

느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)중의 Light-induced mitochondrial ATP Synthase의 효소적 특성에 관한 연구

민태진 · 이강협
동국대학교 화학과

Study on the Characterization of Light-induced Mitochondrial ATP Synthase in *Pleurotus ostreatus*.

Tae-Jin Min and Kang-Hyeob Lee

Dept. of Chemistry, College of Science, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

ABSTRACT: Mitochondria in *Pleurotus ostreatus* were isolated and purified by the stepped sucrose density gradient centrifugation, to investigate the effects of the light on the enzymatic activity of the mitochondrial ATP synthase. This enzyme, which was illuminated by the light ranging from 400 nm to 700 nm, showed that the specific activity was stimulated at 490 nm for 15 sec. Effects of organic compounds on the mitochondrial ATP synthase were also investigated at the optimum conditions; The activities of this enzyme were increased to 168 percent by the addition of 2,6-dichlorophenol indophenol(DCPIP), 224 percent by phenazine methosulfate(PMS), but inhibited 91 percent by oligomycin, 14 percent by 2-heptyl-4-hydroxyquinoline-N-oxide(HQNO) and 75 percent by 2,4-dinitrophenol (DNP), respectively. Effects of metal ions of the mitochondrial ATP synthase were investigated at the optimum conditions. The activities of the enzyme were inhibited 35 percent by Ca^{2+} , 14 percent by Co^{2+} and 73 percent by Mn^{2+} . For effects of anions, the activities of this enzyme were inhibited 80 percent by CN^- , 52 percent by SO_4^{2-} , 28 percent by each of CO_3^{2-} and NO_3^- , respectively.

KEYWORDS: *Pleurotus ostreatus*, Light-induced mitochondrial ATP synthase.

ATPase(EC 3.6.1.3)는 ADP와 Pi로 부터 ATP를 합성하는 효소(F_0F_1 -ATPase)인 ATP synthase와 ATP를 ADP와 Pi로 가수분해시키는 효소(F_1 -ATPase)인 ATPase 의 총칭으로, microorganism이나 세포내의 mitochondria, chloroplasts에 존재하는 multisubunits enzyme complex이다(Boyer, 1987 ; Amzel 등, 1983). ATP synthase는 membrane에 내재되어 있는 F_0 부분과, OSCP(Oligomycin sensitive conferring protein)에 의해 F_0 부분에 연결되어 있는 F_1 부분으로 구성되어 있다(Boyer, 1987 ; Cross 등, 1982). 한편, F_0 부분은 lipid bilayer 인 membrane 을 통해 proton을 전달하는 역할을 한다(Papa 등, 1988).

F_1 부분은 수용성이며, 일반적으로 55 kDaltons의

α subunit와 50 kDaltons 의 β subunit이 각각 3개씩 결합하고, 30, 20, 15 kDaltons의 γ , δ 및 ϵ subunits 들이 하나씩 결합되어 $\alpha_3\beta_3\gamma_1\delta_1\epsilon_1$ 의 복합체를 이루고 있다. F_0 부분의 subunits 조성은 F_1 부분과 같이 확실하게 알려져 있지는 않으나, 각각 30, 17, 8 kDaltons의 a, b 및 c subunits이 $a_1b_2c_{9-12}$ 의 복합체를 이루는 것으로 알려져 있다(Boyer, 1987 ; Kumamoto 등, 1986). ATP synthase의 F_1 부분과 F_0 부분은 F_1 부분의 γ subunit과 F_0 부분의 b subunit에 의해 서로 연결되어 있으며 이 부분이 OSCP로 알려져 있다(Amzel 등, 1983 ; Hatefi, 1985).

생체대사의 energy 원인 ATP를 합성하는 ATP synthase와 빛의 관계에 대한 연구 보고로는, 광증감제에 의한 상처 엽록체 중의 광감응성 및 광

의존성 ATPase(Carmeli 등, 1972), *Rhodospirillum rubrum* 박테리아의 발색단 중의 광 감응성 ATPase에 관한 효소적 특성(Horiuti 등, 1968; Horio 등, 1968) 등이 있다. 버섯은 고등 균류에 속하는 음지 생물로서 엽록체나 박테리아성 엽록소와 같은 흡광 색소가 없는 비광합성 생물로 알려져 있다. 그러나 빛은 이러한 버섯의 성장이나 대사에도 중요한 영향을 미친다는 연구 결과가 보고되어 있다(Eger, 1963; Esser 등, 1977). 균류의 빛 영향은 대부분 근자외선과 청색광에 의하여 조절되며 광수용체는 청색광/자외선-A의 흡광 색소(cryptochrome)와 자외선-B의 흡광 색소이며, 몇몇 종은 황적색 광의 영향을 받는다고 보고되어 있다(Kumagai, 1988). 버섯의 체내 대사에 미치는 빛의 영향에 관한 기초 연구로서 표고버섯 중의 ATPase를 순수히 분리 정제하여 그 효소적 특성에 관하여 보고된 것이 있고(Min and Park, 1986), 또한 표고버섯 중의 mitochondria를 분리 정제하여 각 파장별 빛 조사에 따른 mitochondrial ATPase 및 ATP synthase의 활성도를 측정 한 결과 각각 680 nm의 빛을 5분간 조사하였을 때와 470 nm의 빛을 15 초 동안 조사하였을 때 그 활성도가 가장 증가한다는 보고가 있다(Min 등, 1987; 1989). 한편, 느타리버섯 중의 mitochondria를 분리 정제하여 파장 변화에 따른 mitochondrial ATP synthase 및 ATPase의 활성도를 관찰한 결과, 각각 480 nm의 빛을 15분간 및 580 nm의 빛을 10초 동안 조사하였을 때 가장 활성화되며, 이때 최적 pH는 7.5, 최적 온도는 56°C임을 보고한바 있다(Min and Lee, 1989^d; 1989^e).

