

## 느타리버섯 중의 Light-Induced Mitochondrial ATPase에 관한 연구 - 유기물 효과 -

이호연 · 민태진\*

동국대학교 이과대학 화학과

## Studies on Light-Induced Mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus* - Effects of Organic Compounds -

Ho-Yeon Lee and Tai-Jin Min

Department of Chemistry, College of Science, Dongguk University, Seoul 100-71, Korea

**ABSTRACT:** Mitochondria in *Pleurotus ostreatus* were isolated and purified by stepped sucrose density gradient centrifugation, to compare the effects of organic compound on the activities of mitochondrial ATPase in *Basidiomycotina* with those in mammalian cell. The effects of N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCCD), carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP), sodium azide and aurovertin known as compounds to be related to electron transfer system in mitochondria were studied. A activity of mitochondrial ATPase was inhibited by 64%, 57% and 53% in the presence of 0.25 mM DCCD, 0.02 mM sodium azide and 1.5 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  of protein) aurovertin B, respectively. It was stimulated by 22% in the presence of 0.15  $\mu\text{M}$  CCCP.

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

ATPase(EC 3. 6. 1. 3.)는  $F_0F_1$ -ATPase와  $F_1$ -ATPase의 총칭으로,  $F_1$ -ATPase는 ATP를 ADP와 인산이온(Pi)으로 분해하는 기능(Boyer and O'neal, 1984)을 하며,  $F_0F_1$ -ATPase는  $F_1$ -ATPase가 Oligomycin Sensitive Conferring Protein(OSCP)에 의해  $F_0$  group과 연결(Racker, 1976)된 효소로 ADP와 인산이온(Pi)으로부터 ATP를 합성하는 기능을 하며, 엽록체의 thylakoid(Shavit, 1980), plasma membrane(Leonard and Van Der Woude, 1976) 및 미토콘드리아의 내막(Walker *et al.*, 1984)에 존재한다. Racker의  $F_0F_1$ -ATPase의 가설적인 모델(Racker, 1976)에 의하면 이 효소는  $F_0$  group과  $F_1$  group으로 이루어져 있으며, 친수성 단백질인  $F_1$  group은  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ 의 5종류의 소단위체들이  $\alpha_3\beta_3\gamma_1\delta_1\epsilon_1$ 로 구성되어 있으며 각 subunit들의 분자량은 각각 55, 50, 30, 20 및 15 KD으로 알려져 있다. 또한, 소수성 단백질인  $F_0$  group은 a, b, c의 3종류의 소단위체들이  $a_1b_2c_{9-12}$ 의 비로 구성되어 있으며 각 소단위

체들의 분자량은 각각 30, 17 및 8 KD으로 알려져 있다. ATPase에 관한 연구로는  $Mg^{2+}$ -ATPase(Gil-mour and Calaby, 1952),  $Ca^{2+}$ -ATPase(Galino Jr, *et al.*, 1988),  $K^+$ -ATPase(Leonard and Van Der Woude, 1976), 및  $Na^+, K^+$ -ATPase(Pedemont and Kaplan, 1988)의 이온펌프 메카니즘에 관한 연구가 보고되어 있으며, 미토콘드리아성 ATPase에 대한 유기물 효과에 관한 연구로는 이 효소의 산화적 인산화의 uncoupler 및 인산기 전이의 활성화제인 2,4-dinitrophenol 효과(Horiuti *et al.*, 1968), 이 효소의 산화적 인산화의 억제제인 oligomycin 효과(Horiuti *et al.*, 1968), 광 증감제인 phenazinemethosulfate 효과(Horio, 1965) 등에 대한 연구보고가 있다.

버섯은 고등균류에 속하는 음식 생물로서 클로로필이나 박테리아성 클로로필과 같은 흡광색소가 잘 알려져 있지 않으며, 강한 직사광이나 아주 어두운 상태에서는 잘 자라지 않는 것으로 알려져 있다.

