

Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803 *psaB* 돌연변이주의 광합성 전자전달에 미치는 호흡의 영향

윤병철·장남기

서울대학교 생물교육과

Influence of Respiration on Photosynthetic Electron Transport in *psaB* Mutants from Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803

Yoon, Byoung-Cheol and Nam-Kee Chang

Dept. of Biology Education, Seoul National University

ABSTRACT

The influence of respiration on photosynthetic electron transport were investigated in the wild type and *psaB* mutants from *Synechocystis* sp. PCC6803.

The amount of glucose uptake in the wild type was proportional to the glucose concentration added in wild type and less than that of *psaB* mutants in the dark. It was suggested that *psaB* mutants more depend on the glucose than the wild type.

It was investigated how the activities of isocitrate dehydrogenase(IDH) and glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH) were changed. The activities of IDH were very low. While, the activities of G6PDH were much higher than that of IDH. These results agree to the reports that exogenous glucose was disimilated aerobically via Oxidative Pentose Phosphate Pathway in heterotrophic cyanobacteria. *PsaB* mutants showed high G6PDH activity in the presence of glucose as well as in the dark and high respiratory activities especially in the dark.

It was also investigated how photosynthetic electron transport activities were changed. *PsaB* mutants showed higher photosynthetic electron transport activities than wild type in the presence of glucose as well as in the dark.

In the results, it was proposed that photosynthetic electron transport between PS I and PS II was complemented by respiratory electron transport through the NADPH generated by Oxidative Pentose Phosphate Pathway in *psaB* mutant from *Synechocystis* sp. PCC6803.

Key words: Photosynthetic electron transport, Respiration, *Synechocystis* sp. PCC6803, *psaB* mutant, Glucose uptake, IDH, G6PDH, Respiratory electron transport activity.

서 론

광합성은 식물이나 광합성 세균에 의해 빛 에너지를 화학 에너지로 바꾸는 과정이다. 이는 두 과정으로 나눌 수 있는데, 하나는 빛 에너지를 ATP와 NADPH로 바꾸어 주는 광반응이며 또 하나는 이 ATP와 NADPH를 탄소 동화작용에 의해 CO₂를 탄수화물로 환원시키는데 사용하는 암반응이다.

Cyanobacteria는 산소를 발생시키는 광합성 원핵 세균이다. 이것은 고등 식물과 유사하게 photosystem(PS) I 과 II를 가지고 있다. Cyanobacteria에서 'Z-scheme'의 광합성 전자전달계는 PS II에서 물의 광분해로 생긴 전자를 PS I의 최종 전자 수용체인 NADP⁺에 전달한다. 이 전자 전달계에 관여하는 cytochromes(cytochromes b₆f and b₅₅₃), quinones(e.g. plastoquinone), plastocyanin 등을 포함한 여러 산화·환원 매개체가 존재한다. 여기서 cytochrome b₆/f complex는 미토콘드리아의 cytochrome b/c complex와 유사하며 cytochrome C₅₅₃은 PS I을 환원시킨다. 이들 중에는 전자뿐만 아니라 수소를 전달하는 매개체들도 있어 틸라코이드 막 사이에 양성자의 전기화학적 농도 구배를 형성하여 양성자가 방출되면서 ATPase에 의해 ATP가 생긴다. 비순환적 전자전달은 PS I, II가 모두 관여하며 물의 산화가 NADP⁺의 환원과 광인산화반응과 연결되어 있다. 순환적 전자전달은 PS I만 관여하여 광인산화 반응을 수행한다. 정상 세포에선 광합성 전자전달의 최종 전자수용체는 일반적으로 O₂인데, 틸라코이드 막을 추출할 때 엽록체의 막이 파괴되어, stroma의 soluble한 성분이 씻겨 나가므로 전자전달계는 있되 전자수용체가 없는 억제 상태로 존재한다. 이때 적절한 산화, 환원 전위를 가진 전자 수용체를 넣어 주면 전자가 전달되어 이것을 통해 전자전달능을 연구할 수 있다.

생물은 이 광합성뿐만 아니라 호흡(respiration)을 통하여 생명활동에 필요한 에너지를 얻는다. 호흡의 생리적인 기능은 주로 암조건에서 생존에 필요한 에너지를 얻는데 있다. 이 호흡과 광합성은 상반된 물질대사 과정으로, 광합성은 환원적 합성 과정인데 반해 호흡은 산화적 분해 과정이다. 호흡은 저장 탄수화물이나 외부로부터 흡수한 glucose 등 탄수화물을 해당과정, TCA cycle, Oxidative Pentose Phosphate Pathway(5탄당 인산 산화 회로) 등 여러 탄수화물 분해 경로를 통해 에너지를 얻는다. 이 때도 (호흡) 전자전달계가 관여하며, 이를 산화적 인산화라 한다. 광합성 전자전달계는 틸라코이드 막에 존재한다. 호흡 전자전달계의 위치에 대해선 여러 의견이 많았지만, 이제까지 조사된 모든 cyanobacteria에서는 호흡 전자전달계의 산화·환원 성분들이 틸라코이드상에서 발견되었다. 따라서 호흡 전자전달계는 광합성 전달계에 근접해서 작동하는 것으로 여겨졌다. 호흡에 대한 광(light)의 억제작용 등 호흡과 광합성 전자전달계 상호작용에 관한 연구가 많이 되면서 광합성 전자전달계의 plastoquinone, cytochrome b₆/f, cytochrome c₅₅₃(plastocyanin)이 호흡 전자전달에 관여하는, 즉 공유되는 것으로 받아들여지게 되었다(Scherer *et al.*, 1988; Peschek, 1987). 따라서 광합성의 PS II에서 전달된 전자나 호흡에서의 NAD(P)H에서 전달된 전자는 공유된 전자 전달계-plastoquinone, cyt b₆/f, cyt c₅₅₃(plastocyanin)-를 거치고 cyt c₅₅₃(plastocyanin)에서, 호흡의 경우는 cyt aa₃(cytochrome oxidase)를 통하여 산소에 전자를 전달하고 광합성의 경우는 PS I을 거쳐 FNR(ferredoxin : NADP⁺ oxidoreductase)에 의해 NADPH가 생성되게 된다.

