

버섯중 철이온에 활성화된 광감응성 Mitochondrial ATPase에 관한 연구

민태진* · 이미애 · 박상신¹

동국대학교 이과대학 화학과

동국대학교 자연과학대학 생화학과¹

Study on the Light-Induced Mitochondrial ATPase(F_1 -ATPase) Activated by Iron ion in Mushroom

Tae-Jin Min* · Mi-Ae Lee and Sang-Shin Park¹

Department of Chemistry, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

Department of Biochemistry¹, Dongguk University, Kyoungju 780-714, Korea

ABSTRACT: The effects of the iron ions on the light-induced mitochondrial F_1 -ATPase in *Lentinus edodes* was studied. This enzyme activity was stimulated by each of the ferric, ferrous and magnesium ion. Especially, the activity of the enzyme by 5.0 mM ferric ion increased up to 107% in comparison with control group(100%). In the presence of magnesium ion, each of ferric and ferrous ion increased the activity of the enzyme, particularly, coexistence of 0.1 mM magnesium and 5.0 mM ferric ion increased the activity up to 270% with magnesium ion dependence. The activity of the enzyme was stimulated up to 268% by 5.0 mM ferric ion in the presence of 0.1 mM magnesium and 0.1 mM ferrous ion. Therefore, the coexistence of ferrous ion did not affect the activity. From the above, we propose that light-induced mitochondrial F_1 -ATPase in *Lentinus edodes* is a $Mg^{2+} \cdot Fe^{3+}$ F_1 -ATPase. The optimal pH and temperature for the enzyme were 7.5 and 66°C respectively.

KEYWORDS: Mushroom, Light-Induced Mitochondrial F_1 -ATPase, Iron ion, Effects, *Lentinus edodes*.

序 論

ATPase(EC 3.6.1.3)는 ATP를 합성하는 ATP synthase(F_0F_1 -ATPase) 기능과 분해하는 ATPase(F_1 -ATPase)의 기능을 함께 갖는 효소로서 미토콘드리아의 내막(Kielly and Kielly, 1953)과 엽록체의 thylacoid 및 plasma membrane등에 존재(Leonard and Van Der Woude, 1976)한다. 이 효소 complex는 F_1 과 F_0 의 두 부분이 oligomycin sensitive conferring protein(OSCP)에 의하여 연결되어 있다(Racker, 1976). 또한 F_1 부분은 촉매부위로서 수용성 단백질 복합체(Walker *et al.*, 1984)로 구성되어 ATP를 ADP와 인산이온(Pi)으로 가수분해하며(Gresser *et al.*, 1982), 소수성 인지단백질로 구성된 F_0 부분은 F_1 부분과 함께 미토콘드리아 내막을 통한 H^+ 유입을 매개하여(Wang, 1983) 이 때 방출된 자유에너지를

이용하여 ADP와 Pi로 부터 ATP 합성을 촉매하는 ATP synthase 역할을 한다(Cross, 1981). 이 complex의 subunit 조성, 구조 및 기능은 여러종류의 생명체로 부터 많은 연구가 보고(Amzel and Pederson, 1983; Walker *et al.*, 1984)되어 있다.

본 연구실에서는 표고버섯 중 mitochondrial ATPase(Min *et al.*, 1987^a; 1987^b) 및 ATP synthase(Min *et al.*, 1989^a; 1989^b)가 각각 680 nm의 적색광 및 470 nm의 청색광을 5분 및 15초 동안 조사할 때 그 활성이 크게 증가함을 보고하였고, 470 nm 빛을 흡광하는 광수용체는 mitochondria 중의 flavin계 화합물임을 구명하였다(Park and Min, 1991). 또한 버섯의 종류와 빛과의 관계를 알기 위하여 느타리버섯중 mitochondrial ATPase(Lee and Min, 1989^a) 및 ATP synthase(Lee and Min, 1989^b)를 실험한 결과 각각 580 nm 및 480 nm의 빛을 10초 및 15초 동안 조사할 때 활성이 각각 증가하여 버섯의 종에 따라 그 필요로 하는 빛도 조금씩 다름을

*Corresponding author

보고하였다.

또한 표고버섯 중에서 순수정제된 ATPase의 효소적 특성과 mitochondrial ATPase의 특성을 비교 연구보고(Min and Park, 1991^a; 1991^b: 1992)하였다. 그리고 지금까지 보고된 대부분의 ATPase는 Na^+ , K^+ , Mg^{2+} 및 Ca^{2+} 등에 의하여 각각 활성화되는 것으로 알려져 있다(Nakamura, 1988; Caubergs *et al.*, 1986). 그러나 본 연구실에서는 표고버섯 중 광감응성 mitochondrial ATPase는 Fe^{3+} 에 의하여 ATP synthase는 Fe^{2+} 이온에 의하여 활성화됨을 알았다(Min *et al.*, 1987^b; 1989^b). 따라서 본 연구에서는 표고버섯 중 광감응성 mitochondrial ATPase가 다른 종류의 ATPase와는 달리 철이온에 의하여 특이하게 활성화되는 효소인지를 확실히 구명하기 위하여 그 미토콘드리아에 680 nm의 빛을 5분간 조사한 다음 Fe^{2+} , Fe^{3+} 및 Mg^{2+} 각 단독 이온효과, 활성화에 영향을 주는 이온의 연관성을 알기 위하여 Mg^{2+} 존재하에서 Fe^{2+} 및 Fe^{3+} 각 이온효과, Mg^{2+} 와 Fe^{2+} 공존하에서 Fe^{3+} 의 농도변화에 따른 활성화 효과를 측정하였고, 활성화 이온 존재하에서 최적 pH 및 온도를 측정하여 이에 보고한다.

