

## *Chlorella* 엽록체의 인지질 생합성 및 지방산조성에 미치는 Nitrate와 Phosphate 결핍효과

李点溪·李鍾三

(성신여자대학교 자연과학대학 생물학과)

### Effects of the Nitrate and Phosphate Starvation on the Biosynthesis of Phospholipid and the Composition of Fatty Acids in *Chlorella* Chloroplasts

Lee, Jeom-Kyu and Chong-Sam Lee

(Department of Biology, College of Natural Science, Sung Shin Women's University, Seoul)

#### ABSTRACT

*Chlorella ellipsoidea* were cultured in "cold" media starvated with the nitrate and phosphate sources. The effects of the nitrate and phosphate starvation on the biosynthesis of phospholipid and the composition of fatty acids in chloroplasts isolated from these cells were analyzed.

The syntheses of phosphatidylcholine and phosphatidylinositol in the nitrate and phosphate starvation were similarly inhibited as compared with the control but phosphatidylethanolamine synthesis in the nitrate starvation was extremely lower than that in the phosphate starvation. The major fatty acids utilized in phospholipid formation within chloroplasts were palmitic acid and linolenic acid. However, palmitic acid and stearic acid were dominant in the condition of the nitrate starvation. The levels of palmitic acid in the phosphate starvation were predominant and availability of palmitic acid were enhanced 3-fold than that of the control. These results suggest that the biosynthesis of phospholipid and the composition of fatty acids were affected by the nitrate and phosphate starvation in the culture media.

Abbreviations: **MGDG**, monogalactosyl diacylglycerol; **DGDG**, digalactosyl diacylglycerol; **SQDG**, diacylsulfoquinovosylglycerol; **PC**, phosphatidylcholine; **PE**, phosphatidylethanolamine; **PG**, phosphatidylglycerol; **PI**, phosphatidylinositol; **TAG**, triacylglycerol.

#### 緒 論

엽록체의 막을 구성하는 지질은 다양한 막 단백질과 강하게 상호작용을 하여 광합성체계의 구성과 기능을 수행하는데 역학적이고 필수적인 역할을 담당하고 있어 엽록체 지질의 중요성 인식과 함께 많은 연구가 진척되어왔다 (Murphy, 1986; Pick *et al.*, 1984; Siegenthaler and Rawyler, 1986).

광합성 반응을 수행하는 막체는 지질조성에 의하여 특징지워지며 이러한 특징은 원핵조류, 진핵조류, 고등식물간의 엽록체 구조의 비교특징이 된다 (Ort, 1986). 고등식물의 광합성 lamella와 남조류는 공통적으로 MGDG, DGDG, 인지질과 황지질을 주요 지질요소로 함유하는 것으로 보고되었으나 (Allen and Good, 1971) 진핵조류 엽록체의 지질조성에 대한 보고는 많지 않다. 엽록체를 구성하는 지질은 엽록체 구조에 따라 그 조성을 달리하여 MGDG와 DGDG는 lamella 양쪽과 envelope membrane에 존재하나 황지질은 거의 lamella에만, 인지질은 envelope membrane보다는 lamella에 농축되어 있다 (Harwood and Stumpf, 1976).

엽록체의 지질대사는 환경요인에 의하여 영향을 받는다. 인지질의 경우에는 온도 (Sato *et al.*, 1979; Vigh *et al.*, 1985), 성장단계와 energy대사 (Cronan and Vagelos, 1972), 광선 (Browse *et al.*, 1981; Ohnishi and Yamada, 1983), stroma pH (Sauer and Heise, 1983) 등의 변화에 의하여 인지질 합성과 구성 지방산 조성이 달라진다. 이러한 인지질 구조의 변형은 결국 엽록체의 막 유동성과 막 구조에 영향을 주는 것으로 알려졌다 (Cronan and Vagelos, 1972).

