

## Phosphorylcholine이 보리 엽록체의 광인산화활성에 미치는 저해효과에 관하여

俞京希·李鎮範\*·權寧命

(서울대학교 自然科學大學 植物學科 · \*東莒대학교 理科學大學 生物學科)

### Inhibitory Effect of Phosphorylcholine on Photophosphorylation of Isolated Chloroplasts from Barley

Yu, Gyung Hee, Chin Bum, Lee\* and Young Myung Kwon

(Department of Botany, Seoul National University, Seoul and

\*Department of Biology, Donggeui University, Pusan)

#### ABSTRACT

The onset of photophosphorylation at the various stages of greening showed different patterns with varying concentrations of Pi. With further greening, ATP formation occurred at the lower concentration of Pi (48 hrs; 0.05 mM). At early stages of greening, more Pi was required for photophosphorylation (6 hrs; 5.0 mM). The addition of cell-free extracts of etiolated barley seedlings resulted in the competitive inhibition of photophosphorylation. The apparent inhibition by cell-free extracts was gradually decreased during greening of etiolated barley seedlings. We found that the inhibitors of photophosphorylation in cell-free extracts were some organic phosphates and most of them was P-choline. P-choline inhibited photophosphorylation competitively with Pi and its content was decreased considerably in greening. It is likely that P-choline partly delay the photophosphorylation in early stages of greening.

#### 緒 論

녹화(greening) 중 엽록체가 형성될 때 광인산화반응계의 발달은 일반적으로 진자전달계의 경우 보다 늦은 것으로 알려져 있다(Duysen *et al.*, 1980). 그러나 coupling factor 외 검출과 활성측정간의 시간적인 격차는 비교적 큰 편이며 coupling의 측정시간도 여타가지로 다르다(Duysen *et al.*, 1980; Henningsen and Boardman, 1973; Howes and Stern, 1973; Phung Nhu Hung *et al.*, 1970; Gerwick *et al.*, 1977). 이와 같이 광인산화반응계의 출현이 늦은 이유가 엽록체 형성과정에서 광인산화반응계의 구성이 지연되기 때문인지, 또는 광인산화반응을 억제하는 물질이 존재하기 때문인지에 대하여는 아직 구체적인 내용이

본 논문은 한국과학재단 연구비(1985년도)에 의하여 수행된 연구결과의 일부임.

밝혀져 있지 않다.

Duysen(1980) 등은 밀을 재료로 6시간 녹화시킨 결과 밀의 plastid에서 광인산화반응과 전자전달의 coupling은 관찰되지 않았으나 9시간 녹화에서는 측정할 수 있었으며, 아직 발달하지 않은 밀의 엽록체에서는 thylakoid를 통한  $H^+$ 구배는 coupling이 일어나기에는 충분하나 photosynthetic control (coupled rate/basal rate)을 측정하기에는 불충분하다고 보고한 바 있다. 그런데 Lee등(1983)은 녹화 16시간에서야 비로소 광인산화활성이 측정된다고 하였으나 이때 빛에 의한  $H^+$ 농도구배의 형성은 녹화 2시간에서 얻은 엽록체 표품에서도 확인되었다. Lockshin등(1971)은 전자현미경 관찰로 etioplast에 1개나 2개의 prolamella body가 있고 이곳에 직경이  $90\text{\AA}$ 인 coupling factor가 존재한다고 보고하였다. 또한 밀의 etioplast는 in vivo 뿐만 아니라 in vitro에서도 광인산화반응을 수행할 수 있는 능력을 지닌다고 보고되었다(Lockshin *et al.*, 1971). 따라서 녹화초기에 볼 수 있는 coupling의 지연을 전적으로 thylakoid의 구조 및 기능의 결함만으로 설명하는 것이 충분하다고 보기는 어려울 것 같다.

