

가토 신장 Na-K-ATPase 및 K⁺-pNPPase의 최적 pH에 미치는 Vanadate의 영향

부산대학교 의과대학 생리학교실

어윤선 · 우재석 · 한복기 · 이상호

=Abstract=

The Effect of Vanadate on the Optimum pH of Na-K-ATPase and K⁺-pNPPase in Rabbit Kidney Cortex

Yun Sun Ea, Jae Suk Woo, Bok Ki Han and Sang Ho Lee

Department of Physiology, College of Medicine, Pusan National University

The effect of vanadate on the optimum pH of Na-K-ATPase was investigated.

The results were as follows:

- 1) The optimum pH of Na-K-ATPase was shifted from pH 7.4 to 6.8 at 10 mM K by 5×10^{-6} M vanadate.
- 2) The ratio of Na-K-ATPase activity at pH 6.8 and 7.4 increased with increasing vanadate concentration.
- 3) In spite of the presence of 5×10^{-6} M vanadate Na-K-ATPase activity at pH 7.4 was higher than that at pH 6.8 below 50 mM Na⁺, and the ratio of Na-K-ATPase activity at pH 7.4 and 6.8 was higher than that of the control.
- 4) Na-K-ATPase activity at pH 7.4 was higher than that at pH 6.8 below 7 mM K⁺.
- 5) Optimum pH of Na-K-ATPase activity was shifted from pH 7.4 to 6.8 by 10^{-6} M vanadate at 5 mM K⁺.
- 6) K⁺-pNPPase activity increased with lowering of pH, and the degree of inhibition of K⁺-pNPPase activity by 10^{-7} M vanadate was decreased with lowering of pH.

These results suggest that vanadate shifts the optimum pH of Na-K-ATPase activity to more acidic pH than pH 7.4. This effect may not be caused by the decrease in the inhibitory potency of vanadate itself to Na-K-ATPase by the change of medium pH, but mainly by the alteration of Na- and K-binding site, which appears in the presence of vanadate only.

서론

1975년 Charney 등¹⁾은 말의 골격근에서 추출한 Sigma 회사제품의 ATP에 Na-K-ATPase 활성을 억제시키는 물질이 존재하는 것을 보고하였고 1977년 Cantley 등²⁾은 이 물질이 생체필수 원소의 하나인^{3), 4)} Vanadium의 oxyanion 유도체인 vanadate 인

것으로 밝혔다. 그 이후 Na-K-ATPase에 대한 vanadate의 억제기전과 생체내에서의 작용기전에 대한 많은 연구가 이루어졌으나⁵⁻⁷⁾ Na-K-ATPase의 최적 pH에 미치는 vanadate의 효과에 대해서는 명확히 밝혀져 있지 않다. Nieder 등⁸⁾은 Na-K-ATPase의 최종 단계를 대표하는 것으로 알려진 K⁺-stimulated p-nitrophenyl phosphatase(K⁺-pNPPase)의 활성도에 대한 vanadate의 작용이 pH의 영향을 받지 않는다고

하였으나 우등¹³⁾과 Michell 과 Talor¹⁴⁾는 vanadate 가 Na-K-ATPase의 최적 pH를 7.4보다 산성쪽으로 이동시킨다고 하였고 이 효과가 용액내 catecholamine 투여와 K⁺농도를 낮춤으로써 소실된다고 하였다. 그러나 K⁺농도가 낮아지면 vanadate의 Na-K-ATPase에 대한 억제력이 감소할 수도 있으므로 vanadate가 효소의 K⁺에 대한 결합력을 증가시켜 최적 pH가 변한다고 결론내리기는 어렵다고 하였다. 또한 pH 증가에 의한 vanadate 자체의 성질변화로 효소에 대한 억제력이 증가되더라도 vanadate 존재시 7.4 보다 낮은 pH에서 Na-K-ATPase 활성이 최대로 나타날 수 있다. 그리고 vanadate의 Na-K-ATPase에 대한 억제작용은 용액내 Na⁺농도 감소와 K⁺농도 증가에 의해 증가하는 것으로 알려져 있다.^{7,19)}

따라서 본 저자는 vanadate가 Na-K-ATPase의 최적 pH에 미치는 영향과 이에 대한 용액내 Na⁺과 K⁺농도변화의 효과를 구명하고자 본 실험을 하였다.

