

표고버섯의 미토콘드리아성 NADH 탈수소효소의 특성

김은미 · 민지영¹ · 민태진*

동국대학교 이과대학 화학과, ¹생명자원과학대학 응용생물학과

Characterization of Mitochondrial NADH Dehydrogenase in *Lentinus edodes*

Eun-Mi Kim, Ji-Young Min¹ and Tae-Jin Min*

Department of Chemistry,

¹Department of Applied Biology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

ABSTRACT: Mitochondria were isolated from *Lentinus edodes* and properties of the mitochondrial NADH dehydrogenase were studied. Optimal pH, temperature, and thermal stability of the enzyme were estimated to be 7.6, 33°C, and stable for one hour at 50°C. The apparent K_m for the NADH was 0.33 mM. This enzyme catalyzed to transfer electrons from NADH to ferricyanide, decylubiquinone, and 2,6-dichloro-phenol-indophenol. 0.5 mM antimycin A and 0.01 mM dibromothymoquinone strongly inhibited 87.8% and 76.5% of the enzyme activities. 0.01 mM oligomycin known as an inhibitor of ATPase also strongly inhibited 79.2% of activities. 0.5 mM 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) and 1.0 mM N-ethylmaleimide known as a modifier of SH group inhibited 50.4% and 36.7% of activities. 1 mM ethyl 2,4-dihydroxy-6-methyl benzoate and 10 mM orcinol, which had been known as an antibiotics isolated from *Umbilicaria vellea* according to our previous work, stimulated 68.4% and 48.1% of the enzyme activities.

KEYWORDS: Properties, Mitochondrial NADH dehydrogenase, *Lentinus edodes*

NADH dehydrogenase(EC 1.6.5.3)는 미토콘드리아 내막(Menz 등 1992; Hatefi 등 1962)과 원핵세포의 원형질막에 존재(Gutman 등 1968)하는 호흡사슬의 첫번째 전자전달체인 복합체 I(NADH-ubiquinone oxidoreductase)의 구성 성분으로서 multisubunit를 가진 Fe-S 플라보단백질의 복합체이다(Galante와 Hatefi, 1979; Hatefi, 1985; Tottmar와 Ragan, 1971). 이 효소는 NADH와 H⁺로부터 2개의 전자와 2개의 양성자를 ubiquinone(CoQ)에 전달하여, NAD⁺와 CoQH₂ 생성을 촉매한다. 이 효소의 구조와 그 특성에 관한 연구로는 소심장(Cremona와 Kearney, 1964), 포유동물의 각 세포(Birch-Machin 등 1994; Navarro 등 1995; Lawford와 Garland, 1972) 그리고 효모(Mackler 등 1962 및 1980)와 같은 진핵세포와

Bacillus subtilis(Bergsma 등 1982), *Thermus thermophilus* HB-80C(Yagi 등 1988) 그리고 *Escherichia coli*(Hayashi 등 1989; Dancy 등 1976; Thomson and Shapiro, 1981) 등의 원핵세포에 관한 보고가 있다. 또한 소심장 미토콘드리아 중의 이 효소는 분자량이 각각 10~51 KDa인 서로 다른 3개의 subunit로 구성되어, FMN:nonheme-iron:산에 약한 유황화합물의 비가 1:5-6:5-6임이 보고(Galante와 Hatefi, 1979)되어 있다. 이처럼 세포의 종류와 정제방법에 따라 subunit 조성과 분자량이 크게 다른 것으로 보고되어 있다. 또한 근래 이 효소의 유전자 구조에 관한 연구도 보고(Jaiswal, 1991; Xu 등 1991a 및 1991b)되고 있다. Rotenone, antimycin A, piericidine A, amytal, mercurials, seconal, demerol, 1-methyl-4-(4'-alkylphenyl)pyridinium 및 1.10-phenanthroline 등에 의해 이 효소는 활성이 억제되는

*Corresponding author

것으로 보고(Hatefi, 1970; Krueger 등 1993; Finel과 Majander, 1994)되어 있다.

