

Dunaliella tertiolecta 의 葡萄糖酸化와 酸化酵素系 (I)

Whole cells 과 cell-free systems 에 의한 ^{14}C -glucose 의 酸化

權 寧 命

(서울대학교 生藥研究所)

Glucose Oxidation and It's Oxidative Enzyme Systems in *Dunaliella tertiolecta*.(I)

Oxidation of ^{14}C -glucose in Whole Cells and Cell-free Systems.

KWON, Young Myung

(Natural Products Research Institute, Seoul National University)

ABSTRACT

Dunaliella tertiolecta did not show any increase in respiration rate when supplied with glucose, glycerol, sucrose, L-alanine, acetate, pyruvate and succinate. This was in contrast to *Chlorella pyrenoidosa*, which, under identical conditions, showed significant increase when supplied with glucose or acetate but not with the other compounds.

Production of $^{14}\text{CO}_2$ from added ^{14}C -glucose in *D. tertiolecta* was lower than the other ^{14}C -labelled substrates: L-alanine, glycerol, succinate, but higher than ^{14}C -sucrose addition. And it was also lower than *C. pyrenoidosa* experiments which were added ^{14}C -glucose as a substrate.

Light reduced amounts of labelled carbon dioxide from ^{14}C -glucose or ^{14}C -acetate and increased incorporation of ^{14}C from the substrates to cell materials in either *D. tertiolecta* or *C. pyrenoidosa*.

The contribution of ^{14}C from ^{14}C -glucose to $^{14}\text{CO}_2$ in cell-free system of *D. tertiolecta* were much higher than in whole cell suspension. It was contrast to *C. pyrenoidosa* which were showed reduction of $^{14}\text{CO}_2$ production in cell-free systems than whole cell suspensions.

when cell-free systems of *D. tertiolecta* and *C. pyrenoidosa* were supplied with ATP, NAD, NADP or/and hexokinase, it was remarkably increased production of $^{14}\text{CO}_2$ from the substrates than the control.

It was concluded that the low ability of *D. tertiolecta* to metabolize glucose were caused by the impermeability of the cell membrane to glucose and were not due to deficiencies of enzyme systems concerning glucose metabolism. In the cell-free systems, it seemed to be more active pentose phosphate pathway than glycolytic pathway in *D. tertiolecta*.

緒 論

植物性 plankton 을 비롯한 여러 藻類들은 體外로부터 單純有機物을 吸收하고 또 그것을 生活에 利

用할 수 있다. 그러나 그 吸收와 利用程度에는 相當한 變異가 있는 것이다. (Danforth, 1962),

Sloan & Strickland(1966)는 phytoplankton을 사용한 實驗에서 *Cyclotella*는 葡萄糖의 吸收와 同化가 比較的 容易하게 일어나며 *Thalassiosira*는 葡萄糖보다 L-glutamate를 더 쉽게 吸收利用하고, *Skeletonema*와 *Coccolithus*는 葡萄糖, acetate 및 L-glutamate 모두를 거의 吸收利用하지 못함을 알아 내었다. North & Stephens(1967)는 *Platymonas*가 아미노酸인 glycine을 低濃度($5 \times 10^{-7}M$)인 條件에서도 吸收 蓄積할 수 있음을 發見하였다.

Tatewaki & Provasoli (1963)는 *Anthithamnion*이 비타민을 吸收할 수 있고 특히 비타민 B₁₂는 生長에 絶對로 必要한 物質임을 밝혔다. Kuenzler (1965)는 *Chlorella*를 비롯한 여러 藻類들은 glucose-6-phosphate를 生活에 利用하지마는 *Dunaliella*는 全혀 利用하지 못한다 하였다.

