KOR. JOUR. MICROBIOL. Vol.19, No.2, 52~62 (1981)

*Saccharomyces uvarum*의 배양시기에 따른 여러가지 인산화합물의 함량에 미치는 IAA의 效果

李 鍾 三·趙 善 姬

(誠信女子大學 生物學科)

Effect of indole acetic acid on the contents of various phosphate compounds in the growth phase of *Saccharomyces uvarum*

LEE, Chong-Sam. Sun-Hee CHO

(Department of Biology, Sungshin Women's University)

ABSTRACT

In order to interpret the effect of IAA on the phosphate metabolism and biosynthesis of organic compounds, *Saccharomyces uvarum* were cultured in the media treated with various concentration of IAA (10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M). Sampling at the beginning and intervals of culture, yeast cells fractionated were traced the contents of inorganic phosphate and organic compounds of various fractions.

1. Growth of *Saccharomyces uvarum* were enhanced by IAA (10^{-3}M, 10^{-5}M) and phosphate contents in DNA and RNA fractions treated with IAA were accelerated 2.3 times and 2 times in comparison with those of control.

2. Amounts of poly-P"A" and poly-P"B" were increased but poly-P"C"decreased during the culture. Therefore, it is considered that poly-P"C" play on most important role as a phosphate pool.

3. It is suggested that because phosphate contents in DNA, protein and lipid fractions increased, inorganic phosphates required their biosynthesis were transferred from polyphosphate and on the other hand, inorganic phosphates required RNA were transferred from phosphates in cytoplasm, because these increased slowly during the culture.

4. Alkali-labile protein were accelerated by IAA and alkali stable protein only were inhibited by 10^{-7}M IAA. Contents of carbohydrate in acid soluble fraction and alkali insoluble fraction were enhanced by IAA while, ethanol: ether soluble fraction was induced by 10^{-5}M IAA in comparison with those control.

Ⅰ. 緖 論

IAA가 核酸合成(Cherry, 1973)과 酸素活成(Kasamo, 1973) 및 細胞伸張(Edward, 1978), 組織培養(Bekker 等 1976)에 影響을 미치며 caulonema 細胞의 分化에 따른 호르몬 調節(Johri, 1973) 等, 生長素와 細胞 物質代謝 간의 相互作用에 관하여 여러 분야에서 硏究가 이미 상당히 이루어졌다.

또한 Masuda 等(1967)은 oat 子葉草, Cline 等(1973)은 *avena* 子葉草에서, IAA가 核酸合

成에 미치는 效果를, 蔡(1972)는 *Chlorella* 細胞에서, 李(1980)는 시금치에서 分離한 葉綠體의 燐酸代謝와 有機物 生合成에 미치는 IAA의 效果를 究明하였다. 한편 Yanagishima와 Masuda (1965)는 IAA에 의한 酵母細胞의 胞子形成과 細胞길이의 變形產物을 報告한 바 있다. 그러나 酵母細胞의 燐酸代謝 및 이들 細胞가 體物質을 形成하는데 있어서 IAA가 어떤 作用을 하는가에 대해서는 아직까지 아무런 報告가 없었다.

本 硏究에서는 酵母細胞를, 여러가지 濃度別(10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M)로 IAA를 處理한 培地에 接種 培養시킨 後, 培養期間 中 IAA가 酵母細胞의 代謝過程에 미치는 效果, 특히 無機燐酸의 轉換課程을 폴리燐酸을 中心으로 解析하고자 한다.

Ⅱ. 材料 및 方法

1. 酵母細胞의 培養

最少 培地인 knopp씨 培地($Ca(No_3)_2$, KH_2PO_4, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KCl, $FeCl_3$, 3% glucose)에 IAA를 10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M等 濃度別로 處理하여 pH4.5로 調節한 後 酵母細胞인 *Saccharomyces uvarum*을 接種하여 10日間 30°C에서 震蕩培養(130 cycle/min)시켰다.

2. 燐酸化合物의 分劃操作

接種 後 培養初와 培養 中間期에 一定量의 細胞를 收穫하여 5,000rpm에서 5分間 遠心分離시켜 培地를 除去한 後 0.4M saline 溶液으로 2回 洗滌하였다. 洗滌된 細胞는 李(1964)와 李(1976)가 使用한 方法을 병행하여 分劃하였는데, 核酸은 Schmidt와 Thannhauser(1945)의 方法에 따라 分離하였고, 無機폴리燐酸은 Miyachi와 Tamiya(1961)의 方法을 使用하여 分離하였다. 그 處理 順序는 다음과 같다.

(Ⅰ) 5% PCA로 2回 (30分, 15分)
(Ⅱ) 95%, 75% ethanol로 各各 1回
(Ⅲ) hot ethanol: ether (3 : 1)로 3~4回
(Ⅳ) cold 10% KOH로 pH 9로 調節하여 2回 (1時間, 30分)
(Ⅴ) 0.5N KOH로 37°C에서 16~18時間 處理하여 沈澱物을 分離하고
(Ⅵ) 上澄液을 5% PCA로 中和하여 無機폴리燐酸을 共沈시키고
(Ⅶ) 上澄液에 5% PCA를 同量 넣은 後(最終濃度 2.5%)
(Ⅷ) 沈澱된 DNA 蛋白을 5% PCA로 溶解시켜 100°C에서 15分間 加熱하여 蛋白質을 沈澱시켰다.

3. 分 析

(1) 燐酸의 定量

各 分劃의 燐酸化合物은 semimicrokjeldahl flask 內에서 5N H_2SO_4로 加水分解시켜 얻어진 無機燐酸의 量을 Fiske와 Subbarow 方法(1925)으로 測定하였다.

