

Chlorella ellipsoidea 엽록체의 인지질 생합성 및 지방산 조성에 미치는 식물호르몬의 효과

羅 亨 心 · 李 鍾 三

(성신여자대학교 자연과학대학 생물학과)

Effects of Phytohormones on Biosynthesis of Phospholipids and Their Fatty Acid Compositions in *Chlorella ellipsoidea* Chloroplast

Na, Hyung Shim and Chong Sam Lee

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

ABSTRACT

The effects of IAA (10^{-3} M) and GA_3 (2×10^{-8} M) on the biosynthesis of phospholipids and their fatty acid compositions in chloroplast isolated from *Chlorella ellipsoidea* were analyzed. Growth ratio and the levels of total lipids and phospholipids in whole cell system and chloroplast treated with phytohormones were higher than those of control, and when treated with GA_3 , phosphatidylcholine content was predominantly higher than that of control. It was showed that in whole cell system the fatty acid utilized for biosynthesis of phospholipids was 27.43% for palmitic acid in control, while that was 20.25% for linolenic acid in treatment with IAA. In treatment with GA_3 , 23.17% for linolenic acid was used in phospholipid formation. The major fatty acid in the chloroplast system was analyzed to be 35.67% for palmitic acid in control and in treatment with IAA, 24.91% for linolenic acid was used in phospholipid formation, while in treatment with GA_3 , major fatty acid of phospholipids was 22.80% for linoleic acid.

서 론

생체막은 모든 생물에서 다양한 생리적 기능을 하고 있으며 이의 주요 성분은 지질과 단백질로 지질은 대부분이 bilayer 형태로 존재한다(Singer and Nicolson, 1972). 세포의 구성성분인 지질은 대사 과정에도 중요하며 환경과 유전에 의하여 지질을 구성하는 성분이 결정된다(Erwin and Bloch, 1964). 많은 기능적 반응은 막을 구성하고 있는 지질분자의 구조 변화에 의해서 일어나며 이에 의해서 지질 유동성이 영향을 받고 있고 지질 환경변화가 translocator, receptor, 효소의 4차 구조에 영향을 미쳐 그 활성을 변화시킨다(Spector and Yorek, 1985). 또한 막 지질은 긴급 반응을 하는데 남조류를 38°C에서 22°C로 옮기면 온도변화에 대해 막 지질이 유동성 있게 반응하기도 하며(Sato and Murata, 1980) 세포막은 저온 상해에도 중요한데, 이는

세포막 지질이 저온에서 gel phase 형성을 야기시키기 때문이다(Lyons, 1973; Ono and Murata, 1981).

세포막의 20-30%가 지질이고 지질은 세포내소기관에서도 합성을 하며 식물 지질을 구성하는 지방산은 불포화 지방산이 많다(Sparace and Moore, 1979; Kates, 1970; Moore, 1982). 세포내소기관의 막에도 많은 양의 지질이 함유되어 있고 phosphatidylcholine(PC)과 phosphatidylethanolamine(PE)이 가장 풍부하며(Garbus *et al.*, 1963), 또한 세포내 소기관에는 phospholipid-exchange protein (PLEP)이 있어 막사이에 인지질 교환이 일어나기도 한다(Mazliak and Kader, 1980). 엽록체는 중요한 에너지 전환 소기관이며 DNA가 있지만 엽록체의 많은 단백질이 핵 DNA에 의해 암호화되어 있다(Kung, 1977).

시금치의 엽록체 지질과 ATPase(CF_0 - CF_1)의 상호 작용으로 enzyme turnover와 ATP affinity를 증가시켜 효소를

활성화시키며 ATPase의 활성화에는 monogalactosyl-diacyl-glycerol과 매우 높은 불포화 지방산이 필수적이다(Pick *et al.*, 1984). 인지질은 막 투과성 조절을 통해서 세포활성과 membrane-bound 효소의 활성화에 영향을 미치며, 효모의 주요 인지질은 PC, PE, phosphatidylinositol(PI)이고 long phase가 stationary phase 보다 많은 인지질을 함유하고 있다(Getz *et al.*, 1970). 강낭콩의 유식물 생장 시기에는 주요 인지질인 PE, PI, PC의 이화작용이 일어나 이 에너지를 이용하고, 인지질의 이화작용이 합성을 능가하면 자엽의 노화가 시작된다(Gilkes *et al.*, 1979). Cronan과 Vagelos(1972)도 *Escherichia coli*의 PC 합성부위는 생체막이며 총 인지질 중 PE가 70-80%를 차지하고 있으며 인지질 합성증가는 세포분열 시기에 일어나고, 인지질 합성이 중지되면 단백질 합성도 감소되고 생장도 중지하게 된다는 보고로 미생물에서도 인지질의 중요성을 강조했다.

대두와 상지의 엽록체에서 지방산 합성효소는 stroma에 존재하며 thylakoid 막과 연관을 갖고 있다(Walker and Harwood, 1985). 고등 식물 엽록체의 주요 지방산은 palmitic acid, linoleic acid, linolenic acid로 불포화 지방산이 많고(Allen and Good, 1971) 식물 세포 배양시에 주요 지방산은 linoleic acid가 가장 많고 palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linolenic acid로 구성되어 있다(Tattrie and Veliky, 1972). 시금치 엽록체막의 PC는 linolenic acid가, PI는 palmitic acid가 주요 지방산인 것으로 나타났다(Moore, 1982).

담배는 생장에 따라 linolenic acid가 증가하고 다른 지방산은 감소하며(Chu and Tso, 1968) 상처치유 과정에서는 잎의 total fatty acid methyl ester와 linolenic acid 함량이 감소하고 지질의 분해산물이 담배의 맛과 향에도 영향을 미친다(Koiwai and Kasaki, 1979). *Shigella flexneri*의 지방산이 불포화성이 높으면 macrophage의 phagocytosis 능력이 커지며 막 인지질에 불포화 지방산이 증가함에 따라 생장도 증가한다(Spector and Yorek, 1985; Schorait and Gallily, 1979).

식물의 인지질과 이를 구성하는 지방산의 조성과 함량 변화는 호르몬, 제초제, 온도, 영양, pH 등 세포내적 요인은 물론 세포외적 요인에 의해 영향을 받는다(Nothelfer *et al.*, 1977; Paltauf and Johnston, 1970; Mudd, 1970; Khuller *et al.*, 1978). IAA의 반응은 빠르고 특이적이며, 온도 의존적이고 가변적이며, 대두 하배측에 1 μ M의 IAA를 처리하면 20분 후에 원형질막이 대조구보다 10-15%가 얇아지고 CaCl_2 를 처리하면 10-15%가 두꺼워지는 반응을 보여 IAA 처리로 원형질막의 microviscosity가 증가하게 된다(Morre and Bracker, 1976). IAA는 인지질과 두 점에서 결합을 하는데 즉, IAA의 carboxyl group이 지질분자 구조내의 인산기에 수소결합을 하며 aromatic ring이 지질(lecithin)의

-N(CH₃)₃에 결합을 한다(Bray *et al.*, 1974). 또한 *Avena* 자엽초의 IAA 반응은 낮은 pH(3.0) 반응과 비슷하여 세포신장과 wall loosening을 유도 즉, pectic substance와 microfibril의 cross-link를 끊음으로써 세포벽 신장은 물론 생장률을 최대로 해주며(Rayle and Cleland, 1970) 옥신 유도 H⁺ pump와 생장을 abscisic acid가 억제한다(Evans, 1974). Etherton(1970)은 귀리 자엽초에 10⁻⁷ M의 IAA를 처리하면 막 하전이 negative로 되어 신장을 촉진시킨다고 보고했으며, 팽압도 옥신에 의한 세포벽 변화에 필요하다는 보고도 있다(Loescher and Nevins, 1973). 세포벽 구성요소가 IAA 처리로 변화되는데 즉, polysaccharide hydrolase의 활성도가 증가되어 noncellulosic glucose를 감소시켜 세포벽 loosening을 유도한다(Loescher and Nevins, 1972; Nevins, 1975). GA는 steroid와 생합성 과정과 호르몬 기작이 같은 isoprenoid 구조로 생리적 기능이 같으며(Wood and Paleg, 1972) GA₃는 단백질 합성을 조절하여 ribosome과 세포막의 합성과 막 투과성에 영향을 미치고 세포신장과 세포분열을 증가시키고 또한 장일성 식물의 개화를 촉진시키는 역할을 한다(Jones, 1973; Haber *et al.*, 1969). DNA template 활성화와 RNA polymerase 활성이 GA₃ 처리후 2시간 내에 2배로 증가하며 증자 휴면을 타파하고(Jarvis *et al.*, 1968; Holm and Key, 1969) *Avena*에서는 5당당 인산회로에서 포도당 분해를 증가시켜 휴면 배의 발아를 촉진시킨다(Simmonds and Simpson, 1971). GA₃에 의해 CTP 대사가 증가되는데 이는 인지질 대사에 중요한 역할을 하며 막 구성요소 합성에 기여한다(Collins *et al.*, 1972).

