

## 光呼吸 과정에서 生成된 Glutamate가 光合成 炭素代謝에 미치는 영향

李寅鐵·韓泰鎭\*·李舜熙\*\*

(대전대학 생물학과·\*한림대학 생물학과·\*\*연세대학교 생물학과)

## Effects of Glutamate Synthesized during Photorespiration on Photosynthetic Carbon Metabolism

Lee, In Cheol, Tae-Jin Han\* and Sun Hi Lee\*\*

(Department of Biology, Taejon University, Taejon, \*Department of Biology, Hallym University, Choonchon and \*\*Department of Biology, Yonsei University, Seoul)

### ABSTRACT

The effects of ammonium ion and glutamate on CO<sub>2</sub> fixation abilities and related carbon metabolism were investigated in pea (*Pisum sativum* L. cv. Sparkle) leaf discs under conditions favoring photorespiration (21% O<sub>2</sub>, 0.03% CO<sub>2</sub>) and nonphotorespiration (5% O<sub>2</sub>, 0.03% CO<sub>2</sub>). A concentration of more than 10 mM of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> decreased the photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation and those inhibitory effects were more remarkable in 21% O<sub>2</sub> than in 5% O<sub>2</sub> conditions. The effect of glutamate on CO<sub>2</sub> fixation was found to be independent of the O<sub>2</sub> level, as glutamate increased the CO<sub>2</sub> fixation under both 21% and 5% O<sub>2</sub> conditions. L-methionine-dl-sulfoximine, an irreversible inhibitor of glutamate synthetase, however, inhibited the CO<sub>2</sub> fixation markedly under 21% O<sub>2</sub>, but did not affect it under 5% O<sub>2</sub> conditions.

The treatment with NH<sub>4</sub><sup>+</sup> elevated the relative amounts of <sup>14</sup>C incorporated into soluble components from <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> with no relation to O<sub>2</sub> levels, while glutamate increased <sup>14</sup>C into insoluble components and neutral sugars. Glutamate, especially, seemed to stimulate the biosynthesis of starch under 5% O<sub>2</sub> condition. These results indicated that NH<sub>4</sub><sup>+</sup> stimulated the degradation of sugar or starch and this proposal was confirmed by the increasing of pyruvate kinase activity in leaf discs treated with ammonium ion.

## 서      론

고등 식물 중, 특히  $C_3$ -plant의  $CO_2$ 고정능은 대기의  $O_2$ 와  $CO_2$  농도에 의해서 크게 영향을 받는다(Andrews *et al.*, 1973; Laing *et al.*, 1974). 이는 ribulose-bisphosphate가  $CO_2$  혹은  $O_2$ 와 경쟁적으로 결합하여 서로 다른 탄소 대사과정을 유도하기 때문이다(Lorimer *et al.*, 1973; Servatics and Ogren, 1978). RuBP와  $O_2$ 가 반응하여 유도되는 탄소대사과정이 광호흡이다. 광호흡은 chloroplast, peroxisome, mitochondria등 세포내 여러 소기관을 통해 진행되며, 그 중간 산물로 glycine이나 serine같은 아미노산이 생성되는 특이한 점이 있다(Bird *et al.*, 1972; Clandinin and Cossin, 1972). 특히 glycine에서 serine으로 전환되는 과정은 미토콘드리아의 glycine decarboxylase와 serine-hydroxy methyl transferase의 coupling reaction으로 진행되며, 이 반응에서  $CO_2$ 와  $NH_3$ 가 동량적으로 방출된다(Kisaki *et al.*, 1971; Bird *et al.*, 1972). 이 반응에서 방출되는  $NH_3$ 는 미토콘드리아의 glutamate dehydrogenase에 의해 재동화된다는 의견(Tolbet, 1979; Yamaya *et al.*, 1984)도 있으나 많은 연구 보고등이 지적하는 바 세포질의 glutamine synthetase에 의해 재동화된다고 한다(Keys *et al.*, 1978; Woo *et al.*, 1982; Murillo and Jimenez, 1985).  $NH_3$ 가 glutamine synthetase에 의하여 재동화된다면 광호흡이 진행되는 동안에는 많은 양의 glutamate가 소모되고 glutamine이 생성될 것이다. 그러므로 glutamine이 다시 glutamate로 전환되는 과정이 요구되며, 이러한 과정에 관여하는 효소가 glutamate synthase라고 여겨지고 있다.(Wallsgrove *et al.*, 1980; Sormeville and Ogren, 1980). 그러나 glutamate synthase는 현재까지 엽록체에서만 검출된 바 있다(Wallsgrove *et al.*, 1979; Matoh and Takahashi, 1981). 그러므로 광호흡과정에서 생성된 glutamine은 엽록체로 이동하여 glutamate synthase의 촉매하에 2 moles의 glutamate를 생성하게 되며 이 glutamate의 일부가 다시  $NH_3$ 의 재동화에 사용될 것이라 생각되고 있다(Keys *et al.*, 1978). 이러한 과정을 photorespiratory nitrogen cycle이라 칭하기도 하는데, 광호흡으로 방출되는  $NH_3$ 의 양이 20~40  $\mu$  moles/hr.mg.chl (Lorimer and Anrews, 1981)이라는 점을 감안해 보면 그 중요성이 인식될 수 있다. 광호흡의 중간산물인 glycine의 합성과  $NH_3$ 의 재동화에 glutamate가 관여하며 더우기 photorespiratory nitrogen cycle에서 glutamate의 생성이 엽록체 내에서만 가능할 것이라는 보고들은 엽록 조직에서 glutamate 대사와 광호흡 혹은  $CO_2$ 고정 과정과 밀접한 관련이 있음을 보여준다. 실제로 glutamate처리에 의해  $CO_2$  고정능이 증가하며(Oliver and Zelitch, 1977), glutamine synthetase 활성이 억제되면  $CO_2$  고정능이 감소하고(Ikeda *et al.*, 1984; Lee and Lec, 1985), glutamine 합성 억제에 따른  $CO_2$ 고정 감소가 glutamine, glycine, glutamate, scrine등의 처리에 의해 회복된다는 연구 결과(Ikeda *et al.*, 1984; Johansson and Larsson, 1986)도 제시된 바 있다. 그러나 위의 연구들은 모두 glutamate대사와  $CO_2$ 고정과정이 관련된다는 점만을 지적하고 있으며 그 정확한 작용기작은 아직 명확하지 않다. 그러므로 본 실험에서는 광호흡이 진행되는 상태와 진행되지 않는 상태에서 glutamate 및 ammonia처리에 따른 photosynthetic carbon flow의 변화를 조사하여, 광호흡에 관련된 glutamate가 탄소대사에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료.** 본 실험에서는 완두(*Pisum sativum* L. cv. Sparkle)의 잎을 재료로 사용하였다. 완두를 온실에서 3주간 성장시켜 줄기의 5번째 마디가 나타났을 때 3~4번째의 성숙한 잎

