

# 光合成 細菌의 Cytochrome $bc_1$ Complex 를 實驗 主題로한 生物實驗教育의 模型化\*

吳 德 鐵\*\*

## Modeling of Education for Biology Experiment through Cytochrome $bc_1$ Complexes in Photosynthetic Purple Bacteria

Oh, Duck-Chul

### Abstract

The purpose of this research is the designing a model of the biology experiment which can apply to a student, who will be a biology teacher of the secondary school, of the biology education major at university.

A model was extracted from the experimental procedure of the isolation, purification and characterization of cytochrome  $bc_1$  complex which is a membrane protein complex and a part of the electron transport system of the respiratory and photosynthetic systems of the photosynthetic bacteria.

The various discussion processes between the supervisor and student(s) were arranged in each experimental step for the achievement of the satisfactory experimental purpose. And the criteria which can also include other fields of the basic natural sciences other than biological science were suggested for each step.

A multipurpose educational model for biology experiment was suggested by the connection of the discussion processes with the establishment criteria.

---

\*이 論文은 1987年度 第六次 IBRD 차관사업중 師範大 科學教育系 教授 海外研修計劃에 依하여 이루어졌음.

\*\*제주대학교 사범대학 과학교육과(生物專攻)

## 1. 緒 論

오늘날 世界各國은 점차 尖端科學技術의 發展程度에 따라 國勢의 優劣이 左右될 展望이 다. 이 尖端科學技術은 하루아침에 이루어지는 것이 아니고 基礎科學의 토대 위에서만 成長이 可能한 것은 周知의 事實이다. 이로 인하여 世界の 有數한 先進國들은 엄청난 研究費를 基礎科學 育成을 위하여 投入하고 있는 實情이다.

近來 우리나라도 “科學立國”이라는 旗幟아래 技術發展을 위하여 相當한 投資를 계속한 結果, 電子, 通信, 遺傳工學 分野 등에서 闊目할만한 成果를 얻고 있으나 이는 純粹한 開發이라기 보다 外國技術을 應用한 結果라 볼 수도 있다. 現在까지의 우리나라 實情은 應用技術의 基礎가 되는 基礎科學의 育成에는 比較的 소홀한 반면 直接的인 技術開發에 集中的 投資를 보여왔다. 그러나 應用技術 開發은 基礎科學의 뒷받침 없이는 곧 그 限界를 만나게 된다는 것을 認識하여 近者에는 基礎科學 育成을 위해 政府나 그 關聯機關 또는 民間 研究所 등에서 研究費를 더 投入할려는 경향을 보이고는 있으나 아직 先進外國에 비하여 낮은 水準에 머물고 있는 實情에 있다.

基礎科學을 育成하기 위해서는 既成學者들에게 많은 投資를 해야함은 當然한 일이지만 한편으로는 新進學者를 계속적으로 養成해야만 한다. 未來의 基礎科學者로 育成될 大學의 自然系(특히 純粹科學系)에 進學하는 學生들은 그 進路의 決定이 中等學校의 基礎科學 擔當教師들의 影響을 많이 받은 結果라는 것이. 入試 등의 面接이나 在學中の 面談過程을 통하여 밝혀져 있다. 따라서 中等學校에서의 科學修業은 將次的 自然科學者(특히 基礎科學者)를 養成하는데 매우 重要하다고 하겠다. 그러므로 美國을 위시한 先進國에서는 教科書나 教科課程 등의 改編에 莫大한 예산을 투입하고 있다. 우리나라에서도 中等學校의 科學教育을 向上시키기 위해서 教科書의 改編, 實驗施設의 改善, 擴充, 實驗助教制의 施行, 또 教師의 再教育이나 海外研修 등을 擴大하고 있다. 이런 문제들 중에서 中等學校의 教科課程에 대한 研究는 包括的으로, 혹은 部分的으로 가장 많이 이루어져 왔으나(1, 4, 5, 6, 9, 10, 12~17) 질적인 면에서의 教師養成이나 資質向上에 대한 研究는 많이 發見되지 않는다(2, 3, 7, 8, 11, 18).

이런 여러가지 문제들은 모두 重要하고 계속적으로 研究되고 改善되어야 하겠지만 이 중에서도 가장 중요한 것은 優秀한 科學教師를 養成하는 일이라 생각된다(2, 7, 11). 한사람의 잘못 養成된 教師는 수많은 學生들을 그릇되게 가르치므로써 科學에서 興味를 잃게 하거나 잘못된 概念을 習得케하여 科學者 養成의 初期 段階를 잘못되게 하기 때문이다.