본 연구에서는 앞서 발표된 표고버섯과 느타리버섯의 흡수파장이 다르기 때문에 이를 재확인하기 위하여, 경기도 용문에서 재배한 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*) 중의 mitochondria를 분리 정제 하고, 여기에 각 파장별 빛을 조사하여 mitochondrial ATP synthase가 가장 활성화 되는 빛의 파장과 최적 빛 조사 시간을 밝히고, 최적 온도 및 최적 pH에서 최적 빛 조사에 따른 이 효소의 PMS, Oligomycin 및 HQNO 등의 유기물 효과, Ca²⁺, Co²⁺ 및 Mn²⁺ 등의 양이온 효과 및 SO₄²⁻ 및 NO₃⁻ 등의 음이온 효과를 실험하여 mitochondrial ATP synthase의 효소적 특성을 구명하였다.

材料 및 方法.

재 료

본 실험에 사용한 버섯은 경기도 용문에서 재배한 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)을 사용하였다. 시약들은 Adenosine-5'-diphosphate(ADP), Tris(hydroxymethyl) aminomethane(Tris), Bovine albumin(BA), Phenazine methosulfate(PMS), 2,4-dinitrophenol(DNP), 2-heptyl-4-hydroxyquinoline-N-oxide(HQNO), 2,6-dichlorophenol indophenol (DCPIP), Oligomycin 및 Foline-Ciocalteu reage-

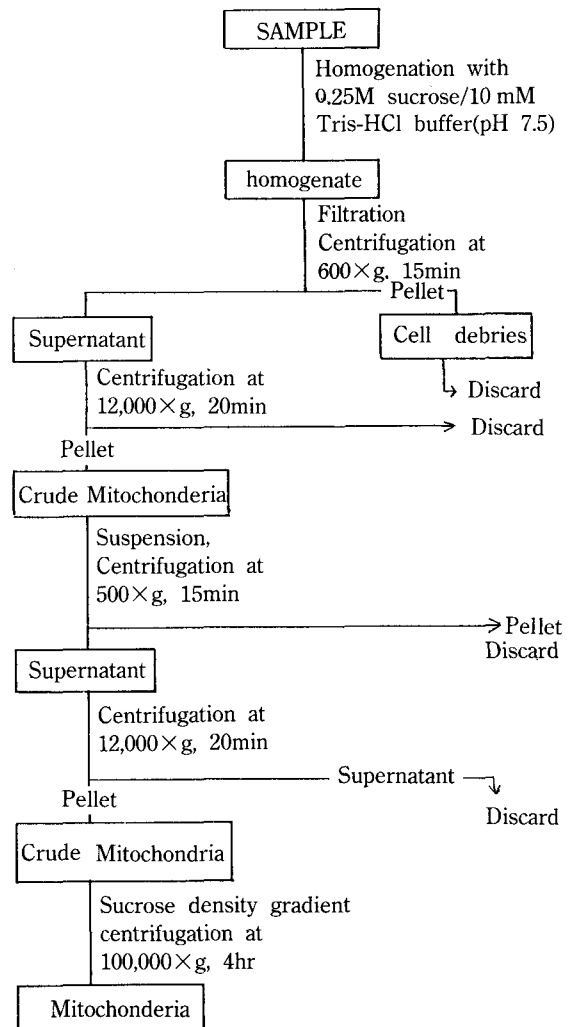


Fig. 1. Schem of the isolation and purification of mitochondria in *Pleurotus ostreatus*.

nts는 Sigma 제품을, KH_2PO_4 , 1-amino-2-naphtol-4-sulfonic acid(ANSA), Ammonium molybdate (AM), Trichloroacetic acid(TCA) 및 Sucrose는 Wako 제품을 사용하였으며, 그외의 시약은 분석용 특급 시약들을 사용하였다.

Mitochondria의 분리 정제

Mitochondria의 분리 정제는 Blair(1967), Cooper (1969) 및 Greksak(1972)의 방법을 인용하여 다음과 같이 실험하였다(Fig. 1). 느타리버섯 2kg에 0.25 M sucrose가 포함된 10 mM Tris-HCl 완충용액 (pH 7.5) 3l를 가하여 Homogenizer로 30초씩 3회 균질화 시킨 다음, 여과하여 잔사를 제거하고 $600 \times g$ 에서 15분간 원심분리하여 cell debris를 제거한 후, 상층액을 $12,000 \times g$ 로 20분간 원심분리하여 crude mitochondria를 얻었다. 이와 같이 얻은 crude mitochondria를 설탕 밀도 단계 기울기법으로 $100,000 \times g$ 에서 4시간 동안 원심분리하여 mitochondria를 얻었으며, 이를 2차 반복하여 정제된 mitochondria를 얻었다. 위의 모든 조작은 4°C 에서 실험하였다.

