

효모의 미토콘드리아와 M-DNA

洪 淳 佑

(서울대학교 · 文理科學 · 微生物學科)

On the Mitochondria of Yeast and M-DNA

HONG, Soon-Woo

(Dept. of Microbiology, Seoul National Univ.)

近年 생화학의 급속한 발전에 따라 여러가지 유기저분자 생체성분을 위시하여 복잡한 고분자 생체성분의 生合成의 기구도 점차 밝혀지고 있다. 특히 유전정보와 밀접한 관계를 맺고 있으며, 일정한 구조를 가지고 있는 단백질이라든가 핵산의 生合成에 관한 연구는 分子生物學의 발전과 더불어 매우 눈부신 발전을 하고 있다.

그러나 한편으로는 단백질을 중심으로 하여 脂質이나 糖分과 결합되어 이루어졌다고 여겨지는 세포내 여러 subcellular units 즉 여러 微細構造體는 어떠한 기구로써 형성되며 또 구조에 따른 기능이 어떻게하여 이루어지는지에 대하여서는 아직 分子레벨에서의 해명이 잘 안되고 있는 실정이다. 다만 전자현미경기술의 발전에 따라 과거 20여년내로 여러 구조체, 이를테면 세포막,

핵, 엽록체, 미토콘드리아, 라이보솜, 라이소솜 및 세포질 내의 vacuolar systems 따위의 미세구조가 점차 밝혀지고 있는 것을 계기로 하여 이들 구조체의 molecular structure도 장차 알려질 것을 기대하게 되었으며 이 문제가 해결됨으로서 生命現象의 分子的基礎가 명백해 질것을 예측케 해주고 있다.

세포내 구조체 가운데서도 그 형성의 기구가 가장 뜻깊으며 흥미로운 것은 plastids와 mitochondria이다. 이들 구조체는 특히 세포속에서 가장 중요한 물질의 합성과 분해를 도맡아 하는 것으로서 에너지 대사와도 밀접한 관계를 맺고 있다. 이들은 또한 細胞質遺傳, 일명 非멘델식 유전의 기본이 되는 核外遺傳子 즉 核外에 특유한 DNA를 가지고 있다는 點에서 새로운 유전생화

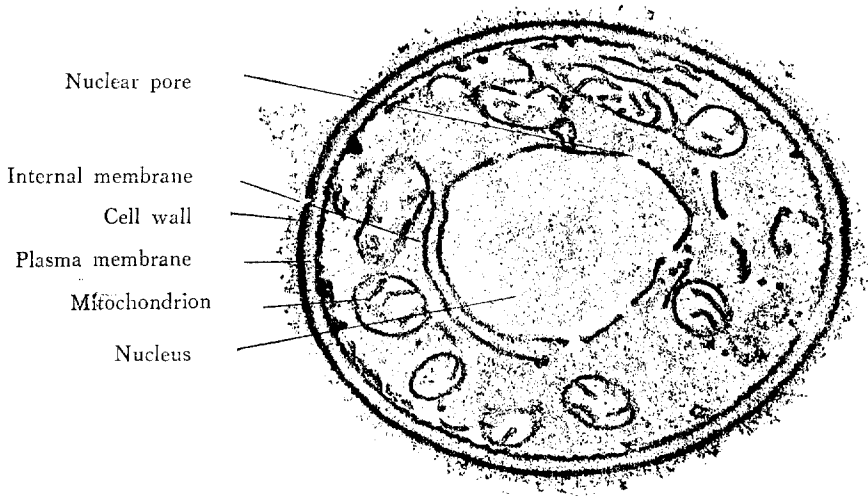


Fig. 1. Electron Micrograph of a thin Section of a Yeast Cell.

학의 분야를 개척케 하고 있으며 구조체의 형성 기구만이 아니라 오늘날 고도로 分化된 생물의 유전정보 및 遺傳制御의 기능을 이해하는데도 큰 도움이 될 것으로 짐작된다.

