

# 토끼 적혈구막의 NaK ATPase의 활성도에 대한 serotonin의 작용

경희대학교 의과대학 생리학교실

정순동 · 박철빈 · 고일섭

**=Abstract=**

**Action of Serotonin on Sodium-Potassium Activated ATPase in  
Rabbit Red Cell Membrane**

Soon Tong Chung, Chul Bin Park and Il Sup Koh

*Department of Physiology, School of Medicine, Kyung Hee University,  
Seoul, Korea*

The action of serotonin on the sodium plus potassium activated ATPase activity in the rabbit red cell membrane has been investigated. The experiments were also designed to determine the mechanism of action of serotonin on the ATPase activity. The following results were obtained.

1) The NaK ATPase activity of rabbit red cell ghosts is stimulated by low concentration of serotonin but inhibited by higher concentration, and the concentration of serotonin for maximal activity is about 2mM. The pH optimum for the serotonin sensitive component is 8.0.

2) The activating effect of serotonin on the ATPase, with a given concentration of sodium in the medium, is increased by raising the potassium concentration but the ratio of activity is decreased.

3) The activating effect of serotonin on the ATPase, with a given concentration of potassium in the medium, is increased by raising the sodium concentration but the ratio of activity is decreased.

4) The ATPase activity is increased by small amounts of calcium but inhibited by larger amounts and the ratio of activity by serotonin is decreased by small amounts of calcium but increased by larger amounts.

5) The action of serotonin on the ATPase activity was not related to the amino group of lysine, the hydroxyl group of threonine, the carboxyl group of aspartic acid, or the imidazole group of histidine.

6) The action of serotonin on the ATPase activity is due to sulfhydryl group of the enzyme of NaK ATPase.

**서 론**

지는 해당작용으로 형성된 adenosine triphosphate (ATP)의 분해과정에서 유리되는 에너지를 사용하고 있다는 것은 널리 알려져 있다.<sup>4~6)</sup>.

사람 적혈구막에서 Na 이온을 세포막 밖으로 K 이온을 세포막 안으로 전기 화학적 농도구배에 역행하여 이동하는 이온의 능동적 운반은<sup>1~3)</sup> 세포안에서 이루어

세포막에서 이루어지는 이 이온의 능동적 운반은 사람 적혈구에서 한 분자의 ATP가 분해할 때 3개의 Na 이온을 세포막 밖으로 2개의 K 이온을 세포막안으로

능동적 운반을 하고 있다는 것을 여러 연구자들에 의하여 주장되고 있는 것이다.<sup>7~9)</sup>

한편 Skou<sup>10)</sup>는 케의 말초신경에서 Na 이온과 K 이온을 동시에 첨가하였을 때에 활성화되는 adenosinetriphosphatase(NaK ATPase)가 있다는 것을 발견하고 이 효소가 세포막에서 이루어지는 이온의 능동적 운반과 밀접한 관계가 있다는 것을 처음으로 암시하였다. 그후 적혈구막에서도 Na 이온과 K 이온을 동시에 첨가하였을 때 활성화되는 ATPase가 있으며 이 효소와 세포막에서 이루어지는 Na 이온과 K 이온의 능동적 운반과 밀접한 관계가 있다는 것을 여러 연구자들<sup>5, 8, 11, 12)</sup>에 의하여 주장되었다.

적은 농도의 ouabain은 이온의 능동적 운반을 억제하고 같은 농도의 ouabain은 여러 조직에서 Na 이온과 K 이온으로 활성화되는 ATPase의 활성도도 억제하고 있음으로 이같은 ouabain의 작용은 이온의 능동적 운반과 이 효소가 서로 관계를 가지고 있다는 것을 제시하고 있는 것이다.<sup>13~16)</sup>

또한 ouabain은 여러 조직에서 분리한 Na 이온과 K 이온을 동시에 첨가하였을 때에 활성화되는 ATPase의 활성도를 억제하고 Mg 이온으로 활성화되는 ATPase의 활성도에는 아무 억제작용이 없으며 이같은 ouabain의 특이한 작용은 세포막에서 양이온의 능동적 운반과 수동적 운반을 구별하는데 사용되어 왔다.<sup>17, 18)</sup>

세포막에서 이온의 능동적 운반과 밀접한 관계가 있는 Na 이온과 K 이온을 동시에 첨가하였을 때에 활성화되는 ATPase의 활성도에 대한 serotonin의 작용은 아직 알려져 있지 않음으로 본실험에서는 토끼 적혈구로 ghosts 세포를 만들어 세포막만을 분리하여 세포막 내에 Na 이온과 K 이온으로 활성화되는 ATPase의 활성도에 대한 serotonin의 작용을 규명하고 그 작용기전도 아울러 실험하였다.

## 실험 방법

체중 2kg 내외의 성숙한 토끼를 성의 구별없이 사용하였다. 심장 혈자로 채혈한 혈액을 heparin으로 응고를 방지하여 15분간 1,000g로 원심분리한 다음 혈장과 백혈구층을 제거하고 생리식염수로 2회 세척한 다음 다시 등장성 MgCl<sub>2</sub> 용액에 1mM EDTA를 함유한 용액으로 2회 세척하였다.

이렇게 세척된 적혈구만을 모아서 혈색소의 부착이 없는 적혈구막(hemoglobin-free ghosts)을 얻기 위하여 Rosenberg<sup>19)</sup>등의 방법에 따라서 30배 용량의 15mOsM

Tris-HCl buffer (pH 7.5, 8.5mM Tris-6.5mM HCl 혼합액)을 첨가하여 4°C에서 한시간동안 방치하였다.