Marker enzyme의 활성도 측정

정제된 mitochondria를 확인하기 위하여 marker enzyme의 활성도를 측정하였다. Succinate dehydrogenase(EC 1.3.99.1)의 활성도는 Hiatt(1961)와 Singer(1973)의 방법을 인용하여 측정하였다. 효소의 비활성도는 DCPIP의 몰 흡광계수 $\epsilon_{600} = 19.1 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 를 이용하여 매 분동안 1 mg의 효소 단백질당 $1 \mu\text{mol}$ 의 DCPIP를 환원시키는 양을 1단위(Unit)로 하여 산출하였다. Cytochrome oxidase (EC 1.9.3.1)의 활성도는 Rubín 등(1978)의 방법을 인용하여 측정하였다. 효소의 비활성도는 cytochrome c의 몰 흡광계수 $\epsilon_{550} = 21.0 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 를 이용하여 매 분동안 1 mg의 효소 단백질 당 $1 \mu\text{mol}$ 의 cytochrome c를 산화시키는 양을 1단위(Unit)로 하여 산출하였다. NADPH-cytochrome c reductase (EC 1.6.2.3)의 활성도는 Phillips 등(1962)의 방법을 인용하여 측정하였다. 효소의 비활성도는 cytochrome c의 몰 흡광계수 $\epsilon_{550} = 21.0 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 를 이용하여 매 분동안 1 mg의 효소 단백질 당 $1 \mu\text{mol}$ 의 cytochrome c를 환원시키는 양을 1단위(Unit)로 하여 산출하였다.

Mitochondria의 빛 조사

본 실험에서 빛 조사는 300 W tungsten-halogen lamp를 광원으로 하여 각 파장별 간섭필터(400-700 nm, Koshin Kogaku Co.)를 사용하였다. 빛의 세기는 power meter로 측정하였으며 0.2 mW/cm^2 로 일정하게 유지 하였다.

파장 변화에 따른 mitochondrial ATP synthase의 활성도 측정

Mitochondrial ATP synthase의 활성도는 Rorive 등(1972)의 방법을 인용하여 Min 등(1989)의 방법에 따라 실험하였다. 이 효소의 비활성도 단위는 37°C , pH 7.5에서 매 분당 효소 단백질 1 mg이 기질 용액으로부터 $1 \mu\text{mol}$ 의 Pi를 감소시키는 양을 1단위 (Unit)로 하였다. 단백질 정량은 Lowry법(1951)을 인용하여 실험하였다.

빛 조사 시간 변화에 따른 mitochondrial ATP synthase의 활성도 측정

최적 파장인 490 nm에서 mitochondria용액에, 1 초에서 1,800초까지 각각의 시간동안 빛을 조사한 다음, 이효소의 비활성도를 측정하였다. 이때 복합 파장의 빛을 조사하여 얻은 활성도를 대조구로 하였다.

結果 및 考察

Mitochondria의 분리 정제

설탕 밀도 단계 기울기 원심분리법에 의하여 mitochondria를 분리 정제한 결과는 Fig. 2와 같다. 1차

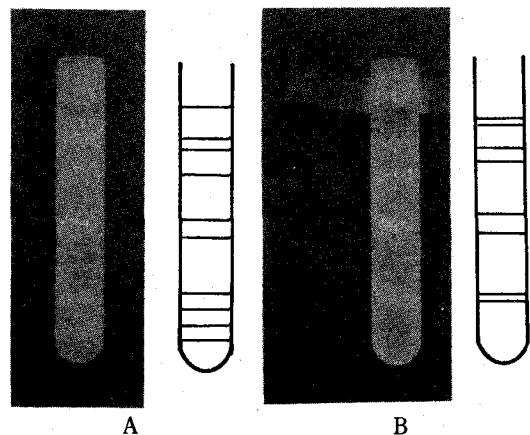


Fig. 2. The purification of the mitochondria in *Pleurotus ostreatus* by stepped sucrose density gradient centrifugation

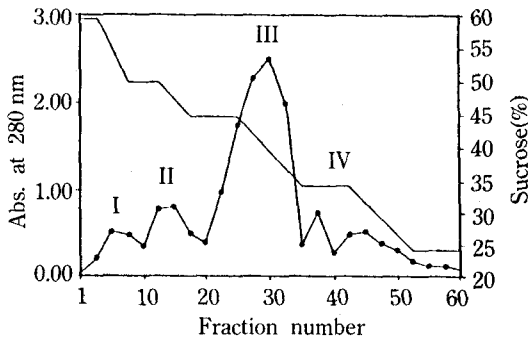


Fig. 3. Fractionation of mitochondria in *Pleurotus ostreatus* after second stepped sucrose density gradient centrifugation.

분리된 결과인 A 시험관에서 44%층을 취하여 다시 2차 정제한 결과가 B 시험관이다. B 시험관의 각 분획을 단백질의 흡수 파장인 280 nm에서 흡광도를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. Fig. 3에서 보는 바와

같이 4개의 단백질 분획을 얻었으며, 44%층에서 얻어진 분획 III이 mitochondria이었다.