이와 같이 많은 식물의 생체막과 IAA와 GA₃, 각각의 상호작용에 관한 연구는 많이 발표되었으나 세포막과 세포벽, 특히 엽록체를 구성하는 인지질과 이를 조성하는 지방산에 대한 IAA와 GA₃의 작용에 관한 연구는 미미하다. 따라서 본 연구에서는 wall loosening과 wall plasticity를 조절하여 세포신장에 기여하는 IAA와 GA₃가 각각 처리된 배지에서 배양한 *Chlorella*의 인지질과 이를 조성하는 지방산 합성에 어떤 역할을 하는지에 대하여 분석하고자 한다.

재료 및 방법

Chlorella 세포배양. 10⁻³ M의 IAA와 2×10⁻⁸ M의 GA₃(Chai *et al.*, 1974)를 각각 처리한 M4N 배지(Tamiya *et al.*, 1953)에 일정량 세포를 접종하여 2,000 lux의 광선을 지속적으로 조사하면서 4%의 CO₂가 함유되어 있는 공기로서 통기시키면서 25°C에서 7일간 배양하였다. 배양기간 동안의 세포생장은 haematocrit를 이용하여 packed cell volume을 측정하였다.

엽록체의 분리. 배양 초, 3일, 5일, 7일에 수확한 일정량의 세포에서 엽록체를 분리하기 위해 Lyttleton(1962) 방법을 다소 변형하여 사용하였는데 그 과정은 다음과 같다. 수확한 세포를 2 mM potassium sulfate 로 2-3회 세척한 후 0.5 M phosphate buffer(0.4 M sodium chloride 포함 pH 7.5)에 현탁시켜 4°C에서 sonicator(Sonic & Materials Ins. Model VC 25 OB)로 마쇄하였다. 마쇄된 세포를 500 ×g에서 4분간 원심분리(Sorvall Super Speed Centrifuge)하여 상정액만을 취한 다음 그 침전물에 동량의 0.5 M phosphate buffer(pH 7.5)를 첨가하여 현탁시킨 후 같은 방법으로 원심분리한 후 상정액을 취하여 120,000 ×g에서 10분간 원심분리하여 엽록체를 침전시켜 분리하였다.

총 지질의 추출 및 함량 측정. 세포와 엽록체에 자기 함유되어 있는 총 지질을 Bligh와 Dyer(1959)의 방법을 다소 변형하여 추출하였는데 그 처리 순서는 다음과 같다. 수확한 세포와 분리한 엽록체를 각각 separatory funnel에 넣은 후 chloroform/methanol(1:2, v/v) 혼합 용액을 첨가하여 30분간 강하게 흔든 다음 chloroform과 동량의 증류수를 첨가하여 상하 두 층으로 분리하였다. 분리된 하층의 chloroform층만을 Buchnel funnel을 이용하여 Whatman No. 1 paper에 여과하여 총 지질을 추출한 후 남은 잔여물에 다시 동량의 chloroform을 첨가하여 흔들어 같은 방법으로 총 지질을 재추출하였다. 50°C incubator에서 이 추출물을 건조시켜 그 건조량을 측정하였다.

인지질의 분리와 동정. 세포와 엽록체에서 각각 추출된 총 지질에 들어있는 인지질을 분리, 동정하기 위하여 thin-layer chromatography(TLC, Desaga)를 사용하였으며 전개는 two-one dimension 방법을 이용하였다. TLC-plate는 glass plate(20×20 cm)에 silica gel(Merk, 60G)을 0.25 mm 두께로 입혀 실온에서 건조한 다음 desiccator 에 1 일간 방치한 후 사용하기 전에 dry oven에서 110-120°C로 30-60분간 활성화시켜 사용하였다. 인지질 분리용매는 Turner와 Rouser(1970)의 방법에 따라 1차 전개는 chloroform/methanol/28% ammonia water(65:25:5) 혼합용액에서, 2차 전개는 chloroform/acetone/methanol/actic acid/distilled water(3:4:1:1:0.5) 혼합용액에서 수행하였다. 인지질의 동정을 하기 위한 발색제는 특수시약(Skip-ski와 Barley, 1969)을 사용하여 발색하였는데 PC는 dro-gendroff 시약을, PE는 ninhydrin 시약을, PI는 periodate-schiff's 시약을 이용하였다.

지방산 조성 분석. 분리된 각각의 인지질을 Allen과 Good(1971)의 방법으로 methyl ester화시켜 이를 구성하는 지방산의 조성과 양적 변화를 gas chromatograph(GC, Varian 3300)로 분석하였다. 즉 plate에서 분리한 각 인지질이 함유된 silica gel에 5% 황산을 함유한 methanol 용액 5 ml와 internal standard인 heptadecanoic acid(Sigma) 100

μg을 첨가하여 70°C oven에서 2시간 방치한 후 흐르는 물로 냉각시켜 증류수 5 ml를 첨가하여 진탕혼합시켰다. 이에 n-hexane 2 ml를 가하여 다시 혼합시킨 다음 hexane 층을 추출하였는데 이러한 hexane층 추출 조작을 3회 반복하였다. 이 hexane 추출물에 sodium bicarbonate 포화 용액을 5 ml 첨가하여 중화시킨 후 hexane 층을 다시 분리하여 35°C 배양기에서 건조시켜 각 인지질의 fatty acid methyl ester의 건조량을 측정하였다.

각각의 인지질의 구성 지방산 조성은 gas chromatograph를 이용하여 분석하였다. 지방산의 표준용액(Sigma)은 palmitic acid(16:0), stearic acid(18:0), oleic acid(18:1), linoleic acid(18:2), linolenic acid(18:3)가 혼합되어 있는 것을 사용하였다. 사용한 GC detector는 H₂-flame ionization detector이며 사용한 column은 stainless steel column(3 mm×3 m)으로 15% DEGS(diethylglycol succinate)를 충전제로 하였는데 조건은 다음과 같다.

Injection port temperature	230°C
Column temperature	150°C
Detector oven temperature	250°C
Carrier gas	N ₂ (30 ml/min)

결 과

Chlorella의 생장률. 10⁻³ M의 IAA와 2×10⁻⁸ M의 GA₃를 각각 포함한 배지에서 배양한 세포의 생장을 Fig. 1에 표시하였다.

Fig. 1에 나타난 바와 같이 대조구에서는 배양 초보다 배양말기에 5.3배의 성장증가율을 보였으며, IAA와 GA₃ 처리구에서는 대조구보다 높은 성장증가 현상을 보였다. GA₃보다 IAA 처리구가 약간 높은 성장증가를 나타냈는데 IAA 처리구는 배양말기에 대조구에 비하여 34.3% 성장률 증가를, GA₃ 처리구는 27.4%를 보였다.

생육시기에 따른 총 지질의 함량 변화

Whole cell system. 각각의 식물호르몬(IAA 혹은 GA₃)을 처리한 배지에서 배양시킨 *Chlorella*의 총 지질 함량 변화를 Fig. 2에 나타냈다.

총 지질 함량은 Fig. 2에 표시된 바와 같이 IAA 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 32.0%, 5일에 36.4%, 7일에 34.6% 증가로 평균 34.3% 증가율을 보였다. GA₃ 처리구에서도 IAA 처리구보다 약간 높은 증가율을 나타냈는데 배양 3일에 26.1%, 5일에 25.1%, 7일에 30.4% 증가로 평균 27.2% 증가율을 나타냈다.

엽록체. 엽록체의 총 지질 함량 변화는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 IAA 처리구에서 대조구에 비하여 배양 3일에 13.9%, 5일에 13.3%, 7일에 15.7% 증가현상을 보여 평균 14.3%의 증가율을 나타냈다. GA₃ 처리구에서 분리한

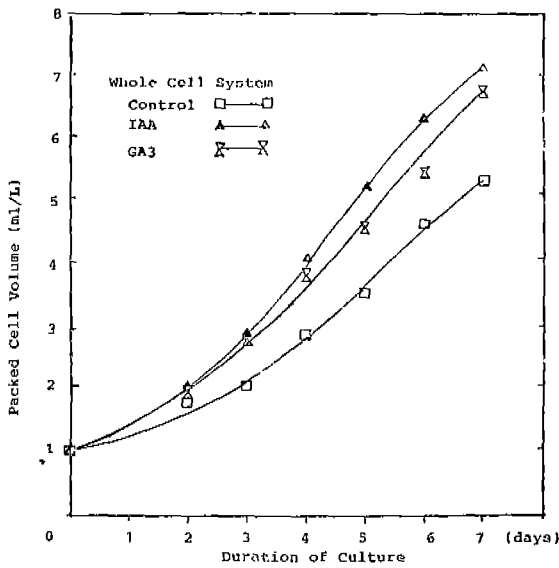


Fig. 1. Effects of phytohormones on the growth of *Chlorella ellipsoidea* during the cultivation.