① 酸可溶性 分劃

酸可溶性 total-P; 操作 (Ⅰ)의 上澄液을 semimicrokjeldahl flask 內에서 加水分解시켜 遊離된 無機燐酸의 量을 定量하였다.

orthophosphate; Berenblum과 Chain (1938)의 方法에 따라 操作 (Ⅰ)에서 얻은 上澄液에 H_2SO_4(最終濃度 0.1N)와 ammonium molybdate (最終濃度 0.0016M) 및 isobutanol을 加하여 세게 흔든 다음, isobutanol 層을 取하여 無機燐酸의 量을 測定하였다.

nucleotide labile phosphate; Crane과 Lipman 方法(1953)에 따라 操作(Ⅰ)에서 얻은 上澄液에 charcoal을 加하여 흔들어 준 後, 0°C에서 30分동안 吸着시킨 다음 遠心分離하여 沈澱物에 H_2SO_4(最終濃度 1N)를 加하여 100°C에서 10分間 加熱한 後 遠心分離시켜 얻어진 上澄液을 取하여 無機燐酸의 量을 測定하였다.

② 폴리燐酸의 分劃

酸可溶性 폴리燐酸 "A"(poly-P "A"); 操作 (Ⅰ)에서 얻은 上澄液에 3% metaphosphate를 carrier로 加하고 pH 4.0으로 調節하여 acetate buffer (pH 4.0)와 진한 $Ba(NO_3)_2$ 溶液을 넣고 5°C에서 하루 밤을 維持시킨 後 形成된 沈澱物을 遠心分離하여 1N HCl에 溶解시킨 다음 semimicrokjeldahl flask 內에서 加水分解시켜 얻어진 無機燐酸의 量을 測定하였다.

酸不溶性 폴리燐酸 "B" (poly-P "B")와 폴리燐酸 "C" (poly-P "C"), 操作 (Ⅳ)에서 얻은 上澄液을 폴리燐酸 "B", 操作(Ⅶ)에서 얻은 沈澱物을 폴리燐酸 "C"로 보고 이들 各 分劃에 H_2SO_4

(最終濃度, 1N)를 加하여 10分間 加熱하여 加水分解된 無機燐酸의 量을 測定하였다.

③ 燐脂質(phospholipid); 操作 (Ⅱ)와 (Ⅲ)에서 얻은 上澄液을 少量 取하여 semimicrokjeldahl flask 內에서 可水分解시켜 얻어진 無機燐酸의 量을 定量하였다.

④ RNA 및 DNA; 操作 (Ⅶ) 및 (Ⅷ)에서 얻은 上澄液을 RNA, DNA로 보고 이들중 少量을 取하여 semimicrokjeldahl flask 內에서 加水分解시켜 얻어진 無機燐酸의 量을 測定하였고, 이들의 紫外部 吸收度를 Beckman spectrophotometer로 測定하여 比較하였다.

⑤ 燐蛋白質(protein-P); 操作 (Ⅷ)에서 얻은 沈澱物을 1N H_2SO_4로 溶解시킨 다음 semimicrokjeldahl flask 內에 넣고 加水分解하여 얻어진 無機燐酸의 量을 定量하였다.

(2) 蛋白質과 炭水化物의 定量

蛋白質; 操作 (Ⅰ)에서 얻은 上澄液을 遊離아미노산, 操作 (Ⅶ)에서의 上澄液을 alkali-labile protein, 沈澱物을 alkali-stable protein으로 보고 ninhydrin 反應(Troll과 Cannon, 1953)을 利用하여 蛋白質의 含量을 定量하였다.

炭水化物; 操作 (Ⅰ)에서 얻은 酸可溶性 分劃, 操作 (Ⅱ)와 (Ⅲ)에서 얻은 脂溶性 分劃, 操作 (Ⅴ)에서 얻은 alkali 不溶性 分劃에 들어 있는 炭水化物의 含量變化를 anthron 反應(Scott와 Melvin, 1953)으로 추적하였다.

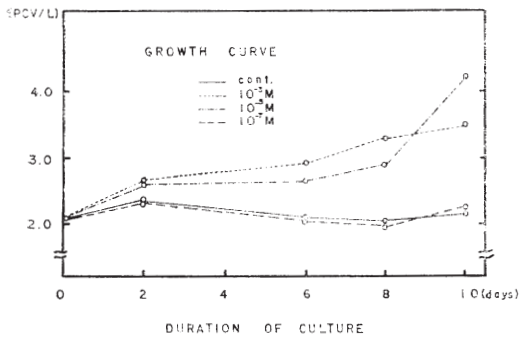

Fig. 1. Growth of yeast cells treated with IAA (10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M) during the culture.

Ⅲ. 結果 및 考察

1. IAA 處理에 따른 酵母細胞의 生長 變化

IAA를 濃度別로 處理한 培地에서 培養시킨, 酵母細胞의 生長을 Fig. 1에 表示하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 10^{-3}M과 10^{-5}M IAA 處理區만이 對照區보다 生長이 促進되었고, 10^{-7}M은 對照區와 비교하여 별다른 變化를 나타내지 않았다.

이와같이 酵母細胞는 10^{-3}M과 10^{-5}M IAA 處理區가 對照區에 비하여 현저한 生長 促進效果를 나타내는 것으로 보아 單細胞 微細綠藻類인 *Chlorella* 細胞 (蔡, 1972)에서와 같이 비슷한 生長 促進效果를 보여준다고 생각된다.

2. 酵母細胞의 各種 燐酸化合物과 有機物 含量 變化

各種 燐酸化合物에 含有되어 있는 無機燐酸의 含量과 核酸의 紫外部 吸收値를 Table 1에, 蛋白質을 Table 2에, 炭水化物을 Table 3에 表示하였다.