Mitochondria의 확인

정제된 mitochondria를 확인하기 위하여 marker enzyme의 활성도를 측정된 결과는 Table I, II 및 III과 같다. Mitochondria의 marker enzyme인 succinate dehydrogenase는 600×g 상층액에서 653 unit의 활성도를 나타냈으며, 정제된 mitochondria 분획에서는 529 unit의 활성도를 나타내므로서 600×g 상층액의 활성도를 기준으로 81%의 회수율을 나타냈다. 또한 cytochrome oxidase는 600×g 상층액에서 1,258 unit의 활성도를 나타냈고, 이를 기준으로 정제된 mitochondria 층에서는 1,060 unit의 활성도를 나타내 85%의 회수율을 보였다. 한편 microsome의 marker enzyme인 NADPH-cytochrome c reductase는 600×g 상층액에서 1,085 unit의 활성도를 나타냈으나, 정제된 mitochondria 분획에서

Table I. The distribution of succinate dehydrogenase of the mitochondrial marker enzyme in each fractions

Fraction	Total protein (mg)	Total activity (Units*)	Specific Activity (Units/mg)	Recovery (%)
600×g Supernatant	965.0	653.2	0.6	100
Crude Mitochondria	510.5	574.8	1.1	90
Purified Mitochondria	316.3	529.1	1.7	85

*Enzyme activity units was μmol of DCPIP reduced per minute.

Table II. The distribution of cytochrome c oxidase of the mitochondrial marker enzyme in each fractions.

Fraction	Total protein (mg)	Total activity (Units*)	Specific Activity (Units/mg)	Recovery (%)
600×g Supernatant	965.0	1258.7	1.3	100
Crude Mitochondria	510.5	1132.8	2.2	85
Purified Mitochondria	316.3	1060.9	3.4	81

*Enzyme activity units was μmol of cytochrome c oxidized per minute.

Table III. The distribution of NADPH-cytochrome c reductase of the microsomal marker enzyme in each fractions.

Fraction	Total protein (mg)	Total activity (Units*)	Specific Activity (Units/mg)	Recovery (%)
600×g Supernatant	965.0	1085.1	1.1	100
Crude Mitochondria	510.5	141.1	0.3	13
Purified Mitochondria	316.3	54.3	0.2	5

*Enzyme activity units was μmol of DCPIP reduced per minute.

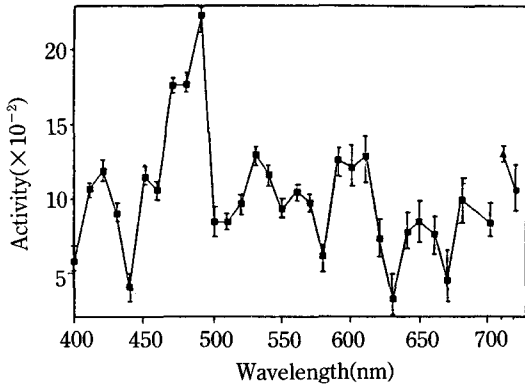


Fig. 4. The activity changes of the mitochondrial ATP synthase after each wavelengths illumination of 400-700 nm region.

는 54 unit의 활성도를 보여 5%의 회수율만을 나타내므로서, 최종 단계에서 정제된 mitochondria를 확인할 수 있었다.

파장 변화에 따른 mitochondrial ATP synthase의 활성도

각 파장의 빛을 30분 동안 조사한 후 측정된 mitochondrial ATP synthase의 활성도 변화는 Fig. 4와 같다. 복합 파장의 빛을 조사하여 얻은 활성도를 대조구로 하여 비교한 결과 mitochondrial ATP synthase의 활성도는 파장 변화에 따라 다양한 변화를 보였으나 490 nm에서 활성도가 가장 증가하였다. Min등(1989)이 보고한 바 있는 표고버섯 중의 mitochondrial ATP synthase는 470 nm에서 가장 활성화되었고, 느타리버섯 중의 mitochondrial ATP synthase는 480 nm에서 가장 활성화되는 것으로 보고되어 있다(Min and Lee, 1989^d). 이들 결과와 본 실험의 최고 활성화 파장인 490 nm를 비교할때 각각 10 nm씩의 차이를 보이고 있으나 같은 청색광 영역의 빛을 필요로 함을 알았다. 이와 같은 결과로 느타리버섯과 표고버섯 중의 mitochondrial ATP synthase는 버섯의 종류에 관계없이 청색광 영역의 빛에 의하여 활성화 된다는 것을 예측할 수 있다.

빛 조사 시간 변화에 따른 mitochondrial ATP synthase의 활성도

Mitochondrial ATP synthase가 가장 활성화되는 490 nm에서 빛 조사 시간을 변화시켜 측정된 활성도 변화는 Fig. 5와 같다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 15 초 동안 빛을 조사하였을 때 효소 활성도가 가장

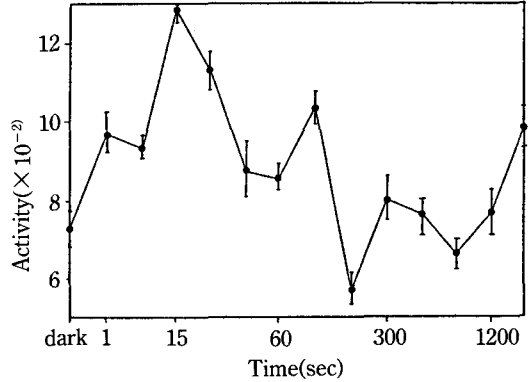


Fig. 5. The activity changes of the mitochondrial ATP synthase in various times of illumination at 490 nm.

