

## *Chlorella ellipsoidea* 엽록체의 인지질 생합성 및 지방산 조성에 미치는 항생제의 효과

趙 洙 烈·李 鍾 三

(성신여자대학교 자연과학대학 생물학과)

### Effect of Antibiotics on Phospholipid Biosynthesis and Fatty Acid Composition in *Chlorella ellipsoidea* Chloroplasts

Cho, Soo Yeul and Chong Sam Lee

(Department of Biology, College of Natural Science, Sung Shin Women's University, Seoul)

#### ABSTRACT

The effects of amphotericin B (150 µg/ml) and cycloheximide (10 µg/ml) on the biosynthesis of phospholipid and the composition of fatty acids in chloroplasts isolated from *Chlorella* were analyzed. The contents of the total lipid and phospholipid (PC, PE, PI) in treatment with antibiotics were lower compared with the control. In the whole cell system, the major fatty acids utilized for biosynthesis of phospholipid were palmitic acid (31.96%) and linoleic acid (16.96%) in control while those were palmitic acid (36.15%) and linolenic acid (16.71%) in treatment with amphotericin B. And in treatment with cycloheximide, palmitic acid (31.90%) and stearic acid (15.32%) were used in phospholipid formation. The major fatty acids in chloroplasts were analyzed as to be palmitic acid and linolenic acid in control (33.75%, 18.90%) and in treatment with amphotericin B (36.75%, 9.46%). However, it was shown that the major fatty acids in chloroplasts treated with cycloheximide were palmitic acid (28.01%) and oleic acid (19.27%).

#### 서 론

모든 생체막은 지질단백구조로 되어 있으며 이들 막의 성분인 인지질은 생체내에서 합성된다(Moore, 1982). 지질은 세포내 소기관에도 존재하며 호흡, 에너지전달, 광합성반응과 관계가 있다. 또한 구연산회로와 호흡연쇄반응에서의 지질은 효소의 활성도를 촉진시키는데 중요한 물질로 작용하며, 특히 mitochondria에 함유된 인지질을 제거하면 cytochrome oxidase의 활성도가 급격히 감소되어 mitochondria 내막에서 일어나는 전자전달 작용이 저해되어 세포호흡에 현저한 억제현상이 나타난다(Radwan and Mangold, 1976).

인지질과 이를 구성하는 지방산의 조성과 함량은 여러 가지 환경조건인 pH, 온도, 산화, 배지조성에 의하여 영향을 받는다(Knivett and Cullen, 1965). 또한 항생제는 세포내에서 합성되는 단백질대상 저해효과를 나타내며(Bennett

et al., 1965; Morris, 1966) 세포막투과성에도 여러 가지 항생제가 작용한다는 보고도 있다. (Andreoli and Monahan, 1968; Cass et al., 1970; De Kruijtt et al., 1974). *Pseudomonas aeruginosa*와 *Escherichia coli*(Kusano et al., 1975), *Serratia marcescens*(Tsang et al., 1977)에 polymyxin B를 처리하면 phospholipase가 활성화되어 인지질의 분해가 왕성해져 인지질 중 phosphatidylethanolamine (PE)은 60%, phosphatidylglycerol은 70%가 감소된다. 또한 *Escherichia coli*에 cerulenin을 처리하면 β-ketoacyl carrier protein synthetase의 활성도가 떨어져서 지방산 생합성이 억제된다(Cronan and Gelmann, 1975). *Bacillus subtilis*에 의하여 생성되는 항생제 iturins A는 palmitic acid와 병합하여 β-amino acid 생합성을 변형시킨다(Hourdou et al., 1988). 백화현상이 유도된 *Euglena*를 chloramphenicol이 함유된 배지에 배양하면 지방산 합성효소의 형성이 억제된다(Weaire and Kekwick, 1975).

특히 세포막 구성성분에 영향을 미치는 polyene antibiotics는 세포막의 sterol 또는 인지질과 결합하여 세포막에 변화를 초래하기 때문에 생화학적, 생리학적 변화를 가져온다(Lampen and Arnow, 1961; Andreoli and Monahan, 1968; Sessa and Weissmann, 1968; Norman *et al.*, 1976). 이러한 polyene antibiotics는 조류, 원생동물, 프라나리아, 곤충과 포유류, 곰팡이 등에서 그 효과가 광범위하다(Lampen and Arnow, 1961; Gottlieb and Show, 1970; Norman *et al.*, 1976). *Saccharomyces cerevisiae*, *Neurospora*의 원형질(Demel *et al.*, 1968), 포유류의 적혈구에 (Midez *et al.*, 1989) polyene antibiotics를 처리하면 세포막에 상해를 가져온다. 이러한 polyene antibiotics 중에서 *Streptomyces nodosus*에서 합성되는 amphotericin B를 두꺼비 방광에 처리하면 삼투적 투과가 증가되어 인지질 형성에 도입되는 지방산의 종류가 다양하게 된다(Mendoza *et al.*, 1967).

*Streptomyces griseus*에서 합성되는 cycloheximide를 *Saccharomyces cerevisiae*에 1~5 µg/ml을 처리하면 포도당과 과당의 발효가 억제되며 10 mg/ml을 처리하면 생장이 완전히 억제된다(Greig *et al.*, 1957). *Chlorella*에 cycloheximide를 0.25 µg/ml을 처리하면 단백질합성에 영향을 미친다(Morris, 1966). 이와 같이 cycloheximide는 곰팡이, 조류, 원생동물과 고등식물의 성장을 억제한다(Hunter and McVeigh, 1961; De Kloet, 1966; Morris 1966). 더욱이 cycloheximide와 actinomycin D를 돼지 장관막 lymphocytes에 처리하면 phosphorylcholine-cytidyl transferase와 phosphorylcholine-glyceride transferase의 합성을 억제시키고 Me-<sup>14</sup>C-choline이 lecithin으로 되는 것을 완전히 억제하였으며 특히 cycloheximide가 total lipid의 labeling을 완전 억제한다(Nelson and Sribney, 1972). 또한 HeLa cell에 cycloheximide를 처리하면 DNA 합성과 단백질합성이 억제된다(Kim *et al.*, 1968; Weiss, 1968).

이와 같이 항생제가 여러 가지 세포대사에 수행되는 지질대사에 많은 영향을 미친다는 보문이 발표되었으나 단세포 녹조식물의 환경에 따른 인지질의 생합성과 이를 구성하는 지방산 조성 및 함량변화를 관찰한 보고는 없었다. 즉 막을 구성하는 인지질이 형성될 때 도입되는 지방산 변화와 항생제와의 상호작용에 대한 보고는 거의 없다. 특히 세포내 소기관이며 광합성 기관인 엽록체에서 자율적으로 합성되는 인지질 생합성 및 이를 구성하는 지방산 조성변화와 항생제와의 관계를 밝힌 보고는 매우 미비하다. 따라서 본 연구에서는 생체막을 구성하는 sterol 또는 인지질과 결합하여 막에 pore를 형성함으로써 세포막의 하전이 달라져 세포내 대사에 영향을 주는 amphotericin B와 DNA 합성과 단백질합성을 억제하는 cycloheximide를 함유한 배지에서 생육시킨 *Chlorella ellipsoidea*의 엽록체를 분리하여 엽록체에서 자율적으로 합성되는 인지질 생합성과

이를 구성하는 지방산의 조성변화를 대조구와 비교하고 또한 whole cell system에서도 비교하여 항생제가 인지질의 생합성과 지방산 조성에 어떠한 영향을 미치는가에 대하여 분석하고자 한다.

## 재료 및 방법

**Chlorella 세포 배양.** M4N 배지(Tamiya *et al.*, 1953)에 예비실험 결과 얻어진 저해 농도 amphotericin B 150 µg/ml(Sigma, U.S.A.)과 cycloheximide 10 µg/ml(Sigma, U.S.A.)을 첨가한 후 *Chlorella ellipsoidea* 세포를 접종하여 2,000 lux의 광선을 지속적으로 조사하면서 4%의 CO<sub>2</sub>가 함유되어 있는 공기로서 bubbling시켜 25°C에서 7일간 배양하였다. 배양기간 동안의 세포생장은 haematocrit를 이용하여 측정하였다.

