

## 藍細菌 *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX의 走光性 運動에 미치는 몇가지 代謝 抑制劑의 效果

南明嬭·崔鍾淳·鄭榮浩·金修賢·禹濟昌<sup>1</sup>·朴永穆\*

基礎科學支援센터 生體高分子分析그룹, <sup>1</sup>木浦大學校 自然科學大學 生物學科

최근에 *Synechocystis* sp. PCC 6803 중에 한 균주가 고체 한천 배지상에서 일정한 조명(300-1000 lux) 방향을 따라 활주 운동하는 것을 관찰하여 이 종을 *S. 6803* PTX라고 명명하고 이의 주광성 운동에 대한 생리학적 특징을 이해하기 위하여 몇 가지 대사 억제제와 신호 전달 차단제의 주광성 운동에 미치는 효과를 조사하였다. DCMU는 광계 II로부터 광계 I의 일차 전자 수용체인 플라스토퀴논으로의 비순환성 광합성 전자전달을 억제하는 억제제로서 100  $\mu$ M의 농도에서도 주광성 운동을 억제하지 못하였다. 그러나 호흡에 의한 전자전달 억제제인 sodium azide를 처리하였을 경우에는 *S. 6803* PTX에서 심하게 장애를 받았다. 이러한 관찰 결과는 주광성 운동의 주동력원이 광인산화 과정보다는 호흡에 의한 산화적인 인산화 과정에 주로 연관되어 있음을 보여주었다. 또한, 세포를 CCCP나 DNP와 같은 막상의 uncoupler를 처리하였을 때, 세포내 ATP 농도를 저하시키거나 세포질막에 수소 이온의 전기화학구배( $\Delta\mu_{H^+}$ )를 제거시키거나, 이러한 화합물들은 주광성 운동에 뚜렷한 영향은 주지 못하였다. 이러한 결과와는 달리,  $H^+-F_0F_1$  ATPase에 민감하게 억제 작용을 나타내는 DCCD나 NBD의 처리는 세포내 ATP만 고갈시키고 막상에서  $\Delta\mu_{H^+}$ 는 그대로 유지시키는 작용을 하는데, 이러한 DCCD나 NBD는 주광성 운동에 대해서는 심하게 억제 현상을 나타내었다. 또한, 특이성 calcium ionophore 중의 하나인 A23187의 처리는 양성 주광성에 심하게 장애를 주었다. 아마도  $Ca^{2+}$  유동은 주광운동 방향성의 신호전달 과정에 중요하게 관련되어 있는 것으로 나타났다. 마지막으로 S-adenosyl methionine과 같은 메틸 공여체의 고갈이 *S. 6803* PTX 균주의 주광성 반응에 영향을 주는지를 알아보기 위하여 에티오닌을 BG11 한천 배지에 첨가하였다. 이 생물종의 광운동은 에티오닌의 농도가 증가됨에 따라 일정하게 억제되다가 0.5 mM에서 주광성 운동을 완전히 억제시켰다. 이것은 광수용 기작이 *Escherichia coli*나 *Salmonella typhimurium*에서 발견된 메틸기 수용 주화성 단백질과 같은 메틸화/탈메틸화 과정에 의하여 조절될 가능성을 보여주고 있음을 의미한다.

주요어: *Synechocystis*, 남세균, 주광성, 대사 억제제, sensory transduction

광에 의한 주성 현상은 외부 자극을 인지할 수 있는 광수용체와 빛의 신호를 기계적인 신호로 전환시키는 신호전달체계, 그리고 전환된 기계적인 신호에 의한 생물체의 운동 양상으로 나타나는 일련의 과정으로 진행된다. 남세균의 광수용체로는 광합성 색소가 일부 관여하고(Haeder, 1973) *Chlamydomonas*에서는 retinal의 광이성화 작용이 빛을 수용하는 과정에 관여하며(Takahashi, 1991) *Halobacterium*에서는 sensory rhodopsin이 메틸화/탈메틸화계에 의해서 조절된다고(Spudich, 1989) 보고되고 있다. Hazelbauer 연구진은 *Halobacterium*에서 메틸기 수용 주화성 단백질(methyl-accepting chemotaxis proteins)을 분리 정제(Adam, 1989)하여 *Escherichia coli*의 주화성 현상을 포함한 광수용체의 메틸화 조절기작을 일반화시켰다. 광신호를 기계적인 신호로 전환시킬 수 있는 생물체내의 신호전달 체계에 대해서는 거의 알려진 바가 없으며 주화성에

