

## 옥수수 엽육세포 및 유관속초세포의 엽록체막 지질성분의 비교

曹 聖 昊

(仁荷大學校 理科大學 生物學科)

## Comparison of Lipid Composition of Mesophyll and Bundle Sheath Chloroplast Membranes of Maize

Cho, Sung Ho

(Department of Biology, Inha University, Incheon)

### ABSTRACT

The lipid composition of thylakoid membranes was compared between mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. According to mild-denaturing gel electrophoresis, mesophyll thylakoids contained both PS I complex and PS II light-harvesting chlorophyll-protein complex(LHCP), while those of bundle sheath cells contained mainly PS I complex. The amount of lipids per mg chlorophyll was higher in bundle sheath thylakoids than in mesophyll. The major polar lipid classes were monogalactosyldiacylglycerol(MGDG), digalactosyldiacylglycerol, sulfolipid and phosphatidylglycerol (PG) in both tissues. Linolenic acid(18:3), linoleic acid(18:2) and palmitic acid(16:0) were the main fatty acyl components, with higher ratio of unsaturated to saturated fatty acids in bundle sheath thylakoids, suggesting these membranes are more fluid. The most striking difference in lipid composition between the two kinds of tissues was the practical absence of trans- $\Delta^3$ -hexadecenoic acid(16:1t) in PG of bundle sheath thylakoids. This fatty acid is known to be involved in the association of LHCP as oligomeric form. More than 80% of MGDG molecular species was 18:3,18:3, demonstrating that maize is a typical 18:3 plant. Therefore, the possibility of the functional relationships between the lamella structure, and thus the distribution of photosystems, and MGDG molecular species was excluded.

### 서 론

옥수수와 같은 C-4 식물의 광합성 기작에서 탄수화물의 생성은 이산화탄소를 phosphoenolpyruvate로 고정시켜 malic acid와 aspartic acid를 생성하는 제 1 단계와 이들 화합물의 탈탄산반응으로부터 생성된 이산화탄소를 이용하여 캘빈회로에서 3-phosphoglyceraldehyde를 생성하는 제 2 단계로 나누어진다(Downton, 1975). 이와 같은 두 가지 단계의 반응은 잎의 엽육세포와 유관속초세포에서 각기 지리적으로 분리되어 이루어 지는데(Campbell and Black,

1982) 이들 광합성세포의 엽록체 구조는 틸라코이드막의 배열에 있어서 큰 차이를 보이고 있다(Park and Sane, 1971). 즉 엽육세포의 경우에는 잘 발달된 grana lamella의 구조가 있는 반면에 유관속초세포의 경우에는 중첩된 틸라코이드막이 없이 stroma lamella만으로 이루어져 있다. 이와 같은 lamella의 구조적인 차이는 그에 포함된 단백질의 분포에도 차이를 보이고 있어 엽육세포의 stroma lamella와 유관속초세포의 lamella는 40~60 kD의 단백질을 다량 포함하는 데 비해 엽육세포의 grana lamella는 20~31 kD의 크기를 갖는 작은 단백질을 주로 포함하고 있다(Kirchanski and Park, 1976). 이와 아울러 일반적으로 식물의 엽록체에서는 grana lamella에서 광계 I보다 광계 II의 활성이 높고 반면 stroma lamella에서는 반대로 광계 II보다

본 연구는 1992년도 한국과학재단 연구비지원에 의한 결과임  
(과제번호: 923-0400-008-1).

광계 I의 활성이 높은 데(Park and Sane, 1971) 옥수수와 같은 C-4 식물의 경우 stroma lamella로만 구성되어 있는 유관속초세포에서도 이와 마찬가지로 광계 II에 비해 높은 광계 I의 활성이 보고되어 있어 lamella의 구조와 광합성 기능과의 관계는 매우 밀접한 것으로 여겨진다(Anderson *et al.*, 1972).

일반적으로 생체막의 지질 구성성분은 단백질 성분의 작용에 필요한 기질의 역할을 하는 것으로 인식되고 있으나 최근 지질 성분의 분석이 점차 현대화 되어 감에 따라 지질 중 특별한 구성 성분이 단백질과 연관되어 있거나 혹은 막의 구조에 따른 지질 구성의 차이를 보이는 것으로 밝혀지고 있다. 이들 중 엽록체의 틸라코이드막과 관련된 것을 살펴 보면 다음과 같다. 첫째로 oligomer의 형태를 취하고 있는 광수확복합체(light-harvesting complex)는 지질 성분으로 주로 monogalactosyldiacylglycerol(MGDG)과 trans- $\Delta^3$ -hexadecenoic acid(16:1t)를 포함하는 phosphatidylglycerol(PG)을 포함하고 있다(Remy *et al.*, 1982). 그리고 광계 II의 반응중심은 MGDG와 황지질 만을 포함하며 이들 지질은 그 불포화도가 매우 낮고 특히 MGDG의 경우 hexadecatrienoic acid(16:3)를 전혀 포함하지 않는 것으로 보고되었으며(Gounaris and Barber, 1985) 또한  $CF_0$ - $CF_1$  복합체는 황지질을 다량 함유한 반면 MGDG와 인지질은 전혀 포함하고 있지 않는 것으로 밝혀졌다(Pick *et al.*, 1985). 그리고 grana lamella처럼 막이 중첩되어 있는 틸라코이드막에서는 MGDG와 digalactosyldiacylglycerol(DGDG)의 비율이 stroma lamella에 비하여 높고 황지질의 경우 linolenic acid(18:3)는 전혀 포함되어 있지 않으며 PG에서는 16:1t가 다량 함유 되어 있는 것으로 보고되어 있다(Murphy and Woodrow, 1983).