材料 및 方法

재료

시료는 경기도 여주에서 재배한 표고버섯(*Lentinus edodes*)을 사용하였으며, adenosine-5'-triphosphate(ATP), tris(hydroxymethyl) amino methane (Tris), bovine albumin(BA), ferrous chloride (FeCl_2), ferric chloride(FeCl_3), magnesium chloride (MgCl_2), sodium succinate, cytochrome c, 2, 6-dichlorophenolindophenol(DCPIP), phenazine methosulfate(PMS), triton X-100 및 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)는 Sigma 제품을, ammonium molybdate(AM), 1-amino-2-naphthol-4-sulfonic acid(ANSA) 및 sodium dithionite는 Merck 제품을 사용하였으며, 그외의 모든 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다.

Mitochondria의 분리정제

표고버섯 중의 미토콘드리아는 Douce 등(1972)의 방법을 인용하여 본 연구실의 방법(Min, 1987^a)으로 단계별 설탕밀도 기울기 원심분리법에 의하여 정제

하였다. 위 모든 조작은 4°C 하에서 수행하였다.

Mitochondria의 확인

정제확인을 위하여 marker enzyme인 succinate dehydrogenase(EC 1. 3. 99. 1)와 cytochrome c oxidase(EC 1. 9. 3. 1)의 활성도 측정은 각각 Singer (1973)와 Rubin 방법(1978)을 인용하여 본 연구실의 방법(Park and Min, 1991)에 따라 수행하였다.

Mitochondria의 광조사

정제된 미토콘드리아를 암실에서 10분 동안 정제한 후, 300 W tungsten-halogen lamp의 광원을 부착한 monochromator를 이용하여 680 nm 빛을 5분 동안 조사하였다. 이 때 thermofilm을 사용하여 측정된 광량은 2.0×10^{14} photon/cm²이었다.

Mitochondrial ATPase의 활성도 측정

이 효소의 활성도는 Rorive 등(1972)의 방법을 인용 변형하여 Min 등(1987^a)의 방법에 따라 측정하였다. 10 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.5) 0.65 ml에 효소용액 0.1 ml와 20 mM ATP 수용액 0.25 ml를 가하여 37°C에서 10분 동안 반응시킨 후 10% TCA 수용액 2 ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 이를 syringe 여과(pore size 0.45 μm , Millipore Co.)하여 침전물을 제거한 여액 1 ml에 2.5% AM 수용액 2 ml와 0.25% ANSA 수용액 0.4 ml를 가하여 30분 동안 발색시킨 다음 660 nm에서 흡광도를 측정하여 생성된 Pi의 양을 정량하였다. 효소 단위는 37°C에서 매분당 효소 단백질 1 mg이 ATP로부터 1 μmol 의 Pi를 유리시키는 양을 1단위로 하였다. 단백질 정량은 Lowry 등(1951)의 방법으로 측정하였고, BA를 이용한 표준검량선에 의하여 산출하였다.

철이온 효과

광 조사한 mitochondrial F_1 -ATPase 용액에 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 및 10.0 mM의 Fe^{3+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} 각 용액을 0.1 ml씩 각각 가한 후 위와 같은 방법으로 활성도를 측정하였다. 또한, 0.1 mM Mg^{2+} 존재하에서 Fe^{3+} 및 Fe^{2+} 각 이온농도 효과, 그리고 0.1 mM Mg^{2+} 과 0.1 mM, 1.0 mM 및 10.0 mM Fe^{2+} 이온이 각각 공존할 때 Fe^{3+} 이온농도 변화에 따른 효과는 각 농도별로 3회 반복실험을 실시하여 그 평균값을 표준편차로 표시하였다.

활성 금속이온 존재하에서 최적 pH 및 온도

광 조사한 효소용액에 가장 활성화시키는 0.1 mM Mg^{2+} 과 5.0 mM Fe^{3+} 용액을 각각 0.1 ml씩 가하고

10 mM Tris-HCl 완충용액의 pH를 7.0에서 8.0까지 변화시켜 가한 후 활성도 변화를 측정하였다. 또한 최적온도는 최적 pH에서 반응온도를 30°C에서 70°C까지 변화시켜 활성도를 측정하여 결정하였다.

