

토끼 신피질 절편에서 PCMB가 유기이온의 이동에 미치는 영향

부산대학교 의과대학 생리학교실

박인철 · 김태인 · 정동근 · 김용근

(1990년 11월 1일 접수)

= Abstract =

Effect of PCMB on Organic Ion Transport in Rabbit Renal Cortical Slices

In Cheol Park, Tae In Kim, Dong Keun Jung and Young Keun Kim

Department of Physiology, College of Medicine, Pusan National University

To determine the role of sulfhydryl group in transport of organic ions across the basolateral membrane of renal proximal tubules, effect of *p*-chloromercuribenzoic acid (PCMB) on the transport of tetraethylammonium (TEA) and *p*-aminohippurate (PAH) was studied in rabbit renal cortical slices.

PCMB caused irreversible inhibition of TEA and PAH uptake in a dose-dependent manner, with I_{50} value (concentration for 50% inhibition) of 30 μ M for TEA and 75 μ M for PAH. Kinetic analysis of TEA and PAH uptakes showed that PCMB decreased V_{max} (62.35 vs. 28.32 n mole/g·min for TEA; 385.24 vs. 170.36 n mole/g·min for PAH) without changing K_m . The inhibitory action of PCMB on TEA and PAH uptakes was independent of pH of the pretreatment medium. The inhibitory effect of PCMB on the uptake of TEA or PAH was prevented by dithiothreitol, but not by the substrate. PCMB inhibited Na-K-ATPase activity in a dose-dependent manner with I_{50} value of 50 μ M, which is similar to those for TEA and PAH uptake.

These results suggest that PCMB inhibits the transport of organic cations and anions in the renal basolateral membrane by directly affecting the SH-group in the transporter molecules or secondly by altering the Na-K-ATPase activity.

Key Words: PCMB, Tetraethylammonium, *p*-aminohippurate, Renal cortical slices

서 론

Tetraethylammonium(TEA)과 같은 유기양이온과 *p*-aminohippurate(PAH)와 같은 유기음이온은 서로 다른 운반기전에 의해 운반되지만 신장의 근위 세뇨관에서 능동적으로 분비되는 것으로 알려져 있다(Tune et al, 1969; Rennick, 1981). 또한 TEA가 혈액에서 세뇨관 강내로 분비될때 luminal membrane을 통해서는 H^+ 과 교환 기전에 의해 이동한다는 사실이 membrane vesicle을 이용한 실험들에서

밝혀졌으며(Jung et al, 1989; Holohan, 1981), basolateral membrane을 통한 이동은 신피질 절편(Kim et al, 1988; Kim et al, 1986)이나 isolated nonperfused proximal tubule(Tarloff & Brand, 1986)을 이용한 실험들에서 능동적 과정에 의함이 밝혀졌다. 한편 PAH는 근위세뇨관의 basolateral membrane에 존재하는 능동적 이동과정을 통해 혈액에서 세포내로 이동되며(Tune et al, 1969; Dantzer, 1974; Dantzer, 1976) 세뇨관 상피세포에서 세뇨관 강내로 luminal membrane을 통한 이동은 농도 차에 의해서 일어나지만 단순 확산이 아닌 운반체에

매개되는 과정임이 보고되고 있다(Møller & Sheikh, 1978). 그러나 근위세뇨관의 basolateral membrane을 통한 TEA 및 PAH 이동에 관계하는 운반체들의 분자특성에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 물질이동에 관계하는 여러 운반체들의 특성들은 amino acid-specific reagent들을 이용하여 밝히고 있으며(Mandel, 1978; Sigman & Mooser, 1975), 이러한 방법으로 basolateral membrane을 통한 PAH 이동에는 arginyl 및 histidyl group들(Tse et al, 1984a; Sokol et al, 1988)이 중요하게 작용함이 밝혀진 바 있다.

Sulfhydryl(SH)-group은 적혈구막에서 포도당의 이동(Nay, 1989), 신장 근위세뇨관 세포의 brush-border membrane에서 D-glucose(Turner & George, 1983), phosphate(Pratt & Pedersen, 1989), dipeptide(Miyamoto et al, 1989) 및 Cl^-/OH^- 교환(Karniski, 1989) 이동에 중요하게 작용하는 것으로 밝혀짐에 따라 SH-group이 세포막을 통한 물질 이동에 중요한 부분임이 인정되고 있다. 유기염기나 유기산의 이동에 대한 SH-group의 역할에 대해서 Hori등(1987)과 Sokol등(1986)이 brush-border membrane vesicle을 이용하여 연구한 바 있는데 이들은 TEA와 PAH 이동에 모두 SH-group이 관여함을 확인하였다. 그러나 basolateral membrane을 통한 이들 이온들의 이동에 대해서는 Tse등(1983, 1984a)이 basolateral membrane vesicle에서 PAH 이동에 대한 SH-group 반응 약물들의 효과를 관찰한 보고 이외는 별로 연구된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 신장 근위세뇨관의 basolateral membrane에서 유기염기 및 유기산의 이동에 대한 SH-group의 역할을 밝히기 위하여 SH-group 반응 약물인 *p*-chloromercuribenzoic acid(PCMB)가 신피질 절편에서 TEA 및 PAH 이동에 미치는 효과를 연구하였다.