(1) 酸可溶性 燐酸化合物과 燐脂質의 量的 動態

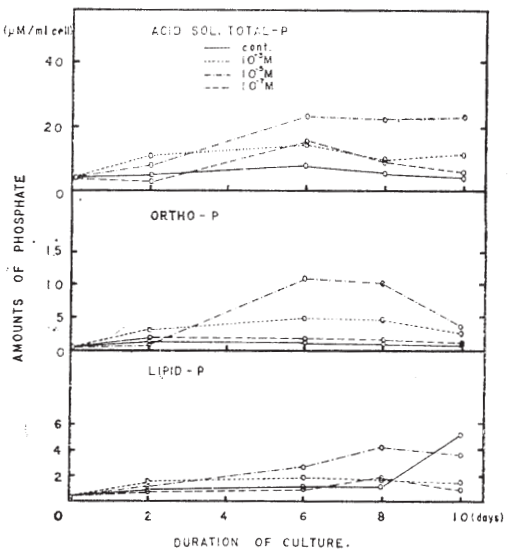

Fig. 2. Changes in amounts of total-P in the acid soluble fraction, ortho-P fraction and lipid-P fraction of yeast cells treated with IAA (10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M) during the culture.

Table 1. Amounts of total-P in each fraction of yeast cells during the culture.

Sample	Duration of culture (days)	Control (μM/ml cell)	10^{-3}M IAA (μM/ml cell)	10^{-5}M IAA (μM/ml cell)	10^{-7}M IAA (μM/ml cell)	UV-absorbancy at 260mμ Control (O.D.)	10^{-3}M IAA (O.D.)	10^{-5}M IAA (O.D.)	10^{-7}M IAA (O.D.)
Acid soluble total-P	0	12.096	12.096	12.096	12.096				
	2	12.391	15.552	14.105	11.544				
	6	14.167	17.424	21.781	17.590				
	8	13.056	15.274	21.408	14.862				
	10	12.312	15.908	21.468	12.562				
Ortho-P	0	0.512	0.512	0.512	0.521				
	2	1.195	3.169	1.007	1.304				
	6	1.265	4.971	11.132	1.939				
	8	0.989	4.403	10.312	1.798				
	10	0.408	2.390	3.831	0.829				
Nucleotide labile-P	0	0.174	0.174	0.174	0.174				
	2	0.300	0.554	3.078	0.240				
	6	0.122	1.205	0.649	0.171				
	8	0.158	0.774	1.096	0.405				
	10	0.539	0.727	1.071	0.251				
Poly-P "A"	0	2.609	2.609	2.609	2.609				
	2	6.262	7.653	6.191	4.900				
	6	5.746	7.786	5.817	7.624				
	8	4.442	8.517	5.013	8.906				
	10	1.843	6.808	3.128	5.922				
Lipid-P	0	0.419	0.419	0.419	0.419				
	2	0.965	1.562	1.069	0.800				
	6	1.208	1.883	2.693	1.027				
	8	1.152	1.640	4.270	1.650				
	10	5.164	1.528	3.618	0.902				
Poly-P "B"	0	0.483	0.483	0.483	0.483				
	2	2.065	2.409	2.541	1.977				
	6	2.471	3.256	2.916	2.799				
	8	2.877	3.272	3.725	4.216				
	10	1.298	3.033	5.995	2.891				
Poly-P "C"	0	0.400	0.400	0.400	0.400				
	2	0.266	0.733	0.467	0.589				
	6	0.272	0.677	0.453	0.871				
	8	0.286	0.744	0.495	0.635				
	10	0.300	0.465	0.536	1.014				
RNA-P	0	0.818	0.818	0.818	0.818	0.963	0.963	0.963	0.963
	2	1.717	1.857	2.437	1.385	1.026	1.362	1.521	1.119
	6	0.572	2.802	2.282	1.897	0.509	2.224	2.542	1.124
	8	0.907	1.666	1.830	1.703	0.522	1.893	2.038	1.072
	10	0.360	0.766	6.047	1.144	1.501	1.902	4.410	2.048
DNA-P	0	0.277	0.277	0.277	0.277	0.293	0.293	0.293	0.293
	2	0.266	1.040	0.369	0.507	0.230	0.360	0.710	0.313
	6	0.272	0.857	0.878	0.375	0.156	0.375	0.689	0.287
	8	0.267	0.521	0.713	1.438	0.104	0.157	0.629	0.522
	10	0.450	0.905	0.764	0.218	0.283	0.586	1.220	0.408
Proten-P	0	0.207	0.207	0.207	0.207				
	2	0.755	0.383	0.553	0.737				
	6	0.414	0.419	0.536	0.308				
	8	0.580	0.520	0.105	0.194				
	10	0.119	0.482	0.200	0.273				

酸可溶性 分劃의 total-P와 ortho-P, 그리고 燐脂質의 量的 動態를 Fig. 2에 表示하였다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 酸可溶性 分劃의 total-P는 IAA 處理區가 對照區보다 增加를 나타내었고, 특히 10^{-5}M IAA 處理區에서는 培養中間期부터 培養 末期까지 현저한 促進效果를 보여주었다.

ortho-P와 燐脂質의 無機燐酸의 含量 變化를 보면, 10^{-3}M, 10^{-5}M IAA 處理區는 培養期間 동안 계속하여 완만한 增加를 나타내었으나, 10^{-7}M IAA 處理區는 對照區와 비교하여 뚜렷한 增減을 찾아 볼 수 없었다.

李(1964)는 *Chlorella* 細胞에서, 李(1976)는 시금치에서 分離한 葉綠體에서, 脂質 合成時 必要한 無機燐酸이 無機폴리燐酸으로 부터 導入된다고 밝힌 바 있다. 本 實驗에서도 燐脂質의 含量이 培養期間 동안 增加함으로 보아 이들의 意見과 잘 부합된다고 생각된다. 또한 IAA 處理에 따른 燐脂質의 含量 增加에 관하여 蔡(1972)는 *Chlorella* 細胞에서, 10^{-5}M IAA 處理區가 燐脂質 合成에 促進效果를 보여준다고 밝혔는데, 酵母細胞에서도 IAA에 의하여, 특히 10^{-3}M과 10^{-5}M IAA 處理區에서 燐脂質 合成에 促進效果를 주는 것을 觀察할 수 있었다.