結果 및 考察

Mitochondria의 분리정제 및 확인

단계별 설탕밀도 기울기법으로 분리정제한 미토콘드리아는 Fig.1과 같고, 4개의 분획 중 44% 설탕층(II 분획)에서 분리되었으며, 이를 정제확인하기 위하여 marker enzyme인 succinic dehydrogenase 및 cytochrome c oxidase의 활성도를 본 연구실의 방법(Park and Min, 1991)으로 측정하여 정제되었음을 확인하였다.

광감응성 mitochondrial F₁-ATPase의 철 단독이온 효과

지금까지 보고된 여러 생명체들 중의 F₁-ATPase의 특성과는 다른 표고버섯 중 광감응성 mitochondrial F₁-ATPase의 철이온 효과를 규명하기 위하여 그 활성화 과정인 680 nm 빛을 5분 동안 조사하여 얻은 이 효소용액에 Fe³⁺, Fe²⁺ 및 Mg²⁺ 이온의 농도를 각각 변화시켜 측정된 상대 활성도 변화는 Table 1 및 Fig.2와 같다. Fig.2에서 보는 바와같이 Fe³⁺ 단독이온에 의한 활성도 변화는 0.1 mM에서 5.0 mM까지 그 농도가 증가됨에 따라 효

소의 활성을 증가시키지만 그 이상의 농도에서는 억제시키는 경향을 보였다. 특히 5.0 mM Fe³⁺에 의하여 그 활성도는 크게 증가되어 급속이온을 처리하지 않은 대조구의 활성도(100%)에 비하여 107%의 증가를 보였다. 그리고 이 효소에 대한 Fe²⁺

Table 1. Concentration effect of ferrous, ferric and magnesium ion on the light-induced mitochondrial F₁-ATPase activity in *Lentinus edodes*.

Metal ion	Fe ³⁺	Fe ²⁺	Mg ²⁺
Conc.(mM)	R.A.*(%)	R.A.(%)	R.A.(%)
Control ^a	100	100	100
0.1	129±1.8	102±2.3	111±3.4
0.5	147±1.8	106±1.8	104±1.8
1.0	161±2.9	107±1.8	104±2.4
5.0	207±2.9	129±1.7	102±1.8
10.0	110±1.8	152±2.4	94±4.2

Control^a: relative activity of the enzyme illuminated for 5 min at wavelength of 680 nm in the absence of metal ion

R.A.*: relative activity of the enzyme illuminated for 5 min at wavelength of 680 nm in the presence of metal ion

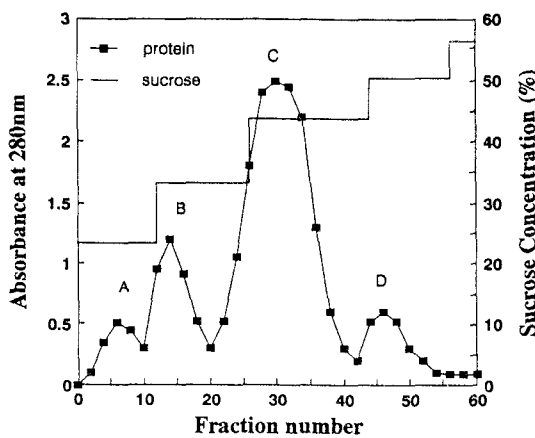


Fig. 1. Protein distribution observed after stepped sucrose density gradient centrifugation of crude mitochondria of *L. edodes*. The C fraction was mitochondria.

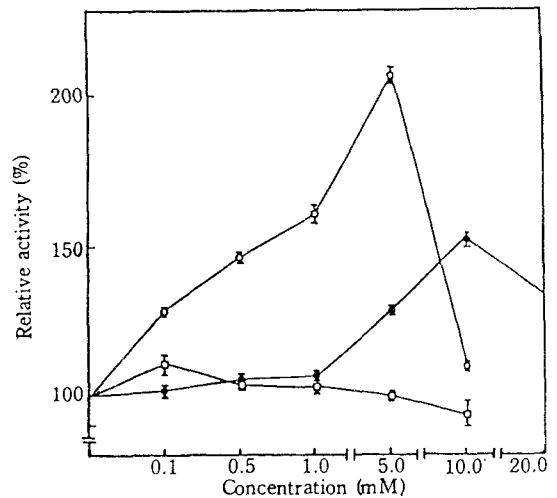


Fig. 2. The effects of various concentrations of ferrous, ferric and magnesium ions for the activity of the light-induced mitochondrial F₁-ATPase. ○-○: activity according to change of ferric ion concentration, ●-●: activity according to change of ferrous ion concentration, □-□: activity according to change of magnesium ion concentration.

Table 2. Concentration effect of ferric and ferrous ion on the light-induced mitochondrial F_1 -ATPase activity in the presence of 0.1 mM magnesium ion.