이렇게 용혈된 적혈구를 4°C에서 10,000g로 15분간 원심분리한 다음 상동액을 제거하여 막분획 만을 얻었다. 침전된 막분획을 다시 같은 조작으로 15mOsM Tris-HCl buffer 용액에 1mM EDTA를 혼합한 용액으로 2회 원심조작으로 세척한 다음 15mOsM Tris-HCl buffer로 1회 세척하였다. 이렇게 해서 얻은 막분획은 혈색소의 부착이 없는 유백색 막분획이었으며 이것을 본 실험에 사용하였다.

ATPase의 활성도는 Dunham<sup>12)</sup>등의 방법에 따라 측정하였다. 10ml의 여러 실험판내에 막분획과 여러 반응액을 각각 0.1ml씩을 첨가하고 중류수로 조절하여 총량을 1ml로 하여 44°C에서 한시간동안 water bath에 부치하였다. 여러 실험판에 막분획과 여러 반응액을 넣은 다음 15mM ATP를 가할 때는 15초 간격으로 첨가하고 한시간 동안 반응을 시킨 다음에는 다시 15초 간격으로 얼음으로 냉각시킨 물속으로 실험판을 이동시켜서 1분간 냉각시켰다.

다시 냉각된 10% trichloroacetic acid를 1ml씩을 같은 시간 간격으로 첨가하여 반응을 정지시킨 다음 15분간 1,000g로 원심분리하여 단백질을 침전시키고 그 상동액 1.5ml 내에 유리된 inorganic phosphate를 Fiske-Subbarow<sup>20)</sup>법에 의하여 측정하여 ATPase의 활성도로 나타내었다.

## 실험성적

### 1. Serotonin의 농도의 영향

반응액내의 serotonin의 농도를 0에서 20mM 까지 증가시켜서 NaK ATPase의 활성도에 미치는 영향을 제 1 도에 도시하였다.

반응액내의 serotonin의 농도를 0에서 2mM 까지 증가시키면 NaK ATPase의 활성도는 증가되나 그 이상의 농도인 2mM에서 20mM 까지 농도를 증가시킨 때에는 NaK ATPase의 활성도는 점차 감소되었으며 serotonin의 최적농도는 2mM이다.

### 2. pH의 영향

제 2 도에는 2mM serotonin을 작용시켰을 때와 serotonin을 작용시키지 않았을 때의 pH의 영향을 도시하였다. 이 반응액내의 pH는 0.2M Tris와 0.2M HCl을 혼합하여 pH를 6.8에서 9.0까지 변동시켜서

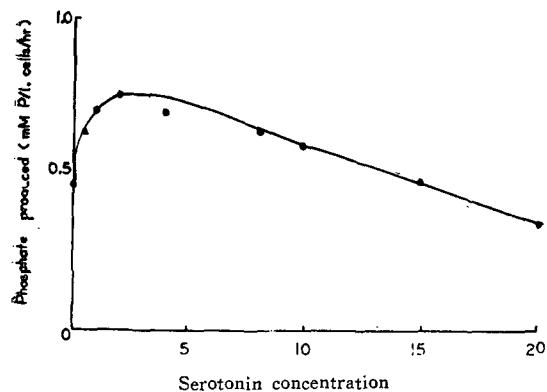


Fig. 1. The effect of serotonin concentration on the rate of liberation of phosphate from ATP by red cell ghost ATPase. Temp. 44°C; pH 7.6; ATP 1.5mM; Mg 2mM; Na 80mM; K 17mM. Duration 1hr.

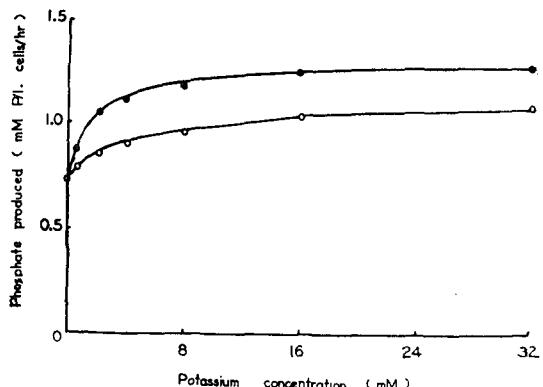


Fig. 3. The effect of potassium concentration on the ATPase activity of red cell ghosts in the presence and absence of serotonin. Temp. 44°C; pH 7.6; ATP 1.5mM; Mg 2mM; Na 80mM; Duration 1hr. ○ serotonin absent; ● serotonin 2mM.

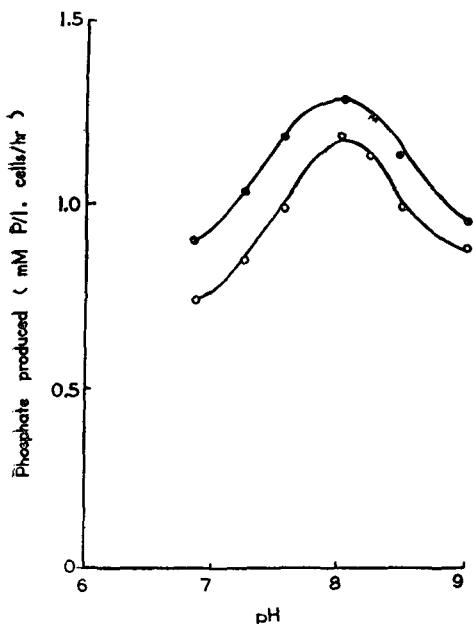


Fig. 2. The effect of pH on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; ATP 1.5 mM; Mg 2mM; Na 80mM; K 17mM; Duration 1hr. ○ serotonin absent; ● serotonin 2mM.

서 NaK ATPase의 활성도를 측정하였다. Serotonin을 작용시켰을 때와 작용시키지 않았을 때 pH의 영향은 별다른 차이를 나타내지 않았으며 최적 pH는 8.0이다.