대한 신호전달 물질원들의 연쇄적인 인산화과정의 잘 알려져 있어서 이 모델 계를 응용하려는 연구들이 시도되고 있다. 남세균은 편모나 다른 운동기관이 결핍되어 있어서 현미경 상에서 관찰되는 활주운동(gliding movement)에 대해서 오랫동안 의문시되어 왔다. 점액을 분비하여 활주한다는 학설과 그 외에도 필라멘트 또는 막 파동(membrane undulation)에 의한다는 설(Dickson, 1980) 등이 있다. 필라멘트에 의한 활주운동에는 양성자 구동력(proton motive force)이 관여(Glagoleva, 1980)하는 것으로 알려져 있으며 이러한 에너지 전달 과정에는  $Ca^{2+}$  이온이 필수적으로 관여한다(Aveliobich, 1982).

본 연구진에서는 최근에 *Synechocystis* sp. PCC 6803 균주중 한천 배지상에서 광원 방향으로 운동하는 종을 관찰하여 *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX(*S. 6803* PTX)로 명명하였다. 이러한 운동성 남세균에는 *Oscillatoria*(Halfen, 1970), *Phormidium*(Haeder, 1982), *Anabaena*(Nultsch, 1979)속 등이 알려져 있었으나 *Synechocystis*균에서 활주 운동하는 종은 거의 알려지지 않았다. *S. 6803* PTX는 다른 남세균과는 달리 단세포 형태로

\*교신저자: Fax (042) 865-3419  
© 한국식물학회 [서울] 1995

존재하며 자가영양 또는 타가영양 배양이 용이하다. 그리고 고등 식물과 유사한 광합성 기구를 가지고 있으나 계층 구조가 훨씬 단순하고 높은 형질변환능을 보이며 쉽게 돌연변이주를 만들 수 있고 유전자 조작이 용이하기 때문에 분자생물학 연구에 유용한 재료이다(Dzelzkalns, 1986; Park, 1991). 따라서 새로운 균주인 *S. 6803* PTX가 주광성 운동기작의 생리학적 및 분자생물학적 연구의 모델 시스템으로서 유용한 지를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX의 배양

*S. 6803* PTX의 배양 방법은 Kratz와 Myers(1955)의 방법에 따랐다. 최종 농도 1.5% agar가 포함된 BG11 용액과 glucose 용액 그리고 sodium thiosulfate 용액을 각각 멸균한 후에 섞어 상온에서 식힌 다음 멸균 petri dish에 부어 고체 배지를 만들고 접종할 균주를 멸균한 이쑤시개로 streaking하여 28°C, 300-1000 lux의 형광등하에서 배양하였다.

### 고체 한천 배지를 이용한 *S. 6803* PTX의 주광성 측정

730 nm에서 세포 배양액(BG11)의 흡광도가 1.0에서 1.2가 될 때까지 진탕 배양한 다음 1 mL씩 취하여 멸균된 microfuge tube로 옮겨 10배로 농축하여 BG11 고체 배지상에 5  $\mu$ L씩 떨어뜨렸다. 고체 배지에 떨어뜨린 세포 군체를 1-2시간 동안 clean bench에서 방치한 다음, 형광등 광원이 한 쪽 방향으로만 조사되는 조건하에서 광량이 2-5  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  되는 지점에 올려놓았다. 1-2일 후에 세포 군체들이 광원 방향으로 이동한 조짐이 보이기 시작하면 그날부터 일정시간 간격으로 이동 거리를 측정하였다.

### 대사 억제제의 효과 측정

주광성 운동에 영향을 줄 수 있는 각종 대사과정의 억제제인 ethionine, 3-(3',4'-dichloro-phenyl)-1,1-dimethylurea(DCMU), sodium azide, *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide(DCCD), (6-chloro-4-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazole(NBD), carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone(CCCP), dinitrophenol(DNP), A23187 등은 모두 Sigma 시약을 사용하였다. 이들 시약들의 주광성 억제 효과를 측정하기 위하여 멸균한 BG11 고체 배지에 최종 1  $\mu$ M-1 mM 농도로 맞추어 상기의 주광성 측정 방법대로 수행하였다.

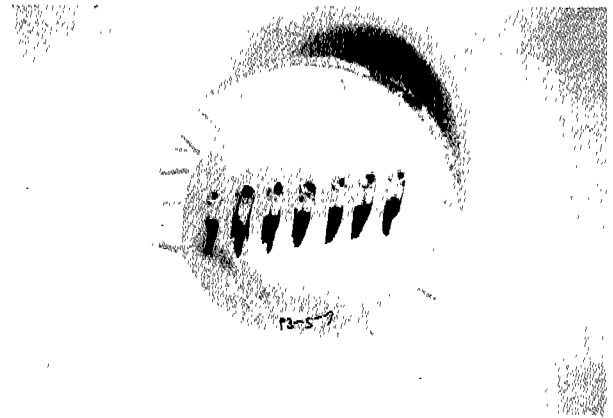


Fig. 1. Phototactic movement of *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX on the surface of BG11 agar plate supplemented with glucose (1.5%). Above 95% of cell populations were observed the active photoorientation.