Coexistence ion	Fe^{3+} in the presence of 0.1 mM Mg^{2+}	Fe^{2+} in the presence of 0.1 mM Mg^{2+}
Conc.(mM)	R.A.*(%)	R.A.(%)
Control ^b	100	100
0.1	132 ± 7.3	110 ± 4.9
0.5	187 ± 6.5	120 ± 3.7
1.0	239 ± 5.4	123 ± 4.2
5.0	270 ± 9.9	144 ± 5.5
10.0	171 ± 3.6	217 ± 3.5

Control^b: relative activity of the enzyme illuminated for 5 min at wavelength of 680 nm in the absence of metal ion

R.A.*: relative activity of the enzyme illuminated for 5 min at wavelength of 680 nm in the presence of metal ion

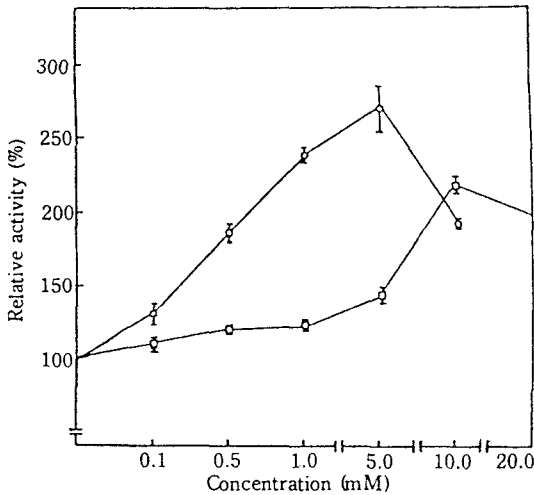


Fig. 3. The effects of various concentrations of ferrous and ferric ions for the activity of the light-induced mitochondrial F_1 -ATPase in the presence of 0.1 mM magnesium ion. ○-○: activity according to change of ferric ion concentration in the presence of 0.1 mM magnesium ion, □-□: activity according to change of ferrous ion concentration in the presence of 0.1 mM magnesium ion.

단독이온 효과는 그 농도가 1.0 mM 이하에서는 활성에 영향을 주지 않으나 그 이상의 농도에서는 활성을 증가시키지만, Fe^{3+} 이온의 활성화 효과에 비하여 크게 미치지 못함을 알 수 있고, 특히 10 mM Fe^{2+} 효과는 대조구에 비하여 52%의 활성도 증가를 보였다. 또한 Mg^{2+} 단독이온의 효과는 0.1 mM

Mg^{2+} 에서 11% 정도 활성을 증가시키지만 그 이상의 농도에서는 영향을 주지 못함을 알 수 있었다.

이상과 같은 결과로부터 표고버섯 중 ATP를 분해하는 광감응성 mitochondrial F_1 -ATPase는 다른 생명체 중의 Na^+ , K^+ , Mg^{2+} 및 Ca^{2+} 에 의하여 각각 특이하게 활성화되는 F_1 -ATPase(Nakamura, 1988; Caubergs *et al.*, 1986) 들과는 달리 Fe^{3+} 이온에 의하여 크게 활성화되는 특성을 가지고 있음을 알 수 있었다. 이는 표고버섯 중 ATP를 합성하는 광감응성 mitochondrial ATP synthase(F_0F_1 -ATPase)가 Fe^{2+} 에 의하여 가장 크게 활성화되는 결과(Min *et al.*, 1989^b)와는 서로 상반된 결과를 보였다.

Mg^{2+} 존재하에서 이 효소의 철이온 효과

Mg^{2+} 이온이 Fe^{3+} 또는 Fe^{2+} 이온과 각각 공존할 때 표고버섯 중 광감응성 mitochondrial F_1 -ATPase의 활성에 미치는 효과를 알기 위하여 Mg^{2+} 에 의하여 가장 크게 활성화되는 농도 0.1 mM Mg^{2+} 이온 존재하에서 Fe^{3+} 및 Fe^{2+} 각 이온의 농도를 변화시켜 측정된 이 효소의 활성도 변화는 Table 2 및 Fig. 3과 같다. Fig. 3에서 보는 바와같이 0.1 mM Mg^{2+} 존재하에서 이 효소의 Fe^{3+} 이온의 농도 효과는 그 농도가 0.1 mM에서 5.0 mM까지 증가됨에 따라 활성도도 크게 증가되지만 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향을 보였다. 특히 0.1 mM Mg^{2+} 과 5.0 mM Fe^{3+} 이온이 공존할 때 그 활성도는 대조구에 비하여 170% 증가되었다. 이것은 5.0 mM Fe^{3+} 단독이온의 효과(Fig. 2) 107% 증가에 비하여

Table 3. Concentration effect of ferric ion on the light-induced mitochondrial F₁-ATPase activity in the presence of 0.1 mM magnesium and various concentration of ferrous ion.