버섯은 예로부터 식용·약용으로 널리 이용되어 왔으며 고등균류에 속하는 음식생물로서 염록체나 박테리아성 클로로필과 같은 흡광색소가 없는 것으로 알려져 있다. 그러나 아주 밝은 직사 일광이나 아주 어두운 곳에서는 잘 자라지 않는다. 본 연구실에서는 버섯이 빛을 필요로 하는지? 필요로 한다면 몇 nm의 빛을 얼마나 필요로 하는지를 구명하기 위하여 표고버섯의 미토콘드리아성 ATP synthase(Min 등 1989a 및 1989b)와 ATPase(Min 등 1987a 및 1987b)가 각각 470 nm의 청색광을 15초 그리고 680 nm의 적색광을 5분 동안 조사할 때, 그 활성이 크게 증가함을 이미 보고하였고, 전자의 활성화 파장(470 nm)의 빛을 흡광하는 광수용체가 플라보단백질임을 규명(Park and Min, 1991)하였다. 또한 버섯의 종류에 따른 빛의 효과를 규명하기 위하여 느타리 버섯에 대한 같은 실험을 한 결과 480 nm의 빛을 15초(ATP synthase) 그리고 580 nm의 빛을 10초(ATPase) 동안 각각 조사할 때 활성화됨을 보고(Lee와 Min, 1989a 및 1989b)한 바 있다.

이상과 같이 빛에 의한 활성화 효과가 위의 두 효소에만 관여하는지 아니면 다른 효소들과도 관련되어 있는지가 의문이다. 먼저 미토콘드리아내 호흡사슬의 첫번째 전자전달체인 복합체 I 중의 NADH dehydrogenase와 빛과의 관계를 구명하기 위한 기초연구로서 본 연구에서는 표고버섯 중 미토콘드리아를 순수히 분리 정제하여 정제과정에 따른 활성도 변화, 최적 pH, 최적 온도, 열 안정성, K_m , 유기물 효과 및 K_i 값 등의 효소적 특성을 실험하였기에 이에 보고한다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 시료는 서울 중부시장에서 구입한 표고버섯(*Lentinus edodes*)을 사용하였고, β -nicotinamide adenine dinucleotide reduced form(NADH), β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form(NADPH), bo-

vine serum albumin(BSA), antimycin A(AMA), oligomycin(OLM), dibromothymoquinone (DBTQ), 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTBNB), N-ethylmaleimide(EMI), decylubiquinone(DCUQ), 2,6-dichlorophenolindo-phenol(DCIP), cytochrome C(from bovine heart) (Cyto. C), orcinol, ethyl-2,4-dihydroxy-6-methyl benzoate(EDMB), sodium succinate, phenazine methosulfate(PMS), folin & ciocalteu 시약 등 위의 모든 시약은 Sigma제품을 사용하였으며, ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)는 Osaka shimakyu's pure chemicals 제품을, potassium ferricyanide($K_3Fe(CN)_6$) 그리고 그 외의 모든 시약은 Wako pure chemical Co.의 특급시약을 사용하였다.

미토콘드리아의 분리 정제 및 확인

4 kg의 표고버섯으로 부터 미토콘드리아의 분리 정제는 Douce 등(1972)의 방법을 인용 변형하여 본 연구실의 방법(Min 등 1987b)으로 단계별 설탕 밀도 기울기 원심분리법(High speed centrifuge, Hanil Co. HMR-220IV; Ultracentrifuge, Dupont, OTD-75B)에 의하여 실시하였고, 정제도 확인은 분리정제 과정에 따른 NADH dehydrogenase의 활성도 변화를 측정하여 확인하였다. 모든 조작은 4°C 이하에서 수행하였다. 단백질 정량은 Lowry 등의 방법(1951)을 사용하여 실시하였다.

미토콘드리아성 NADH dehydrogenase의 활성도 측정

이 효소의 활성도는 Yagi 등의 방법(1988)을 이용하여 50 mM 인산염 완충용액(pH 7.6), 1 mM $K_3Fe(CN)_6$, 0.25 mM NADH와 단백질 양으로 0.9216 μ g(10 μ L)에 해당하는 미토콘드리아를 포함하는 용액의 총부피 1 mL를 반응액으로 사용하였고, 33°C에서 10분 동안 반응시킨 다음 420 nm에서 흡광도 감소를 측정하였다. 활성도 단위는 $K_3Fe(CN)_6$ 의 몰흡광계수($\epsilon=1 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 33°C, pH 7.6에서 효소 단백질 1 μ g이 매 분당 환원시키는 $K_3Fe(CN)_6$ 의 μ mol 수를 1단위로 하

였다.

최적 pH, 최적온도 및 열안정성

최적 pH는 50 mM 인산염 및 50 mM Tris-HCl 완충용액을 사용하여 pH를 5.5에서 9.0까지 각각 변화시켜 25°C에서 위와 같은 방법으로 측정하였고, 최적 온도는 최적 pH에서 반응온도를 15°C에서 55°C까지 각각 변화시켜 활성도를 측정하여 결정하였으며, 열 안정성은 효소 용액을 5°C에서 70°C 범위의 각 온도에서 각각 1시간 동안 열처리 한 다음 최적 pH 및 최적 온도하에서 활성도를 측정하였다.