을 실험 재료로 사용하였다.

**O<sub>2</sub> 농도 조절.** 5% O<sub>2</sub> 농도의 공기는 CO<sub>2</sub>를 제거한 공기와 N<sub>2</sub>가스를 혼합하여 만들었다. 21% O<sub>2</sub> 농도의 공기는 자연 상태의 공기에서 CO<sub>2</sub>만을 제거하여 사용하였으며, 각 실험에서 광합성에 요구되는 CO<sub>2</sub>의 농도는 NaHCO<sub>3</sub>를 사용하여 0.03%로 조절하였다.

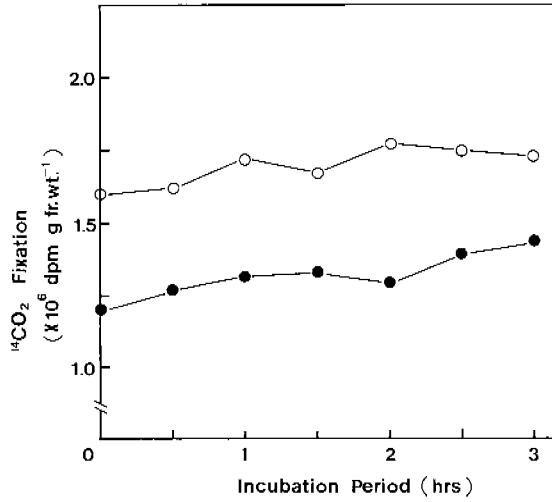
**광합성의 측정.** 광합성의 측정은 Zelitch (1968)의 방법을 응용하였다. 직경이 1cm인 cork borer로 잘라 낸 완두잎 10개(약 120mg)를 4ml의 H<sub>2</sub>O 혹은 작용액이 들어 있는 flask에 floating 시킨 다음 closed CO<sub>2</sub> fixing system에 연결시켰다. NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub>로부터 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>를 방출시켜 광도 20,000 lux와 28°C의 온도 조건에서 leaf disc에 feeding시켰다. 일정시간 feeding시킨 즉시 완두잎을 80% ethanol과 H<sub>2</sub>O로 열탕하여 가용성물질을 추출하였다. 추출물의 일정량을 취하여 liquid scintillation counter로 측정하여 가용성 물질에 유입된 <sup>14</sup>C의 양을 계산하였다. 또한 불용성 물질의 <sup>14</sup>C도 측정한 후 이 모든 값을 합하여 총 광합성량으로 하였다.

**각 분획물의 <sup>14</sup>C 분포 측정.** 각 실험구에서 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>로부터 유입된 <sup>14</sup>C의 분포는 다음과 같이 측정하였다. 광합성 측정에서 얻은 추출물을 모아 40°C 이하에서 감압 농축한 다음 ion 교환 수지(Dowex 50W-X2, H<sup>+</sup> type과 Dowex 1X8, Cl type)를 이용하여 염기성, 산성 및 중성 분획물로 분리하였다. 산성 분획물은 다시 감압 농축하여 Cellulosic thin layer chromatography를 이용, 각 유기산으로 분리한 후 <sup>14</sup>C 분포를 측정하였다. 전분으로 유입된 <sup>14</sup>C의 측정은 Kerr등 (1984)의 방법으로 측정하였다. <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>의 고정기 끝난 완두잎을 80% ethanol과 함께 막자사발에서 마쇄한 후 인산분리하여 침전물을 얻었다. 이 침전물을 다시 80% ethanol에 3회 세척한 후 amyloglucosidase (E.C. 3, 2, 1, 3)을 처리하여 여기서 얻어진 <sup>14</sup>C-glucose의 양을 측정하여 전분에 유입된 <sup>14</sup>C의 양을 계산하였다.