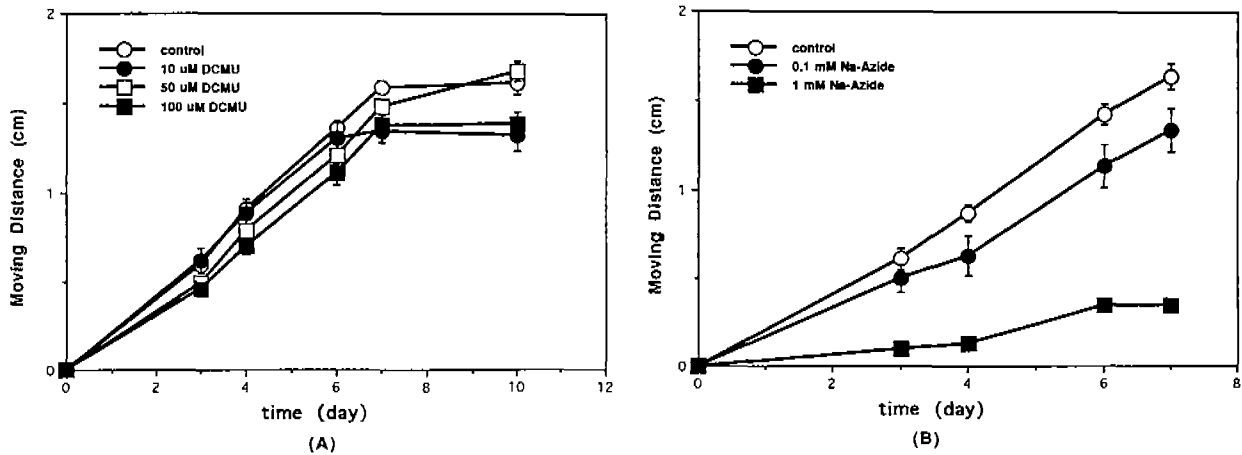
## 결과 및 고찰

### *Synechocystis* sp. PCC6803 PTX의 주광성

*Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX(*S. 6803* PTX)는 형광등하에서 한 쪽 방향으로 빛을 쬐어주면서 28°C, 1.5% glucose가 첨가된 BG11 배지에서 배양하면 광량이 2-5  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 에서 가장 활발한 주광성 반응을 나타낸다. 이보다 낮거나 15  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  이상의 광원에서는 주광성 반응이 현저히 줄어들어 관찰되었다. *S. 6803* PTX는 2-5  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 광원하에 BG11+glucose(1.5%) 고체배지에서 이 정도 배양하였을 때, 광원방향으로 주광성을 나타내는 것이 눈에 띄며 그 속도는 2 mm/day 정도로서 관찰되며 95% 이상의 세포 군체들이 고체 배지상에서 이동하는 것을 관찰할 수 있었다.

### 광합성/호흡 전자전달 억제제에 의한 주광성 운동 효과

주광성 운동의 에너지원의 하나인 ATP 생성 전자전달계의 특정 저해제의 첨가에 의한 주광성 운동의 억제 효과를 조사하였다. 남세균은 조건부 광자가영양생물로서 광합성과 호흡에 의한 성장능력을 모두 가지고 있으며(Peschek, 1988), 광합성 생장시 세포는 틸라코이드막상에서 ATP 구배와 전기 화학적 구배( $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ )를 형성한다. 광합성 전자전달계를 차단하는 DCMU는 광계 II로부터 일차 전자 수용체인 플라스토퀴논의 전자 수용 부위에 경쟁적으로 결합하는 특정 저해제(Haeder, 1975)로서 100  $\mu$ M의 농도까지 대조구에 비하여 뚜렷한 억제



**Fig. 2.** Effects of DCMU (A, noncyclic photosynthetic electron transport inhibitor) and sodium azide (B, respiratory oxidative phosphorylation inhibitor) on the phototaxis in *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX. Final concentration of test chemicals was adjusted in BG11 agar plate supplemented with 1.5% glucose. The results are the mean  $\pm$  SD of values from three experiments.

