

## 느타리버섯 중의 광감응성 Mitochondrial ATPase 에 관한 연구

이갑득·민태진\*

동국대학교 경주캠퍼스 자연과학대학 화학과

\*동국대학교 이과대학 화학과

## Studies on the Light-Induced Mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*

Kap-Duk Lee and Tae-Jin Min\*

Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Dongguk University, Kyungju 780-350, and

\*Department of Chemistry, College of Science, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

**ABSTRACT:** Mitochondria in *Pleurotus ostreatus* was purified by stepped sucrose density gradient centrifugation. The activity of mitochondrial ATPase has been investigated during various times of illumination at each wavelength in the range of 400 nm to 700 nm. The mitochondrial ATPase activity was stimulated 1.7 fold by 580 nm illumination compared with the broad wavelength group. The mitochondrial ATPase activity according to various times of illumination was stimulated 2.2 fold for 10 seconds at 580 nm compared with the broad wavelength group. The optimum pH and temperature of the mitochondrial ATPase were 7.4 and 60°C, respectively. The activity of this enzyme was stimulated by 5 mmol Fe<sup>3+</sup>, 5 mmol Mg<sup>2+</sup>, 0.1 mmol Ca<sup>2+</sup> and 5 mmol Fe<sup>2+</sup> ion, but inhibited by 5 mmol Na<sup>+</sup> ion.

**KEYWORDS:** Light-Induced Mitochondrial ATPase, *Pleurotus ostreatus*

일반적인 ATPase(EC 3. 6, 1. 3)는 F<sub>1</sub>-ATPase와 F<sub>1</sub>·F<sub>0</sub>-ATPase의 총칭으로서 F<sub>1</sub>-ATPase는 genus에 따라 조금씩 다르지만 α<sub>3</sub> β<sub>3</sub> γ δ ε 과 같은 서로 다른 5종류의 수용성 단백질의 subunit로 구성(Walker 등, 1984)되어 있으며, ATP를 ADP와 Pi로 분해시키는 ATPase 역할(Kielly, 1955)을 하며, 이는 oligomycin sensitive conferring protein(OSCP)에 의하여 F<sub>0</sub>-group에 연결(Racker, 1976)되어 미토콘드리아의 내막(Kielly 등, 1953), 엽록체의 thylakoid 및 plasma membrane 등에 존재(Leonard 등, 1976)한다. F<sub>1</sub>-ATPase가 F<sub>0</sub>-group에 연결된 F<sub>1</sub>·F<sub>0</sub>-ATPase는 ADP와 Pi로부터 ATP를 합성하는 ATP synthase 역할(Okamoto 등, 1977; Hatefi, 1985; Senior, 1988)을 하는 것으로 알려져 있다.

F<sub>1</sub>-ATPase의 α 및 β subunit는 화학적 촉매

역할(Amzel 등, 1983; Papa 등, 1984; Senior, 1988)을 하는 것으로 보고되어 있다.

F<sub>0</sub>-group은 소수성 인산지질로 구성되어 있으며, H<sup>+</sup>유통을 매개하는 역할(Walker 등, 1984; Fillingame, 1980; Hope 등, 1984; Schneider 등, 1984 및 1987)을 하며, 이는 genus에 따라 최소한 3종류의 subunit로 구성(Vik 등, 1988; Cain 등, 1988)되어 있음이 널리 알려져 있다. 그 중 1개는 DCCD와 특별히 잘 결합하는 8 KDa의 단백질로 보고(Sebald 등, 1981)되어 있다.

또한, F<sub>1</sub>·F<sub>0</sub>-ATPase의 유전자에 관한 정보로서는 α 및 β subunit의 아미노산 서열은 진화과정에서 잘 보존되지만 단백질질 subunit의 구조적 형태는 한정적으로 보존됨이 보고(Walker 등, 1985 및 1987)되어 있다.

ATPase에 관한 연구로는 곤충근육(Gilmour 등, 1952) 및 귀리뿌리(Leonard 등, 1973) 중의

Mg<sup>2+</sup>-ATPase, 적혈구 막(Monk 등, 1976) 및 원생 단세포동물인 나팔벌레의 Ca<sup>2+</sup>-ATPase (Song, 1981 및 1983; Min 등, 1984; Chen 등, 1985), K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>-ATPase(Peter 등, 1981) 그리고 광증감제에 의한 상처 염록체 중의 광감응성 및 광의존성 ATPase, *R. rubrum* 박테리아의 발색단 중의 광감응성 ATPase에 관한 효소적 특성(Cameli 등, 1972; Horio 등, 1972) 등이 보고되어 있다.