1. 미토콘드리아의 구조

이미 잘 알려져 있는 바와 같이 無核生物에 있어서는 이것의 구조는 매우 간단하며 문제시 될 바가 아니겠으나 有核生物에 있어서는 비록 효모라고 할지라도 고등생물의 그것과 별다른 구조적 차이가 없으며 다만 크기나 수효에 있어서 그 특이성이 있음을 알 수 있다. 크기에 있어서는 일반적으로 고등한 생물에서 0.5~3.0 $\mu$  정도로 알려져 있는 것이 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)에서는 0.2~3.0 $\mu$  정도의 구형에 가까운 것이 보고되고 있다(Linnane & Still 1955). 효모의 미토콘드리아는 또한 수효나 구조에 있어서 차이가 있으며 好氣性효모는 혐기성효모에 비하여 월등하게 많으며 또한 내부구조체도 더 잘 발달되어 있다.

따라서 미토콘드리아는 好氣性세포에 있어서의 에너지生産의 장소라고 하며, 호흡효소, 인산화에 관여하는 많은 효소, *Kreb's cycle*에 필요한 여러 효소 및 지방산 산화에 관여하는 효소까지도 지니고 있다.

효모뿐 아니라 모든 생물의 미토콘드리아에는 이와같이 호흡효소가 특히 많이 들어 있는 구조체이며 세포내에서 합성되는 전 ATP의 85% 이상을 여기에서 생산한다.

근간 DNA에 관한 연구에서 특히 核外遺傳子の 작용기구를 연구하는데 酵母가 많이 利用되는 것은 이것이 미토콘드리아를 지니고 있는 생물 가운데서 가장 下等한 세포라는 것도 사실이었으나 酵母는 특히 好氣性和 嫌氣性生育型이 있다는 점에서 더 잘 이용된다. 즉 효모는 糖分만 있으면 언제나 발효나 호흡에 의하여 에너지를 얻기 때문이다. 따라서 呼吸缺損變異라고 불리는 突然變異가 잘 생기기 때문에 또한 유리하다. 이것은 이 밖에 嫌氣性培養을 한 酵母에 運氣단

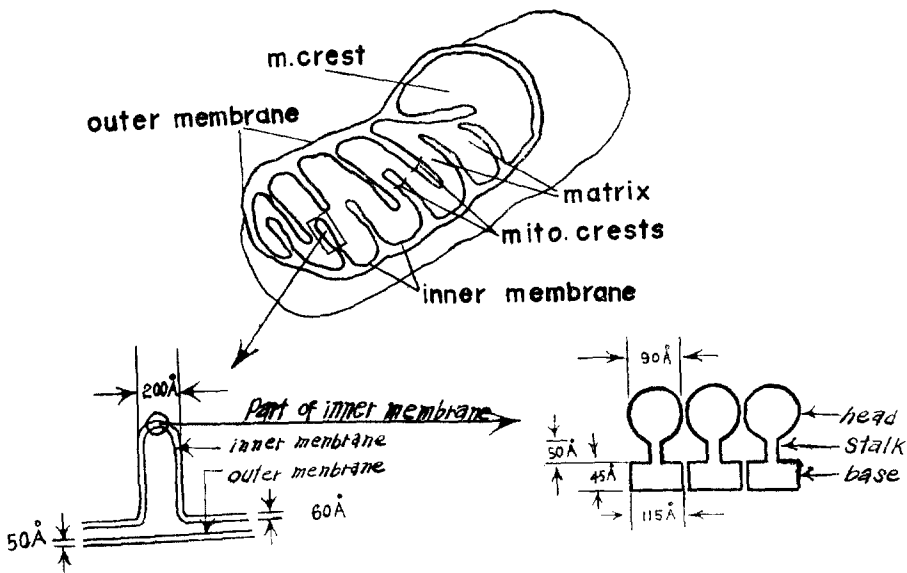


Fig. 2. 미토콘드리아의 미세구조(모형도) : 미토콘드리아는 內外 2종의 膜으로 되어 있으며 내막은 약 60Å, 외막은 약 50Å의 두께를 가지고 있으며 다같이 蛋白質과 脂質을 주성분으로 하고 있다. 특히 내막은 안쪽으로 褶曲을 이루고 있으며 頭部, 자루부 및 基底部의 3부분으로 되는 3分體型的 基本粒子的 集合體로 되어 있다.