그렇다면, 버섯이 빛을 필요로 하는지, 필요로 한다면 몇 파장의 빛을 필요로 하는지를 구명하기 위하여 본 연구실에서는, 표고버섯 중의 광감응성 마토콘드리아 ATPase 및 ATP synthase의 효소적 특성을 실험한 결과, 전자는 680 nm 빛을 5분(Min *et al.*, 1987), 후자는 470 nm의 빛을 15초(Min *et al.*, 1989) 동안 조사할 때 이들 효소의 활성도가 크게 증가되었고 470 nm의 빛을 흡광하는 물질은 flavin계 화합물임을 보고(Park and Min, 1989; Park and Min, 1991)하였다. 또한 버섯의 종이 다를 때 필요로 하는 빛의 파장이 같은지를 구명하기 위한 실험에서 느타리버섯 중의 광감응성 미토콘드리아 ATPase 및 ATP synthase에 대한 실험결과는 전자는 580 nm의 빛을 10초, 후자는 480 nm의 빛을 15분 동안 조사할 때 이들 효소의 활성도가 크게 증가함을 보고(Min and Lee, 1989a; Min and Lee, 1989b)하였다. 본 연구에서는 느타리버섯 중의 광감응성 미토콘드리아 ATPase에 대하여 아직 연구 보고되지 않은 유기물 효과에 관한 연구로서 DCCD, aurovertin B, sodium acide 및 CCCP 효과를 실험하여 이것을 이미 보고된 고등동물류인 소심장 등과 담자균류인 표고버섯 중의 미토콘드리아성 ATPase에 대한 유기물 효과와 비교하여 느타리버섯 중의 미토콘드리아성 ATPase의 특성을 연구하였다.

## 재료 및 방법

경기도 포천에서 재배한 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)을 사용하였으며 시약은 adenosine 5'-triphosphate(ATP), tris (hydroxymethyl) aminomethane(Tris), bovine albumin(BA), N,N'-dicyclohexylcarbodiimide(DCCD), carbonylcyanimide-chlorophenylhydrazine(CCCP), aurovertin B, cytochrome c (Cyt. c), phenazine methosulfate(PMS), 2,6-dichlorophenolindophenol(DCPIP), 1-amino-2-naphthol-4-sulfonic acid(ANSA), ammonium molybdate(AM), Foline-ciocalteu 시약 등은 Sigma Co. 제품을 사용하였으며, potassium dihydrogen phosphate(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), sodium dithionite, sodium potassium tartrate, trichloroacetic acid(TCA), sucrose 등은 Wako Co. 제품을 사용하였고 그 외의 시약은 분석용 특급 시약을 사용하였다.

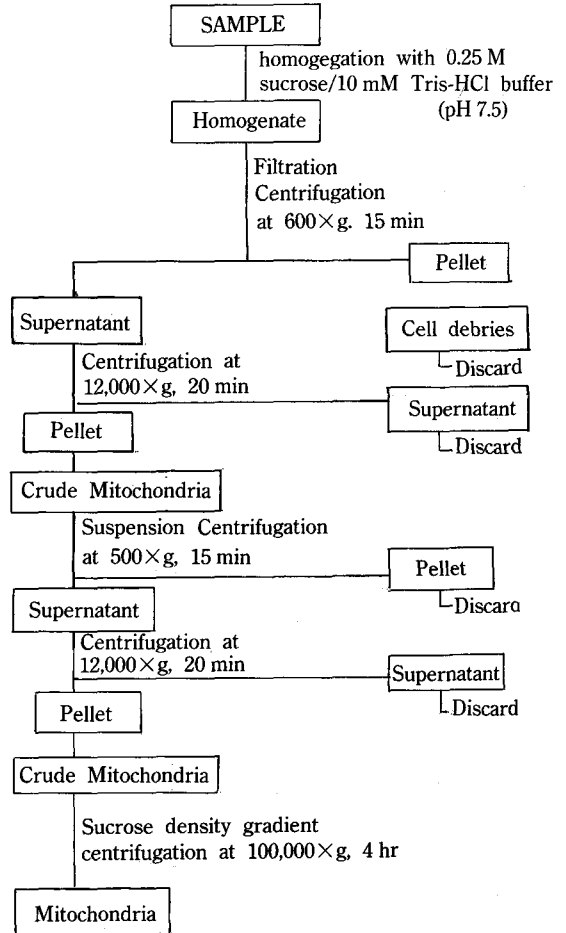


Fig. 1. Scheme of the isolation and purification of mitochondria in *Pleurotus ostreatus*.