호흡 전자전달계의 주된 환원력은 NAD(P)H로 보는데, 암조건에서 NADPH의 산화는 FNR의 dehydrogenase에 의해서 일어나는 것이 입증되었다(Scherer *et al.*, 1988). 암조건에서

NADPH는 탄수화물의 분해 대사 경로를 통하여 생성되는데, 외부에서 glucose를 넣어 주는 경우는 5탄당 인산 산화 회로가 우세한 탄수화물 분해 경로로 받아 들여지고 있다. 광합성 전자전달계와 호흡 전자전달계의 상호작용에서, 광(light)이 호흡을 억제하는 데 이것은 다음 두 가지로 설명되고 있다. 첫째는 광이 FNR의 NADP⁺ reductase를 활성화 시켜 NADPH의 산화를 감소시킨다는 것이다. 둘째는 PS I 과 cyt aa₃(cytochrome oxidase)가 전자에 대해 경쟁하는데, 빛이 cyt oxidase의 turn over를 감소시켜 억제한다고 설명한다.

본 연구의 실험재료인 Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803는 PS I의 reaction center인 PSA-B 단백질의 돌연변이주들로 보고되었다(Park *et al.*, 1992). 이 돌연변이주들은 wild type의 blue-green color와는 다른 blue, green, olive, orange, yellow color를 띠었다. 실제로 광합성 기구의 구조적 성분 중 PS I의 subunit II에 이상이 생겼으며, 광합성 색소의 성분 및 함량 그리고 색소에 결합하는 막단백질에도 변화를 가져옴이 밝혀졌다(진, 1993). 또한 이런 광합성 기구의 구조적 변화는 광합성 효율과 유기물 합성 및 분해 과정에 대한 변화를 수반할 것으로 여겨진다. 특별히 광합성 전자 전달계와 호흡 전자전달계가 상호작용하는 것을 고려하면, 광합성 전자 전달계에 이상이 있을 때 호흡이 영향을 줄 것으로 보인다. 이에 광 조건과 glucose 조건을 달리하여, 호흡의 기질이 되는 glucose의 흡수 양상을 알아보고, 이 glucose를 분해하여 호흡 전자전달계에 환원력 NADPH를 제공하는 carbon catabolism pathway를 추정하기 위해 key enzyme activity를 조사하였다. 그리고 호흡량의 변화와 이에 따른 전자전달능의 변화를 알아 보았다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803의 wild type과 *psaB* mutant strain인 A3-1, B20, D1, G4를 실험 재료로 사용하였다. 이 돌연변이주는 *Synechococcus* sp. PCC7002의 *psaB* gene 사이에 chloramphenicol acetyl transferase(CAT) gene이 삽입된 유전자를, catrige mutagenesis의 방법으로 *Synechocystis* sp. PC6803에 삽입하여 만들어진 strain이다. 이 strain은 광합성의 PS I에 이상이 생긴 PS I 돌연변이주로 보고되고 있다(Park *et al.*, 1992).

2. 배양조건

세포의 배양은 Kratz 등 (1995)방법과 Jurgens 등 (1985)에 따라 수행하였다. Plate culture는 BG-11의 1.5%의 agar상에서 배양하며, 대량 수확을 위한 액체 배지에는 glucose가 1.5% 첨가된 medium C에서 배양한다. 액체 배양시 배양 온도는 30℃이며 광량은 20μmol/m² sec하에서 130rpm으로 shaking culture한다. 세포의 수확은 OD₇₃₀의 흡광도가 1.2정도일 때 수행하였다. *psaB* 돌연변이주일 경우는 chloramphenicol(Cm)에 내성을 가지므로 배지에 Cm을 5mg/L가 되게 첨가하여 배양한다.

수확된 세포 중 일부를 1.5% glucose가 첨가된 medium C로 재현탁하였고, 이것을 light-grown heterotrophic condition(L+G+)에서 자란 세포로 보았다. 나머지 일부는 1.5% glucose가 첨가되지 않은 medium C로 재현탁하여 여러 차례 씻어낸 후, 1.5% glucose가 첨가되지 않은 medium C로 재현탁하였다. 이것을 다시 shaker 내에서 3시간 이상 incubation하여, light하에서 glucose가 없는 배지에서 자란 세포(L+G-; light-grown autotrophic condition)로

보았다.

Dark 상태에서의 배양은 culture flask에서 빛을 차단하여 배양하였다. 이것을 dark-grown heterotrophic condition(L-G+)으로 보았다.

3. Glucose uptake

각 배양 조건에서 cell(400 μ L 정도)에 glucose를 넣어 최종농도가 100 μ M이 되게 한다. 30 $^{\circ}$ C에서 60분 가량 incubation한다. Uptake된 glucose량은 Somogyi-Nelson(Plummer D. T., 1978)의 방법에 의해 OD₆₆₀에서 흡광도로 정량하였다.

4. Enzyme assay

1) Glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH) assay

Bagch 등 (1989)의 방법에 따라 수행하였다. 수확된 cell을 50mM Tris /HCl buffer(pH 7.5)로 씻고 재현탁하였다. 이것을 French pressure를 이용하여 15,000psi에서 3회 실시하여 깨고 20,000 \times g로 원심분리하였다. 이것의 상층액을 crude extract로 하였다.

Assay mixture는 Tris /HCl buffer(pH 7.5) 135 μ M, NADP⁺ 0.5 μ M, MgCl₂ 10 μ M, glucose-6-phosphate 20 μ M로 하여 최종 1.5mL가 되도록 하였다. 이 assay mixture에 200 μ g protein가량의 crude extract를 넣어 반응을 시작하였다. OD₃₄₀에서 흡광도의 변화로, 생성된 NADPH의 양을 측정하였다.

각 시료의 protein량은 bovine serum albumin(BSA)을 표준 단백질로 하여 Lowry 등 (1951) 방법에 따라 OD₇₅₀에서 측정하였다.

2) Isocitrate dehydrogenase(IDH) assay

Papen 등 (1983)의 방법에 의해 OD₃₄₀의 값 변화로 NADPH 생성량을 측정하여 결정하였다. 반응 용액은 최종 1.5ml이 되게 하여 단백질 200 μ g당 33mM KH₂PO₄ /KOH buffer(pH 7.0), 4mM MgCl₂, 1 μ M NADP⁺, 1.7mM isocitrate이다. 반응은 crude extract를 가함으로 시작하였다. 이때 crude extract는 앞의 G6PDH assay 때와 동일한 방법으로 준비하였다.