해주면 다시 미토콘드리아는 잘 발달하여 호흡계의 형성을 유도하게 되며 호흡적응(respiratory adaptation)을 잘 한다(Fukuhara 1967).

따라서 세포질유전의 기구를 연구하는데는 많은 사람들이 고등동물보다 효모를 더 쓰고 있으며 좋은 결과를 얻고 있는 것이다.

2. M-DNA 와 呼吸欠損變異株

*Neurospora crassa* 같은 것이 세포질 유전을 하는 呼吸欠損變異株가 있다고 하는 것은 이미 오래된 일이다. Mitchell 와 Mitchell(1952)가 *N. crassa*의 호흡결손 변이주에 대하여 연구한데 이어 Ephrussi(1953)는 효모의 변이주에 대하여 생화학적 연구를 시작한 바 있다. 이들은 다같이 세포질 유전을 하는 呼吸欠損菌을 재료로 하였으며 이들 균은 모두 呼吸酵素系인 cytochrome 系酵素가 결핍되어 있다는 것을 밝혔다. 효모에서는 주로 산화효소인 cytochrome a, a<sub>3</sub>와 cytochrome b 및 c<sub>1</sub>이 없으며 호흡능을 상실하고 있는 돌연 변이주가 연구대상이 되고 있다. 이러한 균주를 특히 Petite 株라고 하며 ρ-주로 표시한다.

즉 그림 3에서 보는바와 같이 세포질유전을 하는 효모의 呼吸欠損變異株(Petite 株) 즉 ρ-株의 M-DNA는 야생주의 M-DNA와 밀도에 있어서 서로 상이함을 알 수 있다.

이와같은 사실은 미토콘드리아가 지니는 DNA (M-DNA)와 핵의 DNA(N-DNA)와는 서로 별도로 유전에 관여한다는 것을 시사해 주는 것이며, 이것은 미토콘드리아의 생合成에 있어서 핵의 DNA에 첨가하여 몇가지 국한된 단백질 합

성을 조절하는 것이라고 하지만 미토콘드리아는 그 자체가 호흡기능을 갖는다는 점에서 볼 때 어떤 호흡효소의 결핍이란 유전정보기구의 해명이 있어서 매우 중요한 열쇠를 지니고 있는 것이라고 하겠다.

일방으로 M-DNA는 N-DNA의 경우와 마찬가지로 semiconservative하게 複製가 된다는 것이다. 이 複製에는 미토콘드리아에 존재하는 특유

Fig. 3. 효모의 M-DNA의 CsCl 密度勾配遠心圖

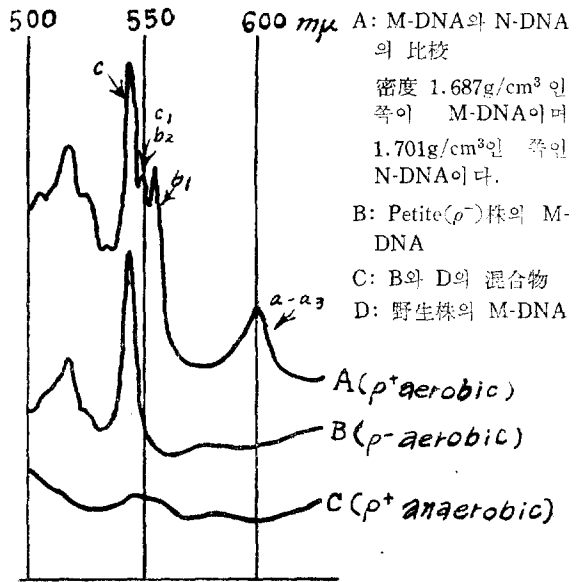


Table 1. 正常미토콘드리아의 호흡효소의 종류 및 그 분포(\*이러한 효소계에서 ρ-株는 cytochrome a, a<sub>3</sub>, b 및 c<sub>1</sub>이 결핍됨)