Taylor (1959)는 *Scenedesmus*가 葡萄糖을 吸收할 때 全的으로 擴散에만 依存하는 것이 아니라 能動的인 吸收作用에도 起因하는 것이라고 하고, 植物細胞에서도 有機物에 對한 能動吸收가 存在함을 밝혔다. 그러나 NO₃ 및 NO₂의 光同化作用時에 CO₂를 供給하면 同化作用이 더한층 促進되는 것을 *Dunaliella*를 사용한 實驗에서 發見한 Grant (1968)는 CO₂의 供給源으로서 葡萄糖이나 acetate를 使用할 때 窒酸同化作用의 促進現象을 볼 수 없었다고 하였다.

Hunter & Provasoli (1955)는 "acetate flagellate"로 알려진 藻類들이 acetate나 또는 이것과 類似한 構造를한 脂肪酸을 炭素源으로하여 生長할 수 있으나 葡萄糖은 利用하지 못하는데 그 理由는 葡萄糖에 對한 細胞膜의 낮은 透過性乃至는 全혀 透過를 許容하지 않기 때문이라 하였다. 한편 Jacobi(1957)는 海洋性綠藻類와 紅藻類에서 hexokinase, aldolase, 및 dehydrogenase 등의 存在有無를 調查하고, 體内に 投入된 物質의 利用과 酵素系와의 關係를 說明하려 하였다.

Casselton & Syrett (1962)는 ¹⁴C-glucose를 使用하여 *Chlorella*의 葡萄糖酸化過程을 調查하여 葡萄糖이 pentose phosphate shunt와 glycolysis의 두 過程을 거쳐 酸化됨을 밝혔다.

이제까지의 많은 研究들은 概히 一部藻類에만 局限된 感이 있어, 藻類에서 보는 單純有機物의 利用狀態를 單純히 細胞膜의 透過性만으로, 또는 體內酵素系의 差異만으로 說明할 수는 없다고 하겠다.

그러하여 本實驗에서는 *Dunaliella*의 whole cell과 cell-free systems에 依한 葡萄糖의 利用狀態를 調查하고, 比較的 生化學的으로 研究가 잘되어있는 *Chlorella*의 實驗도 並行하여 이들의 結果를 比較 研究하였다.

材料 및 方法

材料 및 培養; *Dunaliella tertiolecta* (Butcher)와 *Chlorella pyrenoidosa*를 他微生物에 依하여 汚染되지 않았음을 確認한 後, 5l容積의 Haffkine flask에 2l의 培養液을 넣고 여기에 接種培養하였다.

*Dunaliella*의 培養液은 活性炭을 處理한 海水를 濾過하고(鹽度: 28~30‰) 950ml 여기에;

KNO ₃	75 mg	ZnSO ₄ ·7 H ₂ O	44 μg
NaH ₂ PO ₄ ·2 H ₂ O	10 mg	CoCl ₂ ·6 H ₂ O	20 μg
Fe-Citrate	1.5 mg	CoSO ₄ ·5 H ₂ O	19 μg
Citric acid	1.5 mg	Biotine	1 μg
MnSO ₄ ·4 H ₂ O	360 μg	Vitamine B ₁₂	1 μg
Thiamine-HCl	200 μg		

을 加한後, 蒸溜水로 1l를 만들었다. (Grant, 1968)

*Chlorella*의 경우는;

KH ₂ PO ₄	7.76 g	MgSO ₄ ·7 H ₂ O	400 mg
K ₂ HPO ₄	2.32 g	Ca(NO ₃) ₂	60 mg

KNO₃ 1.25 g FeCl₃ 8.7 mg

을 1 l 증류수에 溶解하여 滅菌하였다.

培養時의 光條件은 flask 表面에서 400 燭光으로 調節하였고, 溫度는 22°±1°C를 維持하면서 5% CO₂를 包含한 空氣를 계속 通過시키면서 2日間 培養하였다.

Whole cell의 操作; 培養이 끝난 *Dunaliella*의 培養液을 遠沈하여 上澄液을 버린 後, 人工海水(-bicarbonate)로 洗滌, 遠沈하여 人工海水(pH 7.5)에 浮遊시켜 whole cell로 使用하였다.