5. Respiratory activity 측정

Adhikary 등 (1990)의 방법에 따라 수행하였다. Dark 상태에서 1.5% glucose의 medium C안의 intact cell이 흡수하는 산소량을 Clark-type O₂ electrode로 측정하였다. Clark-type O₂ electrode(Hansatech, U.K)와 oxygen monitor(YSI Model-5300)로 40 $^{\circ}$ C, 산소의 변화량으로 측정하였다. 산소의 변화량은 40 $^{\circ}$ C일 때 포화 용존 산소량 0.19 μ M /ml(mM)을 기준으로 하여 계산하였다.

6. Photosynthetic electron transport activity의 측정

Mäenpää 등 (1988) 및 Dzelzkalns과 Bogorad(1988)의 방법을 변형하여 수행하였다. 광합성 막은 French pressure(15,000psi)로 깎 cell을 60분 동안 15,000rpm에서 원심분리하여 상층액을 취하여 얻었다. 광합성 전자전달능의 측정은 Clark-type O₂ electrode(Hansatech, U.K)와 oxygen monitor(YSI Model-5300)로 40 $^{\circ}$ C, 광량 1720 μ M /m²에서 산소의 변화량으로 측정하였

다. 산소의 변화량은 40℃일 때 포화 용존 산소량 0.19 μ M/ml(mM)을 기준으로 하여 계산하였다.

40mM K-phosphate buffer(pH 7.6), 0.1mM MgCl₂, 5mM NH₄Cl, 1mM NaCl, 0.6mM NaN₃을 기본 반응 용액으로 하였다. Whole chain activity는 이 기본 반응액에 0.12mM methyl viologen(MV)을 첨가하여 흡수되는 산소의 변화량으로 측정하였으며, photosystem I activity(InterPS+PS I)는 반응 용액에 0.01mM DCMU, 0.12mM MV, 0.5mM DQH₂(Duroquinone)을 넣어 흡수되는 산소의 변화량으로 측정하였다. Photosystem II activity는 반응액에 0.25mM p-PD(p-phenylenediamine), 0.5mM FeCy(ferricyanide(K salt))를 첨가하여 발생하는 산소량을 측정하였다. Sample의 양은 30~50 μ g chl/ml정도 하였다.

결 과

1. Glucose uptake

먼저 wild-type에서 glucose 농도 구배에 따른 흡수되는 양상을 알아보았다(Fig. 1). 200 μ M 까지 비례하였다.

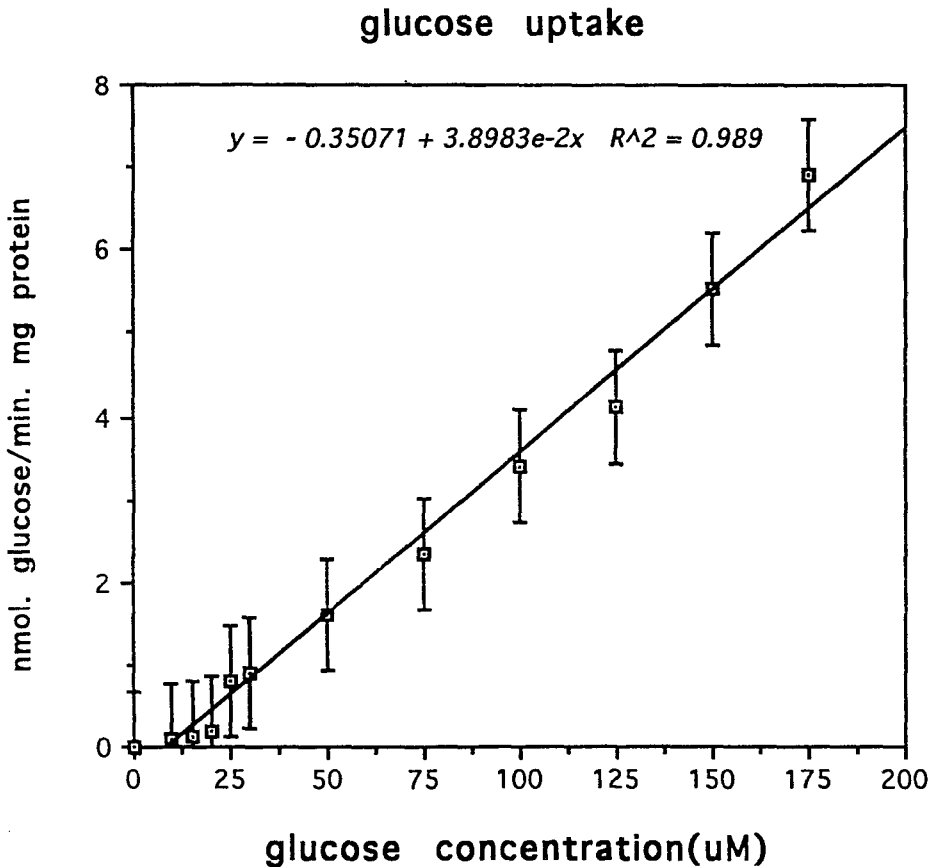


Fig. 1. Glucose uptake of wild type from *Synechocystis* sp. PCC6803, which were grown under the L+G- culture condition.

