

한국산 초파리 집단의 유전 생화학적 연구: 노랑초파리의
 α -Glycerophosphate dehydrogenase allele에 대하여

정 용 재 · 한 영 수 · 정 영 란
(이화여자대학교 과학교육과)

Biochemical Genetic Study of *Drosophila* Populations in Korea:
 α -Glycerophosphate Dehydrogenase Allele of *Drosophila melanogaster*

Chung, Y.J., Han, Y.S. and Y.L. Chung
(Department of Science Education, Ewha Womans University)
(Received June 25, 1982)

SUMMARY

In order to establish a biochemical genetic system in *Drosophila* populations in Korea, the α -glycerophosphate dehydrogenase alleles of eleven natural populations of *D. melanogaster* in Korea were examined by means of agarose gel electrophoresis.

The results obtained are presented below:

1. α -Glycerophosphate dehydrogenase (α -GPDH) allele is scored for eleven natural populations of *D. melanogaster* in Korea, resulting that α -GPDH is found to be widely polymorphic for two electrophoretic variants.
2. The heterozygosity of α -GPDH is calculated as 40~50%.
3. The frequency of the *FF* genotype of α -GPDH is found to be roughly same as the *SS* genotype, but less than the *FS* genotype.
4. The *F* gene of α -GPDH is distributed almost frequently as the *S* gene.

서 론

Wright & Shaw (1969)에 의하여 α -glycerophosphate dehydrogenase (α -GPDH)에 대한 유전과 발생문제가 연구된 이후 이 α -GPDH가 관여하는 곤충의 glycerophosphate cycle은 mitochondria에서 NAD/NADH 산화환원 전위차를 유지시켜 주는 과정이어서 곤충의 energy 생산에 중요한 역할을 한다고 알려졌다 (O'Brien & MacIntyre 1972 a, b), soluble α -GPDH와 mitochondria α -GPDH에 기능적인 차이가 있다는 것이 밝혀진 바 있다 (O'Brien 1970).

Rechsteiner (1970)는 초파리 발생과 α -GPDH의 활성에 대한 연구를 하였으며 *D. willistoni*에서 α -GPDH locus는 II-59.0이고 *D. melanogaster*에서는 II-20.5로 밝혀졌다 (Lakovaara & Saura 1972, O'Brien & MacIntyre 1972 b). Grossman (1973 b)에 의하면 노랑초파리의 α -GPDH locus에 자리잡고 있는 alleles는 그 지배를 받는 isozyme의 전기영동상으로서 구별될 수 있으나 개중에는 zymogram의 밴드가 분명치 않은 것도 있다고 하였다. 역시 Grossman (1973 a)은 Israel산 노랑초파리 집단에서 α -GPDH의 fast type (a_F)과 slow type (a_S)인 두가지 형인 전기영동상과 인자형 ($a_F a_F$, $a_F a_S$, $a_S a_S$)의 분포에 대하여 보고하였으며, Gerdes & Doyle (1974)은 발생시기에 따른 LDH와 α -GPDH의 기능에 대하여 실험한 결과를 보고한 바 있다. Miller *et al.* (1974)은 α -GPDH의 추출물을 가지고 온도에 따라 α -GPDH의 Km에 대해서도 밝혔으며 최근에는 노랑초파리의 geographic cline에 관한 Anderson (1981)의 광범위한 연구보고가 있다.

한국산 노랑초파리의 α -GPDH에 대한 연구의 결과 대체로 다형현상을 나타내고 있는 바 (Chung 1977, Chung 1978, Kang 1980, 1981), 더욱 광범위한 지역의 자연집단을 대상으로 연구 조사하여 그 다형현상 및 유전적 특성을 확인할 필요가 있다고 본다.

본 연구는 한국산 초파리 집단의 유전생화학적 특성을 규명하는 일련의 연구로서 다른 isozyme alleles과 더불어 α -glycerophosphate dehydrogenase allele의 빈도를 조사, 확인하는데 목적이 있다.