Coexistence ion		In the presence of 0.1 mM Fe ²⁺ & 0.1 mM Mg ²⁺	In the presence of 1.0 mM Fe ²⁺ & 0.1 mM Mg ²⁺	In the presence of 10.0 mM Fe ²⁺ & 0.1 mM Mg ²⁺
Fe ³⁺	Conc.(mM)	R.A.*(%)	R.A.(%)	R.A.(%)
Control ^b		100	100	100
	0.1	153 ± 5.6	135 ± 3.6	128 ± 3.6
	0.5	174 ± 5.6	133 ± 3.6	120 ± 3.8
	1.0	189 ± 6.0	130 ± 3.6	128 ± 3.6
	5.0	268 ± 5.5	215 ± 3.6	209 ± 4.8
	10.0	197 ± 6.0	124 ± 3.6	168 ± 8.3

Control^b: relative activity of the enzyme illuminated for 5 min at wavelength of 680 nm in the absence of metal ion

R.A.*: relative activity of the enzyme illuminated for 5 min at wavelength of 680 nm in the presence of metal ion

그 활성도를 63% 더 증가시켜 Mg²⁺ 이온에 의한 공존효과로 사려된다. 그리고 0.1 mM Mg²⁺ 존재하에서 이 효소의 Fe²⁺ 이온 농도효과는 Fe²⁺ 농도가 0.1 mM에서 10.0 mM까지 각각 증가됨에 따라 이 효소의 활성도는 서서히 증가하다가 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향을 보였다. 특히 0.1 mM Mg²⁺와 10.0 mM Fe²⁺ 이온이 공존할 때 이 효소의 활성도는 대조구에 비하여 117% 증가함을 보였다. 이것은 10.0 mM Fe²⁺ 단독이온에 의한 활성도 증가효과(Fig. 2) 52%에 비하면 65% 더 활성화시킨 결과로서 Mg²⁺의 공존효과를 보였다. 그러나 이 결과는 0.1 mM Mg²⁺ 존재하에서 5.0 mM Fe³⁺에 의한 활성도 증가효과 170%에 비교하면 53%가 감소된 결과임을 알 수 있다.

이상과 같은 실험결과로 볼 때 표고버섯 중 광감응성 mitochondrial F₁-ATPase는 다른 생명체 중의 F₁-ATPase와는 달리 0.1 mM Mg²⁺과 5.0 mM Fe³⁺ 이온이 공존할 때 가장 활성화되는 특성을 갖는 효소임을 알 수 있다.

Mg²⁺ 및 Fe²⁺ 존재하에서 이 효소의 Fe³⁺ 이온 효과

이 효소의 활성에 미치는 Mg²⁺, Fe²⁺ 및 Fe³⁺ 이온의 연관성을 관찰하기 위하여 0.1 mM Mg²⁺과 0.1 mM Fe²⁺, 0.1 mM Mg²⁺과 1.0 mM Fe²⁺ 및 0.1 mM Mg²⁺과 10.0 mM Fe²⁺ 이온이 각각 존재할 때 Fe³⁺ 이온의 농도변화에 따른 표고버섯 중 광

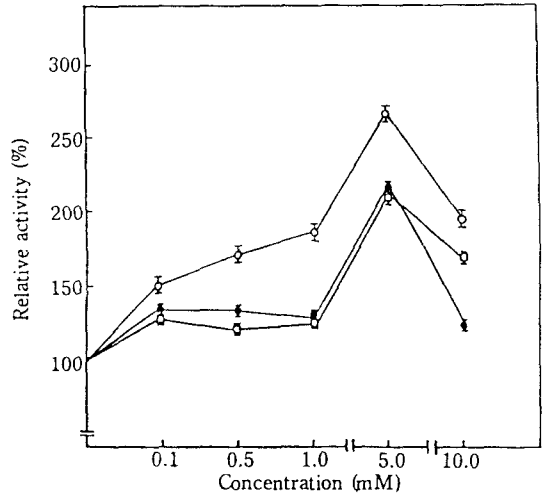


Fig. 4. The effects of various concentrations of ferric ion for the activity of the light-induced mitochondrial F₁-ATPase in the presence of 0.1 mM magnesium ion and 0.1 mM, 1.0 mM and 10.0 mM ferrous ion.

○-○: activity according to change of ferric ion concentration in the presence of 0.1 mM magnesium and 0.1 mM ferrous ion, ●-●: activity according to change of ferric ion concentration in the presence of 0.1 mM magnesium and 1.0 mM ferrous ion, □-□: activity according to change of ferric ion concentration in the presence of 0.1 mM magnesium and 10.0 mM ferrous ion.