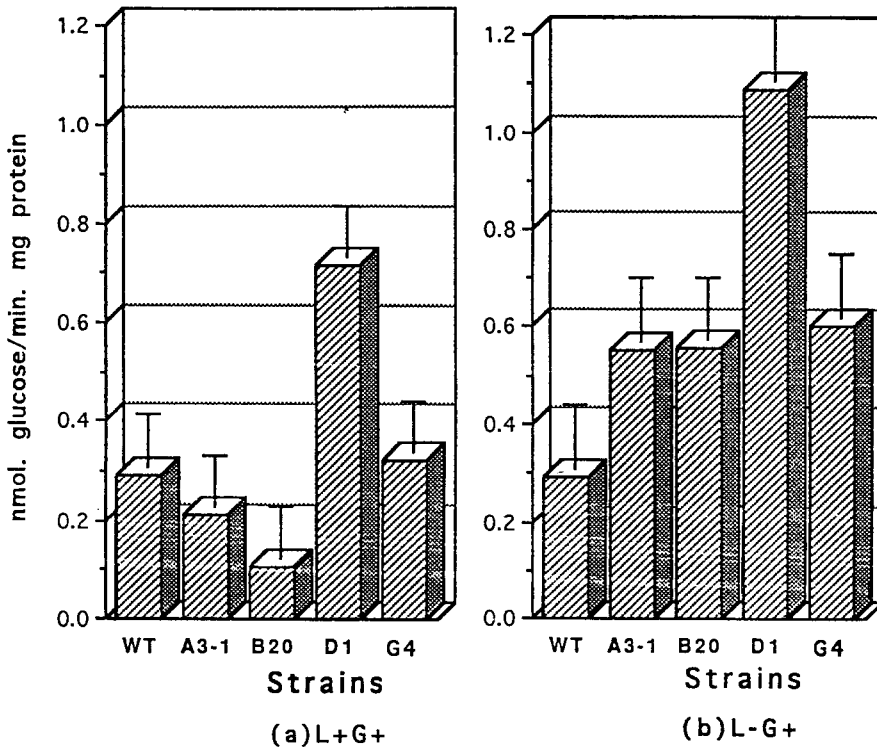
Table 1. Glucose uptake of wild type cells from *Synechocystis* sp. PCC6803, which were grown under different culture conditions

Culture conditions	Uptaken glucose conc. ^a (nmol, glucose /min. mg protein)	Relative uptake activity ^b
L+G-	0.202	100
L+G+	0.292	145
L-G+	0.294	146

^a Uptaken glucose concentration was measured in 1hr after 100 μ M glucose added.

^b This value is relative to L+G- culture condition(assumed as 100)

각 배양 조건 즉, light-grown autotrophy(L+G-), light-grown heterotrophy(L+G+), dark-grown heterotrophy(L-G+)에서 wild-type의 glucose 흡수 양상을 Table 1에 나타내었다. 이것을 보면, 첫째, glucose를 넣어 배양한 cell(L+G+, L-G+)이 glucose가 없는 배지에서 자란 것(L+G-)보다 흡수량이 45% 가량 많았다. 둘째, glucose를 넣은 배지에서 자란 cell의 경우, 광조건(light or dark)에 따라 흡수되는 glucose량은 거의 변화가 없었다. 그러나 *psaB* 돌연변이주의 glucose 흡수는 빛이 없는 암조건일 때 빛이 있을 때보다 전반적으로 증가하였다(Fig. 2의 (a)와 (b) 비교).

**Fig. 2.** Glucose uptake of wild type and *psaB* mutants from *Synechocystis* sp. PCC6803, which were incubated with 100 μ M glucose added in the light (a), in the dark (b).

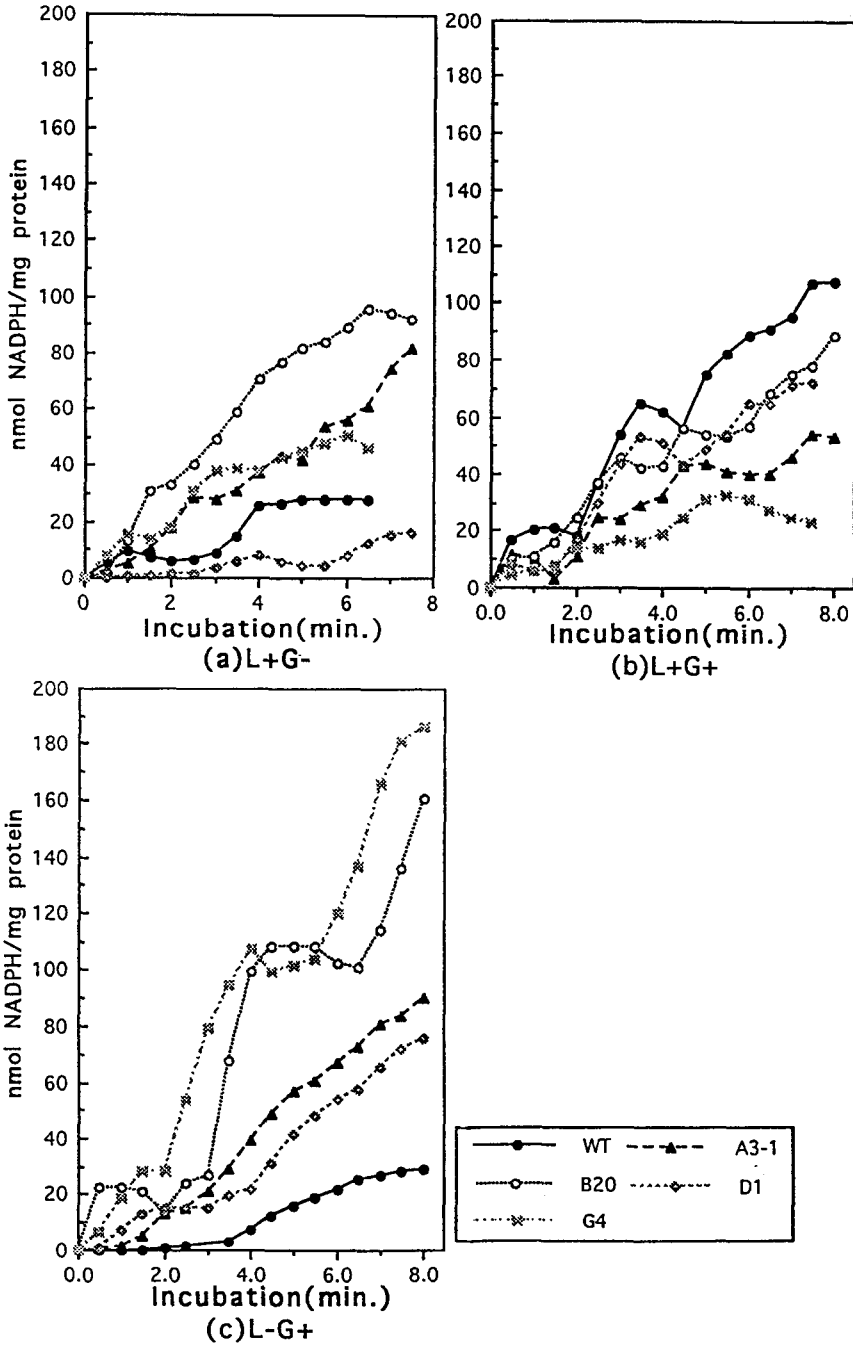


Fig. 3. The changes of G6PDH activity by the time in the wild type and mutants from *Synechocystis* sp. PCC6803, grown under the different culture conditions.
(a) L+G-, (b) L+G+, (c) L-G+.