(2) 核酸含量의 變化

RNA, DNA 및 nucleotide labile-P의 含量과 DNA,RNA 紫外部 吸收値의 變化는 Fig. 3과 Fig.4에 表示하였다.

Fig. 3과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 RNA 및 DNA 分劃의 total-P와 紫外部 吸收値에서, 對照區는 培養期間 동안 별다른 變化가 없었으나, IAA 處理區는 對照區에 비하여 이들 分劃에 含有되어 있는 無機燐酸의 含量이 DNA가 2,3倍, RNA가 2倍 增加하였다. 그리고 nucleotide labile-P는 培養期間 동안 서서히 增加를 나타내었다.

Fan과 Maclachlan(1967)은 완두 芽生에 IAA를 處理하면 RNA는 3倍, DNA는 2倍 정도 增加한다고 하였으며, Masuda와 Kamisaka(1969)는 IAA가 RNA 合成을 促進시킨다고 발표하였고 cellulase(Fan과 Maclachlan, 1967). hemicellulase와 β-1, 3-gulcanase (Tanimoto와 Masuda, 1968) 그리고 peroxidase(Galston 等, 1968)

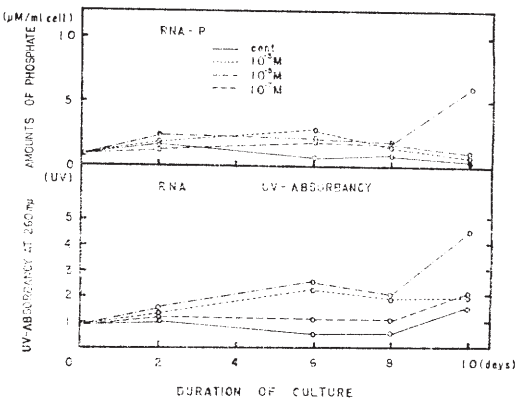

Fig. 3. Changes in amounts of total-P and UV-absorbing material in the RNA fraction of yeast cells treated with IAA (10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M) during the culture.

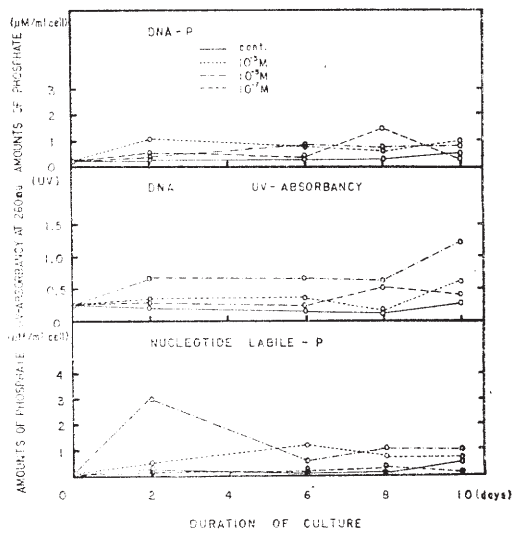

Fig. 4. Changes in amounts of total-P in the fraction of DNA and nucleotide labile and amount of UV-absorbing material in the DNA fraction of yeast cells treated with IAA (10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M) during the culture.

等의 酵素合成을 IAA가 調節하며 이들 酵素가 mRNA와 相互聯關하여 核酸合成을 促進한다고 밝혔다. Cherry (1973)는 IAA가 plasma membrane과 protein factor를 서로 作用시켜 RNA polymerase의 活性을 促進함으로 mRNA를 合成하게 한다고 報告하였다. 또한 Esnault(1968)는 tRNA 合成이 IAA에 의하여 促進된다는 報告등과 같이 IAA에 의한 RNA 合成의 促進에 관한 硏究가 많이 發表되었다.

本 硏究에서도 RNA와 DNA의 含量이 IAA

에 의하여 促進됨은 이들의 意見에 부합되는 結果라고 생각된다.

한편 Nihei(1957), Miyachi와Tamiya (1961) 等은 *Chlorella* 細胞에서, RNA가 合成될 때 필요한 無機燐酸을 細胞 밖의 培地로 부터 取하고 DNA 合成에 必要한 燐酸은 細胞內의 phosphate pool인 無機폴리燐酸으로 부터 導入되어 形成된다고 하였는데, 本 硏究의 結果에 의하면 RNA의 total-P가 培養末期까지 완만한 增加를 보여준 것으로 보아 RNA 合成時 必要한 無機燐酸은 外部환경에 있는 無機燐酸이 導入되어 形成되며, DNA 分劃의 total-P는 量的 增加는 적으나 培養末期에 增加를 보여준 것은 DNA가 合成될 때 使用되는 燐酸은 細胞內에 存在하고 있는 phoshate pool인 폴리燐酸으로 부터 無機燐이 轉換된다고 생각된다. 이와같은 結果는 Nihei(1957), Miyachi와 Tamiya(1961)인 見解와도 一致된다.

(3) 폴리燐酸의 消長 關係

酸可溶性 폴리燐酸과 酸不溶性 폴리燐酸의 消長 關係를 Fig. 5에 表示하였다.

對照區에서 poly-P "A"와 poly-P"B"의 含量은 培養期間 동안 增加하였는데, poly-P "C"의 含量이 점차로 減少되었으며 IAA 處理區에서는 10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M에서 높은 값을 나타내었다.