한편 지질의 합성과정은 엽록체 내에서 이루어지는 원핵경로(prokaryotic pathway)와 엽록체와 소포체가 모두 관여하는 진핵경로(eukaryotic pathway)로 나누어지는데(Roughan and Slack, 1984), 특히 MGDG의 경우는 원핵 경로에 의해 합성되는 prokaryotic molecular species(glycerol backbone의 2번 탄소에 C-16의 지방산을 포함)와 진핵 경로에 의해 합성되는 eukaryotic molecular species(glycerol backbone의 2번 탄소에 C-18의 지방산을 포함)를 모두 포함하고 있다. Grana lamella와 stroma lamella가 모두 잘 발달되어 있는 *Spirodela*에서의 이들 막의 지질 구성에 대한 연구에 의하면 grana lamella를 구성하는 MGDG는 prokaryotic molecular species(18:3/16:3, 18:2/16:2)로 주로 구성되어 있는데 비해 stroma lamella의 MGDG는 eukaryotic molecular species(18:3/18:3)를 주로 포함하고 있어 MGDG의 molecular species와 단백질 분자와의 상호작용이 광합성의 광계 I과 광계 II의 기능 유지에 중요한 의미가 있음이 제안되었다(Norman *et al.*,

1987).

본 연구는 stroma lamella만을 포함하는 옥수수의 유관속초세포의 엽록체막과 grana lamella와 stroma lamella를 모두 포함하는 엽록체막의 엽록체막을 지질구성에 대하여 비교하여 이들 엽록체막 사이의 광합성 분포 및 엽록체구조의 차이와 어떠한 관련이 있는가를 체계적으로 연구하기 위한 기초 자료를 제공하고자 시도되었다. 본 연구의 결과는 C-4 식물인 옥수수의 엽록체막과 유관속초세포 사이에서 엽록체막의 지질구성을 비교한 첫번째의 보고이다.

## 재료 및 방법

**엽록체막과 유관속초세포의 엽록체막 분리.** 엽록체막과 유관속초세포의 엽록체막 분리는 Woo 등(1970)의 방법과 Walbot와 Hoisington(1982)의 방법을 종합하여 사용하였다. 자연광 하에서 2~3주 가량 자란 옥수수 수원 19호(*Zea mays* L. var. Suwon 19; 농촌진흥청 작물시험장 종자 제공)의 잎 10~15 g을 1% sodium hypochlorite로 멸균한 다음 증류를 제거하고 1 cm의 폭으로 잘라 실험에 사용하였다. 잘라진 잎은 100 mL의 분리용액(50 mM Tris-HCl, 330 mM sorbitol, 5 mM  $MgCl_2$ , 0.1% w/v bovine serum albumin(BSA), 0.1 mM  $\beta$ -mercaptoethanol, pH 8)에 넣고 Sorvall Omnimixer를 이용하여 50% line voltage로 5초 동안 마쇄하였다. 이 과정에서 엽록체막은 파괴되고 유관속초세포는 거의 파괴되지 않는다. 파괴되지 않은 세포와 세포찌꺼기를 240 mesh nylon으로 여과한 다음 여과된 용액은 300 g에서 2분간 원심분리하여 pellet는 버리고 상정액은 다시 1000 g로 10분간 원심분리하여 얻어진 pellet를 현탁용액(10 mM phosphate buffer, 330 mM sorbitol, 1 mM  $MgCl_2$ , 0.5% BSA, pH 7.4)에 현탁시켜 이를 엽록체막의 엽록체막으로 사용하였다. 이 과정에서 걸러지고 남은 잔여물은 100 mL의 분리용액에 현탁하여 Omnimixer로 100% line voltage에서 6분간 마쇄하였다. 이 과정에서 남아있는 엽록체막이 파괴되고 유관속초세포는 유관속조직에 붙어 있는 상태로 남아 있게 된다. 남아 있는 유관속조직을 240 mesh nylon으로 여과하고 잔여물을 분리용액으로 세척한 후 50 mL의 현탁용액에 현탁시킨 다음 유발을 이용하여 마쇄하였다. 이들 마쇄물을 다시 nylon으로 여과하여 여과된 용액을 1000 g에서 2~3분간 원심분리하여 녹말과립과 세포찌꺼기를 제거하였다. 상정액을 10,000 g에서 20 분간 원심분리하여 pellet를 최소량의 현탁용액에 현탁시켜 유관속초세포의 엽록체막으로 사용하였다. 이상의 전과정은 0~4°C에서 행하였다. 엽록체막과 유관속초세포의 엽록소의 전체함량과 엽록소 a와 엽록소 b의 함량은 80% acetone으로 측정하였다(Arnou, 1949).