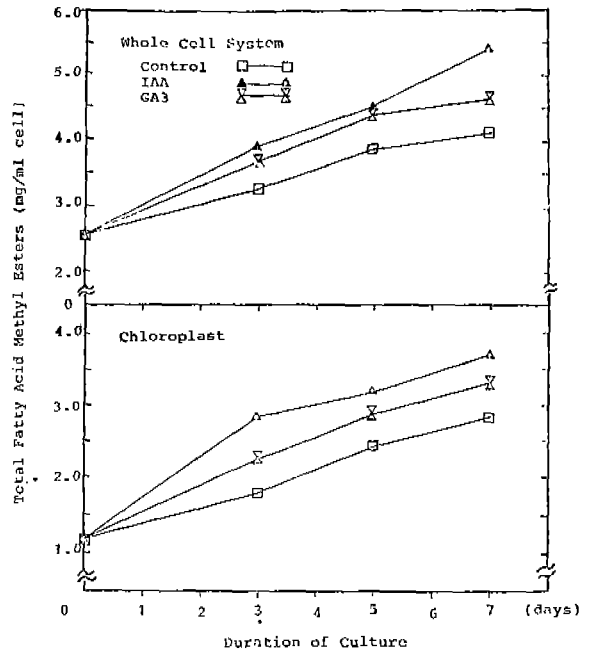


Fig. 3. Changes in the contents of total fatty acid methyl esters in *Chlorella ellipsoidea* treated with phytohormones during the cultivation.

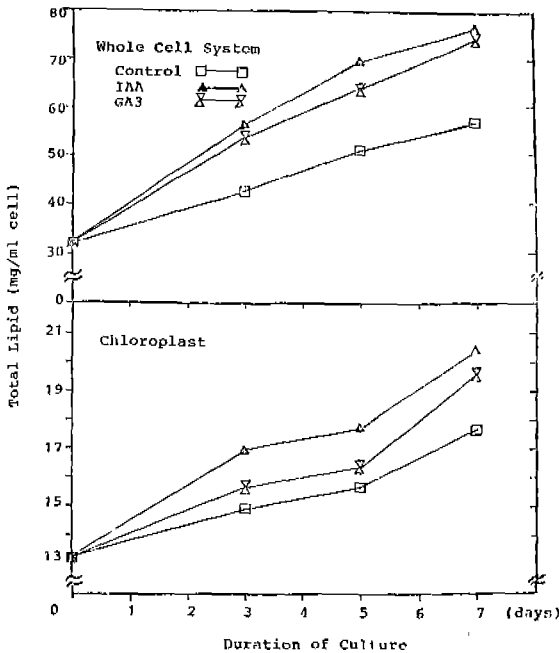


Fig. 2. Changes in the contents of total lipids in *Chlorella ellipsoidea* treated with phytohormones during the cultivation.

엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 5.0%, 5일에 4.5%, 7일에 10.9% 증가현상을 보여 평균 6.8%의 증가율을 나타냈다.

배양시기에 따른 total fatty acid methyl ester의 양적 변화

Whole cell system. 식물 호르몬 처리구의 total fatty acid methyl ester의 함량변화를 Fig. 3에 나타냈다.

Total fatty acid methyl ester 함량은 Fig. 3에서 보여주는 바와 같이 대조구에서는 배양 초에 비하여 배양 말기에 60%의 증가를 나타냈다. IAA를 처리한 세포에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 19.8%, 5일에 16.9%, 7일에 32.9% 증가로 평균 22.9%의 증가율을 나타냈으며 GA₃를 처리한 세포에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 12.7%, 5일에 13.0%, 7일에 12.7% 증가로 평균 12.8%의 증가율을 나타냈다.

엽록체. 대조구에서 분리한 엽록체에서의 total fatty acid methyl ester 함량은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 배양 초에 비하여 배양말기에 142%의 증가를 보였다. 또한 IAA 처리구의 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 60.1%, 5일에 31.7%, 7일에 31.4% 증가로 평균 41.1% 증가율을 나타냈으며 GA₃ 처리구의 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 26.4%, 5일에 18.5%, 7일에 17.7% 증가로 평균 20.9%의 증가율을 나타냈다.

이와같이 식물호르몬에 의하여 배양기간 동안 whole cell system과 엽록체에서의 total fatty acid methyl ester 함량이 증가됨을 볼 수 있었으며 생장물이나 총 지질에서 본 바와 같이 GA₃ 처리구에 비하여 IAA 처리구의 증가율이

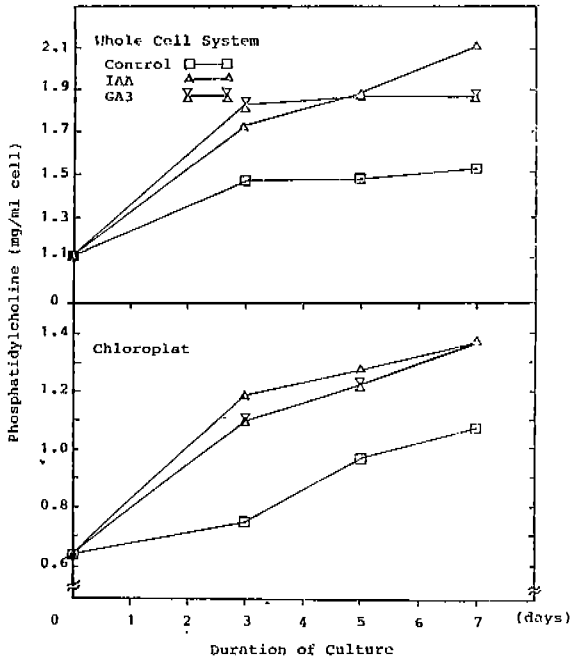


Fig. 4. Changes in the contents of phosphatidylcholine in *Chlorella ellipsoidea* treated with phytohormones during the cultivation.

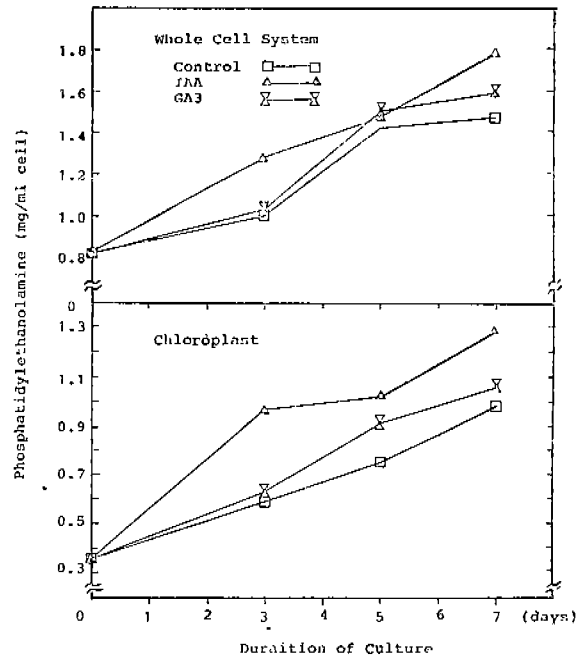


Fig. 5. Changes in the contents of phosphatidylethanolamine in *Chlorella ellipsoidea* with phytohormones during the cultivation.

높은 것으로 나타났다.

여러가지 인지질의 함량 변화

Whole cell system. IAA와 GA₃ 처리구에서의 각 인지질 함량 변화를 Figs. 4-6에 각각 나타내었다.

이들이 보여주는 바와 같이 whole cell system의 총 지질 중 PC 함량이 3.5%, PE가 2.6%, PI는 1.9%가 함유되어 있었다.

식물호르몬 처리구의 각 인지질 함량 변화를 살펴 보면 PC는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 IAA 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 17.7%, 27.7%, 37.9% 증가 현상을 보여 생육기간 동안 평균 24.4% 증가율을 나타내 식물 호르몬에 의해서 PC 함성이 증가됨을 볼 수 있었다.