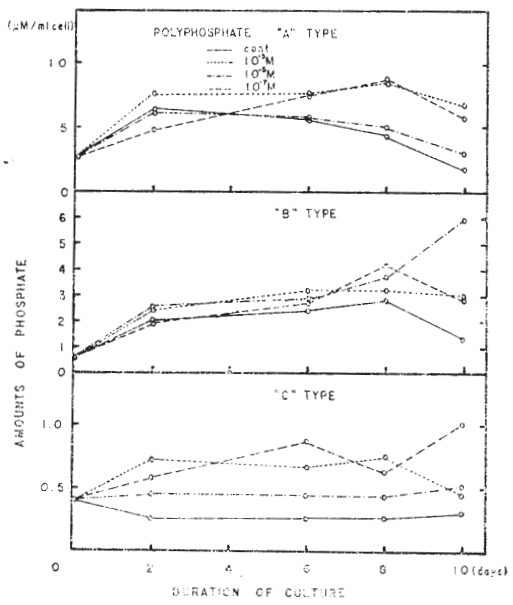

Fig. 5. Changes in amounts of total-P in the acid soluble polyphosphate fraction and acid insoluble polyphosphate fraction of yeast cells treated with IAA (10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M) during the culture.

Katchman 等 (1955), Trevelyan 等 (1956)은 폴리燐酸이 細胞質內의 양이온과 複合體를 形成할 수 있는 能力이 있기 때문에 酵素의 活成, 細胞의 生長과 分裂의 調節 機能을 갖는다고 報告하였고, Ilan과 Gad(1968)는 *Micrococcus lysodeikticus*에서 폴리燐酸이 logarithmic phase동안 축적되었다가, stationary phase 동안 점차로 消耗된다고 밝혔다. 또한 세척된 細胞의 starvation 동안 外部 環境 條件에서의 P-source 缺乏으로 인하여 代謝課程 中에 폴리燐酸 과립이 쓰인다고 하였다. 폴리燐酸의 細胞內 存在 形態는 *Chlorella* 細胞에서는 poly-P "A", "B", "C" 및 "D"와 RNA-폴리燐酸複合體의 存在가 밝혀졌으며, *Aerobacter aerogenes*(Harold, 1963)에서는 酸不溶性 폴리燐酸만을 소유한다고 報告되었다. Widra (1959)는 鹽不溶性 폴리燐酸을, Kornberg 等(1956), Lyons 等 (1966)은 protein폴리燐酸複合體, Correll (1965)과 Harold(1966)等은 RNA-폴리燐酸複合體의 存在를 究明하였다.

本 實驗에서는 *Saccharomyces uvarum*의 細胞內에 세가지 種類의 폴리燐酸 즉 poly-P "A" "B" "C" 가 存在한다는 것이 確認되었다.

Spiegelman과 Kamen(1947)은 酵母細胞의 生長期間 동안, stationary phase를 최고치로 하여 酸不溶性 폴리燐酸의 量이 현저히 增加함으로 보아, 새로운 物質이 合成되는 동안 酸不溶性 폴리燐酸과 培養液에 들어있는 燐 사이에 급한 變化가 일어날 것이라고 추측하였다. 또한 Chantrenne(1953)는 酸不溶性 폴리燐酸이 物質代謝에 能動的인 作用을 하며 蛋白質과 核酸合成에 관여한다고 제시하였다. 또한 李(1964)는 *Chlorella* 細胞內에서 poly-P "B"는 poly-P "C"로 pol-P "C"는 poly-P "A"로 轉換되는 것을 관찰하였고, 細胞內의 DNA와 蛋白質의 無機燐은 poly-P "B"로 부터 合成되어진다고 하였다.

그러나 本 硏究에서 對照區의 增減을 조사하여 보면, poly-P "A"와 poly-P "B"의 含量 增加에 비하여 poly-P "C"는 減少한 것으로 보아 poly-P "C"는 poly-P "A"와 poly-P "B"로 轉換되어 燐의 저장물질로서 細胞內에 保存되는 것

으로 생각된다. 또한 poly-P "A"가 培養中間期부터 완만한 減少를 보여준 것은 이들을 構成하고 있는 無機燐酸이 體物質 構成成分으로 轉換되었기 때문이라고 짐작된다. 이와같이 poly-P "C"가 phosphate pool로서의 役割은 *Chlorella* 細胞에서의 경우와는 매우 다른 특이한 燐酸轉換 課程을 나타내는 것이며, 10^{-3}M과 10^{-5}M IAA 處理區는 對照區에 비하여 높은 含量을 나타내었으나, poly-P "A" "B" "C"에서의 增減현상은 對照區와 비슷한 傾向을 보여주었다. 그러나 10^{-7}M IAA 處理區가 poly-P "A" "B" "C"에서 계속적인 增加를 나타내는 것은 10^{-7}M IAA에 의하여 無機燐酸이 poly-P "C"에서 poly-P "A"와 poly-P "B"로 轉換되는 속도보다도 poly-P "C"로의 吸收가 빠르기 때문인 것으로 사료된다 이러한 IAA 處理에 의한 phosphate 合成의 增加는, IAA에 의하여 phophatase를 자극함으로 phosphatase activity를 增加시킨다는 報告(palmer, 1970)를 뒷받침 한다고 볼 수 있다.

(4) 蛋白質의 含量 追跡

蛋白質의 total-P와 遊離아미노산, alkali-labile protein, alkali-stable protein 및 total protein의 含量 變化를 Table 2와 Fig. 6에 表示하였다.

Fig. 6에서 나타난 바와 같이 유리아미노산과 alkali-labile protein은 對照區보다 處理區의 蛋白質 含量이 增加되었고 alkali-stable protein에 있어서는 10^{-7}M IAA 處理區에서 抑制效果를 나타내었다.

10^{-7}M IAA 處理區가 無機폴리燐酸에 있어서 뚜렷한 促進效果를 나타내는데 비하여 燐蛋白質에서 對照區보다 抑制效果를 나타내는 것은 10^{-7}M IAA 處理區가 無機폴리燐酸에서 蛋白質로의 無機燐酸 轉換을 抑制하였기 때문이라고 생

Table 2. Amounts of ninhydrin reactive substance in each fraction of yeast cells during the culture.