현재까지 광인산화반응을 저해하는 여러가지 화합물의 존재가 알려지고 있으나 녹화초기에 엽록체내에서 광인산화반응을 저해할 수 있는 화합물의 정체에 대해서 알려진 내용은 아직 없다. 한편 phenyl phosphate, thiophosphate 및 pyridoxal phosphate 같은 유기인산화합물이 in vitro에서 광인산화반응을 저해하는데, phenyl phosphate는 무기인산과 경쟁적 억제제로써 작용하고 thiophosphate는 uncoupler로써 작용하는 것이 알려졌지만 (Alcaide and Municio, 1967; Shinohara and Sakurai, 1981) 이러한 화합물이 녹화중인 세포나 분리엽록체 부유액에 얼마나 들어 있는지에 관해서는 보고되지 않았다.

한편, 엽록체를 분리하는 과정에서 광인산화반응을 억제하는 물질이 생성될 수 있는데, galactolipase는 세포 파괴시 활성화되어 막지질을 가수분해시켜 유리지방산을 생성시키고 이것이 uncoupler로 작용하여 광인산화반응을 억제한다. 그러나 이때 BSA가 존재하면 이러한 억제를 어느정도 방지할 수 있다(Morris *et al.*, 1982).

본 연구에서는 녹화중인 보리유식물에서 분리한 엽록체의 광인산화활성이 Pi농도에 따라 크게 달라지며, phosphorylcholine이 Pi와 경쟁적으로 광인산화반응을 억제하는 것을 관찰하였기에 이에 대한 일련의 실험을 실시하였다.

## 材料 및 方法

**실험재료 및 배양조건.** 농촌진흥청 작물시험장으로 부터 분양받은 보리종자(*Hordeum vulgare* L. cv Baecdong)를  $12 \times 12 \times 11\text{cm}$  plastic 용기를 사용하여 1/4 strength Hoagland 용액에서 7일간 암처리하여 기른 다음 배양된 유식물을 8,000lux로 조사하여 녹화시킨 후, 녹화시간별로 실험에 사용하였다. 모든 배양은  $25^\circ\text{C}$  growth chamber에서 행하였다.

**엽록체 분리.** 녹화단계별로 유식물 제 1엽을 Lee등(1983)의 방법에 따라 분리한 후, 침전물을 10mM KCl, 3mM Na-ascorbate, 0.33M Sorbitol 및 BSA (9mg/ml)을 포함하는 용액에 적당량 희석시켜 이를 광인산화반응 활성측정액으로 사용하였다.

**광인산화반응의 활성측정.** Dilley(1972)의 방법을 변형시켜 측정하였다. 반응용액은 pH측정 반응용액(Lee *et al.*, 1983)에 의해 ADP 및  $K_2HPO_4$ 를 농도에 따라 처리하였으며 엽록소

양은 20~50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되게 첨가하고 0.01 N KOH로 pH8.0이 되게 조절하였다. 광인산화반응활성은 Nishimura등(1962)의 방법에 따라 ATP 생성량을 계산하였다.

유식물 추출액 추출방법. 유식물 제 1엽 8g을 16ml의 엽록체분리 완충용액으로 엽록체 분리와 동일한 방법으로 homogenizing한 후 최종 원심분리시 상정액을 유식물 추출액으로 간주하여 사용하였다.

**Phosphorylcholine**의 함량측정. 유식물 제 1엽 2g을 5 ml 0.01 N HCl에서 마쇄한 후 5분간 100°C로 가열하여 20,000 g로 20분간 원심분리 하였다. 원심분리한 상정액의 pH를 6.0으로 맞춘 후 alkaline phosphatase를 처리했을 때 방출되는 choline의 양으로써 P-choline을 정량하였다. 즉 4 unit alkaline phosphatase를 포함하는 50 mM sodium-bicarbonate buffer (pH 10.4)에 200  $\mu\text{l}$  시료를 첨가하여 최종 부피가 500 $\mu\text{l}$ 가 되게 한 후 하루밤동안 incubation시켰다. incubation시킨 시료를 100°C로 5분간 가열한 다음 방출된 choline의 양을 측정하였다. Choline은 요오드 침전법으로 측정하였다(Appleton *et al.*, 1953). 또한 분리엽록체에 처리한 P-choline은  $\text{K}_2\text{CO}_3$ 와 chelating resin으로 처리하여  $\text{Ca}^{2+}$ 을 제거한 후 사용하였다(Guynn 1976).