**미토콘드리아의 분리 정제:** 미토콘드리아의 분리 정제는 Cooper(1969) 등과 Blair(1976)의 방법을 인용 변형하여 느타리버섯 1 kg에 0.25 M sucrose가 포함된 10 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.5) 2 l를 가하여 waring blender로 10,000 rpm에서 30초 동안 3회에 걸쳐 세포를 파쇄한 후 얇은 천으로 거른 여액을 600×g에서 15분 동안 원심분리하여 cell debris와 핵을 제거하고, 상층액을 12,000×g에서 20분 동안 원심분리하여 crude 미토콘드리아를 얻었다. 이 침전물을 현탁시킨 후 다시 500×g에서 15분, 12,000×g에서 20분 동안 재차 원심분리하여 2차 crude 미토콘드리아를 얻었다. 이를 현탁하여 설탕 밀도 비선형 기울기 원심분리법으로 100,000×g에서 4시간 동안 원심분리하여 정제된 미토콘드리아를

얻었으며, 이를 2차 반복하여 순수히 정제된 미토콘드리아 분획을 얻었다(Fig. 1). 위의 모든 조작은 4°C 이하에서 실시하였다. 정제 단계에 따른 정제 확인은 미토콘드리아의 marker enzyme인 succinate dehydrogenase, cytochrome oxidase와 microsome의 marker enzyme인 NADPH-cytochrome c reductase의 활성도를 각 분리 단계별로 측정하였다. Succinate dehydrogenase(EC 1.3.99.1)의 활성 또는 Hiatt(1961)와 Singer(1973)의 방법을 인용하여 50 mM 인산염 완충용액(pH 7.5)과 1 mM KCN, 0.002% DCPIP, 0.002% PMS, 10 mM succinate 및 단백질 150 µg에 해당하는 미토콘드리아를 포함하는 용액 3 ml를 반응용액으로 하였고, 효소의 활성도는 UV-Vis spectrophotometer를 사용하여 25°C에서 DCPIP( $\epsilon_{600} = 19.1 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )의  $A_{600}$ 값의 감소를 측정하였다. Cytochrome oxidase(EC 1.9.3.1)의 활성은 Rubin 등(1987)의 방법을 인용하여 50 mM 인산염 완충용액(pH 7.5)과 500 µM 환원형 cytochrome c 및 triton X-100으로 전처리한 효소 단백질 100 µg에 해당하는 미토콘드리아를 포함한 용액 1 ml를 반응용액으로 하여 UV-Vis spectrophotometer를 사용하여 25°C에서 환원형 cytochrome c( $\epsilon_{550} = 21.0 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )의  $A_{550}$ 값의 감소를 측정하였다. 기질인 cytochrome c는 1% sodium dithionite 용액으로 환원시켜 사용하였다. NADPH-cytochrome c reductase(EC 1.6.2.3)의 활성도를 Phillips 등(1962)의 방법을 인용하여 50 mM의 인산염 완충용액 (pH 7.5)과 0.3 mM KCN, 0.1 mM 산화형 cytochrome c, 0.1 mM NADPH 및 효소 단백질 150 µg에 해당하는 미토콘드리아를 포함하는 혼합용액 1 ml를 반응용액으로 하여 UV-Vis spectrophotometer를 사용하여 25°C에서 cytochrome c ( $\epsilon_{550} = 21.0 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )의  $A_{550}$ 값의 증가를 측정하였다.

**미토콘드리아의 빛 조사:** 정제한 미토콘드리아를 초음파 세포파쇄기를 사용하여 5초간 5회에 걸쳐 초음파 처리하여 미토콘드리아의 내막을 노출시켜 암실에서 10분 동안 정지한 후, 300 W tungsten halogen lamp를 광원으로 사용하여 최적조건 즉, 580 nm의 빛을 10초 동안 간섭필터를 사용하여 조사하였다. 이때 광량은  $2.5 \times 10^{15} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 로 일정하게 유지하였다.