실 험 방 법

1. TEA 및 PAH 이동의 측정

1.5~2 Kg 정도의 가토를 탈골에 의해 희생시킨 뒤 신장을 적출하여 피막을 벗기고 산소를 공급하면서 약 2°C로 냉각시켜둔 냉한 등장성 식염수(130

mM NaCl, 5 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4)에 넣은 다음, 이 용액을 신통맥내 관류시켜 혈액을 제거하였다. Stadie-Riggs microtome으로 0.4~0.5 mm 두께의 신피질 절편을 만든 뒤 4 ml의 modified Cross-Taggart용액(130 mM NaCl, 10 mM KCl, 1.5 mM $CaCl_2$, 10 mM Tris-HCl, pH 7.8)이 들어있는 flask속에 약 100 mg의 신피질 절편을 넣고 100% O_2 를 공급하면서 25°C에서 30분 동안 preincubation 하였다. 다음 10 μ M TEA 또는 75 μ M PAH와 미량의 ^{14}C -TEA 또는 ^{14}C -PAH가 들어있는 incubation 용액속에 절편을 옮긴 뒤 preincubation과 동일한 조건하에서 1시간 동안 incubation 하였다. Incubation 용액의 기본 조성은 TEA의 경우 modified Cross-Taggart 용액과 동일하나 PAH의 경우 10 mM Na acetate를 첨가하였다. Incubation 후 용액속의 절편을 들어내어 여과지 위에서 물기를 제거하고 각각의 무게를 달았다. 조직을 1 N NaOH로 용해시키고 HCl로 중화한 후 ^{14}C 방사능을 liquid scintillation counter(Packard Tricarb 300)로 측정하였다. Incubation 용액도 같은 방법으로 처리하여 방사능을 측정하였으며 TEA와 PAH의 조직내 측정량은 slice-to-medium(S/M)비로 나타내었다. PCMB의 효과를 볼때는 dimethyl sulfoxide에 녹인 후 preincubation 용액이나 incubation 용액속에 첨가하였다.

2. Irreversibility 검정

PCMB를 첨가한 용액과 첨가하지 않은 용액 속에서 30분간 preincubation한 절편을 PCMB가 들어있지 않은 동일 조성의 용액속에서 30분 또는 60분간 세척하여 절편에 결합된 PCMB를 제거하고 다시 PCMB를 첨가하거나 첨가하지 않은 용액속에서 1시간 동안 반응시킨 뒤 TEA와 PAH 이동을 측정하였다.

3. 동력학적 조사

PCMB를 넣은 용액과 넣지 않은 용액(control)에서 30분간 preincubation한 뒤 이것을 PCMB가 들어있지 않은 동일한 조성의 incubation 용액속에서 옮겨 10분간 TEA와 PAH의 이동을 측정하였으며, 수동적 이동은 100%의 N_2 환경 하에서 TEA의 경

우 10 mM의 choline chloride를 첨가한 용액속에, 그리고 PAH의 경우 1 mM의 2,4-dinitrophenol과 1 mM iodoacetic acid가 들어있는 용액속에 피질절편을 incubation하여 측정하였으며, 총 이동량에서 수동적 이동량을 감하여 능동적 이동량을 산출하였다.

4. Dithiothreitol(DTT)과 기질의 효과

PCMB를 처리하는 용액 속에 DTT(5 mM)나, TEA(10 mM) 또는 PAH(10 mM)를 첨가하여 30분간 preincubation 한 뒤 이들 물질이 없는 용액속에 각각 60분간 incubation하여 TEA와 PAH의 이동을 측정하였다.