현상은 관찰할 수 없었다. 10  $\mu$ M 농도의 DCMU는 광합성 세균의 광자가영양 성장에서 광합성을 완전히 억제시켜 생존율을 99.9%까지 저하시키는 농도로 알려져 있다. 이와는 대조되는 결과로 호흡에 의한 전자전달을 sodium azide에 의하여 억제시켰을 때, 주광성 운동은 1 mM 농도에서 완전히 억제되었다(Fig. 2).

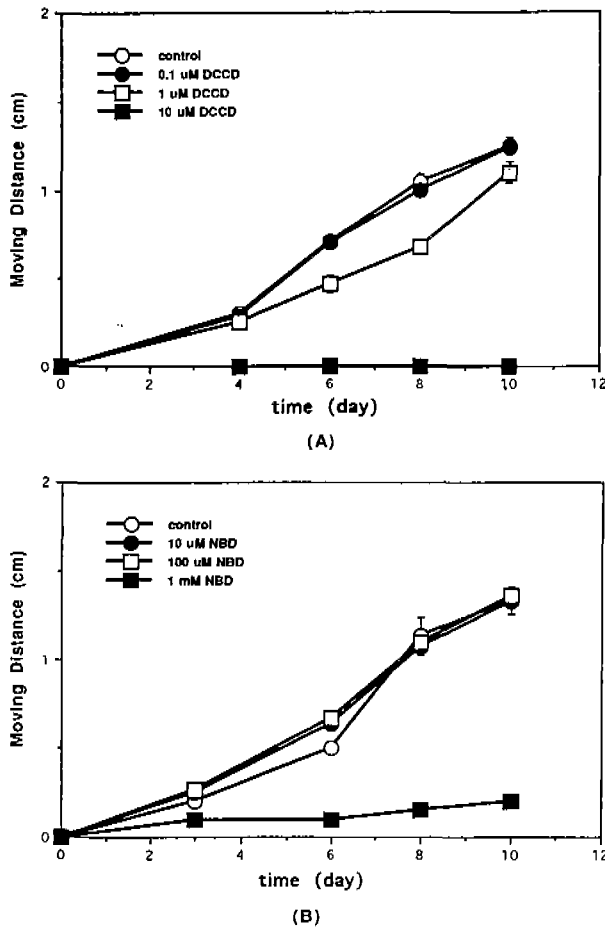
남세균은 호흡에 관련된 전자전달계는 고도로 분화된 미토콘드리아의 막계 대신에 세포막과 틸라코이드막에 존재하는 cytochrome oxidase와 다수의 시토크롬이 관련된 양성자 전환계가 발달되어 있다(Nitschmann, 1982; Nitschmann, 1984). 그러므로 azide에 의한 호흡 억제는, cytochrom oxidase에 작용하여 양성자의 세포질내로의 방출을 저해시켜 상대적인 양성자 구배의 생성을 방해함으로써 ATP 생성을 억제할 것으로 추정된다. 따라서 *S. 6803 PTX*의 주광성 운동의 주 동력원은 광인산화 과정보다는 호흡에 의한 산화적인 인산화 과정에 주로 연관되어 있는 것으로 나타났다. 이러한 sodium azide의 주광성의 억제 효과는 일찌기 *Chlamydomonas reinhardtii*(Stavis, 1974)와 *Anabaena variabilis*(Nultsch, 1979)에서 관찰된 바 있다. 그러나 azide는 호흡 억제 기작 이외에 광합성 과정에서 생성되는 반응성이 강한 산소 분자종을 quenching 하므로서(Nultsch, 1985) 더 높은 광 조사량에서도 적용할 수 있는 능력을 부여해 준다. 동일한 1 mM의 sodium azide의 처리시 *S. 6803 PTX*에서는 양성 주광성이 완전히 억제되었지만 *A. variabilis*에서는 오히려 더 높은 광 조사량에서도 양성 주광성을 나타내게 해주었다. 그러므로 *S. 6803 PTX*에서 azide에 의한 quenching 효과가 있는지 여부를 저농도의 sodium azide에서 광 조사량에 따른 주광성 실험이 진행중에

있다.