### 3. K 이온 농도의 영향

반응액 내의 Na 이온의 농도를 일정하게 유지하고 K

이온의 농도를 변동시키면서 측정한 ATPase의 활성도의 변화와 여기에 일정 농도의 serotonin을 첨가하였을 때 나타나는 ATPase의 활성도의 변화를 관찰한 실험을 제 3 도에 도시하였다.

K 이온의 농도를 0에서 32mM 까지 변동시켜서 작용한 실험에서 ATPase의 활성도는 K 이온의 농도가 약 8mM에 이르기까지는 점차적으로 증가되나 그 이상의 농도에서는 농도증가에 따라서 활성도는 증가되지 않고 일정하게 유지되었다.

Serotonin을 첨가하였을 때의 ATPase의 활성도의 증가율은 K 이온의 농도를 증가시키는데 따라 감소되었다(제 1 표).

### 4. Na 이온의 농도의 영향

반응액 내의 K 이온의 농도를 일정하게 유지하고 Na 이온의 농도를 변동하여 ATPase의 활성도의 변동과 일정 농도의 serotonin을 첨가하였을 때의 ATPase의 활성도를 동시에 제 4 도에 도시하였다. 반응액 내의 Na 이온의 농도를 0에서 150mM 까지 증가시켜 Na 이온의 농도가 0에서 50mM에 도달할 때 까지는 ATPase의 활성도는 점차적으로 증가되나 그 이상의 농도에서는 농도증가에 따라서 활성도의 증가는 나타나지 않고 일정하게 나타난다.

Na 이온의 농도를 증가시키는데 따라서 serotonin의 작용으로 나타나는 ATPase의 활성도의 증가율은 Na 이온의 농도가 낮을 때 보다 높을 때가 감소되는 경향이다(제 2 표).

Table 1. The effect of potassium concentration on activation by serotonin of the ATPase activity of red cell ghosts

K concentration (mM)	ATPase activity (mM p.i. cells/hr.)	Activity in the presence of serotonin (2mM) (mM p.i. cells/hr.)	Activation (%)
0.5	0.80	0.96	20.0
2.0	0.84	1.09	29.8
4.0	0.87	1.13	29.9
8.0	0.96	1.17	21.9
16.0	1.01	1.22	20.8
32.0	1.03	1.23	19.4

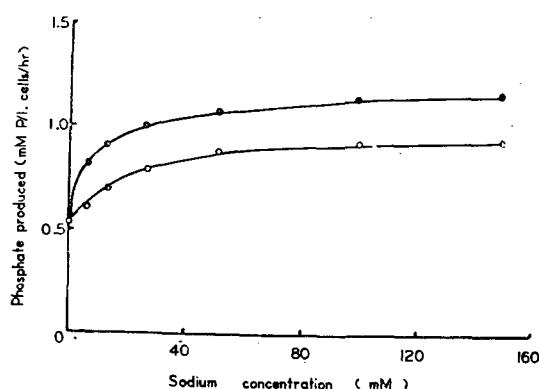


Fig. 4. The effect of sodium concentration on the ATPase activity of red cell ghosts in the presence and absence of serotonin. Temp. 44°C; pH 7.6; ATP 1.5mM; Mg 2mM; K 17mM; Duration 1hr. ○ serotonin absent; ● serotonin 2mM.

Table 2. The effect of sodium concentration on activation by serotonin of the ATPase activity of red cell ghosts

Na concentration(mM)	ATPase activity (mM p.i. cells/hr.)	Activity in the presence of serotonin(2mM) (mM p.i. cells/hr.)	Activation (%)
5	0.62	0.85	37.1
10	0.68	0.91	33.8
20	0.73	0.96	32.3
50	0.79	1.02	29.1
100	0.85	1.07	25.8
150	0.91	1.13	24.2

### 5. Ca 이온의 농도의 영향

Ca 이온의 농도를 변동시키면서 NaK ATPase의 활성도에 미치는 영향과 여기에 일정농도의 serotonin을 첨가하였을 때의 활성도의 변동을 제 5 도에 도시하였다.

Ca 이온의 농도를 0에서 10mM 까지 증가시켜서 NaK ATPase의 활성도를 관찰한 실험에서 Ca 이온의 농도가 0.1mM에 도달할 때까지는 NaK ATPase의 활성도는 증가되나 0.1mM 보다 높은 농도에서는 활성도는 억제되었으며 Ca 이온의 최적농도는 0.1mM이다.

Ca 이온의 농도의 변동에 따라서 serotonin의 NaK ATPase의 활성도의 증가율은 차이를 나타내며 Ca 이온의 농도가 낮은 부위에서는 활성도의 증가율은 감소

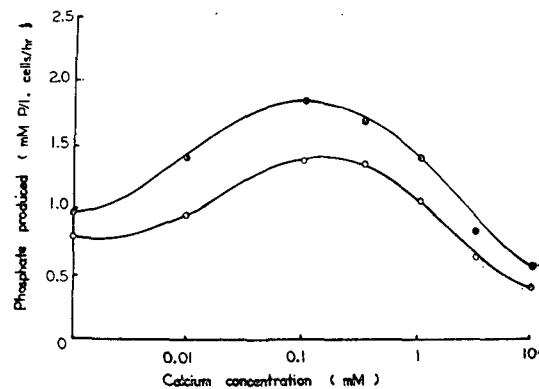


Fig. 5. The effect of calcium concentration on the ATPase activity of red cell ghosts in the presence and absence of serotonin. Temp. 44°C; pH 7.6; ATP 1.5mM; Mg 2mM; Na 80mM; K 17mM; Duration 1hr. ○ serotonin absent; ● serotonin 2mM.