본 연구에서는 진핵조류인 *Chlorella ellipsoidea* 엽록체의 주요 인지질을 조사하고 성장배지에서 nitrate와 phosphate를 결핍시킬 경우 엽록체의 인지질 합성 및 지방산 조성에 미치는 nitrate와 phosphate 결핍효과를 분석하였다.

## 材料 및 方法

**Chlorella 세포 배양.** *Chlorella ellipsoidea*의 "cold"배지인 M4N배지 조성 (Tamiya *et al.*, 1953) 중 질산원인 potassium nitrate 대신 potassium chloride를 처리하여 nitrate 결핍배지로 사용하였고, 인산원인 potassium phosphate 대신 potassium chloride를 공급하여 phosphate 결핍배지로 이용하였다. 각 처리구에 일정량의 세포를 접종한 후 2,000 lux의 광선을 지속적으로 조사하고 CO<sub>2</sub> enriched-air로 bubbling시키면서 25°C에서 7일간 배양하였다. 배양기간동안의 세포생장은 packed cell volume으로 측정하였다.

**엽록체 분리.** 배양조 및 배양기간에 수확한 세포의 엽록체 분리는 Lyttleton (1962)의 방법을 다소 변형하여 이용하였다. 수확한 세포를 1/500 M potassium sulfate로 2~3회 세척한 후 0.5M phosphate buffer(0.4 M sodium chloride 포함, pH 7.5)에 현탁시켜 4°C에서 sonicator (Sonics & Materials Ins. model VC 250B)로 마쇄하였다. 마쇄된 세포를 2,000 rpm에서 4분간 원심분리한 후 상등액을 수거하여 3,000 rpm에서 4분간 원심분리한 후 얻어진 상등액을 취하여 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 분리된 침전물을 엽록체로 보고 다음 실험에 사용하였다. 분리된 엽록체의 핵물질 오염은 aceto-orcein 염색으로 확인하였다.

**지질 추출.** 엽록체에 함유되어 있는 지질을 추출하기 위하여 Bligh와 Dyer (1959)의 방법을 약간 수정하여 이용하였는데 그 처리순서는 다음과 같다.

분리한 엽록체에 chloroform/methanol (1:2, v/v) 혼합용액을 첨가하여 혼든 후 증류수 (1, v/v)를 첨가하여 혼합시킨 다음 고정시켰다. 분리된 chloroform층을 Whatman No.1 여과지에 여과시켜 지질을 추출한 후 남은 잔여물에 chloroform (1, v/v)를 첨가하여 흔들어 섞은 다음 분리된 chloroform층만을 같은 여과지에 여과하여 지질 추출물에 혼합시켰다. 이러한 지질 추출물을 40°C~50°C 항온수조기에서 증발, 건조시켜 지질함량을 측정하였다.

**인지질 동정 및 분리.** 추출한 지질로부터 주요 인지질인 PC, PE와 PI를 분리하기 위하여

thin-layer chromatography (TLC)를 이용하였으며 전개는 two-one dimension으로 하였다. TLC plate (glass, 20×20 cm)에 silica gel (MERCK, 69G)를 0.25 mm 두께로 입혀 사용하였으며 인지질 분리용매는 Turner와 Rouser (1970)의 방법에 따라 1차 전개는 chloroform/methanol/28% ammonia water (65:25:5) 혼합용매에서, 2차 전개는 chloroform-acetone/methanol/acetic acid/distilled water (3:4:1:1:0.5) 혼합용매에서 수행하였다. PC, PE와 PI의 동정은 각 인지질의 standard (Sigma)의 Rf값과 발색제를 사용하여 결정하였는데 발색제로는 PC의 경우 Drogendroff 시약을, PE는 ninhydrin 용액을, PI는 periodate-Schiff시약을 이용하였다 (Skipski and Barllay, 1969).