外 膜	ATP 從屬, fattyacyl CoA 合成酵素, monoamine oxidase, 코린, 磷酸轉位酵素, phospholipase	nucleoside 2 phosphokinase, phosphotidase, glycerol 인산 아실轉位酵素, nucleoninhydroxylase
膜 同 層	adenyl 酸 kinase	nucleoside 2 phosphokinase
內 膜	cytochrome a*, a <sub>3</sub> * cytochrome c <sub>1</sub> * 酸化의 磷酸化系酵素	cytochrome b.* 호박산 dehydrogenase NADH dehydrogenase
基 質	농금酸 dehydrogenase 푸르타민酸 dehydrogenase 필빈酸 dehydrogenase 지방酸酸化酵素, 필빈산 carboxylase, aconitase,	이소구연산 dehydrogenase α-ketoglutar dehydrogenase, 구연산合成酵素 fumarase, transaminase fatty acyl CoA 合成酵素

의 DNA polymerase가 관여한다는 몇가지 보고가 있다. 그리고 M-DNA는 數種의 例外的인 것을 제외하고 모두 正常條件下에서는 세포분열시에 주로 증가하며 N-DNA가 replication되기에 조금 앞서 생성된다고 한다. 이러한 결과를 종합하면 M-DNA는, 미토콘드리아가 새로 생성될 때에 만들어 진다는 것이며 이 DNA와 N-DNA가 어떠한 관계를 가지고 RNA에 정보전달이되며 또한 단백질대사에 관여하게 되느냐 하는 것이 문제가 된다.

### 3. $\rho$ 因子와 M-DNA

酵母에 함유되어 있는 특수한 DNA는 유전정보의 기구해명에 크게 이바지하게 될 것이라고 하는 것은 M-DNA가 발견된지 10여년 후의 일이다.

그간 크게 문제시 된 것은 효모의 M-DNA와 고등생물의 M-DNA와는 어떤 유사성이 있으며 또 어떠한 점이 상이한지를 밝히는 것이었다. 이것은 또 더 나아가서 M-DNA는 어떤 유전자에 함유되어 있을 것인가 하는 문제이다. 유사성 내지 상이점에 관하여서는 아직 확정된 정설이 없으나 일반적인 견해는 고등동물의 M-DNA에 비하여 分子量은 매우 크다고 하는 것이 특징이다. DNA의 길이에 대하여서도 효모의 경우는 分子配列이 直線狀이며 더 길다고 하는데 비하여 사람에게 따라서는 별차 없다고 하는 보고도 있다. 다만 같다고 여겨지는 것은 이들 M-DNA는 다 같이 유전자구성이 비교적 단순하다는 것이다. 따라서 M-DNA의 유전자구성이란 문제 특히 細胞質遺傳子로서 이미 잘 알려져 있는  $\rho$  因子와 M-DNA와의 관계성 따위 제반문제는 과거 20년간의 숙제였다고도 할 수 있다. 이 관계에 대하여서는 그간 M-DNA가 발견된 이래로  $\rho$  變異株에는 M-DNA가 없다든지 또는  $\rho$  變異株에는 逆變異가 단 일어난다는 것 따위로 주목을 끌어 왔었다. 그러나 오늘날까지 M-DNA가 완전히 상실되었다고 하는  $\rho$  變異株은 없는상 싶으며 어느變異株에서라도 언제나 M-DNA는 검출된다는 것이 타당하다. 나아가서 M-DNA는 또한 CsCl 용액중에서 정상적인  $\rho^+$  株과 변이주인  $\rho^-$  株에 따라 密度變化의 정도가 다르다는 사실이 밝혀졌

다. Mounolou *et al*(1966)에 의하면 M-DNA( $\rho^+$ )는 1.683g/cm<sup>3</sup>의 밀도를 지니고 있는데 비하여  $\rho^-$ 는 극단인 경우 1.679g/cm<sup>3</sup>정도 내지 그 以下の 밀도를 지니는 경우가 알려져 있다. 1970년 Bernardi에 의하면 이들  $\rho^-$  주에는 DNA의 base composition에도 차이가 있으며 구아닌과 싸이토신의 함량(GC%)이  $\rho^+$  주(약 18%)에 비하여 작다는 것이 문제가 된다. 이와같은 사실이 점차 밝혀지자 사람에게 따라서는 M-DNA와  $\rho$  因子는 거의 같은 것이 아니겠느냐 하는 견해까지 나오게 되었다.