Table 3. The effect of calcium concentration on activation by serotonin of the ATPase activity of red cell ghosts

Ca concentration(mM)	ATPase activity (mM p.i. cells/hr.)	Activity in the presence of serotonin(2mM) (mM p.i. cells/hr.)	Activation (%)
0.01	0.97	1.40	44.3
0.1	1.40	1.86	32.9
0.5	1.36	1.69	24.3
1.0	1.09	1.42	30.3
5.0	0.63	0.86	36.5
10.0	0.40	0.59	47.5

되고 농도가 높은 부위에서 이 효소의 활성도의 증가율은 증가한다(제Ⅲ표).

Ca 이온은 serotonin이 NaK ATPase의 활성도를 증가시키는 작용은 촉진시키는 작용을 하나 활성도의 증가율은 Ca 이온 농도에 따라서 차이를 나타낸다.

#### 6. Lysine의 영향

Serotonin의 작용으로 나타나는 NaK ATPase의 활성도에 대한 lysine의 첨가로 인한 영향을 관찰한 실험을 제6도에 도시하였다. Na이온과 K이온을 동시에 첨가하면 Mg<sup>++</sup> ATPase의 활성도는 증가되고 serotonin의 첨가로 NaK ATPase의 활성도는 더욱 증가되었다. NaK ATPase에 lysine만을 첨가한 실험에서 NaK ATPase의 활성도보다 약간 증가되나 이것은 이 효소에 대한 lysine의 보완작용에 기인되어 나타나는 작용으로 사료된다. NaK ATPase에 lysine과 serotonin을 동시에 작용하여 나타나는 활성도는 serotonin만을 작용하였을 때의 NaK ATPase의 활성도 보다 약간 증가되나 lysine만을 NaK ATPase에 작용하였을 때 나타나는 보완작용을 고려한다면

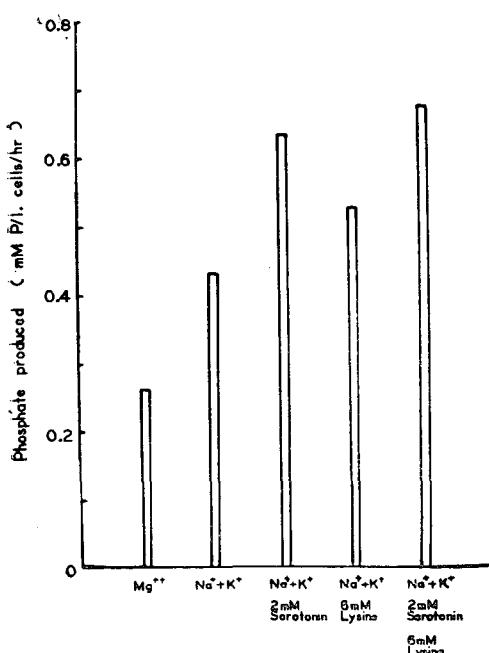


Fig. 6. The effect of lysine in the presence of serotonin on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.6; ATP 1.5mM; Mg 2mM; Na 80mM; K 17mM; lysine 6mM; serotonin 2mM. Duration 1hr.

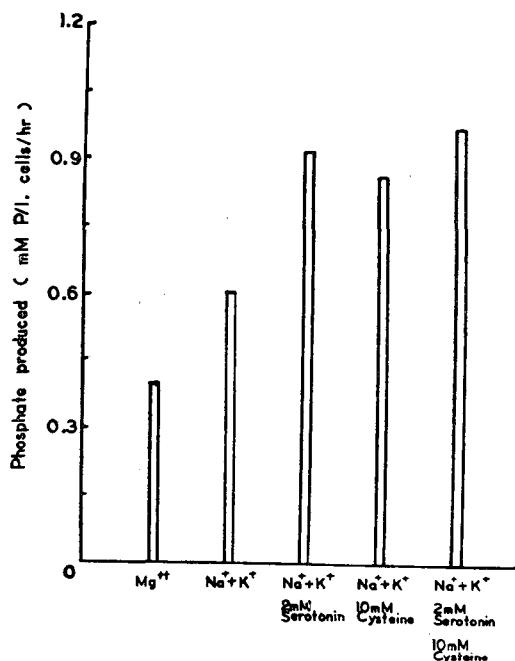


Fig. 7. The effect of cysteine in the presence of serotonin on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.6; ATP 1.5mM; Mg 2mM; Na 80mM; K 17mM; cysteine 10mM; serotonin 2mM. Duration 1hr.

serotonin의 NaK ATPase에 대한 촉진작용에는 lysine은 아무 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

NaK ATPase의 활성도에 대한 serotonin의 촉진작용은 lysine의 amino기와는 아무 관계가 없다는 것을 암시하고 있는 것이다.

#### 7. Cysteine의 영향

Serotonin의 작용으로 나타나는 NaK ATPase의 활성도에 cysteine의 첨가로 인한 영향을 관찰한 실험을 제7도에 도시하였다.

이 실험에서 Na이온과 K이온을 동시에 첨가하여 활성화되는 ATPase에 cysteine만을 첨가하였을 때에 나타나는 활성도는 cysteine을 첨가하지 않았을 때의 NaK ATPase의 활성도 보다 증가되어 있는데 이 증가는 이 효소에 대한 cysteine의 보완작용에 기인하는 것으로 사료된다.