K_m 값 측정

이 효소의 최적 pH 및 최적 온도하에서 기질로 NADH의 농도를 0.08 mM에서 0.5 mM까지 각각 변화시켜 활성도를 측정한 후, Lineweaver-Burk double reciprocal plot하여 결정하였다.

유기물 효과

효소용액에 EDMB, orcinol, AMA, OLM, DBTQ, DTBNB 및 EMI와 같은 유기물의 농도를 0.001 mM에서 10.0 mM까지 각각 변화시켜 효소에 각각 가하고 10분 동안 반응시킨 후 활성도를 측정하였다.

K_i 값 측정

억제제로 AMA의 농도를 10~500 μ M 그리고 OLM의 농도를 1.0~50.0 μ M로 각각 변화시켜 효소용액에 각각 가하고 10분 동안 반응시킨 후, 이에 기질의 농도를 0.10~1.00 mM로 각각 변화시켜 활성도를 측정하여 Dixon법(1964)에 따라 도시하였다.

전자 수용체의 변화에 따른 활성도 변화 측정

전자 수용체로 $K_3Fe(CN)_6$ 대신에 DCUQ, DCIP 및 Cyto. C의 농도를 각각 50 및 100 μ M로 변화시켜 활성도 변화를 측정하였다.

즉 DCUQ의 영향은 Yagi 등의 방법(1988)에 따라 측정하였고, 활성도 단위는 33°C, pH 7.6에서 효소 단백질 1 μ g이 매 분당 환원시키는 DCUQ의 μ mol 수를 1단위로 하였다. DCIP의 영향은 Hayashi 등의 방법(1989)에 따라 측정하였고, 활성도 단위는 효소 단백질 1 μ g이 매 분당 환원시키는 DCIP의 μ mol 수를 1단위로 하였다. Cyto. C의 영향은 Borneleit 방법(1983)을 인용하였으며, 활성도 단위는 효소 단백질 1 μ g이 매 분당 산화시키는 Cyto. C의 μ mol 수를 1단위로 하였다.

결과 및 고찰

미토콘드리아의 분리정제 및 확인

표고버섯 중의 미토콘드리아를 단계별 설탕 밀도 기울기 원심분리법으로 분리하여 280 nm에서 흡광도를 측정한 결과 4개의 단백질 분획을 얻었으며 설탕용액 44% 층에서 미토콘드리아의 분획을 얻었다.

미토콘드리아성 NADH dehydrogenase의 활성도 변화

정제과정에 따른 이 효소의 활성도 변화는 Table 1과 같다. 이로서 600×g로 원심분리한 상층액의 비활성도는 375.32 단위였으나, 초기단계 미토콘드리아, 1차 정제한 미토콘드리아 그리고 2차 정제한 미토콘드리아의 비활성도는 각각 1,854.30, 2,199.04 그리고 3,289.47 단위로써 최종 단계에서 8.8배 정제되었음을 알았다.

Table 1. Purification of the mitochondrial NADH dehydrogenase from *Lentinus edodes*

Fraction	Total volume (mL)	Total protein (mg)	Total activity (units)	Specific activity (units/mg)	Purification fold
600×g supernatant	13,000	3.89×10^4	1.46×10^7	375.32	1
Crude Mitochondria	114	6.04×10^2	1.12×10^6	1854.30	4.94
1st. Sucrose Density Gradient	26.2	6.23×10^1	1.37×10^5	2199.04	5.86
2nd. Sucrose Density Gradient	3.3	3.80	1.25×10^4	3289.47	8.77

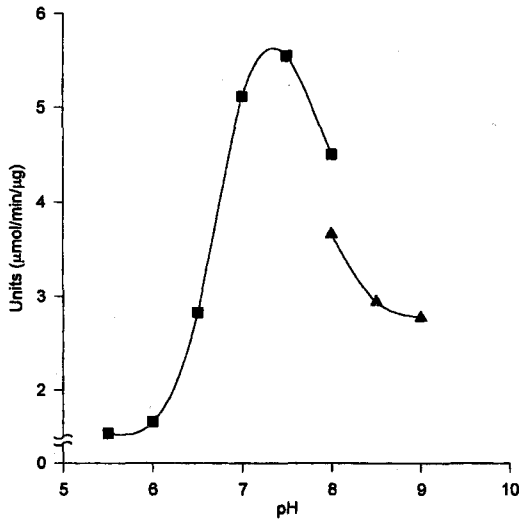


Fig. 1. Optimum pH on the mitochondrial NADH dehydrogenase from *Lentinus edodes*.