*Chlorella*의 경우는 遠沈하여 얻은 細胞를 0.05 M phosphate buffer(pH. 7.5)로 洗滌, 遠沈하여, 다시 phosphate buffer로 細胞浮遊液을 만들었다.

Cell-free systems의 製造; 遠心分離하여 얻은 細胞를 0.1 M(Tris-hydroxymethyl amino-methane)-HCl buffer(pH. 7.6)로 洗滌하고, 다시 同一한 buffer로 細胞浮遊液을 만들어 冷却된 French pressure cell에 通過시켜서 細胞膜을 破壞하여 使用하였다. 使用한 French pressure cell은 內徑 2.5 cm, 溫度 3°C였으며, 22,000 psi의 壓力을 適用하였다. 材料는 實驗에 使用하기 前에 細胞膜이 모두 破壞된 것을 顯微鏡으로 確認하였으며, 全操作은 4°C를 維持하였다.

呼吸測定; Whole cell의 酸素消費量은 Warburg 呼吸測定法에 依하였으며 ¹⁴C-化合物處理에 依한 ¹⁴CO₂의 生成實驗도 同一한 方法으로 하였다.

放射能의 測定; 呼吸測定時 發生하는 ¹⁴CO₂의 放射能은, Warburg flask의 CO₂를 1 M hyamine hydroxide 메타놀溶液에 吸收시켜, 이것을 10 ml toluene phosphor(Davidson, 1962)에 넣어 Liquid Scintillation counter로 測定하였다. 細胞內에 存在하는 ¹⁴C量의 測定은 다음과 같다. Warburg flask內에서 incubation이 끝난 whole cell을 遠沈한후, 0.1 M의 非放射性性基質이 包含된 人工海水 또는 phosphate buffer로 二回洗滌하여 얻은 細胞를 70% 에타놀로 抽出하였다.(Harley & Beevers, 1963) 에타놀抽出液은 直接 toluene phosphor에 넣었고, 抽出殘在物은 1 M hyamine hydroxide로 溶解시킨 後 그 放射能을 測定하였다.

測定効率을 增加시키기 爲하여 Channel ratios法(Bush, 1963)으로 cpm을 dpm으로 換算하였으며, 標準 ¹⁴C-Benzic acid를 使用하여 各各의 測定值를 補整하였다.

蛋白質의 定量; 各材料의 蛋白質含量은 Newell & Dal Pont (1964)에 依한 Kjeldahl 變法으로 總窒素量을 定量하고 이것으로부터 蛋白質量을 計算하였다.

結果 및 考察

呼吸基質로 添加한 7種의 物質이 *Dunaliella*의 呼吸을 增加시키지는 못하였으나(Table. 1) 葡萄糖과 acetate는 *Chlorella*의 呼吸量을 顯著하게 增加시켰다. 持히 兩基質의 供給 後 4時間째에 이르러서는 各各 약 2倍로 呼吸量을 增加시켰다. Meyer (1947), Syrett, et al. (1963)의 實驗에서도 葡萄糖은 *Chlorella*의 呼吸을 增加시켰고, acetate 또한 *Chlorella*의 呼吸增加를 가져온 Syrett, et al (1964)의 結果와 一致한다. 이와같이 一部基質에 對한 兩材料의 反應이 다르게 나타나지만 endogeneous respiration의 差異는 없다고 보겠다.

