

시금치에서 분리한 광계 2 복합체의 불활성화와 재활성화에 대한 연구

全 鉉 植 · 朴 仁 虎* · 李 薰 珠* · 鮮 于 洋 一* · 李 鎭 範

(東義大學校 自然科學大學 生物學科, *東亞大學校 自然科學大學 生物學科)

Studies on Inactivation and Reactivation of Isolated Photosystem II Complexes in Spinach

Chun, Hyun Sik, In Ho Park*, Hae Joo Lee*

Yang Il Sunwoo* and Chin Bum Lee

(Department of Biology, College of Natural Science, Donggeui

University and *Department of Biology, College of

Natural Science, Dong-A University, Pusan)

ABSTRACT

Inactivation and reactivation of photosynthetic oxygen evolving complex were studied with isolated spinach (*Spinacia oleraceda*. L.) photosystem II particles by the activity of oxygen evolution and chlorophyll fluorescence. When the particles were treated with Tris and urea, the oxygen evolution was inactivated and three polypeptides having molecular weights of 33 kDa, 24 kDa and 18 kDa were simultaneously released. But in NaCl-treated particles, two polypeptides of 24 kDa and 18 kDa were removed from PS II particles. The oxygen evolution activities of Tris and urea-treated particles were not restored by adding cation ions (Mg^{2+} , Mn^{2+} and Ca^{2+}), but the NaCl-treated particles were restored by exogenously added Ca^{2+} . The removal of these extrinsic polypeptides, especially 33 kDa, markedly showed the decrease of the variable fluorescence (Fv). These results are likely to be due to dissipate thermal energy by antenna of photosystem II complexes.

Abbreviations: PS II, photosystem II; SDS-PAGE, sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis; Mes, 2-(N-morpholine) ethanesulfonic acid; DCMU, 3-(3',4'-dichlorophenyl)-1,1-dimethyl urea; PBQ, phenyl-*p*-benzoquinone, F_m , F_v , F_m -constant, variable, maximum fluorescence; DPC, 1,5-diphenyl cabazide; DCPIP, 2,6-dichlorophenol indolphenol.

서 론

산소가 발생하는 광합성 과정의 전자전달은 연속적으로 이어진 두개의 광화학반응으로 수행된다. 한 반응은

본 연구는 1989년도 문교부 기초과학 육성연구비의 일부지원으로 이루어진.

NADP⁻를 NADPH로 전환시키는데 필요한 환원력을 생성하는 것이고, 다른 하나는 물을 산화하여 산소분자를 형성하는데 필요한 산화력을 생성하는 것이다. 광합성적 산소발생기구(photosynthetic oxygen evolving complex)는 오래전부터 광계 2(photosynthetic reaction center II complex)로부터 분리된 단백질 복합체일 것으로 여겨져 왔다. 그러나 최근 생화학적 연구의 결과 산소발생은 광화학반

응과 밀접하게 짝지어져 있음이 제시되었다(Miyao and Murata, 1985).

광계 2 복합체는 복잡한 막단백질로써 적어도 20여종의 단백질, 엽록소, pheophytin(Pheo), 카로테노이드, 지질, quinone 및 무기이온들로 구성되었으며, 틸라코이드 막의 압착부위에 주로 위치한다(Arntzen, 1978). 이 복합체에서 광수확 엽록소에 의해 빛에너지를 흡수하며, 흡수된 빛에너지는 광화학 반응중심(P680과 Pheo)에서 양 및 음전하를 분리하는데 사용된다. 전자는 물분자로부터 plastoquinone으로 전달되고, 두개의 물분자의 탈수소반응 결과, 한 분자의 산소가 방출된다(Murata and Miyao, 1989).

최근 세척제를 이용한 생화학적인 기술의 개발로 틸라코이드 막으로부터 여러 종류의 PS II 복합체 및 sub-complex들의 분리가 가능하여졌다. 산소발생 기능을 갖는 엽록체나 더욱 순수분리한 enriched 광계 2 복합체를 여러 조건(NaCl, NH₂OH, Tris, Acid, Alkaline 처리 등)에서 불활성화 시킬 수 있음이 보고되었으며, 그리고 이러한 경우 광계를 구성하는 일부 polypeptide가 막으로부터 방출되거나 Mn²⁺ 이온 등이 방출된다고 알려져 있다(Akerlund and Jansson, 1981; Kuwabara and Murata, 1983). 또한 금속이온의 첨가가 산처리한 엽록체의 산소발생 및 전자전달 과정의 재활성화를 촉진한다는 보고도 있다(Barr *et al.*, 1983). 한편 실온에서 광에 의해 유도된 형광의 변화는 광계 2에 대한 많은 정보를 제공해 준다. 그러나 대부분의 경우 일이나 조류세포, protoplast 및 엽록체 수준에서 행하여졌으며(Gucnther and Melis, 1990; Horton and Hague, 1988; Lee *et al.*, 1990), 광계 2 복합체 수준에서의 보고는 많이 이루어져 있지 않은 실정이다(Weis and Berry, 1987).