■—■: 50 mM potassium phosphate buffer, ▲—▲: 50 mM Tris-HCl buffer.

최적 pH

pH 변화에 따른 이 효소의 활성도 변화를 측정한 결과는 Fig. 1과 같으며 이 효소의 최적 pH는 7.6이었다.

이 효소의 최적 pH는 분리방법과 세포의 종에 따라 서로 다른 것으로 보고되어 있으며, 소 심장 중 이 효소를 인도 코브라 독성분을 사용하여 분리한 최적 pH는 7.4(Ringler 등 1963)이지만, 1가 음이온(chotropic ion)으로 처리하여 분리한 이 효소의 최적 pH는 8.0(Galante와 Hatefi, 1970)으로 서로 상이하였으나, *Bacillus subtilis* 중 이 효소의 최적 pH 7.5~8.0(Bergsma 등 1982)과는 유사하였다.

최적 온도 및 열 안정성

온도 변화에 따른 활성도 변화를 측정한 이 효소의 최적 온도는 33°C이었다. 이 결과는 소 심장에서 분리정제한 미토콘드리아성 NADH dehydrogenase의 최적 온도 38°C(Galante와 Hatefi, 1970)와 *Bacillus subtilis*의 막에 결합된 이 효소의 최적 온도 37°C(Bergsma 등 1982)와는 상이하였다.

그리고 이 효소의 열에 대한 안정성을 측정한 결과는 Fig. 2와 같으며, 이 효소는 20°C 이하와 50°C 이상에서는 활성이 크게 억제되지만 20°C에서

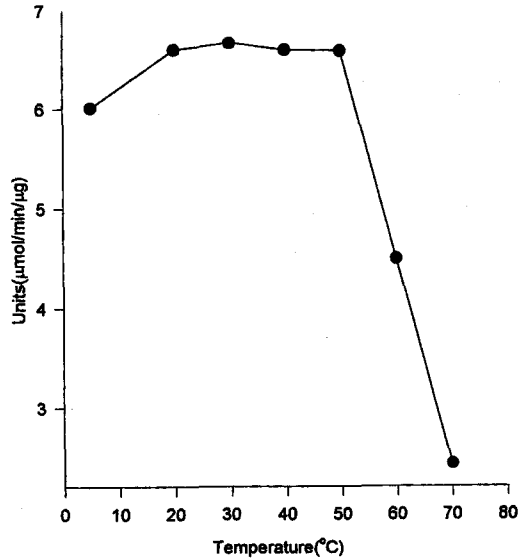


Fig. 2. Thermal stability on the mitochondrial NADH dehydrogenase from *Lentinus edodes*.

50°C 사이의 온도에서는 1시간 동안 안정함을 보였다. 이 결과는 *Thermus thermophilus* HB-8 중의 이 효소가 80°C 이상에서도 안정하다는 결과(Yagi 등 1988)와는 서로 상이하였다.

K_m값

기질용액의 농도를 변화시켜 측정한 포고버섯 중 미토콘드리아성 NADH dehydrogenase의 활성도를 Lineweaver-Burk double reciprocal plot하여 얻은 이 효소의 K_m값은 0.33 mM이었다.

이 결과는 *Acinetobacter calcoaceticus* 중에서 분리정제한 NADH dehydrogenase의 K_m값 550 μM(Borneleit와 Kleber, 1983)보다는 작은 값을 나타냈으며, *Storonyloides ratti* L3 유충 중 이 효소의 K_m값 34 μM(Armson 등 1995)과 *Bacillus subtilis* 중의 이 효소의 K_m값 60 μM(Bergsma 등 1982) 보다는 큰 값을 보였다. 그리고 분리정제 방법에 따라 그 K_m값도 변화한다는 보고와 같이 *Escherichia coli* 중의 n-dodecyl octaethyleneglycolmonoether를 사용하여 분리정제한 이 효소의 K_m값은 7~8 μM(Hayashi 등 1989), Triton X-100을 사용하여 분리정제한 이 효소의 K_m값은 30 μM(Dancey 등 1976) 및 동결건조 방법으로 분리

Table 2. Effect of organic compounds on the mitochondrial NADH dehydrogenase from *Lentinus edodes*

Organic compound	Concentration (mM)	Relative activity (%)
None	-	100.0
DBTQ	0.001	78.4
	0.002	62.3
	0.004	44.7
	0.008	29.8
	0.01	23.5
OLM	0.001	78.9
	0.004	69.6
	0.008	29.8
	0.01	20.8
DTBNB	0.1	78.3
	0.25	62.6
	0.5	49.6
AMA	0.01	73.7
	0.1	57.7
	0.5	12.2
	1.0	8.8
EMI	0.1	100.0
	0.5	90.5
	1.0	63.3
	5.0	58.5
Orcinol	1.0	122.1
	5.0	130.8
	10.0	148.1
EDMB	0.1	129.2
	0.5	139.7
	1.0	168.4

DBTQ: dibromothymoquinone, OLM: oligomycin, DTBNB: 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), AMA: antimycin A, EMI: N-ethylmale imide, EDMB: ethyl-2,4-dihydroxy-6-methyl benzoate.