실 험 방 법

1) 실험재료 및 microsome 분획의 분리

체중 2.0~2.5kg 되는 성숙한 가토를 자웅 구별없이 사용하였다.

가토 신장 피질의 microsome 분획은 Jørgensen 과 Skou¹²⁾의 방법으로 분리하였다. 동물의 후두부를 강타하고 경동맥을 절단하여 실험시켜 죽인 후 신동맥을 통하여 냉한 0.12 M NaCl/0.02 M KCl 용액으로 관류시켜 혈액을 제거하였다. Stadie-Riggs microtome으로 신피질절편을 만들어 무게를 단 후 250 mM sucrose, 30 mM imidazole, 5 mM EDTA 용액을 1:10(v/w)으로 가한 후 homogenate를 만들었다. Homogenate를 냉동원심분리기(Sorvall, RC-5 B)에서 SS 34 rotor를 이용하여 7000 xg로 15분간 원심분리하고 상층액을 취하여 Ultracentrifuge(OTD-75 B, Du pont/Sorvall)에서 50,000 xg로 30분간 원심분리하였다.

pellet를 homogenizing solution으로 protein 농도가 20 mg/ml 되게 희석하여 -20°C에서 저장하였다.

2) Na-K-ATPase 활성도 측정

총 ATPase 활성을 측정하기 위한 incubation 용액의 조성은 50 mM Imidazole(pH 7.4), 100 mM NaCl, 10 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 3 mM ATP로 하였으며, 여기에 대략 100 μg의 효소단백질을 첨가하여 전체량이 1 ml 되게 하였다. Mg-ATPase 활성도는 상기 조성 중 Na⁺과 K⁺이 없는 상태에서 1 mM ouabain 존재시

에 측정하여 총 ATPase 활성도와 Mg-ATPase 활성도 차이를 Na-K-ATPase로 하였다.

ATP가 없는 용액에서 10분동안 preincubation 한 후 ATP를 첨가하여 반응을 시작하였으며 정확하게 10분후 11.67% perchloric acid를 0.4 ml 가하여 반응을 정지시켰다.

ATP가 가수분해되어 유리되는 무기인산의 농도는 Fiske 및 SubbaRow²⁰⁾의 방법으로 측정하였으며 단백질의 양은 Bovine serum albumin을 표준용액으로 하여 Lowry 등¹³⁾의 방법으로 측정하였다.

3) K⁺-pNPPase의 활성도 측정

K⁺-pNPPase 활성은 박동¹⁶⁾의 방법으로 측정하였다.

실 험 성 적

1) 최적 pH에 미치는 vanadate의 효과

예비 실험결과 신장 microsome 분획의 Na-K-ATPase 활성도는 5×10⁻⁶M vanadate에 의해 대략 50%정도 억제되었다. 따라서 앞으로의 실험에서는 5×10⁻⁶M vanadate가 사용되었다.

Fig. 1은 vanadate가 존재할 때와 존재하지 않을 때 incubation 용액의 pH 변화에 따른 Na-K-ATPase의 활성도를 본 것이다. pH는 Imidazole buffer를 이용하여 pH 6.6에서 7.8까지 변화시켰다. Vanadate가 없을 때는 pH 7.4에서 최대활성도를 보였고 그 크기는 24.78±0.37(μmole Pi/mg Protein/hr)이었다. 5×10⁻⁶M vanadate가 존재할 때는 pH 6.8에서 최대 활성을 보여 pH 7.4에서의 활성도와의 비는 80.70%이었다.