엽록소 및 단백질함량 측정. 엽록소 함량은 Holden(1965)의 방법에 따라 80% acetone으로 추출하여 측정하였으며, 단백질 함량은 Lowry방법(1951)에 의해 측정하였다.

약어설명 : BSA; Bovine serum albumin, P-ethanolamine; phosphorylethanolamine, P-choline; phosphorylcholine, Pi; inorganic phosphate.

## 結果 및 考察

녹화시간별로 추출한 분리엽록체에서 광인산화활성과 Pi농도간의 관계는 Fig. 1과 같다. 즉 6시간 녹화때 Pi 농도가 5 mM이면 광인산화활성이 측정되었으며, 12시간 녹화에서는 0.5 mM Pi에서, 16시간 녹화에서는 0.3 mM Pi 그리고 48시간 녹화에서는 0.05mM Pi일 때 활성을 측정할 수 있었다. 이와 같이 분리엽록체에서 coupling의 측정이 잎의 녹화시간과 Pi농도에 따라 달라지며, 녹화초기일수록 보다 높은 Pi농도에서 광인산화활성이 나타남을 알 수 있었다. 이러한 결과는 16시간 이상의 녹화처리를 한 잎의 엽록체에서 비로소 광인산화활성이 검출된다는 이전의 결과와(Lee *et al.*, 1983) 큰 차이를 보이는데, 본 실험에서는 높은 농도의Pi(5mM)를 처리하므로써 녹화 6시간에서드 약간의 광인산화활성을 검출할 수 있었다. Coupling factor가 etioplast에서 이미 존재하고 있다는 보고(Boardman, 1977; Lockshin *et al.*, 1971)를 고려할 때, 광인산화반응과 전자전달반응의 coupling이 녹화 6시간에서도 형성될 수 있음을 시사한다 하겠다.

따라서 녹화초기 보리 유식물의 엽록체에서 광인산화반응과 전자전달반응의 coupling이 지연되는 원인을 알아보기 위해, 녹화가 충분히 진행된 잎에서 추출한 엽록체 현탁액에 암처리에서 자란 보리 유식물 잎의 추출액을 in vitro 에서 처리하여 추출액 첨가량에 따른 광인산화활성 억제율을 조사하였던 바(Fig. 2), 추출액의 처리량을 증가시키면 광인산화활성은 점진적으로 감소하여서 100  $\mu\text{l}$  처리시 대략 37%의 억제를 나타내었고, 이러한 억제는 녹화시간이 길어짐에 따라 추출액의 억제효과도 감소되었으며 대개 녹화 12시간 이전의 잎의

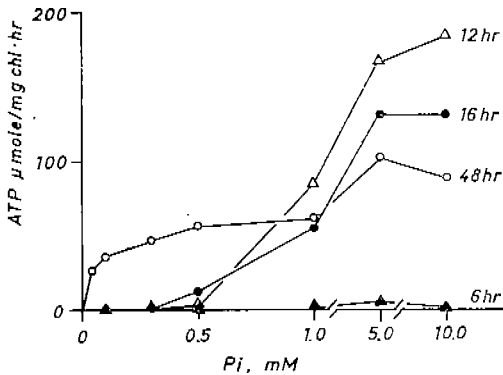


Fig. 1. Effect of Pi on photophosphorylation activities at the various greening periods of the etiolated barley seedlings.  $K_2HPO_4$  was used as Pi donor.

추출액이 가장 큰 억제효과를 보인 것으로 나타났다(Table 1).

한편, coupling의 검출이 Pi농도에 따라 달라진다는 결과(Fig. 1)를 보다 상세히 이해하기 위하여 유식물 추출액이 광인산화활성에 미치는 영향을 조사하였던 바(Fig. 3) 암소에서 자란 유식물 cell-free extract는 완전히 녹화된 잎에서 얻은 엽록체 표본의 광인산화활성을 억제하였으며, 이러한 억제는 Pi와 경쟁적인 관계에 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과들은 엽록체 표본이나 cell-free extract에 Pi와 경쟁적으로 광인산화반응을 저해하는 억제제가 존재한다는 생각을 갖게 한다. 녹화가 충분히 진행되지 않은 보리 유식물에서 coupling이 지연되는 이유는 아직 확실히 밝혀지지 않았으나 Margulies(1966)는 homogenate내에 어떤 억제제가 존재하여 Hill반응 및 광인산화반응을 억제한다 하였고, 또한 엽록체 추출과정에서 생성되는 유리지방산이 광인산을 억제할 수 있으나 (Morris *et al.*, 1982) BSA의 첨가로 유리지방산에 의한 억제를 배제하였기 때문에, 보리 유식물 추출액으로 인한 광인산화활성 저해 효과는 다른 형태의 화합물에 의한 것으로 해석된다.