**전기영동에 의한 엽록소-단백질 복합체의 분리.** 전향

에서 분리한 엽록체막은 Anderson 등(1972)의 방법으로 4°C에서 용해시켰다. 이때 완충액의 조성은 0.3 M Tris-HCl, pH 8.8, 10% glycerol, 2% Triton X-100, 1% SDS 이었으며 Triton X-100 : SDS : chlorophyll을 20 : 10 : 1로 조절하였다. 전기영동은 Waldron과 Anderson(1979)의 방법을 다음과 같이 변형시켜 사용하였다(Cho and Thompson, 1989). Stacking gel의 조성은 4% acrylamide, 0.107% bisacrylamide, 0.0005% TEMED, 0.1% ammonium persulfate를 함유한 0.275 M Tris-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(pH 6.14)이고, resolving gel의 조성은 8% acrylamide, 0.213% bisacrylamide, 0.0005% TEMED, 0.1% ammonium persulfate를 함유한 0.21 M Tris-HCl(pH 9.35)이었다. 전기영동은 4°C에서 암처에서 12 mA로 행하였으며 각 sample 마다 50 µg의 엽록소를 처리하였다. Upper reservoir buffer는 0.1% SDS를 포함하는 0.041 M Tris-borate, pH 8.64 이었고 lower reservoir buffer는 0.43 M Tris-HCl, pH 9.35 이었다.

**지질의 분리 및 지방산과 molecular species의 조성 비교.** 엽록체막으로부터 Bligh과 Dyer(1959)의 방법으로 지질을 추출하였다. 추출된 지질은 TLC(Silica gel 60 F<sub>254</sub>, Merck)를 이용하여 각 구성지질로 분리하였다. 우선 총 지질은 acetone:ethyl ether(30 : 70, v/v)와 acetone : acetic acid : water(100 : 2 : 1, v/v)의 용매를 이용하여 연속적으로 전개하여 MGDG, DGDG, 황지질(SL; sulfolipid), 그리고 인지질(PL; phospholipid)로 분리하였으며(Cho and Thompson, 1989), 여러가지 인지질은 다시 chloroform : acetic acid : methanol : water(75 : 25 : 5 : 2.2, v/v)의 용매를 이용하여 분리하였다. 경우에 따라서는 총 지질을 후자의 용매로 분리하여 사용하였다. 분리된 각 지질은 TLC plate로부터 chloroform : methanol : water(3 : 5 : 1, v/v)를 이용하여 추출하였다(Cho and Thompson, 1986). 당지질의 정량은 Dubois 등(1956)의 방법으로 하였으며 인지질은 Marinetti(1962)에 의해 변형된 Bartlett(1959)의 방법을 사용하여 정량하였다. MGDG와 DGDG는 methanol : water (95 : 5, v/v)를 용매로 하는 HPLC system(Spectra Physics; SP 8700 delivery system, SP 8400 detector, RP-18 10 µm column)을 이용하여 각 구성 molecular species로 분리하여 205 nm에서 측정하였다(Cho and Thompson, 1989). 인지질과 황지질의 구성 지방산은 Wood와 Lee(1983)의 방법에 의하여 2-bromoacetophenone으로 derivatization시킨 다음 methanol : water : acetonitrile (82 : 9 : 9, v/v)를 용매로 하는 위와 같은 HPLC system을 이용하여 각 구성 지방산으로 분리하여 254 nm에서 측정하였다.

**결과 및 고찰**

**엽록세포와 유관속초세포의 엽록체막 분리.** 엽록세

**Table 1.** Comparison of chlorophyll and polar lipid composition between maize mesophyll and bundle sheath thylakoid membranes

	Mesophyll	Bundle sheath
Chl a/b ratio	2.9	4.5
	<i>µ</i> moles/mg Chl (%)	
MGDG	0.31 (26)	0.72 (25)
DGDG	0.41 (34)	0.82 (29)
Sulfolipid	0.11 ( 9)	0.31 (11)
Phospholipid	0.37 (31)	0.98 (35)
Total polar lipid	1.20 (100)	2.83 (100)

MGDG, monogalactosyldiacylglycerol; DGDG, digalactosyldiacylglycerol.

포와 유관속초세포의 엽록체막을 분리하여 엽록소 a와 엽록소 b의 함량을 비교한 결과 엽록소 a/b의 비는 엽록세포의 경우 2.9이고 유관속초세포의 경우에는 4.5로 측정되었다(Table 1). 이와 같은 결과를 Kirchanski와 Park(1976)가 옥수수에서 측정된 엽록소 a/b의 비와 비교하여 보면 엽록세포의 경우 3.2, 유관속초세포의 경우 5.5로서 이들 값과 매우 유사함을 알 수 있다. 유관속초세포의 엽록체막이 높은 엽록소 a/b의 비를 나타내는 것은 grana lamella에 비해 stroma lamella가 잘 발달되어 있기 때문이며 stroma lamella는 다시 엽록소 a를 주로 포함하는 광계 I이 풍부하기 때문인 것으로 설명할 수 있다(Park and Sane, 1971; Anderson, 1986).