2) pH 7.4와 6.8에서 vanadate의 농도에 따른 효과

Fig. 2는 pH 7.4와 6.8용액에서 vanadate 농도에 따라 Na-K-ATPase 활성이 억제되는 양상을 관찰한 성적이다. pH 7.4에서 Na-K-ATPase 활성은 5×10⁻⁶M vanadate에 의해 50%정도 억제되었고 5×10⁻⁵M vanadate에 의해 거의 완전히 억제되었다. pH 6.8에서 Na-K-ATPase 활성은 pH 7.4에서의 활성에 비해 대략 87%정도를 나타내었고 50% 억제농도는 10⁻⁵M이었다. Vanadate 각 농도에 따라 pH 7.4에서와 6.8에서의 Na-K-ATPase의 활성비(Ac 7.8/Ac 7.4×100)를 계산한 결과 vanadate의 농도가 높아질수록 그 비가 증가하는 양상을 보였고 5×10⁻⁵M에서는 거의 2배에 달하였다.

—어윤선 외 3인 : 가토 신장 Na-K-ATPase 및 K⁺-pNPPase의 최적 pH에 미치는 Vanadate의 영향—

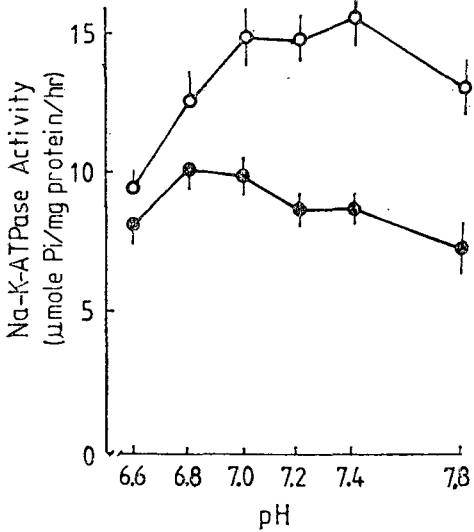


Fig. 1. Effect of pH on Na-K-ATPase activity in the absence(○) and presence(●) of 5×10^{-6} M vanadate. Mean \pm S.E.M. (n=4).

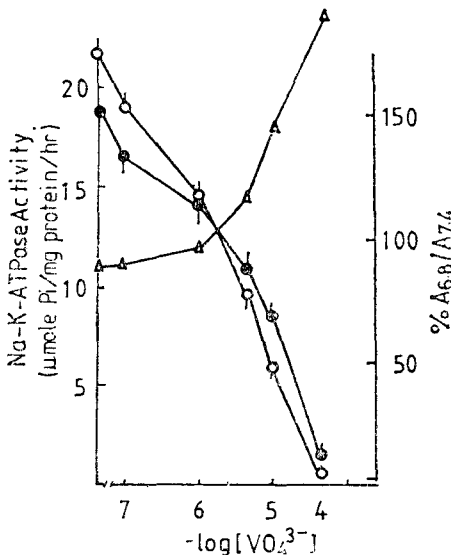


Fig. 2. Na-K-ATPase activity in relation to the dose of vanadate at pH 7.4(○) and 6.8 (●). Δ ; the ratio of Na-K-ATPase activity at pH 6.8 and pH 7.4. Mean \pm S.E.M. (n=3).

3) Na⁺의 영향

Fig. 3에서 A와 B는 5×10^{-6} M vanadate가 존재할 때와 존재하지 않을 때 pH 7.4와 6.8에서 Na-K-ATP-

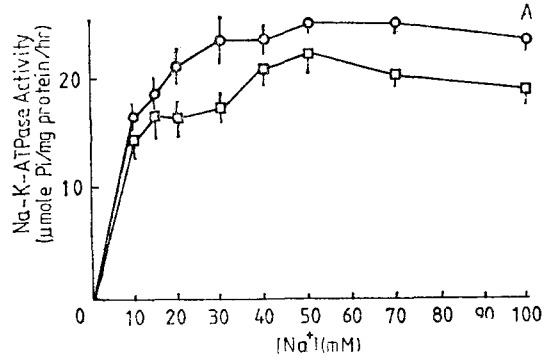


Fig. 3-A. Effect of Na⁺ concentration on Na-K-ATPase activity at pH 7.4(○) and pH 6.8(□).