PE도 Fig. 5에서 보는 바와 같이 IAA 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 28.0%, 3.5%, 21.8% 증가 현상을 보여 생육기간 동안 17.8% 증가율을 나타냈으며, GA₃ 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 3.0%, 5.6%, 8.2% 증가로 생육기간 동안 5.6% 증가율을 나타낸 것으로 보아 식물호르몬에 의해 촉진됨을 알 수가 있었다.

PI는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 IAA 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 13.0%, 20.0%, 37.0% 증가로 생육기간 동안 23.3% 증가율을 보여 주었

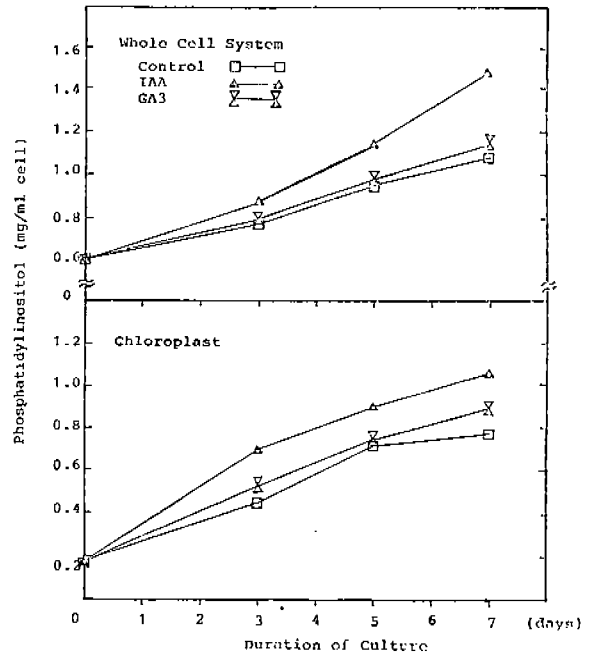


Fig. 6. Changes in the contents of phosphatidylinositol in *Chlorella ellipsoidea* treated with phytohormones during the cultivation.

으며, GA₃ 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 2.6%, 3.2%, 5.6% 증가로 생육기간 동안 3.8% 증가율로 보아 PI도 식물 호르몬에 의하여 촉진작용이 있음이 분석되었다.

엽록체. 엽록체에서의 인지질은 Figs. 4-6에서 보는 바와 같이 총 지질 중 PC는 4.8%, PE는 2.7%, PI는 1.9% 함유되어 있었다.

식물호르몬 처리구에서 각 인지질 함량변화를 살펴 보면 PC는 Fig. 4에서 표기되어 있는 바와 같이 IAA 처리하여 생육시킨 세포의 엽록체는 대조구의 엽록체에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 58.7%, 32.0%, 27.8% 증가로 생육기간 동안 39.5% 증가율을 보여 주었으며, GA₃ 처리구에서의 엽록체는 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 46.7%, 26.8%, 27.8% 증가로 생육기간 동안 33.8% 증가율을 보였다.

PE는 Fig. 5에서 나타난 바와 같이 IAA 처리구에서 분리한 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 64.4%, 36.0%, 30.6% 로 생육기간 동안 43.7% 증가율을 보여 주었으며, GA₃ 처리구의 엽록체는 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 6.8%, 21.3%, 8.2% 증가로 생육기간 동안 12.2% 증가율을 보였다.

PI도 IAA 처리하여 생육시킨 세포에서 분리한 엽록체에서는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 56.8%, 26.8%, 37.7% 증가로 생육기간 동안 40.4% 증가율을 보여 주었으며, GA₃ 처리구의 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3일, 5일, 7일에 각각 18.2%, 4.2%, 15.6% 증가로 생육기간 동안 12.7% 증가율을 보였다.

이와같이 식물호르몬을 처리하여 배양시킨 whole cell system과 엽록체에서의 여러가지 인지질의 함량은 대조구에 비하여 촉진되었음이 분석되었으며 IAA 처리구에서는 PC의 증가율과 다른 인지질의 증가율도 고르게 높지만 GA₃ 처리구에서는 다른 인지질에 비해 PC의 증가율이 훨씬 높게 나타났다.

인지질의 지방산 분석

Whole cell system의 지방산. *Chlorella*의 인지질인 PC, PE, PI가 합성될 때 도입되는 지방산 조성을 Tables 1-3에 각각 표시하였다.

PC를 구성하는 주요 지방산은 Table 1에서 보는 바와 같이 대조구에서는 배양 초에 palmitic acid가 32.6%, linoleic acid가 16.0%였으며 배양 3일에 linolenic acid 25.4%, palmitic acid가 24.3%이고 배양 5일에는 palmitic acid가 51.7%, linoleic acid가 14.1%이고 배양 7일에는 linoleic acid가 26.1%, linolenic acid가 20.5%로 분석되었다. 또한 IAA 처리구에서 PC를 구성하는 주요 지방산은 대조구에서 배양 3일에 linolenic acid와 oleic acid가 각각 39.7%, 27.4%

였으며 5일에는 linolenic acid와 oleic acid가 각각 42.3%, 13.1%이고 7일에는 linolenic acid와 palmitic acid가 각각 38.1%, 23.9%로 조성되어 있었다. GA₃ 처리구에서 PC를 구성하는 주요 지방산은 배양 3일에 linolenic acid와 oleic acid가 각각 60.6%, 18.9%이었으며 5일에는 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 39.1%, 38.0%이고 7일에는 linolenic acid와 stearic acid가 각각 34.4%, 24.9%로 구성되어 있음이 분석되었다.

PE를 구성하는 주요 지방산은 Table 2에서 표기된 바와 같이 대조구에서 배양 초에 linolenic acid 27.7%, linoleic acid가 15.7%였으며 배양 3일에 linolenic acid가 41.2%, linoleic acid가 16.4%이고 배양 5일에는 linolenic acid가 29.0%, palmitic acid가 19.6%이고 배양 7일에는 linolenic acid가 47.2%, linoleic acid가 25.6%로 분석되었다.

한편 IAA 처리구에서 PE를 구성하는 주요 지방산은 배양 3일에 palmitic acid와 linoleic acid가 각각 29.2%, 18.9%였으며 5일에는 linoleic acid와 stearic acid가 각각 39.7%, 26.6%이고 7일에는 linoleic acid와 stearic acid가 각각 37.5%, 18.3%로 조성되어 있었다. GA₃ 처리구에서 PE를 구성하는 주요 지방산은 배양 3일에 oleic acid와 linolenic acid가 각각 28.1%, 25.9%이었으며 5일에는 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 27.3%, 24.7%이고 7일에는 oleic acid와 stearic acid가 각각 54.7%, 36.1%로 조성되어 있음이 분석되었다.

PI를 구성하는 주요 지방산은 Table 3에서 보는 바와 같이 대조구에서 배양 초에 palmitic acid가 49.4%, linoleic acid가 18.4%이었으며 배양 3일에 linolenic acid가 22.0%, palmitic acid가 18.2%이고 배양 5일에는 palmitic acid가 42.1%, linoleic acid가 15.9%이고 배양 7일에는 palmitic acid가 50.6%이고 stearic acid와 linoleic acid가 함께 13.0%로 분석되었다. 한편 IAA 처리구에서 PI를 구성하는 주요 지방산은 배양 3일에 oleic acid와 linoleic acid가 각각 28.1%, 18.2%였으며 5일에는 oleic acid와 stearic acid가 각각 36.0%, 25.8%로 조성되어 있었다.

GA₃ 처리구에서 PI를 구성하는 주요 지방산은 배양 3일에 palmitic acid와 oleic acid가 각각 16.7%, 12.1%였으며 5일에는 linolenic acid와 linoleic acid가 각각 24.9%, 24.0%이고 7일에는 palmitic acid와 linoleic acid가 각각 46.5%, 21.4%로 조성되어 있음이 분석되었다.