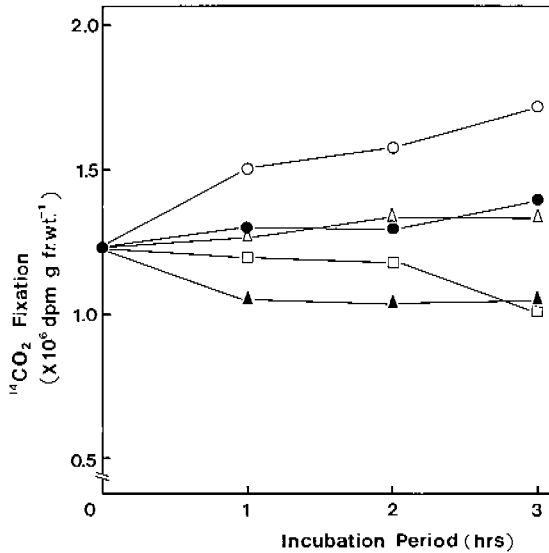
**효소 활성의 측정.** Pyruvate kinase (E.C. 2, 7, 1, 40)의 활성은 lactic dehydrogenase를 사용하여 NADH의 산화도를 측정하는 방법 (Berckel et al., 1974)로 구하였으며, sucrose-phosphate synthase (E.C. 2, 4, 1, 4)의 활성은 UDP-glucose와 fructose-6-phosphate를 사용하는 Kerr등 (1984)의 방법으로 측정하였다. ADP-glucose pyrophosphorylase (E.C. 2, 7, 7, 6)의 활성은 Ghosh와 Preiss(1966)의 방법을 응용하여 ADP-(<sup>14</sup>C)-glucose로부터 생성되는 <sup>14</sup>C-glucose-1-phosphate의 양을 측정하여 구하였으며, 단백질 정량은 Lowry등 (1951)의 방법으로 시행하였다.

## 결과 및 고찰

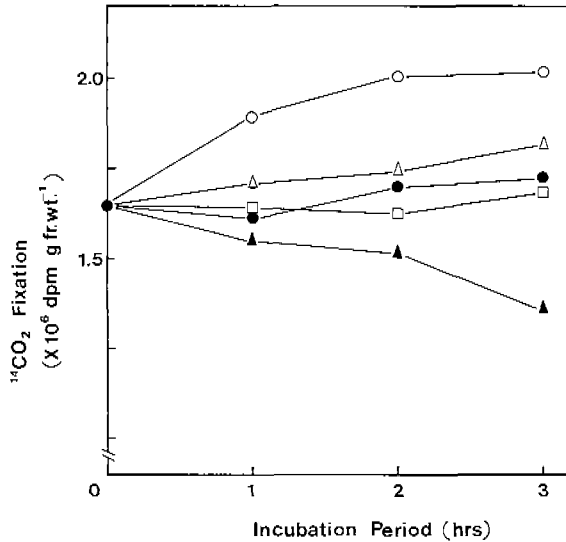
C<sub>3</sub> plant에 있어서는 대기의 산소 농도가 감소하거나 CO<sub>2</sub>농도가 증가하면 광호흡이 억제되고 순 광합성량이 증가한다고 알려져 있다 (Forrester et al., 1966; Laing et al., 1974; Radmer et al., 1978). 본 실험에서는 CO<sub>2</sub>농도는 대기 상태로 유지하고 O<sub>2</sub>의 농도를 5%로 감소시켜 CO<sub>2</sub> 고정능을 측정된 결과 21% O<sub>2</sub> 조건에 비해 약 30% 정도 CO<sub>2</sub>고정량이 증가하였다 (Fig. 1). 각 O<sub>2</sub>농도에서의 CO<sub>2</sub>고정능을 대조군으로 하여 5 mM과 10 mM의 ammonia와 25 mM의 glutamate 그리고 glutamine synthetase의 억제제인 L-methionine-dl-sulfoximine을 처리하여 CO<sub>2</sub>고정능을 측정하였다. 21% O<sub>2</sub> 조건에서 glutamate를 처리하면 CO<sub>2</sub> 고정능이 대조군에 비해 15% 정도 증가하였다. 그러나 5 mM ammonia는 CO<sub>2</sub>고정에 거의 영향이 없었으며 10 mM ammonia를 처리하면 CO<sub>2</sub> 고정능을 억제하였다. 2 mM MSO를 투여하면 10 mM ammonia와 유사하게 CO<sub>2</sub>고정을 억제하는 효과가 있었다. 그러나 MSO의 경우 3시간 이상 preincubation을 하여야 CO<sub>2</sub>고정에 대한 억제 효과가 현저하게 나타나 10 mM ammonia를 처리한 경우와



**Fig. 1.** Total  $^{14}\text{CO}_2$  fixation ability of leaf discs under 21% (●) and 5%  $\text{O}_2$  (○) conditions with incubation time.  $^{14}\text{CO}_2$  was liberated from 2  $\mu\text{Ci}$  (10  $\mu\text{molc}$ )  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$  and fed into leaf discs for 30 min. under 20,000l ux at 28°C.



**Fig. 2.** Comparison of  $^{14}\text{CO}_2$  fixation abilities of leaf discs incubated with several chemicals under 21%  $\text{O}_2$  conditions.  $\text{H}_2\text{O}$  (●—●); 25 mM glutamate (○—○); 5 mM  $\text{NH}_4^+$  (△—△); 10 mM  $\text{NH}_4^+$  (▲—▲); 2 mM MSO (□—□).