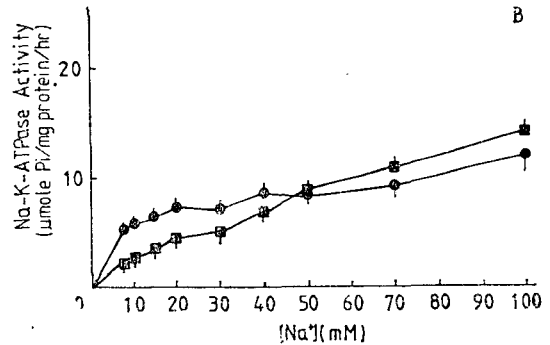


Fig. 3-B. Effect of Na⁺ concentration on Na-K-ATPase activity at pH 7.4(●) and pH 6.8(■) in the presence of 5×10^{-6} M vanadate. Mean \pm S.E.M. (n=5).

ase 활성에 미치는 Na⁺농도변화의 효과를 본 것으로 K⁺농도는 10 mM을 사용하였다. Vanadate가 존재하지 않을 때는 Na⁺농도에 따라 효소활성이 증가하여 50 mM에서 포화되는 양상을 보였고, pH 6.8에서와 7.4에서의 효소활성비는 거의 모든 Na⁺농도에서 일정하게 유지되었다. Vanadate가 존재할 때는 외부 Na⁺농도에 따라 포화되는 양상이 없이 효소활성이 계속 증가하였으며 vanadate의 억제작용은 Na⁺농도가 낮을수록 증가하여 Beauge¹³⁾와 Bond 및 Hudgins¹⁴⁾의 결과와 일치하였다. pH 6.8과 7.4에서의 효소활성비는 Na⁺농도가 낮을수록 현저히 감소하였다.

4) K⁺의 영향

Fig. 4의 A와 B는 vanadate 존재할 때와 존재하지 않을 때 Na⁺를 100 mM로 유지하고 pH 7.4와 6.8에서 효소활성도에 미치는 K⁺농도변화의 효과를 나타낸

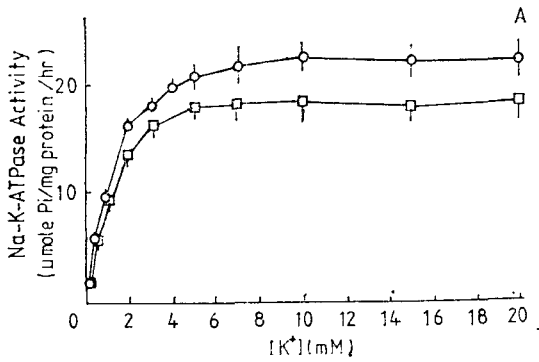


Fig. 4-A. Effect of K^+ concentration on Na-K-ATPase activity at pH 7.4(○) and pH 6.8(□).

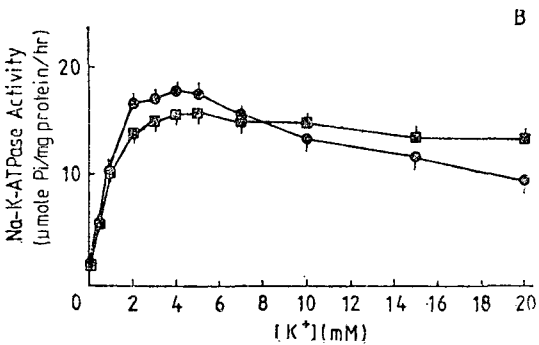


Fig. 4-B. Effect of K^+ concentration on Na-K-ATPase activity at pH 7.4(●) and pH 6.8(■) in the presence of $5 \times 10^{-6} M$ vanadate. Mean \pm S.E.M. (n=5).