### 4. 미토콘드리아와 蛋白質合成

미토콘드리아 속에는 특수한 DNA가 들어 있으므로 특유한 단백질합성체가 있을 것이 예측된다. 이 合成系는 또한 M-DNA의 유전정보를 해석하는데 큰 역할을 할 것도 또한 기대되는 사실이다. 이미 여러가지 생물 세포의 미토콘드리아에는 그것에 특유한 DNA의존 RNA 合成酵素가 존재한다는 것이다. 이것은 마침내 M-DNA와 m-RNA의 작중형성의 가능성(Ashai 1970), 또는 M-DNA의존 RNA의 合成은 특히 박테리아의 DNA의존 RNA 合成系와 유사점이 많으며 N-DNA의존 合成과는 매우 다르다는 것이다.

이밖에 미토콘드리아에는 세포질의 ribosome과는 다른 특유의 ribosome이 있으며 이들에 의한 蛋白質合成과정이란 M-DNA의존 蛋白質合成系로서 특징이 있으며 N-DNA에 의존한 보통 세포질에 있어서의 r-RNA의존 蛋白質合成系와 다르다는 것이 알려졌다.

Table 2. M-DNA와 Mitochondria의 ribosomal RNA의 雜種실험의 결과

RNA DNA	$\rho^+$ ribosomal RNA	$\rho^-$ ribosomal RNA
$\rho^+$ M-DNA	1.5~1.7	0.8
$\rho^-$ M-DNA	0.8	1.5
$\rho^+$ N-DNA	2.5	2.4
$\rho^-$ N-DNA	2.3	2.5

表中の 數字는 DNA가 ribosomal RNA에 의하여 飽和되었을때, hybrid 中の RNA가 차지하는 重量%이다. 이 실험에서는 세포질의 ribosomal RNA와 正常의 N-DNA는 hybrid를 만들어  $\rho^+$  株의 ribosomal RNA는  $\rho^-$  株의 M-DNA와 hybrid가 안된다.

이와같이 하여 M-DNA는 유전적으로 蛋白質合成에 관여하되 그것은 극히 제한된 종류의 어떤 蛋白質合成에 관여한다는 것과 그 蛋白質은 주로 미토콘드리아 속의 어떤 종류일 것이며 N-DNA에 비하여 극히 소수의 蛋白質合成에만 관여한다는 것이 알려지게 되었다. 즉 *neurospora*의 미토콘드리아에서는 약 18종의 t-RNA가 존재한다고 하며 18여종의 蛋白質合成이 M-DNA에 의하여 조정된다는 것이다. 이러한 연구는 마침내 酵母나 *neurospora* 같은 것은 미생물의 좋은 研究材料로 사용되어 왔다. 특히 酵母에 있어서는  $\rho^+$ 株와  $\rho^-$ 株의 M-DNA 및 이것에 의존한 RNA등과의 雜種실험에서 그 특이성이 많이 알려지고 있으며, *neurospora*에 있어서는 역시 呼吸酵素결손균 가운데서 세포질유전자의 변이주인 mi-1(poky)주에 대한 유전정보기구가 많이 진전되고 있다. (표 2)

이들 변이주에 관한 연구결과는 다같이 구조蛋白質의 1部, cytochrome a, a<sub>3</sub>, b 따위가 극히 缺損症을 이르는 반면 cytochrome c가 야생주보다 월등하게 다량 검출된다. 그리고 a, a<sub>3</sub> 및 b는 mitochondrial crest의 膜에 잘 결합되는 것들인데 이들은 한결같이 M-DNA의 control를 받으며 cytochrome c 및 TCA cycle 중의 어떤 dehydrogenase와 같은 소위 可溶性酵素들은 N-DNA의 지배를 받고 있음이 알려졌다. 한편 Linnane (1968) 등은 抗生物質을 써서 같은 실험을 하고 있는데 이들은 효모의 미토콘드리아에서의 蛋白質合成을 선택적으로 조해하는 chloramphenicol의 존재하에서 효모를 생육시키면 cytochrome a, a<sub>3</sub>, b, c<sub>1</sub> 등의 형성이 억제되며 M-crest의 형성도 불안정하지만 cytochrome c는 정상 또는 정상보다 더 많이 형성된다(Fig. 3). 또 한편 세포질의 ribosome에서는 蛋白質合成을 크게 조해하는 것으로 알려진 cycloheximide가 cytochrome a, a<sub>3</sub> 및 b의 형성에는 아무런 영향도 미치지 않는 것이다.