**지방산의 methyl ester화.** 각 인지질을 구성하는 지방산의 조성 및 양적 변화를 gas chromatography(GC)로 분석하기 위하여 분리된 PC, PE와 PI를 Allen과 Good (1971)의 방법에 따라 methyl ester화 하였다. 즉 발색된 인지질을 TLC plate로부터 분리하여 5% sulfuric acid를 함유한 methanol solution (1, v/v)과 internal standard인 heptadecanoic acid (Sigma)를 첨가하여 68°C~70°C oven에서 2시간 동안 방치한 후 냉각시켜 증류수(1 v/v)를 첨가하여 진탕 혼합시켰다. 이에 n-hexane (0.4, v/v)를 더하여 다시 혼합시킨 다음 hexane층을 추출하였는데 이러한 hexane층 추출작업을 3번 반복하였다. 분리한 hexane추출물을 중성화시키기 위하여 포화된 수용성 sodium bicarbonate (1, v/v)를 첨가하여 혼합시킨 후 fatty acid methyl ester를 함유한 hexane층을 분리하여 35°C incubator에서 증발, 건조시켜 각 인지질의 total fatty acid methyl ester 함량을 측정하였다.

**지방산 조성 분석.** 각 인지질을 구성하는 지방산 조성은 fatty acid methyl ester의 GC (Shimadzu model GC-RIA)분석으로 이루어졌다. 사용한 GC는 H<sub>2</sub> flame-ionization detector이며 10% 1,4-butanediol succinate (Shimalite W)를 충전제로 한 stainless column(3mm×3m)를 이용하였다. Injection port temperature는 210°C를, column temperature는 188°C를 유지시켰고, carrier gas로는 N<sub>2</sub>를 분당 50 ml유속으로 주입하였다. 각 지방산 동정은 lipid standard (Sigma)와 비교하여 결정하였다.

## 結 果

**Chlorella세포의 성장.** 배양기간동안 nitrate와 phosphate결핍처리구에서의 세포 성장은 Fig. 1과 같다. 대조구는 배양기간동안 원활한 세포 생장이 일어나 배양 7일에는 배양초보다 약 5배의 성장증가를 나타내었으나 nitrate와 phosphate결핍처리구에서는 대조구에 비하여 배양초부터 세포생장이 억제되기 시작하여 nitrate결핍처리구에서는 말기에 급격한 성장 감소를 나타내었다. 성장 억제효과는 phosphate 결핍처리구보다 nitrate결핍처리구에서 뚜렷이 관찰되었다.

**엽록체의 지질 함량.** Nitrate와 phosphate결핍배지에서 배양한 *Chlorella* 엽록체의 지질함량 변화를 Fig. 2에 표시하였다. 배양기간동안 대조구의 엽록체 지질함량은 엽록체 건조량 100 mg당 약 14%~18%에 해당되는 것으로 분석되었으나 두 결핍처리구에서는 12%~10%의 함유량을 나타내어 지질함량의 감소현상을 보여주었다. 배양시기별로 살펴보면, nitrate와 phosphate 결핍처리구에서 배양 4일 지질함량은 대조구보다 각각 19.3%, 28.7%의 감소를 보였다. 배양 7일에도 nitrate결핍처리구는 대조구에 비하여 39.1%, phosphate결핍처리구는 40.25%의 저하를 나타내어 nitrate와 phosphate결핍에 의한 지질합성의 억제현상을 보여주었다.

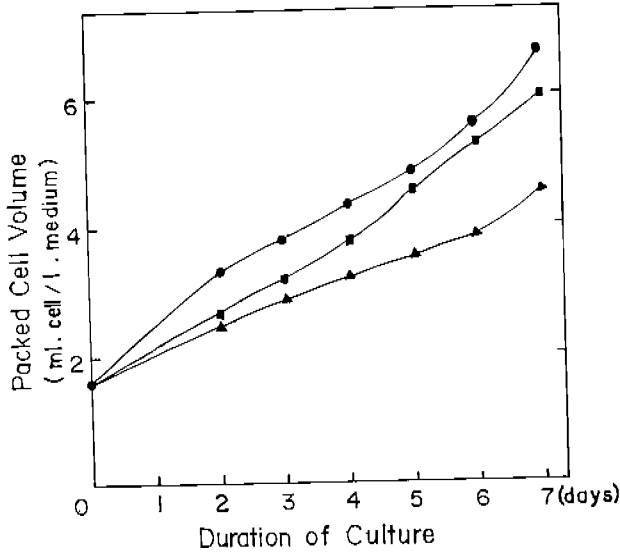


Fig. 1. Effects of the nitrate and the phosphate starvation on the growth of *Chlorella ellipsoidea* during cultivation. ●—● control; ▲—▲ nitrate starvation; ■—■ phosphate starvation.