것이다. Vanadate가 없을 때 K^+ 농도가 증가함에 따라 효소활성도는 증가하였고 1 mM K^+ 까지는 pH 7.4와 6.8에서의 효소활성도가 동일하였으며 그이후는 pH 6.8과 7.4의 활성도비가 일정하게 유지되었다. Vanadate가 존재할 때는 4 mM K^+ 에서 최대활성도를 보였고 그 이후는 오히려 감소하여 K^+ 농도증가시 효소활성의 억제정도가 증가하였고 pH 6.8에서는 그 감소정도가 훨씬 적어 pH 6.8에서의 효소활성이 오히려 pH 7.4보다 큰 양상을 보였다.

Fig. 5는 K^+ 농도를 5 mM로 낮추고 vanadate 농도를 $10^{-6} M$ 로 높였을 때 pH 변동에 따른 Na-K-ATPase의 활성을 나타낸 것이다. Vanadate가 없는 상태에서는 K^+ 농도가 5 mM일 때도 pH 7.4에서 최대활성을 보여 K^+ 10 mM일 때와 유사한 양상을 나타내었다. Fig. 4에서 K^+ 농도가 5 mM일 때 $5 \times 10^{-6} M$ vanadate 존재하에서는 pH 6.8에서보다 pH 7.4에서 효소활성이 더 큰데 비하여 $10^{-6} M$ vanadate 존재시는 pH 6.8에서 효소활성이 최대를 나타내었다.

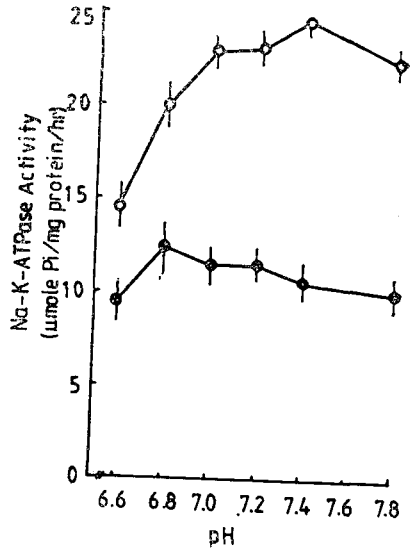


Fig. 5. Effect of medium pH on Na-K-ATPase activity in the absence(○) and presence(●) of $10^{-6} M$ vanadate at 5 mM K^+ .

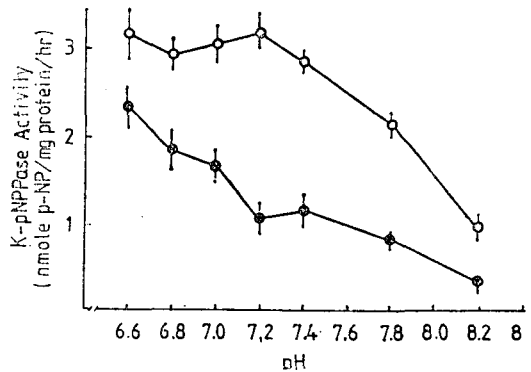


Fig. 6. Effect of medium pH on p-NPPase activity in the absence(○) and presence(●) of $10^{-7} M$ vanadate.

5) Vanadate가 p-NPPase에 미치는 pH의 영향

Fig. 6은 K^+ -pNPPase 활성에 미치는 pH의 효과를 vanadate가 있을 때와 없을 때 관찰한 것이다. K^+ -pNPPase 활성은 pH 7.2에서 최대를 보인 후 큰 변화 없이 일정하였다. $10^{-7} M$ vanadate가 존재할 때 효소활성의 억제양상은 pH가 7.0이하에서 현저히 감소되었다.

고찰

본 실험에서 신장 피질 microsome의 Na-K-ATPase 활성을 50%억제하는 vanadate의 농도가 $5 \times 10^{-6} M$ 로

우등¹⁹⁾의 결과보다는 높았다. Vanadate의 Na-K-ATPase에 대한 억제작용은 외부 Na⁺농도가 낮아지면 더 증가하는 것으로 보고되어 있고^{1,4)} 이는 본 실험에서도 확인되었다(Fig. 3 A와 B). 그런데 우등¹⁹⁾은 50 mM Na⁺를 사용하였고 본 실험에서는 100 mM Na⁺를 사용하였기 때문에 50%억제농도가 우등¹⁹⁾에 비해 증가된 것으로 생각된다.