엽록체의 지방산. PC를 구성하는 주요 지방산은 Table 1에서 보는 바와 같이 엽록체의 대조구는 배양 초에 palmitic acid가 35.3%, linolenic acid가 15.9%였으며 배양 3일에 palmitic acid가 21.4%, linolenic acid가 21.0%이고 배양 5일에는 palmitic acid가 79.2%, linoleic acid가 4.7%이고 배양 7일에는 palmitic acid가 41.9%, linoleic acid가 7.7%로 분석되었다. 한편 IAA 처리구에서 분리한 엽록체의

Table 1. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylcholine in *Chlorella ellipsoidea* treated with phytohormones during the cultivation

		Fatty acid methyl esters (%) in whole cell									
Duration of Culture (days)		0		3		5		7			
	treatment	Control	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃
Palmitic acid	(16:0)	32.61	24.30	8.31	12.10	51.65	5.28	39.12	16.18	23.92	10.50
Stearic acid	(18:0)	7.97	16.44	7.38	3.42	8.96	—	6.73	14.33	1.38	24.93
Oleic acid	(18:1)	5.28	—	27.44	18.93	2.91	13.08	5.49	6.11	21.61	5.55
Linoleic acid	(18:2)	16.03	13.60	7.75	—	14.13	—	4.46	26.06	4.72	19.14
Linolenic acid	(18:3)	8.25	25.41	39.67	60.55	8.11	42.28	38.03	20.47	38.13	34.43
Unknown		29.86	20.25	9.45	5.00	14.24	39.36	6.17	16.85	10.24	5.45
Total fatty acid methyl esters		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

		Fatty acid methyl esters (%) in chloroplast									
Duration of Culture (days)		0		3		5		7			
	treatment	Control	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃
Palmitic acid	(16:0)	35.34	21.39	4.81	39.15	79.18	10.33	34.91	41.89	11.15	22.57
Stearic acid	(18:0)	9.68	1.12	6.89	3.80	3.24	5.47	5.54	2.39	16.73	10.72
Oleic acid	(18:1)	2.50	1.63	9.16	26.21	3.78	6.21	15.80	5.93	—	10.30
Linoleic acid	(18:2)	9.90	18.50	—	—	4.65	30.80	20.92	0.11	19.42	23.25
Linolenic acid	(18:3)	15.92	21.01	64.55	5.30	—	23.54	8.61	7.74	14.21	—
Unknown		26.66	36.35	16.75	25.54	9.15	23.65	14.22	41.94	38.49	33.16
Total fatty acid methyl esters		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

PC를 구성하는 주요 지방산은 배양 3일에 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 64.6%, 9.2%이었으며 5일에는 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 30.8%, 23.5%이고 7일에는 linoleic acid와 stearic acid가 각각 19.4%, 16.7%로 조성되어 있었다. GA₃ 처리구에서 분리한 엽록체에서는 배양 3일에 palmitic acid와 oleic acid가 각각 39.2%, 26.2%이고 5일에는 palmitic acid와 linoleic acid가 각각 34.9%, 20.9%이고 7일에는 linoleic acid와 palmitic acid가 각각 23.3%, 22.6%로 조성되어 있음이 분석되었다.

엽록체에서 PE를 구성하는 주요 지방산은 Table 2에서 나타난 바와 같이 대조구에서 배양 초에 palmitic acid가 28.6%, linolenic acid가 23.7%이었으며, 배양 3일에는 palmitic acid가 28.3%, linolenic acid가 25.1%이었고, 배양 5일에는 palmitic acid가 35.0%, stearic acid가 18.5%이고 배양 7일에는 linolenic acid가 72.4%, palmitic acid가 13.8%로 조성되어 있음이 분석되었다. 한편 IAA 처리구에서

분리한 엽록체의 PE를 구성하는 주요 지방산은 배양 3일에 linolenic acid와 linoleic acid가 각각 25.2%, 21.7%이었으며, 5일에는 stearic acid와 palmitic acid가 각각 26.1%, 22.9%이고 7일에는 linolenic acid와 linoleic acid가 각각 61.5%, 24.0%로 조성되어 있었다. GA₃ 처리구에서 분리한 엽록체는 배양 3일에 linoleic acid와 stearic acid가 각각 35.2%, 31.2%이었으며 5일에는 linoleic acid와 stearic acid가 각각 20.9%, 17.9%이고 7일에는 linoleic acid와 palmitic acid가 각각 27.7%, 9.9%로 조성되어 있음이 분석되었다.

분리한 엽록체의 PI를 구성하는 주요 지방산은 Table 3에서 표기된 바와 같이 대조구에서 배양 초에 palmitic acid가 20.0%, oleic acid가 19.1%이었으며 배양 3일에는 palmitic acid가 41.0%, oleic acid가 26.7%이고 배양 5일에는 palmitic acid가 34.2%, oleic acid가 31.6%로 분석되었다. 한편 IAA 처리구에서 분리한 엽록체의 PI를 구성하는 주요 지방산은 대조구에서 배양 3일에 stearic acid와 lino-

Table 2. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylethanolamine in *Chlorella ellipsoidea* treated with phytohormones during the cultivation

Duration of Culture (days)		Fatty acid methyl esters (%) in whole cell									
		0		3		5			7		
		treatment	Control	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA
Palmitic acid	(16 : 0)	12.68	10.40	29.15	22.79	19.62	9.20	12.85	13.85	16.51	8.33
Stearic acid	(18 : 0)	1.07	11.69	10.76	8.12	15.89	26.64	6.38	0.06	18.25	36.12
Oleic acid	(18 : 1)	3.83	—	—	28.11	14.81	6.31	0.35	—	—	—
Linoleic acid	(18 : 2)	15.72	16.40	18.94	10.28	10.96	39.66	27.32	25.56	37.53	54.68
Linolenic acid	(18 : 3)	27.68	41.21	18.37	25.93	28.96	—	24.67	47.15	—	—
Unknown		39.02	20.30	22.78	4.77	9.76	18.19	28.43	13.38	27.71	0.87
Total fatty acid methyl esters		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Duration of Culture (days)		Fatty acid methyl esters (%) in chloroplast									
		0		3		5			7		
		treatment	Control	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA
Palmitic acid	(16 : 0)	28.60	28.31	0.95	9.71	35.03	22.91	13.58	13.76	2.01	9.92
Stearic acid	(18 : 0)	2.23	4.75	18.92	31.18	18.48	26.10	17.94	4.84	0.49	4.20
Oleic acid	(18 : 1)	17.92	24.59	—	—	1.50	8.91	9.15	7.25	—	0.39
Linoleic acid	(18 : 2)	14.20	8.04	21.70	35.16	12.09	7.63	20.86	—	23.98	27.73
Linolenic acid	(18 : 3)	23.74	25.07	25.16	2.12	16.43	16.05	—	72.39	61.52	6.95
Unknown		13.31	9.24	33.27	21.83	16.47	16.40	38.47	1.76	12.00	50.81
Total fatty acid methyl esters		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

leic acid가 각각 34.9%, 34.7%이었으며, 5일에는 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 29.3%, 19.2%이고 7일에는 linoleic acid와 palmitic acid가 각각 16.8%, 13.0%로 조성되어 있었다. GA₃ 처리구에서 분리한 엽록체에서는 배양 3일에는 linolenic acid와 oleic acid가 각각 18.0%, 17.1%이었으며 5일에는 linoleic acid와 stearic acid가 각각 25.4%, 20.1%이고 7일에는 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 36.4%, 25.9%로 조성되어 있음이 분석되었다.

이와같이 배양기간 동안 PC 합성에 도입된 주요 지방산은 대조구 whole cell system에서는 palmitic acid 30.7%, linolenic acid 18.0%로 조성되어 있으며 대조구에서 분리한 엽록체는 palmitic acid 47.5%, linolenic acid 9.6%로 분석되었다. IAA를 처리한 whole cell system의 PC 합성에 도입된 주요 지방산은 linolenic acid 40.0%, oleic acid 20.7%이고 분리한 엽록체는 linolenic acid 34.1%, linoleic acid 16.7%로 나타났으며 GA₃를 처리한 whole cell system은

linoleic acid 44.3%, palmitic acid 20.6%이고 분리한 엽록체는 palmitic acid 32.2%, oleic acid 17.4%로 조성되어 있음이 분석되었다.

또한 PE를 구성하는 주요 지방산은 whole cell system에서는 linolenic acid 39.1%, linoleic acid 17.6%이고 대조구에서 분리한 엽록체에서는 linolenic acid 38.0%, palmitic acid 25.7%로 분석되었다. IAA를 처리한 whole cell system은 linoleic acid 32.0%, stearic acid 18.6%, palmitic acid 18.3%이고 분리한 엽록체는 linolenic acid 34.2%, linoleic acid 17.8%로 나타났으며 GA₃를 처리한 whole cell system에서는 linoleic acid 30.8%, stearic acid 16.9%, linolenic acid 16.9%이고 분리한 엽록체에서는 linoleic acid 27.9%, stearic acid 17.8%로 조성되어 있음이 분석되었다.