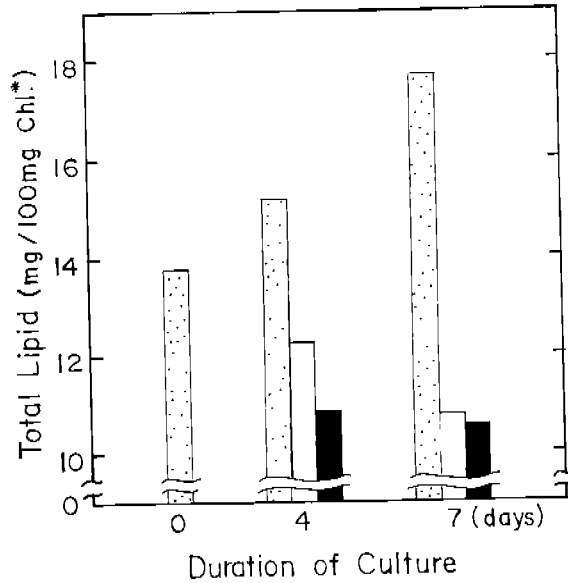


Fig. 2. Changes in amounts of total fatty acid methyl esters of each phospholipid in chloroplasts isolated from *Chlorella ellipsoidea* during the culture with the nitrate and the phosphate starvation. ▨ control; □ nitrate starvation; ■ phosphate starvation. chl.\*, chloroplasts

엽록체의 인지질 함량. 결핍에 따른 PC, PE와 PI의 total fatty acid methyl ester함량의 변화를 Table 1에 나타내었다. 배양기간동안 엽록체에서 합성된 3가지 주요 인지질의 total fatty acid methyl ester함량은 대조구의 경우 엽록체 건조량 100 mg당 1.7%~2.7% 함유된 것으로 분석되었으나 두 결핍처리구에서는 약 1.3%~1.5%의 함유량을 나타내어 대조구에 비하여 감소현상을 보여주었다. 엽록체의 인지질대사에서 합성된 PC의 함량은 전체 지질 중 7%에 해당되었으며 PE는 4.6%, PI는 4% 함유되어 있는 것으로 분석되었다.

**Table 1.** Changes in amounts of total lipid and total fatty acid methyl esters of each phospholipid in chloroplasts isolated from *Chlorella ellipsoidea* during the culture with the nitrate and the phosphate starvation

Total fatty acid methyl esters of phospholipid	Duration of Culture (days)						
	0	4			7		
		Control	-NO <sub>3</sub>	-PO <sub>4</sub>	Control	-NO <sub>3</sub>	-PO <sub>4</sub>
mg/100 mg chloro.							
Phosphatidylcholine	0.70	0.93	0.60	0.67	1.21	0.66	0.63
Phosphatidylethanolamine	0.55	0.63	0.33	0.39	0.81	0.31	0.43
Phosphatidylinositol	0.46	0.59	0.49	0.48	0.70	0.40	0.38
Total lipid	13.75	15.20	12.27	10.83	17.69	10.77	10.58