NaK ATPase에 cysteine과 serotonin을 동시에 첨가한 실험에서 cysteine으로 인한 보완작용을 고려한다면 serotonin으로 나타나는 NaK ATPase의 활성도의 촉진작용은 cysteine의 첨가로 현저한 억제작용이

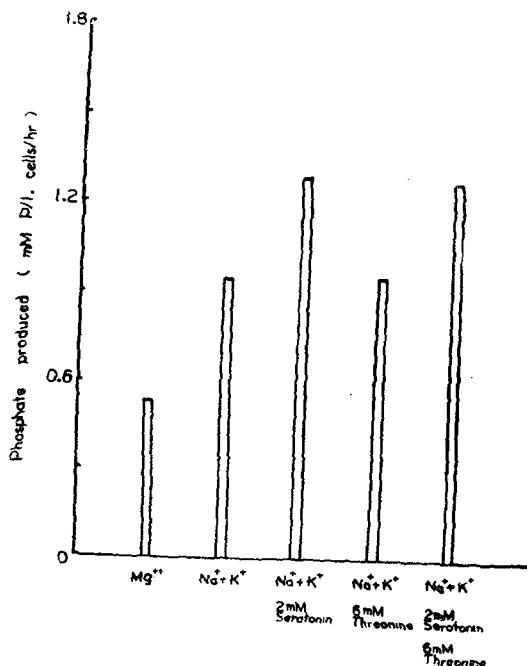


Fig. 8. The effect of threonine in the presence of serotonin on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.6; ATP 1.5mM; Mg 2mM; Na 80mM; K 17mM; threonine 6mM; serotonin 2mM. Duration 1hr.

일어나 있다는 것을 알 수 있다.

이는 NaK ATPase 의 활성도에 대한 serotonin 的 촉진작용은 cysteine 이 함유하고 있는 SH 기와 관계가 있다는 것을 암시하고 있는 것이다.

### 8. Threonine 의 영향

Serotonin 의 작용으로 나타나는 NaK ATPase 의 활성도에 대한 threonine 的 영향을 관찰한 실험을 제 8 도에 도시하였다.

이 실험에서 NaK ATPase 에 threonine 만을 첨가하였을 때의 활성도는 threonine 을 첨가하지 않았을 때의 이 효소의 활성도와 아무 차이를 나타내지 않았다. Threonine 과 serotonin 을 동시에 NaK ATPase 에 첨가했을 때의 활성도의 증가는 serotonin 만을 첨가했을 때의 활성도의 증가와 아무 차이를 나타내지 않았다. serotonin 의 첨가로 나타나는 NaK ATPase 의 활성도의 증가작용은 threonine 이 함유하고 있는 OH 기는 아무 영향을 주지 못하는 것을 암시하고 있는 것이다.

### 9. Aspartic acid 의 영향

NaK ATPase 의 활성도에 대한 serotonin 的 촉진작

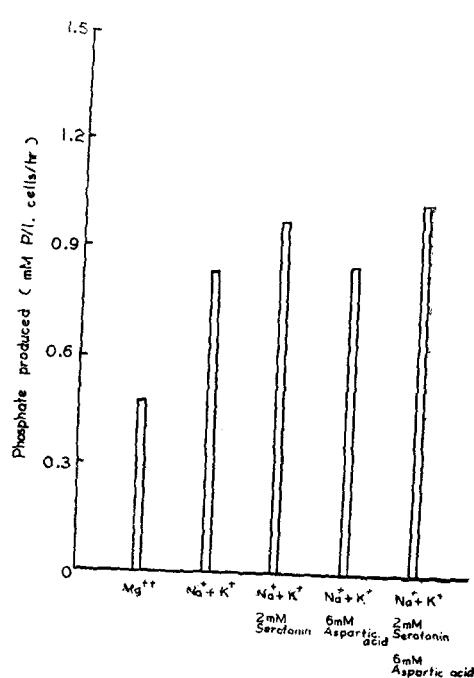


Fig. 9. The effect of aspartic acid in the presence of serotonin on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.6; ATP 1.5mM; Mg 2mM; Na 80mM; K 17mM; aspartic acid 6mM; serotonin 2mM. Duration 1hr.

용에 aspartic acid 를 작용시켜서 나타나는 영향을 본 실험을 제 9 도에 도시하였다.

Na 이온과 K 이온을 동시에 첨가하였을 때의 활성화되는 NaK ATPase 에 aspartic acid 만을 첨가하여 나타나는 활성도는 aspartic acid 를 첨가하지 않았을 때 나타나는 활성도 보다 약간의 증가를 나타내고 있다.

Aspartic acid 와 serotonin 을 동시에 첨가하였을 때의 NaK ATPase 의 활성도는 serotonin 만을 첨가하였을 때의 NaK ATPase 의 활성도 보다 약간의 증가를 나타내고 있으나 aspartic acid 의 NaK ATPase 에 대한 보완작용을 고려한다면 aspartic acid 의 첨가로 serotonin 의 NaK ATPase 의 작용에는 거의 아무 작용이 없는 것으로 생각된다. 이 실험으로 serotonin 의 NaK ATPase 의 활성도에 대한 작용에는 aspartic acid 가 함유하는 COOH 기는 아무 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

### 10. Histidine 의 영향

NaK ATPase 의 활성도에 미치는 serotonin 의 작용에 대한 histidine 의 영향을 관찰한 실험을 제 10 도에

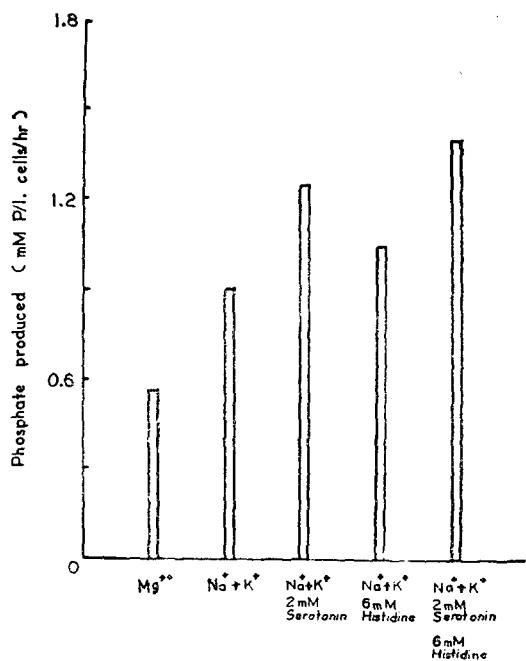


Fig. 10. The effect of histidine in the presence of serotonin on the ATPase activity of red cell ghosts. Temp. 44°C; pH 7.6; ATP 1.5 mM; Mg 2mM; Na 80mM; K 17mM; histidine 6mM; serotonin 2mM. Duration 1hr.