대조군에서 Na-K-ATPase 최적 pH가 7.4인데 비하여 5×10^{-6} M vanadate 존재시 최적 pH가 6.8로 이동하였는데 이는 Michell과 Taylor¹⁴⁾나 우등¹⁹⁾의 결과와 일치하였다. 그리고 이러한 효과는 저농도의 vanadate에서는 관찰되지 않았고 vanadate 농도가 증가할수록 pH 7.4에서의 Na-K-ATPase 활성과 6.8에서의 Na-K-ATPase 활성사이의 비가 증가하였다(Fig. 2). 이 현상은 Fig. 4와 5를 비교해 볼 때 K⁺농도 5 mM 일 때 5×10^{-6} M vanadate 존재시는 pH 7.4의 효소활성도가 pH 6.8보다 높으나 10^{-5} M vanadate 존재시는 최적 pH가 6.8로 이동됨으로써 다시 확인되었다. Michell과 Taylor¹⁴⁾는 vanadate가 Na-K-ATPase의 최적 pH를 보다 산성으로 이동시킨다고 하였으나 pH가 낮아질 때 vanadate의 Na-K-ATPase 활성에 대한 억제작용이 감소하는 것으로도 생각해 볼 수 있다. 그러나 후자의 가능성은 Na⁺농도가 낮을 때는 vanadate 존재시에도 pH 7.4에서의 Na-K-ATPase 활성이 6.8에서의 Na-K-ATPase 활성보다 높음으로써(Fig. 3) 배제될 수 있으며 vanadate가 효소의 어떤 부위에 영향을 미쳐 최적 pH를 산성쪽으로 이동시킨 가능성이 큰 것으로 생각된다. 용액의 pH 변화가 효소의 활성에 영향을 미치는 기전은 매우 복잡하다. 즉, 효소단백질의 ionization 정도 변화에 따른 ligand의 결합력 변화뿐 아니라 효소단백자체의 안정성, 기질에 대한 pH 효과, 원충체에 의한 효과등 많은 변화 요인을 포함하고 있다¹⁸⁾. Na-K-ATPase에서도 pH의 변화에 따른 효소 활성의 변화기전이 아직 확실히 알려지지 않았다.

본 실험에서 vanadate가 존재하지 않을 때는 pH의 Na-K-ATPase 활성에 대한 효과가 K⁺농도가 1 mM 이하일 때를 제외하면 외부 Na⁺과 K⁺농도의 변화에 의해 크게 영향을 받지 않았다. K⁺농도가 1 mM 이하일 때는 pH 7.4와 6.8에서 효소활성의 차이가 없었다. 앞에서 열거한 것처럼 pH에 의한 효소활성의 변화는 매우 많은 요소가 관여하므로 본 실험만으로 이에 대한 어떤 명확한 설명을 하기는 어렵다. Vanadate 존재시는 pH에 의한 효소활성이 Na⁺과 K⁺농도 변화에 의해 매우 흥미있는 변화양상을 나타내었다. 즉, Na⁺