본 실험에서는 시금치에서 광계 2 복합체를 순수분리하여, 여러 조건에서 광계 2 복합체의 불활성화를 조사하고, 재활성화에 대한 일부 양이온의 영향을 알아보고자 하였으며, 또한 이에 따른 형광의 변화를 보고자 하였다.

재료 및 방법

재료의 준비. 신선하게 자란 시금치(*Spinacia oleracea* L.)를 시장에서 구입하여 사용하였다.

PS II particle 분리. 엽맥을 제거한 100g 시금치를 Kuwabara와 Murata(1982)의 방법에 따라, 100 mM sucrose, 200 mM NaCl이 포함된 50 mM Na/K phosphate buffer (pH 7.4) 1,000 ml에 넣고 마쇄한 뒤 먼저 2점의 가아제에서 여과시킨 후, 다시 16점의 가아제로 여과하여 3,000×g에서 10분간 원심하였다. 침전물을 50 ml grinding buffer에서 재현탁하여 400×g에서 30초간 원심분리시켰다. 침전물을 제거하고, 상정액을 3,000×g에서 10분간 다시 원심시켜, 침전물을 100 mM sucrose, 50 mM NaCl이 포함된 50 mM Na/K phosphate buffer (pH 6.9)에 현탁하여 400×g에서 30초간 원심분리하였다. 상정액을 엽록체 현

탁액으로 간주하여 엽록소 함량을 측정한 후, Triton X 100 : chlorophyll이 25 : 1(w/w)의 비율이 될 때까지 조심스럽게 stirring 하면서 Triton X 100용액(20% w/v)를 가하여 전체 엽록소 함량이 2-3 mg chl/ml되게 현탁하여 10분간 incubation시켰다. 현탁액을 1,000×g에서 2분간 원심분리하여 상정액을 취해 35,000×g에서 10분간 원심하고, 침전물을 40 mM Na/K-phosphate buffer(pH 6.9)에 재현탁시켜 1,000×g에서 2분간 원심분리하여 상정액만 취해 35,000×g에서 다시 10분간 원심분리하였다. 침전물을 300 mM sucrose, 10 mM NaCl이 포함된 25 mM MES-KOH (pH 6.5)에 현탁하여 PS II particle 표본으로 사용하였다.

전자전달계의 측정. 전자전달계는 전체 반응 용액을 2 ml로 하고 엽록소 함량은 40 µg chl/ml로 하여 300 mM sucrose, 10 mM NaCl, 0.05% BSA가 들어 있는 25 mM MES-KOH(pH 6.5)에서 Clark type의 oxygen monitor (YSI Model-53000)로 측정하였다. 인위적인 전자수용체로 0.3 mM PBQ를 사용하여 25°C에서 oxygen evolution으로 측정하였다.

형광측정. Horton과 Hague(1988)의 방법과 유사하게 Hansatech fluorometer를 이용하여 산소발생과 동시에 형광을 측정하였다. 산소변화량 측정을 위해 전자수용체로 6 mM ferricyanide(FeCy)를 사용하였으며, 사용된 actinic light는 Schott KL1500T light source를 RG610 glass filter와 Ealing 680 nm short pass interference filter에 통과시켜, neutral density filter를 이용하여 125-1780 µmol quanta·m⁻²·s⁻¹ 사이의 광도를 사용하였다. Light-saturation pulse는 project lamp를 Uniblitz shutter를 통과시켜 사용하였다.

전기영동. Laemmli(1970)의 방법을 변형한 Lee 등(1983)의 12.5% SDS-PAGE 방법에 따라 행하였으며, 전기영동용 gel의 크기는 0.1×15×20 cm slab plate였다. Stacking gel은 1.5 cm 길이, pH 6.8, 4% 농도이고, separation gel은 13.5 cm, pH 8.8, 12.5% 농도였으며, 5°C 냉장실에서 100 V, 24시간 행하였다. Gel plate는 50% methanol, 7% acetic acid, 0.5% Coomassie brilliant blue R-250에 염색하고, 50% methanol, 7% acetic acid로 탈색하였다. Marker는 Sigma사(U.S.A.)의 SDS molecular weight marker(MW-SDS-70 kit)를 사용하였다.

엽록소 함량의 측정. Holden(1965)의 방법에 따라 spectrophotometer(Spectronic 88, BAUSH & LOMB, U.S.A.)로 시료의 흡광도를 측정하여 산출하였다.