**엽록체 분리.** 배양초, 3, 5, 7일에 수확한 일정량의 세포로부터 엽록체 분리는 Lyttleton(1962) 방법을 다소 변형하여 사용하였다.

**Total lipid 추출 및 함량측정.** Bligh와 Dyer(1959)의 방법을 다소 변형하여 세포와 엽록체에서 각기 함유되어 있는 total lipid를 추출하였다.

**인지질 분리 및 동정.** 추출된 total lipid에 들어 있는 인지질을 분리하기 위하여 Thin-Layer Chromatography (TLC, Desaga)를 사용하였으며 전개는 two-one dimension 방법을 이용하였다. 인지질 분리용매는 Turner와 Rouser(1970)의 방법으로 하였으며 인지질의 동정은 특수시약(Skipski and Barllay, 1969)을 사용하여 발색시켰는데 이때 이용된 시약은 다음과 같다. Phosphatidylcholine (PC)은 Drogendroff 시약을, phosphatidylethanolamine (PE)은 ninhydrin 시약을, phosphatidylinositol (PI)은 periodate-Schiff's 시약을 이용하였다.

**지방산 조성 분석.** 분리된 각각의 인지질을 구성하는 조성 및 양적변화를 Gas Chromatography(GC, Varian 3300)로 분석하기 위하여 Allen과 Good(1971)의 방법에 의하여 methyl esters화 시켰다. 사용한 GC detector는 H<sub>2</sub>-flame ionization detector이며 사용한 column은 stainless steel column (3 mm×3 m)으로 15% DEGS(diethylglycol succinate)를 충전제로 하였으며 조건은 다음과 같다.

injection port temperature	230°C
column temperature	150°C
detector oven temperature	250°C
carrier gas	N <sub>2</sub> (30 ml/min)

## 결 과

**Chlorella 세포의 성장.** Amphotericin B(150 µg/ml)

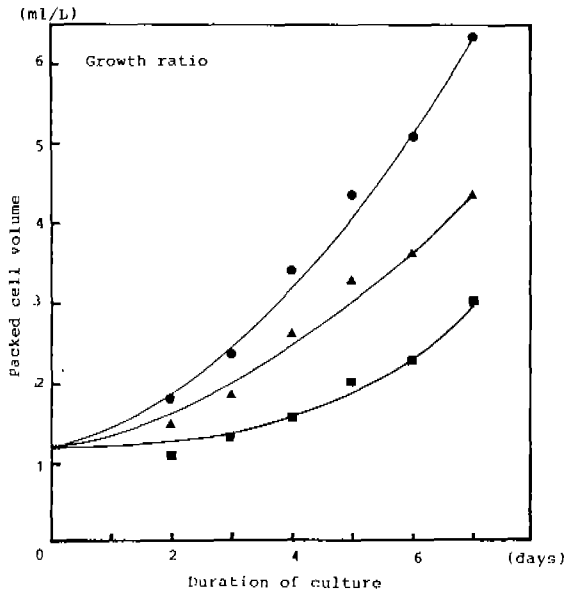


Fig. 1. Effects of the antibiotics on the growth of *Chlorella ellipsoidea* during the cultivation.

●, Control; ▲, Amphotericin B; ■, Cycloheximide.

와 cycloheximide(10 µg/ml)가 함유된 각각의 배지에서 배양한 세포의 성장율은 대조구는 배양초보다 배양말기에 5.3배의 성장증가율을 나타내었으나 amphotericin B(150 µg/ml) 처리구는 대조구에 비하여 31%, cycloheximide(10 µg/ml) 처리구는 52%의 성장억제현상을 보여 cycloheximide 처리구에서의 성장억제현상이 뚜렷하게 나타났다(Fig. 1).

**Total lipid 함량 분석.**

Whole cell system에서의 total lipid 함량 변화. 각각의 항생제가 함유된 배지에서 배양한 *Chlorella*의 total lipid의 함량변화는 배양초에 비하여 배양 3일에 33.2%, 5일에 59.8%, 7일에 77.7%의 증가현상이 나타나 생육기간 동안 56.9%의 증가율을 보였다. 반면 amphotericin B 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 26.8%, 5일에 35.4%, 7일에 32.9%의 감소로 평균 31.7%의 감소율이 관찰되었다. Cycloheximide 처리구에서 total lipid의 양적동태는 대조구에 비하여 배양 3일에 47.3%, 5일에 50.0%, 7일에 52.0%의 감소량을 보여 평균 49.8%의 감소율이 확인되었다(Fig. 2).

엽록체에서의 total lipid 함량. 대조구에서 분리한 엽록체에서의 total lipid의 함량변화는 대조구에서 배양초에 비하여 배양 3일에 11.9%, 5일에 17.4%, 7일에 33.8%의 증가율을 나타내어 생육기간 동안 평균 21.0%의 증가율을 보였다. 한편 amphotericin B 처리구에서 분리한 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 6.6%, 5일에 6.5%, 7

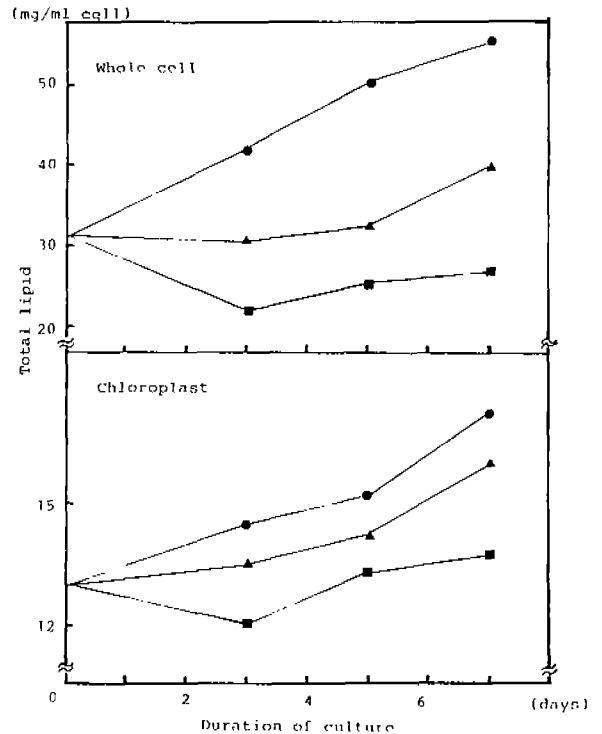


Fig. 2. Changes in contents of total lipid in *Chlorella ellipsoidea* treated with antibiotics during the cultivation.

●, Control; ▲, Amphotericin B; ■, Cycloheximide.

일에 4.8%의 감소현상이 나타나 평균 5.7%의 감소율을 나타내었다. Cycloheximide 처리구에서 분리한 엽록체에서의 total lipid의 양적변화는 대조구에 비하여 배양 3일에 17.0%, 5일에 12.2%, 7일에 20.4%가 억제되어 배양기간 동안 16.5%의 감소율이 확인되었다(Fig. 2).

이와 같이 항생제에 의하여 total lipid의 함량이 배양기간 동안 whole cell system과 엽록체에서 모두 억제됨을 관찰하였으며 amphotericin B 처리구에 비하여 cycloheximide 처리구에서의 억제효과가 더욱 큰 것으로 나타났다.

**Total fatty acid methyl esters의 양적변화.**

Whole cell system에서의 total fatty acid methyl esters 함량. 항생제 처리구의 total fatty acid methyl esters의 함량변화는 배양초에 비하여 배양말기에 1.6배의 증가를 보였다(Fig. 3). Amphotericin B를 처리한 세포에서는 대조구에 비하여 배양 3, 5, 7일에 각각 14.7, 9.4, 14.8%의 감소율을 관찰하였다. 또한 cycloheximide 처리구는 대조구에 비하여 total fatty acid methyl esters의 함량이 배양 3, 5, 7일에 각각 30.1, 38.8, 35.2%의 억제율을 보였다.