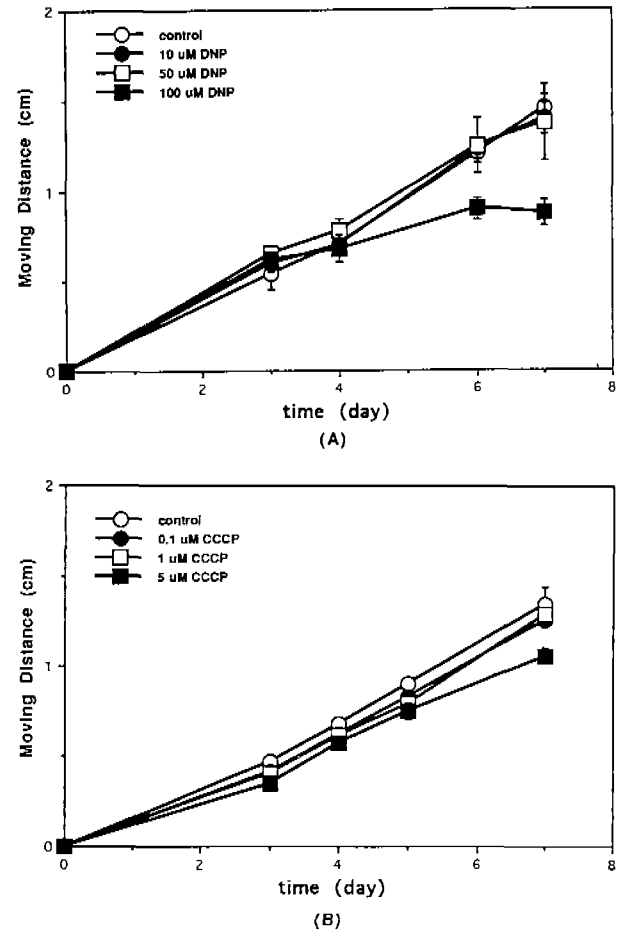
**막상에서의 양성자 전환에 의한 ATP 생성과 주광성 운동과의 관계**

남세균의 세포막내에서 양성자 방출 기구는 양성자 전환-전자전달기구와 양성자 전환-ATPase가 있는데 이러한 ATPase에는 가역적  $H^+$ - $F_0F_1$  ATPase(Erber, 1986; Peschek, 1986)와 단일 방향성  $H^+$ -ATPase가 존재한다. 이러한 양성자-불투과 막을 통하여 형성되는 전기 구배적 양성자 전환은 막상에서 양성자 구동력(PMF: proton motive force)이나 전기화학 포텐셜 구배( $\Delta\mu_H^+$ ) 형태로부터 화학적 삼투 결합에 의하여 최종적으로 ATP를 생성하게 된다(Anderson, 1991). 따라서 DCCD( $F_0$  inhibitor)나 NBD( $F_1$  inhibitor)를 처리하게 되면 산화적인 인산화 과정에 의한 ATP 형성이 억제되는데 실제로 10  $\mu$ M의 DCCD와 1 mM의 NBD 농도에서 *S. 6803 PTX*의 주광성은 대조구에 비하여 90% 이상이 억제되었다(Fig. 3).

DCCD는 세포내 ATP 풀만 고갈시키며 막상에서  $\Delta\mu_H^+$ 는 그대로 남게 된다(Peschek, 1988). 그러므로 빛에 의한 양성자의 능동 수송은 uncoupler(proton ionophore)나 DCMU와 같은 광합성 전자전달 억제제에 민감하며  $\Delta\mu_H^+$ 를 통한 이차적인 에너지 결합 기작을 통해서 일어나게 된다. 실제로 3  $\mu$ M의 CCCP와 100  $\mu$ M의 DNP를 처리하였을 때, 대조구에 비하여 CCCP는 20%, DNP는 40% 정도 억제하였다(Fig. 4). 이러한 uncoupler에 의한 ATP 생성 억제기작은 부차적인 것으로서 DCCD나 NBD에 의해서 직접적으로 ATP를 고갈시켰을 때 보다 주광성이 강하게 나타났다. 그러므로 uncoupler를 처리



**Fig. 3.** Inhibitory effects of DCCD (A, H<sup>+</sup>-F<sub>1</sub> specific ATPase inhibitor) and NBD (B, H<sup>+</sup>-F<sub>0</sub> specific ATPase inhibitor) on the phototaxis in *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX. The results are the mean ± SD of values from three experiments.



**Fig. 4.** Effects of membrane proton uncouplers such as DNP (A) and CCCP (B) on the phototaxis in *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX. Final concentration of test chemicals dissolved in ethanol was adjusted in BG11+glucose (1.5%) agar plate. The results are the mean ± SD of values from three experiments.

하게 되면 막상에서 인산화과정을 uncoupling시켜 Δμ<sub>H+</sub>을 제한시킴으로써 최종적으로 ATP 생성이 억제되게 된다는 Padan(1981)의 실험 결과와 일치하는 것으로 사료된다.