결과 및 고찰

광계 2 복합체의 산소발생 활성의 안정도를 각기 다른 조건인 -50°C, 0°C, 및 25°C에서 보관하면서 그 활성을 비교조사하여 보았다. -50°C의 경우 9일이 지나서도 본래의 활성을 그대로 유지하였고, 0°C의 경우도 7일까지 그대로 유지하였으며, 9일째에도 약 85%의 활성을 보였다.

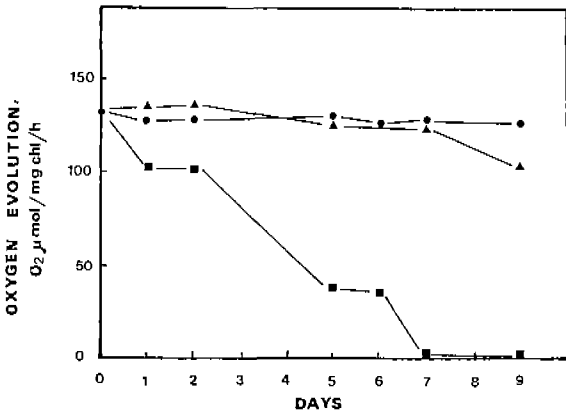


Fig. 1. The stability of oxygen evolution in photosystem II particles which were stored at 25°C, 0°C or -50°C in 300 mM sucrose, 10 mM NaCl and 25 mM MES-KOH (pH 6.5). The activity of oxygen evolution was measured by means of the Hill reaction with 0.3 mM PBQ. ●-●, -50°C; ▲-▲, 0°C; ■-■, 25°C.

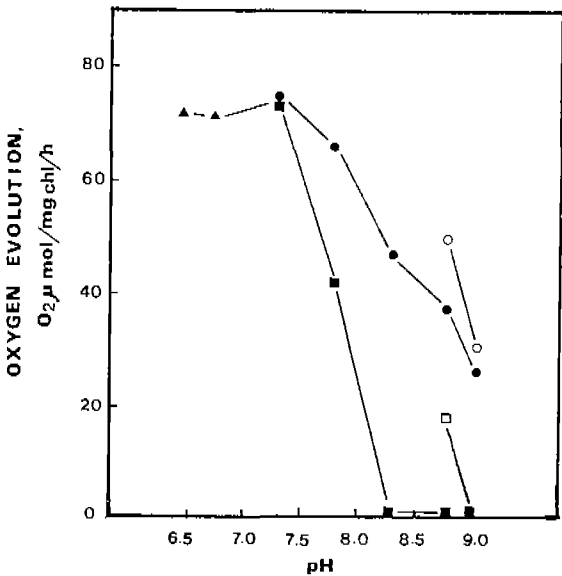


Fig. 2. Oxygen evolution of different hydrogen concentration (pH) in PS II particles treated at 0°C for 15 mins in either MES-KOH (▲-▲), Tricine-KOH (●-●), or Tris-HCl (■-■) and Tricine-KOH (○-○) or Tris-HCl (□-□) with 300 mM sucrose each at 16 mM. The oxygen evolution was measured electron transfer from H₂O to PBQ at 25°C and pH 6.5.

그러나 25°C의 실온에서 보관하였을 경우는 24시간이 지나 활성이 떨어져 7일째는 활성을 완전히 상실하였다(Fig. 1). 이러한 결과는 실온에서 복합체의 활성이 불안정하다는

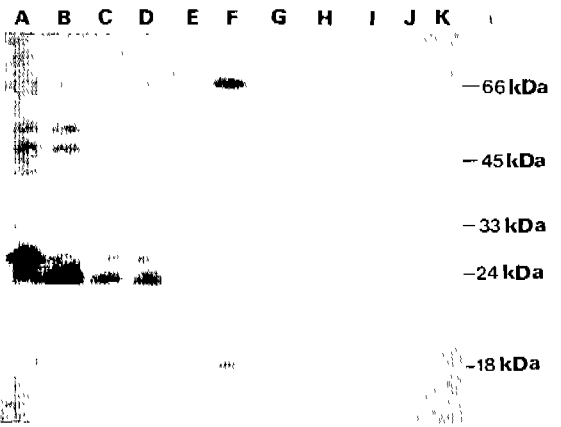


Fig. 3. SDS-PAGE patterns of polypeptides in PS II particles. Untreated PS II particles (A), Particles treated with Tris (B), 1.0 M NaCl (C), 2.6 M urea (D) and 2.6 M urea+1.0 M NaCl (E); Polypeptides released from untreated particles (G) and treated with Tris (H), NaCl (I), urea (J) and urea+NaCl (K); Marker (F).