**전기영동에 의한 엽록소-단백질 복합체의 분리.** Triton X-100과 SDS를 이용하여 엽록체막을 용해시켜 전기영동한 결과(Fig. 1), 엽록세포의 경우 엽록소-단백질 복합체의 분리는 전형적인 엽록체막의 분리 양상(Anderson *et al.*, 1978; McCourt *et al.*, 1985; Cho and Thompson, 1989)을 나타낸 데 비해 유관속초세포의 경우는 광계 I의 P700-엽록소 a-단백질 복합체(CP1)가 상대적으로 많은 양이 포함되어 있는 반면 광계 II의 광수확 엽록소 a/b-단백질 복합체의 oligomer 형태(LHCP-1)와 monomer 형태(LHCP-3)는 매우 적은 양이 포함되어 있었다. 이와 같은 결과는 nondenaturing gel을 이용한 실험에서도 확인된 바 있다(Vainstein *et al.*, 1989). 이는 유관속초세포의 엽록체막에 광계 I이 풍부하게 분포되어 있다는 보고(Woo *et al.*, 1970)와 일치하는 것이며 앞에서 설명된 엽록소 a/b의 비의 비교 결과와도 일치하는 것이다. 따라서 본 실험에서 엽록세포 엽록체와 유관속초세포의 엽록체를 분리한 방법에 따르면 엽록세포 엽록체는 광계 I과 광계 II를 골고루 포함하고 있는 반면 유관속초세포 엽록체는 광계 I이 많이 포함되어 있음을 확인할 수 있다.

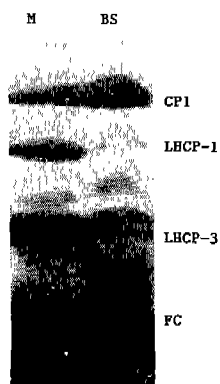


Fig. 1. Unstained polyacrylamide gel of *Zea mays* thylakoids from maize mesophyll(M) and bundle sheath(BS) chloroplasts. Fifty  $\mu$ g of chlorophylls were loaded on each well. CP1, P700-chlorophyll a-protein complex; LHCP-1, oligomeric form of light-harvesting chlorophyll a/b-protein complex; LHCP-3, monomeric form of light-harvesting chlorophyll a/b-protein complex; FC, free chlorophylls.

**지질함량의 비교.** 엽육세포와 유관속초세포의 엽록체막에 포함된 주요 지질의 함량을 비교하면 Table 1과 같다. 우선 총 지질 함량을 엽록소의 양(mg)을 기준으로 비교하여 보면 엽육세포에서 1.20  $\mu$ mole, 유관속초세포에서 2.83  $\mu$ mole로서 유관속초세포에서 높게 나타났다. 이와 같은 것은 일반적으로 stroma lamella가 grana lamella보다 지질함량에 비해 적은 양의 엽록소와 단백질을 포함하는 사실을 반영하는 것으로 시급치(Murphy and Woodrow, 1983), 보리(Henry *et al.*, 1983), 담배(Bednarz *et al.*, 1988) 등을 재료로 하여 확인된 바 있다.

한편 총 지질의 조성은 양 조직에서 모두 MGDG와 DGDG의 당지질과 황지질이 65~70%를 차지하여 전형적인 틸라코이드막의 조성(Harwood, 1980)을 보였으며(Table 1) 인지질 중에서는 PG의 함량이 가장 높은 것으로 관찰되었다. 그러나 두 조직 사이의 지질조성의 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다. MGDG와 DGDG의 상대적인 양(MGDG/DGDG ratio)을 비교하여 보면 엽육세포에서 0.76, 유관속초세포에서 0.88로 유관속초세포에서 약간 높게 나타났는데 이와 같은 결과는 시급치에서 이 비율이 grana lamella에서 더 높게 나타난다는 보고(Murphy and Woodrow, 1983)와는 상반된 것이나 담배의 경우 stroma lamella만을 갖는 mutant의 엽록체에서 정상 엽록체에 비해 이 비율이 더 높다는 결과(Bednarz *et al.*, 1988)와는 일치한다. 이와 같은 상반된 결과는 당지질이 틸라코이드막의 구조결정에 결정적인 역할을 하지 못한다는 것을 설명할 수 있다.

Table 2. Comparison of fatty acid composition of total lipids between maize mesophyll and bundle sheath thylakoid membranes. Values represent per cent in total lipids

Fatty acid	Mesophyll	Bundle sheath
16:0	11.9	13.8
16:1t	4.8	—
16:2	1.7	1.0
16:3	2.8	1.8
18:0	3.3	1.5
18:1	1.6	1.1
18:2	8.8	17.5
18:3	64.9	63.3
Unsaturated/saturated <sup>a</sup> ratio	4.0	5.5

<sup>a</sup>16:1t is included in saturated fatty acids.

**총 지질의 지방산 분석.** 엽육세포와 유관속초세포의 엽록체막을 구성하는 총 지질의 지방산의 종류와 조성을 Table 2에 나타내었다. 주요 지방산은 palmitic acid(16:0), linoleic acid(18:2), linolenic acid(18:3) 등이었으며 hexadecadienoic acid(16:2), hexadecatrienoic acid(16:3), stearic acid(18:0), oleic acid(18:1) 등도 소량이 포함되어 있었다. 양 조직 사이의 가장 큰 차이는 엽육세포에서는 16:1t가 상당량이 포함되어 있는 반면 유관속초세포에서는 나타나지 않았다는 점이다. 그리고 18:2는 유관속초세포에서 약 두 배 가량의 높은 비율로 분포하였다. 양 조직 모두 불포화도가 높은 16:3, 18:2 그리고 18:3이 약 80%를 차지하여 엽록체막의 지질은 유동성이 매우 높은 것을 알 수 있다. 불포화지방산과 포화지방산(16:1t 포함)의 비율을 비교하여 보면 엽육세포에서 4.0, 유관속초세포에서 5.5로 유관속초세포에서 더 높게 나타났다(Table 2). 이는 stroma lamella의 지방산 불포화도가 grana lamella보다 더 높다는 사실(Bednarz *et al.*, 1988)을 반영하는 것이며 지방산의 높은 불포화도와 함께 적은 양의 엽록소 및 단백질 함량으로 인하여 stroma lamella는 grana lamella보다 더 높은 유동성을 나타내게 된다(Ford and Barber, 1983).