증가하였다. 이와 같은 결과는 표고버섯 중의 mitochondrial ATP synthase가 470 nm의 청색광을 15 초 동안 조사하였을 때 가장 활성화 된 결과(Min 등, 1989)와 일치하였다. 따라서 서로 다른 버섯에서 mitochondrial ATP synthase의 형태는 기본적으로 동일하며, 가장 활성화되는 빛의 영역이 유사하고, 필요한 빛 조사 시간도 같은 것으로 보아 광수용체도 유사한 물질일 것으로 예측할 수 있다. 그러나, 느타리버섯의 mitochondria를 분리하여 실험한, Min 등(1989^d)의 결과에서는 480 nm의 빛을 15분간 조사 하였을 때 가장 활성화 되는 것으로 보고한 바 있으나, 이와 같은 결과는 빛 조사에 따른 활성화에 있어서 빛 조사 시간이 고정되어 있는 것이 아니라 일정한 주기가 있는 것으로 추정된다.

빛 조사에 따른 mitochondrial ATP synthase의 유기물 효과

최적 조건에서 느타리버섯 중의 mitochondrial ATP synthase의 활성도 변화에서 oligomycin 효과는 Fig. 6, DNP 효과는 Fig. 7, HQNO 효과는 Fig. 8, DCPIP 효과는 Fig. 9 및 PMS 효과는 Fig. 10과 같다. Fig. 6, 7, 8, 9, 10에서 보는 바와 같이 이 효소는 100 µg/ml oligomycin에 의해 91%의 효소 활성 억제 나타냈고, 0.5 mM DNP에 의해 75%의 활성 억제를 나타냈으며, 10 µM HQNO에 의해 13%의 활성 억제를 나타냈다. 한편 DCPIP 0.1 mM에 의해 168%의 효소 활성이 증가하였으며, 광증감제로 알려진 PMS 0.1 mM에 의해서는 224%의 효소 활성 증가를 나타냈다. 표고버섯 중의 mitochondrial ATP

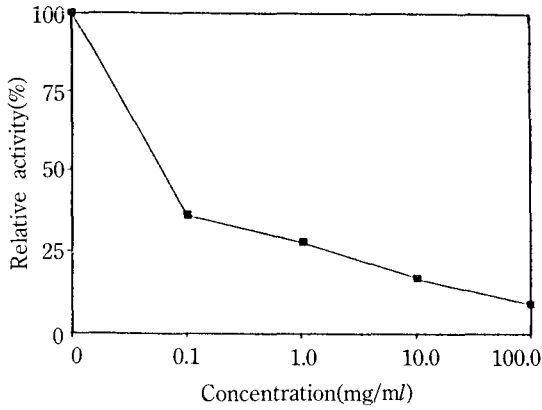


Fig. 6. Effect of oligomycin on the mitochondrial ATP synthase with the illumination of 490 nm for 15sec.

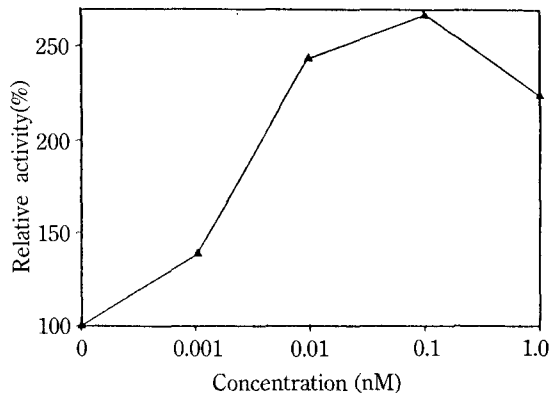


Fig. 9. Effect of DCPIP on the mitochondrial ATP synthase with the illumination of 490 nm for 15sec.

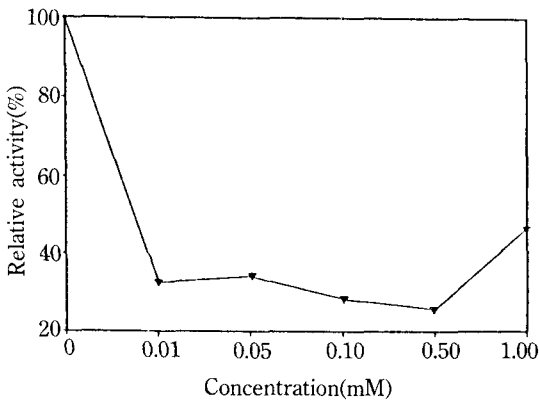


Fig. 7. Effect of DNP on the mitochondrial ATP synthase with the illumination of 490 nm for 15sec.

