

척추동물의 Isozyme 에 관한 비교연구
V. 담수어류의 젖산수소이탈효소 Isozyme

박 상 윤 · 이 문 성 · 조 동 현
(성균관대 · 대학원 · 생물학과)

Comparative Studies of Isozymes in Vertebrate
V. Lactate Dehydrogenase in Fresh Water Fishes

Sang Yoon Park, Moon Sung Lee and Dong Hyun Cho
(Dept. of Biology, Graduate School, Sung Kyun Kwan University)
(1974. 6. 5 수리)

SUMMARY

The lactate dehydrogenase isozymes in tissues of eight fresh water fishes were examined by cellulose acetate electrophoresis. The electrophoretic distribution of the isozymes showed clearly species-specific pattern. Various subbands were found more frequently in these fishes than in mammals. The isozyme pattern of muscle seems to tend to be the same with that of brain in these fishes. The fish lactic dehydrogenase suggested in many cases to be consisted of nonrandomly selected hybrids.

서 론

많은 효소들의 분자구성이 균질한 것이 아니라는 사실이 발견됨으로써 (Markert and Møller, 1959) isozyme 은 계통학을 포함한 생물학의 여러 분야에서 유용한 자료들을 제공하여 왔다 (Vesell, 1968; Wróblewski, 1961). 포유류 및 조류의 젖산 수소이탈효소 (LDH; lactate dehydrogenase)는 4개의 구성단위로 짜여지는 5개의 isozyme 으로 되어 있으나 (Vesell, 1968; Wróblewski, 1961) 어류에 있어서는 그 구성이 아직 분명하게 밝혀져 있지 않다 (Markert and Faulhaber, 1965). 본 실험은 담수어의 LDH isozyme 형을 조사 비교함으로써 계통학적인 자료를 얻으려는 일련의 계획의 하나로 실시되었다.

실험재료 및 방법

실험동물은 시중의 어류상을 통하여 구입한 다음 8종을 사용 하였다. 붕어 (*Carassius carassius*), 잉어 (*Cyprinus carpio*), 뱀장어 (*Anguilla japonica*), 가물치 (*Ophicephalus*

註 本 研究는 1974年度 産學協同財團 學術研究費의 支援에 의하여 이뤄진 것이다.

argus), 새코미꾸리 (*Cobitis rotundicaudata*), 미꾸라지 (*Misgurnus mizolepis*), 드렁허리 (*Fulata alba*), 뚝지 (*Aptocyclus ventricosus*).

Isozyme 분리는 cellulose acetate strip 으로 실시 하였고, 폭 1 cm 당 0.8 mA 의 정전류로서 전기영동 하였다. 영동이 끝난 strip 은 formazan 법으로 LDH 를 검출하였다. 기타 상세한 실험방법은 박·조(1972)에 따랐다.

실험결과 및 고찰

다른 척추동물과는 달리 어류의 LDH isozyme 은 아직도 분자 수준에서 자세히 밝혀져 있지 않다. Markert and Faulhaber (1965)는 어류를 그의 isozyme 형에 따라서 대략 4가지 군으로 나눌 수 있다고 하였다. 즉 LDH isozyme 이 1개인 것, 2개, 3개 및 5개 가진 것으로 구별 되었다. 본 실험결과도 대략 Markert and Faulhaber (1965)의 제안과 일치됨을 볼 수 있다 (Fig. 1~8).

붕어의 간조직에서는 LDH-2 가 없는 4개의 isozyme 이 나타났다 (Fig.1). 그 외의 조직 (심장, 뇌, 근, 콩팥)에서는 대체로 LDH-1 위치에 넓게 퍼진 단일밴드가 확인된다. 대뇌, 시엽, 소뇌, 미주신경 및 연수 따위 신경조직도 위와 같은 단일 isozyme 을 보여준다. 박·홍·조 (1971)는 cellulose acetate 전기영동법으로 붕어의 뇌조직에서 몇 개의 LDH isozyme 을 확인하였는데, 이는 LDH-1 위치에서 나타나는 subband 들이라고 생각된다. 한편 Numachi (1972)는 붕어의 근조직에서 전분·겔 전기영동법으로 단일 LDH isozyme 을 볼 수 있다고 하였는데 본 실험결과와 대략 일치된다.