버섯은 고등균류에 속하는 음식생물로서 염록체나 박테리아성 염록소와 같은 흡광색소가 없다.

본 연구실에서는 버섯이 몇 nm 빛을, 무엇이 얼마나 필요로 하는지를 알기 위하여 포고버섯 중의 mitochondria를 분리 정제하여 각 파장별 빛을 각각 조사하여 ATPase의 활성도를 측정하고 680 nm 빛을 5분간 조사하였을 때 그 활성도가 대조구에 비하여 2배 증가함을 보고(Min 등, 1987<sup>a</sup> 및 1987<sup>b</sup>)한 바 있다.

본 연구에서는 모든 버섯 중의 mitochondrial ATPase가 680 nm 빛에 의하여, 활성화되는지, 아니면 포고버섯의 mitochondrial ATPase만의 특성인지를 규명하기 위하여 품종이 다른 느타리버섯 중의 mitochondria를 분리 정제하여 파장 변화에 따른 mitochondrial ATPase의 활성도 변화를 측정하고, 최적 빛의 조사시간, 최적 파장 및 최적 빛의 조사 시간 하에서의 최적 pH, 최적 온도 그리고 금속이온 효과를 측정하여, 느타리버섯 중 mitochondrial ATPase의 효소적 특성과 파장과의 관계를 고찰하였기에 이에 보고한다.

## 材料 및 方法

### 材 料

본 실험에 사용한 버섯은 농가에서 재배한 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)을 사용하였고 adenosine-5'-triphosphate(ATP), bovine albumin(BA), 1-amino-2-naphthol-4-sulfonic acid(ANSA), coomassie brilliant blue G-250(CBBG-250) 등은 Sigma 제품을, ammonium molybdate(AM), sucrose 및 trichloroacetic acid(TCA) 등은 Duksan pharm. co.

제품을, 그 외의 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다.

본 실험에 사용한 물은 탈이온증류수(10<sup>-7</sup>Ω cm<sup>-1</sup>)를 사용하였다.

### Mitochondrial의 분리정제

시료 4,000을, Blair(1967) 및 Cooper(1969)의 방법을 인용하여 앞서 발표한(Min 등, 1987<sup>a</sup> 및 1987<sup>b</sup>) 방법으로 분리 정제하였고, 전자현미경(Zeiss EM-109)으로 정제를(Min 등, 1987<sup>a</sup>) 확인하여 사용하였다.

### 파장별 빛조사

본 실험에서 빛의 조사는 300 W 텅스텐 램프를 광원으로 사용한 H-20 UV monochromater로 파장별 빛을 조사하여 앞서 발표한 방법(Min 등, 1987)과 같이 처리하였다.

### 파장 변화에 따른 mitochondrial ATPase의 활성도 측정

Mitochondrial ATPase의 활성도는 Rorive 등(1972)의 방법을 인용하여 앞서 발표한(Min 등, 1987<sup>a</sup>) 방법에 따라 다음과 같이 실험하였다.

기질 10 mM ATP 수용액 0.25 ml에 10 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.5) 0.65 ml를 가하여 37°C에서 3분간 열평형시킨 다음, 각 파장별 빛을 조사한 미토콘드리아성 효소용액 0.1 ml를 가하고, 37°C에서 정확히 10분간 반응시킨 후 10% TCA 수용액 2 ml를 가한 다음, syringe 여과(Millipore Co 제품, hole size 0.4 μm)하여 효소 단백질을 제거한 여액에 2.5% AM 수용액 2 ml와 0.25% ANSA 수용액 0.4 ml 및 Tris-HCl 완충용액 5 ml를 가하여 30분간 발색시킨 다음, 660 nm에서 흡광도(Jasco-Uvidec-66, spectrophotometer)를 측정하였다. 이 때, 복합파장의 빛을 조사하였을 때 측정된 활성도를 대조구로 하였다. 단백질 정량은 Sedmark 법(1977)을 인용하여 BA 표준 검량선에 의하여, 시료 0.1 ml 당 단백질의 양을 산출하였다.