Table 1. Effect of 50 $\mu$ l cell-free extract at the various greening periods of the etiolated barley seedlings on photophosphorylation. Chloroplasts were obtained from light-grown barley leaves.

Treatment	ATP $\mu$ mole/mg chl·hr	Relative activity(%)
Control	115.3	100.0
0 hr extract	82.3	71.4
6 hr extract	93.2	80.9
12 hr extract	98.8	85.7
24 hr extract	109.8	95.2
48 hr extract	109.8	95.2

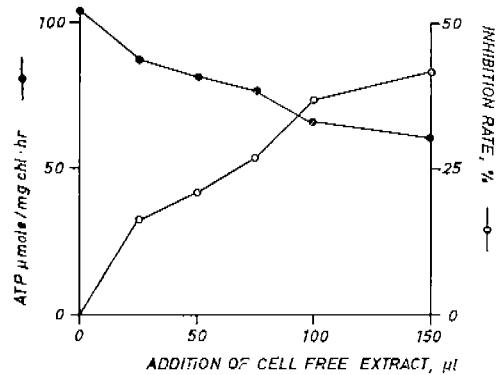
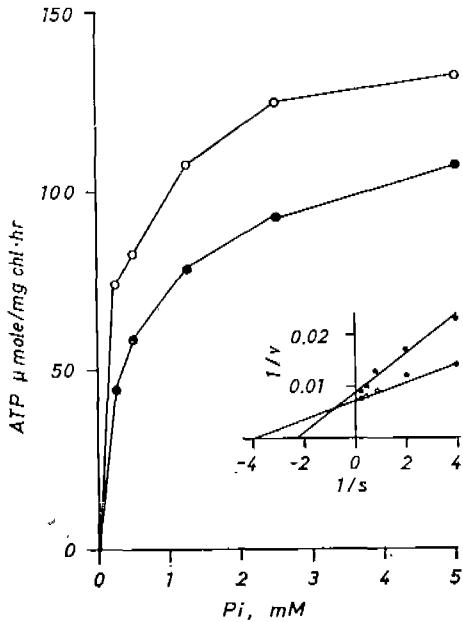


Fig. 2. The inhibitory effect of the cell-free extract from 7-day-old etiolated barley seedlings on ATP formation of the isolated chloroplasts. Chloroplasts were obtained from light-grown barley leaves harvested usually 10~12 days after planting.

억제물질로 추정되는 화합물의 정체를 파악하기 위하여 유식물 추출액을 이온교환수지 처리를 하였던 바(Table 2) Dowex-1의 처리에 의하여 억제효과가 크게 감소하였고, Dowex-50을 처리하면 억제효과가 약간 감소하였다. 그러나 Dowex-1과 Dowex-50을 함께 처리한 경우는 앞의 Dowex-1만을 처리했을 때의 회복율과 일치하였다. 그러므로 억제물 질중 일부는 음이온 하전된 화합물이며, 그 중 양전하와 음전하를



**Fig. 3.** Effect of the cell-free extracts obtained from 7-day-old etiolated barley seedlings of changes in Pi concentrations on photophosphorylation. Insert indicates Lineweaver-Burk plot. —●—, with or —○—, without 50 $\mu$ l cell-free extract.

함께 갖는 화합물도 일부 포함되었음을 짐작할 수 있다.