이밖의 어떤 研究報告에 의하면 mitochondria속에서 ribosome의 形成은 N-DNA에 의한다는 것등 여러가지가 있다. 그러나 종합해 본다면 M-DNA가 유전적으로 制御하고 있는 蛋白質

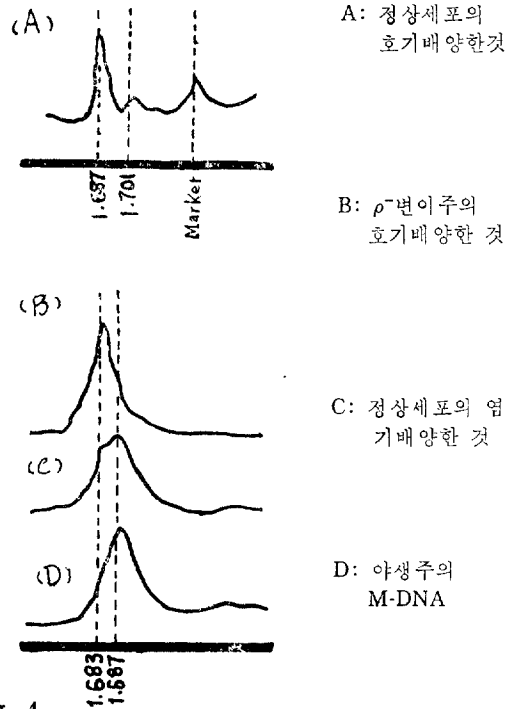


Fig. 4. 효모의 cytochrome 스펙트럼: 효모를 원심분리하고 침전된 세포에 적정광을 통하여 carry 15로서 스펙트럼을 기록한다.

은 단지 구조단백질과 cytochrome a, a<sub>3</sub> 및 b 뿐이며 가용성蛋白質등 여타 여러가지는 대부분이 N-DNA 또는 핵의 유전자에 의하여 지배되고 있는 것으로 해석된다.

5. Mitochondria 形成의 機構

M-DNA가 유전을 지배하는 것은 膜에 잘 결합되어 있는 효소를 포함한 소수의 단백질 뿐이다. 이들 단백질은 미토콘드리아 속에서의 단백질 합성계를 통하여 만들어지며 미토콘드리아의 구조형성에 관여하는 것이다. 따라서 미토콘드리아형성에는 주로 M-DNA 이외에 주로 많은 종류의 단백질과 효소가 N-DNA에 의하여 조절되는 것이 確實하다. 그러나 문제는 이들 단백질이 어떤 기구에 의하여 만들어지며 또 미토콘드리아 속으로 들어오게 되는가 하는 것이 당면과제로 되어있다.