효소의 비활성도 단위는 37°C, pH 7.5하에서 매분당 효소단백질 1 mg이 기질용액으로부터 1 μmol의 Pi를 유리시키는 양을 1단위로 하였다.

### 빛 조사 시간 변화에 따른 mitochondrial ATPase의 활성도 측정

Mitochondria를 최적 파장 580 nm 하에서, 5

초에서 1,800초(30분)까지 각각 변화시켜 빛을 조사한 다음, 위와 동일한 방법으로 효소의 비활성도를 측정하여 최적 빛 조사 시간을 측정하였다. 이 때 복합파장의 빛을 조사하여 측정한 활성도를 대조구로 하였다.

**빛 조사에 따른 mitochondrial ATPase의 최적 pH**

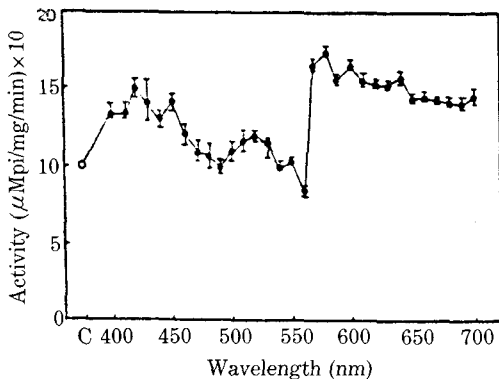
위에서 얻은 최적 파장의 빛을 최적 시간(10초) 동안 조사하여 얻은 mitochondrial ATPase의 최적 pH는 효소용액을 10mM Tris-HCl 완충용액으로 pH 7.0에서 9.0까지 각각 변화시켜 5분 동안 정지한 후, 기질용액을 가하여 위와 같은 방법으로 비활성도를 측정하였다.

**빛 조사에 따른 mitochondrial ATPase의 최적 온도**

최적 온도는 최적 파장, 최적 빛 조사 시간 및 이 효소의 최적 pH 조건에서 효소용액을 20°C에서 70°C까지 각각 변화시켜 5분 동안 정지한 후 기질용액을 가하여 위와 같은 방법으로 비활성도를 측정하였다.

**Mitochondrial ATPase의 양이온 효과**

최적 파장, 최적 빛 조사 시간, 최적 pH 및 최적 온도 조건(이하 최적 조건)에서 mitochondrial ATPase에 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup> 및 Fe<sup>3+</sup>를 각각 가하여 5분 동안 정지한 후 기질용액을 가하여 위와 같은 방법으로 활성도를 측정하였다.



**Fig. 1.** The change of mitochondrial ATPase activity by the illumination of each wavelength for 30 min ○; broad wavelength (c), ●; illumination of each wavelength.

**結果 및 考察**

**Mitochondria의 분리 정제**

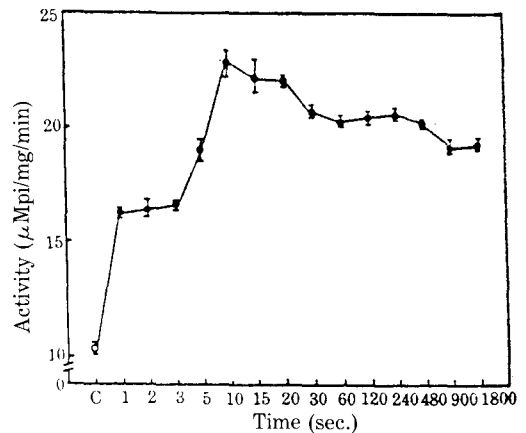
Crude mitochondria를 설탕밀도구배 원심분리법으로 2회 원심분리한 결과(Beckman L-8-55 M ultracentrifuge) 설탕농도 57%에서 glyoxysome, 50% 층에서 proplastids 그리고 44% 층에서 순수 mitochondria를 얻을 수 있었고, 이 결과는 포고버섯 중에서 분리 정제한 mitochondria (Min 등, 1987<sup>a</sup> 및 1989<sup>a</sup>)의 결과와 같았다.