도시하였다.

Na 이온과 K이온을 동시에 첨가하였을 때의 활성화되는 ATPase에 histidine만을 첨가하였을 때의 나타나는 활성도는 histidine을 첨가하지 않았을 때보다 증가되었다. 이 증가는 NaK ATPase에 대한 histidine의 보완작용에 기인되는 것으로 생각된다. NaK ATPase에 histidine과 serotonin을 동시에 첨가하였을 때의 활성도는 serotonin만 NaK ATPase에 첨가하였을 때의 활성도 보다 증가되나 histidine의 첨가로 나타나는 NaK ATPase에 대한 보완작용을 고려한다면 serotonin의 작용으로 촉진되는 NaK ATPase의 활성도에는 histidine이 아무 영향을 주지 못하는 것으로 생각된다.

NaK ATPase에 대한 serotonin의 촉진작용에는 histidine이 함유하고 있는 imidazole기가 아무 영향을 주지 않는 것을 암시하고 있는 것이다.

## 고 졸

세포막에서 Na 이온과 K이온을 동시에 첨가하였을

때에 활성화되는 ATPase는 사람 적혈구<sup>1~3)</sup>이나 squid의 축삭돌기 껍질<sup>2)</sup> 또는 콩팥의 세뇨관<sup>22)</sup>과 간세포막<sup>23)</sup>에서도 분리되어 이를 세포막 내에 있는 ATPase는 양적으로는 차이가 있으나 근본적으로는 같은 특징을 가지고 있어 세포막에서 이루어지는 이온의 능동적 운반과 밀접한 관련을 가지고 있다는 사실은 여러 연구자들<sup>7~9)</sup>이 주장하고 있다.

토끼 적혈구에서도 Na 이온과 K이온으로 활성화되는 ATPase가 있으며 이 ATPase의 활성도는 serotonin의 작용으로 촉진되었다. Serotonin의 농도의 변동에 따라서 NaK ATPase의 활성도의 증가율은 변동되어 serotonin의 최적농도는 2mM이다.

세포막에서 Na 이온을 세포막 밖으로 K이온을 세포막 안으로 능동적 운반하는 작용과 밀접한 관계가 있는 이 효소의 활성도를 serotonin이 촉진시키고 있다는 것은 serotonin이 세포막에서 이루어지는 이온의 능동적 운반을 촉진시키고 있다는 것을 암시하고 있는 것이다. 세포막에서 이온의 능동적 운반이 촉진되면 세포막안의 K이온의 증가가 일어나서 음이온을 중화시키게 됨으로 세포막안의 음이온의 감소가 일어나게 되어 막전위는 감소됨으로 세포는 흥분성이 높아지는 상태에 도달되는 것으로 사료된다.

Whittam<sup>24)</sup>과 Glynn<sup>25)</sup>등은 양이온들은 세포막의 효소계에서 서로 다른 친화성을 가진 반응부위가 있어서 한측은 Na 이온에 의하여 다른 부위는 K이온에 의하여 결합되어 활성화된다고 하고 Na 이온과 K이온을 동시에 작용하여 활성화되는 NaK ATPase는 세포막내부측에서는 Na 이온과 외부측에서는 K이온과 친화성을 가지고 있다고 주장한 바 있다. 한편 ghosts 세포막은 K이온이나 Na 이온에 대한 투과성이 높으니까 이를 이온들이 반응액 내에 가해진다면 친화성을 가진 부위에 작용할 것이다.

반응액내의 K이온의 농도를 증가시키면서 NaK ATPase의 활성도의 변동을 관찰한 실험에서 Na 이온의 농도를 일정하게 유지하고 K이온의 농도만을 증가시키면 농도의 증가에 따라서 이 효소의 활성도는 증가되고 일정한 농도에 도달하면 활성도의 증가는 나타나지 않는다는.

이 현상은 K이온의 농도가 낮은 부위에서는 K이온과 Na 이온의 농도비율은 낮아져 있어 Na 이온이 K이온의 반응부위에 치환이 일어나서 일부의 K이온의 반응부위는 Na 이온으로 점유될 것이나 K이온의 농도가 낮음으로 활성화되는 K이온의 반응부위는 일부분에 끝치게 됨으로 이 효소의 활성도는 감소되어 있으며

K이온의 농도가 높은 부위에서는 K이온과 Na의 온의 농도비율은 높아지게 되고 Na이온이 K이온의 반응부위와 치환이 일어날 것이나 적은 양밖에 이루어지지 못하고 K이온의 농도증가로 인한 K이온의 반응부위가 활성화됨으로 효소의 활성도는 증가되는 것으로 생각된다.

K이온의 농도를 증가시키는데 따라서 serotonin의 작용으로 인한 NaK ATPase 의 활성도의 증가율은 감소되었다. K이온의 농도가 낮은 부위에서는 K이온과 Na이온의 농도비율은 낮아져 있어 Na이온이 K이온의 반응부위와 치환이 일어나서 일부의 K이온 반응부위는 Na이온으로 점유될 것이나 K이온의 농도가 낮음으로 K이온의 반응부위는 일부분 밖에 점유되지 못함으로 이 반응부위에 대한 serotonin의 친화성이 높아져서 효소의 활성도를 증가시키고 K이온의 농도가 높은 부위에서는 K이온과 Na이온의 농도비율은 높아지나 Na이온은 K이온의 반응부위와 치환하게 되고 K이온의 농도 증가로 인하여 K이온의 반응부위가 포화되어 감으로 K이온 반응부위에 대한 serotonin의 친화성이 감소되어 이 효소의 활성도의 증가율은 K이온의 농도증가에 따라서 감소되는 것으로 생각된다.