정제된 이 효소의 K_m 값 8~12 μ M(Gutman 등 1968)보다는 큰 값을 보였다.

유기물 효과

AMA, OLM, DTBNB, EMI, DBTQ, orcinol 및 EDMB의 각 농도 변화에 따른 이 효소의 활성도에 미치는 영향은 Table 2와 같다.

Cyto. B와 C 사이의 전자전달을 억제하는 것으로 알려진 AMA(Dawson 등 1990; Hatefi, 1985)의 영향은 그 농도가 증가함에 따라 이 효소의 활성도를 감소시키는 경향을 보여 1.0 mM일 때 91.2%

의 활성을 억제하였다. 이 결과는 10 mM AMA가 효모의 미토콘드리아 중 이 효소의 활성을 6% 억제한다는 보고(Beattie 등 1992)와, *E. coli* 중 이 효소가 0.04 mM AMA에 의하여 10% 억제한다는 보고(Dancey 등 1976)와는 큰 차이를 보였다. 그러나 *Setaria digitata* 중 이 효소는 AMA에 의하여 억제되지 않는다는 보고(Sivan과 Raj, 1992)와는 아주 상이함을 보였다. 미토콘드리아성 ATP synthase의 억제제로 알려진 OLM(Hatefi, 1985)의 효과는 그 농도가 증가함에 따라 이 효소의 활성도를 점점 크게 감소시켰고, 0.01 mM일 때 그 활성도를 79.2% 억제하였다.

효소 단백질의 sulfhydryl기를 수식하여 전자전달과 활성을 억제하는 것으로 알려진 DTBNB 및 EMI의 효과(Dawson 등 1990)는 DTBNB의 농도가 증가함에 따라 이 효소의 활성이 감소하는 경향을 보여, 그 농도가 0.5 mM일 때 활성을 50.4% 억제하였다. 또한 EMI의 경우도 농도가 증가함에 따라 이 효소의 활성을 감소시켰고, 그 농도가 5.0 mM일 때 41.5%의 활성을 억제하였다.

NADH에서 ubiquinone으로 전자전달을 억제하는 것으로 알려진 ubiquinone 유도체 DBTQ의 영향(Dawson 등 1990)은 농도가 증가함에 따라 이 효소의 활성을 억제하는 경향을 보였으며, 0.01 mM일 때 76.5%의 활성을 억제하였다.

본 연구실에서 석이 중의 항균활성 물질로 확인된(Min과 Bae, 1996) EDMB와 orcinol의 효과는 EDMB의 경우 그 농도가 0.1 mM에서 1.0 mM로 증가함에 따라 이 효소를 활성화하는 경향을 보여, 1.0 mM일 때 68.4%의 활성도 증가를 보였고, orcinol의 경우도 그 농도가 증가됨에 따라 활성도를 증가시켰으며, 10.0 mM일 때 48.1%의 활성도 증가를 보였다.

이상의 결과를 통하여 일반적으로 항균활성물질이 효소들의 활성을 억제하는 것으로 알려져 있으나 본 연구에서 이상의 두 물질이 오히려 NADH dehydrogenase의 활성을 촉진시키는 것은 주목할 만한 사실이다.

K_m 값

이상의 유기물 효과를 통하여 이 효소의 활성을

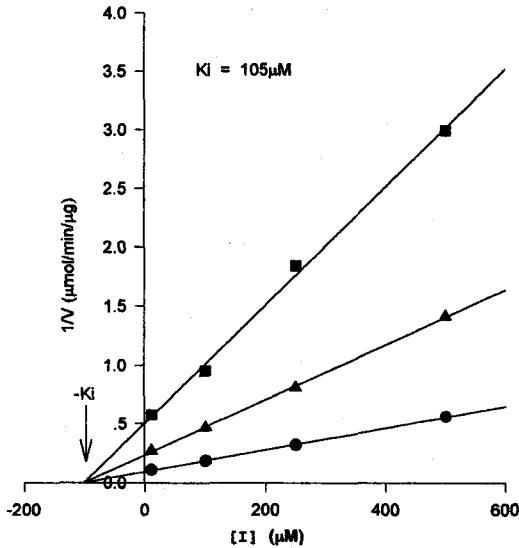


Fig. 3. Dixon plot of the inhibition by antimycin A on the mitochondrial NADH dehydrogenase from *Lentinus edodes*.