이 문제를 다루기 이전에 미토콘드리아 자신이 세포속의 어디에서 형성이 되는가 하는것을 밝혀두어야 한다. 이것에 관하여서는 일찌기 여러

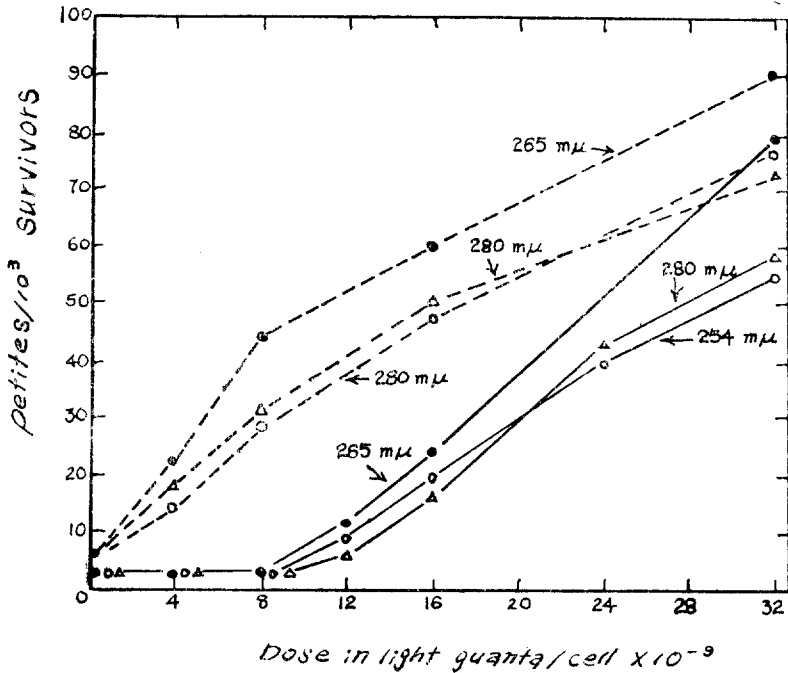


Fig. 5. Petite 돌연변이주(*Saccharomyces cerevisiae*의 1種)의 차의선도입곡선(直線은 aerobic cell의 경우이며 點線은 anaerobic cell의 경우이다) Wilkie(1963).

가지 학설이 있으나 비교적 정설에 가까운 것은 다음 2가지 학설인상 싶다.

1) 미토콘드리아의 膜은 앞서 말한 바와 같이 생물의 基本膜의 일종이며 다른 生體膜과의 유사성으로 보아 미토콘드리아는 세포막이라든가 핵막의 일부 또는 핵포계의 膜구조체가 변하여 된다고 하는 것이다. 이 문제는 1964년경부터 Bell and Muhlethaler 등에 의하여 주장하기 시작하였으며 그들은 이것을 nuclear budding 이라고 하였으며 이 생각은 다음에 핵의 유전자가 미토콘드리아의 단백질합성에 관여하게 된다는 것을 설명하는데 편리하다. 이밖에 세포막에 기인한다고 하는 설도 여러사람에 의하여 주장되고 있다. 이것은 박테리아의 mesosome이 호흡효소계를 많이 함유하고 있다는 점에서 유리하게 전개되고 있다.

2) 미토콘드리아는 자기자체의 분열에 의하여 증가한다는 해석이다. 이것은 전자현미경적으로도 많은 지지를 받고 있는 학설이기도 하다. 또 Luck(1963)는 生化學的方法을 써서 이 설을 지지하는 결과를 보고하고 있다. 그는 C<sup>14</sup>으로 미토콘드리아의 지질분을 표지하고 그 뒤에 표지된

코린을 다량 공급하여 본 결과 새로 생성된 미토콘드리아에 이 C<sup>14</sup>이 고르게 분포되어 있음을 관찰하고 있다. 이와같은 여러증거는 미토콘드리아가 분열하여 증식하며 또 수직 증가가 이루어진다는 것인데 문제는 이러한 전기 두 가설에서 어떻게 N-DNA에 의존하여 형성되는 단백질이 미토콘드리아 속으로 들어가게 되느냐 하는 것이다.

Kadenback 등은 C<sup>14</sup>-amino acid 를 in vitro로서 microsome 에 주어 단백질에 전입시킨 실험에서 microsome의 C<sup>14</sup>단백질이 미토콘드리아에 移行되어감을 증명하고 있다. 이 실험이 사실이라면 N-DNA의 제어를 받아 만들어지는 대부분의 미토콘드리아 단백질은 세포질에서 ribosome RNA 에 전달되며 보통 방법에 의하여 합성된다는 것이며 이것이 미토콘드리아가 새로 형성될 때 그 속으로 들어가게 된다는 것이다. 이때 이와 때를 같이하여 미토콘드리아 속의 유전자 즉 M-DNA에 의존하는 단백질도 미토콘드리아속의 단백질합성효소계에 의하여 生合成이 일어나며 미토콘드리아의 구조형성에 관여하게 될 것이라고 여겨지는 것이다. 그러나 이러한 과정이란 극히

피상적인 것에 불과하며 아직 더 상세한 기구는 설명불가능한 형편이며 특히 구조형성에 있어서 磷脂質의 역할 등은 더 많은 分子의레벨에서의 연구가 이루어져야지만 이들 M-DNA 및 N-DNA 에 의존하는 미토콘드리아의 生合成이 완전히 설명될 것으로 짐작된다.