Sample	Duration of culture(days)	Control (μM/m*l* cell)	10^{-3}M IAA (μM/m*l* cell)	10^{-5}M IAA (μM/m*l* cell)	10^{-7}M IAA (μM/m*l* cell)
Free amino acid	0	39.116	39.116	39.116	39.116
	2	12.779	33.211	32.323	34.244
	6	6.401	25.375	40.466	21.244
	8	7.731	34.044	43.613	40.397
	10	34.403	36.888	47.663	16.279
Alkali-labile protein	0	12.364	12.364	12.364	12.364
	2	1.169	14.607	34.126	0.968
	6	7.944	26.492	22.882	
	8	6.643	32.434	46.810	13.052
	10	27.816	21.928	40.105	3.163
Alkali-stable protein	0	3.294	3.294	3.294	3.294
	2	21.778	9.872	9.946	11.041
	6	12.552	31.779	10.045	13.095
	8	5.336	11.811	11.947	4.230
	10	16,755	25,843		1,991
Total protein	0	15.638	15.658	15.658	15.658
	2	22.947	4.479	44.072	12.009
	6	20.496	58.271	32.927	13.095
	8	11.979	76.024	58.757	17.282
	10	48.102	47.771	40.105	5.154

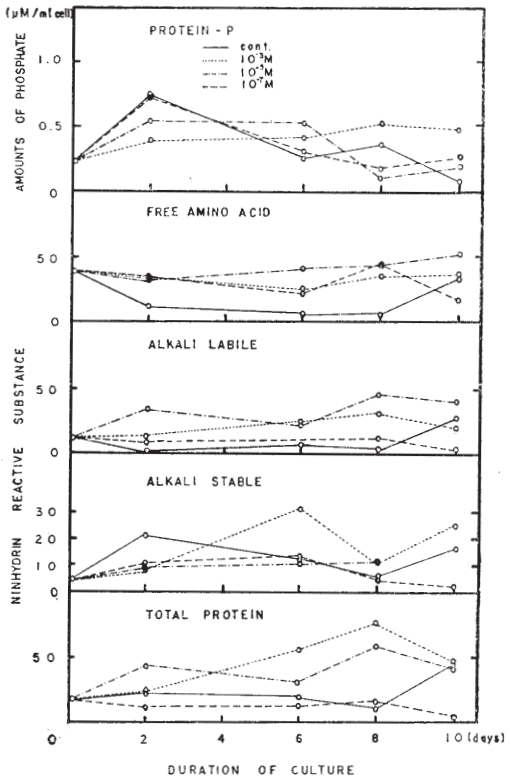

Fig. 6. Changes in amounts of ninhydrin reactive substance each fraction and total-P in the phos phoprotein of yeast cells treated with IAA (10^{-3} M, 10^{-5}M, 10^{-7}M) during the culture.

각된다.

유리아미노산에서 對照區의 含量이 점차減少하였고, alkali-labile protein에서는 별 增加가 없었으나, alkali-stable protein에서는 크게 增加함으로 보아 유리아미노산이 alkali-stable protein 合成에 利用되었다고 짐작된다.

Key와 Hansen (1961)은 大豆芽生에서 IAA에 의한 ^{14}C-amino acid가 蛋白質 結合을 促進시킨다고 報告하였으며, 李(1980)는 IAA에 의한 蛋白質의 왕성한 促進效果를 밝혔고, 柳 等(1980)은 IAA의 적정 濃度에서만이 蛋白質 合成을 促進한다고 發表하였는데, 本 硏究에서도 IAA處理에 의한 적정 濃度인 10^{-3}M과 10^{-5}M에서 蛋白質 合成이 增加함을 확인할 수 있었다.

(5) 炭水化物의 含量 變化

炭水化物의 含量 變化를 Table 3과 Fig. 7에 表示하였다.

Fig.7에서 보는 바와 같이 酸可溶性 分劃區에서, 對照區는 培養期間 동안 含量의 별다른 變化가 없었으나, IAA 處理區는 뚜렷한 增加를나타내었으며, 脂溶性 分劃區에서는 10^{-5}M에서 抑制效果를 볼 수 있었다.

IAA處理區에서 total carbohydrate의 炭水化物 含量 增加는 IAA가 cellulase 活性을 促進시키므로 炭水化物 合成을 增加시킨다는 報告(Fan 과 Maclachlan, 1967)를 뒷받침 한다. 또한 呼吸에 利用되는 糖의 일부가 脂質에 있는 糖으로 부터 轉換되어 物質代謝에 참여하는데, 이때 糖의 轉換을 IAA가 促進시킨다는 報告가 있으며(Van Hove, 1968), 本 硏究에서 脂溶性 分劃區의

Table 3. Amounts of Anthrone reactive substance in each fraction of yeast cells during the culture.

Sample	Duration of culture(days)	Control (μM/ml cell)	10^{-3}M IAA (μM/ml cell)	10^{-5} IAA (μM/ml cell)	10^{-7}M IAA (μM/ml cell)
PCA sol. (glucose equivalent)	0	2.951	2.951	2.951	2.951
	2	2.933	13.414	11.366	2.356
	6	2.372	10.577	7.884	3.473
	8	1.364	17.874	13.750	3.120
	10	2.341	10.789	20.476	2.767
Ethanol: Ether	0	2.003	2.003	2.003	2.003
	2	3.064	4.959	2.137	4.198
	6	1.842	5.646	1.901	2.869
	8	1.812	5.078	1.364	6.507
	10	2.426	6.995	2.494	5.574

Alkali insoluble	0	1.415	1.415	1.415	1.415
	2	3.064	3.243	1.450	2.760
	9	3.989	11.957	6.572	3.967
	8	4.524	14.152	13.886	4.724
	10	5.960	20.963	93.106	5.830
Total carbohydrate	0	3.418	3.418	3.418	3.418
	2	6.128	8.202	3.587	6.958
	6	5.831	17.603	8.473	6.836
	8	6.336	19.230	15.250	11.231
	10	8.386	27.958	95.600	11.404

10^{-5}M IAA 處理區가 낮은 含量을 나타내는것은 本 實驗의 濃度 內에서는 10^{-5}M IAA 處理區가 脂質의 糖이 呼吸에 必要한 糖으로 轉換되는 데 最適 濃度로 利用되었다고 解析된다.