■—■: 0.10 mM NADH, ▲—▲: 0.25 mM NADH, ●—●: 1.00 mM NADH, [I]: Concentration of antimycin A as an inhibitor.

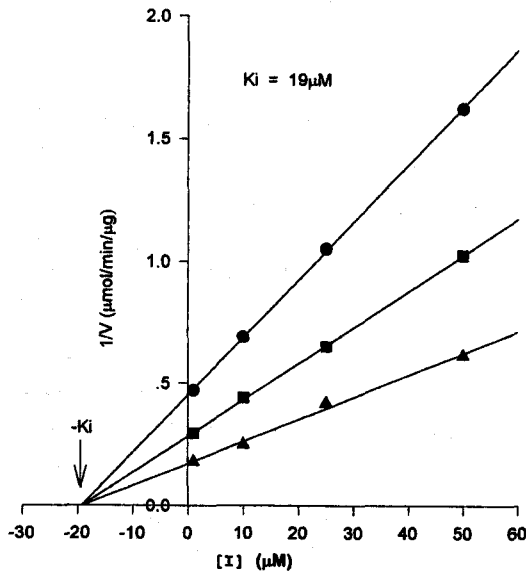


Fig. 4. Dixon plot of the inhibition by oligomycin on the mitochondrial NADH dehydrogenase from *Lentinus edodes*.

●—●: 0.10 mM NADH, ■—■: 0.25 mM NADH, ▲—▲: 0.50 mM NADH, [I]: Concentration of oligomycin as an inhibitor.

Table 3. Effect of electron acceptors on the mitochondrial NADH dehydrogenase from *Lentinus edodes*

Electron acceptor	Concentration (mM)	Activity (%)
DCUQ	50	0.0611
	100	0.2085
DCIP	50	0.1382
	100	0.1743
Cyto. C	50	0.0309
	100	0.0362
$K_3Fe(CN)_6$	100	0.5081

DCUQ: decylubiquinone, DCIP: 2,6-dichlorophenolindophenol, Cyto. C: cytochrome C, $K_3Fe(CN)_6$: potassium ferricyanide.

가장 강력히 억제하는 AMA 및 OLM의 농도와 기질의 농도를 각각 변화시켜 이 효소의 활성도 억제 효과를 측정 한 결과를 Dixon plot(1964)하여 얻은 결과는 Fig. 3 및 4와 같다. Fig. 3에서 AMA에 의한 이 효소의 억제상수(K_i)값은 105 μ M이었으며, 또한 Fig. 4에서 OLM에 의한 이 효소의 K_i 값은 19 μ M이었다.

전자 수용체의 변화에 따른 활성도 변화

전자 수용체로써 $K_3Fe(CN)_6$, DCUQ, DCIP 및 Cyto. C의 농도를 각각 변화시켜 이 효소의 활성도 변화를 측정 한 결과는 Table 3과 같다.

이 표에서 보는 바와 같이 100 μ M $K_3Fe(CN)_6$ 를 사용하였을 때 이 효소의 활성은 0.5081 단위, 100 μ M DCUQ는 0.2085 단위, 100 μ M DCIP는 0.1743 단위, 그리고 100 μ M Cyto. C는 0.0362 단위로서 표고버섯 중 이 효소는 $K_3Fe(CN)_6$ 에 의하여 전자전달 효과가 가장 큼을 알 수 있었다. 이 결과는 Galante-Hatefi(1979) 및 Tottmar-Ragan(1971)이 보고한 소 심장 및 *Torulopsis utilis* 중의 이 효소와 서로 일치하였다.

참고문헌

Armson, A., Grubb, W. B. and Mendis, A. H. W. 1995. *Strongyloides ratti*: Mitochondrial Enzyme Activities of the Classical Electron Transport Pathway in the Infective(L3) Larvae.