그러므로 *S. 6803* PTX를 광타가영양으로 배양하였을 때, 주광성의 구동력은 주로 호흡에 의한 산화적인 인산화과정에 의하여 형성된 ATP원에 의존하며 이러한 에너지원은 일차적인 양성자 전환계와 밀접한 것으로 나타났다. 이차적인 화학적 에너지 생성 경로인 Δμ<sub>H+</sub> 형성을 uncoupler로 억제시켰을 때보다 일차적인 ATP 생성을 억제시켰을 때, 주광성 운동은 더욱 심하게 억제되는 것으로 나타났다. 그러나 고체 배지상에서 활동하는 운동 기관은 아직도 알려져 있지 않아 단순한 ATP의 공급에 의한(Nultsch, 1969) 것보다는 다른 형태의 PMF가 관여(Glagoleva, 1980)할 가능성은 남아 있다.

**주광성 운동에 Ca<sup>2+</sup> 이온의 관여**

섬유성 남세균인 *Phormidium*은 사상체(trichome)를 형성하는데 암실에서 배양하다가 몇몇 세포에 빛을 조사하면 전체 섬유가 수초 후에 이동하기 시작한다(Chailakhyan, 1982). 이러한 빛에 의한 신호 전달과정에는 몇몇 남세균에서 Ca<sup>2+</sup>을 요구하는 것으로 알려져 있다(Aveliovich, 1982). 따라서 *S. 6803* PTX의 주광성 운동에 대한 Ca<sup>2+</sup> 의존성 여부를 조사하기 위하여 calcium ionophore인 A23187를 처리하여 주광성 효과를 관찰하였다(Fig. 5).

A23187를 첨가하였을 때, 주광성이 5 μM에서 완전히 억제되었는데, 특이한 사실은 주광성 운동 세포들의 광원 방향에

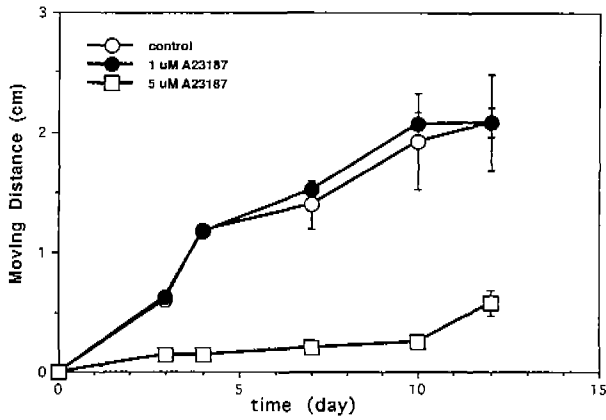


Fig. 5. Effects of the calcium ionophore, A23187 on the phototaxis in *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX. The results are the mean  $\pm$ SD of values from three experiments.

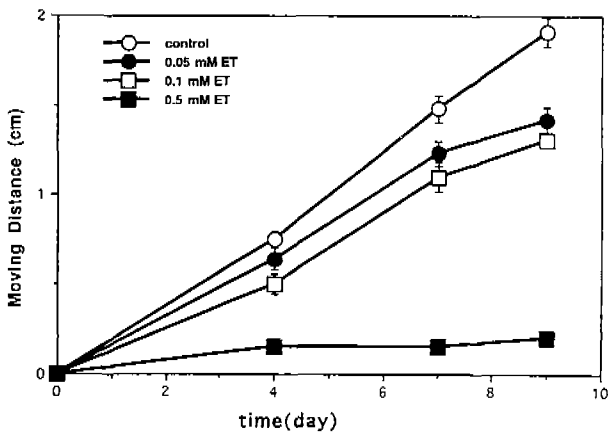


Fig. 6. Effect of ethionine treatment on the phototaxis in *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX. Final concentration of ethionine dissolved in ethanol was adjusted in BG11 +glucose (1.5%) agar plate. The results are the mean  $\pm$ SD of values from three experiments.

대한 방향성을 상실하는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 lanthanum chloride를 처리하였을 때에도 유사한 결과(data 미기재)를 얻어  $Ca^{2+}$ 이 광수용성 신호전달에 중요한 역할을 할 것으로 추정된다. 실제로 calcium ionophore나 calcium chelator를 *Halobacterium*에 처리하였을 때, 주광성 운동 양상이 바뀌는데 이것은 편모의 회전 방향을 switching함으로써 신호 전달을 조절하는 것으로 보고하고 있다(Baryshev, 1982). 또한 *Phormidium*에서 A23187의 처리에 의한 원형질막에서의  $Ca^{2+}$  구배를 제거하였을 때, 광혐오 반응(photophobic response)이 억제되는 현상이 관찰되어(Murvanidze, 1982)  $Ca^{2+}$ 이 주광성 신호 전달 물질의 하나임을 시사하고 있다.