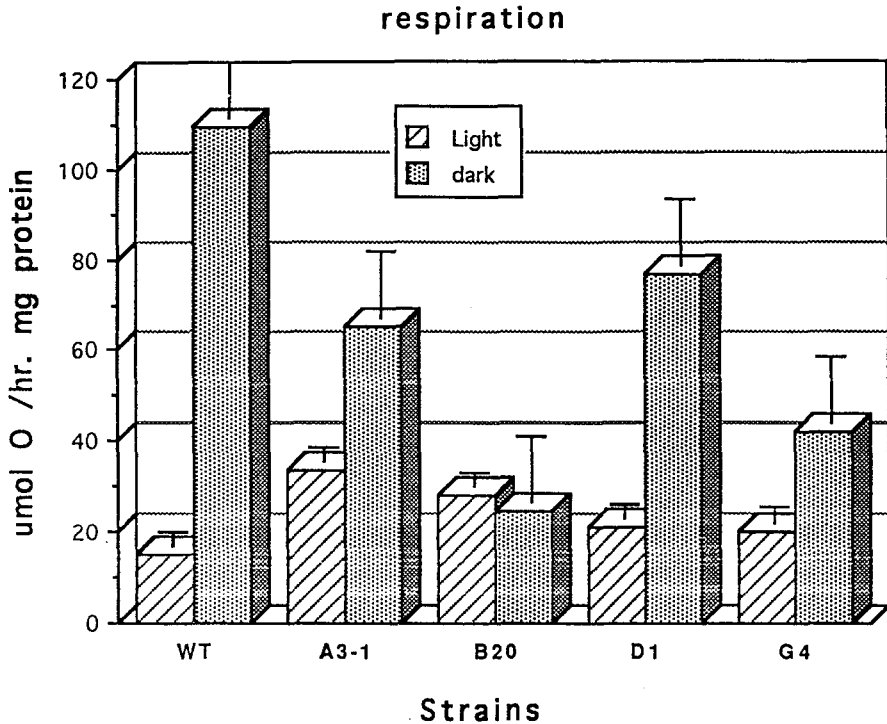


Fig. 4. The respiratory activity of wild type and *psaB* mutants from *Synechocystis* sp. PCC6803, which were incubated in the light or dark.

2. Glucose catabolism enzyme activity 조사

흡수되는 glucose의 catabolism key enzyme으로 추정되는, TCA cycle의 isocitrate dehydrogenase(IDH)와 5탄당 인산 산화 회로의 glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)의 활성도를 조사하였다(Fig. 3).

IDH의 활성도는 여기에 제시되지 않았으나, 전반적으로 배양조건에 상관없이 매우 작게 나타났다.

Wild-type의 G6PDH 활성을 보면, light상태에서는 glucose를 넣었을 때(L+G+)가, 넣지 않았을 때(L+G-)보다 훨씬 높았다(Fig. 3의 (a), (b) 비교). 그러나 glucose가 있더라도 빛이 없을 때(L-G+)는 감소하여, glucose가 없고 light가 있는 상태(L+G-)와 활성이 거의 비슷했다(Fig. 3의 (b), (c)비교). *psaB* 돌연변이주는 빛이 있을 때, glucose를 넣어주면 대체로 활성이 높아졌고(Fig. 3의 (a), (b) 비교), 여기에 광조건을 dark 상태로 만들어 주면(Fig. 3의 (c)), 활성은 비슷하거나 약간 증가하였다.

3. Respiratory activity

Respiratory activity를 측정하였다(Fig. 4). Dark-heterotrophic culture(L-G+)일 때가 light상태(L+G+)일 때보다 B20을 제외하곤 2배에서 최고 6배까지 증가했다. Wild-type이 가장 많이 증가했다.

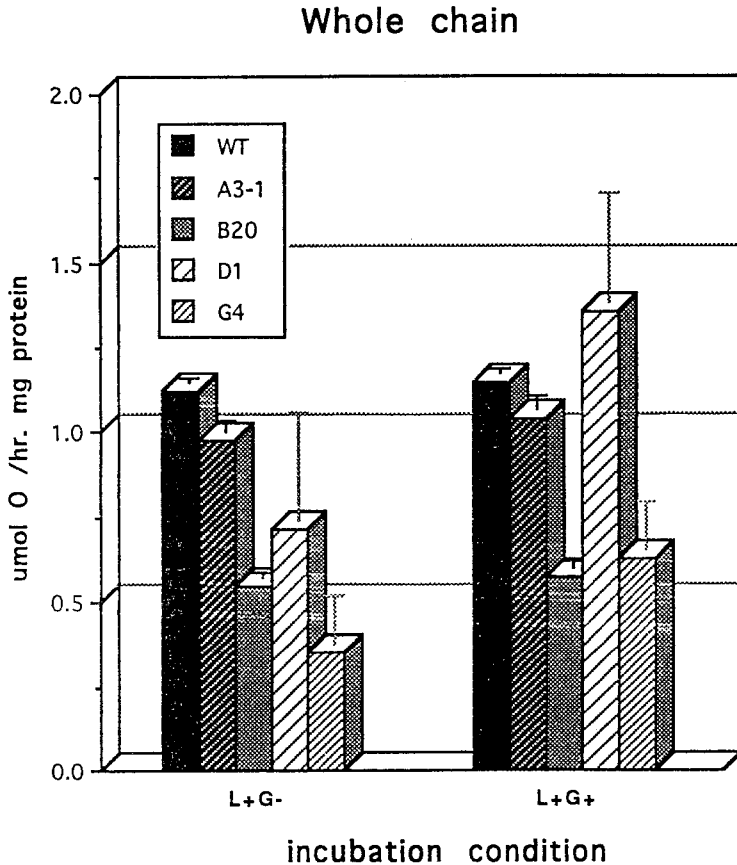


Fig. 5. The photosynthetic electron transport activity in whole chain of wild type and *psaB* mutants from *Synechocystis* sp. PCC6803, which were incubated under the different glucose conditions: no glucose /glucose added.