배양기간 동안 PI 합성에 도입된 주요 지방산은 대조구 whole cell system에서는 palmitic acid 37.0%, linoleic acid 15.5%이고 분리한 엽록체는 palmitic acid 33.8%, oleic acid

Table 3. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylinositol in *Chlorella ellipsoidea* treated with phytohormones during the cultivation

Duration of Culture (days)		Fatty acid methyl esters (%) in whole cell											
		0			3			5			7		
		treatment	Control	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃	
Palmitic acid (16 : 0)		49.43	18.20	13.42	16.65	42.05	8.32	22.57	50.60	6.38	46.52		
Stearic acid (18 : 0)		11.43	16.35	0.77	6.33	14.15	23.95	15.91	13.03	3.18	7.38		
Oleic acid (18 : 1)		—	—	28.13	12.10	—	46.13	—	5.17	35.98	18.45		
Linoleic acid (18 : 2)		18.36	17.70	18.16	—	15.87	19.90	24.04	13.03	2.52	21.39		
Linolenic acid (18 : 3)		13.99	21.97	18.01	—	10.29	—	24.92	10.23	25.76	—		
Unknown		6.79	25.78	21.51	64.92	17.64	1.70	12.56	7.94	26.18	6.26		
Total fatty acid methyl esters		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100		

Duration of Culture (days)		Fatty acid methyl esters (%) in chloroplast											
		0			3			5			7		
		treatment	Control	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃	Control	IAA	GA ₃	
Palmitic acid (16 : 0)		20.00	41.01	9.30	3.90	26.28	14.26	11.49	34.17	12.96	5.55		
Stearic acid (18 : 0)		10.76	—	34.88	0.42	22.82	2.49	20.07	—	7.54	2.05		
Oleic acid (18 : 1)		19.07	26.67	8.92	17.14	12.19	—	—	31.58	2.96	0.54		
Linoleic acid (18 : 2)		—	—	34.65	15.45	—	29.32	25.37	26.99	16.78	36.43		
Linolenic acid (18 : 3)		18.37	—	—	18.00	26.11	19.17	—	—	—	25.93		
Unknown		31.80	32.32	12.25	45.09	12.60	34.76	43.07	7.26	59.76	29.50		
Total fatty acid methyl esters		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100		

23.5%로 분석되었다. IAA를 처리한 whole cell system은 oleic acid 36.8%, linolenic acid 14.6%이고 분리한 엽록체는 linoleic acid 26.9%, stearic acid 15.0%로 나타났으며 GA₃를 처리한 whole cell system은 palmitic acid 28.6%, linoleic acid 15.1%이고 분리한 엽록체에서는 linoleic acid 25.8%, linolenic acid 14.6%로 구성되어 있음이 분석되었다.

이와같이 *Chlorella*의 인지질을 구성하는 주요 지방산은 whole cell system의 대조구에서는 palmitic acid 20.6%, oleic acid 19.9%이고, GA₃ 처리구에서는 linoleic acid 23.2%, palmitic acid 21.3%이었음이 분석되었다. 엽록체의 대조구는 palmitic acid 35.7%, linolenic acid 18.8%와 IAA 처리구에서는 linolenic acid 24.9%, linoleic acid 20.5%와 GA₃ 처리구에서는 linoleic acid 22.8%, palmitic acid 16.8%가 인지질을 구성하는 주요 지방산으로 분석되었다.

고찰

옥신과 GA는 RNA 합성을 촉진시켜 translational level에 작용하여 단백질과 세포벽 구성물질을 합성(Jones, 1973; Baker and Ray, 1964; Evans and Ray, 1969)하며 막의 plasticity를 증가시키거나 loosening시켜 막 투과성에 영향을 나타내 세포증대의 역할을 한다(Wood and Paleg, 1972; Ralye and Cleland, 1970). IAA와 GA에 의한 식물의 성장촉진 효과에 관한 연구는 주로 고등식물을 이용하였으며 하등식물 특히 단세포 조류에 대한 보고는 매우 적어 *Ulothrix*에 IAA와 GA₃가 세포분열과 성장을 크게 증가시킨다는 보고(Conrad *et al.*, 1959)와 IAA에 의해 *Chlorella*의 호흡과 광합성이 촉진된다는 보고(Chai, 1972) 등이 있다. 본 연구에서 IAA와 GA₃를 처리한 배지에서 배양한 *Chlorella*

IAA는 대조구에 비하여 현저한 생장촉진 효과를 나타낸 것은 위의 실험결과와 일치되는 것으로 분석되었다.

Auxin receptor는 막에 있는 ATPase(Evans, 1974)이며 IAA가 K^+ - H^+ exchange pump를 활성화시켜 K^+ 를 받아들이고 H^+ 를 막 밖으로 내보내 세포막을 산성화시킨다. 이로 인해 세포벽 loosening enzyme이 활성화되어 acid-labile link를 끊어서 viscoelastic extensibility가 일어나며 또한 K^+ - H^+ exchange pump가 활성화되어 malate 합성과 축적으로 세포내 pH와 팽압이 유지되는 feed back mechanism으로 조절된다(Haschke and Küttge, 1975). 완두 상배축에 IAA를 처리하면 무게와 단백질, RNA가 증가하는데 이는 측면증대와 피층세포의 합성에 기인하고(Maclachlan, 1977) RNA 합성은 신장에 필요하며 이 효과는 actinomycin D에 의해 90%가 차단된다(Cleland, 1965). Abdul-Baki와 Ray(1971)는 IAA 처리 효소 활성도가 증가되어 세포벽 구성물질과 다당류 합성이 촉진된다는 것을 보고했으며 Ray(1973)도 콩 줄기에 IAA(0.1 μ M) 처리시 β -glucan synthetase 활성이 증가되어 세포벽 합성을 촉진시킨다고 보고했다. 세포벽이 신장하기 전에 세포벽의 minimum stress relaxation time(T_0) value가 생장을 조절하는데 IAA 처리로 세포벽의 T_0 value가 감소하며 이는 세포 생장 전에 세포벽의 화학적 변화를 의미하며(Masuda *et al.*, 1974) 이로 인한 생장촉진 효과가 일어남을 알 수 있다.

GA는 식물 지질인 sterol, dicetyl phosphate로 구성된 model membrane에서 포도당, 과당, chromate의 투과성을 증가시킨다(Wood and Paleg, 1972). GA_3 전처리로 오이 하배축의 IAA 유도생장이 크게 증가하여 IAA와 GA_3 간에는 synergism이 존재하며 IAA와 GA_3 의 작용은 분리되어 작용부위와 작용단계가 달라 GA_3 는 초기단계에 IAA는 후기에 작용해 세포신장에 대해서 GA_3 와 IAA는 연속적 작용을 나타낸다(Kazama and Katsumi, 1974). 이와같은 결과는 본 연구에서 배양 4, 5, 6일에 IAA 효과가 큰 것과 일치한다. *Chlorella*에 GA_3 처리로 생장률과 호흡활성이 증가하며(Chai, 1971) 보리 호분층에 GA_3 를 처리하면 ribosome과 polysome 형성이 촉진되어 α -amylase와 ribonuclease의 합성과 분비가 촉진된다(Chrispeels and Varner, 1967; Evins and Varner, 1972). 전반적으로 IAA 처리구시 GA_3 처리구보다 생장률이 큰 것은 GA_3 는 육신 대사 촉진으로 식물생장과 분화의 내생 조절제로 작용한다는 보고(Cleland *et al.*, 1968; Kuraiishi and Muir, 1962)와 상응하여 IAA는 직접적으로 작용하는 반면 GA_3 는 IAA 대사를 촉진시켜 작용하는 간접적 작용으로 볼 수 있다. 이와같이 IAA와 GA_3 는 거의 모든 식물에서 세포신장을 유도하여 생장촉진 효과를 나타낸다.

지질은 식물세포의 주요 구성요소로 잎은 건조량의 10%가 총 지질이고 잎의 엽록체와 단세포 조류에서는 지질

함량이 더 높다(Kates, 1970). 담배잎의 총 지질과 지방산 함량은 식물의 활발한 생장 단계에서는 최대로 증가하나 노화시에는 감소하며(Koiwai *et al.*, 1981) 차가운 곳에서 자란 콩의 엽록체가 따뜻한 곳에서 생장한 것보다 thylakoid 막의 단백질에 대한 지질비율(단백질/지질)이 높게 나타났다(Champman, 1983). 이와같이 지질함량은 생육시기에 따라 그리고 환경에 따라 변화한다는 것을 알 수 있다. *Crotylus avellana* 종자에 GA 처리로 free sterol이 증가하며(Shewry and Stobert, 1974), *Crotalaria juncea*의 화분관에 GA_3 를 처리하면 water와 기본배지에서(^{14}C) acetate가 총 지질로 incorporation되고 IAA 처리시에는 water 배지에서만 incorporation이 촉진되며 water에서 GA_3 , IAA 처리로 acetate가 PC, PI, phosphatidylglycerol(PG)로 incorporation이 증가한다(Bhandal and Malik, 1980). *Chlorella*에서 추출한 총 지질 함량은 IAA 처리구와 GA_3 처리구에서 증가현상을 보였는데 이는 위와 같은 반응으로 IAA와 GA_3 가 whole cell system과 엽록체의 총지질 합성을 촉진시키는 방향으로 영향을 미쳤을 것이다.