5. Na-K-ATPase 활성도 측정

Na-K-ATPase 활성도는 Jørgensen과 Skou(1971)의 방법으로 측정하였다. 토끼 신장의 피질에서 microsome을 얻은 뒤(Jung et al, 1989) 총 ATPase 활성도를 측정하고 incubation 용액의 조성 중 K⁺이 없이 1 mM ouabain이 존재하는 용액속에서 Mg-ATPase 활성도를 측정하였으며 이들의 차이를 Na-K-ATPase 활성도로 하였다. ATP로부터 가수분해 되어 나오는 무기 인산의 농도를 Fiske 및 Subbaraw 방법(1925)으로 측정하였으며 각 농도의 PCMB를 incubation 용액에 첨가하여 10분간 활성도를 측정하였다.

실 험 방 법

Fig. 1은 PCMB가 신피질 절편에서 TEA 및 PAH 이동에 미치는 효과를 나타낸다. PCMB 농도를 $5 \times 10^{-6}M$ 에서 $5 \times 10^{-4}M$ 까지 증가시킬 때 이들 이온들의 피질 내 축적이 PCMB 농도에 비례하여 억제되었다. TEA 및 PAH 이동을 50% 억제하는 농도(I₅₀)는 각각 30과 75 μM 로서 TEA의 이동이 PAH 이동에 비하여 더 심하게 억제되었다.

Fig. 2는 PCMB를 포함하는 용액내에 조직절편을 preincubation한 기간에 따라 TEA와 PAH의 축적량이 변화됨을 보여준다. Preincubation 시간이 5분에서 30분까지 증가될 때는 PCMB의 효과가 점차 증가하였으나 30분 이상 증가될 때는 억제 효과는

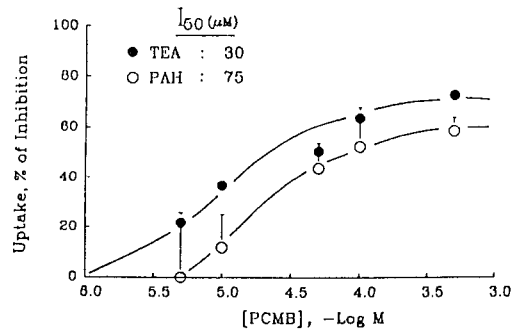


Fig. 1. Effect of PCMB on TEA and PAH uptake by renal cortical slices. Slices were incubated for 60 min at 25°C in a modified Cross-Taggart medium containing 10 μM ¹⁴C-TEA or 75 μM ¹⁴C-PAH under 100% O₂ atmosphere. The absolute S/M ratios in the absence of PCMB were 16.69 ± 4.89 for TEA and 5.49 ± 0.87 for PAH. Each point represents the mean ± SE of 3 experiments.

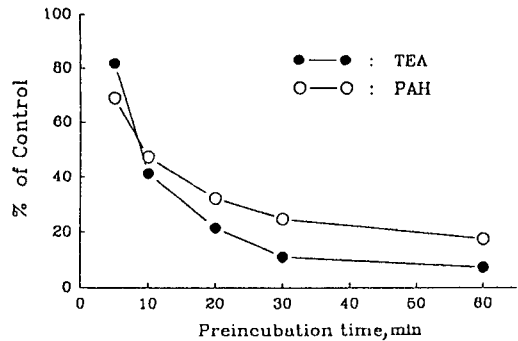


Fig. 2. Effect of pretreatment time on the inhibition of TEA and PAH uptake by PCMB ($8 \times 10^{-5}M$). Each point represents the mean ± SE of 3 experiments.

그이상 증가하지 않았다.

Fig. 3은 TEA 및 PAH의 이동을 억제하는 PCMB의 효과가 비가역적인지를 확인하기 위하여 30분 동안 PCMB를 처리한 신피질 절편을 PCMB가 들어 있지 않은 용액으로 30분 또는 60분간 세척한 뒤 PCMB가 들어 있는 용액과 들어 있지 않은 용액속에서 각각 60분간 incubation하였을 때 TEA 및 PAH의 축적에 대한 PCMB의 억제 정도를 비교한 것이다. 그림에서 보는 바와 같이 30분간 PCMB를 처리하였을 때 TEA와 PAH의 축적량은 모두

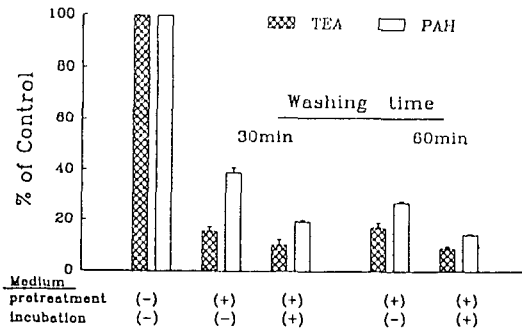


Fig. 3. Irreversibility of the inhibitory effect of PCMB on the TEA and PAH uptake. Slices were preincubated for 30 min with PCMB and then incubated for 60 min in the presence (+) and absence (-) of PCMB (8×10^{-5} M). The absolute S/M ratios (control) in the absence of PCMB in both preincubation and incubation media were 18.43 ± 2.22 for TEA and 6.18 ± 0.08 for PAH. Each point represents the mean \pm SE of 3 experiments.