4. Photosynthetic electron transport activity

빛이 있는 경우(L+G-, L+G+)에서 광합성 전자전달능에 대한 glucose의 영향을 알아보았다(Fig. 5, 6, 7).

Light-grown autotrophic culture(L+G-)에서 *psaB*돌연변이주의 whole chain, PS I, PS II activity는 wild-type에 비해 모두 작았다(Fig. 5, 6, 7 비교). Glucose를 넣어서 배양한 Light-grown heterotrophic culture(L+G+)에선, *psaB*돌연변이주가 wild-type보다 높은 경우가 있었다(Fig. 5, 6, 7 비교).

Whole chain에서 glucose의 영향을 보면(Fig. 5), 돌연변이주 D1은 glucose를 넣어 주었을 때 whole chain의 activity가 매우 높아졌다.

Interphotosystem에서 PS I 까지의 activity를 보면(Fig. 6), glucose를 넣어 주었을 때, wild-type이나 돌연변이주나 전반적으로 높아졌다. 특히, G4의 경우 상대적으로 많이 증가했다.

PS II의 전자전달능에 미치는 glucose의 영향을 보면(Fig. 7), mutant A3-1, B20은 activity가 증가하였고, wild type은 오히려 감소하였다.

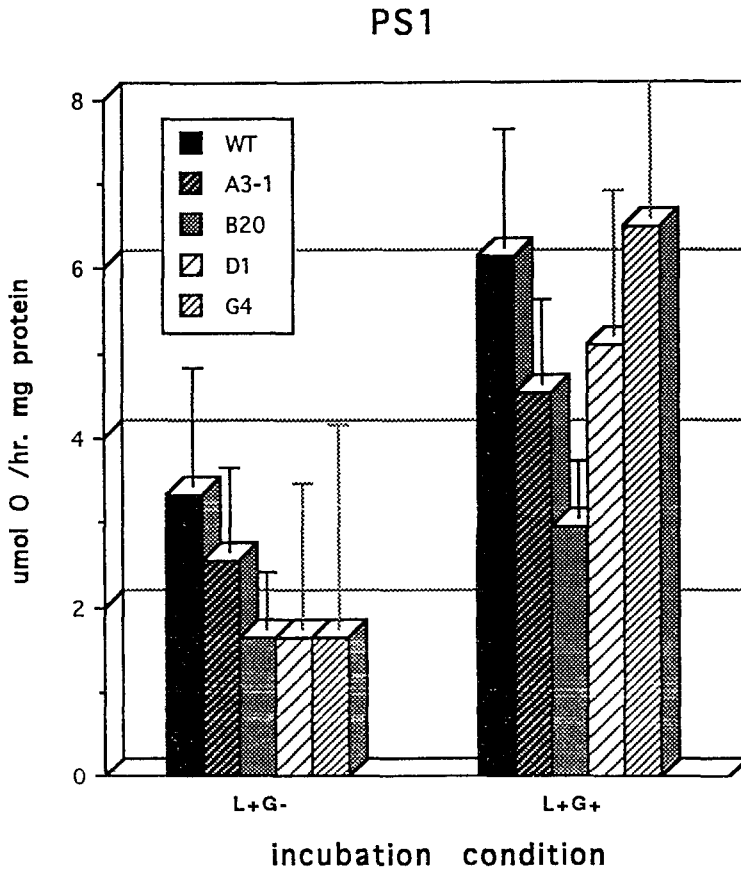


Fig. 6. The photosynthetic electron transport activity between interphotosystem and PS I of wild type and *psaB* mutants from *Synechocystis* sp. PCC6803, which were incubated under the different glucose conditions ; no glucose /glucose added.

전자전달능에 미치는 광(light)의 영향을 조사한 결과(not shown), 광을 주지 않은 dark-grown heterotrophic culture(L-G+)에서 전반적인 전자전달능이 증가하였다.

논 의

본 연구에서는 *Synechocystis* sp. PCC6803의 wild-type과 *psaB* 돌연변이주에서 광합성 전자 전달계에 이상이 있을 때 호흡이 미치는 영향을 알아보았다. 이를 위해 광 조건과 glucose 조건을 다르게 하여 호흡의 기질이 되는 glucose의 흡수 양상을 알아보았고, 이 glucose를 분해하여 호흡 전자전달계에 환원력 NADPH를 제공하는 carbon catabolism pathway를 추정하기 위해 TCA cycle의 IDH와 5탄당 인산 산화 회로의 G6PDH를 선정하여 효소의 활성도를 측정하였다. 그리고 호흡량의 변화와 이에 따른 전자전달능의 변화를 알아보았다.

*Synechococcus*와 *Synechocystis* 중에는 photoheterotrophic growth하는 것이 적다고 보고되었다(Rippka *et al.*, 1979). 그런데 *Synechocystis* sp. PCC6803의 경우, wild-type의 glucose농도