**파장 변화에 따른 mitochondrial ATPase의 활성도**

각 파장의 빛을 30분 동안 각각 조사하여 얻은 mitochondrial ATPase의 활성도 변화는 Fig. 1에 나타내었다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 mitochondrial ATPase의 활성도는 560 nm의 파장에서는 복합 파장의 빛을 조사한 대조구에 비하여 활성이 억제되었으며, 560 nm 파장을 제외한 각 파장에서는 그 활성이 증가하였으나, 특히 580 nm의 빛에 의하여 가장 활성화되어 대조구 10단위에 비하여 17단위로 7단위가 증가하였다.

이로써 느타리버섯의 mitochondrial ATPase는 580 nm 빛에 의하여 가장 활성화됨을 알았다. 이 결과는 포고버섯 중 mitochondrial ATPase



**Fig. 2.** The change of mitochondrial ATPase activity according to various illumination times at 580 nm. ○; broad wavelength, ●; illumination of each wavelength.

의 활성화 파장(Min 등, 1987<sup>a</sup>) 680 nm와는 상이하였다.

느타리버섯의 최적 파장이 580 nm로서 표고버섯의 최적 파장 680 nm에 비하여 100 nm의 파장 변화를 보였으며, 모든 버섯 중의 mitochondrial ATPase가 680 nm의 빛에 의하여 활성화되어 대사가 영위되는 것이 아니라 버섯의 종류 및 유전자의 변화에 따라 체내 대사 및 필요로 하는 빛의 파장도 달라지고 그 광 수용체도 달라지는 것으로 추정된다.

#### 빛 조사 시간 변화에 따른 mitochondrial ATPase의 활성도 변화

Mitochondrial ATPase가 가장 활성화되는 580 nm에서 빛 조사시간 변화에 따른 mitochondrial ATPase의 비활성도 변화는 Fig. 2와 같다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 10초 동안 빛을 조사했을 때 가장 큰 활성을 보이다가 시간이 증가함에 따라 점차적으로 비활성도가 감소하였다. 특히 580 nm의 빛을 10초 동안 조사하였을 때는 비활성도가 22.7 단위로서 대조구에 비하여 12.4 단위가 증가하였다. 따라서 느타리버섯 중의 mitochondrial ATPase는 580 nm의 빛을 10초 동안 조사하였을 때가 가장 활성화됨을 알았다.

이 결과는 표고버섯 중 mitochondrial ATPase(Min 등, 1987<sup>a</sup>)가 680 nm 빛을 5분간 조사할 때 가장 활성화되었으나 느타리버섯에서는 10

초로서 크게 상이하였다. 이것은 느타리버섯 중의 mitochondrial ATPase의 최적 파장 580 nm, 최적 시간이 10초로 표고버섯과 다른 것으로 보아 버섯의 종류에 따라 그 광수용체의 형태가 다른 것으로 추정된다.

#### 빛 조사에 따른 mitochondrial ATPase의 최적 pH

최적 파장 580 nm 빛을 10초 동안 조사하여 얻은 mitochondrial ATPase의 pH 변화에 따른 비활성도 변화는 Fig. 3과 같다.

Fig. 3에서와 같이 최적 광 조사에 따른 mitochondrial ATPase의 최적 pH는 7.4였다. 이 결과는 syrian hamster의 지방조직 중의 mitochondrial ATPase(Houstek 등, 1977)의 최적 pH 8.5, 고온성 호기성 세균(PS3)에서 분리한 ATPase(Sone 등, 1975)의 최적 pH 8.6, 쥐의 간 mitochondrial ATPase(Kielly 등, 1953)의 최적 pH 8.5, 신관의 적혈구막  $Ca^{2+}$ -ATPase(Rorive 등, 1972)의 최적 pH 7.8, 곤충의 근육 미토콘드리아성  $Mg^{2+}$ -ATPase(Gilmour 등, 1952)의 최적 pH 7.8 및 꽃 양배추 중의 microsomal  $Mg^{2+}$ -ATPase(Cauberger 등, 1986)의 최적 pH 7.0과는 상이하였고 소심장의 mitochondrial ATPase(Penefsky 등, 1965)의 최적 pH 7.5, 표고버섯 중에서 순수히 정제한 ATPase(Min 등, 1986)의 최적 pH 7.6 및 표고버섯 중의 광 감응성 mitochondrial