엽록체에서의 total fatty acid methyl esters 양적변화. Fig. 3에서 보는 바와 같이 대조구에서 분리한 엽록체에서의

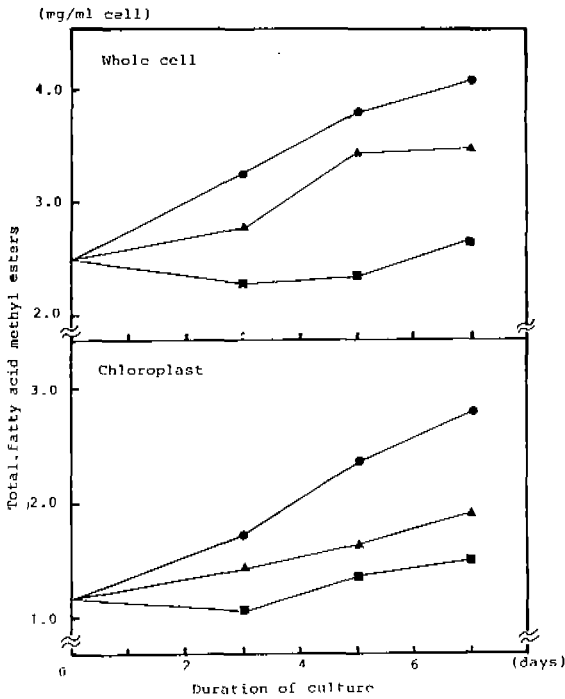


Fig. 3. Changes in contents of total fatty acid methyl esters in *Chlorella ellipsoidea* treated with antibiotics during the cultivation.

●, Control; ▲, Amphotericin B; ■, Cycloheximide.

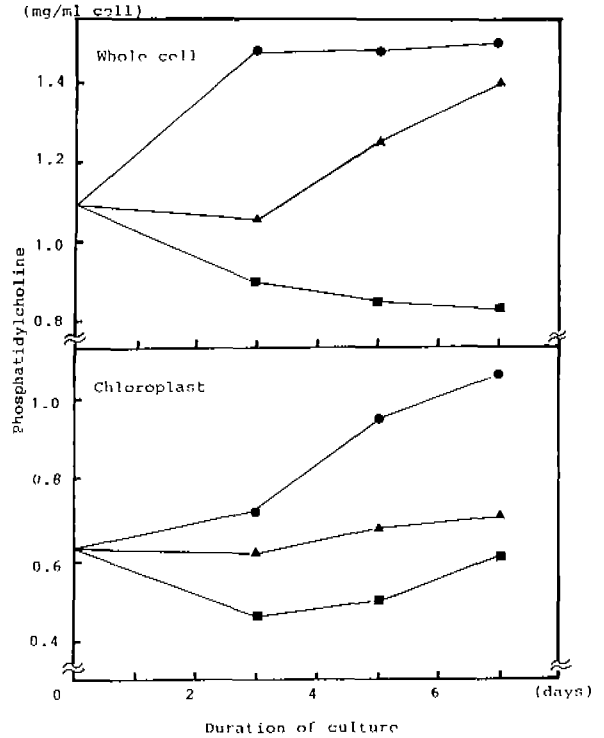


Fig. 4. Changes in contents of phosphatidylcholine in *Chlorella ellipsoidea* treated with antibiotics during the cultivation.

●, Control; ▲, Amphotericin B; ■, Cycloheximide.

에서의 total fatty acid methyl esters의 함량은 배양초에 비하여 배양말기에 2.4배의 증가를 나타내었다. 한편 amphotericin B 처리구의 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 16.4%, 5일에 30.6%, 7일에 0.9%의 감소현상을 관찰할 수 있었다. Cycloheximide 처리구에서 분리한 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3, 5, 7일에 각각 33.4, 43.0, 46.6%의 감소율을 나타내었다.

이와 같이 total fatty acid methyl esters의 함량은 배양기간 중 항생제에 의하여 whole cell system과 엽록체에서 모두 감소되는 것으로 나타났다. 특히 amphotericin B에 비하여 cycloheximide 처리구가 생장율과 같이 보다 현저한 저해현상을 나타내었다.

각 인지질의 함량변화.

Whole cell system에서의 인지질 생합성. 합성된 PC의 함량은 total lipid 중 3.5%에 해당되었으며 PE는 2.6%, PI는 1.9% 함유되어 있는 것으로 분석되었다(Figs. 4~6).

항생제 처리별 각 인지질 함량변화를 살펴보면, PC는 amphotericin B 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3, 5, 7일에 각각 28.4, 15.5, 6.7%의 감소로 생육기간 동안 16.7

%의 감소율을 나타내었다. Cycloheximide 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3, 5, 7일에 각각 39.2, 42.6, 44.7%의 억제율 보여 배양기간 동안 42.2%의 감소율을 나타내 항생제에 의한 PC 합성이 저해된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). PE는 amphotericin B 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 32.0%, 5일에 35.7%, 7일에 47.3%의 감소로 생육기간 동안 38.3%의 억제율을 보였다. Cycloheximide 처리구에서는 대조구에 비하여 배양 3, 5, 7일에 각각 60.0, 75.7, 45.9%의 감소로 평균 60.5%의 감소율을 나타내었다(Fig. 5). PI는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 항생제에 의한 영향이 거의 없음을 관찰되었다.

엽록체에서 인지질의 양적동태. 분리한 엽록체에서의 인지질은 PC 4.7%, PE 2.6%, PI 1.3%가 total lipid에 함유되어 있는 것으로 관찰되었다(Figs. 4~6).

항생제 처리별 각 인지질 함량변화를 살펴보면, PC(Fig. 4)는 amphotericin B 처리구에서 분리한 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3, 5, 7일에 각각 9.7, 28.4, 33.0%의 감소로 평균 23.7%의 감소율을 보였다. 또한 cycloheximide 처리구 엽록체는 대조구에 비하여 배양 3일에 36.1%, 5일에

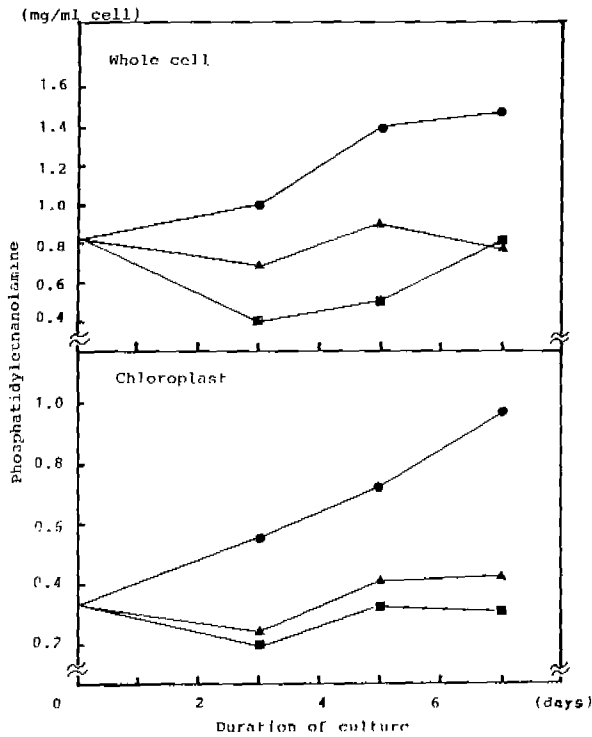


Fig. 5. Changes in contents of phosphatidylethanolamine in *Chlorella ellipsoidea* treated with antibiotics during the cultivation. ●, Control; ▲, Amphotericin B; ■, Cycloheximide.