최근까지도 일에서 얻은 cell-free extract에서 특정 화합물이 광인산화반응에 저해적으로 작용하는 것에 대하여는 일부 유기인산 화합물이 분리염류체의 광인산화반응을 억제하며 이들 중 일부가 Pi와 경쟁적인 관계에 있다는 사실과(Shinohara and Sakurai, 1980, 1981, 1982) Fig. 3에서 Pi 농도가 증가할 때 억제효과가 감소된다는 결과를 기초로 하여 본 실험에서 광인산화활성을 억제하는 일부 물질이 인산화합물일 것으로 추정하였다. 그래서 녹화 시간 별로 채취한 시료의 추출액을 alkaline phosphatase로 처리한 후 저해효과를 비교해 본 결과 (Table 3) 효소를 처리하면 억제효과가 감퇴되었으므로 광인산화반응을 억제하는 물질의 일부가 인산기를 갖는 유기화합물임을 알 수 있다. 그리고 추출액에 의한 억제가 녹화시간이 짧을수록 크게 나타난다는 사실로써 억제제인 유기인산화합물의 식물체내 함량이 녹화시간과 관련되어 있는 것을 알 수 있다.

세포에는 수 많은 종류의 유기인산 화합물이 있으며 그중에서 어떤 것이 광인산화반응을 억제할 수 있으며 더우기 녹화시간에 따라 그 체내 존재량이 달라지는 종류의 화합물을 지적하기는 쉽지 않다. 그런데 보리, 벼, 트마트 등의 유식물 도관액 중에는 인지질 대사에서 대단히 중요한 P-choline이 많은 양 있으며(Maizel *et al.*, 1976; Kwon, 1980; Martin

**Table 2.** Effect of the Dowex-1 and Dowex-50 treatment to cell-free extracts on photophosphorylation. Cell-free extracts were obtained from 7-day-old etiolated barley seedlings. 50 $\mu$ l cell-free extracts were added to assay media

Treatment	ATP $\mu$ mole/mg chl·hr	I.R. (%)
Control	115.3	—
Extract	82.3	28.6
Dowex-1	98.8	14.3
Dowex-50	90.6	21.4
Dowex-1 + Dowex-50	98.8	14.3

**Table 3.** Effect of the alkaline-phosphatase treatment to cell-free extracts on photophosphorylation

Treatment	ATP $\mu$ mole/mg chl·hr	Relative activity (%)
Control	117.4	100.0
0 hr extract + Al-P*	83.9	71.5
	100.6	85.7
6 hr extract + Al-P*	97.8	83.3
	111.8	95.2
48 hr extract + Al-P*	111.8	95.2
	117.4	100.0

\* Alkaline phosphatase

**Table 4.** Effect of 0.2 mM organic phosphates on photophosphorylation of chloroplasts obtained from 10~12 day light-grown barley

Treatment	ATP $\mu$ mole/mg chl·hr	I.R.(%)
Control	145.4	—
Phosphorylcholine	124.7	14.2
Phosphorylethanolamine	124.7	14.2
o-Phospho DL-serine	76.2	47.6
Acetylcholine	142.0	2.3
Choline chloride	145.4	—
Pyridoxal phosphate	121.2	16.6
$\alpha$ -Naphthylacid phosphate	117.7	19.1
Phosphoenolpyruvate	142.0	2.3
Acetylphosphate	145.4	—

**Table 5.** Content of P-choline in 7-day-old dark-grown barley leaves on greening time

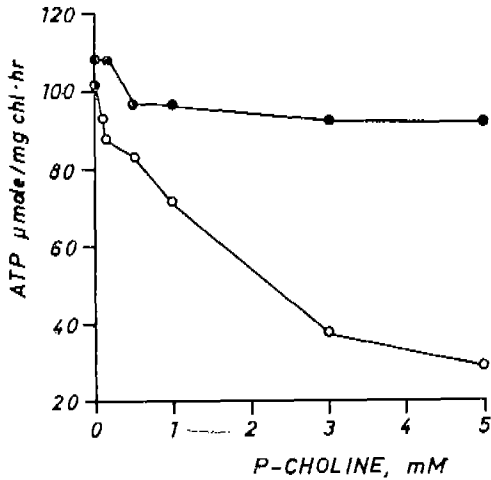
Greening time(hr)	0	6	12	18	24	48	72
P-choline $\mu$ mole/g. f. wt.	0.81	1.08	0.68	0.5	0.18	0.13	0.13

나 이러한 농도라면 분리한 엽록체에도 상당량이 있을 것으로 생각할 수 있으며, 따라서 광인산화반응에서도 저해효과를 나타낼 수 있을 것이다. 한편 P-choline의 농도가 높을 때 다른 유기인산화합물의 양은 감소한 것으로 나타났는데 이러한 결과는 실험방법의 개선으로 그 진상이 규명될 것으로 기대한다.