각 인지질별 함량 변화를 살펴보면, nitrate와 phosphate결핍처리구에서 합성된 배양4일째 PC의 total fatty acid methyl ester함량은 대조구에 비하여 각각 35.5%, 28% 감소되었고 배양7일에서도 각각 45.4%, 47.9%의 합성저하를 나타내었다. PE경우 배양 4일 nitrate와 phosphate결핍처리구의 total fatty acid methyl ester함량은 대조구에 비하여 각각 47.6%, 38.1%의 급격한 감소를 보였으며 배양7일에서도 nitrate결핍처리구는 61.7%, phosphate결핍처리구는 46.9%의 합성 저해효과를 보여주었다. PI에서의 함량은 배양 4일 nitrate와 phosphate결핍처리구 경우 대조구에 비하여 각각 17%, 18.6%의 합성 감소를 나타내었으며 배양 7일에서는 합성이 더욱 억제되어 nitrate결핍처리구서는 대조구에 비하여 42.9% phosphate결핍처리구는 45.7%의 저하를 보여주었다.

인지질의 지방산 조성. *Chlorella*세포로부터 분리한 엽록체의 인지질을 구성하는 주요 지방산은 palmitic acid, linolenic acid로 밝혀졌으며 그 밖에 myristic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid도 분석되었다.

Table 2에 표기한 바와 같이 PC를 구성하는 지방산은 대조구의 경우 배양기간동안 palmitic acid와 linolenic acid가 주요 지방산으로 분석되었으나 nitrate결핍처리구에서는 palmitic acid이 용 이외에도 대조구와는 다르게 stearic acid가 배양 4일에 18.8%, 7일에는 16.9%의 이용을 나타내어 nitrate결핍으로 인한 지방산 조성의 변화를 보여주었다. Phosphate결핍처리구에서는 palmitic acid의 이용이 배양4일과 7일에 각각 84.4%, 89.2%로 대조구보다 높은 조성을 나타내어 palmitic acid가 주요 지방산으로 조사되었다.

Table 3에 나타난 PE의 지방산 분석에 의하면, 대조구에서는 배양기간동안 palmitic acid가 전체 지방산 중 45.4%~48.8%, linolenic acid가 14.5%~17.5%의 조성을 나타내 주요 지방산으로 분석되었다. Nitrate결핍처리구에서는 palmitic acid의 이용이 대조구보다 높았고 특히



stearic acid는 전체 지방산에 대한 조성이 배양 4일과 7일에 각각 13%, 16.2%로 조사되어 대조구와 다른 지방산 조성을 보여 주었다. Phosphate결핍처리구에서도 palmitic acid의 인지질 도입이 대조구보다 높아 주요 지방산으로 분석되었으나 배양 7일에는 linolenic acid의 인지질 도입이 10.9%에 해당되어 대조구와 유사한 지방산 조성을 나타내었다.

Table 4에 표기한 바와같이 PI에서의 대조구 지방산 조성은 PC와 PE경우와는 다르게 조사되었다. 즉, 배양기간동안 palmitic acid의 이용이 90% 이상으로 전체 지방산의 대부분을 차지했다. Nitrate결핍처리구에서 palmitic acid의 이용은 66.1%~80.7%로 나타났으며 stearic acid 이용은 16%~17.9%로 조사되어 대조구와 다른 조성을 보였으나 phosphate결핍처리구는 배양기간동안 palmitic acid의 전체 지방산에 대한 조성비가 89.9%, 93.9%로 분석되어 대조구와 비교하여 별다른 변화가 없었다.

결국 *Chlorella* 엽록체의 인지질은 nitrate와 phosphate결핍처리 후 포화지방산인 palmitic acid와 stearic acid를 주요 지방산으로 도입하여 지방산 조성의 변화를 나타내었다.

## 考 察

엽록체는 광에너지 흡수에 관계되는 광합성 수행기관으로 광합성이 일어나는 남조류와 광합성적 세균과 같은 원핵생물에서는 독립된 엽록체로 존재하지않고 다만 고등식물의 엽록체구조와 유사한 envelope membrane과 thylakoid membrane으로 이루어졌다 (Lang, 1968). 그러나 조금 진화된 단세포인 *Chlorella*는 세포내에 한개의 독립된 엽록체를 갖고 있으며 이것은 고등식물의 엽록체와 비교되어왔다.