細分된 分野를 가르치지 않고 모든 自然科學 分野를 가르쳐야 하는 立場의 教師(특히 中學의 科學擔當 教師)를 養成해야 하는 科學教育系列(生物, 物理, 化學, 地球科學)의 學部生이나 教育大學院生을 對象으로 하는 實驗教育(특히 生物實驗教育)에서 實驗을 遂行

하게 할때 어떤 主題를 어떤 目的으로 選定할 것이며 同伴되는 實驗材料의 選擇이나 實驗方法을 設計함에 있어 어떤 方法으로 進行하고 實驗의 進行過程에서 段階別 評價나 實驗完了後의 評價方法 등을 包括적으로 含蓄하는 生物學實驗의 模型化를 통하여 教育效果를 增進하여 學問적으로 훌륭한 資質의 教師를 養成할 수 있을까 하는 문제를 本稿에서 다루고자 한다.

學問의 性格上 生物學은 다른 基礎科學分野(物理學, 化學, 地球科學)와 密接한 連繫성을 가지고 있기 때문에 細分된 分科에 따라 多少 차이는 있을지라도 좀더 完전한 生物學에 대한 理解를 위해서는 基本的으로 어느 정도까지의 化學, 物理學, 地球科學에 대한 理解가 必須적으로 要求되고 있을뿐만 아니라 實驗過程에서 利用되는 多様な 器機를 理解하고 使用하려면 이들의 應用學問에 대한 最少限의 知識도 아울러 必要하게 된다. 實際로 大學의 生物教育科(혹은 專攻) 學生들은 生物學 各 分野의 실험들을 배우고 있으나 너무 細分된 實驗主題로 他 科學科目과의 連繫성이 弱하여 한 實驗主題로 多様な 目的을 達成하기가 어렵다. 이런 問題를 극복하기 위해서 多目的 實驗模型을 開發하여 學生들에게 教育함이 바람직하다고 생각된다. 그러나 現在까지 이 目的에 適合한 模型이 잘 開發되어 있지 않은 것으로 判斷된다. 이런 觀點에서 어떻게 하면 한 主題의 生物學 實驗을 遂行하는 過程에서 生物學 自體뿐만 아니라 化學이나 物理學 등, 他 分野의 知識을 可能하면 많이 習得하는, 即 複合적인 自然科學 理解의 目的을 達成할 수 있는 實驗教育의 模型을 만들어 보는 것이 本 研究의 目的이다.

이를 위해서, 光合成 細菌에 있어서의 呼吸이나 光合成 過程의 電子傳達 媒體인 cytochrome  $bc_1$  complex의 分離와 精製, 또 그 特性을 밝히는 것을 實驗主題로 하여 展開하고자 한다.

## 2. Cytochrome $bc_1$ Complex의 研究背景

Cytochrome  $bc_1$  complex(Ubiquinol-Cytochrome C Oxidoreductase)는 光合成과 非光合成 生物 모두에서 에너지 生成過程에 介在되는 電子傳達系의 한 部分으로 構成되어 있는 膜蛋白質 複合體로서 소의 심장이나 酵母의 mitochondra, 光合成 細菌, *Paracoccus denitrificans* 등에서 分離되었다(19-31). 이 分離過程에서 담즙산, Triton X-100 등 많은 種類의 膜蛋白質 溶解劑가 使用되었으나 어떤 경우는 蛋白質을 變性시키거나 하여 좋지 않은 것으로 判明되기도 하였다(32-34). 最近에는 여러 生物에서 dodecyl maltoside가 좋은 것으로 밝혀져 널리 使用되고 있다(31, 35, 36). 한편 精製過程에서도 여러가지 方法이 使用되어 왔으나 DEAE-Biogel A Column과 DEAE-Sepharose CL-6B Column을 連續적으로 使用하여 좋은 結果를 얻고 있다(31).