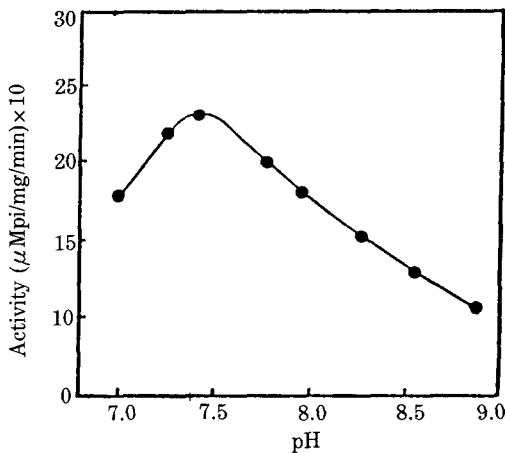


Fig. 3. pH effects of mitochondrial ATPase on the illumination at 580 nm for 10 sec.

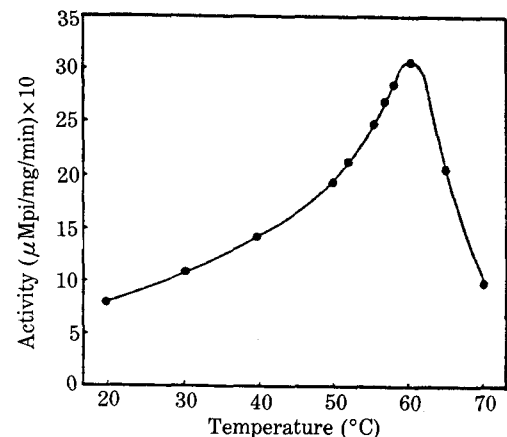


Fig. 4. Temperature effects of mitochondrial ATPase on the illumination at 580 nm for 10 sec.

ATPase(Min 등, 1987<sup>a</sup>)의 최적 pH 7.5와는 유사하였다.

**빛 조사에 따른 mitochondrial ATPase의 최적 온도**

느타리버섯의 mitochondrial ATPase의 최적 파장 580 nm, 최적 빛 조사시간 10초 그리고 최적 pH 7.4에서 20°C에서 70°C까지 각각 변화시켜 측정한 이 효소의 활성화도 변화는 Fig. 4와 같고 Fig. 4에서 보는 바와 같이 이 효소의 최적 온도는 60°C였다. 이 결과는 고온성, 호기성 세균(PS3)에서 분리한 ATPase(Sone 등, 1975)의 최적 온도

70°C, 곤충의 근육 미토콘드리아 중의 Mg<sup>2+</sup>-ATPase(Caubergs 등, 1986)의 최적 온도 42°C와는 상이하였으나, 표고버섯 중에서 정제한 ATPase(Min 등, 1986)의 최적 온도 58°C 및 표고버섯 중의 광 감응성 mitochondrial ATPase(Min 등, 1987<sup>a</sup>)의 최적 온도 59°C와는 거의 유사하였다.

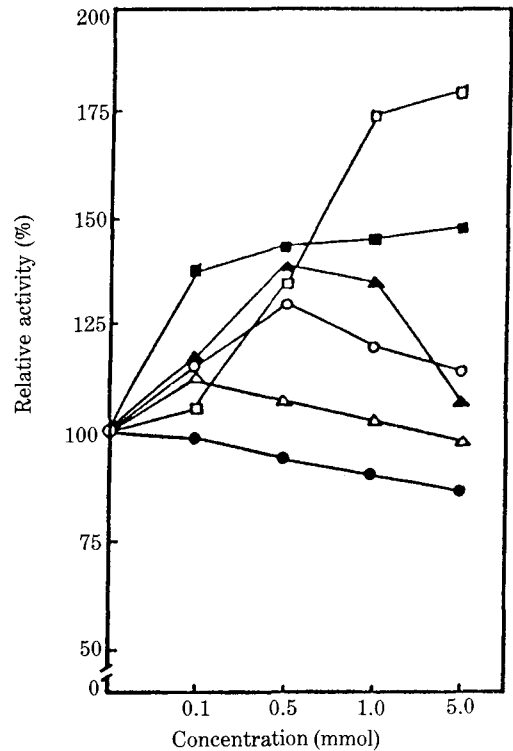
**최적 조건에서 mitochondrial ATPase의 양이온 효과**

최적 빛 조건으로 빛을 조사하여 얻은 미토콘드리아성 ATPase의 최적 pH(7.4) 및 최적 온도(60°C)하에서 측정된 금속이온의 효과는 Table I 및 Fig. 5와 같다.