광합성에서 수행되는 광인산화 반응은 thylakoid membrane내의 지질과 단백질의 결합체에 의해 이루어짐이 연구되었다 (Pick *et al.*, 1984; Murphyl, 1986; Siegenthaler and Rawyler, 1986). 엽록체를 구성하고 있는 지질조성은 남조류와 고등식물에서 유사하게 나타나는데 남조류의 주요 지질은 MGDG로 전체 지질의 절반에 해당되며 나머지는 DGDG, SQDG, PG이며 PC, PE, PI의 인지질은 소량 존재하는 것으로 보고되었다 (Sato *et al.*, 1979). 한편 시금치의 엽록체 지질 조성에서는 MGDG가 전체 지질 중 37%에 해당되었으며 인지질인 PC는 3.3%, PE는 0.6%, PI는 0.4%이었으며 그 밖에 DGDG, SQDG, PA, PG, TAG, 유리 지방산도 함유하는 것으로 분석되었다 (Dubacq *et al.*, 1983). 본 실험에서 *Chlorella ellipsoidea*의 엽록체의 주요 인지질을 조사한 결과 PC의 함량은 전체 지질 중 7%, PE는 4.6% PI는 4%에 해당되는 것으로 분석되었다.

엽록체내의 인지질 생합성은 여러가지 요인에 의하여 영향을 받는 것으로 보고되었다. Penjamo와 Miranovskaja 두 종류 밀의 엽록체 thylakoid membrane를 냉각경화 (1.5°C)시킬 경우 실온에서 보다 Penjamo는 PC의 조성비가 냉각경화 후에 감소하나 Miranovskaja 경우에는 오히려 냉각경화 후 PC함량이 증가하여 온도에 따른 인지질 생합성의 변화를 관찰할 수 있는데 (Vigh *et al.*, 1985) 이와같은 온도에 따른 인지질 생합성의 적응능력은 Pike와 Berry(1980)에 의해서도 보고되었다. 또한 인지질 생합성은 세포 성장시 첨가되는 물질에 따라 달라져 시금치 (*Spinacia oleracea*)의 엽록체에 manganese chloride (2mM) 첨가처리 후에는 PG합성이 촉진되는 것을 볼 수 있었다 (Sparacc and Mudd, 1982). 이와는 반대로 성장배지조성에서 nitrate와 phosphate를 결핍처리한 *Chlorella* 엽록체에서는 인지질 생합성의 억제현상이 관찰되었다

(Table 1). Nitrate결핍구 경우 phosphate결핍구와 달리 PE에서 합성 억제현상이 가장 큰 것으로 나타났는데 이것은 질소원의 결핍으로 ethanolamine이 충분히 합성에 참여하지 못했기 때문으로 생각되었다. 이러한 결과로 PE합성이 억제되면서 상호보완적으로 PC의 함량이 배양 말기에 증가된 것으로 추측되며 phosphate결핍구에서는 이와 반대현상이 일어난 것으로 사료되었다. PC와 PE합성의 상호보완적 관계는 생체내 인지질대사에서 일어난다고 보고 되었다 (Moore, 1982).