- Inter. J. parasitology* **25**: 257-260.
- Beattie, D. S., Japa, S., Howton, M. and Zhu, Q. S. 1992. Direct Interaction between the Internal NADH: Ubiquinone Oxidoreductase and Ubiquinol: Cytochrome c Oxidoreductase in the Reduction of Exogenous Quinones by Yeast Mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* **292**: 499-505.
- Bergsma, J., Van-Dongen, M. B. M. and Konings, W. N. 1982. Purification and Characterization of NADH Dehydrogenase from *Bacillus subtilis*. *Eur. J. Biochem.* **128**: 151-157.
- Birch-Machin, M. A., Briggs, H. L., Saborido, A. A., Bindoff, L. A. and Turnbull, D. M. 1994. An Evaluation of the Measurement of the Activities of Complexes I-IV in the Respiratory Chain of Human Skeletal Muscle Mitochondria. *Biochem. Med. Meta. Biol.* **51**: 35-42.
- Borneleit, P. and Kleber, H. P. 1983. Purification and Properties of the Membrane-Bound NADH Dehydrogenase from Hydrocarbon-grown *Cinetobacter calcoaceticus*. *Biochim. Biophys. Acta* **722**: 94-101.
- Cremona, T. and Kearney, E. B. 1964. Studies on the Respiratory Chain-linked Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Dehydrogenase -VI. Further Purification and Properties of the Enzyme from Beef Heart. *J. Biol. Chem.* **239**: 2328-2334.
- Dancey, G. F., Levine, A. E. and Shapiro, B. M. 1976. The NADH Dehydrogenase of the Respiratory Chain of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **251**: 5911-5920.
- Dawson, R. M. C., Elliott, D. C., Elliott, W. H. and Jones, K. M. 1990. Data for Biochemical Research 3rd ed. Pp 302-388. Oxford Univ. Press. New York.
- Dixon, M. and Webb, E. C. 1964. The Enzyme 2nd ed. Pp 108-116. Longmans Green. London.
- Douce, R., Christensen, E. L. and Bonner, Jr. W. D. 1972. Preparation of Intact Plant Mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta* **275**: 148-160.
- Finel, M. and Majander, A. 1994. Studies on the Proton-Translocating NADH: Ubiquinone Oxidoreductases of Mitochondria and *Escherichia coli* using the Inhibitor 1,10-Phenanthroline. *FEBS Lett.* **339**: 142-146.
- Galante, Y. M. and Hatefi, Y. 1970. Resolution of Complex I and Isolation of NADH Dehydrogenase and an Iron-Sulfur Protein. *Methods in Enzymology* **53**: 15-21.
- Galante, Y. M. and Hatefi, Y. 1979. Purification and Molecular and Enzymic Properties of Mitochondrial NADH Dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.* **192**: 559-568.
- Gutman, M., Schejter, A. and Avi-Dor, Y. 1968. The Preparation and Properties of the Membrane DPNH Dehydrogenase from *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta* **162**: 506-517.
- Hatefi, Y. 1970. Preparation and Properties of NADH: Ubiquinone Oxidoreductase (Complex I), EC 1.6.5.3. *Methods in Enzymology* **53**: 11-14.
- Hatefi, Y. 1985. The Mitochondrial Electron Transport and Oxidative Phosphorylation System. *Ann. Rev. Biochem.* **54**: 1015-1069.
- Hatefi, Y., Haavik, A. G. and Griffiths, D. E. 1962. Studies on the Electron Transfer System-XL. Preparation and Properties of Mitochondrial DPNH-Coenzyme Q Reductase-. *J. Biol. Chem.* **237**: 1676-1680.
- Hayashi, M., Miyoshi, T., Takashina, S. and Unemoto, T. 1989. Purification of NADH-Ferri-cyanide Dehydrogenase and NADH-Quinone reductase from *Escherichia coli* Membranes and Their Roles in the Respiratory Chain. *Biochim. Biophys. Acta* **977**: 62-69.
- Jaiswal, A. K. 1991. Human NAD(P)H: Quinone Oxidoreductase(NQO1) Gene Structure and Induction by Dioxin. *Biochemistry* **30**: 10647-10653.
- Krueger, M. J., Sablin, S. O., Ramsay, R. and Singer, T. P. 1993. Reactivation of NADH Dehydrogenase(Complex I) Inhibited by 1-Methyl-4-(4'-alkylphenyl)pyridinium Analogues: A Clue to the Nature of the Inhibition Site. *J. Neurochem.* **61**: 1546-1548.
- Lawford, H. G. and Garland, P. B. 1972. Proton Translocation Coupled to Quinone Reduction by Reduced Nicotinamide-Adenine Dinucleotide in Rat Liver and Ox Heart Mitochondria. *Biochem. J.* **130**: 1029-1044.