광수용성 기구의 메틸화와 주광성의 관계

*Halobacterium halobium* 세포내 메티오닌을 고갈시키면 주광 반응이 억제(Schimz, 1979)되는데 이것은 메틸화가 주광성에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다. 실제로 *H. halobium*에서도 메틸기 수용 주화성 단백질이 분리 정제되어 광수용성 신호전달 단백질로서 규명되었다(Adam, 1989). 세포를 에티오닌으로 처리하게 되면, 세포내 메틸기 공여체인 SAM(S-adenosylmethionine)이 고갈되어 세포의 적응시간이 길어지게 된다(Schimz, 1987). *S. 6803* PTX에 에티오닌 500  $\mu$ M까지 농도를 높였을 때, 에티오닌 농도에 비례하여 주광성이 억제되었다(Fig. 6). 따라서 *S. 6803* PTX에서도 주광성 운동에 관련된 광수용 기구의 메틸화/탈메틸화 기작에 의하여 조절되는 것으로 보여지고 있다.

사 사

본 연구는 1994년 과학기술처 특정연구비와 기초과학지원센터 연구비 지원에 의한 것임.

인 용 문 헌

박영목. 1991. Cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain 6803 광합성의 분자생물학적 연구의 모델 system. 미생물과 산업 17: 2-13.

Anderson, J.W. and J. Beardall. 1991. NADH and FADH2 are oxidized by oxygen via the mitochondrial electron transport chain. In Molecular Activities of Plant Cells. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 114-121.

Aveliobich, A. and J. Gan. 1982. Site of  $Ca^{2+}$  action in triggering motility in the cyanobacterium *Spirulina subsalsa*. Cell Motil. 4: 393-403.

Adam, M., M. Lebert, D. Oesterhelt and G.L. Hazelbauer. 1989. Methyl-accepting taxis proteins in *Halobacterium halobium*. EMBO J. 8: 631-639.

Baryshev, V.A. 1982. Regulation of *Halobacterium halobium* motility by  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  ions. FEMS Microbiol. Lett. 14: 139-143.

Chailakhyan, L.M., A.N. Glagolev, T.N. Glagolev, G.V. Murvanidze, T.V. Potapova and V.P. Skulachev. 1982. Intercellular power transmission along trichomes of cyanobacteria. Biochim. Biophys. Acta 679: 60-67.

Dickson, M.R., S. Kouprach, B.A. Humphrey and K.C. Marshall. 1980. Does gliding motility depend on undulating membranes? Micron. 11: 381-382.

Dzelzkains, V. and L. Bogorad. 1986. Stable transformation of the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803 induced by UV irradiation. J. Bacteriol. 165: 964-971.

Erber, W.W.A., W.H. Nitschmann, R. Muchl and G.A. Peschek. 1986. Endogenous energy supply to the plasma membrane of dark aerobic cyanobacterium *Anacystis nidulans*: ATPase-independent efflux of  $H^+$  and  $Na^+$  from respiring cells. Arch. Biochem. Biophys. 247: 28-