*Chlorella* 엽록체를 구성하는 주요 지방산을 각 인지질 별로 살펴보면, PC와 PE경우 palmitic acid, linolenic acid이였으나 PI에서는 palmitic acid가 전체 지방산 중 90%이상 이용된 것으로 분석되었는데 이와같은 palmitic acid의 높은 이용은 시금치 엽록체의 whole envelope membrane에서도 볼 수 있어 (Block *et al.*, 1983) 인지질 종류에 따른 지방산 조성의 차이를 알 수 있었다. 인지질을 구성하는 지방산 조성은 온도에 의하여 변화하는데 즉, 낮은 배양온도에서는 포화지방산 이용이 감소하고 불포화지방산 도입이 높아지는 것이 남조류 *Anabaena variabilis*의 배양온도 차이에서 관찰되었으며 (Sato *et al.*, 1979) 이러한 현상은 밀의 엽록체를 냉각경화시킬 경우에도 일어난다 (Vigh *et al.*, 1986). 또한 엽록체의 지방산 합성은 엽록체내 stroma pH에도 의존하여 pH가 낮아지면 지방산 합성이 저하되며 (Sauer and Meise, 1983) 지방산의 desaturation은 광선에도 영향을 받아 (Browse *et al.*, 1981) 지방산 desaturation에 의한 지방산 조성의 변화가 관찰되었다 (Ohnishi and Yamada, 1983). 이와같은 지방산 조성의 변화는 생장배지에서 질소원과 인산원을 결핍시킬때에도 일어났다 (Tables 2, 3, 4). Nitrate결핍구에서 분석된 *Chlorella* 엽록체의 PC, PE와 PI의 stearic acid의 이용이 대조구와 다르게 높은 것으로 조사되었고 phosphate결핍구에서는 palmitic acid의 도입이 대조구보다 최고 3배정도 높게 나타났다. Nitrate와 phosphate결핍처리구에서 포화지방산인 palmitic acid와 stearic acid의 높은 이용은 배지조성 중 질소원과 인산원이 결핍됨으로 인하여 지방산 합성과 지방산의 chain elongation, desaturation에 필요한 ATP, 고농도의 Pi, NADPH등 (Heldt *et al.*, 1975)의 조건이 완전히 형성되지 못했기 때문으로 생각되었다.

## 摘 要

*Chlorella ellipsoidea*를 질소원과 인산원이 결핍된 "cold" 배지에서 배양하여 배양4일과 7일에 *Chlorella* 엽록체의 nitrate와 phosphate결핍에 따른 주요 인지질과 그 구성 지방산의 조성변화를 분석하였다.

Phosphatidylcholine과 phosphatidylinositol의 합성은 대조구와 비교하여 nitrate와 phosphate결핍처리구에서 유사하게 억제되었으나 phosphatidyl-ethanolamine합성은 phosphate결핍처리구보다 nitrate결핍처리구에서 급격히 저하되었다. 엽록체의 인지질을 구성하는 대조구의 주요 지방산은 palmitic acid와 linolenic acid이였으나 nitrate결핍처리구에서는 palmitic acid와 stearic acid가 주요 지방산으로 분석되었다. Phosphate결핍처리구의 주요 지방산은 palmitic acid이었는데 그 이용은 대조구보다 최고 3배 높은 것으로 조사되었다.