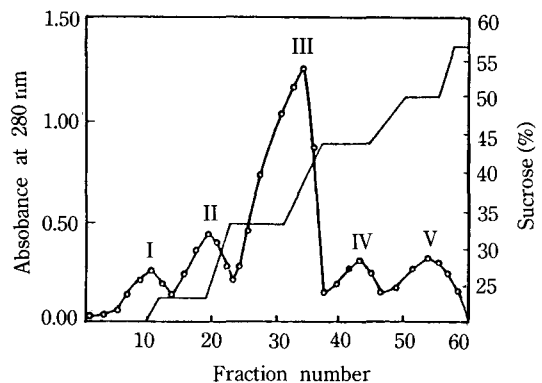
**미토콘드리아성 ATPase의 활성도 측정:** 미토콘

드리아성 ATPase의 활성도는 Rorive(1972) 등의 방법을 인용, Min 등(1987)의 방법에 따라 측정하였다. 10 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.5) 0.65 ml에 광조사한 효소 용액 0.1 ml를 가하여 37°C에서 3분간 열 평형시킨 후 기질용액인 ATP 수용액 0.25 ml를 가하여 37°C에서 10분 동안 반응시킨 후 10% TCA 수용액 2 ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 이 용액을 syringe 여과하여 변성된 효소단백질을 제거한 여액 1 ml를 취하여 Fiske 등(1925)의 방법을 인용하여 2.5% AM 수용액 2 ml와 0.25% ANSA 수용액 0.4 ml를 가하여 30분간 발색시킨 다음 660 nm에서 흡광도를 측정하여 증가된 Pi의 양을 산출하였다. 이 효소의 비활성도 1단위는 37°C에서 매분당 효소 단백질 1 mg에 의해 ATP로부터 생성되는 1 µmol의 Pi의 양을 1단위로 하였다. 단백질 정량은 Lowry 등(1951)의 방법을 이용하였으며 bovine albumin을 표준물질로 사용하였다.

**최적 조건에서의 유기물 효과:** 최적 조건 하에서 Min 등(1987)의 방법을 인용하여 각 농도별 유기물 용액을 빛 조사된 효소 용액에 가하여 10분 동안 반응시킨 후 위의 활성도 측정 방법과 동일하게 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 미토콘드리아의 분리 정제: 설탕밀도 비선형기울



**Fig. 2.** Fraction of the mitochondria in *Pleurotus ostreatus* following the stepped sucrosous density gradient centrifugation.

I. soluble enzyme, II. lysosomes, III. mitochondria, IV. proplastids V. glyoxysomes.

**Table 1.** Succinate dehydrogenase activity as a mitochondrial marker enzyme

Fraction	Total protein (mg)	Total activity (Unit*)	Specific activity (Units/mg)	Recovery (%)
600×g supernatant	950	673.2	0.7	100
Crude mitochondria	502	592.4	1.2	88
Purified mitochondria	311	545.3	1.8	81

\*Unit is  $\mu\text{mol}$  of DCPIP reduced by Succinate dehydrogenase per minute.

**Table 2.** Cytochrome oxidase activity as mitochondrial marker enzyme

Fraction	Total protein (mg)	Total activity (Unit*)	Specific activity (Units/mg)	Recovery (%)
600×g supernatant	950	1271.3	1.3	100
Crude mitochondria	502	1144.1	2.3	89
Purified mitochondria	311	1071.5	3.4	84

\*Unit is  $\mu\text{mol}$  of cytochrome c oxidized by Cytochrome oxidase per minute.

**Table 3.** NADPH-Cytochrome c reductase activity as a mitochondrial marker enzyme

Fraction	Total protein (mg)	Total activity (Unit*)	Specific activity (Units/mg)	Recovery (%)
600×g supernatant	950	1097.2	1.2	100
Crude mitochondria	502	142.7	0.3	13
Purified mitochondria	311	54.9	0.2	5

\*Unit is  $\mu\text{mol}$  of cytochrome c reduced by NADPH-Cytochrome c reductase per minute.