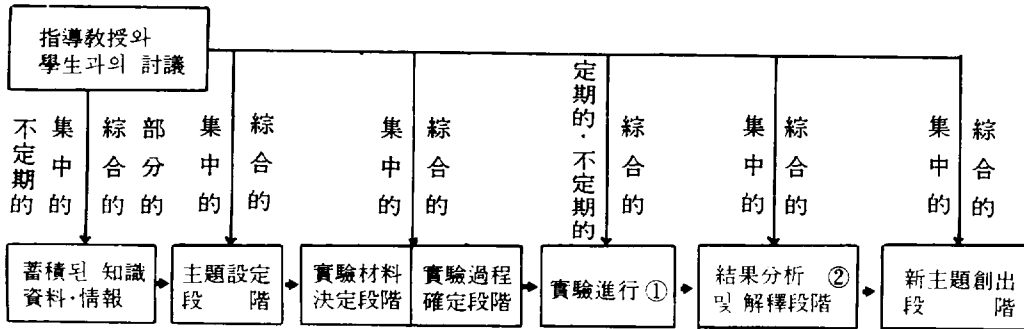
관련 分離, 精製된 cytochrome  $bc_1$  complex 는 共히 Rieske Protein (Iron-Sulfur protein)과 cytochrome b와  $c_1$ 을 含有하고 있고(31) 生物에 따라 相異한 Subunit 들을 含有하고 있으며, 그 物理 化學的 性質도 部分的으로 밝혀져 있다(30, 31, 37). 이들 複合體의 構成이나 物理 化學的 性質을 完全히 밝히는 것은 生物의 重要한 機能中의 하나를 해결하는 것이 될 것이다. 이 複合體의 機能面에서 볼 때 가장 興味있는 것은 다른 生物과는 달리 光合成 細菌인 경우 呼吸과 光合成의 두가지 일에 共히 關與하고 있다는 것이며, 이 複合體를 구성하는 Subunit 의 아미노酸 序列이나 나아가서 이 複合體에 關係되는 遺傳子를 分析하는 일은 生物의 系統을 究明하는데 큰 기여를 할 것으로 기대되고 있다 (38).

### 3. 光合成 細菌의 Cytochrome $bc_1$ Complex 의 分離實驗의 過程

표 1은 cytochrome  $bc_1$  complex 의 研究背景에서 引用한 여러 文獻에서 光合成 細菌을 實驗材料로 한 過程을 綜合한 것이다. 全 實驗過程에서 얻을 수 있는 知見은 다음과 같이 要約해 볼 수 있다. 使用되는 光合成 細菌은 모두 非硫黃 紫色細菌으로서 光合成이나 好氣的 呼吸 두가지 方法으로 에너지를 획득하여 生育할 수 있어 경우에 따라 明培養이나 暗培養의 두가지 培養方法을 選擇할 수 있다. 또한 各種은 要求하는 炭素源이나 vitamin 등 營養要求性이 다르고 明培養일때는 適當한 光量도 다르므로 細菌의 成長生理가 다름을 理解할 수 있게 된다. 또한 各種의 形態的 特徵과 運動性도 알 수 있게 되며, 色素形成의 差異도 理解하게 된다. 이상과 같이 實驗室에서 준비가 容易한 몇 種의 細菌으로 여러 가지의 知識을 窺得할 수가 있다. 細胞로부터  $bc_1$  複合體를 分離하기 위해서는 먼저 細胞를 破碎하여야 하는 過程에서 어떤 方法으로 하느냐에 따라 細胞壁, 色素胞 등의 特性을 理解하게 된다. 遠心分離로 얻어진 細胞膜에서 複合體를 分離해 내는 過程에서는 여러가지 溶解劑(Detergent)의 特性和 蛋白質과의 化學的 作用을 理解하게 된다. 分離한 複合體를 精製하는 過程에서는 使用하는 여러가지 Chromatography 의 媒質의 性質을 파악하게 되고 精製를 確認하는 過程과 複合體의 活性을 測定하는 過程에서 酵素로서의 機能과 Spectrophotometer 의 原理를 理解하게 된다. 또한 精製된 複合體의 Subunit 構成과 分子量的 測定과정에서 電氣泳動의 特性을 理解하게 되며 各 Subunit 의 아미노酸 序列을 決定하는 過程에서 各 細菌間의 類緣性을 推論해 볼 수 있을 것이다. , 얻어진 結果와, 다른 生物의 mitochondria 나 chloroplast 의 複合體를 比較하는 過程에서 이들 細胞器官과 細菌과의 起源上의 關係점도 推論해 볼 수 있을 것이다.