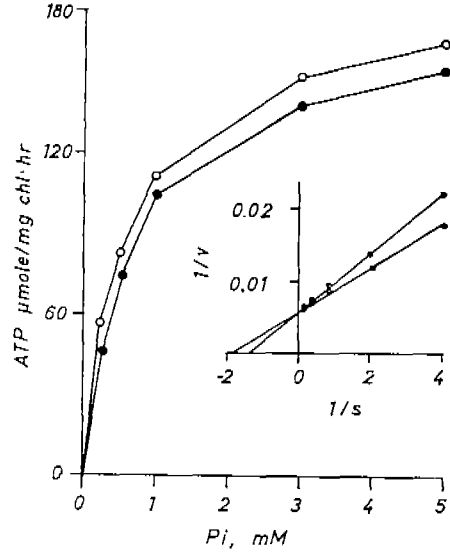
또한 P-choline의 첨가량이 증가하면 광인산화활성이 더욱 억제되었고(Fig. 4) P-choline과 Pi와의 관계는 경쟁적인 것으로 나타났다(Fig. 5). Pi와 경쟁적인 억제제로써 P-choline의 성질을 확인하기 위하여 이와 유사한 구조를 가진 P-ethanolamine의 효과를 알아 보았다(Fig. 4). P-choline은 처리 농도가 증가할수록 억제율도 증가하여 5.0 mM일때 70.1%의 억제가 일어났으나 P-ethanolamine은 P-choline에 비해 광인산화활성 억제효과가 적었고 5.0 mM에서나 0.5 mM에서 저해율이 15% 내외로 거의 일정했다. 이러한 결과는 pH가 8.0 이상인 반응용액에서 P-choline과 P-ethanolamine의 물리화학적성질이 다른데, 이것으로 인한 구조적 차이 때문으로 해석되지만(Guynn, 1976) 자세한 억제기작은 차후의 실험에서 밝혀져야 할 것 같다. P-choline과 마찬가지로 quaternary nitrogen기를 갖는 acetylcholine이 분리엽록체에서 전자전달과 광인산화반응의 uncoupler로 작용함이 밝혀졌고(Mukhin and Roshina, 1985) 더우기 thiophosphate도 인산화합물이지만 광인산화반응을 uncoupler로써 억제한다는 보고(Alcaide and Municio, 1967)로부터 반응용액의 pH에서 양전하의 ammonium

and Tolbert, 1983) 그 농도는 식물이 성숙해짐에 따라 크게 낮아진다는 사실에서, 녹화중인 잎에 존재하는 유력한 유기인산으로써 P-choline을 지적하고 이것을 비롯하여 몇가지 유기인산화합물이 광인산화활성에 미치는 효과를 조사하였다. 이미 유기인산과 경쟁적으로 작용하는 것이 알려진 phosphoenolpyruvate,  $\alpha$ -naphthylacid phosphate는 본 실험에서도 광인산화반응을 억제했고(Table 4), uncoupler로 작용하는 acetylcholine 또한 저해효과를 나타냈으며 0.2 mM P-choline도 14.2%나 광인산화활성을 저해하였다(Table 4).

한편 녹화시간에 따라서 유식물 잎에 존재하는 P-choline의 양을 조사한 결과 녹화 초기에는 그 농도가 1.08 mM로 증가했다가 녹화가 진행됨에 따라 감소하여 48시간에 이르면 0.13 mM로 일정한 값이 유지되었으며(Table 5), 유기인산화합물의 총량은 녹화시간에 관계없이 약 4 mM 정도인 것으로 나타나서 P-choline은 전체 유기인산의 25% 정도가 됨을 알 수 있다. 세포내에서 P-choline의 분포에 대하여는 말할 수 없으



**Fig. 4.** Effect of P-choline and P-ethanolamine on the photophosphorylation by light-grown barley chloroplasts. -○-○-, P-choline; -●-●-, P-ethanolamine. These two experiments (-●-, -○-) were performed independently.