기 원심분리법에 의하여 5개의 단백질 분획을 얻었으며 44% sucrose 층에서 미토콘드리아 분획(III)을 얻었다(Fig. 2). 미토콘드리아의 정제를 확인하기 위하여 미토콘드리아의 표식 효소의 활성도를 측정 한 결과 succinate dehydrogenase의 비활성도는 정제 단계에 따라 600×g에서 0.7이었고 crude 미토콘드리아에서 1.2, 그리고 정제된 미토콘드리아에서는 1.8로 정제 단계에 따라 증가함으로써 미토콘드리아가 정제되었음을 확인하였으며, 이때 회수율은 81%이었다(Table 1). Cytochrome oxidase의 비활성도는 600×g에서 원심분리한 상층액은 1.3이었고, crude 미토콘드리아에서는 2.3이었으며, 정제된 미토콘드리아에서는 3.4로 정제 단계에 따라 증가함으로써 44% sucrose 층에서 정제되었음을 확인하였다. 이 때 회수율은 84%이었다(Table 2). Microsome의 표식 효소인 NADPH-cytochrome c reductase의 비활성도는 600×g에서 원심분리한 상층액은 1.2이었고, crude 미토콘드리아에서는 0.3이었으며,

정제된 미토콘드리아에서는 0.2로 정제 단계에 따라 감소함으로써 미토콘드리아가 정제되었음을 확인하였다(Table 3).

**유기물 효과:** 유기물에 의한 느타리버섯 중의 광감응성 미토콘드리아 ATPase의 활성도변화를 측정 한 결과는 Table 4와 같다.  $F_0$  group 중 8 kD의 단백질과 잘 결합함으로써 산화적 인산화를 억제하고,  $F_1$  group에 결합하여 인산기 전이를 억제하는 DCCD에 의한 효과는 그 농도가 증가함에 따라 이 효소의 활성이 점차 감소하는 경향을 보였으며, 0.25 mM의 DCCD에 의하여 64%로 효소 활성이 가장 크게 억제되었다(Fig. 3). 이는 표코버섯 중의  $F_1$ -ATPase의 활성이 0.25 mM DCCD에 의해 그 활성도가 34% 억제(Park and Min, 1986)된 결과 보다는 30% 증가된 억제 현상을 보였으며, 소 심장 중  $F_1$ -ATPase의 활성이 99% 억제(Matsuno-Yagi and Hatefi, 1984)된 결과보다는 30% 감소된 억제 현상을 보였다.  $F_1$  group에 결합하여 ATPase의 활성을 억제하는

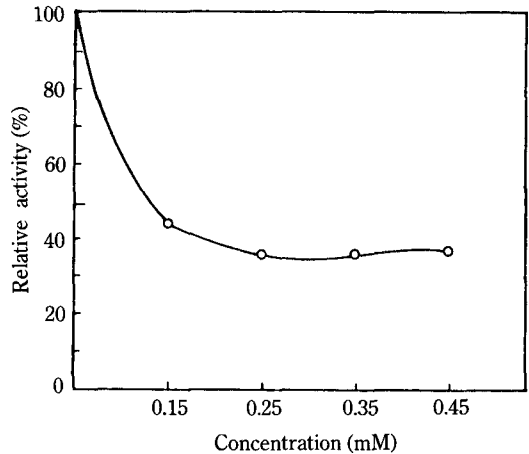
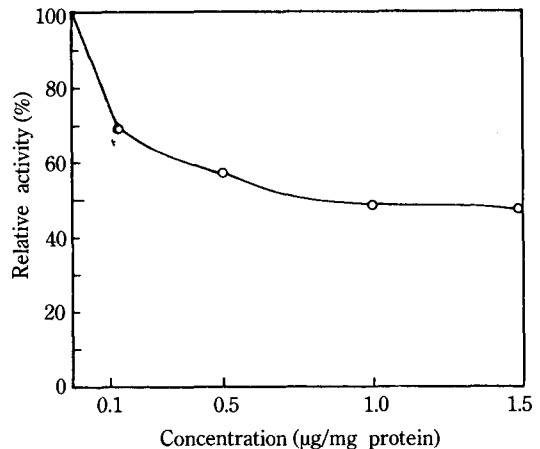
**Table 4.** Effect of organic compounds on the activity of mitochondrial ATPase

