

부족강 10종의 NAD-MDH Isozyme

박 상 윤 · 김 상 업 · 조 동 현
(성균관대 대학원 생물학과)

NAD-dependent MDH Isozymes of Ten Species of Bivalvia

Sang Yoon Park, Sang Yup Kim and Dong Hyun Cho
(Dept. of Biology, Sung Kyun Kwan University)
(1974. 5. 28 접수)

SUMMARY

Malate dehydrogenases of ten bivalved mollusks consist of one or two isozymes, which are species-specific.

It is concluded that the electrophoretic character of the enzyme is available for identification of these ten bivalves.

서 론

Platycephalid 과의 어류에서는 종 사이의 계통학적인 유연관계와 MDH (Malate dehydrogenase; EC 1.1.1.37) isozyme pattern 사이에는 밀접한 관련이 있다는 사실이 확인되었다 (Taniguchi *et al.*, 1972 a). 한편 MDH isozyme 을 근거로 하여 가려내기 힘든 일본산과 유럽산의 뱀장어를 성장초기단계에서 구별하기도 하였다 (Taniguchi *et al.*, 1972 b). 연체동물에서도 Jelnes *et al.* (1971)은 분류학적으로 문제시 되어오던 *Cardium* 속의 부족류 4종의 esterase 를 비교함으로써 이들이 별개의 종임을 확인 하였다.

본 실험은 부족류의 MDH (EC 1.1.1.37) isozyme 이 종에 따라 어떠한 차이를 보여주는가를 알기 위하여, 그리고 이 차이에 계통학적인 상관성이 있는가를 알기 위하여 실시 하였다.

실험재료 및 방법

실험동물은 시판되는 부족강(Bivalvia) 10종으로 그 분류학적 위치는 다음과 같다.

Order Filibranchia

Family Arcidae

1. *Tegillarca (Anadara) granosa* (꼬막)
2. *Scapharca (Anadara) subcrenata* (새꼬막)
3. *Scapharca broughtonii* (피조개)

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.

Order Eulamellibranchia

Family Uninidae

4. *Cristaria plicata* (대칭이)

Family Corbiculidae

5. *Corbicula fluminea producta* (재첩)6. *Corbicula felnouilliana* (콩조개)

Family Veneridae

7. *Meretrix lusoria* (대합)8. *Cyclina sinensis* (가무락조개)9. *Mercenaria stimpsoni* (비늘백합)10. *Tapes philippinarum* (바지락)

실험물은 전체를 glass homogenizer로서 균질액을 만들어 실험에 사용하였다. 상세한 실험방법은 박·조 (1972)에 따랐고, Sepraphore III(Gelman Instrument)를 써서 pH 8.6의 barbiturate buffer에서 전기영동 하였다. Cellulose acetate 폭 1cm 당 0.8mA의 정전류에서 40분간 전기영동한 strip을 30분간 NAD-MDH 염색을 하였다. 대조군으로서 nothing dehydrogenase 염색을 하였을 경우, 전혀 나타나지 않던가 겨우 확인할 수 있을 정도로 희미한 band가 나타났다.

실험결과 및 고찰

실험결과를 Fig. 1과 같이, 부족류에서는 대체로 2개의 MDH isozyme band를 볼 수 있는데, 콩조개와 재첩만은 예외로 단일 isozyme이 나타났다. 이는 cellulose acetate 전기영동법을 써서 고등동물의 조직으로부터 얻은 결과와 잘 일치된다(고·조·박, 1973; 김·조·박, 1973; 박·김·조 1972). MDH isozyme의 band수가 2개 이상 나타나지 않음은 isozyme 자체의 구성에도 원인이 있겠으나 cellulose acetate 자체의 해상력이 전분 겔이나 acrylamide gel 보다 낮은 때문이라고 생각된다. 이 문제는 앞으로 재검토 되어