재료 및 방법

1. 초파리

청량리(서울), 등촌동(서울), 신촌(서울), 용산(서울), 부천(경기), 춘천(강원), 대전(충남), 대구(경북), 광주(전남), 나주(전남), 그리고 노화도(전남)의 11개 지역에서 여러 종류의 과실의 trapping이나 net sweeping에 의하여 1981년 7월부터 11월 사이에 채집된 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*)의 자연집단에서 약 200개체씩 실험에 사용하였다.

2. 전기영동법

본 실험에서는 agarose gel 박층 전기영동법을 이용하였으며 gel media와 buffer solution의 처방은 아래와 같다.

Agarose gel medium (4판용)

Agarose	0.8~1.0 g
Polyvinylpyrrolidon (PVP).....	2.0 g
EBT buffer (1/10 dilution).....	33 ml
Distilled water.....	67 ml
	100 ml

EBT buffer (pH=8.7)

Disodium ethylenediamine tetraacetate	7.4 g
Boric acid	30.9 g
Tris (hydroxymethyl) aminomethane	109.1 g
Distilled water.....	1000 cc

각 지역의 노랑초파리를 hole slide glass에 한 마리씩 놓고 1/10로 희석한 EBT buffer를 한 방울씩 떨어뜨려 homogenize하였다. 이 균질화된 액에 1×4 mm strip (Whatman No.1 filter paper)을 넣어 액을 흡수시킨 후 이 strip을 agarose gel plate에 spotting하였다. 이 plate를 5~10°C의 냉장고안에서 12×16 cm plate당 α -GPDH를 240 volt, 13 mA에서 50분동안 전기영동하여 염색하였으며 사용한 염색액은 아래와 같은 처방으로 조제하였다.

Tris-HCl (0.05M Tris pH=8.5)	10 ml
Distilled water	30 ml
α -GP solution*	3 ml
NAD (0.25 g/5 ml D.W.).....	0.25 ml
NBT (0.125 g/30 ml D.W.)	1 ml
Phenazine methosulfate	1 knife point

* α -GP solution:

DL-a-glycerophosphate Na ₂	32.4 g
Distilled water	50 ml
1N HCl.....	α -GP solution이 pH=7.0되는 양

염색 후 초파리 Ringer solution에서 탈색시킨 후 증류수에 담가두었다가 꺼내어 건조시켰다.

이상과 같은 방법으로 얻은 zymogram에 의하여 α -GPDH의 인자형 *FF*, *FS* 그리고 *SS*로 분류하였으며 실험결과 얻은 인자형의 출현수를 가지고 *F*와 *S*의 인자빈도를 계산하고 이에 대한 Hardy-Weinberg 공식을 이용하여 인자형의 기대치를 산출하였으며 χ^2 검정법으로 유의성 검정을 하였다.

결 과

한국산 노랑초파리의 11개 지역의 자연집단을 대상으로 α -GPDH allele의 빈도조사 결과를 Table 1과 Fig. 1에 정리하였다. 청량리, 등촌동, 신촌, 용산, 춘천, 대전 및 노화도 집단에서 *FF* 인자형이 우세하고, 나머지 4개 집단에서는 *SS* 인자형이 우세하며, 그 중에서도 광주집단에서는 *SS* 인자형의 빈도가 (0.7061) 현저하게 높다. 그리고 헤테로인 *FS* 인자형의 빈도가 광주집단을 제외하고는 모든 집단에서 양 호모인자형보다 현저하게 높다. 그 결과 평균적으로도 *FF* 인자형과 *SS* 인자형의 빈도는 비슷하며, 이것에 비하여 역시 heterozygosity (0.4449)는 매우 높은 편이다.