¹⁴C으로 標識된 基質의 利用을 보면; *Dunaliella*는 相當量의 pyruvate, acetate 및 succinate를 ¹⁴CO₂로 放出할 수 있었으나 體內蓄積量을 *Chlorella*와 比較할 때(acetate) 그 量은 대단히 적었다. 또한 이들 基質의 酸化도 1時間以後에는 거의 中止되는것 같았다. Sucrose는 *Dunaliella*의 呼吸材料로 利用될 수 없는것 같으며, glycerol은 體內에 投入될 수 있는 量에 比하여 酸化되어 ¹⁴CO₂로 될 수 있는 率은 極에 낮았다. *Dunaliella*의 主要 光合成產物이 glycerol이라는 事實(Craigie & McLachlan, 1964., Craigie, et al. 1966)로 보아 相當量의 glycerol을 體內에 蓄積할 수 있을 것으로 生覺된다. 葡萄糖은 *Dunaliella*의 呼吸을 促進시키지 못하나, 一呼吸基質로 利用되고 있음을 알 수 있다.(Table 2)

Table 1. Respiration in the presence of added substrates

Time(min.)	Oxygen uptake in $\mu\text{l}/\text{mg}$ protein							
	<i>D. tertiolecta</i>				<i>C. pyrenoidosa</i>			
	60	120	180	240	60	120	180	240
Addition								
None	18.9	31.5	41.7	50.7	16.4	29.6	39.0	50.4
Glucose	20.7	34.2	45.0	55.1	17.5	44.0	67.6	91.2
Glycerol	18.2	30.4	40.3	48.1	14.6	29.1	38.6	48.2
Sucrose	18.8	31.0	40.5	50.2	14.3	28.7	39.4	48.2
DL-alanine	18.8	31.6	41.7	50.4	15.4	29.5	39.4	49.2
Acetate	17.3	29.4	39.0	47.0	15.6	35.9	56.3	80.1
Pyruvate	18.9	32.5	38.6	52.8	15.2	29.3	38.7	46.4
Succinate	18.7	32.9	39.6	53.3	13.5	27.9	35.3	44.3

Each vessel contained 2.0ml of incubation mixture at 25°C. which contained phosphate buffer (pH 7.5) 120 μmole . Where substrate was at the rate of 10 $\mu\text{mole}/\text{ml}$. The center well contained 0.2ml of 20% KOH. The cells contained between 4-7mg protein.

그러나 葡萄糖의 利用程度를 *Chlorella*와 比較하면 대단히 微微하며, 다른 基質의 경우와 比較해도 sucrose의 경우를 除外하고는 가장 낮은 값을 나타내었다.

L-alanine의 利用을 보면 $^{14}\text{CO}_2$ 의 生成과 同化가 pyruvate의 경우와 비슷함으로 미루어 Nakamura, et. al. (1968)의 結果와 같이 *Dunaliella*에서도 transaminase가 L-alanine 利用에 作用하고 있음을 알 수 있겠다.

Table 2. Incorporation of ^{14}C labelled substrates into CO_2 and cell materials

Fraction	dpm/mg protein											
	<i>D. tertiolecta</i>						<i>C. pyrenoidosa</i>					
	CO_2		EtOH-sol		EtOH-insol		CO_2		EtOH-sol		EtOH-insol	
	60	120	60	120	60	120	60	120	60	120	60	120
Glucose	6	11	47	52	13	9	81	255	560	1,523	46	137
Glycerol	22	44	219	168	20	22	—	—	—	—	—	—
Sucrose	1	2	46	162	4	4	29	44	192	158	17	20
L-alanine	41	42	52	48	42	43	—	—	—	—	—	—
Acetate	144	182	141	143	141	146	854	1,316	1,252	1,454	192	324
Pyruvate	263	360	70	66	39	46	—	—	—	—	—	—
Succinate	176	134	40	47	12	10	—	—	—	—	—	—

Each vessel contained in 2.0 ml; 0.2 μcuries of ^{14}C from each substrate in 10 μmole . All substrates were uniformly labelled except succinic acid were labelled in the 1, 4-position. The suspending medium was buffered by the addition of 60 μmole phosphate buffer pH 7.5 and CO_2 was absorbed on 1 M hyamine hydroxide in the methanol in the center well. CO_2 retained in the suspending medium was released at the completion of the experiment by the addition of 0.1 ml of 10 N H_2SO_4 from a side arm. The cell contained between 6-10 mg protein.