52.6%, 7일에 42.5%의 감소로 생육기간 동안 52.7%의 감소율을 보여 PC 합성이 항생제에 의하여 억제됨을 관찰할 수 있었다. PE는 amphotericin B 처리구에서 분리한 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 57.9%, 5일에 41.7%, 7일에 54.7%의 감소로 배양기간 동안 51.4%의 억제율을 관찰하였다(Fig. 5). 또한 cycloheximide를 처리한 배지에서 생육시켜 분리한 엽록체에서는 대조구에 비하여 배양 3일에 64.9%, 5일에 52.8%, 7일에 68.0%의 감소로 생육기간 동안 61.9%의 감소율로 PE의 합성이 억제된 것을 관찰하였다. PI는 항생제에 의한 영향이 거의 없으나 배양 말기에 cycloheximide 처리구에서 분리한 엽록체에서 약간의 감소를 관찰하였다(Fig. 6).

이와 같이 항생제에 의한 인지질별 저해효과는 배양기간 동안 amphotericin B를 처리한 whole cell system에서는 PE가 PC보다 평균 21.4%의 억제현상이 나타났으며, 분리한 엽록체에서는 27.7%의 감소현상이 나타났다. 반면 cycloheximide를 처리한 whole cell system에서는 배양기간 동안 PE가 PC보다 18.3%의 억제현상을 나타내었으며, 분리한 엽록체에서는 9.2%의 억제현상이 나타난 것으로 분

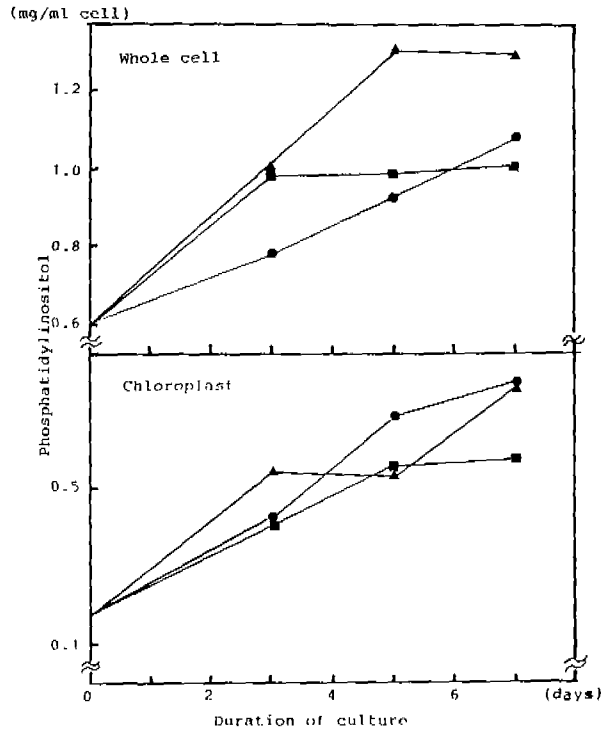


Fig. 6. Changes in contents of phosphatidylinositol in *Chlorella ellipsoidea* treated with antibiotics during the cultivation. ●, Control; ▲, Amphotericin B; ■, Cycloheximide.

석되었다.

인지질의 지방산 분석.

Whole cell system에서 지방산 조정. *Chlorella*의 인지질을 구성하는 주요 지방산은 palmitic acid, linoleic acid와 linolenic acid로 밝혀 졌으며 그 밖에 stearic acid과 oleic acid도 분석되었다. PC, PE, PI를 구성하는 지방산 조성변화를 각각 Table 1~3에 표기하였다.

PC를 구성하는 주요 지방산은 대조구에서 배양초에 palmitic acid가 32.6%, linoleic acid는 16.0%였으며, 배양 3일에는 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 24.3%와 25.4%로, 배양 5일에는 palmitic acid가 51.7%, linoleic acid가 14.1%였으며, 배양 7일에는 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 26.1%와 20.5%로 분석되었다. 이와 같이 같은 조건의 환경이라하더라도 생육시기에 따라 인지질을 구성하는 지방산의 조성에 변화가 있는 것으로 관찰되었다. 한편 amphotericin B 처리구에서 PC를 구성하는 주요 지방산은 배양 3일에 palmitic acid가 74.4%, oleic acid가 10.6%였으며, 배양 5일에는 palmitic acid와 stearic acid가 각각 44.0%와 14.2%로 배양 7일에는 palmitic acid가 33.0%, linoleic

Table 1. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylcholine in *Chlorella ellipsoidea* treated with antibiotics during the cultivation

Fatty acid methyl esters (%)												
Duration of Culture (days)	0				3							
Antibiotics	Control		AmphotericinB		Control				Cycloheximide			
	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast
Palmitic acid (16 : 0)	32.61	35.34	24.30	21.39	74.40	66.10	26.03	26.51				
Stearic acid (18 : 0)	7.97	9.68	16.44	1.12	1.43	3.04	19.33	16.58				
Oleic acid (18 : 1)	5.28	2.50	—	1.63	10.63	6.20	0.35	0.26				
Linoleic acid (18 : 2)	16.03	9.90	13.60	18.50	4.83	8.63	19.58	9.91				
Linolenic acid (18 : 3)	8.25	15.92	25.41	21.01	—	5.10	0.05	9.70				
Unknown	29.86	26.66	20.25	36.35	8.71	10.93	34.66	37.04				
Total fatty acid methyl esters	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fatty acid methyl esters (%)												
Duration of Culture (days)	5						7					
Antibiotics	Control		AmphotericinB		Cycloheximide		Control		AmphotericinB		Cycloheximide	
	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast
Palmitic acid (16 : 0)	51.65	79.18	44.04	35.95	15.49	25.60	16.18	41.89	33.02	79.07	33.12	25.31
Stearic acid (18 : 0)	8.96	3.24	14.24	24.32	12.52	0.68	14.33	2.39	6.78	9.39	11.35	0.51
Oleic acid (18 : 1)	2.91	3.78	—	—	—	42.59	6.11	5.93	—	—	—	33.20
Linoleic acid (18 : 2)	14.13	4.65	9.87	10.22	12.72	23.68	26.06	0.11	10.05	4.41	5.73	23.65
Linolenic acid (18 : 3)	8.11	—	6.89	—	0.56	0.56	20.47	7.74	8.93	—	7.20	1.92
Unknown	14.24	9.15	24.96	29.51	58.71	6.89	16.85	41.94	41.22	7.13	42.60	15.41
Total fatty acid methyl esters	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

acid가 10.1%로 구성되어 있음이 확인되었다. 또한 cycloheximide 처리구에서의 PC 구성 주요 지방산은 배양 3일에 palmitic acid가 26.0%, linoleic acid가 19.6%로, 배양 5일에는 palmitic acid와 linoleic acid가 각각 15.5%와 12.7%로, 배양 7일에는 palmitic acid가 33.1%, stearic acid가 11.4%로 구성되어 있다.

PE 합성에 참여한 주요 지방산은 Table 2에 표기한 바와 같이 대조구에서 배양초에 linoleic acid가 15.7%, linolenic acid가 27.7%로, 배양 3일에는 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 16.4%와, 41.2%로 배양 5일에는 palmitic acid가 19.0%, linolenic acid가 28.9%, 배양 7일에는 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 25.6%와 47.2%로 분석되었다. Amphotericin B 처리구에서는 배양 3일에 palmitic acid가 17.9%, linolenic acid가 41.5%로, 배양 5일에는 palmitic

acid와 linolenic acid가 각각 26.4%와 27.1%로, 배양 7일에는 palmitic acid 24.5%, linolenic acid 29.3%가 PE 합성에 참여한 주요 지방산으로 분석되었다. Cycloheximide 처리구에서는 배양 3일에는 palmitic acid와 stearic acid가 각각 48.5%와 20.6%로, 배양 5일에는 palmitic acid 45.6%, stearic acid 17.2%로, 배양 7일에는 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 28.2%와 8.2%로 PE 합성에 참여한 주요 지방산으로 분석되었다.