Organic compound	Concentration (mM)	Relative activity (%)
None	0.00	100
N,N'-dicyclohexylcarbodiimide	0.15	42
	0.25	36
	0.35	36
	0.45	37
Sodium azide	0.01	99
	0.02	43
	0.04	50
	0.08	53
Aurovertin B*	0.1	70
	0.5	68
	1.0	49
	1.5	48
Carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone**	0.10	111
	0.15	122
	0.20	117
	0.25	114

\*The concentration of aurovertin B is  $\mu\text{g}/\text{mg}$  of protein.

\*\*The concentration of carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone is  $\mu\text{M}$ .

이 시약에 의해 동물세포에 대한 억제도 보다 그 억제 정도가 감소한 것은 이 버섯 중의  $F_1$  group보다 동물 세포의  $F_1$  group에 DCCD가 더 강하게 결합하기 때문인 것으로 사료된다. 산화적 인산화와 인산기 전이를 방해하는 aurovertin B에 의한 이 효소의 활성도 변화는 그 농도가 증가함에 따라 이 효소의 활성이 감소하는 경향을 보였으며 효소 단백질 mg당 1.5  $\mu\text{g}$ 의 aurovertin B에 의해 52% 억제되었다(Fig. 4). 이는 쥐 간 중의 미토콘드리아성 ATPase의 활성이 31.6  $\mu\text{M}$ 의 aurovertin B에 의해 60%로 가장 크게 억제(Lardi and Ebel, 1975)된 것과는 8%의 억제 정도의 차이를 보였다. Aurovertin B가  $F_1$  group의 촉매 부위인  $\beta$  subunits에 결합하여 억제 효과를 내는 과정에서 기질인 ATP의 농도 증가에 의해 촉매부위에 대한 시약의 결합

**Fig. 3.** The effect of N,N'-dicyclohexylcarbodiimide on the activity of mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*.**Fig. 4.** The effect of aurovertin B on the activity of mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*.

정도가 감소하는 현상을 보인(Hatefi *et al.*, 1985) 것으로 보아 동물세포와 버섯세포 중의 ATPase에 대한 aurovertin B의 억제효과가 서로 다르게 나타난 것은 버섯보다는 동물 세포의  $F_1$  group의 ATP 결합 부위에 이 시약이 더 특이적으로 결합하기 때문인 것으로 보여진다. 그러나 DCCD에 의해서 나타난 것과 같은 30%의 큰 차이는 보이지 않았다. 산화적 인산화의 uncoupler로 알려진 CCCP에 의한 효과는 그 농도가 증가함에 따라 이 효소의 활성이 증가하다가 감소하는 경향을 보였으며, 0.15  $\mu\text{M}$  CCCP에 의해 이 효소의 활성이 22% 증가하였다

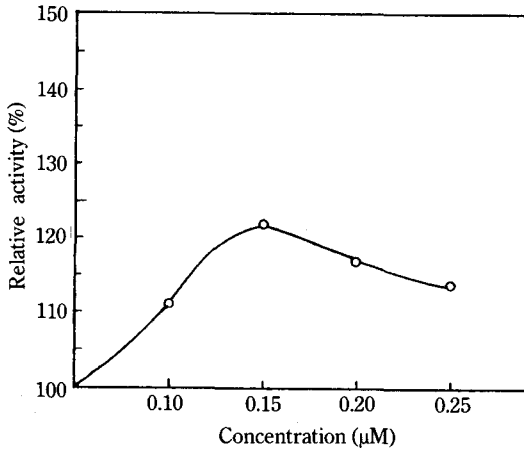


Fig. 5. The effect of carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone on the activity of mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*.