**Fig. 5.** Effect of 1 mM P-choline of changes in  $P_i$  concentrations on photophosphorylation. Insert indicates Lineweaver-Burk plot. -●-●-, with or -○-○-, without 1 mM P-choline.

기를 갖는 P-choline이 단순히  $P_i$ 와 경쟁적으로 광인산화활성을 억제한다고 단정내리기는 어려울 것 같다.

지금까지의 논의를 정리해 보면, 보리 유식물에서 녹화초기에 분리한 엽록체에서 전자전달과 광인산화활성의 coupling이 지연되는 원인의 일부는 유기인산화합물의 억제작용 때문으로 추정될 수도 있겠으나 보다 상세한 것은 앞으로 밝혀져야 하겠고, 이러한 유기인산화합물의 일종으로는 P-choline을 들 수 있는데 녹화초기에 P-choline의 양이 어찌서 많아지는지, 그리고 P-choline에 의한 억제가  $P_i$ 와의 경쟁반으로 나타나는 지에 대하여도 앞으로 밝혀져야 할 문제라 하겠다.

### 摘 要

암체에서 7일간 키운 보리(*Hordeum vulgare* L. cv. Baedong) 유식물을 8,000lux 광하에서 녹화시킬 때, 추출한 엽록체의 광인산화활성이 첨가하는  $P_i$  농도에 따라 크게 달라지고  $P_i$  농도를 증가시키면 녹화초기에서도 광인산화활성을 검출할 수 있었다. 한편, 보리 유식물 잎에서 얻은 cell-free extract는 분리엽록체의 광인산화활성을 억제하였으며, 녹화시간이 짧은 유식물 추출액일수록 저해효과가 크게 나타났다. 유식물 추출액에 이온교환수지와 alkaline phosphatase 처리를 하면 억제효과가 크게 감소하는 것으로 보아 유기인산화합물의 영향임을 알았다. 유식물 추출액에 존재하는 유기인산화합물 중 P-choline이 많은 부분을 차지하였고, P-choline의 처리농도가 증가할수록 광인산화활성 억제가 증가하였으며 이러한 억제는  $P_i$ 와 경쟁적인 관계에 있는 것으로 관찰되었다. 또한, 광인산화활성 억제제로써 P-choline은 녹화초기에는 그 농도가 높았다가 녹화가 진행됨에 따라 큰 비율로 감소하였는데,

이같은 사실은 녹화초기에 특히 많은 양 존재하는 P-choline이 녹화초기의 광인산화활성에 영향을 미칠 수도 있음을 시사한다 하겠다.