< 丑 1 > 實際 實驗過程의 段階別 內容

段 階	主 題	實驗材料	實驗過程	結果分析 및 解釋
內 容	○ 光合成 細菌으로 부터 Cytochrome bc <sub>1</sub> Complex 의 分離 및 特性	○ 光合成細菌 : <i>Rhodobacter sphaeroides</i> <i>R. capsulatus</i> <i>Rhodospirillum rubrum</i> <i>Rhodopseudomonas palustris</i>	○ 細菌培養 ○ 蛋白質 分離 ○ 蛋白質 精製  ○ 蛋白質 特性究明	○ 生物學的 解釋 ○ 化學的 解釋 ○ 生理學的 解釋  ○ 新主題創出
細部內容	○ 生物의 呼吸 및 光合成을 통한 에너지 代謝機能(生物學的인 面)  ○ 膜蛋白質의 特性 (生化學的인 面) ○ 蛋白質 和合物을 통한 電子移動現象(物理學的인 面)	○ 培養後遠心分離로 쉽게 使用可能 ○ 實驗室에서 간단한 恒溫裝置와 照明裝置로 培養可能  ○ 培養過程이 細菌의 光合成과 呼吸意味(生物의 에너지 生成 方式)	○ 培養에 필요한 有·無機試藥 (化學 및 生物學的인 面) ○ 蛋白質 抽出에 필요한 試藥(生化學的인 面)  ○ Chromatography(단백질 정제 과정)에 필요한 試藥(物理, 化學的인 面)  ○ 電氣泳動에 필요한 試藥(物理, 化學的인 面) ○ 培養裝置(生物, 生理學的인 面) ○ (超)遠心分離器, 超音波破碎器, 여러가지 Column 電氣泳動裝置, 分光光度計, 密度計 (應用科學의 理解)	○ 蛋白質의 構成上 特徵(生化的인 面)  ○ 電氣泳動態(物理學的인 面) ○ 光吸收特徵(物理學的인 面) ○ 蛋白質의 電子傳達特徵(物理學的인 面) ○ 他光合成 生物이나 他生物의 mitochondria 나 葉綠體에서 分離된 것과의 比較 (系統生物學的인 面)  ○ 複合體 遺傳子에 대한 研究提議(新主題創出)



< 그림 1 > 指導教授와 學生(들)간의 實驗段階別 討議過程

- ① : 이 過程의 討議를 통하여 中間評價를 할수 있고 잘못된 事項은 修正 補完될 수 있다.
- ② : 이 過程의 討議를 통하여 全 過程을 評價할 수 있고, 新主題創出段階에 評價結果를 導入 할수 있다.

#### 4. 實驗計劃의 模型

그림 1은 實驗過程의 各 段階와 指導教授와 實驗遂行學生(들)과의 討議過程을 各 段階別로 나타낸 한 模型이다.

各 段階의 進行過程에는 指導教授와 實驗遂行學生(들)間에 또는 學生 相互間에 여러 方法의 討議가 이루어져야 하며 實際로 美國에서는 定期的인 경우 대개 一週日에 한번쯤 group meeting 을 통하여 이루어지고 있었다. 이러한 討議過程을 통하여 各 段階別 評價가 이루어질 수 있고 이 過程에서 잘못된 것은 修正이 可能하게 되어 新事實 究明의 段階까지, 可能한 적은 時間으로 到達할 수 있을 것이다. 實際로 實驗을 遂行하는 學生(들)은 文獻上의 知識으로 進行하기 때문에 자주 進行上의 어려움에 직면하게 되고, 이 어려움을 극복하는 길은 討議로서 解決할 수가 있다.

한편 實驗過程의 各 段階는 可能한 複合的 目的을 達成하기 위하여 基準이 設定되어야 한다. 各 段階의 設定基準은 指導教授와 學生(들)간에 集中的이고 綜合的인 討議過程을 통해서 이루어져야 한다. 다만 實驗進行中에 當하는 設定基準에 대한 豫상이외의 문제는 不定期的이고 部分的인 討議過程에서 變更될 수도 있을 것이다. 표 2는 各 段階別 設定基準을 표 1의 실험과정을 중심으로 導出하여 實驗模型을 만들어 본 것이다.