K이온의 농도를 일정하게 유지하고 Na이온의 농도만을 증가시키는데 따라서 나타나는 NaK ATPase의 활성도의 변동을 관찰한 실험에서 Na이온의 농도를 증가시키는데 따라서 이 효소의 활성도는 증가되고 일정한 농도에 도달하면 그 이상 Na이온의 농도를 증가시켜도 활성도는 거의 증가되지 않았다. 이 현상은 Na이온의 농도가 낮은 부위에서는 K이온과 Na이온의 농도비율은 높아져 K이온이 Na이온의 반응부위와 치환이 일어나서 Na이온의 반응부위를 점유될 것이나 Na이온의 농도가 낮음으로 Na이온의 반응부위는 일부분 밖에 활성화시키지 못함으로 효소의 활성도는 감소되고 Na이온의 농도가 높은 부위에서는 K이온과 Na이온의 농도비율은 낮아져서 Na이온이 K이온의 반응부위에 치환이 일어나겠으나 Na이온의 농도가 높음으로 Na이온의 반응부위는 포화되어서 이 반응부위가 활성화되어 효소의 활성도를 증가시키는 것으로 사료된다.

Na이온의 농도를 증가시키는데 따라서 serotonin의 작용으로 인한 NaK ATPase 의 활성도의 증가율은 감소되었다. Na이온의 농도가 낮은 부위에서는 K이온과 Na이온의 농도비율은 높아져 있어 K이온의 Na이온의 반응부위와 치환이 일어날 것이나 Na이온의 농도

가 낮음으로 Na이온의 반응부위는 일부 밖에 점유되지 못함으로 이 반응부위에 대한 serotonin의 친화성이 증가되어서 효소의 활성도를 증가시키고 Na이온의 농도가 높은 부위에서는 K이온과 Na이온의 농도비율은 낮아있어 Na이온이 K이온의 반응부위와 치환이 될 것이나 Na이온의 농도가 높음으로 Na이온의 반응부위는 포화되어서 이 반응부위에 대한 serotonin의 친화성이 낮아져서 효소의 활성도를 감소시킴으로 Na이온의 농도의 증가에 따라서 효소의 활성도의 증가율은 감소되는 것으로 생각된다.

이 효소의 Na이온이나 K이온의 반응부위에 serotonin이 결합할 수 있다는 것을 암시하고 있다.

반응액내에 Ca이온의 농도를 증가시키면서 NaK ATPase의 활성도의 변동을 관찰한 실험에서 Ca이온의 낮은 농도에서 NaK ATPase의 활성도를 증가시키고 높은 농도에서는 활성도를 감소시키며 Ca이온의 최적농도는 0.1mM이다. 일정농도의 serotonin을 작용시키고 Ca이온의 농도를 증가시키면서 NaK ATPase의 활성도를 관찰한 실험에서 Ca이온은 이 효소에 대한 serotonin의 작용을 촉진시키는 작용을 한다. Ca이온의 농도의 변동에 따라서 serotonin의 작용으로 나타나는 이 효소의 활성도의 증가율에는 차이가 있으며 Ca이온의 농도가 낮은 부위에서는 활성도의 증가율은 감소되고 농도가 높은 부위에서는 증가된다.

반응액내에 lysine, threonine, aspartic acid 및 histidine 등을 각각 ghosts에 전처치한 다음 serotonin을 작용시켜서 NaK ATPase의 활성도에 대한 작용을 관찰한 실험에서 serotonin으로 인한 촉진작용은 아무 영향을 받지 않았다. 이는 lysine의 NH<sub>2</sub>기나, threonine의 OH기, aspartic acid의 COOH기 및 histidine의 imidazole기가 이 효소에 대한 serotonin의 촉진작용과 아무 관련을 가지고 있지 않다는 것을 뜻하는 것이다.

반응액내에 cysteine으로 ghosts를 전처치한 다음 serotonin을 첨가하여 NaK ATPase의 활성도에 대한 작용을 관찰한 실험에서 cysteine의 전처치로 serotonin의 이 효소에 대한 촉진작용이 현저하게 억제되었다. 이는 cysteine이 함유하고 있는 SH기가 serotonin의 NaK ATPase의 활성도를 촉진시키는 작용과 관계가 있다는 것을 암시하는 것이다. 이 실험 결과는 serotonin이 NaK ATPase의 활성도를 촉진시키는 작용은 이 효소내에 있는 SH와 결합하여 나타나는 현상이라 것을 암시하고 있는 것이다.

Serotonin은 세포막 내에 있는 NaK ATPase의 활

성도를 증가시키는 것으로 미루어 보아 이 효소와 밀접한 관계가 있는 Na이온을 세포막 밖으로 K이온을 세포막안으로 농동적 운반을 하는 작용을 촉진시켜서 세포막의 흥분성을 증가시키는 작용이 있다는 것을 암시하고 있으며 이같은 작용은 이 효소내의 SH기와 관여 되는 것으로 사료되나 어떤 작용기전에 의하여 나타나는지는 앞으로의 실험에 기대된다.