- 39.
- Glagoleva, T.N., A.N. Glagolev, M.V. Gusev and K.A. Nikitina.** 1980. Protonmotive force supports gliding in cyanobacteria. *FEBS Lett.* **117**: 49-53.
- Haeder, D-P.** 1973. Untersuchungen zur photo-phobotaxis bei *Phormidium uncinatum*. Thesis, University of Marburg, Germany.
- Haeder, D-P.** 1975. The effect of inhibitors on the electron flow triggering photo-phobic reactions in Cyanophyceae. *Arch. Microbiol.* **103**: 169-174.
- Haeder, D-P. and K.L. Poff.** 1982. Spectrophotometric measurement of plastoquinone photo-reduction in the blue-green alga, *Phormidium uncinatum*. *Arch. Microbiol.* **131**: 347-350.
- Halfen, L.N. and R.W. Castenholz.** 1970. Gliding in a blue-green alga: a possible mechanism. *Nature* **225**: 1163-1165.
- Kratz, W.A. and J. Myers.** 1955. Nutrition and growth of several blue-green algae. *Am. J. Bot.* **42**: 282-287.
- Murvanidze, G.V., V.L. Gabai and A.N. Glagolev.** 1982. Toxic responses in *Phormidium uncinatum*. *J. Gen. Microbiol.* **128**: 1623-1630.
- Nitschmann, W.H. and G.A. Peschek.** 1984. Vanadate and dicyclohexylcarbodiimide insensitive proton extrusion from oxygen pulsed cells of the Cyanobacterium *Anacystis nidulans*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **123**: 358-365.
- Nitschmann, W.H.** 1982. Do cyanobacteria contain "mammalian type cytochrome oxidase"? *Archiv. Microbiol.* **131**: 261-265.
- Nultsch, W.** 1969. Effect of desapidin and DCMU on photokinesis of blue-green algae. *Photochem. Photobiol.* **10**: 119-123.
- Nultsch, W., H. Schuchart and M. Hoehl.** 1979. Investigations on the phototactic orientation of *Anabaena variabilis*. *Arch. Microbiol.* **122**: 85-91.
- Nultsch, W. and H. Schuchart.** 1985. A model of the phototactic reaction chain of the cyanobacterium *Anabaena variabilis*. *Arch. Microbiol.* **142**: 180-184.
- Padan, E., D. Zilberstein and S. Schuldiner.** 1981. pH homeostasis in bacteria. *Biochim. Biophys. Acta* **650**: 151-166.
- Peschek, G.A., B. Hinterstoisser, M. Riedler, R. Muchl and W.H. Nitschmann.** 1986. Exogenous energy supply to the plasma membrane of dark anaerobic cyanobacterium *Anacystis nidulans*: thermodynamic and kinetic characterization of the ATP synthesis effected by an artificial proton motive force. *Arch. Biochem. Biophys.* **247**: 40-48.
- Peschek, G.A., W.H. Nitschmann and T. Czerny.** 1988. Respiratory proton extrusion and plasma membrane energization. *Methods in Enzymol.* **167**: 361-379.
- Schimz, A. and E. Hildebrand.** 1979. Chemosensory responses of *Halobacterium halobium*. *J. Bacteriol.* **140**: 749-753.
- Schimz, A. and E. Hildebrand.** 1987. Effects of cGMP calcium and reversible methylation on sensory signal processing in halobacteria. *Biochim. Biophys. Acta.* **923**: 222-232.
- Spudich, E.N., T. Takahashi and J.L. Spudich.** 1989. Sensory rhodopsin I and II modulate a methylation/demethylation system in *Halobacterium halobium* phototaxis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**: 7746-7750.
- Starvis, R.L.** 1974. The effect of azide on phototaxis in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **71**: 1824-1827.
- Takahashi, T., K. Yoshihara, M. Watanabe, M. Kubota, R. Johnson, F. Derguini and K. Nakanishi.** 1991. Photoisomerization of retinal at 13-ene is important for phototaxis of *Chlamydomonas reinhardtii*: simultaneous measurements of phototactic and photophobic responses. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **178**: 1273-1279.

(1995. 2. 5 接受)

---

Effects of Some Metabolic Inhibitors on Phototactic Movement  
in Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX

Nam, Myung-Hee, Jong-Soon Choi, Young-Ho Chung, Soo-Hyun Kim,  
Je-Chang Woo<sup>1</sup> and Young-Mok Park\*

Group of Biomolecule Analysis, Korea Basic Science Center, Taejeon 305-606, Korea; and

<sup>1</sup>Department of Biology, Mokpo National University, Cheonggye 534-729, Korea

ABSTRACT

For understanding physiological nature of phototaxis in *Synechocystis* sp. PCC 6803 PTX (*S.* 6803 PTX), we examined the effects of some metabolic inhibitors and cation ionophore on the phototactic movement. In the presence of DCMU, which blocks the photosynthetic electron transport just after photosystem II acceptor, there was no inhibitory effect on the phototaxis up to 100  $\mu$ M. Instead, the respiratory electron chain inhibitor such as sodium azide dramatically impaired the phototaxis in *S.* 6803 PTX. These observations indicate that the phototaxis is linked not to photo-phosphorylation, but to respiratory phosphorylation. When the cells were treated with uncouplers such as CCCP or DNP, which dissipate the electrochemical gradient of proton ( $\Delta\mu_{H^+}$ ) across the cytoplasmic membrane, these chemicals did not affect phototaxis. In contrast, when cells were treated with DCCD or NBD which deprive cells of ATP but leave  $\Delta\mu_{H^+}$  intact across the membrane, the phototactic movement was severely reduced. These results imply that ATP production, not proton motive force, is involved in the phototactic movement in this organism as a driving motive force. The application of specific calcium ionophore A23187 strongly impaired positive phototaxis. Calcium fluxes should be engaged in the sensory transduction of phototactic orientation. Finally, when ethionine was supplemented to culture media, the photomovement of this organism was inhibited. This implies that methylation/demethylation mechanism controls the process of phototaxis in *S.* 6803 PTX like chemotaxis in *E. coli* and *Salmonella typhimurium*.

*Keywords* : *Synechocystis*, phototaxis, metabolic inhibitors, sensory transduction

---

\*Corresponding author: Fax +82-42-865-3419