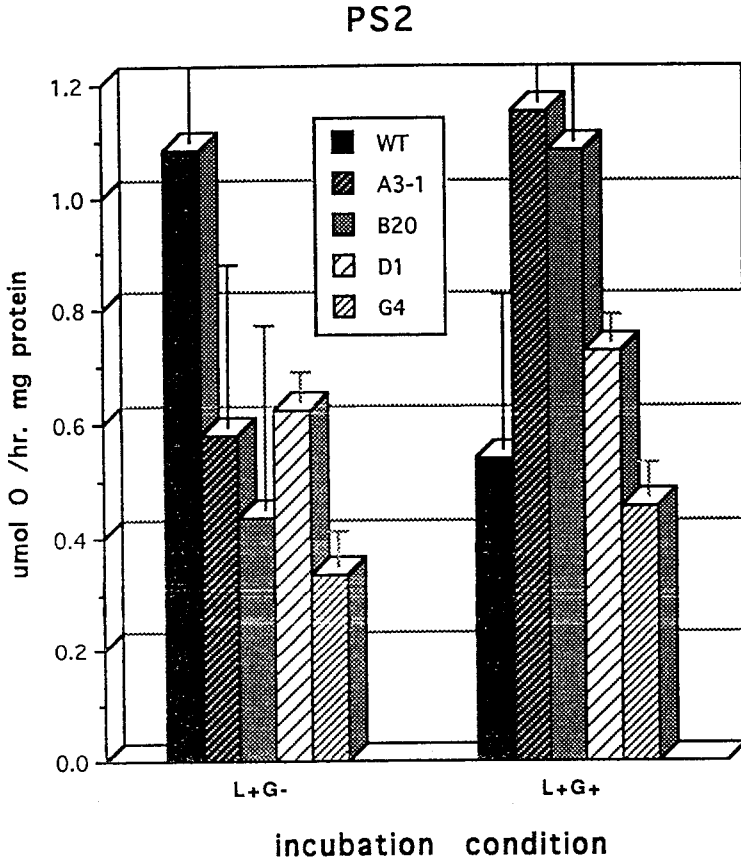


Fig. 7. The photosynthetic electron transport activity in PS II of wild type and *psaB* mutants from *Synechocystis* sp. PCC6803, which were incubated under the different glucose conditions; no glucose /glucose added.

구배에 따른 흡수는 $200\mu\text{M}$ 까지 비례적으로 증가하였다(Fig. 1). 광조건에서 암조건으로 갈 때, 종에 따라 uptake activity가 변화가 비슷하거나 몇 배 증가한다고 하는데(Smith, 1982), *Synechocystis* sp. PCC6803의 경우는 거의 비슷하였다(Fig. 2 (a), (b) 비교). 그러나 *psaB* 돌연변이주의 경우, wild-type에 비해 빛이 있을 때는 작다가 암조건이 되면 흡수량이 wild-type보다 많았다(Fig. 2(a), (b)비교). 이것은 *psaB* gene의 돌연변이로 인한 이상인, *Synechocystis* sp. PCC6803의 glucose 흡수를 빛이 없을 때 더욱 활발하게 일어나게 하며, 영양 요구 상태를 좀 더 glucose에 의존적인 종속 영양 요구주로 만든 것으로 해석된다.

흡수되는 glucose의 catabolism key enzyme으로, TCA cycle의 IDH와 5탄당 인산 산화 회로의 G6PDH를 선정하였다. 호기성 종속 영양 세균인 *Acetobacter suboxydans*에선 에너지를 얻을 때, TCA cycle이 없거나 불완전할 경우, 탄수화물 분해 경로로 5탄당 인산 산화 회로를 이용한다고 한다(Greenfield and Claus, 1969). IDH와 G6PDH는 각각의 대사 경로에서 속도 조절 효소이며(Voet and Voet, 1990), Cyanobacteria에선 NADP에 의존적이다(Papen *et al.*, 1983).

활성도를 조사한 결과, IDH의 활성도는 매우 낮거나 거의 미비했고(not shown), 이에 반해 G6PDH는 큰 활성도를 보였다(Fig. 3). 이것은 *Synechocystis* sp. PCC6803이 *Synechocystis* 6714 및 그외 몇 heterotrophic cyanobacteria와 마찬가지로, 외부에서 넣어준 glucose의 aerobic metabolism의 경로로 5탄당 인산 산화 회로를 이용한다는 보고들(Peschek, 1987)과 일치한다.

암조건에서 생장에 필요한 ATP는 호흡 전자전달계를 통한 산화적 인산화 과정에 의해 생성된다(Smith, 1982). 따라서 G6PDH에 의해 생긴 NADPH는 호흡 전자전달계의 전자 공여체로 기대된다. *psaB* 돌연변이주는 glucose를 넣어 주었을 때 특히 암조건일 때 G6PDH의 활성도가 높았다(Fig. 3). 직접적으로 호흡에 의한 산소 흡수량으로 호흡능을 알아본 결과, 대체로 암조건일 때 호흡이 활발하였다(Fig. 4).

위와 같은 실험 결과를 토대로 광합성의 전자전달능을 측정하였다. Light-grown autotrophic culture(L+G-)에서 *psaB* 돌연변이주의 whole chain, PS I, PS II activity는 wild-type에 비해 모두 작았다(Fig. 5, 6, 7). *psaB* gene의 돌연변이의 결과, PS I PS II의 구조에 변화가 일어난 결과로 해석되는데, 이것은 Park 등 (1992)의 보고와 일치한다.

Cyanobacteria에서 광합성 전자 전달 사슬은 plastoquinone 단계에서 호흡 전자전달 사슬과 교차한다고 한다(for review, see Peschek, 1987). Mi 등 (1992)은 *Synechocystis* sp. PCC6803의 wild type과 NAD(P)H dehydrogenase 결핍 돌연변이주에서 P700의 redox kinetics를 통하여, NAD(P)H dehydrogenase가 호흡 전자의 plastoquinone으로의 전입에 관여할 것이라고 제안하였다. 따라서 본 실험에서는 glucose를 넣어 호흡을 증가시킨 후, 이것이 광합성 전자전달에 미치는 영향을 알아보았다. 실험 결과, glucose를 넣어 주었을 때 whole chain과 PS I의 광합성 전자전달능이 증가하였다(Fig. 5, 6). 특히, *psaB* 돌연변이주의 광합성 전자전달능이 더욱 증가하였다. PS II의 경우는, PS II가 광합성 전자전달 사슬에서 plastoquinone보다 산화환원 전위가 높아, 호흡의 영향을 크게 받지 않을 것이라고 예상했는데 의외로 wild type은 광합성 전자전달능이 작아지고 돌연변이주는 작아졌다(Fig. 7). 이것은 NADPH가 plastoquinone이 아닌 다른 광합성 전자전달 단계를 통해 PS II에 영향을 주거나, plastoquinone으로 들어온 전자 경로에서 feed back에 의해 영향을 주는 것으로 추정된다. Heber와 Walker(1992)의 보고에서, 빛의 세기는 두 광계뿐만 아니라 전자전달계내의 많은 매개체의 변화를 가져오며, 특히 cytochrome b_6/f complex의 변화가 전자전달능의 조절자로 작용한다고 제안하였다.