#### 參 考 文 獻

- Alcaide, A. and A.M. Municio. 1967. Inhibition and uncoupling of photophosphorylation. *Biochim. Biophys. Acta* 131:195-197.
- Appleton, H.D., B.N. La Du, Jr., B.B. Levy, J.M. Steele, and B.B. Brody. 1953. A chemical method for the determination of free choline in plasma. *J. Biol. Chem.* 205:803-813.
- Boardman, N.K. 1977. Development of chloroplast structure and function. In *Encyclopedia of plant physiology*, Trebst, A. and M. Avron (eds.), vol. 5, pp.583-600. Springer-Verlag, Berlin.
- Dilley, R.A. 1972. Ion transport ( $H^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{++}$  exchange phenomena), In *Methods in Enzymol.* Vol. 24, Colowick, S.P. and N.O. Kaplan (eds.), pp.68-72. Academic Press, New York.
- Duysen, M.E., T.P. Freeman, and R.D. Zabrocki. 1980. Light and the correlation of chloroplast development and coupling of phosphorylation to electron transport. *Plant Physiol.* 65:880-883.
- Gerwick, B.C., G.J. Williams, III, and E.G. Uribe. 1977. Effects of temperature on the Hill reaction and photophosphorylation in isolated cactus chloroplasts. *Plant Physiol.* 60:430-432.
- Gyldenholm, A.O. and F.R. Whatley. 1968. The onset of photophosphorylation in chloroplasts isolated from developing bean leaves. *New Phytol.* 67:461-468.
- Guynn, R.W. 1976. Equilibrium constants under physiological conditions for the reactions of choline kinase and the hydrolysis of phosphorylcholine to choline and inorganic phosphate. *J. Biol. Chem.* 251:7161-7167.
- Henningsen, K.W. and N.K. Boardman. 1973. Development of photochemical activity and the appearance of the high potential from of cytochrome b-559 in greening barley seedlings. *Plant Physiol.* 51:1117-1126.
- Kwon, Y.M. 1980. Inorganic phosphate and phosphorylcholine in the xylem exudate of rice plant. *Proc. Coll. Sci., SNU.* 5:89-97.
- Holden, M. 1965. Chlorophylls. In *Chemistry and biochemistry of plant pigments*, Goodwin, T.W. (ed.), pp.461-488. Academic Press, New York and London.
- Howes, C.D. and A.I. Stern. 1973. Photophosphorylation during chloroplast development in red kidney bean. *Plant Physiol.* 51:386-390.
- Lee, C.B., Y.N. Hong, S.H. Lee, Y.D. Cho, and Y.M. Kwon. 1983. Development of electron transport and photophosphorylation in greening barley seedlings. *Kor. Biochem. J.* 16:61-67.
- Lockshin, A., R.H. Falk, L. Bogorad, and C.L.F. Woodcock. 1971. A coupling factor for photosynthetic phosphorylation from plastids of light- and dark-grown maize. *Biochim. Biophys. Acta* 226:366-382.
- Lowry, D.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.
- Maizel, J.V., A.A. Benson, and N.E. Tolbert. 1956. Identification of phosphorylcholine as an important constituent of plant saps. *Plant Physiol.* 31:407-408.
- Margulies, M.M. 1966. Concerning the preparation of chloroplasts active in Hill and photosynthetic phosphorylation activities from leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol.* 31:407-408.



- Martin, B.A. and N.E. Tolbert. 1983. Factors which affect the amount of inorganic phosphate, phosphorylcholine, and phosphorylethanolamine in xylem exudate of tomato plants. *Plant Physiol.* 73:464-470.
- Morris, P., G.V. Nash, and D.O. Hall. 1982. The stability of electron transport in vitro chloroplast membranes. *Photosynthesis Res.* 3: 227-240.
- Mukhin, E.N. and V.V. Roshina. 1985. Acetylcholinesterase activity in chloroplasts and acetylcholine effects on photochemical reactions. *Photosynthetica* 19(2): 164-171.
- Nishimura, M., T. Ito, and B. Chance. 1962. Studies on bacterial photophosphorylation; III. A sensitive and rapid method of determination of photophosphorylation. *Biochim. Biophys. Acta* 59: 177-182.
- Phung Nhu Hung, S., A. Hoarau, and A. Moyses. 1970. Etude de l'évolution en chloroplasts des plantes étiolées d'orge; II. Photophosphorylation et photoréduction du NADP, formation de ferredoxine, en éclaircissement continu et par l'action d'éclairs. *Z. Pflanzenphysiol.* Bd. 62s: 245-258.
- Shinohara, K. and H. Sakurai. 1980.  $\alpha$ -Naphthyl oligophosphates; Inhibitors of photophosphorylation and H<sup>+</sup>-ATPase of spinach chloroplasts. *Plant & Cell Physiol.* 21: 75-84.
- Shinohara, K. and H. Sakurai. 1981. Pyridoxal 5-phosphate, phenyl phosphate and acetyl phosphate, as inhibitors of photophosphorylation competitive with phosphate. *Plant & Cell Physiol.* 22(8): 1447-1457.
- Shinohara, K. and H. Sakurai. 1982. Light-induced ATP formation from acetyl phosphate and ADP by broken spinach chloroplasts. *Plant & Cell Physiol.* 23(1): 59-66.

(1986. 6. 20. 接受)