농도가 낮을 때는 vanadate 존재하에서도 pH 6.8에서의 효소활성이 7.4에서 보다 낮았고 그 비는 vanadate가 없을 때보다 오히려 낮았고 Na⁺농도를 증가시키에 의한 그 비가 증가하여 pH 6.8에서의 효소활성이 7.4에서 보다 오히려 높았다(Fig. 3 B). Vanadate의 Na-K-ATPase 활성의 최적 pH에 미치는 효과는 나타나지 않았고 그 이상에서만 나타났(Fig. 4 B). 일반적으로 vanadate의 억제작용이 K⁺농도에 대해 매우 민감한 것으로 알려져 있고^{2,3,10)} 본 실험에서 Na-K-ATPase의 최종단계를 대표하는 것으로 알려진 K⁺-pNPPase의 활성에 대한 vanadate 억제효과가 pH가 감소함에 따라 감소하며 K⁺이 vanadate의 억제작용을 증가시키는 결합부위는 효소활성에 대한 K⁺의 activation site와 다른 것으로 알려져 있기 때문에⁴⁾ vanadate 존재시 7 mM 이상의 K⁺농도에서 pH 7.4에서 보다 6.8에서 효소활성이 증가되는 것을 pH 6.8에서 vanadate 존재시 K⁺이 inhibitory site에 결합하는 정도가 pH 7.4에서 보다 감소되기 때문으로 간단히 해석할 수도 있다. 그러나 본 실험에서 관찰된 것처럼 Na⁺이 vanadate의 억제작용을 감소시키고 효소활성에 대한 activation site가 다르며 이 작용을 나타내는 결합부위가 Na⁺의 이 부위에 Na⁺이 결합함으로써 K⁺의 inhibitory site에서 K⁺의 유틸를 증가시키는 것으로 주장되어 있으며⁴⁾ 본 실험에서도 Na⁺농도가 낮을 때 vanadate 존재하에서 pH 7.4와 6.8에서의 효소활성비가 대조군보다 높으나 Na⁺도 vanadate에 의한 Na-K-ATPase의 최적 pH의 이동에 관여할 것으로 생각되나 이것이 K⁺의 결합부위에 대한 Na⁺의 간접적 작용 때문인지 Na⁺의 효소에 대한 직접 작용 때문인지는 확실치 않다. 세포내의 pH 7.0은 세포외액 pH 7.4보다 산성이며 포유류 생체내 세포에 vanadate가 함유되어 있는 것으로 알려져 있다.

따라서 본 실험 결과는 생체세포에서 Na⁺과 K⁺이 Na-pump에 결합하는 양상이 in vitro에서 vanadate가 존재치 않는 pH 7.4인 조건에서 측정된 것과는 다를 가능성이 있다는 것을 시사하며 in vitro에서의 실험결과를 생체세포에 적용하는데 반드시 고려해야 될 것으로 생각된다.

요 약

Vanadate가 Na-K-ATPase의 최적 pH에 영향을 미치는 기전에 효소의 Na⁺과 K⁺의 결합부위가 관여하는지를 밝히기 위하여 가토 신피질 microsome을 이

용하여 실험해서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) $5 \times 10^{-6}M$ vanadate 존재시 Na-K-ATPase의 최적 pH가 6.8로 이동하였다.

2) pH 6.8과 7.4에서 Na-K-ATPase활성의 비는 vanadate 농도가 증가함에 따라 증가하였다.

3) Vanadate 존재시에도 용액의 Na^+ 농도가 50 mM 이하일 때는 pH 7.4에서의 효소활성이 6.8보다 높았고 오히려 그 비는 대조군보다 증가하였다.

4) K^+ 농도가 7 mM 이하일 때는 vanadate 존재시도 Na-K-ATPase의 활성이 pH 7.4에서 더 높았다.

5) 5 mM K^+ 존재하에서도 vanadate 농도를 $10^{-8}M$ 로 증가시키면 최적 pH는 6.8로 이동하였다.

6) K^+ -pNPPase활성은 pH가 낮을수록 증가하였고 $10^{-7}M$ vanadate에 의한 억제 정도는 pH가 낮을수록 감소하였다.