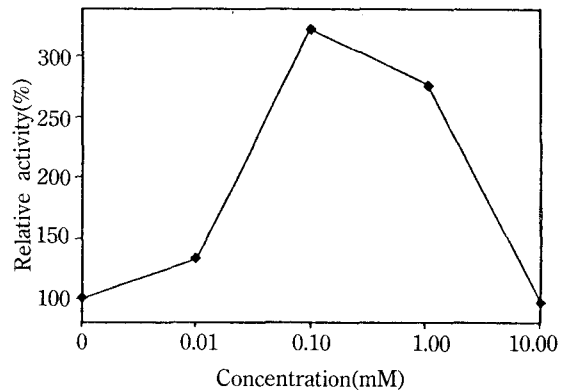


Fig. 10. Effect of PMS on the mitochondrial ATP synthase with the illumination of 490 nm for 15sec.

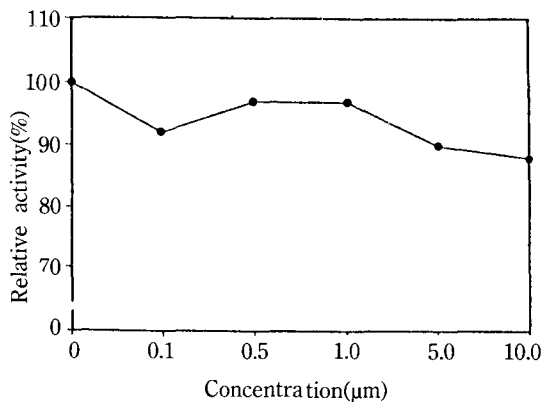


Fig. 8. Effect of HQNO on the mitochondrial ATP synthase with the illumination of 490 nm for 15sec.

synthase는 1.0 mM DNP, 10 μ M HQNO 및 100 μ g/ml oligomycin에 의해 각각 61%, 49% 및 12%의 효소 활성 억제를 나타냈고, 1.0 mM DCPIP와 10 mM PMS에 의해 각각 85%, 414% 효소 활성을 증가시킨 것으로 보고되어 있다(Min 등, 1989). 이를 본 실험의 결과와 비교해 볼때 정도의 차이는 있으나 유사한 효소 활성 변화를 보이는 것으로 보아, 표고버섯과 느타리버섯의 mitochondrial ATP synthase는 이들 유기물에 의해 동일한 영향을 받는 것으로 보인다.

빛 조사에 따른 mitochondrial ATP synthase의 양이온 효과

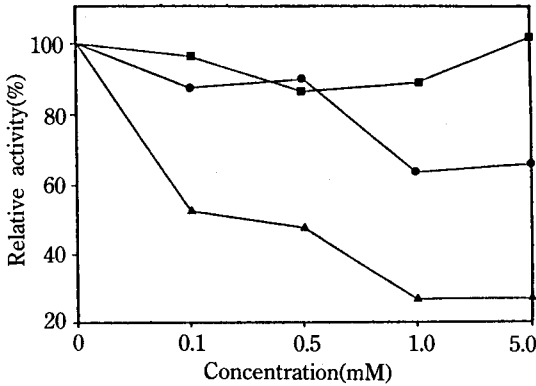


Fig. 11. Effects of metal ions on the mitochondrial ATP synthase with the illumination of 490 nm for 15sec.
 ■-■ : Co²⁺, ●-● : Ca²⁺, ▲-▲ : Mn²⁺

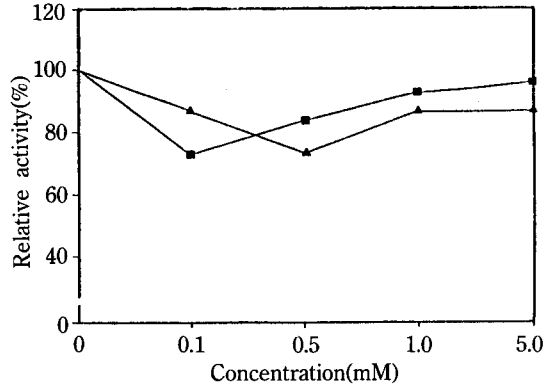


Fig. 13. Effect of CO₃²⁻ and NO₃²⁻ on the mitochondrial ATP synthase with the illumination of 490 nm for 15sec.
 ■-■ : CO₃²⁻, ▲-▲ : NO₃²⁻

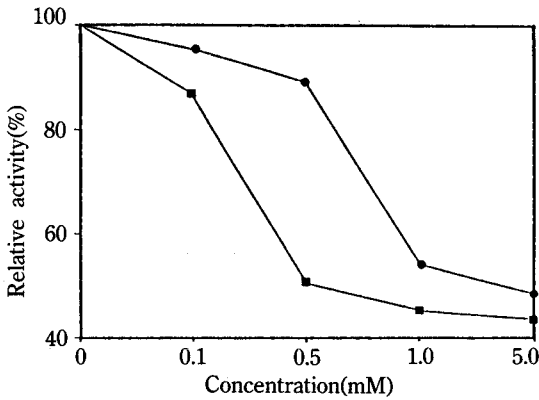


Fig. 12. Effects of CN⁻ and SO₄²⁻ on the mitochondrial ATP synthase with the illumination of 490 nm for 15sec.
 ■-■ : CN⁻, ●-● : SO₄²⁻