〈표 2〉 段階別 設定基準 模型

段 階	主 題 設 定	實 驗 材 料 決 定	實 驗 過 程 確 定	結 果 分 析 및 解 釋
設定基準	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 他自然科學分野의 知識이 要求되고 同時에 習得될 수 있는 것</li> <li>○ 他生物學 分科의 知識이 要求되고 同時에 習得될 수 있는 것</li> <li>○ 多樣한 生物群의 共通的인 特性을 나타낼 것</li> <li>○ 複合的인 意味를 內包하는 것</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 容易하게 使用할 수 있는 것</li> <li>○ 實驗室에서 自體 供給이 可能한 것</li> <li>○ 準備過程에서 生物學的 意味를  찾을 수 있는 것</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 他實驗過程에 用할 수 있는 多 樣한 試藥이나 器 機를 要求할 것</li> <li>○ 他自然科學 分野의 知識이 複合的 으로 要求될 것</li> <li>○ 進行上 誤譯事項 을  쉽게 判定할 수 있을 것</li> <li>○ 時間活用이 容易 할 것</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 生物學 以外的 다른 自然科學 知識習得</li> <li>○ 生物學의 다른 分科와  연계  해석</li> <li>○ 新主題의 創出</li> </ul>

### 5. 光合成 細菌의 Cytochrome $bc_1$ Complex 의 分離實驗過程과 實驗模型과의 比較考察

먼저 主題 設定基準에서 光合成 細菌의 cytochrome  $bc_1$  complex 를 分離하고 그 特性을 밝히는 일은 生體膜 蛋白質의 物理, 化學的 特性에서 物理, 化學的 概念이 介在됨으로서, 生物의 特性인 에너지代謝 機能을 밝히는 生物學的 概念과 아울러 自然科學 全般의 概念이 同時에 包括될 수 있어 한 主題로 여러 分野를 理解할 수 있게 되고 이 複合體는 動·植物의 mitochondria 나 葉綠體(이 경우  $b_6f$  複合體라 한다), 또한 原核生物에도 共히 存在함으로서 主題設定의 基準을 導出하는데 適合하다고 생각된다. 實驗材料의 경우는 動·植物의 경우나, 酵母, 非光合成 細菌 등도 可能하나 光合成 細菌은 光合成이나 呼吸으로 에너지를 획득하는 두가지 方法을 同時에 가지고 있으며  $bc_1$  complex 가 두 系에 共히 연결되어 있다는 生物學的인 意義를 가지고 있을 뿐만 아니라 實驗室에서 培養하는 過程 自體가 實驗的인 意味를 가지고 있으며 充分한 量을 生産하기가 容易하여 基準에 適合하다고 생각된다. 實驗過程에서 보면 표 1에 나타난 바와 같이 多樣한 試藥과 器機가 所要되는바 이들 試藥이나 器機들은 實際로 다른 目的의 實驗에도 빈번히 使用되는 것들로서 複合的 目的을 達成할 수 있음으로 模型基準에 符合된다 하겠다. 結果 分析 및 解釋過程에서는 얻어진 複合體를 分析하는 과정에서 物理, 化學的 知識을 얻게됨과 아울러 生物間의 類緣性을 推論해 볼 수 있어 한 主題로 多目的을 成就할 수 있을뿐만 아니라 이들 複

合體와 關聯이 있는 遺傳子의 研究에도 연관 지을 수 있어 또한 基準에 부합될 수 있다고 判斷된다. 結局 표 1의 과정에서 導出된 표 2와 各 段階別 研究者間의 討議過程을 나타낸 그림 1을 綜合할때 비록 不完全하나마 하나의 生物實驗의 教育的 模型이 될 수 있을 것으로 생각한다. 앞으로 더 나은 模型이 제시되어 科學教育系 學生들의 實驗教育에 活用되기를 바란다.

## 6. 結 論

本 研究는 將次 中等學校의 科學教師가 될 大學의 生物教育科(혹은 生物教育專攻) 學生들이나 教育大學院生들에게 適用할 수 있는 生物實驗教育의 模型을 만들기 위하여 이루어졌다. 實驗模型은 光合成 細菌의 呼吸과 光合成에서 電子傳達系의 一部分으로, 膜蛋白質 複合體인 cytochrome  $bc_1$  complex 를 分離, 精製하고 그 特性을 밝히는 實驗過程을 통해서 導出되었다. 各 實驗段階에는 實驗目的을 圓滿하게 達成하기 위해서 指導教授와 學生間의 여러가지 討議過程이 設定되었으며 各 段階는 生物學實驗을 主題로 하면서도 他 自然科學의 分野를 包括할 수 있는 基準이 提示되었다. 各 段階別 討議過程과 設定基準을 連結하여 하나의 生物實驗教育을 위한 多目的的인 模型을 提示하였다.