인자빈도의 분포를 보면 7개 집단 (청량리, 등촌동, 신촌, 용산, 춘천, 대전 및 노화도)에서 *F* 인자빈도가 *S* 인자보다 높고, 나머지 4개 집단에서는 반대로 *S* 인자빈도가 높다. 특히 대전과 용산집단에서는 *F* 인자가 현저하게 우세하고, 광주와 나주 집단에서는 반대로 *S* 인자가 우세하다. 그러나 평균적으로 보면 *F* 인자와 *S* 인자빈도는 대체로 비슷한 편이다.

통계처리한 결과를 보면 11개 집단중 8집단에서는 인자형의 기대치와 관찰치간에 유의적인 차이가 없으나, 신촌, 부천 및 광주집단에서는 유의적인 차이를 보이는데, 신촌집단에서는 헤테로 개체가 두드러지게 많고, 부천과 광주집단에서는 *F* 인자 빈도가 *S* 빈도보다 낮기

Table 1. Genotype and gene frequencies of α -GPDH in the eleven Korean natural populations of *D. melanogaster*

Populations	Observed no. (freq.) of genotypes			Expected no. of genotypes			Gene frequency		Probability
	FF	FS	SS	FF	FS	SS	F	S	
Cheongryangri	86 (0.3583)	105 (0.4375)	49 (0.2042)	80	117	43	0.5771	0.4229	>0.05
Deungchondong	88 (0.3697)	108 (0.4538)	42 (0.1765)	85	114	39	0.5966	0.4034	>0.05
Sincheon	247 (0.3293)	324 (0.4320)	179 (0.2387)	223	372	155	0.5453	0.4547	<0.01**
Yongsan	119 (0.4034)	134 (0.4542)	42 (0.1424)	117	138	40	0.6305	0.3695	>0.05
Bucheon	430 (0.2576)	762 (0.4566)	477 (0.2858)	394	834	441	0.4859	0.5141	<0.01**
Chuncheon	73 (0.2956)	122 (0.4939)	52 (0.2105)	73	122	52	0.5425	0.4575	>0.05
Daijeon	99 (0.3867)	111 (0.4336)	46 (0.1797)	93	123	40	0.6035	0.3965	>0.05
Daigu	37 (0.2215)	78 (0.4671)	52 (0.3114)	35	83	49	0.4551	0.5449	>0.05
Kwangju	29 (0.1039)	53 (0.1900)	197 (0.7061)	11	89	179	0.1989	0.8011	<<0.01**
Naju	6 (0.1500)	17 (0.4250)	17 (0.4250)	5	19	16	0.3625	0.6375	>0.05
Nowhado	4 (0.2000)	13 (0.6500)	3 (0.1500)	5	10	5	0.5250	0.4750	>0.05
	Mean=0.2796	0.4449	0.2755		Mean=0.5021	0.4979			