**Fig. 3.** Comparison of  $^{14}\text{CO}_2$  fixation abilities of leaf discs incubated with several chemicals under 5%  $\text{O}_2$  conditions.  $\text{H}_2\text{O}$  (●—●); glutamate (○—○); 5mM  $\text{NH}_4^+$  (△—△); 10 mM  $\text{NH}_4^+$  (▲—▲); MSO (□—□).

다른 양상을 보였다 (Fig. 2).  $\text{O}_2$  농도가 5%인 조건에서는  $\text{CO}_2$  고정능에 대한 glutamate의 효과가 현저하여, 대조군에 비해 30% 이상  $\text{CO}_2$  고정능이 증가하였다 (Fig. 3). 그러나 10 mM ammonia를 처리한 경우에는 21%  $\text{O}_2$ 에서와 유사하게  $\text{CO}_2$  고정을 감소시키는 것으로 나타나, ammonia가 어느 농도 이상 투여되면  $\text{O}_2$  농도에 관계없이  $\text{CO}_2$  고정에 대해 억제 효과가 있는 것으로 생각되었다. 한편 5%  $\text{O}_2$  하에 MSO를 투여한 경우에는 21%  $\text{O}_2$  조건과는 전혀 다르게  $\text{CO}_2$  고정을 억제하는 효과가 매우 경미하였다.

앞 절편에 glutamate를 투여할 경우  $\text{CO}_2$  고정능이 증가한다는 결과는 이미 앞선 연구 결과에서 보고된 바 있다 (Oliver and Zelitch, 1977; Lawyrc *et al.*, 1983). 그러나 본 실험에서 제시된 바,  $\text{O}_2$  농도가 변화함에 따라  $\text{CO}_2$  고정에 대한 glutamate의 효과가 다르게 나타난다는 결과는 광호흡에 관련된 glutamate의 합성이  $\text{CO}_2$  고정에 영향을 미칠 수 있음을 시사해 주고 있다. 고농도의 ammonia가  $\text{CO}_2$  고정을 억제하는 현상은 ammonia가 엽록체의 광인산화 반응에 짝풀림 작용을 한 결과로 설명되어 왔다 (Krogmanon *et al.*, 1959; Achhireddy *et al.*, 1983). 그러나 Ikeda 등 (1984)은 MSO를 처리한 경우  $\text{CO}_2$  고정이 억제되는 양상이 50 mM 정도의 고농도 ammonia를 처리하였을 때와 현저히 다르다는 점을 지적하여 ammonia의 작용이 단순히 짝풀림 반응에만 기인하지는 않는다고 하였다. 만일 ammonia에 의한  $\text{CO}_2$  고정의 억제 작용이 짝풀림 반응에만 의존된 결과라면 일단 고농도의 ammonia를 처리하면, 투여된 ammonia가 제거되기 전에는  $\text{CO}_2$  고정이 계속 억제된 결과를 나타낼 것이다. 그러나 본 실험에서 ammonia와 glutamate를 동시에 투여하여  $\text{CO}_2$  고정능을 측정된 결과 25 mM 정도의 ammonia가 존재하여도 동시에 처리된 glutamate의 농도에 따라  $\text{CO}_2$  고정능이 회복되었다 (Fig. 4). 이러한 결과로

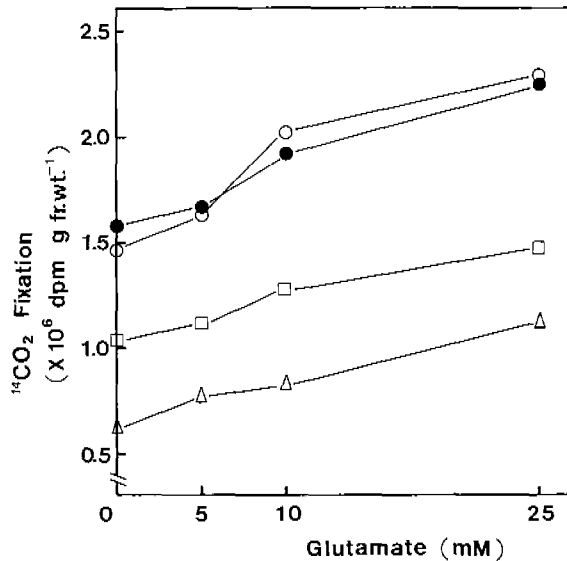


Fig. 4. Effect of glutamate on photosynthetic  $^{14}\text{CO}_2$  fixation with or without ammonia under 21%  $\text{O}_2$  conditions. Leaf discs were preincubated with the mixture of glutamate and  $\text{NH}_4^+$  for 3 h. none (●—●); 5mM (○—○); 10 mM (□—□); 25 mM  $\text{NH}_4^+$  (△—△).

미루어  $\text{CO}_2$  고정에 대한 ammonia의 작용이 단순히 짝퍽림 작용에만 기인하는 것은 아니며, 광합성 조직에서는 glutamate가  $\text{CO}_2$  고정에 특별한 작용이 있다는 보고 (Ikeda *et al.*, 1984; Johansson and Larsson, 1986)와 일치된다고 생각되었다. 그러므로 21%  $\text{O}_2$  조건에서 MSO에 의한  $\text{CO}_2$  고정 억제도, MSO가 glutamine synthetase의 활성을 저해한 결과 광호흡서 방출된 ammonia가 누적된 것에 기인할 수도 있으나, 정상적인 photorespiratory nitrogen cycle의 억제에 따른 glutamate 합성 감소에 그 원인이 있다고 생각된다.