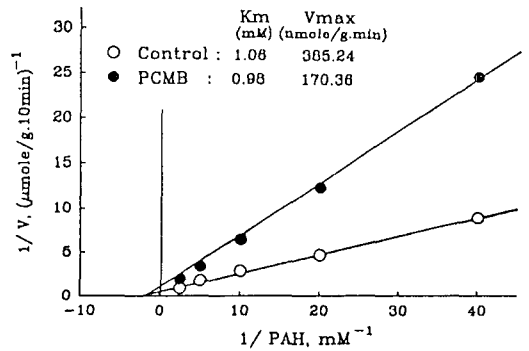


Fig. 5. Effect of PCMB on kinetics of active PAH uptake into renal cortical slices. Slices were preincubated in the absence and presence of PCMB (8×10^{-5} M) for 60 min. PAH accumulation was determined during a 10 min incubation in the presence and absence of PCMB and was corrected for passive accumulation which was determined in the presence of 1 mM 2,4-dinitrophenol and 1 mM iodoacetate under 100% N_2 atmosphere. Each point represents the mean \pm SE of 4 experiments.

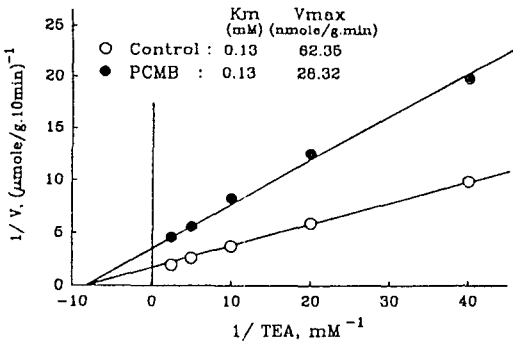


Fig. 4. Effect of PCMB on kinetics of active TEA uptake into renal cortical slices. Slices were preincubated in the absence and presence of PCMB (8×10^{-5} M) for 60 min. TEA uptake was determined during a 10 min incubation in the presence and absence of PCMB and was corrected for passive accumulation which was determined in the presence of 10 mM choline chloride under 100% N_2 atmosphere. Each point represents the mean \pm SE of 4 experiments.

incubation 용액 내 PCMB의 존재 여부와 관계없이 유의하게 억제되었으며, 세척 시간에 따라서는 유의한 차이를 보이지 않았는데, 이는 신뢰질 절편에

서 TEA와 PAH의 축적을 억제하는 PCMB의 효과가 비가역적임을 나타낸다.

Fig. 4는 TEA 이동에 대한 PCMB의 효과를 동력학적으로 분석한 결과이다. PCMB(8×10^{-5} M) 존재시 V_{max} 값이 62.35 ± 1.84 에서 28.32 ± 1.08 nmole/g \cdot min로 유의한 감소를 보인 반면 K_m 값에는 변화가 없었다 (control: 0.13 ± 0.01 , PCMB: 0.13 ± 0.02 mM). Fig. 5에서 보는 바와 같이 PAH 이동에서도 PCMB의 효과는 V_{max} 를 385.24 ± 20.06 에서 170.36 ± 17.10 nmole/g \cdot min로 유의하게 감소시킨 반면 K_m 값은 1.06 ± 0.73 에서 0.98 ± 0.13 mM로서 유의하게 변화시키지 못하였다. 따라서 TEA와 PAH 이동에 대한 PCMB의 효과는 전형적인 비경쟁적 억제 양상을 나타내었다.

PCMB의 작용이 용액내 pH의 변화에 의해 영향을 받는지를 확인하기 위하여 용액의 pH를 6.0~7.0까지는 Mes/Tris buffer로서, 7.5~8.5까지는 Tris/HCl buffer로서 변화시켜 PCMB를 전처리한 후 PCMB가 없는 정상 incubation 용액에서 TEA 및 PAH 이동량을 측정하였다. 그 결과 Fig. 6에서 보는 바와 같이 TEA와 PAH 이동에 대한 PCMB의

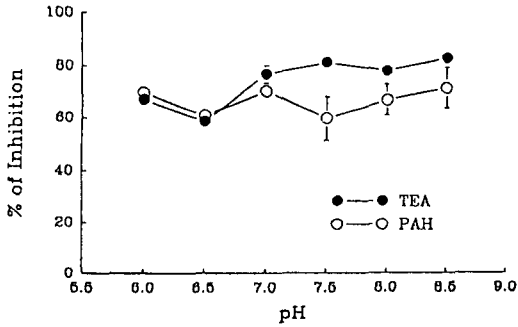


Fig. 6. Effect of pH of preincubation medium on the inhibition of TEA and PAH uptake by PCMB ($8 \times 10^{-5}M$). Medium pH was adjusted with 10 mM Mes/Tris (pH 6.0~7.0) and 10 mM Tris/HCl (pH 7.5~8.0) buffer at 25°C. Each point represents the mean \pm SE of 3 experiments.