이상의 결과로 볼때 vanadate 존재시 Na-K-ATPase의 최적 pH는 6.8로 이동하였으며 이것은 pH가 낮아질 때 나타나는 vanadate 자체의 성질 변화 때문은 아니며 vanadate 존재시 pH가 효소의 Na^+ 과 K^+ 결합부위에 영향을 주어 나타나는 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) Beuge, L.A.: *Vanadate-potassium interactions in the inhibition of $(Na^+ + K^+)$ -ATPase*. In: *Proceedings 2nd international conference on the properties and functions of Na-K-ATPase*, edited by Skou, J.C. and Nørby, J.G., p.373, Academic New York, 1979
- 2) Beuge, L.A., Cavieres, I.D., Glynn, I.M. and Grantham, J.J.: *The effects of vanadate on the fluxes of sodium and potassium ions through the sodium pump*. *J. Physiol.*, 301:7, 1980.
- 3) Beuge, L.A. and Dipolo, R.: *Vanadate selectively inhibits the K^+ -activated Na^+ efflux in squid axons*. *Biochim. Biophys. Acta*, 551: 220, 1979.
- 4) Bond, G.H. and Hudgins, P.M.: *Inhibition of Na-K-ATPase by Mg^{2+} , K^+ , and vanadate*. *Biochemistry*, 18:325, 1979.
- 5) Cantley, L.C. Jr., Cantley, L.G. and Josephson, L.: *A characterization of vanadate interactions with the $(Na^+ + K^+)$ -ATPase*. *J. Biol. Chem.*, 253:7351, 1978.
- 6) Cantley, L.C., Ferguson, J.H. and Kustin, K.: *Norepinephrine complexes and reduces vanadium(V) to reverse vanadate inhibition of (Na, K) -ATPase*. *J. Am. Chem. Soc.*, 100:5210, 1978.
- 7) Cantley, L.C.Jr., Josephson, L., Warner, R., Yanagisawa, M., Lechene, C. and Guidotti, G.: *Vanadate is a potent $(Na^+ + K^+)$ -ATPase inhibitor found in ATP derived from muscle*. *J. Biol. Chem.*, 252:7421, 1977.
- 8) Charney, A.N., Silva, P. and Epstein, F.H.: *An in vitro inhibitor of Na-K-ATPase present in an adenosine triphosphate preparation*. *J. Appl. Physiol.*, 39:156, 1975.
- 9) Fiske, C.H. and SubbaRow, Y.: *The colorimetric determination of phosphorus*. *J. Biol. Chem.*, 66:375, 1925.
- 10) Grantham, J.J. and Glynn, I.M.: *Renal Na-K-ATPase: determinants of inhibition by vanadium*. *Am. J. Physiol.*, 236:F530, 1979.
- 11) Hopkins, L.L. Jr.: *Essentiality and function of vanadium*. In: *Trace element metabolism in animals, vol.2*, edited by Holkstra, W.G., Suttie, J.W., Ganther, H.E. and Merty, p.397, Univ. Park, W. Baltimore, 1974.
- 12) Jørgensen, P.L. and Skou, J.C.: *Preparation of highly active $(Na^+ + K^+)$ -ATPase from outer medulla of rabbit kidney*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 37:39, 1969.
- 13) Lowry, O.H. Rosenbrough, N.D., Fan, A.L. and Randall, R.J.: *Protein measurement with the folin phenol reagent*. *J. Biol. Chem.*, 193: 265, 1951.
- 14) Michell, A.R., and Taylor, E.A.: *The optimum pH of renal adenosine triphosphatase in rats: Influence of vanadate, noradrenaline and potassium*. *Enzyme*, 28:309, 1982.
- 15) Nieder, G.L., Corder, C.N. and Culp, P.A.: *The effect of vanadate on human kidney potassium dependent phosphatase*. *Arch. Pharmacol.*, 307:191, 1979.
- 16) Park, Y.S., Goldinger, J.M., Sambor, D. and Hong, S.K.: *Effect of temperature on the pH*

—어윤선 외 3인 : 가토 신장 Na-K-ATPase 및 K⁺-pNPPase의 최적 pH에 미치는 Vanadate의 영향—

- dependence of renal microsomal ATPase in the rabbit, rat and hamster. Comp. Biochem. Physiol., 76A(1):55, 1983.*
- 17) Schwarz, K. and Milne, D.B.: *Growth effects of vanadium in the rat. Sci., 174:426, 1971.*
- 18) Tipton, K.F. and Dixon, H.B.F.: *Effects of pH on enzymes. In: Contemporary Enzyme Kinetics and Mechanism, edited by Purich, D.L., p.97, Academic, New York, 1983.*
- 19) Woo, J.R., Han, B.K., and Lee, S.H.: *Effect of vanadate on Na-K-ATPase activity of Rabbit Kidney Cortex. Korean J. Physiol. 17(2):161, 1983.*