^{14}C -glucose와 ^{14}C -acetate 利用에 미치는 光線의 效果를 보면 (Tabl. 3) 먼저 葡萄糖處理區에서 *Dunaliella*는 光에 依하여 $^{14}\text{CO}_2$ 의 發生이 39% 低下했고, 體內(同化)量은 26% 上昇하였으며, *Chlorella*

에서는 $^{14}\text{CO}_2$ 發生이 73% 減少했고, 體內量은 45% 나 增加하였다. Tanner, et al. (1965)가 光下에서는 *Chlorella*의 葡萄糖吸收(同化)량이 增加한다 하였다. 그러므로 本實驗에서 *Dunaliella*는 光에 依한 效果가 낮은데 그 理由가 細胞膜의 透過性에 起因하는지 또는 體內的 葡萄糖代謝系에 있는 것인가는 모른다. Acetate 處理區를 보면 *Dunaliella*에서 $^{14}\text{CO}_2$ 發生量은 光에 依하여 36% 低下하고, 體內量은 50% 增加하였다. *Chlorella*에서는 $^{14}\text{CO}_2$ 生成이 10% 減少하고, 體內량이 23% 上昇하였다. acetate의 경우, 光의 效果가 *Dunaliella*에서 더 컸는데, 이것을 光下에서 acetate가 酸化됨이 없이 直接同化될 수 있다고 한 Goulding & Merrett (1966)과 Syrett, et al. (1964)의 結果와 一致한다고 生覺할 수도 있겠으나, 葡萄糖과 acetate가 各各 材料의 生理的 環境條件에 미치는 影響을 모르며, 또한 光下에서 生成되는 CO_2 量과 生成된 CO_2 가 再次 同化되는 量을 모르기 때문에 Table 3의 說明은 現在로서는 不可하며 다만 參考로서 利用될 수 있을 뿐이다. 즉 葡萄糖이 光下에서 *Dunaliella*에 吸收되어 同化될 수 있다는 것을 알 수 있을 뿐이다.

以上の 實驗結果(Table, 2 and 3)로부터 *Dunaliella*가 葡萄糖을 吸收酸化할 수 있음을 알았고, 그 程度를 *Chlorella*와 比較하면 7.4% 란 낮은 값을 나타내기 때문에 그 理由를 究明하고자 cell-free systems에 依한 葡萄糖의 酸化를 調査하였다.(Table, 4). ATP, NAD(또는 NADP)의 添加로 $^{14}\text{CO}_2$ 의 發生이 크게 增加하였다. 그러나 增加內容에 있어서 兩材料間에 相當한 差異가 있음을 알 수 있

Table. 3. Effects of light on the ^{14}C -assimilation of ^{14}C -acetate.

Substrates	Radioactivity incorporation/hr/mg protein							
	<i>D. tertiolecta</i>				<i>C. pyrenoidosa</i>			
	Dark		Light		Dark		Light	
	CO_2	Cells	CO_2	Cells	CO_2	Cells	CO_2	Cells
Glucose	100	100	61	126	100	100	27	454
Acetate	100	100	64	150	100	100	90	123

Values are given in relative units as in each pair of light and dark experiments, in triplicate, the amount of cell material and the specific activity of substrate varied. All cells were incubated for 30 min and 90 min period in 0.05 M phosphate buffer, pH 7.5, containing 10 μmole of substrate per ml. When light was supplied it was from incandescent lamps at 2000 f.c. measured at the surface of the flask.