- Lee, K. D. and Min, T. J. 1989a. Studies on the Light-Induced Mitochondrial ATP synthase in *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 177-183.
- Lee, K. D. and Min, T. J. 1989b. Studies on the Light-Induced Mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 169-176.
- 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.
- Mackler, B., Collipp, P. J., Duncan, H. M., Rao, N. A. and Huennekens, F. M. 1962. An Electron Transport Particle from Yeast: Purification and Properties. *J. Biol. Chem.* **237**: 2968-2974.
- Mackler, B., Haynes, B., Person, R. and Palmer, G. 1980. Electron Transport Systems of *Candida utilis*-Purification and Properties of the Respiratory Chain-Linked External NADH Dehydrogenase-. *Biochem. Biophys. Acta* **591**: 289-297.
- Menz, R. I., Griffith, M., Day, D. A. and Wiskich, J. T. 1992. Matrix NADH Dehydrogenase of Plant Mitochondria and Sites of Quinone Reduction by Complex I. *Eur. J. Biochem.* **208**: 481-485.
- Min, T. J. and Bae, K. G. 1996. The Structure of Phenolic Compounds and Their Antibiotic Activities in *Umbilicaria vellea*. *J. Kor. Chem. Soc.* **40**: 623-629.
- Min, T. J., Cho, S. W., Kim, Y. S., Kim, J. W. and Mheen, T. I. 1987a. Effects of Organic Compound and Metal Ion Influx of Light-Induced Mitochondrial ATPase in the *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Kor. J. Mycol.* **15**: 224-230.
- Min, T. J., Cho, S. W. and Park, S. S. 1987b. Light-Induced Mitochondrial ATPase in the *Lentinus edodes* (Berk) Sing. *Kor. J. Mycol.* **15**: 217-223.
- Min, T. J., Lee, W. G., Kim, J. W. and Mheen, T. I. 1989a. Effects of Organic Compound and Metal Ion Influx of Light-Induced Mitochondrial ATP Synthase in *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Kor. J. Mycol.* **17**: 99-104.
- Min, T. J., Lee, W. G. and Park, S. S. 1989b. Light-Induced Mitochondrial ATP Synthase in the *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Kor. J. Mycol.* **17**: 91-98.
- Navarro, F., Villalba, J. M., Crane, F. L., Mackellar, W. C. and Navas, P. 1995. A Phospholipid-Dependent NADH-Coenzyme Q Reductase from Liver Plasma Membrane. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **212**: 138-143.
- Park, S. S. and Min, T. J. 1991. Studies on the Photoreceptor of the Light-Induced Mitochondrial ATPase in *Lentinus edodes*-Effect of FAD and NADH on Light Activation of Mitochondrial ATPase-. *Kor. Biochem. J.* **24**: 26-34.
- Ringler, R. L., Minakami, S. and Singer, T. P. 1963. Isolation and Molecular Properties of the Enzyme from Beef Heart. *J. Biol. Chem.* **238**: 801-810.
- Sivan, V. M. and Raj, R. K. 1992. Quinone Dependent NADH Dehydrogenation in Mitochondria-Like Particles from *Setaria digitata*, A Filial Parasite. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **186**: 698-705.
- Thomson, J. W. and Shapiro, B. M. 1981. Isolation of an NADH: Quinone Oxidoreductase from Membranes and Comparison with the Membrane-Bound NADH: Dichlorophenol lindophenol Oxidoreductase-. *J. Biol. Chem.* **256**: 3077-3084.
- Tottmar, S. O. C. and Ragan, C. I. 1971. The Purification and Properties of the Respiratory Chain Reduced Nicotinamide-Adenine Dinucleotide Dehydrogenase of *Torulopsis utilis*. *Biochem. J.* **124**: 853-865.
- Xu, X., Matsuno-Yagi, A. and Yagi, T. 1991a. The NADH-Binding Subunit of the Energy-Transducing NADH-Ubiquinone Oxidoreductase of *Paracoccus denitrificans*: Gene Cloning and Deduced Primary Structure. *Biochemistry* **30**: 6422-6428.
- Xu, X., Matsuno-Yagi, A. and Yagi, T. 1991b. Characterization of the 25-Kilodalton Subunit of the Energy-Transducing NADH-Ubiquinone Oxidoreductase of *Paracoccus denitrificans*: Sequence Similarity to the 24-Kilodalton Subunit of the Flavoprotein Fraction of Mammalian Complex I. *Biochemistry* **30**: 8678-8684.
- Yagi, T., Hon-nami, K. and Ohnishi, T. 1988. Purification and Characterization of Two Types of NADH-Quinone Reductase from *Thermus thermophilus* HB-8. *Biochemistry* **27**: 2008-2013.