것을 의미하는데, 이는 아마도 복합체 구성 polypeptide의 환성의 상실에 기인할 것이다. 이와 유사한 결과는 이전의 보고들에 의해 확인할 수 있으며, 20°C에서 활성이 BSA가 포함되어 있고 없음에 따라 4일째, 3일째에 각각 완전히 활성이 소실되고, 또한 0°C에서 보관하였을 때는 BSA가 포함되어 있고 없음에 관계없이 거의 활성을 7일동안 잃지 않는다(Kuwabara and Murata, 1982).

산소발생에 대한 광계 2 복합체의 알칼리성 pH의 영향을 보기 위하여 다양한 수소이온 농도에서 16 mM의 각기 다른 buffer에 15분간 배양하고, PBQ로써 전자전달체의 환성을 측정하였다(Fig. 2). pH 6.5-7.3 범위내에서는 활성이 영향을 받지 않았으나, pH 7.8 이상의 높은 알칼리성 완충용액에서는 뚜렷이 불활성화가 이루어짐을 알 수 있다. 특히 Tris-HCl 완충용액이 Tricine-KOH 완충용액에 비해 불활성화시킴에 더욱 효과적이었다(Kuwabara and Murata, 1982). 한편 DPC로부터 DCPIP로의 전자전달은 오히려 환성이 촉진된다고 보고된 점으로 미루어보아, 알칼리 용액에서의 산소방출능의 불활성은 산소발생 기구의 손상에 기인한다고 볼 수 있다(Kuwabara and Murata, 1982). 또한 높은 pH에서 300 mM sucrose를 포함한 경우, 같은 pH에서도 그 활성이 높게 나타났다(Fig. 2).

Tris(pH 9.0), 2.6 M urea 및 1.0 M NaCl을 광계 2 복합체에 처리하여 복합체로부터 떨어져 나온 polypeptide를 12.5% SDS-PAGE에 의해 조사하였다(Fig. 3). Tris 처리와 urea의 처리는 33, 24 및 18 kDa의 polypeptide를 광계 2 복합체로부터 모두 제거시켰으며(Fig. 3H, J, K), 1.0 M NaCl의 경우는 24 kDa와 18 kDa를 제거하였다(Fig. 3I). 이들은 모두 광계 2 복합체의 외재성 단백질로서 산소발생의 필수적인 요소로 알려진 것들이다(Kuwabara and

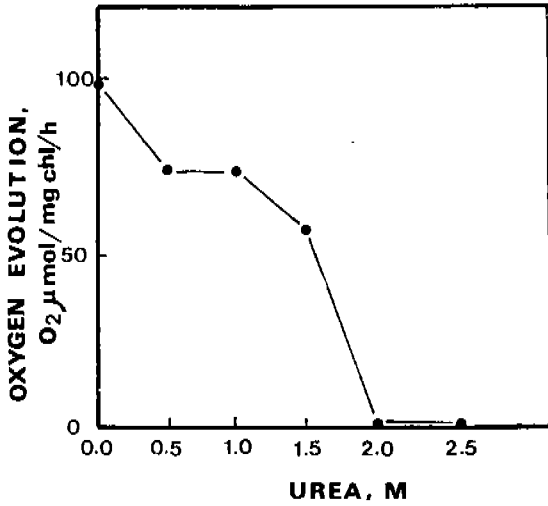


Fig. 4. Oxygen evolution on different urea concentration in PS II particles. The oxygen evolution activity was measured in 10 mM NaCl, 300 mM sucrose, 25 mM MES-KOH (pH 6.5) with electron acceptor 0.3 mM PBQ.

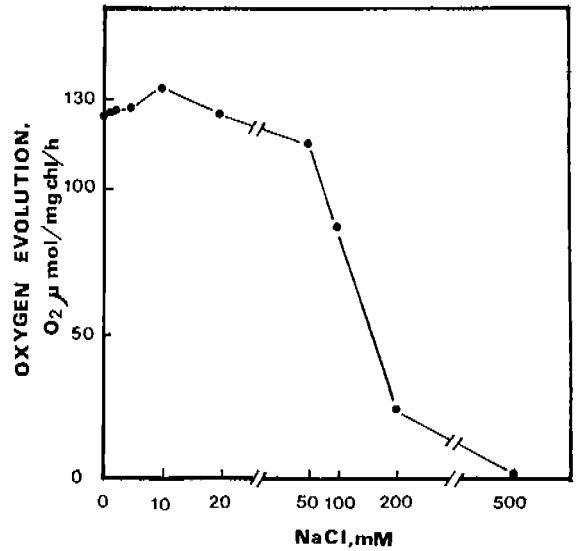


Fig. 5. Effect of NaCl on the electron transport reaction in the photosystem II particles. The oxygen evolution activity was measured with a supplement of 0.3 mM phenyl-p-benzo quinone.