다. *Dunaliella*에서 ATP+NADP區의 $^{14}\text{CO}_2$ 生成은 ATP+NAD區의 6倍以上인데 比하여, *Chlorella*에서는 不過 2倍程度이다. 그리고 hexokinase의 添加로 CO_2 發生이 더한층 促進하는데 *Chlorella*에서는 10% 程度 增加하나 *Dunaliella*에서는 3배에 促進된 것으로 보아서, ATP, NADP가 添加된 cell-free systems에서 葡萄糖酸化에 미치는 가장 큰 要因은 *Dunaliella*의 경우 hexokinase인 것 같다.

Casselton & Syrett (1961)이 *Chlorella*에 hexose monophosphate shunt가 存在하고, Ciferii (1962)가 *Chlorella*의 一種으로 보는 *Prototheca zopfii*에 glycolytic pathway와 pentose phosphate pathway가 모두 作用을 다하고 있다고한 事實을 本實驗과 連關지어 볼때, NAD는 glycolytic pathway를, 그리고 NADP는 pentose phosphate pathway를 各各 促進할것으로 生覺된다. 그러므로 *Dunaliella*에서 NADP의 效果가 *Chlorella*와 比較할때 NAD보다 越等히 크다는 것은 上記條件에서 pentose phosphate shunt의 存在를 알 수 있을뿐 아니라 glycolytic pathway보다 훨씬 強한 活性을 나타낸다고 하겠다.

Fig 2와 4에서 보는 가장 重要한 現象은 *Dunaliella*의 cell-free system이 CO_2 를 生成할 수 있는 程度가 Whole cell보다 크다는 것이다. 즉 whole cell의 경우의 6 dpm인데 比하여 cell-free systems에서(對照區)는 21 dpm이라는 큰 값을 나타내었다. 一般의으로 細胞膜이 破壞되었을 경우 生理生化

學的條件도 同時에 破壞되는 것이기 때문에 CO_2 의 發生도 *Chlorella*의 경우와 같이 오히려 低下(43%)되는 것이 普通인 것이다. 그런데 *Dunaliella*의 경우 增加되었다는 것은 whole cell時에 어떠한 理由로 葡萄糖과 葡萄糖酸化系와 接할 수 있는 機會가 적었다는 것으로 解釋될 수 있으며, 만약 이러한 解釋이 事實이라면, 原因은 細胞膜의 透過性에 있는 것으로 生覺된다.

Table 4. Production of $^{14}\text{CO}_2$ from ^{14}C -glucose by cell free systems.

Addition	dpm/hr/mg protein	
	<i>D. tertiolecta</i>	<i>C. pyrenoidosa</i>
None	21	35
ATP	88	91
ATP & NAD	98	229
ATP & NADP	571	464
ATP, NAD & Hexokinase	144	193
ATP, NADP & Hexokinase	1,769	516

Each vessel contained in 2.0 ml; 0.2 μcuries ^{14}C in 10 μmole glucose; tris-HCl buffer, pH 7.5, 100 μmole ; MgCl_2 10 μmole ; Protein 7-8 mg. Where indicated the following additions were made, ATP, 10 μmole ; NAD, 1.44 μmole ; NADP, 1.24 μmole ; yeast hexokinase, 15.9 units. The center well contained 0.2 ml. of 1 M hyamine hydroxide in methanol, and CO_2 retained in buffer was released by the addition of 0.1 ml. 10 N sulfuric acid.

*Dunaliella*에서 보는(Table 2) sucrose의 낮은 利用度의 原因을 究明하고자 cell-free system에 依한 ^{14}C -sucrose의 酸化를 調査하였다.(Table 5). Table 2와 Table 5의 結果를 比較할 때에도 CO_2 의 生成이 cell-free systems에서 whole cell 보다 3배나 많았지만, ATP, NAD, NADP 및 hexokinase의 効

Table 2. Production of $^{14}\text{CO}_2$ from ^{14}C -sucrose by Cell-free systems of *D. tertiolecta*.