* Significant ** Very significant

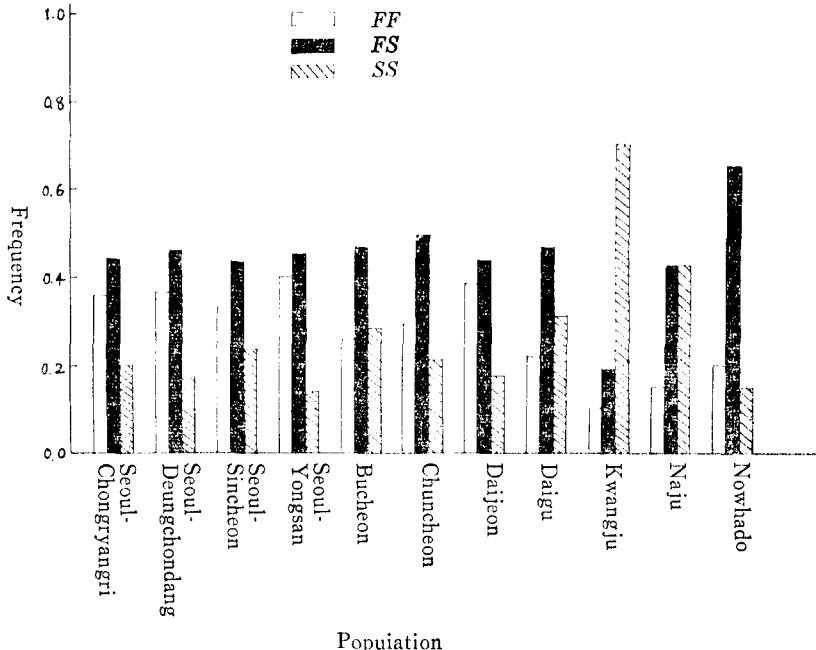


Fig. 1. Variations of genotype frequency of α -GPDH in the Korean natural populations of *D. melanogaster*.

때문이며, 특히 광주집단에서는 이런 경향이 그 전실험 (Kang, 1981)의 결과에서도 볼 수 있었다.

결론적으로 볼 때, α -GPDH allele은 노랑초파리 자연집단에서 다형현상을 보이고 있으며, 호모 인자형 빈도가 서로 비슷하며, *F* 인자와 *S* 인자 빈도 또한 비슷한 점이 특색이다.

고 찰

한국산 노랑초파리 11지역의 자연집단을 대상으로 α -GPDH의 인자형과 인자빈도의 분포를 조사하였다.

실험결과를 보면, 인자형 빈도의 차이가 집단에 따라 두드러지며, *FS* 인자형의 빈도 즉 heterozygosity가 매우 높고, 또한 α -GPDH의 현저한 다형현상을 보이고 있다. *F* 인자와 *S* 인자가 거의 비슷한 빈도를 보이고 있고, 호모인자형 빈도도 거의 비슷하다.

Chung (1977)은 한국산 노랑초파리 12개통에 대한 α -GPDH allele의 분포는 대부분의 계통에서 다형현상을 보인다고 하였다. 그리고 *SS* 인자형이 우세하였으나 유의성의 차이는 없었는데, 본 실험 결과, 부천, 대구 및 광주 집단에서 *SS* 인자형 빈도가 높지만 평균적으로 볼때 *SS* 인자형의 빈도가 *FF* 인자형에 비하여 현저한 차이는 없고 비슷한 편이다. 그러나 광주집단이 유달리 *SS* 인자형빈도가 0.7061이고 *S* 인자 빈도가 0.8011인 점과 또한 기대치와의 유의적인 차가 큰점은 특징적으로서, 이런 현상의 Kang (1981)의 연구에서도 광주 집단의 *SS* 인자형 빈도가 0.55이고 *FF* 인자형 빈도가 0.1125이며 *S* 인자 빈도가 0.7187, *F* 인자 빈도가 0.2817인 것과 비슷한 결과로서, 광주 집단에서 유달리 *S* 인자가 우세한 점은 *S* 인자가 그 환경에서 *F* 인자 보다 잘 적응한다고도 볼 수 있으나 결정적인 근거는 확실히 않다. Chung (1978)은 신촌지역의 노랑초파리 집단도 α -GPDH allele의 다형현상을 나타내며, 동시에 *FF* 인자형이 가장 우세하다고 하였다. 이것은, 본 실험의 결과, 신촌집단의 *FF* 인자형 빈도 (0.3293)가 *SS* 인자형 빈도 (0.2387)보다 높게 나타난 것으로 보아 일치한다고 볼 수 있다. Kang(1980)은 주로 강원도 지방의 6집단의 α -GPDH allele빈도를 조사한 결과, *FF* 인자형 빈도(0.3001)가 *SS* 인자형 빈도 (0.1745)보다 높다고 보고 하였고, 또한 Kang (1981)은 서울 창신동 등 7집단에 대한 α -GPDH allele 빈도는 역시 *FF* 인자형 빈도 (0.2841)가 *SS* 인자형 빈도 (0.2527)보다 높지만 그다지 뚜렷하지 않다고 보고하고 있다. 이와 같이 본 실험과 완전한 일치로 보이지 않고 있는데, 이것은 더욱 검토되어야 할 문제이다.