#### 9. 미토콘드리아 生合成에 있어서의 抗生物質의 영향

골으로 抗生物質에 대한 耐性變異가 M-DNA 유전기구에 어떻게 개입하느냐 하는 것을 살펴보기로 하자. 이 실험에서 흔히 사용되는 抗生物質로서는 chloramphenicol 와 erythromycin, 따위인데 이들 物質은 呼吸適應의 阻害劑로 작용한다. 효모를 chloramphenicol 함유배지에서 배양하면 외관상에는  $\rho$ -변이주와 같이 호흡불능의 세포로 된다. 이것은 Linnane 등이 말하고 있는 바와 같이 chloramphenicol 이 미토콘드리아 속에서 단백질 합성을 특이하게 억제하는 탓이라 해석된다. 그러나 이때 세포질 속의 일반 단백질 합성은 아무런 영향도 받지 않는 것이 흥미를 끄는 것이다. 즉 미토콘드리아 呼吸蛋白質 가운데서 cytochrome c 는  $c_1$  과 달리 N-DNA에 의하여 구조가 결정된다는 것이 알려져 있는데 이때 이것의 합성은 전질 chloramphenicol 의 영향을 받지 않는다.

한편 chloramphenicol 의 이러한 작용에 대비하여 cycloheximide 는 세포질의 단백질 합성을 강력하게 억제한다. 따라서 효모는 이 물질이 있는 한 생육은 불가능한 것이며 또한 호흡적응도 안 일어난다. 그러나 또하나 흥미 있는 것은 이 두 抗生物質은 다 같이 단백질합성에는 영향을 끼치지지만 RNA 의 합성에는 별 영향이 없다는 사실이다. 이를테면 chloramphenicol 의 존재하에서 배양한 효모는 미토콘드리아 특유의 ribosomal RNA 를 그대로 합성하나 단백질 합성은 안된다는 것이 그 특성의 하나가 된다.

따라서 이 두가지 抗生物質은 앞서 언급한 바와 같이 蛋白質合成에만 특이하게 억제작용을 나타내기 때문에 적당효모는 이들 물질의 존재하에서는 생육이 불가능하다. 단 耐性변이주는 균체를 이루며 생육을 하게 되는 것이다. 이러한 耐性變異株는 최근 Linnane, Wilkie 및 Slonimski 등의 각 연구실에서 선택된 균주로서 많은 재료를 제공해 주고 있다. 동시에 이들 균주의 대부분은 세포질유전을 하며 M-DNA의 한 변이라고 하는 것을 증명하려는데 큰 도움을 주고 있다.

이와같이 효모의 미토콘드리아에 관한 연구는 미토콘드리아 자체의 생합성 및 형성기구를 설명하는데 이바지하고 있을 뿐 아니라 유전정보의 기구해명에서 특히 세포질 유전의 계 문제를 해결하는데 새로운 연구분야를 개발시켜 주고 있다.

#### 引用文獻

- Ashai Tadashi(1970). *Kagaku to seibutsu* Vol.8. No. 12.
- Bernardi G., M. Faures and P. slonimski(1970). *Jour. Mol. Biol.* 48. 23.
- Brock T.D.(1970). *Biology of microorganisms*. Prentice Hall Inc. New Jersey.
- Fukuhara Hiroshi(1970). *Kagaku to seibutsu*. Vol. 8 No. 11.
- Linnane A.W., and J.L. Still(1955) *Arch. Biochem. and Biophys.* 59. 383.
- Linnane. D.R. Biggs, M. Huang and G.D. Clark-walker.(1968). *Aspects of Yeast metabolism* p.217
- Luck D.J.(1963). *Proc. Nat. Aca. Sci.* 49, 238
- Mitchell H.K. and M.B. Mitchell,(1952). *Proc. Nat. Aca. Sci.*, 38, 442
- Mounolor. J.C., H. Jacob and P. slonimski (1966) *Biochem. Biophys Res. Comm.* 24. 218
- Pridham. J.B.(1970). *Plant Cell Organelles*. Academic press. London and New York