Addition	dpm/hr/mg protein	Addition	dpm/hr/mg protein
none(sucrose only)	3	ATP, hexokinase & NAD	14
ATP & hexokinase	12	ATP, hexokinase & NADP	48

Experimental conditions as for Table 4. except that sucrose substitute for glucose.

果가 Table 4와 比較해서 대단히 낮은 것으로 보아 體外로부터 供給되는 sucrose는 細胞膜을 通過하지 못하는것 같으며, 비록 *Dunaliella*가 光合成產物로 微量의 sucrose를 合成하기는 하나(Craigie et al. 1966) 이를 加水分解하는 酵素는 거의 갖고 있지 않던가 또는 存在한다고 하여도 그의 活性이 대단히 낮다고 하겠다.

지금까지의 結果로부터 *Dunaliella*가 極히 少量의 葡萄糖을 體外로부터 吸收利用할 수 있음을 알 수 있지만 이러한 結果가 果然 正常條件을 가진 細胞들에 依해 만들어졌는가는 알 수 없다. 한편 葡萄糖을 炭素源으로 한 暗所培養의 試圖는 지금까지 成功하지 못하였다. (未發表)(*Chlorella*의 경우 同一條件에서 훌륭하게 培養되었다.)

結論으로 다음 事實을 들수있겠다. *Dunaliella*가 葡萄糖을 利用함에 있어 그 程度가 極히 낮은것은 葡萄糖酸化에 必要한 酵素系의 不活性 내지는 缺乏에 起因하는 것이 아니라 葡萄糖에 對한 細胞膜의 不透過性에 있는 것이며, 本實驗條件에서 *Dunaliella* cell-free systems의 pentose phosphate shunt의 活性이 glycolytic pathway 보다 強하다고 하겠다.

要 約

*Dunaliella tertiolecta*의 葡萄糖利用을 調査하고 그 結果를 *Chlorella pyrenoidosa*와 比較하였다.

1) 葡萄糖을 비롯하여 sucrose, acetate, glycerol, L-alanine, pyruvate 및 succinate를 呼吸基質로 하였을 때 *Dunaliella*의 呼吸을 促進시키지 못했으나, *Chlorella*에서는 葡萄糖과 acetate에 의한 酸素消費量의 增加를 보았다.

2) *Dunaliella*에서 ^{14}C -glucose의 利用度는 ^{14}C -glycerol, ^{14}C -L-alanine, ^{14}C -acetate, ^{14}C -pyruvate 및 ^{14}C -succinate 보다 낮았고, ^{14}C -sucrose 보다 높았다. 그러나 *Chlorella*의 경우보다는 훨씬 낮았다.

3) ^{14}C -glucose와 ^{14}C -acetate로부터의 $^{14}\text{CO}_2$ 生成이 光에 의하여 低下되고, ^{14}C 의 體內量이 增加하였다.

4) Cell-free systems에 의한 ^{14}C -glucose의 酸化는 whole cell의 경우보다 높았는데, *Chlorella*에서의 低下와 對照되는 現象이다.

5) ATP, NAD, NADP 등에 의해서 ^{14}C -glucose의 酸化가 促進하는데, *Dunaliella*에서는 NADP의 效果가 가장 컸다.

結論으로 *Dunaliella*에서 보는 葡萄糖의 낮은 利用度는 體內의 一部 酵素系의 不活性 또는 缺乏에 原因이 있는것이 아니라 葡萄糖에 對한 細胞膜의 不透過性에 있는 것이다. 그리고 *Dunaliella* cell free systems에서의 葡萄糖酸化는 주로 pentose phosphate shunt를 거치는것 같다.