**주요 인지질과 황지질의 지방산 분석.** 엽록체막을 구성하는 주요 인지질과 황지질의 지방산 조성을 비교하였다(Table 3). PG의 경우 16:0이 가장 많이 포함되어 있었으며 엽육세포는 16:1t도 다량 포함하고 있었다. 또한 엽육세포는 18:2에 비해 두 배 이상의 18:3을 포함하였고 유관속초세포에서는 두 지방산이 비슷하게 나타났다. Phosphatidylinositol(PI)의 경우는 양 조직이 매우 비슷하였는데 18:3이 약 48%, 18:2가 약 27%로서 높은 불포

Table 3. Comparison of fatty acid composition of major phospholipid classes and sulfolipid between maize mesophyll and bundle sheath thylakoid membranes. Values represent per cent in each lipid class

Fatty acid	Phosphatidylglycerol		Phosphatidylinositol		Phosphatidylcholine + sulfolipid	
	Mesophyll	Bundle sheath	Mesophyll	Bundle sheath	Mesophyll	Bundle sheath
16:0	45.9	64.4	14.5	16.1	36.8	48.7
16:1t	26.0	1.6	—	—	—	—
18:0	4.5	9.0	6.6	4.9	6.0	5.5
18:1	0.3	1.0	—	—	1.3	0.6
18:2	6.8	10.8	27.7	27.2	45.7	31.7
18:3	16.4	12.6	48.4	48.2	8.3	10.2
Others	0.1	0.6	2.8	3.6	1.9	3.3

화도를 보였다. Phosphatidylcholine(PC)+ 황지질의 경우 주요 지방산은 16:0과 18:2로서 엽육세포는 18:2를, 유관속초세포는 16:0을 각각 약 50% 정도 포함하였다.

양 조직 사이에서 가장 두드러진 차이점은 유관속초세포의 PG의 경우 16:1t의 함량이 엽육세포에 비해 매우 낮다는 점이다. 실제로 16:1t는 식물의 엽록체에만 나타나는 특수한 지방산으로서 모든 16:1t는 PG에 국한되어 있는 것으로 알려져 있다(Dubacq and Trémolières, 1983). PG 16:1t는 LHCP-1을 oligomer의 형태로 유지하며 그 기능을 수행하는 데 필수적인 지방산으로 보고되어 있다. 즉 담배에서 연구된 바에 의하면 LHCP-1에 포함된 16:1t의 절대 함량이 monomer인 LHCP-3에 비해 5배 그리고 CP1에 비해 17배나 많은 것으로 나타났고(Trémolières *et al.*, 1981), 광계 II의 기능이 결핍된 *Chlamydomonas* sp.의 mutant에서는 LHCP-1이 전혀 관찰되지 않음과 동시에 PG의 16:1t도 결핍되어 있음이 보고되었다(Maroc *et al.*, 1987). 또한 liposome에서의 LHCP monomer로부터 oligomer로의 재구성이 16:1t에 의해 촉진됨도 관찰되었다(Remy *et al.*, 1984; Krupa *et al.*, 1992). 그리고 저온 처리된 *Secale cereale*의 잎에서 LHCP-1의 감소와 동시에 PG 16:1t도 감소되어 이 지방산의 함량과 내한성과의 관계가 제안되기도 하였다(Huner *et al.*, 1987; Krol *et al.*, 1988). 옥수수에서 광계 I을 주로 포함하며 LHCP-1이 거의 없는 유관속초세포의 경우 PG 16:1t의 함량이 낮은 것은 위와 같은 보고들을 뒷받침하는 좋은 결과라 할 수 있다(Fig. 1, Table 3). LHCP의 구조 결정에 있어서 PG 16:1t의 정확한 역할에 대해서는 아직 밝혀져 있지 않으나 phospholipase A<sub>2</sub>를 처리하여 PG로부터 이 지방산을 제거하였을 때 엽록체 형광유도의 kinetics가 강하게 영향을 받은 것으로 보아 LHCP와 광계 II의 반응중심과의 관계에서 역할을 담당하는 것으로 제안되었다(Trémolières *et al.*, 1981).

한편 엽육세포의 틸라코이드막에서 총 지질의 지방산 중에서 16:1t가 차지하는 비율(4.8%)(Table 2)과 PG의

지방산 중에서 16:1t가 차지하는 비율(26.0%)(Table 3)로부터 PG의 함량을 추산하면 총 지질의 18.5%로서 이는 인지질 중 59.7%에 달한다(Table 1). 이는 PG가 틸라코이드막의 주요 지질성분임을 보여주며 시금치의 틸라코이드막의 인지질 중 PG의 비율이 57.2~66.3%인 것(Mudd, 1980)과 남조류인 *Anacystis nidulans*의 틸라코이드막의 총 지질 중 PG의 비율이 22%인 것(Murata and Nishita, 1987)과 매우 유사하다. PG는 엽록체막을 제외한 다른 생물체 막에는 소량만이 포함되어 있다(Mudd, 1980).