광합성에 의해 고정된  $^{14}\text{C}$ 의 분포는  $^{14}\text{CO}_2$  고정이 끝난 완두잎을 80% ethyl alcohol과  $\text{H}_2\text{O}$ 로 열탕 처리하여 추출된 물질과 불용성 물질로 구분하여 측정하였다 (Table 1). 완두잎에 ammonia를 처리하면  $^{14}\text{C}$ 의 분포는 가용성 물질에서 높았으며, glutamate를 처리한 경우에는 불용성 물질쪽으로  $^{14}\text{C}$ 이 흐르는 것으로 나타났다. 이러한 경향은  $\text{O}_2$  농도에 거의 영향을 받지 않는 것으로 생각되었다. 그러나 MSO를 처리한 경우에는  $\text{O}_2$  농도에 의해 현저히 다른 양상을 나타내었는데 21%  $\text{O}_2$  하에서는  $^{14}\text{C}$ 가 가용성 물질로 많이 유입된 반면 5%  $\text{O}_2$ 에서는 대조구와 거의 차이가 없었다. 가용성 물질을 다시 산성과 염기성 그리고 중성 당류로 구분하여  $^{14}\text{C}$  분포를 조사한 결과, ammonia를 처리하면 산성과 염기성 물질의  $^{14}\text{C}$  분포가 증가한 반면 중성당에서의  $^{14}\text{C}$  분포는 현저히 감소하였다 (Table 2). 이는 가용성 물질 중에서도 당류의 합성을 억제하거나, 혹은 분해를 촉진한 결과로 생각되며, 앞에서 ammonia 처리에 의해 80% ethyl alcohol과  $\text{H}_2\text{O}$ 에 불용성인 물질에서의  $^{14}\text{C}$ 가 감소한 결과로도 확인할 수 있었다. Mohamed와 Gnanam (1979)의 보고에 의하면 ammonia는 NADP-glyceraldehyde-3-phosphate dehyd-

**Table 1.** Relative incorporation of  $^{14}\text{CO}_2$  into soluble and insoluble(residue) fractions in leaf discs with various treatments under 21% or 5%  $\text{O}_2$  conditions ( $\times 10^6$  dpm/ming fr. wt.)

$\text{O}_2$ level	Treatment (mM)	Total $^{14}\text{CO}_2$ fixation	soluble	residue
21%	$\text{H}_2\text{O}$	1.49	1.19(80)*	0.30(20)
	$\text{NH}_4^+(5)$	1.46	1.21(83)	0.25(17)
	$\text{NH}_4^+(10)$	1.04	0.89(86)	0.15(14)
	MSO(2)	1.01	0.88(87)	0.13(13)
	Flu(25)	1.74	1.31(75)	0.43(25)
5%	$\text{H}_2\text{O}$	1.74	1.35(78)	0.39(22)
	$\text{NH}_4^+(5)$	1.99	1.66(83)	0.34(17)
	$\text{NH}_4^+(10)$	1.31	1.10(84)	0.21(16)
	MSO(2)	1.73	1.35(78)	0.38(22)
	Glu(25)	2.12	1.52(72)	0.60(28)

(% of total)\*

**Table 2.** Amount of  $^{14}\text{C}$  incorporated into different components of the soluble fraction in leaf discs under 21% and 5%  $\text{O}_2$  conditions.

$\text{O}_2$ level	Treatment (mM)	Total $^{14}\text{C}$ in soluble	components		
			acidic	basic	neutral
21%	$\text{H}_2\text{O}$	1.19	0.65(55)*	0.20(17)	0.30(25)
	$\text{NH}_4^+(5)$	1.21	0.78(65)	0.30(25)	0.09(7)
	$\text{NH}_4^+(10)$	0.89	0.59(66)	0.18(20)	0.07(7)
	MSO(2)	0.88	0.62(70)	0.12(14)	0.10(12)
	Glu(25)	1.31	0.66(50)	0.25(19)	0.37(28)
5%	$\text{H}_2\text{O}$	1.35	0.72(53)	0.15(11)	0.40(30)
	$\text{NH}_4^+(10)$	1.10	0.700(63)	0.16(15)	0.21(19)
	MSO(2)	1.35	0.73(54)	0.17(51)	0.16(10)

(% of Total)\*

Leaf discs were incubated with  $^{14}\text{CO}_2$  for 30min, ( $\times 10^5$ dpm/g fr. wt.)

rogenase와 fructose-bis-phosphate의 활성화에 영향을 주어 Calvin cycle의 중간 산물로 부터 당이 합성되는 것을 억제한다고 하였다. 그러나 본 실험에서 ADP-glucose pyrophosphorylase와 sucrose-phosphate synthetase의 활성을 측정한 결과 이 두 효소의 활성화에 ammonia나 MSO가 커다란 영향을 주지 않았다 (Table 3). 이에 반하여 pyruvate kinase의 활성화는 5 mM ammonia 처리에 의해 50% 정도, MSO처리에 의해 23% 이상 증가하였다 (Table 4). 이런 결과는 ammonia가 당류의 합성과정을 억제하기 보다는 해당 과정을 촉진함을 보여 주고 있으며, ammonia가 sucrose의 분해를 촉진한다는 결과와 유사하다 (Paul *et al.*, 1978). Glutamate를 처리하여  $^{14}\text{C}$ 의 분포 변화를 조사한 결과, glutamate는 중성 당류에  $^{14}\text{C}$ 의 유입을 증가시키고, 산성 물질에  $^{14}\text{C}$ 유입을 감소시켰다 (Table 2). 이는 glutamate가 불용성 물질에의  $^{14}\text{C}$  분포 비율

**Table 3.** Effect of  $\text{NH}_4^+$ , MSO and glutamate on ADP-glucose pyrophosphorylase and sucrose-phosphate synthase activities *in vitro*.