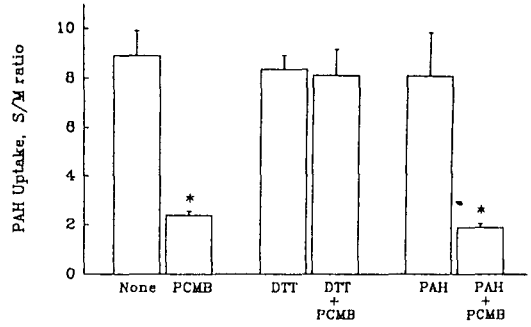


Fig. 8. Protective effect of DTT and substrate on the PCMB inhibition of PAH uptake. Slices were preincubated with DTT (5 mM), PAH (10 mM) and/or PCMB ($8 \times 10^{-5}M$). Each point represents the mean \pm SE of 3 experiments.

* Significantly different ($p < 0.01$) from the value obtained in the absence of PCMB.

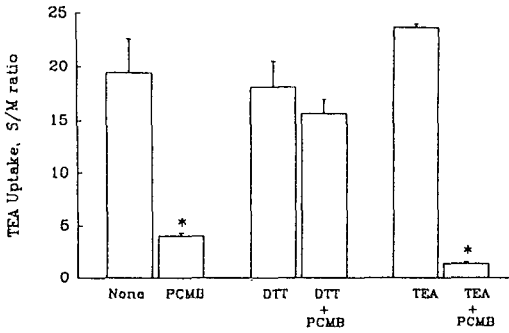


Fig. 7. Protective effect of DTT and substrate on the PCMB inhibition of TEA uptake. Slices were preincubated with DTT (5 mM), TEA (10 mM) and/or PCMB ($8 \times 10^{-5}M$). Each point represents the mean \pm SE of 3 experiments.

* Significantly different ($p < 0.01$) from the value obtained in the absence of PCMB.

작용은 측정된 범위 내에서 용액내 pH 변화에 의해 영향을 받지 않았다.

Fig. 7은 TEA 이동에서 PCMB의 억제 작용에 대한 DTT 및 기질의 효과를 알아본 실험 결과이다. PCMB 처리시 DTT 및 TEA를 같이 첨가하여 30분간 preincubation한 뒤 이들 물질이 없는 용액속에 60분간 incubation하여 TEA 이동을 측정하였다. 그 결과 PCMB 처리시 SH-group을 가진 물질인 DTT 5mM을 같이 첨가하였을 경우 PCMB의 억제 효과가 유의하게 감소되었으나 10 mM의 TEA를 같이

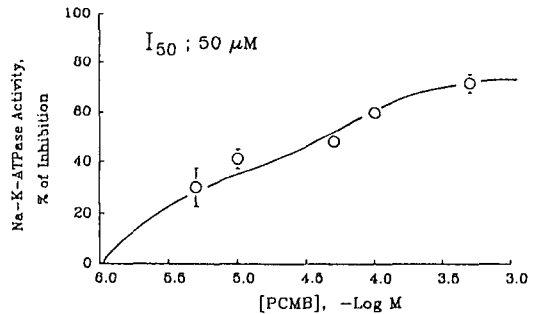


Fig. 9. Effect of varying concentrations of PCMB on the Na-K-ATPase activity. The specific activity of the control enzyme preparation was $84.9 \mu\text{mole-pi/mg protein} \cdot \text{hr}$. Each point represents the mean \pm SE of 3 experiments.

첨가하였을 때에는 PCMB의 억제 효과가 영향을 받지 않았다.

Fig. 8은 PAH 이동에서 PCMB의 억제 작용에 대한 DTT 및 기질의 효과를 알아본 실험 결과이다. PCMB 처리시 DTT 또는 PAH를 같이 첨가하여 30분간 preincubation한 뒤 세척한 다음 60분간 PAH 이동을 조사하였다. 그 결과 PCMB 처리시 DTT를 같이 첨가하였을 경우 PCMB의 억제 효과가 유의하게 감소되었으나, 10 mM PAH를 첨가하였을 때에는 PCMB의 억제 효과가 영향을 받지 않았다.