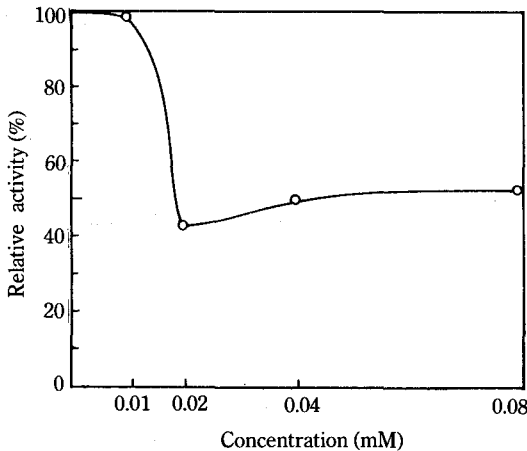


Fig. 6. The effect of sodium azide on the activity of mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*.

(Fig. 5). 이는 표고버섯 중의  $F_1$ -ATPase의 활성이 50  $\mu$ M CCCP에 의해 9% 증가한 것 보다는 13% 더 활성이 증가된 현상을 보였으나,  $Ca^{2+}$ -ATPase가 이 시약에 의해 그 활성이 억제(Hayashi *et al.*, 1975)된 것과는 상반된 결과를 보였다. 이는 calcium pump로서 이온의 능동 수송을 촉매하는 ATPase와 미토콘드리아의 내막에 존재하여 인산기 전이를 촉매하는 ATPase의 촉매 부위가 상이하고, CCCP가 미토콘드리아성 ATPase의  $F_1$  group에는 직접 결합에 의한 억제를 하지 않음을 보여준다. 또한, 이 효소의 활성이 이 시약에 의해 13% 더 촉진된 것은

전자 전달계에 작용하는 산화적 인산화의 uncoupler가 이 효소의 활성을 촉진시키는 일반적인 현상과 동일하므로 전자 전달계에 의한 효과가 이 효소의 활성에 영향을 미치는 것으로 사료된다. Fe enzyme의 억제제로 알려진 sodium azide의 효과는 그 농도 증가에 따라 활성도가 점차 감소하는 경향을 보였으며, 0.02 mM sodium azide에 의해 이 효소의 활성이 57% 억제되었다 (Fig. 6). 이 시약은 CO 및  $CN^-$  이온 등과 같이 cytochrome oxidase의 강력한 전자전달 억제제(Wilson *et al.*, 1972; Horio *et al.*, 1958)이며, 또한 ATP synthase의  $F_1$  group과 Pi의 결합을 방해하는 억제제이다(Kasahara and Penefsky, 1978). Membrane-bound ATPase에 의해 ATP의 합성과 분해가 가역적으로 일어남에도 불구하고 이 두 효소 모두의 활성이 억제된 현상을 보인 것은 산화적 인산화 반응에서 ATP synthase보다 앞 단계의 전자전달을 억제하기 때문인 것으로 사료된다.

#### 參考文獻

- Blair, P. V. 1967. The large scale preparation and properties of heart mitochondria from slaughterhouse material. *Methods. Enzymol.* **10**: 78-81.
- Boyer P. D. and O'neal, C. C. 1984. Assessment of the rate of bound substrate interconversion and of ATP acceleration of product release during catalysis by mitochondrial adenosine triphosphatase. *J. Biol. Chem.* **259**: 5761-5767.
- Cooper, T. G. and Beevers, H. 1969. Mitochondria and glyoxysomes from castor bean endosperm. *J. Biol. Chem.* **244**: 3507-3513.
- Fiske, C. H. and Subbarow, Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* **66**: 375-400.
- Gilmour, D. and Calaby, J. H. 1952. Purification of ATPase from insect muscle. *Arch. Biochem. Biophys.* **41**: 83-91.
- Hatefi, Y., Matsuno-Yagi, A. and Yagi, T. 1985. Studies on the mechanism of oxidative phosphorylation: Effect of specific  $F_0$  modifiers on ligand-induced conformation changes of  $F_1$ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **82**: 7550-7554.
- Hayashi, H., Plishker, G. A. and Penniston, J. T. 1975. Effect of carbonylcyanide *m*-chlorophenylhydrazone