최적 파장 490 nm와 빛 조사 시간 15초, pH 7.5의 최적조건에서 mitochondrial ATP synthase의 양이온 효과에서 Co²⁺, Ca²⁺ 및 Mn²⁺ 효과는 Fig. 11과 같다. Fig. 11에서 보는 바와 같이 mitochondrial ATP synthase는 Ca²⁺ 5.0 mM에 의해 35%, Mn²⁺ 1.0 mM에 의해 73%의 효소 활성 억제를 나타냈다. Co²⁺에 의해서는 0.5 mM에서 14%의 활성 억제를 보였다. 표고버섯 중의 mitochondrial ATP synthase는 5.0 mM Co²⁺, 5.0 mM Mn²⁺ 및 1.0 mM Ca²⁺ 의해 각각 10%, 22% 및 21% 효소 활성이 억제되는 것으로 보고한 바 있다(Min 등, 1989). 본 실험 결과와 비교해 볼때, 정도의 차이가 있으나 유사한 경향을 보였다. 한편, Min 등 (1989^d)이 느타리버섯

중의 mitochondria를 분리하여 mitochondrial ATP synthase의 양이온 효과를 실험한 결과, 0.5 mM Fe²⁺, 1.0 mM Fe³⁺ 및 5.0 mM K⁺에 의해 효소 활성이 증가하고, 1.0 mM Na⁺에 의해 7%의 효소 활성 억제를 보인 것과 표고버섯의 경우를 비교해도, 0.5 mM Fe²⁺에 의해 25%의 활성 증가를 보였고, Fe³⁺ 1.0 mM에 의해 26%의 활성 증가, 0.1 mM Na⁺에 의해서는 3%의 활성 억제를 보인 결과와 유사한 경향을 보이고 있음을 알수있다.

빛 조사에 따른 mitochondrial ATP synthase의 음이온 효과

최적 조건에서 느타리버섯 중의 mitochondrial ATP synthase의 음이온 효과에서 CN⁻ 및 SO₄²⁻ 효과는 Fig. 12에 나타내었고, NO₃⁻ 및 CO₃²⁻ 효과는 Fig. 13에 나타냈다. Fig. 12 및 Fig. 13에서 보는 바와 같이, 1.0 mM의 CN⁻와 5.0 mM의 SO₄²⁻에 의해 각각 80%, 52%의 효소 활성이 억제되었고, 0.1 mM CO₃²⁻에 의해 28%, 0.5 mM NO₃⁻에 의해 28% 효소 활성 억제를 나타냈다. 전자 전달계의 억제제로 알려진 CN⁻의 경우, 표고버섯 중의 mitochondrial ATP synthase의 활성이 53% 억제되고(Min 등, 1989), R. rubrum 박테리아의 chromatophore 중 ATP synthase가 90% 효소 활성이 억제된 것과 유사한 경향을 나타냈다. 그러나, SO₄²⁻에 의해서는 표고버섯 중의 mitochondrial ATP synthase가 14% 효소 활성 증가를 나타내었으나, 본 실험에서는 52%의 활성 억제를 나타내 상반된 경향을 보였다.

摘 要

느타리버섯을 사용하여, 빛이 버섯의 체내 대사에 영향을 미치는지, 영향을 미친다면 어떤 영역의 빛이 작용하는지를 연구하였다. 이들 결과를 비교 검토하기 위해 재배 지역이 다른 느타리버섯 중의 mitochondria를 설탕 밀도 단계 기울기 원심분리법에 의하여 설탕 농도 44%층에서 분리 정제하여 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 파장 변화에 따른 mitochondrial ATP synthase의 활성도는 490 nm에서 가장 크게 활성화되었다.

2. 최적 파장 490 nm에서 빛 조사 시간 변화에 따른 ATP synthase의 활성도는 15초 동안 조사하였을 때 가장 활성화 되었다.

3. 최적 조건에서 ATP synthase는 phenazine methosulfate(PMS)에 의해 224% 활성화 되었으며, 2,6-dichlorophenol indophenol(DCPIP)에 의하여 168% 활성화 되었다. 한편, oligomycin에 의해서는 90% 효소 활성이 억제 되었으며, 2,4-dinitrophenol (DNP)에 의해서 75%, 2-heptyl-4-hydroxyquinoline-N-oxide(HQNO)에 의해 15% 효소활성이 억제되었다.

4. 최적 조건에서 ATP synthase는 Mn^{2+} 에 의해 73%의 효소 활성 억제를 보였고, Ca^{2+} 에 의해 35%, Co^{2+} 에 의해 14%의 효소 활성 억제를 보였다.

5. 최적조건에서 ATP synthase는 CN^- 과 SO_4^{2-} 에 의하여 각각 80%, 46% 효소활성이 억제되었고, NO_3^- 과 CO_3^{2-} 에 의해서는 28%의 효소 활성 억제를 보였다.

이상과 같은 결과를 통해 버섯의 종류에 관계없이 청색광 영역의 빛에 의해 활성화 된다는 것과 그 광수용체도 유사한 형태일 것이라 예측할 수 있다.