## 參 考 文 獻

- Allen, C.F. and P. Good. 1971. Acyl lipids in photosynthetic systems. *Method. Enzymol.* **23**: 523-547.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**: 911-917.
- Block, M.A., A.J. Dorne, J. Joyard and R. Douce. 1983. Preparation and characterization of membrane fractions enriched in outer and inner envelope membranes from spinach chloroplasts: II. Biochemical characterization. *J. Biol. Chem.* **258**: 13281-13286.
- Browse, J., P.G. Roughan and C.R. Slack. 1981. Light control fatty acid synthesis and diurnal fluctuations of fatty acid composition in leaves. *Biochem. J.* **196**: 347-354.
- Cronan, J.E., Jr. and P.R. Vagelos. 1972. Metabolism and function of the membrane phospholipids of *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta* **265**: 25-60.
- Dubacq, J.P., D. Drapier and A. Tremolieres. 1983. Polyunsaturated fatty acid synthesis by a mixture of chloroplasts and microsomes from spinach leaves. *Plant Cell Physiol.* **24**(1): 1-9.
- Harwood, J.L. and P.K. Stumpf. 1976. Plant acyl lipids: evolutionary curiosities or functional constituents? *TIBS* **1**: 253-256.
- Heldt, H.W., K. Werdan and M. Milovancev. 1975. The role of the pH in the regulation of carbon fixation in the chloroplast stroma. Studies on CO<sub>2</sub> fixation in the light and dark. *Biochim. Biophys. Acta* **396**: 276-292.
- Lang, N.J. 1968. The structure of blue-green algae. *Ann. Rev. Microbiol.* **22**: 15-46.
- Lytleton, J.W. 1962. Isolation of ribosome from spinach chloroplast. *Exp. Cell. Res.* **26**: 312-317.
- Moore, T.S., Jr. 1982. Phospholipid biosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**: 235-259.
- Murphy, D.J. 1986. Structural properties and molecular organization of the acyl lipids of photosynthetic membranes. In, *Encyclopedia of Plant Physiology: Photosynthesis III*. L.A. Staehelin and C.J. Arntzen (eds.). Vol. 19. pp. 713-725.
- Ohnishi, J. and M. Yamada. 1983. Glycerolipid synthesis in *Avena* leaves during greening of etiolated seedlings IV. Effect of light on fatty acid desaturation. *Plant Cell Physiol.* **24**(8): 1553-1557.
- Omata, T. and N. Murata. 1983. Isolation and characterization of the cytoplasmic membranes from the blue-green alga (cyanobacterium) *Anacystis nidulans*. *Plant Cell Physiol.* **24**(6): 1101-1112.
- Ort, D.R. 1986. Energy transduction in oxygenic photosynthesis: an overview of structure and mechanism. In, *Encyclopedia of Plant Physiology: Photosynthesis III*. L.A. Staehelin and C.J. Arntzen (eds.). Vol. 19. pp. 143-196.
- Pick, U., K. Gounaris, A. Admon and J. Barber. 1984. Activation of the CF<sub>0</sub>-CF<sub>1</sub>, ATP synthase from spinach chloroplasts by chloroplast lipids. *Biochim. Biophys. Acta.* **765**: 12-20.
- Pike, C.S. and J.H. Berry. 1980. Membrane phospholipid phase separations in plants adapted to or acclimated to different thermal regimes. *Plant Physiol.* **66**: 238-241.
- Sato, N., N. Murata, Y. Miura and N. Ueta. 1979. Effect of growth temperature on lipid and fatty acid compositions in the blue-green algae, *Anabaena variabilis* and *Anacystis nidulans*. *Biochim. Biophys. Acta* **572**: 19-28.
- Sauer, A. and K.P. Heise. 1983. On the light dependence of fatty acid synthesis in spinach chloroplasts. *Plant Physiol.* **73**: 11-15.

- Siegenthaler, P.A. and A. Rawyler, 1986. Acyl lipids in thylakoid membranes: distribution and involvement in photosynthetic functions. *In*, Encyclopedia of Plant Physiology: Photosynthesis III. L.A. Staehelin and C.J. Arntzen (eds.). Vol. 19. pp. 693-705.
- Skipski, V.P. and M. Barllay. 1969. Thin-layer chromatography of lipids. *Method. Enzymol.* **14**: 530-598.
- Sparace, S.A. and J.B. Mudd. 1982. Phosphatidylglycerol synthesis in spinach chloroplasts: characterization of the newly synthesized molecule. *Plant Physiol.* **70**: 1260-1264.
- Stanier, R.Y. and G. Cohen-Bazire. 1977. Photosynthetic prokaryotes: the cyanobacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* **31**: 225-274.
- Tamiya, H., K. Shibata, T. Iwamura, T. Sasa and Y. Morimura. 1953. Effect of diurnally intermittent illumination on the growth and some cellular characteristics of *Chlorella*. *Carnegie Inst. Wash. Publ.* **600**: 76-81.
- Turner, J.D. and G. Rouser. 1970. Precise quantitative determination of human blood lipids by thin-layer and triethylaminoethylcellulose column chromatography. II. Plasma lipids. *Anal. Biochem.* **38**: 437-445.
- Vigh, L., I. Horvath, P.R. van Hasselt and P.J.C. Kuiper, 1985. Effect of frost hardening on lipid and fatty acid composition of chloroplast thylakoid membranes in two wheat varieties of contrasting hardiness. *Plant Physiol.* **79**: 756-759.

(1988. 4. 18. 接受)