Table 3에서 보는 바와 같이 PI 합성에 참여한 주요 지방산은 대조구에서 배양초에 palmitic acid와 linoleic acid가 각각 49.4%와 18.4%로, 배양 3일에 palmitic acid가 18.2%, linolenic acid가 22.0%로, 배양 5일에 palmitic acid와 linoleic acid가 각각 42.1%와 15.9%로, 배양 7일에 palmitic acid 50.6%, linoleic acid 13.0%로 분석되었다.

Table 2. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylethanolamine in *Chlorella ellipsoidea* treated with antibiotics during the cultivation

Fatty acid methyl esters (%)								
Duration of Culture (days)	0				3			
Antibiotics	Control		AmphotericinB		Cycloheximide			
	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast
Palmitic acid (16 : 0)	12.68	28.60	10.40	28.31	17.88	18.52	48.54	26.90
Stearic acid (18 : 0)	1.07	2.23	11.69	4.75	6.24	6.62	20.62	4.26
Oleic acid (18 : 1)	3.83	17.92	—	24.59	—	11.82	—	35.58
Linoleic acid (18 : 2)	15.72	14.20	16.40	8.04	12.97	0.56	—	—
Linolenic acid (18 : 3)	27.68	23.74	41.21	25.07	41.53	27.55	—	28.13
Unknown	39.02	13.31	20.70	9.24	21.38	34.93	30.84	5.13
Total fatty acid methyl esters	100	100	100	100	100	100	100	100

Fatty acid methyl esters (%)												
Duration of Culture (days)	5						7					
Antibiotics	Control		AmphotericinB		Cycloheximide		Control		AmphotericinB		Cycloheximide	
	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast
Palmitic acid (16 : 0)	19.02	35.03	26.42	28.24	45.58	21.55	13.85	13.76	24.45	38.10	28.22	27.18
Stearic acid (18 : 0)	15.89	18.48	16.25	1.77	17.23	5.13	0.06	4.84	18.34	9.27	6.06	4.01
Oleic acid (18 : 1)	14.81	1.50	19.66	24.19	6.22	17.71	—	7.25	16.37	—	4.41	13.94
Linoleic acid (18 : 2)	10.96	12.09	—	22.56	8.68	—	25.56	—	—	3.04	3.15	1.14
Linolenic acid (18 : 3)	28.96	16.43	27.14	—	15.23	15.27	47.15	72.39	29.26	10.63	8.34	15.68
Unknown	9.76	16.47	10.53	23.24	7.06	40.34	13.38	1.76	11.58	38.96	49.82	38.05
Total fatty acid methyl esters	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

반면 amphotericin B 처리구에서는 배양 3일에는 palmitic acid와 stearic acid가 각각 38.5%와 16.2%로, 배양 5일에는 palmitic acid 24.3%, linolenic acid 22.3%로, 배양 7일에 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 42.3%와 10.7%로 PI 형성에 참여하였다. 또한 cycloheximide 처리구의 PI 합성에 참여한 주요지방산은 배양 3일에 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 18.3%와 20.3%로, 배양 5일에 palmitic acid가 45.6%, stearic acid가 17.2%로, 배양 7일에 palmitic acid와 stearic acid가 각각 26.3%와 18.0%로 분석되었다.

엽록체에서 지방산 조성 분석. 엽록체에서 PC를 구성하는 주요 지방산은 Table 1에서 보는 바와 같이 대조구에서 배양초에 palmitic acid가 35.3%, linolenic acid가 15.9%였으며, 배양 3일에는 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 21.4%와 21.0%로, 배양 5일에는 palmitic acid가 79.2

%, linoleic acid가 4.7%였으며, 배양 7일에는 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 41.9%와 7.7%로 구성되어 있음이 분석되었다. 반면 amphotericin B 처리구에서 분리한 엽록체에서는 배양 3일에 palmitic acid가 각각 66.1%와 8.6%로, 배양 5일에 palmitic acid가 35.9%, oleic acid가 24.3%로, 배양 7일에는 palmitic acid와 stearic acid가 각각 79.1%와 9.4%로 PC를 구성하는 것으로 분석되었다. Cycloheximide 처리구에서 분리한 엽록체에서 PC를 구성하는 주요 지방산은 배양 3일에 palmitic acid와 stearic acid가 각각 26.5%와 16.6%로, 배양 5일에 palmitic acid가 25.6%, oleic acid가 42.6%로, 배양 7일에는 palmitic acid와 stearic acid가 각각 25.3%와 33.2%로 분석되었다.

PE 합성에 참여한 주요 지방산은 Table 2에 표기한 바와 같이 대조구에서 분리한 엽록체는 배양초에 palmitic acid가

Table 3. Changes in contents of fatty acid methyl esters of phosphatidylinositol in *Chlorella ellipsoidea* treated with antibiotics during the cultivation

Fatty acid methyl esters (%)												
Duration of Culture (days)		0						3				
Antibiotics	Control		AmphotericinB		Cycloheximide		Control		AmphotericinB		Cycloheximide	
	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast
Palmitic acid (16 : 0)	49.43	20.00	18.20	41.01	38.53	47.05	18.27	18.88				
Stearic acid (18 : 0)	11.43	10.76	16.35	—	16.24	19.48	15.57	13.42				
Oleic acid (18 : 1)	—	19.07	—	26.67	3.66	5.17	4.33	—				
Linoleic acid (18 : 2)	18.36	—	17.70	—	13.05	10.98	15.66	17.92				
Linolenic acid (18 : 3)	13.99	18.87	21.97	—	3.74	11.09	20.03	17.31				
Unknown	6.79	31.30	25.78	32.32	24.78	6.23	26.14	32.47				
Total fatty acid methyl esters	100	100	100	100	100	100	100	100				

Fatty acid methyl esters (%)													
Duration of Culture (days)		5						7					
Antibiotics	Control		AmphotericinB		Cycloheximide		Control		AmphotericinB		Cycloheximide		
	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	Whole cell	Chloro-plast	
Palmitic acid (16 : 0)	42.05	26.28	24.32	9.48	45.58	42.29	50.60	34.17	42.29	8.25	26.25	37.89	
Stearic acid (18 : 0)	14.15	22.82	13.33	23.31	17.23	—	13.03	—	10.04	—	17.98	—	
Oleic acid (18 : 1)	—	12.19	—	—	6.22	15.98	5.17	31.58	—	26.59	—	14.18	
Linoleic acid (18 : 2)	15.87	—	13.66	24.70	8.68	13.73	13.03	26.99	9.85	24.13	10.85	16.27	
Linolenic acid (18 : 3)	10.29	26.11	22.25	27.45	15.23	0.28	10.23	—	10.65	3.32	13.35	—	
Unknown	17.64	12.60	26.44	15.06	7.06	27.72	7.94	7.26	27.17	37.71	31.57	31.66	
Total fatty acid methyl esters	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	

28.6%, linolenic acid가 23.7%로, 배양 3일에 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 28.3%와 25.1%로, 배양 5일에 palmitic acid 35.0%, stearic acid 18.5%로, 배양 7일에 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 13.8%와 72.4%로 분석되었다. Amphotericin B 처리구에서 분리한 엽록체에서는 배양 3일에 palmitic acid 18.5%, linolenic acid 27.6%가, 배양 5일에는 palmitic acid와 oleic acid가 각각 28.2%와 24.2%가, 배양 7일에는 palmitic acid 38.1%, linolenic acid 10.6%가 PE 합성에 참여한 주요 지방산으로 분석되었다. 또한 cycloheximide 처리구에서 분리한 엽록체에서는 배양 3일에 oleic acid 35.6%, linolenic acid 28.1%로, 배양 5일에는 palmitic acid와 oleic acid가 각각 21.6%와 17.7%로, 배양 7일에 palmitic acid 27.2%, linolenic acid 15.7%로 PE를 구성하는 주요 지방산으로 분석되었다.