Fig. 5에서 보는 바와 같이 Fe<sup>3+</sup> 그리고 Fe<sup>2+</sup> 이온 효과는 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하는 경향을 보였고, 5 mmol에서 180% 및 147%로서 이온이 없을 때 100%에 비하여 각각 80%,

**Table I.** Cation effects of mitochondrial ATPase activity by the illumination at 580 nm for 10 sec.

Cation	Concentration (mmol)	Relative activity (%)
None		100
Na <sup>+</sup>	0.1	99
	0.5	94
	1.0	91
	5.0	87
K <sup>+</sup>	0.1	115
	0.5	130
	1.0	120
	5.0	114
Mg <sup>2+</sup>	0.1	117
	0.5	140
	1.0	135
	5.0	107
Ca <sup>2+</sup>	0.1	112
	0.5	107
	1.0	104
	5.0	98
Fe <sup>3+</sup>	0.1	105
	0.5	135
	1.0	175
	5.0	180
Fe <sup>2+</sup>	0.1	138
	0.5	143
	1.0	145
	5.0	147



**Fig. 5.** Effects of metal ions on the mitochondrial ATPase activity by the illumination for 10 sec. at 580 nm. □; Fe<sup>3+</sup>, ■; Fe<sup>2+</sup>, ○; K<sup>+</sup>, ●; Na<sup>+</sup>, ▲; Mg<sup>2+</sup>, △; Ca<sup>2+</sup>.

47% 증가하였다.

$\text{Ca}^{2+}$  이온은 0.1mmol에서 12% 활성증가를 보였으나, 농도가 증가함에 따라 그 활성이 감소하였으며  $\text{Na}^{+}$  이온은 농도증가에 따라 이 효소의 활성을 억제하였다.  $\text{K}^{+}$  이온효과는 0.5mmol에서 30% 활성도 증가를 보였고  $\text{Mg}^{2+}$  이온효과는 0.5mmol에서 40% 증가를 보였으나, 그 이상의 농도에서는 농도증가에 따라 감소하였다.

이 결과는 쥐의 간 mitochondria 추출물 중의 ATPase(Cooper 등, 1957)는 3mmole  $\text{Mg}^{2+}$  및 3mmol  $\text{Ca}^{2+}$  이온은 이들 금속이온이 없을 때에 비하여 각각 626% 및 110% 활성이 증가하였고, 3mmole  $\text{Fe}^{3+}$  이온에 의해서는 11% 효소활성이 억제됨과는 상이하였으나 포고버섯 중 광 감응성 mitochondrial ATPase(Min 등, 1987<sup>a</sup>)는 5mmol  $\text{Fe}^{3+}$ , 5mmol  $\text{Fe}^{2+}$ , 0.1mmol  $\text{Ca}^{2+}$ , 5mmol  $\text{K}^{+}$  그리고 0.1mmol  $\text{Mg}^{2+}$  이온에 의하여 각각 78, 45, 23, 10, 23 및 43% 효소활성이 증가되었으며,  $\text{Na}^{+}$  이온에서는 효소활성이 억제된다는 보고와 유사하였다.

이상의 결과로부터 느타리버섯 중 mitochondrial ATPase의 최적 pH 7.4 및 최적 온도 60°C 이고,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^{+}$  및  $\text{Mg}^{2+}$  이온에 의해서 효소가 활성화되고  $\text{Na}^{+}$ 에서 효소활성이 억제되는 것은 포고버섯 중 이 효소의 최적 pH 7.5, 최적 온도 59°C이고  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^{+}$  및  $\text{Mg}^{2+}$  이온에 의해서 활성화되고  $\text{Na}^{+}$  이온에 의해서는 효소활성이 억제됨과 유사한 것으로 보아 느타리버섯 중 mitochondrial ATPase는 포고버섯 중의 그것과 그 형태는 유사하지만 광 수용체는 달라지는 것으로 사료된다.