Treatment (mM)	ADP-glucose pyrophosphorylase ( $\times 10^3$ dpm/min mg protein)	SPS synthase (A520/min mg protein)
H <sub>2</sub> O	1.34(100*)	0.133(100*)
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (5)	1.12(84)	0.129(97)
MSO (2)	1.28(96)	0.137(103)
Glu (25)	1.37(102)	0.142(107)

(% of control)\*

ADP-glucose pyrophosphorylase activity was measured by the conversion of ADP-(<sup>14</sup>C)glucose-1-phosphate in the presence of PPI.

**Table 4.** Changes of pyruvate kinase activity in leaf discs treated with  $\text{NH}_4^+$ , MSO and glutamate under 21% O<sub>2</sub> conditions for 12 h

Treatment (mM)	Total activity ( $\mu$ mole NADH oxidation /min g fr. wt.)	Specific activity ( $\mu$ mole NADH oxidation/min mg protein)
H <sub>2</sub> O	12.444	3.76(100*)
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (5)	18.57	5.63(150)
MSO (2)	15.28	4.63(123)
Glu (25)	12.14	3.68(98)

(% of control)\*

**Table 5.** Incorporation of <sup>14</sup>C into 3-PGA from <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> in leaf discs treated with  $\text{NH}_4^+$ , MSO and glutamate under 21% or 5% O<sub>2</sub> condition

O <sub>2</sub> level	Treatment (mM)	<sup>14</sup> C in 3-PGA ( $\times 10^3$ dpm/g fr. wt.)
21%	H <sub>2</sub> O	5.24(100*)
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (5)	4.93(94)
	MSO (2)	4.68(89)
	Glu (25)	6.31(120)
5%	H <sub>2</sub> O	7.22(100)
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (5)	5.92(82)
	MSO (2)	6.71(93)
	Glu (25)	9.82(136)

(% of Control)\*

Leaf discs were preincubated with above treatment for 3 h and subsequently fed with <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> for 30 min.

을 증가시킨다는 사실 (Table 1)과 연관시켜 보면 glutamate가 sugar 혹은 starch의 합성을 촉진할 수 있다는 것을 의미한다. 그러므로 glutamate를 처리하여 starch 합성을 조사한 결과, glutamate는 특히 5%의 CO<sub>2</sub> 조건에서 starch의 합성을 촉진시켰다 (Fig. 5). Glutamate가 starch의 합성을 촉진시키는 기작은 아직 명확하지 않다. 그러나 gluamate가 starch합성이나 분해에 관여하는 어떤 효소에 직접 작용하는 것은 아니라고 생각된다. 이는 앞에서 언급하였듯이



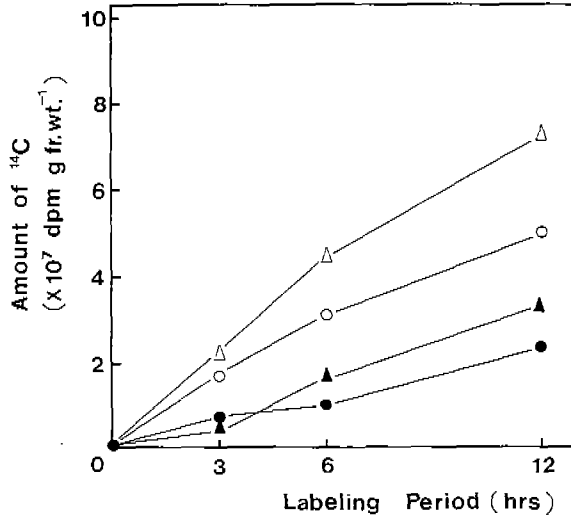


Fig. 5. Incorporation of <sup>14</sup>C into starch in leaf discs incubated with H<sub>2</sub>O and 25 mM glutamate under 21% or 5% O<sub>2</sub> conditions. <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> was liberated from NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> by the intervals of 30 min during labeling period. 21% O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O (●—●); 25 mM glutamate (▲—▲); 5% O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O (○—○); 25 mM glutamate (△—△).

ammonia에 의한 CO<sub>2</sub> 고정 억제가 glutamate에 의해 회복되며(Fig. 3), glutamate는 ammonia와는 다르게 pyruvate kinase에 대하여 별다른 영향이 없다는 결과 (Table 4)로도 추론할 수 있다. 본 실험에서 제시하는 가능성은 glutamate가 3-phosphoglycerate (3-PGA)의 합성을 통하여 CO<sub>2</sub> 고정에 관여한다는 것이다. 3-PGA는 가장 잘 알려진 starch합성 촉진제이다 (Sanwal et al., 1968; Preiss and Levi, 1980). 또한 3-PGA는 Calvin cycle의 첫번째 산물로 나타나기도 하지만 당류의 합성과 분해를 조절하는 key metabolite라고 알려져 있다 (Duggleby and Dennis, 1973; Turner and Turner, 1975). 그러므로 ammonia는 pyruvate kinase의 활성을 증가시켜 탄소의 흐름을 TCA cycle로 유도하여 TCA 중간 산물의 amination을 통한 아미노산의 합성을 촉진케하고, glutamate는 PGA의 수준을 증가시켜 sugar나 starch의 합성을 촉진케 하는 것으로 생각된다. 이는 glutamate를 처리할 경우 <sup>14</sup>C의 분포가 증가하는 결과로도 뒷받침 된다 (Table 5). 그러나 glutamate가 어떤 기작을 통하여 3-PGA의 농도를 높일수 있는지는 더욱 자세한 연구가 이루어져야 밝힐 수 있을 것이다.