Table 3에서 보는 바와 같이 PI 합성에 참여한 주요 지방산은 대조구 엽록체에서 배양초에는 palmitic acid와 oleic acid가 각각 20.0%와 19.1%로, 배양 3일에는 palmitic acid가 41.0%, oleic acid가 26.7%, 배양 5일에는 palmitic acid가 34.2%, stearic acid가 31.6%로 분석되었다. Amphotericin B 처리구에서 분리한 엽록체에서는 배양 3일에 palmitic acid가 47.1%, stearic acid 19.5%로, 배양 5일에 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 24.7%와 27.5%로, 배양 7일에 oleic acid가 26.6%, linoleic acid가 24.1%로 PI 합성에 참여한 것으로 분석되었다. Cycloheximide 처리구에서 분리한 엽록체에서는 배양 3일에 palmitic acid 18.9%, linoleic acid 17.9%로, 배양 5일에 palmitic acid와 oleic acid가 각각 42.3%와 16.0%로, 배양 7일에 palmitic acid가 37.9%, linoleic acid가 16.3%로 PI를 구성하는 주요 지방



산으로 분석되었다.

이와 같이 배양기간 동안 PC 합성에 도입된 주요 지방산은 대조구 whole cell system은 palmitic acid 31.2%, linoleic acid 17.5%로 나타났으며 대조구 엽록체는 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 44.5%와 11.2%로 분석되었으며, amphotericin B를 처리한 whole cell system은 palmitic acid와 linoleic acid가 각각 46.0%와 8.3%로, 분리한 엽록체는 palmitic acid가 54.1%, stearic acid가 12.3%로 조사되었으며, cycloheximide를 처리한 whole cell system은 palmitic acid와 linoleic acid로 각각 26.8%와 12.7%로, 분리한 엽록체에서는 palmitic acid 28.2%, oleic acid가 25.4%로 분석되었다. 또한 PE를 구성하는 주요 지방산은 배양기간 동안 대조구 whole cell system에서는 linoleic acid가 17.2%, linolenic acid가 27.8%로, 분리한 엽록체에서는 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 25.7%와 34.4%로 이루어져 있으며, amphotericin B를 처리한 whole cell system에서는 분리한 엽록체와 마찬가지로 이용된 지방산이 palmitic acid와 linolenic acid로 구성되어 있으나 배양기간 동안 함량변화는 whole cell system에서는 각각 22.9%와 32.6% 였으나 분리한 엽록체에서는 각각 28.4%와 12.7%로 확인되었다. Cycloheximide를 처리한 whole cell system에서는 palmitic acid와 stearic acid가 각각 33.8%와 14.6%로 분석되었으며 분리한 엽록체에서는 palmitic acid 25.2%, oleic acid 22.4%가 PE를 구성하는 주요 지방산으로 분석되었다. PI를 구성하는 주요 지방산은 배양기간 동안 대조구 whole cell system에서는 palmitic acid와 linoleic acid로 각각 40.1%와 16.2%로 분석되었으며, 분리한 엽록체에서는 palmitic acid가 30.4%, oleic acid가 22.4%로 나타났다. 그러나 amphotericin B를 처리한 whole cell system에서는 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 38.6%와 12.2%로, 분리한 엽록체는 palmitic acid 21.2%와 stearic acid 14.3%가 인지질 생합성에 이용되었다. Cycloheximide를 처리한 whole cell system은 palmitic acid와 linolenic acid가 각각 34.9%, 16.2%로, 분리한 엽록체에서는 palmitic acid가 29.8%, linoleic acid가 16.0%로 PI를 구성하는 주요 지방산으로 분석되었다.

## 고 찰

항진균제인 amphotericin B(150 µg/ml)와 cycloheximide(10 µg/ml)가 함유된 배지에 *Chlorella*를 배양시킨 결과 대조구에 비하여 생장이 억제되었다. 이와 같은 결과는 *Neurospora*에 amphotericin B를 처리하면 K<sup>+</sup>와 포도당이 방출되어 해당과정이 억제되며 건조량이 약 30% 정도 감소한다는 Kinsky 등(1968)의 결과와도 일치할 한다. 또한 *Chlorella*를 cycloheximide 30 µM 처리한 배지에 생육시

키면 DNA polymerase가 억제되며(Schönherr and Wanka, 1971) 15 µM을 처리하면 DNA와 RNA 합성이 90% 정도 억제된다고 보고되었다(Wanka *et al.*, 1972). cycloheximide를 HeLa cell에 처리하면 바로 생장억제효과가 나타난다는 Kim 등(1968)의 보고와 같이 *Chlorella ellipsoidea*를 cycloheximide가 함유된 배지에 생육시켰을 때 그 생장억제효과는 amphotericin B 처리구에 비하여 크며 배양초기부터 생장이 억제됨을 관찰할 수 있었다. 이와 같이 항생제를 처리한 배지에 *Chlorella*를 생육시켰을 때 그 생장이 억제되는 현상 amphotericin B가 세포막의 sterol 또는 인지질과 결합(Lampen *et al.*, 1959; Weissmann and Sessa, 1967)하여 pore를 형성(De Kruijff and Demel, 1974; Marty and Finkelstein, 1975)한다. 때문에 세포막의 투과성이 변화되어 세포막의 하전이 달라지게 되므로 호흡과 세포내 구성물질 합성이 저해되기 때문에 생장이 억제된다(Gottlieb and Show, 1970). Cycloheximide 처리구에서의 생장억제 현상은 cycloheximide가 일차적으로 *Chlorella*의 DNA polymerase의 합성을 억제시키며 aminoacyl-tRNA로부터 peptide로 amino acid를 운반하는 것을 억제시키므로써 세포분열을 저해시켜 세포생장을 억제현상을 나타낸다(Lampen and Arnow, 1961; Cummins and Rusch, 1966; Gottlieb and Show, 1970; Schönherr and Wanka, 1971). Cycloheximide 처리구가 amphotericin B 처리구에 비하여 그 효과가 큰 것은 cycloheximide는 바로 단백질 합성에 영향을 미치지만 amphotericin B는 막투과성에 영향을 미쳐 세포내 대사에 미치는 영향은 2차적이기 때문이다.

식물에서는 total lipid의 함량이 건조량의 약 10% 정도를 차지하며, 잎의 엽록체와 단세포 조류에서는 약 30% 정도를 차지한다(Kates, 1970). *Chlorella* 세포에서 추출한 total lipid 함량은 배양기간에 따라 whole cell system(Kim and Lee, 1988, 미발표)과 엽록체(Lee and Lee, 1989; Kark and Lee, 1990) 모두에서 점차로 증가하는 현상을 보였으나 amphotericin B를 처리한 whole cell system이 대조구 whole cell system에 비하여 배양기간 동안 31.7%의 감소율이 관찰되었으며 분리한 엽록체는 대조구 엽록체에 비하여 평균 5.7%의 억제율을 나타내었다. Polyene antibiotics를 처리한 경우가 처리하지 않는 세포에 비하여 광합성반응에 의한 산소 발생율이 50% 정도 밖에 안된다(Lampen and Arnow, 1961). 따라서 엽록체는 항생제가 1차적으로 세포막을 통과하여 엽록체막으로 들어가서 엽록체 내에서 일어나는 대사를 2차적으로 억제하게 되므로 광합성능을 저하시키기 때문에 당의 합성율이 저하되고 그로 인하여 지질의 전구체인 acetyl-CoA의 함량이 감소되므로 total lipid의 합성이 억제된다. Cycloheximide를 처리한 whole cell system에서는 대조구 whole cell system에 비

하여 배양기간 동안 49.8%의 total lipid 함량감소를 보였다. 분리한 엽록체에서는 대조구 엽록체에 비하여 평균 16.5%의 감소율을 나타내었다. 이와 같이 cycloheximide를 처리한 배지에서 생육된 *Chlorella*의 total lipid 함량이 감소되는 것을 보여주는 것은 지방산 생합성의 key enzyme인 acetyl-CoA carboxylase 합성을 cycloheximide가 억제하기 때문이다(Howard and Howard, 1974). Cycloheximide를 *Chlorella pyrenoidosa*와 *Saccharomyces cerevisiae*에 처리하면 엽록체와 mitochondria에서도 단백질합성이 저해된다(Wanka et al., 1972). 이와 같이 *Chlorella* 세포를 cycloheximide가 함유된 배지에 생육시켰을 때 total lipid가 대조구에 비하여 whole cell system 뿐만 아니라 엽록체에도 영향을 미치는 것은 세포막을 투과하여 세포질로 들어온 물질이 세포내 소기관인 엽록체막도 투과하여 엽록체내에서의 지질합성에 억제현상이 나타났음을 관찰할 수 있었다. 또한 항생제 처리시 total lipid 합성 억제율과 생장억제율이 거의 비슷한 것으로 보아 지질합성에 관여된 효소활성과 대사에 영향을 미쳐 정상적인 세포대사가 일어나지 못하기 때문에 세포생장율에도 그 영향을 미쳤으리라 생각된다.