Fig. 9는 Na-K-ATPase 활성화에 대한 PCMB의 효과를 조사하기 위하여 여러가지 PCMB 농도에서 효

소의 활성을 측정된 결과이다. PCMB를 $5 \times 10^{-6} M$ 에서 $5 \times 10^{-4} M$ 까지 증가시키며 측정된 결과 효소 활성은 PCMB 농도에 비례하여 억제되었으며 50% 억제 농도는 $50 \mu M$ 이었다. Na-K-ATPase 활성에 대한 PCMB의 효과는 신피질 절편에서 TEA 및 PAH 이동에 대한 PCMB의 억제 효과(Fig. 1)와 유사한 양상을 나타내었다.

고 찰

본 실험에서 PCMB는 유기 양이온인 TEA와 유기 음이온인 PAH 이동을 강력하게 억제하였으며 PCMB를 처리한 후 PCMB가 없는 용액속에서 60 분간 세척하여도 그 억제 정도는 크게 감소하지 않음으로서 PCMB의 억제 효과가 비가역적임을 보였다. PCMB는 세포막을 쉽게 투과하기 때문에 절편을 PCMB로 30분 동안 처리했을 때 세포 안으로 약물이 들어 갔을 것으로 추측되지만 다시 60분 동안 세척하게 되면 세포 안으로 들어간 약물이 대부분 제거되었을 것으로 예상된다. Sokol (1986)도 신장 brush-border membrane에서 PCMB와 유사한 *p*-chloromercuribenzenesulfonate (PCMBs)가 PAH 이동을 비가역적으로 억제함을 보고한 바 있다. 그러나 Miyamoto 등(1989)은 신장 근위세뇨관의 dipeptide 이동에서 PCMBs의 작용이 가역적임을 보고하였는데 이러한 차이에 대해서 본 실험의 결과로서는 알 수가 없다.

토끼 신장피질에서 dipeptide 이동계(Miyamoto et al, 1989), 쥐의 간에서 아미노산 이동계(Schaeffer et al, 1973) 등에서 SH-group이 기질의 결합부위임이 알려졌다. 신장 피질 절편에서 TEA와 PAH 이동계에 SH-group이 기질의 결합부위인지를 확인하기 위하여 동력학적 분석 및 PCMB 처리시 이들 이온들을 첨가하여 관찰하였다. 그 결과 PCMB 존재시 TEA와 PAH의 이동에 대한 Km 값에는 변화 없이 Vmax 값이 유의하게 억제됨으로서 전형적인 비상경적 억제양상을 나타내었는데 이는 PCMB가 이들 이온들의 이동계에서 기질의 결합부위에 작용하지 않고 다른 SH-group에 비가역적으로 결합하여 운반계의 이동을 억제하였음을 가르킨다. 이러한 결과는 PCMB를 처리할 때 TEA와 PAH를 첨가하

여도 이들 이온들의 이동에 대한 PCMB의 억제 효과에는 영향이 나타나지 않음으로서(Fig. 7,8) 더욱 확인되었다.

일반적으로 SH-group에만 선택성을 가진 것으로 알려진 PCMBs가 망향고래(sperm-whale)의 methemoglobin에서 histidyl과 asparaginyl 잔기에 결합한다는 것이 Watson 등(1964)에 의해 보고되었다. 본 실험에서 PCMB가 SH-group이 아닌 다른 아미노산 잔기에 결합하여 유기 이온들의 이동을 억제하였을 가능성도 있다. 그러나 SH-group을 가진 DTT를 membrane에 처리하였을 때 PCMB의 억제 효과가 유의하게 감소되었기 때문에 본 실험에서 나타난 PCMB의 억제 효과는 SH-group에 선택적으로 작용한 결과임을 가르킨다.