감응성 mitochondrial F₁-ATPase의 활성도 변화는 Table 3 및 Fig. 4와 같다. Fig. 4에서 보는 바와같이 Fe³⁺ 이온 농도효과는 그 농도가 0.1 mM에서 5.0

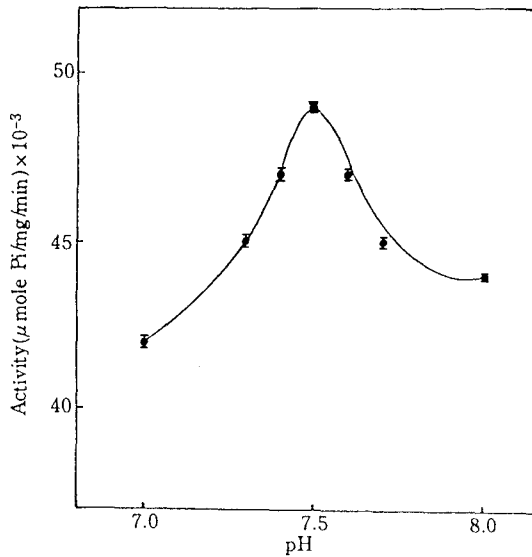


Fig. 5. The pH dependent activity of the light-induced mitochondrial F₁-ATPase in the presence of 0.1 mM magnesium and 5.0 mM ferric ion.

mM까지 증가함에 따라 효소의 활성도도 각각 증가하다가 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향을 보였다. 0.1 mM Mg²⁺와 0.1 mM, 1.0 mM 및 10.0 mM Fe²⁺ 이온이 각각 함께 존재할 때 이 효소의 Fe³⁺ 농도효과는 그 농도가 5.0 mM일 때 대조구에 비하여 각각 168%, 115% 및 109%의 활성도 증가를 보였다. 특히 0.1 mM Mg²⁺과 0.1 mM Fe²⁺ 이온의 존재하에서 Fe³⁺ 이온 농도가 5.0 mM일 때 그 활성도는 168% 증가를 보여 가장 크게 활성화시켰다. 이는 0.1 mM Mg²⁺ 존재하에 5.0 mM Fe³⁺에 의하여 170% 활성도 증가를 보인 것(Fig. 3)과 비교할 때 2% 정도 감소하였으나 유사한 값을 보였다. 그리고 Fe²⁺ 농도를 1.0 mM 및 10.0 mM로 증가시키면 그 활성도는 각각 55% 및 61% 감소하였다. 이것은 Mg²⁺, Fe²⁺ 및 Fe³⁺ 이온이 공존할 때 Fe²⁺ 이온은 이 효소의 활성도 증가에 영향을 주지 못하며 그 농도 증가에 따라 효소활성의 억제도가 증가함을 알 수 있다.

이로써 표고버섯중 광감응성 mitochondrial F₁-ATPase는 Fe²⁺보다는 Mg²⁺ 이온의 공존에 의하여 활성화되며, Mg²⁺ 및 Fe³⁺ 이온의 상호 공존하에 활성화되는 성질을 가진 효소임을 확인할 수 있었다. 이 결과는 곤충근육, 쥐의 간 및 귀리뿌리 등

의 Mg²⁺-ATPase(Gilmour and Calaby, 1952; Kielly and Kielly, 1953; Hoges, 1973), 적혈구막 및 토끼 근육 중 Ca²⁺-ATPase(Leonard and Van Der Woude, 1976) 그리고 Na⁺-K⁺-ATPase(Peters *et al.*, 1981) 등과는 그 특성이 서로 상이함을 알았다.

Mg²⁺ 및 Fe³⁺ 존재하에서 이 효소의 최적 pH
최적광을 조사하여 얻은 mitochondrial F₁-ATPase에 활성화 금속이온, 즉 0.1 mM Mg²⁺ 및 5.0 mM Fe³⁺ 이온을 가하고 37°C 에서 pH를 변화시켜 측정된 최적 pH는 Fig. 5와 같다. Fig. 5에서 보는 바와같이 이 효소의 최적 pH는 7.5이었다. 이것은 이미 보고된 syrian hamster의 지방조직 중 mitochondrial ATPase(Houstek *et al.*, 1977)의 최적 pH 8.5와 thermophilic aerobic bacterium(PS3) 중 ATPase(Sone, 1975)의 최적 pH 8.6과는 상이하였다. 그러나 활성화 금속이온이 존재하지 않을 때 측정된 이 효소의 최적 pH 7.5(Min *et al.*, 1987^a)와 표고버섯에서 순수히 분리정제한 ATPase(Min *et al.*, 1991^a)의 최적 pH 7.6과는 유사하였다. 이로서 활성화 금속 Mg²⁺와 Fe³⁺ 이온은 이 효소의 최적 pH에는 영향을 주지 못함을 알 수 있었다.