*Chlorella ellipsoidea*의 주요 인지질인 PC와 PE는 항생제에 의하여 현저히 억제되었으나 PI는 그 함량에 별다른 영향이 없는 것으로 관찰되었다. 이러한 현상은 PI가 환경변화(항생제)에 의하여 형성되지 못한 다른 인지질의 level을 거의 정상적인 total phospholipid의 양으로 보충한다는 Daum 등(1983)의 보고와도 일치한다. 또한 amphotericin B가 막의 투과성에 영향을 미치기 때문에  $\text{Na}^+$ 이 수송되어 순간회로 전류가 빨라짐으로 막전류가 증가되기 때문에 해당과정과 구연산회로와 지방산 생합성에 관련된 acetoacetate의 산화에 영향을 미쳐 지방산 대사뿐만 아니라 인지질의 생합성이 억제되었다고 사료된다. PC 합성을 조절하는 효소인 phosphorylcholine-glyceride transferase의 형성을 cycloheximide와 actinomycin D가 저해하므로(Howard and Howard, 1974) cycloheximide가 PC 생합성을 억제함(Nelson and Sribney, 1972)이 설명된다. 또한 cycloheximide와 actinomycin D는 효소 choline kinase의 합성도 완전히 억제한다(Pelech and Vance, 1984). 이와 같은 cycloheximide의 영향은 PC 합성에서와 비슷한 작용을 하는 phosphorylethanolamine-cytidyl transferase와 phosphorylethanolamine-glyceride transferase에도 같은 영향을 미쳐 PE 합성도 저해하는 것으로 사료된다.

*Chlorella ellipsoidea*에서의 인지질을 구성하는 주요 지방산은 정상배지에서 배양기간 동안 palmitic acid와 linoleic acid이며, 엽록체에서는 palmitic acid와 linolenic acid로 분석되었다. Amphotericin B를 처리한 whole cell system에서는 palmitic acid와 stearic acid, linoleic acid가 PC 합성에 다량으로 이용된 지방산으로 분석되었으며, 엽록

체에서는 palmitic acid와 stearic acid가 주요 지방산으로 관찰되었다. Cycloheximide 처리시 PC를 구성하는 지방산은 whole cell system에서는 palmitic acid, stearic acid, linoleic acid로, 엽록체에서는 palmitic acid, oleic acid, linoleic acid가 인지질 형성에 많이 도입되었다. PE 합성의 주요 지방산은 amphotericin B 처리구 whole cell system에서는 palmitic acid, stearic acid, linolenic acid로 관찰되었으며, 엽록체에서는 palmitic acid, oleic acid, linolenic acid로 분석되었다. Cycloheximide 처리구에서 whole cell system은 palmitic acid와 stearic acid가, 엽록체에서는 palmitic acid와 oleic acid, linolenic acid가 PE 합성에 참여한 주요 지방산으로 분석되었다. 또한 PI는 amphotericin B를 처리한 whole cell system은 palmitic acid와 linolenic acid가, 엽록체에서는 palmitic acid와 linoleic acid, linolenic acid가 주요 지방산으로 분석되었으며, cycloheximide 처리구는 whole cell system에서 palmitic acid, stearic acid와 linolenic acid가, 엽록체에서 palmitic acid, oleic acid, linoleic acid가 주요 지방산으로 분석되었다. 이와 같은 결과는 glucose bleaching, 여러 가지 탄소원, 질소원( $\text{NO}_3^-$ )과 인산( $\text{PO}_4^{3-}$ ) 결핍배지에서 *Chlorella*를 생육시켜 관찰한 결과(Kim and Lee, 1988, 미발표)와도 다르며, 엽록체에서 질소원과 인산 결핍배지(Lee and Lee, 1989), 여러 가지 탄소원(Kark ad Lee, 1990)에서의 인지질 생합성 및 그의 지방산 조성을 연구한 결과와는 다르게 나타났다. 이와 같이 세포에서 또는 소기관에서 자율적으로 합성되는 인지질 합성에 도입되는 지방산은 그 세포의 환경변화에 현저한 영향을 받는다는 것을 알 수 있다.

항진균제인 amphotericin B는 세포내의 세포막 형성요인인 인지질 생합성을 저해하며 이에 따른 지방산 조성 변화는 막활성에 영향을 주어 결국 정상적인 세포대사를 이루지 못할 것으로 사료되며 cycloheximide는 세포내 단백질 합성을 저해하여 인지질 생합성에 관련된 효소에 관계되어 정상적인 대사를 이루지 못하게 되므로 인지질뿐만 아니라 이를 구성하는 지방산의 조성에도 영향을 미쳤으리라 생각되며 인지질은 생체막의 주요 성분인 바 더 나아가 항생제가 막 생리에 어떻게 영향을 미치는가에 대하여 더욱 많은 연구가 필요하며 또한 이들 항생제가 인지질과 지방산이 생합성될 때 어느 생합성과정 부위에서 저해현상을 나타내는지도 아울러 연구할 과제라 생각된다.

## 적 요

*Chlorella* 엽록체에서 인지질 생합성과 그의 지방산 조성에 미치는 amphotericin B(150  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )와 cycloheximide (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )의 영향을 분석하였다. Total lipid와 인지질 함량(PC, PE, PI)은 항생제 처리구가 대조구에 비하여 낮

았다. Whole cell system에서의 주요 지방산은 대조구에서는 palmitic acid(31.96%)와 linoleic acid(16.96%)로 나타났으나 amphotericin B 처리구에서는 palmitic acid(36.15%)와 linolenic acid(16.71%)로 분석되었다. 또한 cycloheximide 처리구에서는 palmitic acid(31.90%)와 stearic acid(15.32%)가 인지질 형성에 이용되었다. 분리한 염록체의 대조구(33.75%, 18.90)와 amphotericin B 처리(36.75%, 9.46%)에서 분리한 염록체에서 인지질 형성에 이용되는 주요 지방산은 palmitic acid와 linolenic acid였으나 cycloheximide 처리구에서는 palmitic acid(28.01%)와 oleic acid(19.27%)가 인지질생합성에 도입된 것으로 분석되었다.