유관속초세포에서 PG 18:2의 비율이 엽육세포에서 보다 높은 것(Table 3)은 stroma lamella가 grana lamella에 비해 18:2를 더 높은 비율로 포함하고 있다는 보리에서의 결과(Henry *et al.*, 1983)와 일치한다. 그리고 PC+SL의 경우 엽육세포에서 18:3이 유관속초세포에서 보다 낮은 것(Table 3)은 grana lamella의 황지질에 18:3이 결핍되어 있다는 결과(Murphy and Woodrow, 1983)를 반영하는 것으로 보인다.

MGDG와 DGDG의 molecular species 분석. Table 4에서 나타난 바와 같이 MGDG의 경우 18:3,18:3이 양 조직에서 모두 80% 이상 차지하여 옥수수는 완두와 같은 전형적인 18:3 식물(Douce and Joyard, 1980)임을 알 수 있다. 또한 여기에 18:3,18:2를 합하면 두 molecular species가 전체 MGDG의 90%를 차지하여 MGDG의 대부분이 eukaryotic molecular species로 구성되어 있음이 관찰되었다. DGDG의 경우도 18:3,18:3이 가장 많은 양으로 포함되어 있었으며 나머지의 대부분은 16:0을 포함하는 molecular species로 구성되어 있었는데 옥수수의 DGDG에서 85% 이상의 16:0이 glycerol backbone의 1번 위치에서 나타나는 점(Douce and Joyard, 1980)을 감안하면 DGDG 역시 대부분이 eukaryotic molecular species로 구성되어 있음을 알 수 있다.

이와 같은 결과는 stroma lamella의 MGDG에는 eukaryotic molecular species가 풍부한 반면 grana lamella에는

Table 4. Comparison of MGDG and DGDG major molecular species between maize mesophyll and bundle sheath thylakoid membranes. Values represent per cent in each lipid class

Molecular species <sup>a</sup>	Mesophyll	Bundle sheath
<b>MGDG</b>		
18:3,16:3	7.4	8.0
18:3,18:3	82.2	81.2
18:2,16:2	2.6	4.7
18:3,18:2	7.8	6.2
<b>DGDG</b>		
18:3,16:3	10.9	13.1
18:3,16:2+18:2,16:3	1.0	1.5
18:3,18:3	45.0	36.2
18:3,16:0	15.2	16.1
18:2,16:0	10.8	26.4
18:1,16:0	17.1	6.7

MGDG, monogalactosyldiacylglycerol; DGDG, digalactosyldiacylglycerol. <sup>a</sup>Pairs of numbers separated by a comma do not necessarily represent the positional distribution of fatty acyl chains.

prokaryotic molecular species가 풍부하다는 Norman 등 (1987)의 관찰과는 일치하지 않는다. 만약 그러한 분포의 차이가 옥수수에서도 나타난다면 grana lamella가 잘 발달되어 있는 엽록세포의 MGDG는 훨씬 더 많은 양의 prokaryotic molecular species를 포함해야 할 것이다. 이러한 차이는 아마도 *Spirodela*와 같이 18:3,16:3과 18:3,18:3의 MGDG를 모두 많이 포함하고 있는 16:3 식물(대표적인 식물로 시금치가 그 예)에서만 나타나는 현상일 수도 있으나 이에 대한 연구는 더 이상 보고되어 있지 않다. 따라서 옥수수의 경우 lamella의 구조와 MGDG의 molecular species와의 조성과는 관계가 없는 것으로 사료된다.

한편 양 조직 사이에서 molecular species 조성의 뚜렷한 차이는 나타나지 않았으나 DGDG의 경우 엽록세포에서는 18:2,16:0이 18:1,16:0에 비해 적은 반면 유관속초세포에서는 18:2,16:0이 26.4%를 차지하여 18:1,16:0에 비해 4배 가량이나 되었다(Table 4). 이는 총 지질의 지방산 조성의 차이에도 반영되어 있으며(Table 2) 유관속초세포의 엽록체막이 높은 유동성을 갖는 데(Ford and Barber, 1983) 기여하는 것으로 보인다.

**맺음말.** 엽록체막에서 지질은 지리적으로 heterogenous한 분포를 보이며 이는 막의 구조 및 광합성의 기능과 밀접한 관계를 가지고 있다(Gounaris *et al.*, 1983; Murphy and Woodrow, 1983; Quinn and Williams, 1983; Anderson, 1986). 광계 I과 II의 기능을 모두 가지며 잘 발달된

grana lamella와 stroma lamella를 모두 가지고 있는 엽록세포와 광계 I의 기능을 주로 나타내며 stroma lamella만 발달된 유관속초세포로 광합성의 기능이 나누어져 있는 옥수수의 엽록체는 지질과 광합성의 기능과의 관계를 연구하는 데 좋은 재료로 생각된다.