Whole cell system의 IAA 처리구는 PC, PI 합성률이 비슷하지만 GA_3 처리구에서는 PC의 합성률이 현저히 높고 분리한 엽록체에서의 IAA 처리구는 PC, PE, 그리고 PI 합성률이 고르게 높게 나타났지만 GA_3 처리구에서는 PC의 합성률이 높게 관찰되는데 이 결과로 GA_3 처리에 의해 PC의 합성이 촉진되었다고 볼 수 있다. 또한 식물호르몬 처리로 인해 PI 증가는 약하지만 각 인지질의 증가로 total fatty acid methyl ester도 증가함이 관찰되었다. 이같은 결과는 GA_3 처리 2시간 후에 lecithin 합성의 cytidinediphosphatecholine pathway에서 phosphatidylcholine-glyceride transferase 활성이 상당히 증가한다는 보고(Jones, 1973; Bental, 1974; Johnson and Kende, 1971)와 같은 결과이다. 보리 호분층에 GA 처리 4시간 후에 (^{14}C) choline이 조면세포체로 incorporation이 대조구보다 4-8배 증가한다(Evans and Varner, 1971). 식물 호르몬 처리로 활성도에는 차이가 있었지만 이와 비슷한 방법으로 각 인지질 합성 경로의 효소활성에 영향을 미쳐 인지질 합성이 촉진된 것으로 사료된다.

*Chlorella*의 배양기간 동안 인지질을 구성하는 주요 지방산은 palmitic acid, linoleic acid이며 IAA 처리구와 GA_3 처리구의 주요 지방산은 불포화성이 높아지는 경향을 볼 수 있었다. 지방산은 그 농도와 특성에 의존하여 여러 미생물의 생장에 영향을 미치는데 즉 생장촉진, 생장억제 효과가 있으며 불포화 지방산의 농도가 높을 때 세포 투과성을 변화시켜 박테리아 지방산을 흡수해 영양 흡수를 차단하여 antibacterial 효과를 나타내기도 하고, oleic acid는 biotin과 비슷한 활성이 있어 생장을 촉진시키기도 하며 지방산에 의해 병에 대한 저항성이 나타나기도 한다

(Nieman, 1954). 조적배양시에 *Oligorrhiza*의 지질의 지방산은 90%가 palmitic acid, linoleic acid, linolenic acid로 linolenic acid가 거의 대부분이며(Grob and Eichenberger, 1969) cell suspension culture에서 pH에 의해서도 지방산 합성 활성이 영향을 받아 최적 pH 8.0-8.2 사이에서 pyruvate dehydrogenase 활성이 크다(Nothelfer *et al.*, 1977). 이와같이 세포와 세포소기관에서 합성되는 인지질을 구성하는 지방산은 여러가지 특성을 나타내며 생육 시기와 환경 변화에 따라 변화가 생긴다.

이와같이 IAA, GA₃는 translational level에서 작용하여 인지질을 합성하는 효소의 합성과 그 활성에 영향을 미쳐 막을 구성하는 인지질의 합성과 여러가지 구성물질 합성에 영향을 미쳐 이를 조성하는 지방산의 조성에도 영향을 미치는 것으로 생각된다. 따라서 이 지방산의 조성변화로 그 특성에 따라 생장에도 영향을 미쳤으리라 사료되며, 식물 호르몬인 IAA와 GA₃가 인지질과 지방산 합성에 영향을 미치는 효소들과, 그 기능과 기작에 대한 더욱 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

적 요

*Chlorella ellipsoidea*에서 분리한 엽록체의 인지질 생합성과 그의 지방산 조성에 미치는 10^{-3} M의 IAA(indole acetic acid)와 2×10^{-8} M의 GA₃의 효과를 분석하였다. 처리구가 대조구에 비하여 생장률, 총 지질, 인지질 함량이 높은 것으로 나타났으며 특히 GA₃ 처리구에서는 phosphatidylcholine 함량이 높은 것으로 분석되었다. Whole cell system에서의 주요 지방산은 대조구에서는 palmitic acid가 27.43% 였으며 IAA 처리구에서는 linolenic acid가 20.25%로 분석되었다. GA₃ 처리구에서는 linolenic acid가 23.17%로 인지질 형성에 이용된 주요 지방산인 것으로 분석되었다. 분리한 엽록체에서는 대조구의 주요 지방산은 palmitic acid가 35.67%로 나타났으며 IAA 처리구에서는 linolenic acid가 24.91%, GA₃ 처리구에서는 linoleic acid가 22.80%로 인지질 형성에 이용된 주요 지방산으로 분석되었다.

참 고 문 헌

- Abdul-Baki, A.A. and P.M. Ray. 1971. Regulation by auxin of carbohydrate metabolism involved in cell wall synthesis by Pea stem tissue. *Plant Physiol.* **47**: 537-544.
- Allen, C.F. and P. Good. 1971. Acyl lipids in photosynthetic systems. *Methods. Enzymol.* **23**: 523-547.
- Baker, D.B. and P.M. Ray. 1964. Direct and indirect effects of auxin on cell wall synthesis in oat coleoptile tissue. *Plant Physiol.* **40**: 345-352.
- Ben-Tal, Y. 1974. An early response to gibberellic acid not requiring protein synthesis. *Plant Physiol.* **54**: 813-816.
- Bhandal, I.S. and C.P. Malik. 1980. Total and polar lipid biosynthesis during *Crotalaria juncea*. Pollen tube growth: Effect of gibberellic acid, indolacetic acid and (2-chloroethyl)-phosphonic acid. *J. Exp. Bot.* **31**: 931-935.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**: 911-917.
- Bray, T.M., J.A. Magnuson and R. J. Carlson. 1974. Nuclear magnetic resonance studies of lecithin-sketole interaction. *J. Biol. Chem.* **249**: 914-918.
- Chai, I.K. 1971. Relationship between growth, respiration and permeability of *Chlorella* cell treated with gibberellic acid. *Kor. J. Microbiol.* **9**: 149-154.
- Chai, I.K. 1972. Physiological effects of indol acetic acid (IAA) on *Chlorella ellipsoidea*. *Kor. Microbiol.* **10**: 117-127.
- Chapman, D.J., J. De-Felice and J. Barber. 1983. Growth temperature effects on thylakoid membrane lipid and protein content of Pea chloroplasts. *Plant Physiol.* **72**: 225-228.
- Chripells, M.J. and J.E. Varner. 1967. Gibberellic acid-enhanced synthesis and release of amylase and ribonuclease by isolated barley aleurone layers. *Plant Physiol.* **42**: 398-406.
- Chu, H. and T.C. Tso. 1968. Fatty acid composition in tobacco. I. Green *Tabacco* plants. *Plant Physiol.* **43**: 428-433.
- Cleland, R., M.L. Thomson, D.L. Rayle and W.K. Purves. 1968. Difference in effects of gibberellins and auxins on wall extensibility of cucumber hypocotyls. *Nature* **219**: 510-511.
- Collins, G.C., C.F. Jenner and L.G. Paleg. 1972. the metabolism of soluble nucleotides in Wheat aleurone layers treated with gibberellic acid. *Plant Physiol.* **49**: 404-410.
- Conrad, H., P. Saltman and R. Eppley. 1959. Effect of auxin and gibberellic acid on growth of *Ulothrix*. *Nature* **184**: 556-557.
- Cronan, Jr. J.E. and P.R. Vagelos. 1972. Metabolism and Function of the membrane phospholipids of *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Acta* **265**: 25-60.
- Erwin, J. and K. Bloch. 1964. Biosynthesis of unsaturated fatty acids in microorganisms. *Science.* **143**: 1006-1012.
- Etherton, B. 1970. Effect of indole-3-acetic acid on membrane potentials of oat coleoptile cells. *Plant Physiol.* **45**: 527-528.
- Evans, M.L. 1974. Rapid responses to plant Hormones. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **25**: 195-223.
- Evans, M.L. and P.M. Ray. 1969. Timing of the auxin response in coleoptiles and its implications regarding auxin action. *J. Gen. Physiol.* **53**: 1-20.
- Evins, W.H. and J.E. Varner. 1971. Hormone-controlled syn-