근위세뇨관 basolateral membrane을 통한 TEA 이동은 막전압과 관련되어 있고(Kinsella et al, 1979), 유기 음이온인 PAH의 능동적 이동은 Na-K-ATPase 활성과 기능적으로 연결되어 있음이 알려져 있다(Spencer et al, 1979). 따라서 PCMB가 Na-K-ATPase 활성을 억제한다면 2차적으로 신피질 절편에서 TEA나 PAH 이동을 억제할 것이며 실제로 PCMB가 Na-K-ATPase 활성을 직접 억제함이 보고된 바 있다(Fahn et al, 1966). 본 실험에서 그 가능성을 알아보기 위하여 신장 microsome에서 Na-K-ATPase 활성에 대한 PCMB의 효과를 관찰한 결과 PCMB는 Na-K-ATPase 활성을 강력하게 억제하였으며 Na-K-ATPase 활성을 50% 억제하는 농도가 신피질 절편에서 TEA나 PAH 이동을 50% 억제하는 농도와 유사하였다. 이러한 결과는 PCMB가 신장피질 basolateral membrane을 통한 TEA와 PAH 이동을 억제하는 효과가 Na-K-ATPase 활성을 억제함으로써 2차적으로 이들 이온들의 이동을 억제하였을 가능성을 강력히 암시하고 있다. 그러나 Hori 등(1987)은 TEA 이동에 SH-group이 직접 관여함을 보고하였고, Sokol 등(1986)도 brush-border membrane vesicle을 이용한 실험에서 PCMB가 PAH 이동계를 직접 억제함을 보고하였다. 본 실험에서도 PCMB가 TEA나 PAH 이동을 억제하는 효과가 Na-K-ATPase 활성을 억제함으로써 나타남이 예견되고 있으나 PCMB가 직접 이들 이온들의 이동을 억제하였을 가능성도 배제할 수가

없다. Tse(1983, 1984)는 신피질에서 분리한 basolateral membrane vesicle에서 PAH 이동에 SH-group이 필수적임을 보고하였다.

결 론

신장 근위세뇨관 basolateral membrane을 통한 유기이온의 이동에 sulfhydryl group이 어떤 역할을 하는지를 확인하기 위해 sulfhydryl group 반응 약물인 *p*-chloromercuribenzoic acid(PCMB)가 신피질 절편에서 tetraethylammonium(TEA)와 *p*-aminohippurate(PAH) 이동에 미치는 효과를 관찰하였다.

1) PCMB는 TEA 및 PAH 이동을 농도에 비례하여 비가역적으로 억제하였으며 50% 억제 농도는 각각 30 과 75 μ M이었다.

2) 동력학적 분석결과 TEA와 PAH 이동에 대한 PCMB의 효과는 Km 값의 변화없이 Vmax 값을 TEA의 경우에는 62.35 ± 1.84 에서 28.32 ± 1.08 nmole/g·min으로, PAH의 경우에는 385.24 ± 20.06 에서 170.36 ± 17.10 nmole/g·min으로 감소시키는 비상경적 억제 양상을 보였다.

3) TEA와 PAH 이동에 대한 PCMB의 억제 작용은 PCMB 처리시 용액내의 pH 변화에 의해 영향을 받지 않았다.

4) TEA와 PAH 이동에서 dithiothreitol(5 mM) 처리에 의해 PCMB의 억제 효과가 방지 되었으며, 각각의 기질인 TEA와 PAH 존재시 PCMB의 억제 효과는 영향을 받지 않았다.

5) PCMB는 Na-K-ATPase 활성을 농도에 비례하여 억제하였으며 50% 억제 농도는 50 μ M로서 신피질 절편에서 TEA 및 PAH 이동을 50% 억제하는 값과 유사하였다.

이상의 결과는 토끼 신장 근위 세뇨관 basolateral membrane에서 PCMB는 운반체의 SH-group에 직접 작용하거나 Na-K-ATPase 활성을 억제함으로써 유기 이온들의 이동을 억제할 가능성을 보이고 있다.

REFERENCES

Dantzer WH (1974). PAH transport by snake proximal renal tubules: Differences from urate transport. *Am J Physiol* 226, 634-641

Dantzer WH (1976). Comparison of uric acid and PAH transport by isolated proximal snake renal tubules In: Sdbernagl S, Lang F & Greger R (ed) *Amino acid transport and uric acid transport*. Thieme, Stuttgart p119-180

Fahn S, Albers RW & Koval GJ (1966). Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase of eletrophorus electric organ II Effect of N-ethylmaleiamide and other sulfhydryl reagents. *J Biol Chem* 241, 1890-1895

Fiske CH & Subbaraw Y (1925). The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66, 375-400

Hayes MR & McGivan J (1983). Comparison of the effects of certain thiol reagents on alanine transport in plasma membrane vesicles from rat liver and their use in identifying the alanine carrier. *Biochem J* 214, 480-495

Holohan PD & Ross CR (1981). Mechanisms of organic cation transport in kidney plasma membrane vesicles 2 Delta-pH studies. *J Pharmacol Exp Ther* 216, 294-298

Hori R, Meagawa H, Okano T, Takano M & Inui K (1987). Effect of sulfhydryl reagent on tetraethylammonium transport in rat renal brush border membranes. *J Pharmacol Exp Ther* 241, 1010-1016