## 적 요

옥수수의 엽록세포 및 유관속초세포의 엽록체막의 지질 조성을 비교하였다. 전기영동을 이용하여 양 조직의 엽록소-단백질 복합체의 분포를 조사한 결과 엽록세포는 광계 I의 복합체와 광계 II의 광수확복합체를 모두 포함한 반면 유관속초세포는 광계 I의 복합체를 주로 포함하였다. 엽록소 함량당 지질의 양은 유관속초세포에서 더 높게 나타났다. 양 조직 모두 monogalactosyldiacylglycerol(MGDG), digalactosyldiacylglycerol, sulfolipid, 그리고 phosphatidylglycerol (PG)을 주요 지질로 포함하였다. 주요 구성 지방산은 linolenic acid(18:3), linoleic acid(18:2), 그리고 palmitic acid(16:0) 등이었는데 불포화지방산 대 포화지방산의 함량비율이 유관속초세포에서 더 높게 나타나 유관속초세포의 틸라코이드막이 더 유동적일 것으로 생각되었다. 양 조직의 지질 조성 중에서 가장 주목할 만한 차이는 유관속초세포의 PG에는 trans- $\Delta^6$ -hexadecenoic acid(16:1t)가 거의 결핍되어 있다는 점인데 이 지방산은 광계 II의 광수확복합체를 oligomer의 형태로 유지하는데 필수적인 요소로 알려져 있다. 한편 MGDG의 molecular species 중 80% 이상이 18:3,18:3이었는데 이로부터 옥수수는 전형적인 18:3 식물에 속함을 알 수 있다. 따라서 lamella의 구조 및 이와 관련된 광계의 분포와 MGDG의 molecular species와는 기능적 관계가 없는 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구의 수행에 많은 도움을 준 김성환 군, 임미정 양, 그리고 최영희 양에게 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Anderson, J.M. 1986. Photoregulation of the composition, function, and structure of thylakoid membranes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 93-136.
- Anderson, J.M., J.C. Waldron and S.W. Thorne. 1978. Chlorophyll-protein complexes of spinach and barley thylakoids: spectral characterization of six complexes resolved by an improved electrophoretic procedure. *FEBS Lett.* 92: 227-233.
- Anderson, K.S., J.M. Bain, D.G. Bishop and R.M. Smillie.

1972. Photosystem II activity in agranal bundle sheath chloroplasts from *Zea mays*. *Plant Physiol.* **49**: 461-466.
- Arnon, D.L. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* **24**: 1-15.
- Bartlett, G.R. 1959. Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* **234**: 446-468.
- Bednarz, J., A. Radunz and G.H. Schmid. 1988. Lipid composition of photosystem I and II in the tobacco mutant *Nicotiana tabacum* NC 95. *Z. Naturforsch.* **43c**: 423-430.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**: 911-917.
- Campbell, W.H. and C.C. Black. 1982. Cellular aspects of C<sub>4</sub> photosynthesis: mechanism of activation and inactivation of extracted pyruvate, inorganic phosphate dikinase in relation to dark/light regulation. *Arch. Biochem. Biophys.* **210**: 82-89.
- Cho, S.H. and G.A. Thompson, Jr. 1986. Properties of a fatty acyl hydrolase preferentially attacking monogalactosyldiacylglycerols in *Dunaliella salina* chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **878**: 353-359.
- Cho, S.H. and G.A. Thompson, Jr. 1989. Galactolipids of thylakoid pigment protein complexes separated electrophoretically from thylakoids of *Dunaliella salina* labeled with radioactive fatty acids. *Plant Physiol.* **90**: 610-616.
- Douce, R. and J. Joyard. 1980. Plant Galactolipids. In, *The biochemistry of plants*, P.K. Stumpf (ed.). Vol. 4, Academic Press, New York. pp. 321-362.
- Downton, W.J.S. 1975. The occurrence of C-4 photosynthesis among plants. *Photosynthetica* **9**: 96-105.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**: 50-56.
- Dubacq, J.-P. and A. Trémolières. 1983. Occurrence and function of phosphatidylglycerol containing  $\Delta^3$ -trans-hexadecenoic acid in photosynthetic lamellae. *Physiol. Veg.* **2**: 293-312.
- Ford, R.C. and J.Barber. 1983. Time-dependent decay and anisotropy of fluorescence from diphenylhexatriene embedded in the chloroplast thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **722**: 341-348.
- Gounaris, K. and J. Barber. 1985. Isolation and characterization of a photosystem II reaction center lipoprotein complex. *FEBS Lett.* **188**: 68-72.
- Gounaris, K., C. Sundby, B. Andersson and J. Barber. 1983. Lateral heterogeneity of polar lipids in the thylakoid membranes of spinach chloroplasts. *FEBS Lett.* **156**: 170-174.
- Harwood, J.L. 1980. Plant acyl lipids: structure, distribution and analysis. In, *The biochemistry of plants*, P.K. Stumpf (ed.). Vol. 4, Academic Press, New York. pp. 1-55.
- Henry, L.E.A., J.D. Mikkelsen and B.L. Møller. 1983. Pigment and acyl lipid composition of photosystem I and II vesicles and of photosynthetic mutants in barley. *Carsberg Res. Commun.* **48**: 131-148.
- Huner, N.P.A., M. Krol, J.P. Williams, E. Maissan, P.S. Low, D. Roberts and J.E. Thompson. 1987. Low temperature development induces a specific decrease in trans- $\Delta^3$ -hexadecenoic acid content which influences LHCII organization. *Plant Physiol.* **84**: 12-18.
- Kirchanski, S.J. and R.B. Park. 1976. Comparative studies of the thylakoid proteins of mesophyll and bundle sheath plastids of *Zea mays*. *Plant Physiol.* **58**: 345-349.
- Krol, M., N.P.A. Huner, J.P. Williams and E. Maissan. 1988. Chloroplast biogenesis at cold-hardening temperatures: kinetics of trans- $\Delta^3$ -hexadecenoic acid accumulation and the assembly of LHCII. *Photosynth. Res.* **15**: 115-132.
- Krupa, Z., J.P. Williams, M.U. Khan and N.P.A. Huner. 1992. The role of acyl lipids in reconstitution of lipid-depleted light-harvesting complex II from cold-hardened and non-hardened rye. *Plant Physiol.* **100**: 931-938.
- Marinetti, G.V. 1962. Chromatographic separation, identification, and analysis of phosphatides. *J. Lipid Res.* **3**: 1-11.
- Maroc, J., A. Trémolières, J. Garnier and D. Guyon. 1987. Oligomeric form of the light-harvesting chlorophyll a + b-protein complex CP II, phosphatidylglycerol,  $\Delta^3$ -trans-hexadecenoic acid and energy transfer in *Chlamydomonas reinhardtii*, wild type and mutants. *Biochim. Biophys. Acta* **893**: 91-99.
- McCourt, P., J. Browse, J. Watson, C.J. Arntzen and C.R. Somerville. 1985. Analysis of photosynthetic antenna function in a mutant of *Arabidopsis thaliana* lacking trans-hexadecenoic acid. *Plant Physiol.* **78**: 853-858.
- Mudd, J.B. 1980. Phospholipid biosynthesis. In, *The biochemistry of plants*, P.K. Stumpf (ed.). Vol. 4, Academic Press, New York. pp. 249-282.
- Murata, N. and I. Nishita. 1987. Lipids of blue-green algae. In, *The biochemistry of plants*, P.K. Stumpf (ed.). Vol. 9, Academic Press, New York. pp. 315-347.
- Murphy, D.J. and I.E. Woodrow. 1983. Lateral heterogeneity in the distribution of thylakoid membrane lipid and protein components and its implications for the molecular organisation of photosynthetic membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **725**: 104-112.
- Norman, H.A., J.B. StJohn, F.E. Callahan, A.K. Mattoo and W.P. Wergin. 1987. Lipid molecular species composition of granal and stromal lamellae. In, *The metabolism, structure, and function of plant lipids*, P.K. Stumpf, J.B. Mudd and W.D. Nes (eds.). Plenum, New York. pp. 193-195.
- Park, R.B. and P.V. Sane. 1971. Distribution of function and structure in chloroplast lamella. *Ann. Rev. Plant Physiol.*