집단의 유전적 구성과 그 변이의 유지기구를 이해하려면 자연집단에 있어서의 유전적 변이의 양을 알아야 하며 이것을 위하여 다형현상의 비율(%)과 헤테로형(heterozygosity)의 비율을 알아야 한다.

본 실험에서는 취급한 효소 loci가 단 한 가지 (α -GPDH) 뿐이므로 다형현상을 정량화하기가 어려우나 상당한 다형현상을 보이고 있는 것만은 분명하다. 또한 heterozygosity도 loci가 하나이기 때문에 여러 가지 loci에 대한 평균 heterozygosity (H)를 구할 수 없지만, 직접 측정에 의한 individual heterozygosity값 (44.49%)이 다른 연구보고 (Lewontin & Hubby 1966: 12%; Harris 1966: 30%; Yamazaki 1977: 2.1%; Selander 1976: 1.9%)에 비하여 상당히 높은 것도 본 실험 결과의 특징이기도 하다. 그러나 이미 보고된 한국산 노랑초파리 집단에 있어서의 α -GPDH의 heterozygosity도 상당히 높은 편으로서 (Chung 1977: 13.97

%; Kang 1980: 52.54%; Kang 1981: 46.32%), 이처럼 높은 heterozygosity는 본 실험결과와 더불어 더욱 심도있는 검토가 요구된다. 특히 최근에 한국산 10개 노랑초파리 집단에 있어서의 16종의 isozyme의 20개 loci에 대한 광범위한 연구 (Lee *et al.*, 1982)에 의하면 평균 % polymorphism과 heterozygosity의 값이 각각 35.5%와 0.067%로서 이것 역시 본 실험결과와 차이가 있다. 그러나 α -GPDH의 individual loci heterozygosity가 0.373으로서 상당히 높은 값은 본 실험과 동일한 경향이라고 보겠다.

본 실험결과 heterozygosity의 값이 다른 연구결과에 비하여 유달리 높은 것은 α -GPDH의 적응력 차이도 있을지 모르지만 inversion이 개재되거나 하여 연관 불평형도 heterozygosity 값을 높일 수 있기 때문에 (Ohba 1977), 본 실험에 혹시 inversion이 개재되었는지도 생각할 수 있으며, 또한 본 실험재료의 채집이 대체로 한참 더운 계절 (7, 8, 9월)에 되었으므로 temporal variation (Anderson, 1981)도 관계될 수 있을 것이다.

본 실험은 그 전의 연구에서 다른 집단을 피하여 새로운 집단을 대상으로 하였던 바, 계속 한국내 다른 집단도 검토하여 더욱 확실한 결론을 얻는 것이 바람직하다.

요 약

한국산 초파리집단의 유전적 특성을 생화학적으로 분석하여 분자유전학적 측면에서 집단 유전학적 체계를 확립하기 위하여 한국산 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*)의 11개 지역의 자연집단 (청량리, 등촌동, 신촌, 용산, 부천, 춘천, 대전, 대구, 광주, 나주 및 노화도)의 α -glycerophosphate dehydrogenase (α -GPDH) 인자형을 agarose gel 전기영동법에 의하여 조사 분석한 결과는 다음과 같다.

1. 한국산 노랑초파리 11가지 자연집단에서 α -GPDH allele는 상당한 다형현상을 이루고 있다.
2. α -GPDH allele의 heterozygosity는 45~50%로서 상당히 높은 값을 보여주고 있다.
3. α -GPDH allele의 FF 인자형의 빈도는 SS 인자형과 비슷하나 FS 인자형보다는 낮은 값을 보이고 있다.
4. α -GPDH allele의 F, S 두인자가 거의 비슷한 빈도를 보이고 있다.