- thesis of endoplasmic reticulum in barley aleurone cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **68**: 1631-1633.
- Evins, W.H. and J.E. Vanner. 1972. Hormonal control of polyribosome formation in barley aleurone layers. *Plant Physiol.* **49**: 348-352.
- Garbus, J., H.F. Deluca, M.E. Loomans and F.A. Strong. 1963. The rapid incorporation of phosphate into microcordial lipids. *J. Biol. Chem.* **238**: 59-63.
- Getz, G.S., S.S. Jakovcic, J. Heywood, J. Frank and M. Rabinowitz. 1970. A two dimensional thin-layer chromatographic system for phospholipid separation. *Biochim. Biophys. Acta* **218**: 441-452.
- Gilkes, N.R., E.M. Herman and M.J. Chrispeels. 1979. Rapid degradation and limited synthesis of phospholipids in the cotyledons of Mung bean seedlings. *Plant Physiol.* **64**: 38-42.
- Grob, E.C. and Eichenberger, W. 1969. FEBS (Fed. Eur. Biochem. Soc.) *Lett.* **5**: 335-341.
- Harber, A.H., D.E. Foard and S.W. Perdue. 1969. Actions of gibberellic acid and abscisic acid on lettuce seed germination without actions on nuclear DNA synthesis. *Plant Physiol.* **44**: 463-467.
- Haschke, H.P. and U. L. ttge. 1975. Stoichiometric correlation of malate accumulation with auxin-dependent K^+ - H^+ exchange and growth in *Avena* coleoptyl segments. *Plant Physiol.* **56**: 696-698.
- Holm, R.E. and J.E. Key. 1969. Hormonal regulation of cell elongation in hypocotyl of rootless soybean: An evaluation of the role of DNA synthesis. *Plant Physiol.* **44**: 1295-1302.
- Jarvis, B.C., B. Flankland and J.H. Cherry. 1968. Increased DNA template and RNA polymerase associated with the breaking of seed dormancy. *Plant Physiol.* **43**: 1734-1736.
- Johnson, K.D. and H. Kende. 1971. Hormonal control of Lecithin synthesis in Barley aleurone cells: regulation of the CDP-choline pathway in gibberellin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **68**: 2674-2677.
- Jones, R.U. 1973. Gibberellins: Their physiological role. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **24**: 571-598.
- Kates, M. 1970. Plant phospholipids and glycolipids. *Adv. Lip. Res.* **8**: 225-265.
- Kazama, H. and M. Katsumi. 1974. Auxin-gibberellin relationships in their effects on hypocotyl elongation of light-grown cucumber seedlings. *Plant Cell Physiol.* **15**: 307-314.
- Khuller, G.K., J.N. Verma, V.S. Bansal and P. Talwar. 1978. Changes in the phospholipid composition of *Microsporum gypseum* during growth. *Indian. J. Med. Res.* **68**: 234-236.
- Koehler, D.E. and J.E. Varner. 1973. Hormonal control of orthophosphate incorporation into phospholipids of barley aleurone layers. *Plant Physiol.* **52**: 208-214.
- Koiwai, K. and T. KisaKi. 1979. Changes in glycolipids and phospholipids of tobacco leaves during flue-curing. *Agric. Biol. Chem.* **43**: 597-6101.
- Koiwai, A., T. Matsuzaki, F. Suzuki and N. Kawashima. 1981. Change in total and polar lipids and their fatty acid composition in Tobacco leaves during growth and senescence. *Plant Cell Physiol.* **22**: 1059-1065.
- Kung, S.D. 1977. Expression of chloroplast genomes in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **28**: 401-437.
- Kuraishi, S. and R.M. Muir. 1962. Increase in diffusible Auxin after treatment with Gibberellin. *Science* **137**: 760-761.
- Loescher, W. and D.J. Nevins. 1972. Auxine-dependent changes in *Avena* coleoptile cell wall composition. *Plant Physiol.* **50**: 556-562.
- Loescher, W.H. and D.J. Nevins. 1973. Turgor-dependent changes in *Avena* coleoptile cell wall composition. *Plant Physiol.* **52**: 248-251.
- Lyons, J.M. 1973. Chilling injury in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **24**: 445-466.
- Lytleton, J.W. 1962. Isolation of ribosome from spinach chloroplast. *Exp. Cell. Res.* **26**: 312-317.
- Maclachlan, G.A. 1977. In Plant growth regulation. P. E. Pilet (ed.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 13-20.
- Masuda, Y., R. Yamamoto, H. Kawamura and Y. Yamagata. 1974. Stress relaxation properties of the cell wall of tissue segments under different growth conditions. *Plant Cell Physiol.* **15**: 1083-1092.
- Mazliak, P. and J.C. Kader. 1980. Phospholipid-exchange systems. In, *The Biochemistry of plants*. Vol. 4, Academic, New York. pp. 283-300.
- Morr, D.J. and C.E. Bracker. 1976. Ultrastructural alteration of plant plasma membranes induced by auxin and calcium ions. *Plant Physiol.* **58**: 544-547.
- Moore, Jr. T.S. 1982. Phospholipid Biosynthesis. *Ann. Rev.* **33**: 235-59.
- Mudd, J.B. 1980. Phospholipid Biosynthesis. In, *The Biochemistry of plants*. Vol. 4, Academic, New York. pp. 249-281.
- Nevins, D.J. 1975. The effect of nojirimycin on plant growth and its implications concerning a role for exo- β -glucanases in auxin-induced cell expansion. *Plant Cell Physiol.* **16**: 347-356.
- Nothelfer, H.G., R.H. Barckhaus and F. Spener. 1977. Localization and characterization of the fatty acid synthesizing system in cells of glycine max (soybean) suspension cultures. *Biochim. Biophys. Acta* **489**: 370-380.
- Ono, T.A. and N. Murata. 1981. Chilling susceptibility of the blue-green alga *Anacystis nidulans*. *Plant Physiol.* **67**: 182-187.
- Paultauf, F. and J.M. Johnston. 1970. Lipid metabolism in

- inositol-deficient Yeast *Sacharomyces carlsbergensis*. I. *Biochim. Biophys. Acta* **218**: 424-430.
- Pick, U., K. Gonnaris, A. Admon and J. Barber. 1984. Activation of the CF₀-CF₁ ATP synthetase from spinach chloroplast by chloroplast lipids. *Biochim. Biophys. Acta* **765**: 12-20.
- Radwan, S.S. and H.K. Mangold. 1976. The lipids of plant tissue cultures. *Adv. Lipid Res.* **14**: 171-211.
- Ray, P.M. 1973. Regulation of β -glucan synthetase activity by Auxin in Pea stem tissue. *Plant Physiol.* **51**: 601-608.
- Rayle, D.L. and R. Cleland. 1970. Enhancement of wall loosening and elongation by acid solutions. *Plant Physiol.* **46**: 250-253.
- Sato, N. and N. Murata. 1980. Temperature shift-induced responses in lipids in the blue-green alga *Anacystis Variabilis*. *Biochim. Biophys. Acta* **619**: 353-366.
- Schroit, A.J. and Ruth Gallily. 1979. Macrophage fatty acid composition and phagocytosis. *Immunology* **36**: 199-205.
- Sheway, P.R. and Stobart A. K. 1974. Effect of gibberellic acid on sterol production in *Corylus avellana* seeds. *Phytochemistry* **13**: 347-355.
- Singer, S.J. and G.L. Nicolson. 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membrane. *Science* **175**: 720-731.
- Skipski, V.P. and M. Barilley. 1969. Thin layer chromatography of lipids. *Methods. Enzymol.* **14**: 530-598.
- Sparace, S.A. and T.S. Moore, Jr. 1979. Phospholipid metabolism in plant mitochondria. *Plant Physiol.* **63**: 963-972.
- Spector, A.A. and M.A. Yorek. 1985. Membrane lipid composition and cellular function. *J. Lip. Res.* **26**: 1015-1035.
- Tamiya, H., K. Shibata, T. Iwamura, T. Sasa and Y. Morimuta. 1953. Effects of diurnally intermittent illumination on the growth and some cellular characteristics of *Chlorella*. *Carnegie Inst. Wash. Publ.* **600**: 76-81.
- Tattarie, N.H. and I.A. Veliky. 1973. Fatty acid composition of lipid in various plant cell cultures. *Can. J. Bot.* **51**: 513-516.
- Tuner, J.D. and G. Rouser. 1970. Precise quantitative determination of human blood lipids by thin-layer and triethylaminoethylcellulose column chromatography. *Anal. Biochem.* **38**: 423-436.
- Walker, K.A. and J.L. Harwood. 1985. Localization of chloroplastic fatty acid synthesis de novo in the stroma. *Biochem. J.* **226**: 551-556.
- Wood, A. and L.G. Paleg. 1972. The influence of Gibberellic acid on the permeability of model membrane systems. *Plant Physiol.* **50**: 103-108.

(1992. 9. 1 接受)