- 22: 395-430.
- Pick, U., K. Gounaris, A. Admon and J. Barber. 1985. Tightly bound sulpholipids in chloroplast CF<sub>0</sub>-CF<sub>1</sub>. *Biochim. Biophys. Acta* **808**: 415-419.
- Quinn, P.J. and W.P. Williams. 1983. The structural role of lipids in photosynthetic membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **737**: 223-266.
- Remy, R., A. Trémolières, J.C. Duval, F. Ambard-Bretteville and J.P. Dubacq. 1982. Study of the supramolecular organization of light-harvesting chlorophyll protein. *FEBS Lett.* **137**: 271-275.
- Remy, R., A. Trémolières and F. Ambard-Bretteville. 1984. Formation of oligomeric light-harvesting chlorophyll a/b protein by interaction between its monomeric form and liposomes. *Photobiophys. Photobiophys.* **7**: 267-276.
- Roughan, G. and R. Slack. 1984. Glycerolipid synthesis in leaves. *Trends Biochem. Sci.* **9**: 383-386.
- Trémolières, A., J.-P. Dubacq, F. Ambard-Bretteville and R. Remy. 1981. Lipid composition of chlorophyll-protein complexes: specific enrichment in trans-hexadecenoic acid of an oligomeric form of light-harvesting chlorophyll a/b protein. *FEBS Lett.* **130**: 27-31.
- Vainstein, A., P. Ferreira, C.C. Peterson, J.A. Verbeke and J.P. Thornber. 1989. Expression of the major light-harvesting chlorophyll a/b protein and its import into thylakoids of mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. *Plant Physiol.* **89**: 602-609.
- Walbot, V. and D.A. Hoisington. 1982. Isolation of mesophyll and bundle sheath chloroplasts from maize. *In*, Methods in Chloroplast Molecular Biology, M. Edelman, R.B. Hallick, and N.-H. Chua (eds.). Elsevier Biomedical, Amsterdam. pp. 211-219.
- Waldron, J.C. and J.M. Anderson. 1979. Chlorophyll-protein complexes from thylakoids of a mutant barley lacking chlorophyll b. *Eur. J. Biochem.* **102**: 357-362.
- Woo, K.D., J.M. Anderson, N.K. Boardman, W.J.S. Downton, C.B. Osmund and S.W. Thorne. 1970. Deficient photosystem II in agranal bundle sheath chloroplast of C-4 plants. *Proc. Nat. Aca. Sci. USA* **67**: 18-25.
- Wood, R. and T. Lee. 1983. High-performance liquid chromatography of fatty acids: quantitative analysis of saturated, monoenoic, polyenoic and geometrical isomers. *J. Chromatogr.* **254**: 237-246.

(1993. 2. 20 接受)