Ⅳ. 摘 要

IAA를 여러가지 濃度(10^{-3}M, 10^{-5}M.10^{-7}M)로 處理한 培地에 酵母細胞를 接種한 후 培養初와 培養 中間期에 一定量의 細胞를 收穫하여 이들 細胞의 生長, 燐酸代謝 및 體物質 合成能을 對照區와 比較하여 IAA의 効果를 調査하였다.

1. IAA에 의한 酵母細胞의 生長은 對照區에 比하여 10^{-3}M. 10^{-5}M濃度에서 促進効果를 나타내었다.

2. DNA와 RNA 含量은 培養期間 동안 增加하였으며 IAA 處理區는 對照區에 比하여 DNA의 含量이 2.3倍 RNA는 2倍의 높은 값을 보여주었다.

3. poly-P "A"와 poly-P "B"는 含量이 增加되었는데, 반면 poly-P "C"는 含量의 減少로 보아 poly-P "C"가 phosphate pool 로서의 役割을 한다고 解析된다.

4. DNA. 燐蛋白質, 燐脂質의 total-P 含量의 增加로 보아 이들의 合成에 사용되는 燐酸은 無機폴리燐酸으로 부터 轉換된다고 생각되며, RNA의 완만한 增加는 無機燐이 細胞質로 부터 導入되었다고 사료된다.

5. IAA 處理區에서의 蛋白質 含量은 對照區와 比較하여 alkali-labile protein에서는 增加하였으나, alkali-stable protein에서는 10^{-7}M IAA 處理區가 減少 現象을 보여 주었다. 한편 炭水化物은 酸可溶性分劃과 alkali 不溶性 分劃의 IAA 處理區에서 促進効果를 보여주었고, 脂溶性 分劃에서는 10^{-5}M이 抑制効果를 나타내었다.

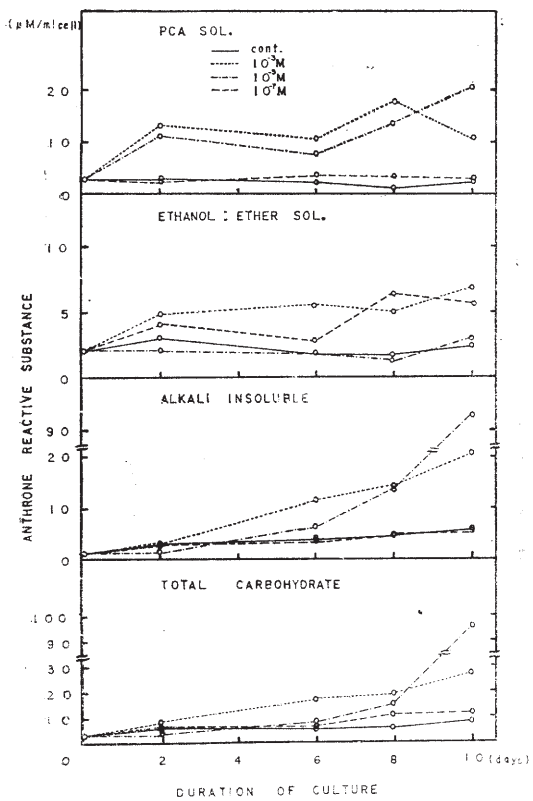

Fig. 7. Changes in amounts of carbohydrate (glucose equivalent) in each fraction of yeast cells treated with IAA (10^{-3}M, 10^{-5}M, 10^{-7}M) during the culture.

Ⅴ. 引用文獻

1) Bekker, A. M., L.S. Gurevich, N.V. Mikhailova and L. I. Slepyan, 1976.
Dynamics of endogenous IAA in aux-dependent strains of tissue cultures from *Panax ginseng* and *Polyscias filicifolia*. *Fiziologiya Rastenii.*

24(4), 841~844

2) Berenblum, I., E. Chain, 1938. An improved method for the colorimetric determination of phosphate. *Biochem. J.* **32**, 295-298

3) Chantrenne, H, 1953. "The nature of virus multiplication" 2nd Symp. Soc. *Gen. Microbiol.* Cambridge Univ. Press, London and New York

4) Cline, M. G., and M.M. Rehm, 1973. Effects of auxin and abscisic acid on polydisperse RNA in *Avena* Coleptiles. *Plant Growth Substances.* 582-592

5) 蔡麟基, 1972. *Chlorella* 生理에 미치는 Indole acetic acid의 영향. 微學誌. **10**, 117-127

6) Cherry, J. H., 1973. Regulation of RNA polymerase activity by a plasma membrane factor. *Plant Growth Substances.* 752-760

7) Correll, D. L., 1965. Ribonucleic acid polyphosphate from algae. Ⅲ Hydrolysis studies. *Plant cell Physiol.* **6**, 661-669

8) Crane, R. K., and F. Lipman, 1953. The effects of arsenate on ascorbic phosphorylation. *J.* Biol. *Chem.* **201**, 235-243

9) Edward, N. R., K. E. Heller, P. Dayanandan, F. V. Hebard, and P. B. Kaufman, 1978. Role of indole-3-acetic acid and gibberellin in the control of internodal elongation in *Avena* stem segments. *Plant* Physiol. **62**, 807-811