### 참 고 문 헌

- Allen, C.F. and P. Good. 1971. Acyl lipids in photosynthetic systems. *Methods Enzymol.* **23**: 523-547.
- Andreoli, T.E. and M. Monahma. 1968. The interaction of polyene antibiotics with thin lipid membrane. *J. Gen. Physiol.* **52**: 300-325.
- Bennett, L.L., Jr., V.L. Ward and R.W. Brockman. 1965. Inhibition of protein synthesis *in vitro* by cycloheximide and related glutarimide antibiotics. *Biochim. Biophys. Acta* **103**: 478-485.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**: 911-917.
- Cass, A., A. Finkelstein and V. Krespi. 1970. The ion permeability induced in thin lipid membranes by the polyene antibiotics nystatin and amphotericin B. *J. Gen. Physiol.* **36**: 100-124.
- Cronan, J.E. Jr. and E.P. Gelmann. 1975. Physical properties of membrane lipids: Biological relevance and regulation. *Bacterial Rev.* **39**: 232-256.
- Cummins, J.E. and H.D. Rusch. 1966. Limited DNA synthesis in the absence of protein synthesis in *Physarum polycephalum*. *J. Cell Biol.* **31**: 577.
- Daum, G., S.D. Kohlwein, E. Ziner and F. Paltauf. 1983. Effect of inositol starvation on glycerolipid metabolism in *Saccharomyces uvarium*. *Biochim. Biophys. Acta* **753**: 430-438.
- De Kloet, J. 1966. Ribonucleic acid synthesis in yeast: The effect of cycloheximide on the synthesis of ribonucleic acid in *Saccharomyces carlsbergensis*. *Biochem. J.* **99**: 566-581.
- De Kruijff, B. and R.A. Demel. 1974. Polyene antibiotic-sterol interactions in membranes. III. Molecular structure of the polyene antibiotic-cholesterol complex. *Biochim. Biophys. Acta* **339**: 57-70.
- De Kruijff, B., W.J. Gerritsen, A. Oerlemans, R.A. Demel and L.L. M. Van Deenen. 1974. Polyene antibiotic-sterol interactions in membranes of *Acholeplasma laidlawii* cells and lecithin liposomes. I. Specificity of the membrane permeability changes induced by the polyene antibiotics. *Biochim. Biophys. Acta* **339**: 30-43.
- Demel, R.A., F.J.L. Crombag, L.L.M. Van Deenen and S.C. Kinsky. 1968. Interaction of polyene antibiotics with single and mixed lipid monomolecular layers. *Biochim. Biophys. Acta* **150**: 1-14.
- Gottlieb, D. and P.D. Show. 1970. Mechanism of action of antifungal antibiotics. *Ann. Rev. Phytopathol.* **8**: 371-402.
- Greig, M.E., R.A. Walk and A.J. Gibbons. 1957. Effect of actidione (cycloheximide) on yeast fermentation. *J. Bacteriol.* **75**: 489-491.
- Hourdou, M.L., F. Besson and G. Michel. 1988. Studies on the biosynthesis of  $\beta$ -amino acids, the lipid moiety of iturins A in *Bacillus subtilis*. *J. Antibiotics* **41**: 207-211.
- Hunter, E.O. Jr. I. McVeigh. 1961. The effects of selected antibiotics on pure cultures of algae. *Am. J. Bot.* **40**: 179-185.
- Kark, H.S. and C.S. Lee. 1990. Effect of carbon sources on the synthesis of phospholipids and fatty acids composition in chloroplast of *Chlorella ellipsoidea*. *Korean J. Bot.* **33**: 49-54.
- Kates, M. 1970. Plant phospholipids and glycolipids. *Adv. Lipid Res.* **8**: 225-265.
- Kim, J.H., A.S. Gelbard and A.G. Perez. 1968. Inhibition of DNA synthesis by actinomycin D and cycloheximide in synchronized HeLa cells. *Exp. Cell Res.* **53**: 478-487.
- Knivett, V.A. and J. Cullen. 1965. Some factors affecting cyclopropane acid formation in *Escherichia coli*. *Biochem. J.* **96**: 771-776.
- Kusano, T., K. Izaki and H. Takahashi. 1975. Degradation of phospholipid in *Pseudomonas aeruginosa* induced by polymyxin B. *J. Antibiotics* **28**: 689-695.
- Lampen, J.O. and P. Arnow. 1961. Inhibition of Algae by nystatin. *J. Bacteriol.* **82**: 247-251.
- Lampen, J.O., E.R. Morgan and A. Slocum. 1957. Effect of nystatin on the utilization of substrates by yeast and other fungi. *J. Bacteriol.* **74**: 297-302.
- Lampen, J.O., P.M. Arnow and R.S. Safferman. 1959. Mechanism of protection by sterols against polyene antibiotics. *J. Bacteriol.* **80**: 200-206.
- Lee, J.K. and C.S. Lee. 1989. Effects of the nitrate and the phosphate starvation on the biosynthesis of phospholipid and the composition of fatty acids in *Chlorella* chloroplast. *Korean J. Bot.* **31**: 187-196.
- Lyttleton, J.W. 1962. Isolation of ribosome from spinach chloroplast. *Exp. Cell Res.* **26**: 212-217.
- Marty, A. and A. Finkelstein. 1975. Pores formed in lipid bilayer membranes by nystatin -Differences its one-sided and two-sided action-. *J. Gen. Physiol.* **65**: 515-526.

- Mendoza, S.A., J.S. Handler, and J. Orloff. 1967. Effect of amphotericin B on permeability and short-circuit in toad bladder. *Am. J. Physiol.* **213**: 1263-1268.
- Midez, J.A., R.L. Hopfer, G. Lopez Berestein and R.T. Mehta. 1989. Effects of free and liposomal amphotericin B and gramicidin S alone and in combination on potassium leakage from human erythrocytes and *Candida albicans*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **33**: 152-155.
- Moore, T.S. Jr. 1982. Phospholipid biosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**: 235-296.
- Nelson, J.D. and M. Sribney. 1972. The effect of phytohemagglutinine on the activity of PC-cytidyl transferase and PC-glyceride transferase in cultured porcine lymphocytes. *Can. J. Biochem.* **50**: 25-31.
- Norman, A.W., A.M. Spielvogel, and R.G. Wong. 1976. Polyene antibiotic-sterol interaction. *Adv. Lipid Res.* **14**: 127-170.
- Pelech, S.L. and D.E. Vance. 1984. Regulation of phosphatidyl-choline biosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta* **779**: 217-251.
- Radwan, S.S. and H.K. Mangold. 1976. The lipids of plant tissue cultures. *Adv. Lipid. Res.* **14**: 171-211.
- Schönherr, O.Th. and F. Wanka. 1971. An investigation of DNA polymerase in synchronously growing *Chlorella* cells. *Biochim. Biophys. Acta* **232**: 83-93.
- Sessa, G. and G. Weissmann. 1968. Effects of four components of the polyene antibiotic, filipin, on phospholipid spherules (liposomes) and erythrocytes. *J. Biol. Chem.* **243**: 4364-4371.
- Skipski, V.P. and M. Barllay. 1969. Thin-layer chromatography of lipids. *Methods Enzymol.* **14**: 530-598.
- Tamiya, H., K. Shibata, T. Iwamura, T. Sasa and Y. Morimura. 1953. Effect of diurnally intermittent illumination on the growth and some cellular characteristics of *Chlorella*. *Carnegie Inst. Wash. Publ.* **600**: 76-81.
- Tsang, J., D.M. Kranz and D.A. Brown. 1977. The effect of polymyxin B on outer membrane of *Serratia marcescens*: Activation and dissociation of outer membrane associated alkaline phosphatase. *J. Antibiotics* **30**: 270-271.
- Turner, J.D. and G. Rouser. 1970. Precise quantitative determination of human blood lipids by thin-layer and triethylaminoethylcellulose column chromatography. II. Plasma lipids. *Anal. Biochem.* **38**: 437-445.
- Wanka, F., J. Moors and F.N.C.M. Krijzer. 1972. Dissociation of nuclear DNA replication from concomitant protein synthesis in synchronous cultures of *Chlorella*. *Anal. Biochem.* **269**: 153-161.
- Weaire, P.J. and R.G.O. Kekwick. 1975. The fractionation of the fatty acid synthetase activities of *Avocado mesocarp* plastids. *Biochem. J.* **146**: 439-445.
- Weiss, B.G. 1968. The dependence of DNA synthesis on protein synthesis in HeLa S3 Cells. *J. Cell Physiol.* **73**: 85-90.
- Weissmann, G. and G. Sessa. 1967. The action of polyene antibiotics on phospholipid-cholesterol structure. *J. Biol. Chem.* **242**: 616-625.

(1991. 12. 10 接受)