## 참 고 문 헌

1. 정환호(1978) 한국과학교육학회지, 1, 15~28.
2. 박승재(1978) 한국과학교육학회지, 1, 89~102.
3. 박승재(1980) 한국과학교육학회지, 2, 3~13.
4. 최병인(1980) 한국과학교육학회지, 2, 16~30.
5. 정완호(1981) 생물교육, 9(2), 3~16.
6. 정용재·정민혜(1982) 생물교육, 10(2), 3~5.
7. 박승재(1982) 한국과학교육학회지, 3, 1~14.
8. 박승재·이희성(1984) 한국과학교육학회지, 4(1), 1~14.
9. 권치순(1984) 한국과학교육학회지, 4(2), 64~73.
10. 김성진·박승재(1985) 한국과학교육학회지, 5(2), 99~112.
12. 정용재·송인숙(1985) 생물교육, 13(2), 1~13.
13. 정완호·김명심(1985) 생물교육, 13(2), 14~32.
14. 정용재·박혜경(1986) 생물교육, 14(1), 1~7.
15. 강은정·이인규(1986) 생물교육, 14(1), 8~24.
16. 정용재·강순자·남운이(1987) 생물교육, 15(2), 1~24.
17. 강순자·김영주(1988) 생물교육, 16(1), 1~38.
18. 이인규·김희진(1987) 생물교육, 15(2), 25~40.
19. Hatefi, Y., Haavik, A. G., Fowler, L. R. and Griffiths, D. E.(1962) J. Biol. Chem. 237, 1681~1685.
20. Rieske, J. S., Zaugg, W. S. and Hansen, R. E.(1964) J. Biol. Chem. 239, 3023~3030.
21. Yu, C. C. A., Yu, L. and King, T. E.(1974) J. Biol. Chem. 249, 4905~4910.
22. Engel, W. D., Schagger, H. and Von jagow, G.(1980) Biochim. Biophys. Acta 592, 211~222.
23. Azzi, A., Bill, K. and Broger, C.(1982) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 2447~2450.
24. Katan, M. B., Pool, L. and Groot, G. S.(1976) Eur. J. Biochem. 65, 95~105.
25. Siedown, J. N., Power, S., De la Rosa, F. F. and Palmer, G.(1978) J. Biol. Chem. 253, 2392~2399.
26. Gabellini, N., Bowyer, J. R., Hurt, E., Melandri, A. and Hauska, G.(1982) Eur. J. Biochem. 126, 105~111.
27. Yu, L. and Yu, C. A.(1982) Biochem. Biophys. Res. Commun. 108, 1285~1292.

28. Takamiya, K., Doi, M. and Okimatsu, H.(1982) *Plant Cell Phys. iol.* 23, 987~997.
29. Yang, X. and Trumpower, B. L.(1986) *J. Biol. Chem.* 261, 12282~12289.
30. Takamiya, K. and Obata, S.(1986) *Ciochem. Biophys. Acta.* 852, 198~202.
31. Ljungdahl, Per O., Pennoyer, J. D., Robertson, D. E. and Trumpower B. L.(1987) *Biochem. Biophys. Acta.* 891, 227~241.
32. Von Jagow, G., Schagger, H., Riccio, P., Kingenberg, M. and Kolb, H. J.(1977) *Biochim. Biophys. Acta.* 462, 549~558.
33. Engel, W. D., Michalski, C. and Von Jagow, g.(1983) *Eur. J. Biochem.* 132, 395~402.
34. Hatefi, Y.(1985) *Annu. Rev. biochem.* 54, 1015~1069.
35. Rosevear, P., Van Aken, T., Baxter, J. and Ferguson-Miller, S.(1980) *Biochemistry* 19, 4108~4115.
36. Van Aken, t., Foxall-Van Aken, S., Castleman, S. and Ferguson-Miller, S.(1986) *Methods Enzymol.* 125, 27~35.
37. Wikstrom, M., Krab, K. and Saraste, M.(1981) *Ann. Rev. Biochem.* 50, 623~5538.
38. Gabellinmi, N.(1988) *J. of Bioenergetics and Biomembranes* 20(1), 59~83.