Murata, 1983). 한편 Tricine(pH 9.3) 처리에서도 역시 3개의 polypeptide가 방출되는 것으로 보고된 것으로 보아, 알카리 처리가 이들 polypeptide를 떼어놓는다고 볼 수 있다. 최근 이들 polypeptide들의 특성들이 많이 연구되어지고 있는데, 일반적으로 광계 2 복합체에서 33 kDa은 Mn 이온의 안정화와 S₃에서 S₀로의 상태전이를 가속화시킴으로써 산소발생에 관여하며, 24 kDa은 Ca⁺⁺의 농도조절 및 염소 요구량을 감소시키는 것으로 알려지고 있다(Ghanotakis and Yocum, 1990). 18 kDa은 3 mM 이하의 낮은 염소이온의 농도하에서 산소의 최대 방출을 하기 위해서는 필수적임이 보고된 바 있으나(Akabori *et al.*, 1984), 염록체내의 염소이온의 농도로 미루어보아(Demming and Gimmer, 1983) 아직 18 kDa의 생리적 기능은 불분명하다. 그러나 결국 Tris 처리에 의한 산소발생의 불활성은 이들 polypeptide들의 제거와 매우 밀접하다 하겠다.

Fig. 4에서는 urea를 각기 다른 농도로 처리하여 urea에 대한 산소발생 활성을 알아본 것으로서 urea의 농도가 증가함에 따라 활성이 점차 떨어지고, 2.0 M에서는 완전히 소실되었다. 이 역시 PS II reaction center의 3가지 외재성 polypeptide가 떨어져 나오므로써 나타나는 결과이다(Fig. 3J, K). 이와 같은 결과는 Miyao와 Murata(1984a)의 암치(2.6 M) 및 광하(2.3 M)에서의 결과와 일치됨을 보여준다. 또한, Miyao와 Murata(1984b)는 urea가 3가지 polypeptide 중 33 kDa과 Mn을 PS II particle에서 떼어내는 것으로 보고하고 있다. 여기에서 33 kDa과 Mn이 떼어져 나오는 비율이 비례적으로 나타나 33 kDa과 Mn이 PS II reaction center에서 밀접한 관련이 보이고 있음을 보고하였으며, 불로부터 DCPIP로의 전자전달의 불활성화가 DPC에 의해

Table 1. Release of polypeptides upon treatment of PS II particles with 1.0 M Tris-HCl (pH 9.0), 2.6 M urea, 1.0 M NaCl and reaction of oxygen evolution by adding back various salts

5 mM	Without treatment	With treatment		
		Tris	NaCl	Urea
				(O ₂ μmol/mg chl/h)
CaCl ₂	—	—	71.0	—
Ca(NO ₃) ₂	89.8	—	66.9	—
MnCl ₂	—	—	—	—
MgCl ₂	—	—	—	—

The activity was measured as in Fig. 1

회복됨을 보여주었다. 이것은 urea가 광계 2의 산소발생 기구를 공격하는 것이라 볼 수 있다. Fig. 5는 NaCl의 산소발생에 대한 영향을 알아본 것이다. 아주 낮은 농도에서는 점차 활성이 높아지다가 적정농도인 10 mM 이상의 높은 농도에서는 점차 낮아져 200 mM 이상에서는 그 활성이 없어졌다. 이와 같은 결과는 Miyao와 Murata(1985)가 보고(100 mM 이상)한 바와 같이 PS II reaction center의 24 kDa, 18 kDa polypeptide가 떨어져 나오는 정도는(Fig. 3 I) NaCl의 농도와 관련되는 것으로 높은 농도에서는 이들 polypeptide들의 상실이 산소방출 활성을 낮게 한다고 볼 수 있다.

Table 1은 PS II reaction center에 있는 3가지 polypeptide(33 kDa, 24kDa, 18 kDa)에 영향을 줄 수 있는 주요한