앞으로 mitochondrial ATPase 580 nm 빛에 흡광하는 물질이 무엇인가를 규명하기 위하여 연구를 수행하려 한다.

## 摘 要

1. 느타리버섯 중의 미토콘드리아는 설탕농도 44% 층에서 분리 정제되었다.

2. 파장 변화에 따른 미토콘드리아성 ATPase의 활성도는 580 nm의 빛이 조사될 때 가장 크게 증가되었다.

3. 최적 파장 580 nm의 빛 조사시간 변화에 따른 활성도는 10초 동안 조사하였을 때 가장 크게 증가하였다.

4. 최적 빛 조사 조건에서 이 효소의 최적 pH는 7.4, 최적 온도는 60°C였다.

5. 최적 광 조건에서 얻은 이 효소는  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  및  $\text{K}^{+}$  이온에 의하여 활성화되었으나  $\text{Na}^{+}$  이온에 의해서는 억제되었다.

## 參考文獻

- Amzel, L.M. and Pedersen, P.L. (1983): Proton ATPases; structure and mechanism. *Ann. Rev. Biochem.* **52**: 801-824.
- Blair, P.V. (1967): The large scale preparation and properties of heart mitochondria from slaughterhouse material. *Methods Enzymol.* **10**: 78-81.
- Cain, B.D. and Simoni, R.D. (1988): Interaction between Glu-219 and His-245 within the a subunit of  $\text{F}_1\text{-F}_0\text{-ATPase}$  in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **263**: 6606-6612.
- Chen, B.H., Min, T.J. and Song, P.S. (1985): Light-Induced synthesis of ATP in the unicellular ciliate stentor ceorules. *Photochem. Photobiol.* **41**: 120-130.
- Carmeli, C. and Avron, M. (1972): Light-Triggered and Light-dependent ATPase activities in chloroplasts. *Methods Enzymol.* **24**: 92-96.
- Cooper, T.G. and Beevers, H. (1969): Mitochondria and glyoxysomes from castor bean endosperm. *J. Biol. Chem.* **244**: 3507-3513.
- Caubergs, R.J., Asard, H.H., Degreef, J.A., Leeuwerik, F.J. and Oltman, 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.
- Fillingame, R.H. (1980): The proton-translocating pumps of oxidative phosphorylation. *Ann. Rev. Biochem.* **49**: 1079-1113.
- Gilmour, D. and Calaby, J.H. (1952): Purification of ATPase from insect muscle. *Arch. Biochem. Biophys.*, **41**: 83-91.
- Hatefi, Y. (1985): The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. *Ann. Rev. Biochem.* **54**: 1015-1069.