- on the calcium-stimulated ATPase activity of erythrocyte ghosts. *Biochim. Biophys. Acta.* **394**: 145-155.
- Hiatt, A. T. 1961. Preparation and some properties of soluble succinic dehydrogenase from higher plants. *Plant. Physiol.* **36**: 552-557.
- Horio, T., Higash, T., Matsubara, H., Kusai, K., Nakai, M. and Okunuki, K. 1958. *Biochim. Biophys. Acta.* **29**: 297.
- Horio, T., Horiuti, Y., Tamamoto, N. and Nishikawa, K. 1972. Light-influenced ATPase activity; Bacterial. *Methods. Enzymol.* **24**: 96-103.
- Horiuti, Y., Nishikawa, K. and Horio, T. 1968. Oxidation reduction potential dependent adenosine triphosphatase activity of chromatophores from *Rhodospirillum rubrum*. *J. Biochem.* **64**: 577-587.
- Jr, J. G. and Hudecki, M. S. 1988. Abnormal response to calmodulin *in vitro* of dystrophic chicken muscle membrane  $Ca^{2+}$ -ATPase activity. *Biochemistry.* **27**: 7619.
- Kasahara, M. and Penefsky, H. S. 1978. High affinity binding of monovalent Pi by beef heart mitochondrial adenosine triphosphatase. *J. Biol. Chem.* **253**: 4180-4187.
- Lardi, H. A. and Ebel, R. E. 1975. Influence of aurovertin on mitochondria ATPase activity. *J. Biol. Chem.* **250**: 4992-4995.
- Leonard, R. T. and Van Der Woude, W. J. 1976. Isolation of plasma membranes from corn roots by sucrose 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.
- Matsuno-Yagi, A. and Hatefi, Y. 1984. Inhibitory chemical modifications of  $F_1$ -ATPase. *Biochemistry* **23**: 3508-3514.
- 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**: 217-223.
- 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**: 91-98.
- Min, T. J. and Lee, K. D. 1989. Studies on the Light-Induced mitochondrial ATP synthase in *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 177-183.
- Min, T. J. and Lee, K. D. 1989. Studies on the Light-Induced mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **17**: 169-176.
- Park, H. L. 1986. Purification and characterization of ATPase in the *Leintinus edodes* (Berk.) Sing. M. S. Thesis, *Dongguk Univ, Seoul. Korea.* p. 38.
- Pedenmonte, C. H. and Kaplan, J. H. 1988. Inhibition and derivatization of the renal Na, K-ATPase by dihydro 4,4-diisothiodyanatosillbene-2,2-sulfite. *Biochemistry.* **27**: 7966-7973.
- Phillips, A. H. and Langdon, R. G. 1962. Hepatic triphosphopyridine nucleotide-cytochrome c reductase; Isolation, characterization and kinetic studies. *J. Biol. Chem.* **237**: 2652-2660.
- Racker, E. 1976. The possible organization of the polypeptides of  $F_0 \cdot F_1$ -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.
- Rubin, M. and Tzagoloff, A. 1978. Cytochrome oxidase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods Enzymol.* **53**: 73.
- Shavit, N. 1980. Energy transduction in chloroplasts; Structure and function of the ATPase complex. *Annu. Rev. Biochem.* **49**: 111-138.
- Singer, T. P. 1973. Determination of the activity of succinate, NADH, cholin and  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase. *Methods Biochem. Analysis.* **22**: 123-175.
- Walker, J. E., Saraste, M. and Gay, N. J. 1984. Nucleotide sequence, regulation and structure of ATP synthase. *Biochim. Biophys. Acta.* **768**: 164-200.
- Wilson, D. F. and Leigh, J. S. 1972. Heme-Heme Interaction in Cytochrome c Oxidase *in Situ* as Measured by EPR Spectroscopy. *Arch. Biochem. Biophys.* **150**: 154-163.

Accepted for Publication on April 18, 1992