10) Esnoult, R., 1968. Étude de l'action de l'acide β-indolyacetique sur le métabolisme de ARN de segments de coléoptiles d'avoine. *Bull. Soc. Chim. Biol.* (Paris) **50**, 1887-1913

11) Fan, D. F., and G. A. Maclachlan, 1967. Massive synthesis of ribonucleic acid and cellulase in the pea epicotyl in response to auxin with and without concurrent cell division. *Plant Physiol.* **42**. 1114-1122

12) Fiske, C. H., and Y. Subbarow, 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* 66, 375

13) Galston, A. W., S. Lavee, and B. Siegel, 1968. The induction and repression of pexosidase isoenzymes by 3-indole acetic acid. *Plant Growth Substances.* 445-472

14) Harold, F. M., 1963. Accumulation of inorganic polyphosphate in *Aerobacter aerogenes.* I. Relationship to growth and nucleic acid synthesis. *J. Bacteriol* 86, 216-221

15) Harold, F. M., 1966. Inorganic polyphosphates in biology: structure, metabolism, and function. *Bacteriol. Rev.* **30**, 772-794

16) Ilan, F., and A. Gad, 1968. Structures containing polyphosphate in *Micrococcus lysodeikticus. Journal of Bacteriol.* 544-553

17) Johri, M. M., 1973. Differentitation of caulonema cells by auxins in suspension cultures of *Funaria hygrometrica. Plant Growth Substances.* 925-934.

18) Kasamo, K., and T. Yamaki, 1973. Auxin action on membrane bound Mg^{++}-activated ATPase. ibid. 699-707

19) Katchman, B. J., and W.O. Fetty, 1955. Phospho rous metabolism in growing cultures of *Saccharomyces cerevisiae. J. Bacteriol.* **69**. 607-615

20) Key, J. L., and J. B. Hansen, 1961. Some effects of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on soluble nucleotides and nucleic acid of soybean seedlings *Plant Physiol.* **36**, 145-152

21) Kornberg, A., S.R. Kornberg, and E.S. Simms, 1956. Metaphosphate synthesis by an enzyme from *Escherichia coli. Biochim. Biophys. Acta.* **20**, 215-227

22) 李永祿, 1964. *Chlorella*의 燐酸代謝에 關한 硏究. 微學誌 **2**(1), 1-11

23) 李鍾三, 1976. 시금치에서 分離한 葉綠體의 燐酸代謝에 關한 硏究. 植學誌. **19**(3), 71-84

24) _____, 1980. 시금치에서 分離한 葉綠體의 核酸, 炭水化物 및 蛋白質의 生合成에 미치는 IAA의 効果. 奎山 金昌煥敎授 華甲記念論文集. 361-372

25) Lyons, J. W., and C. D.siebenthal, 1966. On the binding of condensed phosphates by protein *Biochm. Biophys. Acta.* **120**, 174-176

26) Masuda, Y., E. Tanimoto, and S. Wada, 1967. Auxin-stimulated RNA synthesis in oat coleoptile cells. *Physiol. Plant.* **20**, 713-719

27) Masuda, Y., and S. Kamisaka, 1969. Rapid stimulation of RNA biosynthesis by auxin. *Plant and Cell Physiol.* **10**, 79-86

28) Miyachi, S., and H. Tamiya, 1961. Distribution and turnover of phosphate compounds in growing *Chlorella* cells. *Biochim. Biophys. Acta.* **46**, 200-202

29) Nihei, T., 1957. A phosphorylative process,

accompanied by photochemical liberation of oxygen occuring at the stage of nuclear division in *Chlorella* cells. *J. Biochem.* (Tokyo) **44**, 396-398

30) Palmer, J.J.,1970. The induction of phosphatase activity in thin slices of Jerusalem artichoke tissue by treatment with IAA. *Planta.* **93**, 53-59

31) Schmidt, G., and S. J. Tannhauser, 1945. A methods for the determination of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoprotein in animal tissue. *J. Biol. Chem.* **161**, 83-89

32) Scott, T. A., and E.H. Melvin,1953. Methods in carbohydrate analysis. *Anal. Chem.* **25**, 1650

33) Spiegelman, S., and M.D. Kamen, 1947. Cold spring Harbor Symposia Quant. *Biol.* **12**, 211

34) Tanimoto, E., and Y. Masuda, 1968. Effect of auxin on cell wall degrading enzymes. *Physiol. Plant.* **21**, 820-826

35) Trevelyan, W.E., and J.S. Harrison,1956. Studies on yeast metabolism. *Biochem. J.* **63**, 23-33

36) Troll, W., and R.K. Cannon, 1953. A modified photometric ninhyrin method for the analysis of amino and imino acids. *J. Biol. Chem.* **200**, 803-811

37) Van, H.C., 1968. The influence of auxin on growth and glycolysis-Krebs cycle pathway as affected by malonic acid, monoiode acetic acid and sodium fluoride. *Z. Pfanzen Physiol.* 58, 395-401

38) Widra, A., 1959. Metachromatic granules of microorganisms. *J. Bacteriol.* **78**, 664-670

39) Yangishima, N., and Y. Masuda, 1965. Further studies on RNA in relation to auxin-induced cell elongation in yeast. *Physiol. Plant.* **18**, 586-591

40) Yanagishima, N., and C. Shimoda, 1967. Production of yeast variants by auxin and effect of plant growth regulators on these variants. *Plant and Cell Physiol.* **8**, 109-119

41) 柳寅培, 文惠延, 盧光洙, 沈雄燮, 1980. 發芽中인 옥수수 種子內에서의 蛋白質 生合成 및 燐酸化 反應에 미치는 IAA의 効果, 奎山 金昌煥敎授 華甲記念論文集. 341-348