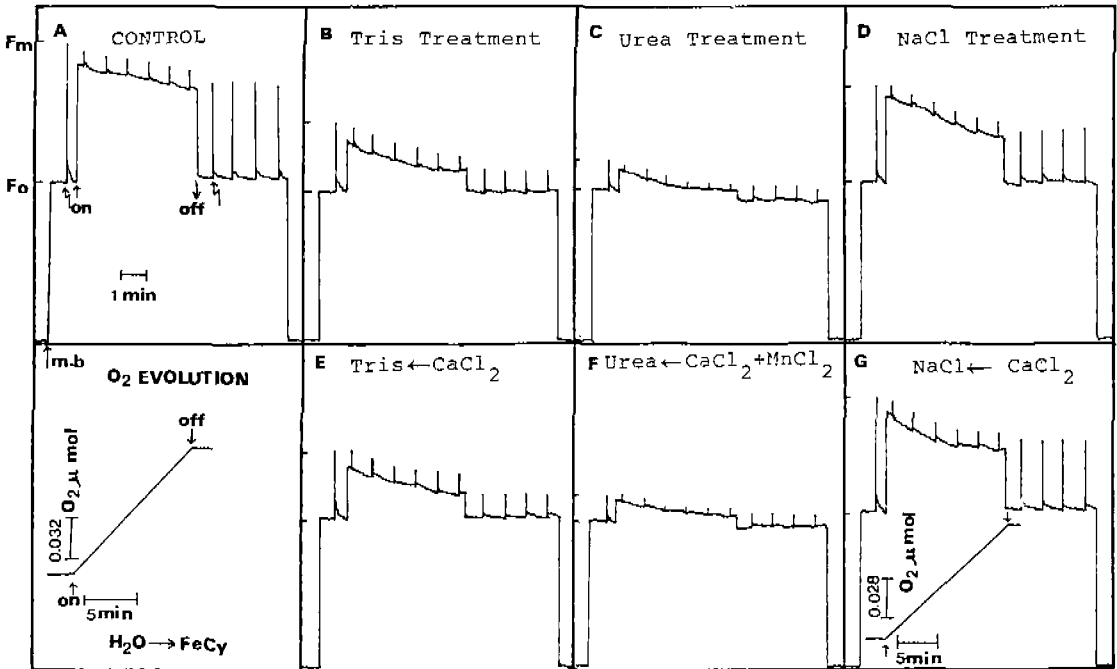


Fig. 6. Fluorescence yield by photochemical and nonphotochemical quenching of spinach PS II particles exposed to chemical compounds and those added to various salts. A, control; B, E, Tris-treated particles; C, F, urea-treated particles; D, G, NaCl-treated particles. Measuring beam (\uparrow m.b), $1 \mu\text{M} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ modulated light. Actinic intensity (\uparrow), $470 \mu\text{M PAR} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Saturated pulsed (\dagger), $4000 \mu\text{M} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ for sec.

factor들, Tris-HCl(pH 9.0), 1.0 M NaCl, 2.6 M urea를 처리하여 불활성화시킨 광계 2 복합체에 reaction center에 필수적인 일부 양이온들인 Ca^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} 을 처리하여 이들의 영향을 보았다. Mn^{2+} 와 Mg^{2+} 의 경우 어떠한 회복도 보여주지 못하였으며, Ca^{2+} 의 경우도 Tris나 urea 처리시에는 아무런 영향을 주지 않았으나, 1.0 M NaCl를 처리한 복합체에 Ca^{2+} 이온을 처리할 경우, 산소발생 활성이 부분적으로 회복되어 광계 2 복합체의 재활성화를 볼 수가 있었다. 이러한 결과는 23 kDa의 Ca^{2+} 의 농축에 관계하고 (Boussac *et al.*, 1985), 5 mM의 Ca^{2+} 에 의해 대처될 수 있음(Ghanotakis *et al.*, 1984)이 알려진 바, NaCl 처리로 인한 24와 18 kDa의 상실(Fig. 3I)을 33 kDa 존재시에는 Ca^{2+} 에 의해 일부대치되어 재활성화가 일어날 수 있음을 제시한다 하겠다. 칼슘이온의 산소방출 복합체의 기능적인 부위의 결합은 24 kDa과 광에 의한 영향을 받는데(Ghanotakis *et al.*, 1984), 결국 NaCl에 의해 24 kDa의 제거에 따라 Ca^{2+} 의 방출이 빠르게 되고, 재활성화가 이루어지기 위해서는 외부에서 칼슘이온의 첨가가 필요하다 하겠다.

Fig. 6은 Tris-HCl(pH 9.0), 2.6 M urea, 1.0 M urea + 1.0 M NaCl을 처리한 광계 II 복합체에 양이온인 Ca^{2+} , Mn^{2+} 를 첨가할 때 보여주는 엽록소 형광의 변화이다. Tris, urea, NaCl 처리구에서 F_v 의 뚜렷한 감소를 가져왔으며, 특히