### 적 요

광합성에 관련된 탄소 대사에 대한 glutamate 및 ammonia의 영향을 조사하여 광호흡 과정에서 생성되는 glutamate의 기능을 밝히고자 하였다. 광호흡이 진행되는 조건(21% O<sub>2</sub>, 0.03% CO<sub>2</sub>)과 광호흡이 일어나지 않는 조건(5% O<sub>2</sub>, 0.03% CO<sub>2</sub>)에서 완두(*Pisum sativum* L. cv. Sparkle)잎에 10 mM 이상의 ammonia를 처리하면 CO<sub>2</sub> 고정이 억제되었으며, 이러한 억제 효과는 5% O<sub>2</sub> 조건보다 21% O<sub>2</sub> 조건에서

더욱 현저하였다. 반면에 glutamate는 CO<sub>2</sub> 고정을 증가시키는 효과가 있었으며, 이는 O<sub>2</sub> 수준에 관련이 없는 것으로 생각되었다. Glutamine synthetase의 억제제인 L-methionine-dl-sulfoximine의 효과는 O<sub>2</sub> 수준에 의해 현저한 차이를 나타냈는데, 21% O<sub>2</sub> 하에서는 CO<sub>2</sub> 고정을 억제하였으나, 5% O<sub>2</sub> 조건에서는 거의 영향이 없었다.

<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>로 부터 유입된 <sup>14</sup>C의 분포를 조사한 결과, ammonia를 투여할 경우에는 가용성 물질로의 <sup>14</sup>C 유입을 증가시켰다. 이와는 대조적으로 glutamate를 처리한 경우에는 불용성 물질과, 가용성 물질에서도 특히 중성 당류로의 <sup>14</sup>C 유입을 증가시켰다. Ammonia를 투여할 경우 pyruvate kinnase의 활성이 현저히 증가하였으며, glutamate는 starch의 합성을 촉진하는 작용이 있었다. 이상의 결과로 ammonia는 sugar 혹은 starch의 분해를 유도하는 효과가 있음을 보여 주며, glutamate는 starch 합성을 촉진함으로써 CO<sub>2</sub> 고정에 영향을 줄 수 있다고 생각된다.

### 참 고 문 헌

- Achhireddy, N.R., D.R. Vann, J.S. Fletcher and L. Beevers, 1983. The influence of methionine sulfoximine on photosynthesis and nitrogen metabolism in excised pepper (*Capsium annuum* L.) leaves. *Plant Sci. Lett.* **32**: 72-78
- Andrews, T.J., G.H. Lorimer and N.E. Tolbert. 1973. Ribulose diphosphate oxygenase. I. Synthesis of phosphoglycolate by fraction-1 protein of leaves. *Biochemistry* **12**: 11-18
- Berkel, Th.J.C., J.F. Koster, J.K. Kruyt and W.C. Hulsmann. 1974. On the regulation and allosteric model of L-type pyruvate kinase from rat liver. *Biochim. Biophys. Acta* **370**: 450-458
- Bird, I.F., M.J. Cornelius, A.M. Keys and C.P. Whittingham. 1972. Oxidation and phosphorylation associated with the conversion of glycine to serine. *Phytochemistry* **11**: 1587-1594
- Clandinin, M.T. and E.A. Cossins. 1972. Localization and interconversion of tetrahydropteroylglutamate in isolated pea mitochondria. *Biochem. J.* **128**: 29-40
- Duggleby, R.G. and D.T. Dennis. 1973. Pyruvate kinase, a possible regulatory enzyme in higher plant. *Plant Physiol.* **52**: 312-317
- Forrester, M.F., G. Kortkov and C.D. Nelson. 1966. Effect of oxygen on photosynthesis, photorespiration and respiration in detached leaves. I. Soybean. *Plant Physiol.* **41**: 422-427
- Ghosh, H.P. and J. Preiss. 1966. Adenosine diphosphate glucose pyrophosphorylase. *J. Biol. Chem.* **241**: 4491-4504
- Ikeda, M., W.L. Ogren and R.H. Hageman. 1984. Effect of methionine sulfoximine on photosynthetic carbon metabolism in wheat leaves. *Plant Cell Physiol.* **25**: 447-452.
- Johansson, L. and C.M. Larsson. 1986. Relationship between inhibition of CO<sub>2</sub> fixation and glutamine synthetase inactivation in *Lemna gibba* L. treated with L-methionine-dl-sulfoximine (MSO). *J. Exp. Botany* **37**: 221-229
- Krerr, P.S., S.C. Huber and D.W. Israel. 1984. Effect of N-source on soybean leaf sucrose phosphate synthase, starch formation and whole plant growth. *Plant Physiol.* **75**: 483-486
- Keys, A.J., I.F. Bird, M.J. Cornelius, P.J. Lea, R.M. Wallsgrove and B.J. Milfin. 1978. Photorespiratory nitrogen cycle. *Nature* **275**: 741-743
- Kisaki, T., N. Yoshida and A. Imai. 1971. Glycine decarboxylase and serine formation in spinach leaf