본 실험의 연구 결과를 종합하여 볼 때, *Synechocystis* sp. PCC6803의 *psaB* 돌연변이주는 외부에서 넣어준 glucose를 기질로 사용할 수 있으며, 이 glucose는 TCA cycle보다는 5탄당 인산 산화 회로를 통하여 환원력 NADPH를 제공하는 것으로 추정된다. 또한 이 NADPH는 호흡 전자전달계를 통하여 광합성 전자전달을 보충하는 것으로 해석된다. 그러나 호흡이 광합성 전자전달 단계 중 어느 단계를 통해 영향을 주는지는 보다 자세히 단계별로 조사해 보는 것이 필요하다고 본다.

적 요

본 연구에서는 *Synechocystis* sp. PCC6803의 wild type과 *psaB* 돌연변이주에서, 광합성 전자전달계에 이상이 생길 때 호흡이 미치는 영향을 알아보았다.

Wild type의 glucose 흡수는 glucose 농도에 비례하였다. *psaB* 돌연변이주는 암조건일 때 흡수량이 wild type보다 많았다. 이것은 돌연변이주가 보다 glucose 의존화 한 것으로 해석된다.

Isoitrate dehydrogenase(IDH)와 glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)의 활성도를 조사한 결과, IDH의 활성도는 미미하였으나, G6PDH의 활성도는 높았다. 종속 영양의 cyanobacteria는, 외부에서 넣어 준 glucose의 유기호흡 대사 경로로 5탄당 인산 산화 회로를 이용한다는 보고와 일치한다. *psaB* 돌연변이주는 glucose를 넣어 주었을 때, 특히 암조건일 때 G6PDH의 활성도가 높았다.

호흡에 의한 산소 흡수량으로 호흡능을 측정해본 결과, 대체로 암조건일 때 호흡량이 증가하였다.

광합성 전자전달능을 측정하였을 때, PS I, PS II의 구조에 변화가 일어난 *psaB* 돌연변이주는, glucose를 넣어주고 암조건일 때 전자전달능이 wild type보다 높았다. 이는 광합성 전자전달에 이상이 있을 때, 호흡에 의한 전달이 PS I, PS II 및 전자전달 매개체들의 합성과 활성에 영향을 주는 것으로 해석된다.

인용문헌

1. Adhikary, S. P., A. Murakami, K. Ohki and Y. Fujita. 1990. Photoregulation of respiratory activity in the Cyanophyte *Synechocystis* PCC6714: The possibility of the simultaneous Regulation of the amount of PS I complex and the activity of respiratory terminal oxidase in thylakoids. *Plant Cell Physiol.* 31, 527-532.
2. Bagchi, S. N., A. Palod and V. S. Chauhan. 1989. Photosynthetic Control of Nitrate Metabolism in *Phormidium uncinatum*, a Cyanobacterium. *Curr. Microbiol.* 19, 183-188.
3. Dzelzkalns, V. A. and L. Bogorad. 1988. Molecular analysis of a mutant defective in photosynthetic oxygen evolution and isolation of complementing clone by a novel screening procedure. *EMBO.* 7,333-338.
4. Greenfield, S. and G. W. Claus. 1969. Isocitrate dehydrogenase and glutamate synthesis in *Acetobacter suboxydans*, *Journal of Bacteriology*, 1264-1270.
5. Jurgen, U. J. and J. Weckesser. 1985. Carotenoid-containing outer membrane of *Synechocystis* sp. PCC 6714. *J. of Bacteriol.* 164, 384-389.
6. Kratz, W. A. and J. Myers. 1955. *Am. J. Bot.* 42, 282-287.
7. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
8. Matthijs, H. C. P., E. M. E. Luderus, J. C. Marijke, Scholts and R. Kraayenhof. 1984. Energy metabolism in the cyanobacterium *plectinema bory anum* oxidative phosphorylation and respiratory pathways, *Biochimica et Biophysica Acta.* 766, 38-44.
9. Mi, H., T. Endo, U. Schreiber, T. Ogawa and K. Asada. 1992. Electron donation from cyclic and respiratory flows to the photosynthetic intersystem chain is mediated by pyridine nucleotide dehydrogenase in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 33, 1233-1237.
10. Mäenppää, Pirkko, A. Evo-Mari, S. Susanne and T. Esa. 1988. Rearrangement of the chloroplast thylakoid at chilling temperature in the light. *Plant Physiol.* 87, 762-766.
11. Papen, H., G. Neuer, M. Refaian and H. Both. 1983. The isocitrate dehydrogenase

- from cyanobacteria. Arch Microbiol. 134, 73-79.
12. Park, Y. M., J. S. Kim, S. Y. Choi, M. D. Abarca, O. Vallon, N. K. Chang and L. Bogorad. 1992. Structural and functional study of photosystem I using cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 mutant. N. Murata(ed.), Research in Photosynthesis. I, 557-560.
 13. Peschek, G. A. 1987. Respiratory electron transport in the cyanobacteria Fay P., and Van Baalen H. (eds), Elsevier. North Holland. pp. 119-162.
 14. Plummer, D. T. 1978. An introduction to practical biochemistry. McGraw-Hill Book Co.(UK). pp. 184-185.
 15. Rippka, R., J. Deruelle, J. B. Waterbury, M. Herdman and R. Y. Stainer. 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. J. Gen. Microbiol. 31, 225-274.
 16. Scherer, S., I. Alpes, H. Sadowski and P. Boger. 1988. Arch. Biochem. Biophys. 267, 235-288.
 17. Scherer S. 1990. Do photosynthetic and respiratory electron transport chains share redox proteins? TIBS 15,458-462. Smith A. J. 1982. Modes of cyanobacterial carbon metabolism. In Carr N. G. and Whitton B. A. (eds.), The biology of cyanobacteria, 2nd. ed. Blackwell, Oxford, pp. 47-85.
 18. Voet, D. and J. Voet. 1990. Biochemistry. John Wiley & Sons, Inc. pp. 522-524, 577-579.
 19. 전은경, 1993. *Synechocystis* sp. PCC 6803를 이용한 PS I mutants의 색소 및 틸라코이드막 단백질 분석, 서울대학교 대학원 석사학위 논문.