REFERENCES

1. Bush, E. T. (1963). General applicability of the channel ratio method of measuring liquid scintillation counting efficiencies. *Analyt. Chem.* 35, 1024.
2. Casselton, P. J. & P. J. Syrett. (1962). The oxidation of ^{14}C -labelled glucose by *Chlorella vulgaris*. *Ann. Bot.* 26, 71-82.
3. Ciferri, O. (1962). Carbohydrate metabolism of *Prototheca zopfii*. I. Enzymes of the glycolytic and hexose monophosphate pathways. *Enzymologia.* 24, 283-297.
4. Craigie, J. S. & L. McLachlan. (1964). Glycerol as a photosynthetic products in *Dunaliella tertiolecta* Butcher. *Can. J. Bot.* 42, 777-8.
5. Craigie, J., S. J. McLachlan, and W. Majak. (1966). Photosynthesis in algae. II. Green algae with special reference to *Dunaliella* spp. *Tetraselmis* spp. *Can. J. Bot.* 44, 1247-54.
6. Danforth, W. F. (1962). In: Substrate assimilation and heterotrophy, in *Physiology and Biochemistry of algae*. Ed. by R. A. Lewin, p. 99-123. New York Academic Press.
7. Davidson, E. A. (1962). Technique for paper strip counting in a liquid scintillation spectrometer. *Packard Technical Bull. No. 4*, Packard Instrument Co. La Grange III.
8. Grant, B. R. (1967). The action of light on nitrate and nitrite assimilation by the marine chlorophyte, *Dunaliella tertiolecta* Butcher. *J. gen. Microbiol.* 48, 279-289.
9. Grant, B. R. (1968). The effect of carbon dioxide concentration and buffer system on nitrate and nitrite assimilation by *Dunaliella tertiolecta*. *J. gen. Microbiol.* 54, 327-336.
10. Harley, J. L. & Harry Beever. (1963) Acetate Utilization by Maize Roots. *Pl. Physiol.* 38 117-123
11. Hunter, S. H. & L. Provasoli. (1955). Comparative biochemistry of flagellates. In *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Ed. by S. H. Hunter & A. Lwoff. Vol. II. p. 17-43. New York

Academic Press.

12. Jacobi, G. (1957). Vergleichend enzymatische untersuchungen an marinen gruen- and rotalgen. Kiel Meeresforsch. 13, 212-219.
13. Kuenzler, E. J. (1965). Glucose-6-phosphate utilization by marine algae. J. Phycol. 1, 156-164.
14. Myers, J. (1947). Oxidative assimilation in relation to photosynthesis in *Chlorella*. J. gen. Physiol. 30, 217-27.
15. Nakamura, S., K. Asino, and A. Yamamoto. (1968). Distribution of transaminase in marine algae. Bot. Mag. Tokyo. 81, 74-78.
16. Newell, B. & Dal Pont, G. (1964). Ammonia in sea water. Nature, London. 201, 36.
17. North, B. B. & G. C. Stephens., (1967). Uptake and assimilation of amino acids by *Platymonas*. Biol. Bull. 133, 391-400.
18. Sloan, P. R. & J. D. H. Strickland. (1966). Heterotrophy of four marine phytoplankters at low substrate concentrations. J. Phycol. 2, 29-32.
19. Syrett, P. J., M. J. Merrett, and S. M. Bocks. (1963). Enzymes of the glyoxylate cycle in *Chlorella vulgaris*. J. expl. Bot. 14, 249-64.
20. Syrett, P. J., S. M. Bocks, and M. J. Merrett. (1964). The assimilation of acetate by *Chlorella vulgaris*. J. expl. Bot. 15, 35-47.
21. Tanner, W., L. Daechsel, and O. Kandler. (1965). Effects of DCMU and antimycine A on photoassimilation of glucose in *Chlorella*. Pl. Physiol. 40, 1151-1156.
22. Tatewaki, M, and L. Provasoli. (1964). Vitamine requirements three species of *Antithamnion*. Botanica Marina. 6, 193-203.
23. Taylor, F. J. (1959). The absorption of glucose by *Scenedesmus quadricauda*. I. Some kinetic aspects. Roy. Soc. Lon. Proc. B. 151, 400-417.