- Hoppe, J. and Sebald, W. (1984): The proton conducting  $F_0$ -part of bacterial ATP synthases. *Biochim. Biophys. Acta.* **768**: 1-27.
- Houstek, J. and Drahotka, Z. (1977): Purification and properties of mitochondrial ATPase of hamster brown adipose tissue. *Biochim. et Biophys. Acta.* **484**: 127-139.
- Horio, T., Horiuti, Y., Yamamoto, N. and Nishikawa, K. (1972): Light-Influenced ATPase activity; Bacterial. *Methods Enzymol.* **24**: 96-103.
- Kielly, W.W. and Kielly, R.K. (1953): A specific ATPase of liver Mitochondria. *J. Biol. Chem.* **200**: 213-222.
- Kielly, W.W. (1955): Mitochondrial ATPase. *Methods Enzymol.* **2**: 593-598.
- Leonard and Vander-woude, W.J. (1976): Isolation of plasma membranes from corn roots by sucrose density gradient centrifugation. *Plant Physiol.* **57**: 105-114.
- Leonard, R.T., Hansen, D. and Hodges, T.K. (1973): The purification of specific membrane bound ATPase. *Plant. Physiol.* **51**: 749-754.
- Monk, B.C. and Kellerman, G.M. (1976): A rapid method for the assay of mitochondrial ATPase activity. *Anal. Biochem.* **73**: 187-195.
- Min, T.J. and Park, H.R. (1986): Studies on the ATPase in the mushroom (*L. edodes* (Berk.) Sing). *J. Nat. Sci. Res. Ins.* **6**: 89-96.
- Min, T.J., Choi, S.W. and Park, S.S. (1987<sup>a</sup>): Studies on the development of photoreceptor in the nonchromatophore organisms (I). *Kor. J. Mycol.* **15**: 217-223.
- Min, T.J., Choi, S.W., Kim, J.W. and Mheen, T.I. (1986<sup>b</sup>): Studies on the development of photoreceptor in the nonchromatophore organism (II). *Kor. J. Mycol.* **15**: 224-230.
- Okamoto, H., Sone, N., Hirata, H. and Kagawa, Y. (1977): Purified proton conductor in proton translocating ATPase of a thermophilic bacterium. *J. Biol. Chem.* **252**: 6125-6131.
- Penefsky, H.S. and Warner, R.C. (1965): Partial resolution of the enzymes catalyzing oxidative phosphorylation. *J. Biol. Chem.* **240**: 4694-4699.
- Papa, S., Altendorf, K., Ernster, L. and Packer, L. (eds) (1984)  $H^+$ -ATPase (ATP synthase): Structure, Function, Biogenesis, ICSU press, Miami /Adriatica Editrice, Bari.
- Peters, W.H.M., Depont, J.J.H.H.H., Koppers, A. and Bonting, S.L. (1981): Studies on  $(Na^+, K^+)$ -activated ATPase. *Biochimica et Biophysica Acta* **641**: 55-70.
- Racker, E. (1976): The possible organization of the polypeptides of  $F_1F_0$ -ATPase. *Trends Biochem. Sci.* **1**: 244-255.
- Rorive, G. and Kleinzeller, A. (1972): The effect of ATP and  $Ca^{2+}$  on the cell volume in isolated Kidney tubules. *Biochim. Biophys. Acta.* **274**: 226-239.
- Schneider, E. and Altendorf, K. (1984): The proton-translocating portion ( $F_0$ ) of the *E. coli* ATP synthase. *Trends Biochem. Sci.* **9**: 51-53.
- Schneider, E. and Altendorf, K. (1987): Bacterial-5-triphosphate synthase ( $F_1 F_0$ ): Purification and reconstitution of  $F_0$ -complexes and biochemical and functional characterization of their subunits. *Microbiol. Rev.* **51**: 447-497.
- Song, P.S. (1981): Photosensory transduction in stentor coeruleus of related organisms. *Biochim. Biophys. Acta.* **639**: 1-7.
- Song, P.S. (1983): Protozoan and related photoreceptor: Molecular Aspects. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* **12**: 35-42.
- Sedmark, J.J. and Grossberg, S.E. (1977): A rapid, sensitive and versatile assay for protein using coomassie brilliant blue G-250. *Anal. Biochem.* **79**: 544-552.
- Sebald, W. and Hoppe, J. (1981): On the structure and genetics of the proteolipid subunit of the ATP synthase complex. *Curr. Top. Bioenerg.* **12**: 1-64.
- Sone, N., Yoshida, M., Hirata, H. and Kagawa, Y. (1975): Purification and properties of a dicyclohexyl carbodiimide-sensitive triphosphatase from a thermophilic bacterium. *J. Biol. Chem.* **250**: 7917-7923.
- Vik, S.B., Cain, B.D., Chun, K.T. and Simoni, R.D. (1988): Mutagenesis of the  $\alpha$ -subunit of the  $F_1F_0$ -ATPase from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **263**: 6599-6605.
- Walker, J.E., Saraste, M. and Gay, N. J. (1984): Nucleotide sequence, regulation and structure of ATP synthase. *Biochim. et Biophys. Acta.* **768**: 164-200.
- Walker, J.E. Fearnley, I.M., Gay, N.J., Gibson, B.W., Northrop, F.D., Powell, S.J., Runswick M.J., Saraste, M. and Tybulewicz, V.L.J (1985): Primary structure and subunit stoichiometry

metry of  $F_1$ -ATPase from Bovine mitochondria. *J. Mol. Biol.* **184**: 677-701.

Walker, J.E., Cozens, A.L., Dyer, M.R., Fearnley, I.M., Powell, S.T. and Runswick, M.J.

(1987): Structure and genes of ATP synthase. *Biochem. Soc. Trans.* **15**: 104-106.

**Accepted for Publication 18 October 1989**