Jørgensen PL & Skou LC (1971). Purification and characterization of (Na⁺ + K⁺)-ATPase in preparations from the outer medulla of rabbit kidney. *Biochim Biophys Acta* 233, 366-380

Jung JS, Kim YK & Lee SH (1989). Characteristics of tetraethylammonium transport in rabbit renal plasma-membrane vesicle. *Biochem J* 259, 377-383

Karniski LP (1989). Activation of Cl⁻/OH⁻ exchange by parachloromercuribenzoic acid in rabbit renal brush-border membranes. *J Membr Biol* 112, 59-66

Kim YK, Lee SH, Goldinger JM & Hong SK (1986). Effect of ethanol on organic ion transport in rabbit kidney. *Toxicol Appl Pharmacol* 86, 411-420

Kim, YK, Park YS & Lee SH (1988). Effect of harmaline of organic ion transport in rabbit renal cortical

- slices. *Ach Int Pharmacodyn Ther* 294, 259-272
- Kinsella JL, Holohan PD, Pessah NI & Ross CR (1979). Transport of organic ions in renal cortical luminal and anti-luminal membrane vesicles. *J Pharmacol Exp Ther* 209, 443-450
- Mandel LJ (1978). Effect of pH, Ca, ADH and theophylline on kinetics of Na entry in frog skin. *Am J Physiol* 235, C35-C48
- Miyamoto Y, Tirupathi C, Ganapathy V & Leibach FH (1989). Involvement of thiol groups in the function of the dipeptide/proton cotransport system in rabbit renal brush-border membrane vesicles. *Biochim Biophys Acta* 978, 25-51
- Møller JV & Sheikh MI (1983). Renal organic anion transport system: Pharmacological, physiological, and biochemical aspects. *Pharmacol Rev* 34, 315-358
- Nay JM (1989). Inhibition of hexose transport in the human erythrocyte by 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid): Role of an exofacial carrier sulfhydryl group. *J Membr Biol* 108, 227-233
- Pratt RD & Pedersen PL (1989). Inhibition of Na⁺-dependent phosphate transport by group-specific covalent reagents in rat kidney brush border membrane vesicles. *Arch Biochem Biophys* 268, 9-19
- Rennick BR (1981). Renal tubule transport of organic cations. *Am J Physiol* 240, F83-F89
- Schaeffer KJF, Preston RL & Curran PF (1973). Inhibition of amino acid transport in rabbit intestine by p-chloromercuriphenyl sulfonic acid. *J Gen Physiol* 62, 131-146
- Sigman DS & Mooser G (1975). Chemical studies of enzyme active sites. *Annu Rev Biochem* 44, 889-931
- Sokol PP, Holohan PD & Ross CR (1986). Sulfhydryl groups are essential for organic anion exchange in canine renal brush-border membrane. *Biochim Biophys Acta* 863, 335-342
- Sokol PP, Holohan PD & Ross CR (1988). Arginyl and histidyl group are essential for organic anion exchange in renal brush-border membrane vesicles. *J Biol Chem* 263, 7118-7123
- Spencer AM, Sack J & Hong SK (1979). Relationship between PAH transport and Na-K-ATPase activity in the rabbit kidney. *Am J Physiol* 263, F126-F130
- Tarloff JB & Brand PH (1986). Active tetraethylammonium uptake across the basolateral membrane of rabbit proximal tubule. *Am J Physiol* 251, F141-F149
- Tse SS, Bildstein C, Liu D & Mamelok RD (1984). Effect of analogs of salicylate on p-aminohippurate uptake into basal-lateral membrane vesicles. *J Pharmacol Exp Ther* 229, 738-746
- Tse SS, Bildstein CL, Liu D & Mamelok RD (1983). Effect of divalent cations and sulfhydryl reagents on the p-aminohippurate (PAH) transporter of renal basal-lateral membrane. *J Pharmacol Exp Ther* 226, 19-26
- Tse SS, Liu D, Bildstein CL & Mamelok RD (1984). Effects of trypsin and protein modification on the renal transporter of p-aminohippurate. *J Membr Biol* 82, 249-257
- Tune BM, Burg MB & Parlak CS (1969). Characteristics of p-aminohippurate transport in proximal renal tubules. *Am J Physiol* 217, 1057-1063
- Turner RJ & George JN (1983). Evidence for two disulfide bonds important to the functioning of the renal outer cortical brush-border membrane D-glucose transport. *J Biol Chem* 258, 3565-3570
- Watson HC, Kendrew JC & Stryer L (1964). The binding of p-chloromercuribenzenesulfonate to crystals of sperm whale myoglobin. *J Mol Biol* 8, 166-169