### 결 론

적혈구막 내에 있는 Na이온과 K이온으로 활성화되는 ATPase에 대한 serotonin의 작용을 알고자 토끼 적혈구로 ghosts 세포를 만들어 NaK ATPase에 대한 serotonin의 작용과 작용기전도 아울러 실험하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) Serotonin은 낮은 농도에서 NaK ATPase의 활성도를 촉진시키고 높은 농도에서는 활성도의 촉진작용은 감소되어 최적농도는 2mM이다. Serotonin의 이효소에 대한 작용은 pH의 영향을 받으며 최적 pH는 8.0이다.
- 2) K이온의 농도증가로 NaK ATPase의 활성도에 대한 serotonin의 작용은 증가되나 증가율은 감소된다.
- 3) Na이온의 농도 증가로 NaK ATPase의 활성도에 대한 serotonin의 작용은 증가되나 증가율은 감소된다.
- 4) Ca이온은 낮은 농도에서 NaK ATPase 활성도는 증가되고 높은 농도에서는 감소된다. 이 효소에 대한 serotonin의 작용은 Ca이온으로 촉진되며 Ca이온의 낮은 농도에서는 활성도의 증가율은 감소되고 높은 농도에서는 증가된다.
- 5) Serotonin의 NaK ATPase의 활성도를 촉진시키는 작용에는 NH<sub>2</sub>, OH, COOH 및 imidazole 기등은 아무 영향을 주지 않는다.
- 6) Serotonin의 NaK ATPase의 활성도를 촉진하는 작용은 이 효소내의 SH기와 관계된다.

### 참 고 문 헌

- 1) Danowski, T.S.: *The transfer of potassium across the human blood cell membrane*. *J. Biol. Chem.* 139:693, 1941.
- 2) Harris, E.J.: *The influence of the metabolism of human erythrocytes on potassium content*. *J. Biol. Chem.* 145:579, 1941.
- 3) Maizels, M.: *Cation control in human erythrocytes*. *J. Physiol.* 108:247, 1949.
- 4) Glynn, I.M.: *Sodium and potassium movements in human red cells*. *J. Physiol.* 134:278, 1956.
- 5) Post, R.L., and Jolly, P.C.: *Linkage of sodium, potassium, and ammonium active transport across human erythrocyte membrane*. *Biochem. et Biophys. Acta*. 25:118, 1957.
- 6) Garrahan, P.J. and Glynn, I.M.: *Uncoupling sodium pump*. *Nature (London)*. 207:1098, 1965.
- 7) Sen, A.K., and Post, R.L.: *Stoichiometry and localization of adenosine triphosphate-dependent sodium and potassium transport in the erythrocyte*. *J. Biol. Chem.* 239:345, 1964.
- 8) Whittam, R., and Ager, M.E.: *Connexion between active cation transport and metabolism in erythrocytes*. *Biochem. J.* 97:214, 1965.
- 9) Garrahan, P.J., and Glynn, I.M.: *The stoichiometry of the sodium pump*. *J. Physiol.* 192:217, 1967.
- 10) Skou, J.C.: *Influence of some cations on adenosine triphosphatase from peripheral nerves*. *Biochem. et biophys. acta*. 23:394, 1957.
- 11) Tosteson, D.C. and Hoffman, J.F.: *Regulation of cell volume by active cation transport in high and low potassium sheep red cells*. *J. Gen. Physiol.* 44:442, 1962.
- 12) Dunham, E.T. and Glynn, I.M.: *Adenosinetriphosphatase activity and active movements of alkali metal ions*. *J. Physiol.* 156:274, 1961.
- 13) Glynn, I.M.: *Action of cardiac glycosides on ion movements*. *Pharmacol. Rev.* 16:381, 1964.
- 14) Duggan, D.E., and Noll, R.M.: *Effects of etacrynic acid and cardiac glycosides upon membrane adenosinetriphosphatase of renal cortex*. *Arch. Biochem.* 109:388, 1965.
- 15) Caldwell, P.C., and Keynes, R.D.: *Effect of ouabain on efflux of sodium from squid giant axon*. *J. Physiol.* 148:8, 1959.
- 16) Judah, J.D., and Ahmed, K.: *Inhibitors of tr-*

- ansport and cation activated ATP ase. J. cell. & Comp. Physiol. 64:355, 1964.*
- 17) Glynn, I.M.: *The action of cardiac glycosides on sodium and potassium movements in human red cells. J. Physiol. 136:148, 1957.*
- 18) Skou, J.C.: *Preparation from mammalian brain and kidney of the enzyme system involved in active transport of  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$ . Biochem, Biophys. Acta. 58:314, 1962.*
- 19) Rosenberg, S.A., and Guidotti, G.: *The protein of human erythrocyte membranes. I. Preparation, solubilization, and partial characterization. J. Biol. Chem. 243:1985, 1968.*
- 20) Fiske, C.H. and Subbarow, Y.: *The colorimetric determination of phosphorous. J. Biol. Chem. 65:375, 1925.*
- 21) Bonting, S.L. and Caravaggio, L.L.: *Sodium-potassium activated adenosinetriphosphatase in squid giant axon. Nature (London) 194: 1180, 1962.*
- 22) Spater, H.W., Novikoff, A.B. and Masek, B.: *Adenosinetriphosphatase activity in cell membrane of kidney tubule cells. J. Biophys. & Biochem. Cytol. 4:765, 1958.*
- 23) Essner, E., Novikoff, A.B. and Masek, B.: *Adenosinetriphosphatase and 5-nucleotidase activities in plasma membrane of liver cells revealed by electron microscopy. J. Biophys. & Biochem. Cytol. 4:711, 1958.*
- 24) Whittam, R.: *Asymmetrical stimulation of membrane adenosinetriphosphatase in relation to active cation transport. Biochem. J. 84:110, 1962.*
- 25) Glynn, I.M.: *Activation of adenosinetriphosphatase activity in a cell membrane by external potassium and internal sodium. J. Physiol. 160:18, 1962.*