Mg²⁺ 및 Fe³⁺ 존재하에서 이 효소의 최적온도
최적광을 조사하여 얻은 표고버섯의 광감응성 mitochondrial F₁-ATPase에 활성화 금속이온, 즉 0.1 mM Mg²⁺ 및 5.0 mM Fe³⁺ 이온을 가하고 최적 pH 7.5에서 반응온도를 변화시켜 측정된 최적온도는 Fig. 6과 같다. 이 효소의 최적온도는 66°C 였다. 이는 활성화 금속이온을 가하지 않고 측정된 이 효소의 최적온도 59°C(Min *et al.*, 1991^a)와는 상이하였고, 또한 이미 보고된 곤충근육 중 mitochondrial Mg²⁺-ATPase(Gilmour, 1952)의 최적온도 42°C, 꽃양배추 중 mitochondrial Mg²⁺-ATPase의 최적온도 40°C(Caubergs *et al.*, 1986)와도 서로 상이하였다. 이로써 활성화 금속 Mg²⁺와 Fe³⁺ 이온 존재하에서 측정된 광감응성 mitochondrial F₁-ATPase의 최적온도는 활성화 금속이온이 없을 때 이 효소의 최적온도 59°C 보다 7°C 가 높아짐을 알 수 있다.

이상과 같은 결과와 본 연구실의 mitochondrial F₀F₁-ATPase에 대한 연구결과로 볼 때 Mg²⁺와 Fe³⁺ 이온은 F₀F₁-ATPase가 ATP를 분해하는 기능(F₁-ATPase)을 촉진시키고 최적온도를 7°C 상승시켰으나 최적 pH는 변화시키지 못하였다. 그러나 Fe²⁺

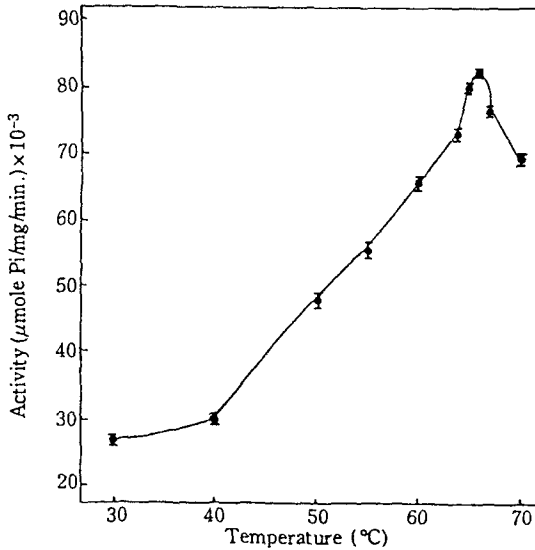


Fig. 6. The temperature dependent activity of the light-induced mitochondrial F₁-ATPase in the presence of 0.1 mM magnesium and 5.0 mM ferric ion.

이온은 ATP를 합성하는 기능(ATP synthase)을 촉진시키고 최적온도를 9°C 상승시켰으나 최적 pH는 역시 변화시키지 못하였다. 이러한 금속이온들의 mitochondrial F₀F₁-ATPase에 대한 영향이 전자전달계의 산화 환원반응에 관여함에 따른 결과인지, cofactor로 작용한 결과인지에 대해서는 현재 연구 중에 있다.

摘 要

1. 표고버섯중 광감응성 mitochondrial F₁-ATPase는 Fe³⁺, Fe²⁺ 및 Mg²⁺ 이온에 의하여 각각 활성화 되었으나 5.0 mM Fe³⁺ 이온에 의한 상대활성도는 대조구에 비하여 107% 증가시켰다.

2. Mg²⁺ 존재하에서 Fe³⁺ 및 Fe²⁺ 각 이온 농도효과는 모두 효소의 활성을 증가시켰으나 0.1 mM Mg²⁺과 5.0 mM Fe³⁺ 이온의 공존하에서 170%를 증가시켜 Mg²⁺ 이온에 의한 상승작용을 보였다.

3. 0.1 mM Mg²⁺와 0.1 mM Fe²⁺ 존재하에서 Fe³⁺ 이온농도효과는 그 농도가 5.0 mM일 때 168%의 활성도 증가를 보여 Fe²⁺ 이온공존효과는 없었다.

4. 이 효소는 Mg²⁺ 및 Fe³⁺ 이온에 의하여 활성화되는 특성을 가지고 있으며 활성금속이온 존재하에서 측정된 최적 pH 및 온도는 각각 7.5 및 66

°C였다.

감사의 말씀

본 연구는 1991년도 교육부 자유공모과제 지원 연구비로 수행되었으며 이에 감사한다.