urea 처리구에서 그 현상이 심하게 나타났다. 그러나 NaCl을 처리한 particle에 Ca^{2+} 를 첨가한 경우(Fig. 6G)는 대조구와 같은 양상을 보였다. Steady-state 상태에서의 quenching에 의한 실험 방법(Schreiber *et al.*, 1986)에 따르면, intact한 엽록체 혹은 잎에서 actinic light를 주고, 포화광($4,000 \mu\text{M} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)으로 pulse 처리하면 energy-dependent quenching(qE)과 photochemical dependent quenching(qQ)으로써 나타나지만, subchloroplast인 광계 2 복합체에서는 빛에 의한 pH의 변화가 일어나지 않으므로 (Bilger and Schreiber, 1986) 광화학반응에 의한 전자전달이 추가 되어 매우 낮은 F_v 와 낮은 photochemical yield를 가지게 된다(Weis and Berry, 1987). Fig. 6의 대조구에서도 엽록체에서의 F_v 에 비해(결과 미기록) 낮은 F_v 값을 가지는 것을 볼 수 있다. Fig. 6의 결과를 Table 1에서 나타난 산소방출 system에서와 관련지어 볼 때, 광계 2 particle에서는 산소방출 활성에 의해서 형광의 변화가 이루어지는데, 광계 2 반응중심에 있는 외재성 단백질이 제거된 복합체에서 낮게 나타나는 것은 이와 같은 외재성 단백질인 33 kDa, 24 kDa와 18 kDa이 산소발생 뿐만 아니라 이와 관련된 형광변화에도 중요한 영향을 주는 요인임을 시사한다. 특히 NaCl 처리구에 비해 Tris나 urea 처리구에서 보다 급격한 F_v 의 감소를 보임은 아마도 33 kDa polypep-

tide의 제거와 함께 일어나는 무기이온들(Mn^{2+} 및 Ca^{2+})의 상실에 기인할 것으로 사료된다. 한편 Tris나 urea 처리구에 Mn^{2+} 이나 Ca^{2+} 의 처리에 따른 형광변화는 거의 변화를 보여주지 못하였으며, 산소발생도 전혀 일어나지 않았고, 이에 반해 NaCl 처리구의 Ca^{2+} 의 처리는 대조구와 유사한 형광곡선을 보여주며 산소발생의 부분적인 회복을 가져와 산소발생 기구의 재활성화를 보여주는 것이라 하겠다(Table 1 및 Fig. 6). 이와 같은 결과는 33 kDa의 경우 산소발생과 Mn^{2+} 의 산소발생 기구에의 결합에 필수적이라는 보고(Miyao and Murata, 1987)와 일치되는 것이며, 아직 산소발생 기구에서 Ca^{2+} 의 결합부위가 알려져 있지 않지만, 24 kDa 및 18 kDa의 부제시에도 첨가된 Ca^{2+} 에 의해 산소발생능의 기능적인 재활성화가 이루어질 수 있음(Murata and Miyao, 1989)을 확인할 수 있었다.

이상의 결과에서 PS II particle의 산소방출 활성 안정도는 0°C 이하의 온도에서 높은 안정성을 유지하며, 높은 pH(Tris 8.3), 2.0 M 이상의 urea, 500 mM NaCl 처리에 의해 광계 2 복합체의 산소발생 활성이 외재성 단백질인 33 kDa, 24 kDa 및 18 kDa의 제거에 따라 불활성화 된다. Ca^{2+} 의 경우 33 kDa의 존재시 외부의 첨가에 의해 산소발생 기구의 기능적인 재활성화를 가져온다. 외재성 단백질의 제거(특히 33 kDa)는 염록소 형광에도 커다란 영향을 미치는데, 특히 F_v의 감소는 안테나에 의한 열로서의 빛에너지의 소산을 생각해 볼 수 있겠다.

적 요

산소발생 기구의 불활성 및 재활성에 대해 시금치(*Spinacia oleracea*, L.)에서 분리한 광계 2 복합체를 이용하여 산소발생 활성 및 전기영동을 통해 조사하였다. 이와 더불어 방출되는 형광양상을 함께 보았다. Tris와 urea를 처리하였을 경우 광계 2 복합체로부터 외재성 단백질인 33 kDa, 24 kDa, 18 kDa이 제거되었고, NaCl을 처리하였을 경우에는 24 kDa과 18 kDa 단백질이 제거되었다. 이들 외재성 단백질의 제거에 따라 광계 2 복합체는 산소방출 활성을 상실하여 불활성화 되었다. 불활성화가 이루어진 광계 2 복합체에 양이온을 첨가하였을 때, Mg^{2+} 과 Mn^{2+} 은 재활성화를 시키지 못하였으나 Ca^{2+} 은 NaCl을 처리하여 24 kDa과 18 kDa이 제거된 복합체에서 부분적으로 산소발생 기능을 회복시켰다. 그러나 3개의 polypeptide가 모두 제거되는 Tris 및 urea의 처리는 Ca^{2+} 의 첨가에도 활성의 회복이 나타나지 않았다. 한편 이들 외재성 단백질의 제거(특히 33 kDa)는 F_v의 뚜렷한 감소를 가져왔으며, 이는 안테나에 의한 열로서의 빛에너지의 소산에 기인할 것이라고 사료된다.