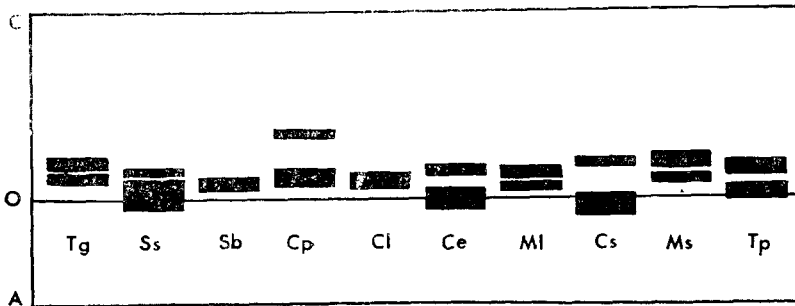


Fig. 1. NAD-dependent MDH isozyme patterns of either one or two bands were observed in the ten bivalved molluscs. Tg means *Tegillarca granosa*, Ss; *Scapharca subcrenata*, Sb; *Scapharca broughtonii*, Cp; *Cristaria plicata*, Cl; *Corbicula fluminea*, Cf; *Corbicula felnouilliana*, Ml; *Meretrix lusoria*, Cs; *Cyclina sinensis*, Ms; *Mercenaria stimpsoni* and Tp; *Tapes philippinarum*. O is origin, C; cathodal side, A; anodal side.

야 할 것으로 믿는다.

Agrell과 Kjellberg (1965)는 *Pecten maximus*의 패각근을 전분·젤전기영동하여 3개의 MDH isozyme을 분리하였는데, (+)쪽으로 빠르게 이동하는 2개의 band와 느리게 움직이는 단일 band로 구성되어 있었다. Cellulose acetate 전기영동법으로 *Buccinum sp.*에서는 3개의 MDH isozyme이 나타난다 (unpublished data). MDH isozyme은 종에 따라 많은 band로 구성되어 있는 경우도 있으나 대체적으로 이들 isozyme은 이동속도에 있어서 흔히 2군으로 나뉜다. Cellulose acetate로 분리한 *Euglena gracilis*의 MDH는 (+)쪽으로 이동하는 3개의 band와 (-)쪽으로 이동하는 2개의 band로 구성되어 모두 5개의 isozyme을 보여준다 (Peak et al., 1972). 성체의 일종인 *Arbacia punctulata*에서는 (+)쪽으로 빠르게 이동하는 3개의 band와 좀 느리게 움직이는 2개의 isozyme이 있어서 모두 5개의 MDH isozyme을 나타낸다 (O'Melia, 1973). 이러한 현상은 변형균 (Berry and Franke, 1973)에서 고등동물에 이르기 까지 흔히 나타난다 (Agrell and Kjellberg, 1965; Chilson et al., 1966). 이처럼 2군의 MDH isozyme이 나타나는 것은 supernatant MDH (S-형)와 mitochondrial MDH (M-형)로 구성되어 있는 때문이다 (Grimm and Doherty, 1961). 본 실험에서 보여지는 2개의 MDH band는 각기 M-형과 S-형에 해당하는 것으로 생각된다.

부족류의 MDH isozyme은 band 사이의 간격이라던가 이동속도 따위가 종에 따라 독특한 모습을 보여준다 (Fig. 1). 그러나 계통적으로 가까운 종 사이에서 얻은 MDH isozyme pattern을 비교하여 보면 어떤 뚜렷한 유연관계를 암시하는 증거를 찾을수 없었다. 이같은 현상은 같은 과에 속하는 부족류에서도 마찬가지였다.

그런데 가무락조개와 거의 같으면서 각피의 가장자리에 자색색채가 나타나지 않고, 또 放射肋이 없는 것의 MDH isozyme pattern은 가막조개와 일치하였다. 또한 바지락에서는 패각의 안쪽이 황색을 띤 개체와 그렇지않은 개체가 있는데 이들 둘의 MDH isozyme pattern 역시 서로 같았다. 다양하게 나타나는 패각의 무늬를 가진 개체들을 서로 비교하였을 때에도 MDH isozyme pattern은 항상 동일하였다. 비슷하게 꼬막과 재치에서도 MDH의 다형현상을 찾아 볼 수 없었다. 따라서 NAD-MDH는 다른 단백질에 비하여 다형현상이 잘 나타나지 않음을 알 수 있는데 다른 연구자들도 고등동물에서 이러한 현상을 확인하고 있다 (Johnson et al., 1973; Selander and Yang, 1969).