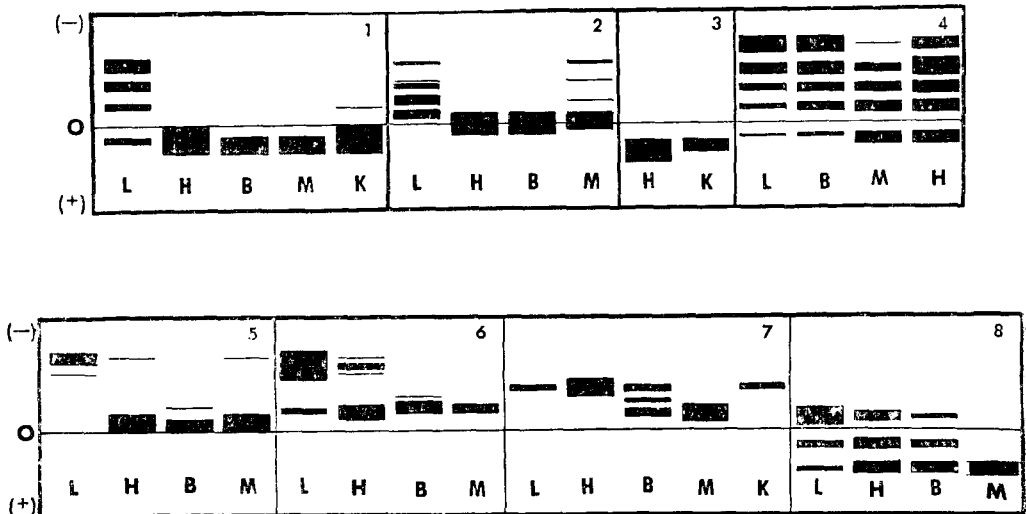


Fig. 1-8. Lactate dehydrogenase isozymes of fishes. Electrophoresed for 60 minutes on the cellulose acetate membrane. 1. *Carassius carassius*; 2. *Cyprinus carpio*, 3. *Anguilla japonica*; 4. *Ophicephalus argus*; 5. *Cobitis rotundicaudata*; 6. *Misgurnus anguillicaudata*; 7. *Fulata alba*; 8. *Aptocyclus ventricosus*. L-liver, H-heart, B-brain, M-muscle, K-kidney.

잉어의 근조직에서는 대체로 4개의 LDH isozyme 이 나타난다 (Fig. 2). 양극(+)쪽의 isozyme 이 아주 강하고 음극(-)쪽으로 가장 빠르게 이동하는 isozyme 이 희미하게 보

이는 반면 나머지 LDH는 겨우 확인될 정도로 그 농도가 미약하다 (Fig. 2). 간조직에서도 대략 4개의 LDH isozyme이 보이거나 isozyme 사이의 간격이 근조직과는 크게 다르다. 그외 조직에서는 단일 isozyme이 나타난다.

뱀장어에서는 양극(+)쪽으로 이동하는 단일 band가 발견되는데 (Fig. 3) 그 이동하는 모양으로 미루어 보아 적어도 2개의 isozyme으로 구성되어 있을 것으로 추측된다.

어류 가운데에서 전형적인 LDH isozyme 분포를 보이는 것은 가물치 이다 (Fig. 4). 모든 조직에서 5개의 isozyme을 볼 수 있다. 그 pattern 역시 포유류의 것과 흡사한 모습이다. 뇌조직에서도 대부분의 경우는 5개의 isozyme이 나타나는데 27 개체중 단 1개체에서 LDH-3가 2개의 subband로 구성되어 있음을 발견 하였다. 이 현상은 뇌조직의 여러부분, 연수, 대뇌, 소뇌, 시엽, 후엽, 척수에서도 확인할 수 있었다.

새코미꾸리 (Fig.5)와 미꾸라지 (Fig.6)의 LDH isozyme은 빠르게 이동하는 그룹과 느리게 이동하는 2군으로 나누어 볼 수 있다. 위의 2종의 뇌조직과 미꾸라지의 근조직에는 (-)쪽으로 빠르게 이동하는 isozyme이 없다. 그런데 뇌조직은 느리게 이동하는 isozyme이 2개의 band로 구성되어 있다. 다른 조직과는 정반대되는 isozyme형이 간조직에서 볼 수 있다. 새코미꾸리에서는 빠르게 이동하는 isozyme만이 나타나며 2개의 band로 구성되어 있다. 이에 비하여 미꾸라지에서는 2군의 isozyme이 모두 나타난다. 심장근의 경우 미꾸라지와 새코미꾸리 모두 2군의 isozyme을 가지고 있는데, 새코미꾸리는 빠르게 이동하는 isozyme이 단일 band이나 미꾸라지에서는 3개의 subband로 구성되어 있다. 따라서 미꾸라지 간조직의 빠르게 이동하며, 넓게 퍼진 단일 band도 3개의 subband로 구성 되었을 가능성이 짙다. 위의 2종에서 뇌조직의 각 부위별 isozyme형 상호간에 별다른 큰 차이가 없었다.

Subband까지를 고려한다면 미꾸라지는 5개, 새코미꾸리는 4개의 LDH isozyme을 가진 셈이 된다. 그런데 subband의 존재를 무시하면 새코미꾸리와 미꾸라지는 거의 닮은 isozyme형을 가졌다고 볼 수 있다.

드렁허리에서는 모두 3개의 isozyme이 나타난다 (Fig.7). 간, 심장 및 콩팥의 LDH는 단일 band이다. 근조직도 단일 isozyme으로 구성되어 있으나 심장의 그것과는 위치가 다르다. 뇌조직만이 3개의 isozyme을 가지고 있는데, 뇌조직의 LDH는 심장과 근 LDH isozyme의 hybrid형이라고 할 수 있다.