참 고 문 헌

Akabori, K., A. Imaoka and Y. Toyoshima. 1984. The role

of lipid and 17-kDa protein in enhancing the recovery of O₂ evolution in cholate-treated thylakoid membranes. *FEBS Lett.* **173**: 36-40.

- Akerlund, H.E. and C. Jansson. 1981. Localization of 34,000 and 23,000 Mn polypeptide to the luminal side of the thylakoid membrane. *FEBS Lett.* **124**: 229-232.
- Arntzen, C.J. 1978. Dynamics structural features of chloroplast lamellae. *Curr. Top. Bioenerg.* **8**: 111-160.
- Barr, R., K.S. Troxel and F.L. Crane. 1983. A calcium-selective site in photosystem II of spinach chloroplasts. *Plant Physiol.* **73**: 309-315.
- Bilger, W. and U. Schreiber. 1986. Energy-dependent quenching of dark-level chlorophyll fluorescence in intact leaves. *Photosyn. Res.* **10**: 303-308.
- Boussac, A., B. Maisson-Peteri, A.L. Etienne and C. Vernotte. 1985. Reactivation of oxygen evolution of NaCl-washed photosystem II particles by Ca²⁺ and/or the 24 kDa protein. *Biochim. Biophys. Acta* **808**: 231-234.
- Demming, B. and H. Gimmer. 1983. Properties of the isolated chloroplast at cytoplasmic K⁺ concentrations. I. Light-induced cation uptake into intact chloroplasts is driven by an electrical potential difference. *Plant Physiol.* **73**: 169-174.
- Ghanotakis, D.F., G.T. Babcock and C.F. Yocum. 1984. Calcium reconstitutes high rates of oxygen evolution in polypeptide depleted photosystem II preparations. *FEBS Lett.* **167**: 127-130.
- Ghanotakis, D.F. and C.F. Yocum. 1990. Photosystem II and the oxygen evolving complex. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **41**: 255-276.
- Guenther, J.E. and A. Melis. 1990. Dynamics of photosystem II heterogeneity in *Dunaliella salina* (green algae). *Photosyn. Res.* **23**: 195-203.
- Holden, M. 1965. Chlorophylls. In: Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. T.W. Goodwin(ed.), Academic, New York, pp. 461-488.
- Horton, P. and A. Hague. 1988. Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV. Resolution of non-photochemical quenching. *Biochim. Biophys. Acta* **932**: 107-115.
- Kuwabara, T. and N. Murata. 1982. Inactivation of photosynthetic oxygen evolution and concomitant release of three polypeptides in the photosystem II particles of spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* **23**(3): 533-539.
- Kuwabara, T. and N. Murata. 1983. Quantitative analysis of the photosynthetic oxygen evolution and the release of polypeptides and manganese in the photosystem II particles of spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* **24**(4): 741-747.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685.

- Lee, C.B., Y.N. Hong and Y.M. Kwon. 1983. Formation of chlorophyll-protein complexes in greening rape cotyledon. *Korean. J. Bot.* **26**(2): 91-99.
- Lee, C.B., D. Rees and P. Horton. 1990. Non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the green alga *Dunaliella*. *Photosyn. Res.* **24**: 167-173.
- Miyao, M. and N. Murata. 1984a. Role of the 33-kDa polypeptide in preserving Mn in the photosynthetic oxygen-evolution system and replacement by chloride ions. *FEBS* **1468** **170**(2): 350-354.
- Miyao, M. and N. Murata. 1984b. Effect of urea on photosystem II particles. Evidence for an essential role of the 33 kilodalton polypeptide in photosynthetic oxygen evolution. *Biochim. Biophys. Acta* **765**: 253-257.
- Miyao, M. and N. Murata. 1985. The Cl-effect on photosynthetic oxygen evolution: interaction of Cl-with 18 kDa, 24 kDa and 33 kDa proteins. *FEBS* **2165** **180**(2): 303-308.
- Miyao, M. and Murata. 1987. Photoinactivation of the oxygen-evolving complex of photosystem II. *In*, Photoinhibition, D.J. Kyle, C.B. Osmond and C.J. Arntzen (eds.). Elsevier Science. pp. 289-307.
- Murata, N. and M. Miyao. 1989. Photosystem II and oxygen evolution. *In*, Photosynthesis, A. R. Liss, Inc. pp. 59-70.
- Schreiber, U., U. Schliwa. and W. Bilger. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosyn. Res.* **10**: 51-62.
- Weis, E. and J.A. Berry. 1987. Quantum efficiency of photosystem II in relation to 'energy'-dependent quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* **894**: 198-208.

(1990. 10. 10 接受)