參考文獻

- Amzel, L. M. and Pederson, P. L. 1983: Proton ATPase: Structure and Function. *Ann. Rev. Biochem.* **52**: 801-824.
- Caubergs, R. J., Asard, H. H., De Greef, J. A., Leeuwrik F. J. and Oltmann, F. L. 1986: Light-Inducible Absorbance Changes and Vanadate-Sensitive ATPase Activity Associated with the Presumptive Plasma membrane Fraction from Cauliflower Inflorescences. *Photochem. Photobiol.* **44**: 641-649.
- Cross, R. L. 1981: The Mechanism and Regulation of ATP synthesis by F₁-ATPase. *Annu. Rev. Biochem.* **50**: 681-714.
- Douce, R., Christensen, E. L. and Bonnen, Jr. W. D. 1972: Preparation of Intact Mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta.* **275**: 148-160.
- Gilmour, D. and Calaby, J. H. 1952: Purification of ATPase from insect muscle. *Arch. Biochem. Biophys.* **41**: 83-91.
- Gresser, M. J., Myer, J. A. and Boyer, P. D. 1982: Catalytic Site Cooperativity of Beef Heart Mitochondria. *J. Biol. Chem.* **257**: 12030-12038.
- Hoges, C. J. 1973: Membrane bound adenosine-5'-triphosphatase activities of oat roots. *Plant. Physiol.* **51**: 749-755.
- Housteck, J. and Drahota, Z. 1977: Purification and properties of mitochondrial ATPase of hamster brown adipose tissue. *Biochim. Biophys. Acta* **484**: 127-139.
- Kielly, W. W. and Kielly, R. K. 1953: A specific adenosine triphosphatase of liver mitochondria. *J. Biol. Chem.* **200**: 213-222.
- Lee, K. D. and Min, T. J. 1989^a: Studies on the Light-Induced Mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 169-176.
- Lee, K. D. and Min, T. J. 1989^b: Studies on the Light-Induced Mitochondrial ATP synthase in *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 177-183.
- Leonard, R. T. and Van Der Woude, W. J. 1976: Isolation of plasma membranes from corn roots by suc-

- rose density gradient centrifugation. *Plant. Physiol.* **57**: 105-114.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951: Protein measurement with the Folin phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Min, T. J. and Park, H. L. 1991^a: Studies on the ATPase in the mushroom(I). *Kor. J. Mycol.* **19**: 214-219.
- Min, T. J. and Park, H. L. 1991^b: Studies on the ATPase in the mushroom(II). *Kor. J. Mycol.* **19**: 220-225.
- Min, T. J., Cho, S. W. and Park, S. S. 1987^a: Light-Induced Mitochondrial ATPase in *Lentinus edodes*. *Kor. J. Mycol.* **15**: 217-223.
- Min, T. J., Cho, S. W., Kim, Y. S., Kim, J. W. and Mheen, T. I. 1987^b: Effects of Organic Compounds and Metal ion influx of Light-Induced Mitochondrial ATPase in *Lentinus edodes*. *Kor. J. Mycol.* **15**: 224-230.
- Min, T. J., Lee, W. G. and Kim, J. W. and Mheen, T. I. 1989^b: Effects of Organic Compound and metal ion Influx of Light-Induced Mitochondrial ATP synthase in *Lentinus edodes*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 99-104.
- Min, T. J., Lee, W. G. and Park, S. S. 1989^a: Light-Induced Mitochondrial ATP synthase in *Lentinus edodes*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 91-98.
- Min, T. J., Park, H. L. and Bae, K. G. 1992: Studies on the Adenosine-5'-triphosphatase(ATPase) in the Mushroom(III)-Effects of organic compounds of purified ATPase in *Lentinus edodes*. *Korean. Biochem. J.* **25**: 317-324.
- Nakamura, H. 1988: Mg²⁺-ATPase. In Metalloproteins. (Otsuka, S. and Yamanaka, T., Ed.) pp. 17-27.
- Park, S. S. and Min, T. J. 1991: Studies on the Photoreceptor of the Light-Induced Mitochondrial ATPase in *Lentinus edodes*. *Korean. Biochem. J.* **24**: 26-34.
- Peters, W. H. M., Depont, H. J. H. H. M., Koppers, A. and Bonting, S. L. 1981: Studies on(Na⁺, K⁺) activated ATPase. *Biochim. Biophys. Acta* **641**: 55-70.
- Racker, E. 1976: The possible organization of the polypeptides of F₀F₁-ATPase. *Trends. Biochem. Sci.* **1**: 244-255.
- Rorive, G. and Kleinzeller, A. 1972: The effect of ATP and Ca²⁺ on the Cell Volume in Isolated Kidney Tubules. *Biochim. Biophys. Acta.* **274**: 226-239.
- Rubin, M. and Tzagoloff, A. 1978: Cytochrome oxidase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods Enzymol.* **53**: 73-79.
- Singer, T. P. 1973: Determination of the Activity of Succinate, NADH, Choline and α -Glycerophosphate Dehydrogenases. *Methods Biochem. Analysis.* **22**: 123-175.
- Sone, N., Yoshida, M., Hirata, H. and Kogawa, Y. 1975: Purification and properties of a dicyclohexylcarbodiimide sensitive triphosphatase from a Thermophilic Bacterium. *J. Biol. Chem.* **250**: 7917-7923.
- Walker, J. E., Saraste, M. and Gay, N. J. 1984: Nucleotide Sequence, Regulation and Structure of ATP synthase. *Biochim. Biophys. Acta.* **768**: 164-200.
- Wang, J. H. 1983: Coupling of Proton flux to the Hydrolysis and Synthesis of ATP. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* **12**: 21-34.