- mitochondria preparation with reference to photorespiration. *Plant Cell Physiol.* **12**: 275–288
- Korgmann, D.W., A.T. Jagendorf and M. Avron. 1959. Uncouplers of spinach chloroplast photosynthetic phosphorylation. *Plant Physiol.* **34**: 272–277
- Laing, W.A., W.L. Ogren and R.H. Hageman. 1974. Regulation of soybean net photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation by the interaction of CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> and ribulose-1,5-diphosphate carboxylase. *Plant Physiol.* **54**: 678–685
- Lawyer, A.L., K.L. Cornwell, S.L. Gee and J.A. Bassham. 1983. Glyoxylate and glutamate effect on photosynthetic carbon metabolism in isolated chloroplasts and mesophyll cells of spinach. *Plant Physiol.* **72**: 420–425
- Lee, I.C. and S.H. Lee. 1985. Studies on the reassimilation of NH<sub>3</sub> released during photorespiration. *Korean Biochem. J.* **18**: 443–447
- Lorimer, G.H. T.J. Andrews and N.E. Tolbert. 1973. Ribulose diphosphate oxygenase. II. Further proof of reaction products and mechanism of action. *Biochemistry* **12**: 18–23
- Lorimer, G.H. and T.J. Andrews. 1981. The Chemo- and photorespiratory carbon oxidation cycle. In, *The Biochemistry of Plants*, P.K. Stumpf and E.E. Conn (eds.). Vol. 8, Academic Press. pp. 329–374.
- 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
- Matoh, T. and E. Takahashi. 1981. Glutamate synthase in greening pea shoots. *Plant Cell Physiol.* **22**: 727–731
- Mohamed, A.H. and A. Gnanam. 1979. A possible mechanism of ammonia ion regulation of photosynthetic carbon flow in higher plants. *Plant Physiol.* **64**: 263–268
- Muriollo, E. and E.S. Jimenez. 1985. Glutamate synthase in greening callus of *Bouvardia ternifolia* Schecht. *Planta* **163**: 448–452
- Oliver, D.J. and I. Zelitch. 1977. Metabolic regulation of glycolate synthesis, photorespiration and net photosynthesis in tobacco by L-glutamate. *Plant Physiol.* **59**: 688–694
- Paul, J.S., K.L. Cornwell and J.A. Bassham. 1978. Effects of ammonia on carbon metabolism in photosynthesizing isolated mesophyll cells from *Papaver somniferum* L. *Planta* **142**: 49–54
- Preiss, J. and C. Levi. 1980. Starch biosynthesis and degradation. In, *The Biochemistry of Plants*, P.K. Stumpf and E.E. Conn (eds.). Vol. 3, Academic Press. pp. 371–423
- Radmer, R., B. Kok and O. Ollinger, 1978. Kinetics and apparent Km of oxygen under conditions of limiting carbon dioxide fixation. *Plant Physiol.* **61**: 915–917
- Sanwal, G.G., E. Greenberg, J. Hardie, E.C. Cameron and J. Preiss. 1968. Regulation of starch biosynthesis in plant leaves: Activation and inhibition of ADP-glucose pyrophosphorylase. *Plant Physiol.* **43**: 417–427
- Servaites, J.C. and W.L. Ogren. 1978. Oxygen inhibition of photosynthesis and stimulation of photorespiration in soybean leaf cells. *Plant Physiol.* **61**: 62–67
- Sormerville, C.R. and W.L. Ogren. 1980. Inhibition of photosynthesis in *Arabidopsis* mutants lacking leaf glutamate synthase activity. *Nature* **289**: 257–259
- Tolbert, N.E. 1979. Glycolate metabolism in higher plants and algae. In, *Encyclopedia of Plant Physiology*, M. Gibbs and E. Lutzko (eds.). Vol. 3, Springer-Verlag. pp. 338–352.

- Turner, J.F. and D.H. Turner. 1975. The regulation of carbohydrate metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **26**: 159-186
- Wallsgrave, R.M., P.J. Lea and B.J. Miflin. 1979. Distribution of the enzymes of nitrogen assimilation within the pea leaf cell. *Plant Physiol.* **63**: 232-236
- Wallsgrave, R.M., A.J. Keys, I.F. Bird, M.J. Cornelius, P.J. Lea and B.J. Miflin. 1980. The location of glutamine synthetase in leaf cells and its role in the reassimilation of ammonia released in photorespiration. *J. Exp. Botany* **123**: 1005-1017
- Woo, K.C., J.F. Morot-Gaudry, R.E. Summons and C.B. Osmond. 1982. Evidence for the glutamine synthetase glutamate synthase pathway during the photorespiratory nitrogen cycle in spinach leaves. *Plant Physiol.* **70**: 1514-1517
- Yamaya, T., A. Oaks and H. Matsumoto. 1984. Characteristics of glutamate dhydrogenase in mitochondria prepared from corn shoots. *Plant Physiol.* **76**: 1009-1013
- Zelitch, I. 1968. Investigation on photorespiration with a sensitive  $^{14}\text{C}$ -assay. *Plant Physiol.* **43**: 1829-1837.

(1988. 7. 25 接受)