적 요

Cellulose acetate 전기영동법으로 부족류의 MDH isozyme은 1~2개의 band로 구성되어 있음을 알았다. 이들 부족류의 MDH isozyme은 종에 따라 특징적이므로 생화학적인 다양성의 한가지 증거라 할 수 있다. 그러나 MDH isozyme pattern은 계통상의 유연관계를 뚜렷하게 나타내고 있지는 않다. 몇 가지 실험하여본 종에 있어서 NAD-MDH의 다형현상이 나타나지 않았다.

문 헌

Agrell, I. and B. Kjellberg, 1965. A comparative analysis of the isozyme pattern of dehydrogenases. *Comp. Biochem Physiol.* 16 : 515~521.

- Berry, J. A. and F. G. Franke, 1973. Taxonomic significance of intraspecific isozyme patterns of the slime mold *Fuligo septica* produced by disc electrophoresis. *Am. J. Bot.* **60** : 976~986.
- Chilson, O. P., G. B. Kitto, J. Pudles and N. O. Kaplan, 1966. Reversible inactivation of dehydrogenases. *J. Biol. Chem.* **241** : 2431~2445.
- Grimm, F. C. and D. G. Doherty, 1961. Properties of the two forms of malate dehydrogenase from beef heart. *J. Biol. Chem.* **236** : 1980~1985.
- Jelnes, J. E., G. H. Petersen and P. J. C. Russell, 1971. Isoenzyme taxonomy applied on four species of *Cardium* from Danish and British waters with a short description of the distribution of the species (Bivalvia). *Ophelia* **9** : 15~20.
- Johnson, A. G., F. M. Utter and H. O. Hodgins, 1973. Estimate of genetic polymorphism and heterozygosity in three species of rockfish (Genus *Sebastes*). *Comp. Biochem. Physiol.* **44B** : 397~406.
- O'Melia, A.F. 1973. Animalizing ability of evans blue in embryos of *Arbacia punctulata*. *Exp. Cell. Res.* **77** : 280~284.
- Peak, M.J., J.G. Peak and I.P. Ting, 1972. Isoenzymes of malate dehydrogenase and their regulation in *Euglena gracilis*. *Biochim. Biophys. Acta* **284** : 1~15.
- Selander, R.K. and S.Y. Yang, 1969. Protein polymorphism and genic heterozygosity in a wild population of the house mouse (*Mus musculus*). *Genetics* **63** : 653~667.
- Taniguchi, N., A. Ochiai and T. Miyazaki, 1972a. Comparative studies of the Japanese Platycephalid fishes by electrophoregrams of muscle protein, LDH and MDH. *Japan. J. Ichthyol.* **19** : 89~96.
- Taniguchi, N., J. Takahashi and Y. Konoshi, 1972b. Studies on a biochemical method for identification of the European and Japanese fresh water eel. *Japan. Soc. Sci. Fish.* **38** : 627~631.
- 고정식 · 조동현 · 박상윤, 1973. 척추동물의 Isozyme에 관한 비교연구 IV. 한국산 개구리목의 Lactate 및 Malate Dehydrogenase Isozyme. *동·학·지* **16** : 193~201.
- 김순옥 · 조동현 · 박상윤, 1973. 척추동물의 Isozyme에 관한 비교연구 III. 한국산 뱀목의 Lactate 및 Malate Dehydrogenase Isozyme. *동·학·지* **16** : 55~65.
- 박상윤 · 김창한 · 조동현, 1972. 조류의 젖산 및 말산 수소이탈효소 아이소차임. *동·학·지* **15** : 193~205.
- 박상윤 · 조동현, 1972. Cellulose acetate 전기영동계 의한 수소이탈효소 Isozyme의 분리. *동·학·지* **15** : 101~104.