參考文獻

- Amzel, L. M. & Pedersen, P. L. (1983): Proton ATPase; structure and mechanism. *Ann. Rev. Biochem.* **52**: 801.
- Blair, P. V. (1967): The large scale preparation and properties of heart mitochondria from slaughterhouse material. *Methods. Enzymol.* **10**: 78.
- Boyer, P. D. (1987): The unusual enzymology of ATP synthase. *Biochemistry.* **26**: 8503.
- Carmeli, C & Avron, M. (1972): Light-triggered and light-dependent ATPase activities in chloroplast. *Methods Enzymol.* **24**: 92.
- Cooper, T. G. & Beevers, H. (1969): Mitochondria and glyoxysomes from castor bean endosperm. *J. Biol. Chem.* **244**: 3507.
- Cross, R. L. (1981): The mechanism and regulation of ATP synthesis by F_1 -ATPase. *Ann. Rev. Biochem.* **50**: 681.
- Cross, R. L., Grubmeyer, C. and Penefsky, H. S. (1982): Mechanism of ATP hydrolysis by Beef Heart Mitochondrial ATPase. *J. Biol. Chem.* **257**: 12101.
- Eager, G. (1963): Untersuchungen. Zur Frucht Körper bildung des kulturchampignons. *Mushroom Science.* **5**: 314.
- Esser, K. and Meinhardt, F. (1971): A common genetic control of dikaryotic and monokaryotic fruiting in basidiomycetes *Agrocybe aserita*. *Mycologia* **62**: 136.
- Frenkel, A. (1954): Light-induced phosphorylation by cell-free preparations of photosynthetic bacteria. *J. Am. Chem. Soc.* **76**: 5568
- Geller, D. M. and Lipmann, F. (1960): Photophosphorylation in extracts of *Rhodospirillum rubrum*. *J. Biol. Chem.* **235**: 1478
- Greksak, M., Asahi, T. and Uritani, I. (1972): Increase in mitochondrial activity in diseased sweet potato root tissue. *Plant and Cell Physiol.* **13**: 1117.
- Hatefi, Y. (1985): The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. *Ann. Rev. Biochem.* **54**: 1015.
- Hiatt, A. J. (1961): Preparation and some properties of soluble succinic dehydrogenase from higher plants. *Plant Physiol.* **36**: 552.
- Horiuti, Y., Nishikawa, K. and Horio, T. (1968): Oxidation reduction potential-dependent adenosine triphosphatase activity of chromatophores from *Rhodospirillum rubrum*. *J. Biochem.* **64**: 577.
- Horio, T., Horiuti, Y., Yamamoto, N & Nishikawa, K. (1972): Light-influenced ATPase activity: Bacterial. *Methods. Enzymol.* **24**: 92.
- Honda, Y. and Aragaki, M. (1983): Light-dependence for fruiting body formation and its inheritance in *Phoma caricis-papayae*. *Mycologia* **75**: 22.
- Housteck, J., Kopecky, J., Zanotti, F., Guerrieri, F., Jirillo, E., Capozza, G. and Papa, S. (1988): Topological and functional characterization of the F_0 I subunit

- of the membrane moiety of the mitochondrial H⁺-ATP synthase. *Eur. J. Biochem.* **173**: 1.
- Kironde, F. A. S. & Cross, R. L. (1987): Adenosine nucleotide binding sites on beef heart F₁-ATPase: asymmetry and subunit location. *J. Biol. Chem.* **262**: 3488.
- Kumagai, T. (1988): Photocontrol of fungal development. *Photochem. Photobiol.* **47**: 889.
- Kumamoto, C. A. and Simon, R. D. (1986): Genetic evidence for interaction between the a and b subunits of the F_o portion of the *E. coli* proton translocating ATPase. *J. Biol. Chem.* **261**: 10037.
- 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**: 251.
- Min. T. J., Cho. S. W. and Park. S. S. (1987): Studies on the development of photoreceptor in the nonchromatophore organisms(I). *Kor. J. Mycol.* **15**: 217.
- Min. T. J. and Lee. K. D. (1989^d): Studies on the light-induced mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 169.
- Min. T. J. and Lee. K. D. (1989^e): Studies on the light-induced mitochondrial ATP synthase in *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 177.
- Min. T. J., Lee. W. G. and Park. S. S. (1989): Studies on the development of photoreceptor in the nonchromatophore organisms(III). *Kor. J. Mycol.* **17**: 1.
- Min. T. J. & Park. H. R. (1986): Studies on the ATPase in the mushroom (*L. edodes* (Berk.) Sing). *J. Nat. Sci. Res. Ins.* **6**: 89.
- Phillips. A.H. and Langdon, R.G. (1962): Hepatic triphosphopyridine nucleotide-cytochrome c reductase: Isolation, characterization, and Kinetic studies. *J. Biol. Chem.* **237**: 2652.
- 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.
- Rubin, M. and Tzagoloff, A. (1978): Cytochrome oxidase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods Enzymol.* **53**: 73.
- Singer, T.P. (1973): Determination of the activity of succinate, NADH, choline, and α -glycerophosphate dehydrogenases. *Methods Biochem. Analysis* **22**: 123.
- Wise, J. G. and Senior, A. E. (1985): Catalytic properties of the *Escherichia coli* proton adenosine triphosphatase: Evidence that nucleotide bound at noncatalytic sites is not involved in regulation of oxidative phosphorylation. *Biochemistry.* **24**: 6949.
- Wood, J. M., Wise, J. G., Senior, A. E., Futai, M. and Boyer, P. D. (1987): Catalytic properties of the F₁-adenosine triphosphatase from *Escherichia coli* K-12 and its genetic variants as revealed by ¹⁸O exchanges. *J. Biol. Chem.* **262**: 2180.

Accepted for Publication on March 4, 1991