뚝지의 LDH isozyme은 (+)극쪽으로 치우치는 3개의 band로 이루어진다 (Fig.8). 간조직에서는 이 3개의 band중에서 (-)극 쪽의 isozyme이 강하게 나타난다. 근조직에서는 (+)극쪽으로 빠르게 이동하는 단일 isozyme만이 확인된다. 뇌조직은 간조직과 정반대의 isozyme형을 보인다. 뇌조직을 세분하여 실험 하였을 때에도 대략 서로 비슷한 isozyme형을 나타내는 데, 대뇌, 소뇌, 시엽, 미주신경, 연수, 척수에서 큰 차이를 발견할 수 없었고 뇌조직 전체의 그것과 흡사 하였다. 심장은 3개의 isozyme band가 고르게 분포되어 있었다.

이상과 같이 8종의 담수어에서 가물치를 제외하면 LDH isozyme을 구성하는 구성단위 상호간에 random hybridization이 일어나는 것이 아니라 선택적으로 hybrid를 형성하고 있음을 강하게 암시하고 있다. 이러한 현상은 여러 연구자들이 지적하고 있다 (Markert and Faulhaber, 1965; Utter and Hodgins 1969; Whitt, 1970). 그런데 뚝지

와 드렁허리의 경우 3개의 LDH isozyme 이 나타나는 현상은 다음과 같이 추측할 수 있다. 첫째 이들이 포유동물처럼 4개의 구성단위로 이루어진 isozyme 을 가졌다고 한다면 대칭적인 tetramer 단이 (AAAA, AABB, BBBB) 존재하고 비대칭적인 hybrid(AAAB, ABBB)는 나타나지 않는다고 볼 수 있다. 둘째로 이들의 LDH isozyme 이 dimer 로서 구성되었다면 AA, AB, BB 의 subunit 구성을 가진 3개의 isozyme 이 나타나는 것을 쉽게 설명할 수 있겠다.

포유동물의 뇌조직은 흔히 근조직과 반대되는 isozyme 형을 보인다. 그러나 어류에서는 근조직과 뇌조직의 LDH isozyme 이 동일한 형을 나타내려는 경향이 있다. 이처럼 isozyme 의 구성단위가 역전되는 경우는 해산어에서는 오래전 부터 알려져 있었는데 (Nakano and Whiteley, 1965; Whitt, 1970) 본 실험 결과 담수어에서도 같은 현상이 있음을 볼 수 있었다.

요 약

젓산수소이탈효소의 isozyme 형을 8종의 담수산 어류에서 전기영동법으로 조사하였다. 이 isozyme 형의 전기영동상의 분포는 명백한 종 특이성을 보여 준다. 그리고 이 isozyme 은 random hybridization 이 아니고 선택적인 hybridization 에 의하여 구성되고 있음을 시사하고 있다. 포유류와 달리 어류에서는 근조직과 뇌조직의 isozyme 형이 동일한 형을 나타내는 경향이 있다.

참 고 문 헌

- Markert, C.L. and I. Faulhaber, 1965. Lactate dehydrogenase isozyme patterns of fish. *J. Exp. Zool.* **159** : 319—332.
- Markert, C.L. and F. Moller, 1959. Multiple molecular forms of enzymes, ontogenetic and species specific patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **45** : 735—763.
- Nakano, E. and A.H. Whiteley, 1965. Differentiation of multiple molecular forms of four dehydrogenases in the teleost, *Oryzias latipes*, studied by disc electrophoresis. *J. Exp. Zool.* **159** : 167—180.
- Numachi, K.C., 1972. Genetic control and subunit composition of lactate dehydrogenase in *Pseudorasbora parva*. *Japan. J. Genet.* **47** : 193—201.
- Utter, F.M. and H.O. Hodgins, 1969. Lactate dehydrogenase isozymes of Pacific hake (*Merluccius productus*). *J. Exp. Zool.* **172** : 59—67.
- Vesell, E.S. (ed.), 1968. 2nd Conference on Multiple Molecular Forms of Enzymes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **151**(1) : 1—689.
- Whitt, G.S. 1970. Developmental genetics of lactate dehydrogenase isozymes of fish. *J. Exp. Zool.* **175** : 1—36.
- Wróblewski, F. (ed.), 1961. Multiple Molecular Forms of Enzymes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **94** : 655—1030.
- 박 상운, 홍 사육, 조 동현, 1971. 척추동물의 isozyme 에 관한 비교연구 1. 수종동물의 뇌조직내 lactate dehydrogenase 에 관하여, 성대논문집 **16** : 1—11.
- 박 상운, 조 동현 1972. cellulose acetate 전기영동에 의한 수소이탈효소 isozyme 의 분리. 동·학·지 **15** : 101—104.