참 고 문 헌

- Anderson, P.R., 1981. Geographic clines and climatic associations of ADH and α -GPDH gene frequencies in *D. melanogaster*. In "Genetic studies of *Drosophila* populations (Gibson, J.B. and J.G. Cakeshott ed.)". The Aust. Nat. U. Press, Canberra, Australia: 237-250.
- Chung, Y.J., 1977. A study of α -GPDH alleles in the Korean strains of *D. melanogaster*. *Kor. J. Breeding* 9(2):44-47.
- Chung, Y.J., 1978. A study of frequencies of α -glycerophosphate dehydrogenase alleles in the Korean natural populations of *D. melanogaster*. *Jour. Kor. Res. Inst. Bet. Liv.* 21:45-50, (in Korean).
- Gerdes, R.A. and E.D. Doyle. 1974. Profile of lactic dehydrogenase and α -glycerophosphate dehydrogenase in *D. melanogaster*. *Drosophila Inform. Serv.* 51:138-139.
- Grossman, A.I., 1973 a. Study of alcohol dehydrogenase and α -glycerophosphate dehydrogenase in

- the Israel natural populations of *D. melanogaster*. *Drosophila Inform. Serv.* 50:119-120.
- Grossman, A.I., 1973 b. α -Glycerophosphate dehydrogenase in males and females of *D. melanogaster*. *Drosophila Inform. Serv.* 50:166.
- Harris, H., 1966. Enzyme polymorphisms in man. *Proc. Roy. Soc. Ser. B.* 164:289-310.
- Kang, S.J., 1980. Study on biochemical genetic variation in the Korean natural populations of *D. melanogaster*. *Jour. Kor. Res. Inst. Bet. Liv.* 25:109-118(in Korean).
- Kang, S.J., 1981. α -Glycerophosphate dehydrogenase isozyme separated by means of the agarose gel electrophoresis in *D. melanogaster*. *Jour. Kor. Res. Inst. Liv.* 27:115-122, (in Korean).
- Lakovaara, S. and A. Saura, 1972. Location of 13 loci in *D. willistoni*. *Drosophila Inform. Serv.* 48:93.
- Lee, H.Y., S.Y. Yang, and B.L. Choe, 1982. Genic variation in natural populations of Korean *D. melanogaster*. Bulletin of the Inst. for Basic Scie., Inha Univ. 3:141-149.
- Lewontin, R.C. and J.L. Hubby, 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *D. pseudoobscura*. *Genetics* 54:595-906.
- Meller, S., E. Berger, and R. Pearcy, 1974. The temperature dependence of Km for α -GPDH allozyme, *Drosophila Inform. Serv.* 51:137-138.
- O'Brien, S.J., 1970. Functional and locational distinction between soluble and mitochondrial α -glycerophosphate dehydrogenase in *D. melanogaster*. *Drosophila Inform. Serv.* 45:84.
- O'Brien, S.J., and R.J. MacIntyre, 1972a. The α -glycerophosphate cycle in *D. melanogaster*. I. Biochemical and developmental aspects. *Biochem. Genet.* 7:141-161.
- O'Brien, S.J. and R.J. MacIntyre, 1972 b. The α -glycerophosphate cycle in *D. melanogaster*. II. Genetic aspects. *Genetics* 71:127-138.
- Ohba, S., 1977. Population genetics. Tokyo Univ. Pub., Tokyo, (in Japanese).
- Rechsteiner, M.C., 1970. *Drosophila* lactate dehydrogenase and α -glycerophosphate dehydrogenase: Distribution and changes in activity during development. *J. Insect Physiol.* 16:1179-1192.
- Selander, R.K., 1976. Genic variation in natural populations. In "Molecular evolution (Ayala, F.J. ed.)". Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts: 21-45.
- Wright, D.A. and C.E. Shaw, 1969. Genetics and ontogeny of α -glycerophosphate dehydrogenase isozymes in *D. melanogaster*. *Biochem. Genet.* 3:343-353.
- Yamazaki, T., 1977. Molecular evolution and polymorphism. *Proc. 2nd Taniguchi Intern'l Symp. on Biophysics:* 127-147.