

토끼와 한국관박쥐 대흉근의 근소포체 마이크로솜의 Calcium Uptake에 관한 연구

오영근 · 양원석**

연세대학교 문리대학 생물학과 **연세대학교 대학원 생물학과

동면동물인 한국관박쥐(Korean greater horseshoe bat)와 비동면 동물인 토끼의 근소포체가 지니는 생리 및 근조직의 형태적 특징을 비교해 보고자 본 실험을 수행하여 다음과 같은 결론을 내렸다. Caffeine과 $MgCl_2$ 는 농도별로 처리하고, pH와 온도에 변화를 주는 등 각각의 생리조건하에서 한국관박쥐와 토끼 대흉근 근소포체 마이크로솜의 Ca^{2+} 흡수정도가 다르게 나타났으며, Ca^{2+} ATPase 활성 역시 상이함을 보였는데, 이로 미루어 보아 *in vivo* 상태에서 두 동물의 근소포체가 지니는 생리적 특성에 차이가 있을 것으로 추측된다. 형태학적 측면에서도 근섬유의 굵기와 미토콘드리아의 크기에 있어서 뚜렷한 차이를 발견할 수 있었는데, 이는 두 동물의 대흉근이 수행하는 운동의 종류와 관련이 있을 것으로 생각된다.

KEY WORDS: Bat Muscle, SR Microsome, Ca^{2+} Uptake, Ca^{2+} ATPase, Rabbit Microsome, Pectoralis Muscle

동물은 운동을 하며 살아가는데, 이러한 운동 기능은 근육에 의해서 이루어 진다. 1938년 이후 주로 포유류의 골격근을 대상으로 그 생화학적 성질, 구조 및 기능에 대한 광범위한 연구가 이루어 졌으며(Smith *et al.*, 1983), 현재까지 알려진 바에 의하면, 포유류의 골격근은 근소포체의 생리적 특성에 따라 속근(fast twitch muscle)과 지근(slow twitch muscle)으로 나눌 수 있는데, 속근은 외관상 흰색을 띠며 근소포체는 잘 발달해 있지만 미토콘드리아의 수는 적고, 지근은 외관상 적색을 띠며 근소포체의 발달 정도가 미약하나 다수의 미토콘드리아를 포함하고 있는 것이 특징이다.

이러한 포유류 골격근의 수축과 이완은 근소포체에 의해서 근형질내의 Ca^{2+} 농도가 10^{-5} M과 10^{-7} M 사이에서 변함으로 조절되는데, 일단 신경자극이 T-소관을 경유하여 근소포체로 전달되면 Ca^{2+} channel을 통하여 Ca^{2+} 이 방출된 후, 방출된 Ca^{2+} 이 Troponin-C에 결합하여 미오신 ATPase에 대한 Troponin-C의 억제효과

를 제거시킴으로써 근수축이 일어나고, 반면 Troponin-C로 부터 떨어져 나온 Ca^{2+} 이 Ca^{2+} ATPase의 능동수송에 의하여 근소포체내로 흡수됨으로써 근이완이 일어난다(Ebashi, 1976).

속근과 지근간에 Ca^{2+} 저장고로서 근소포체의 생리적 특성이 다르게 나타나는데, Beringer (1976)는 이러한 기능의 차이가 근소포체막에 존재하는 Ca^{2+} ATPase의 생리 및 생화학적 특징에 기인한다고 보고한 바 있다. 실제로 속근과 지근으로 부터 분리해낸 근소포체 마이크로솜의 Ca^{2+} 흡수정도, Ca^{2+} ATPase활성 그리고 근소포체막에 존재하는 전체 단백질에 대하여 Ca^{2+} ATPase가 차지하는 비율이 다른것으로 밝혀짐으로써(Briggs *et al.*, 1977) Beringer의 보고가 옳은 것으로 입증되었다. 또한 속근과 지근의 근소포체로 부터 Ca^{2+} ATPase만을 분리하여 아미노산의 서열과 조성을 분석한 결과 분명한 차이가 나타났으며, 이를 토대로 하여 구성된 실제 근소포체막에 있어서의 Ca^{2+} ATPase의 입체 구조 역시 상당히 다른것으로 밝혀 졌고(Brandl

et al., 1986). 이밖에도 Ca²⁺ ATPase에 대한 항체를 이용하여 두 근육의 근소포체막에 존재하는 Ca²⁺ ATPase간의 면역학적 상관성을 조사한 결과 역시 두 근육의 Ca²⁺ ATPase간에 차이가 있는것으로 보고되었다(Damiani et al., 1981). 특히 근래에는 외부에서 각기 다른 조건이 주어졌을때 근소포체의 Ca²⁺ 흡수정도와 Ca²⁺ ATPase의 활성 그리고 Ca²⁺ ATPase의 Ca²⁺ 흡수기작에 대한 영향을 생물물리적으로 다른 보고서가 있다(Orlowski and Champell, 1991; Wyskovsky et al., 1990).

이처럼 일반포유류의 골격근을 속근과 지근으로 구분할 수 있는 요인이 근소포체막에 존재하는 Ca²⁺ ATPase의 생리와 생화학적 특성의 차이에 기인하는 것으로 밝혀졌는데, 이러한 연구 결과는 주로 토끼, 흰쥐 그리고 기니피그 같은 일반포유류에서 연속울상 가장 두드러진 차이를 보이는 근육들, 예를 들면 속근의 경우에는 외측광근, 배최장근, 대퇴내전근을 대상으로 하였으며, 지근으로는 슬와근이나 반건양근을 대상으로 이루어진 것이다.

한편 동면 동물은 동면기간중에 운동량의 급격한 감소, 저체온 및 저산소 상태로써 일반 포유류와는 다른 생리적 조건을 갖게 되는데 (Johansson and Senturia, 1972), 이러한 동면 동물의 골격근으로부터 근소포체를 분리하여 이루어진 생리실험이나 골격근 조직자체의 미세구조를 살펴본 연구는 매우 드물다. 따라서 본 실험은 일반포유류내에서 조차 근육에 따라 근소포체가 지니는 생리 및 근조직의 미세구조에 차이가 있다는 사실을 근거로 하여, 일반포유류인 토끼와 동면동물인 한국관박쥐에서 같은부위인 대흉근을 대상으로 다음과 같은 실험을 수행하였다. 첫째, 근소포체의 주요기능인 Ca²⁺ 흡수양상을 조사하였고, 이와 관련하여 Ca²⁺ ATPase의 활성을 측정하였다. 둘째, 근조직의 형태적 특징을 살펴보기 위해 광학현미경과 전자현미경을 이용하여 관찰하였다. 이러한 실험들을 통하여 동면동물과 일반포유류의 근소포체가 지니는 생리 및 근조직의 형태적 특징을 비교하는데 기초자료로 활용되고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

비동면동물로는 체중 2.5kg 내외의 Newzealand white 산 토끼를 암수 구별없이 6마리를 사용하였다.

동면동물로는 체중 15~17 g의 한국관박쥐 (Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*)를 동면기인 1월 초순에 충남 공주군 계룡면 내흥리 고비동에 위치한 금성탄광(폐광)에서 10마리를 채집하여 토끼와 마찬가지로 암수 구별없이 사용하였다.

근소포체 마이크로솜의 분리

근소포체 마이크로솜의 분리는 Kim 등(1983)의 방법을 약간 변형하여 사용하였다. 토끼의 경우 공기주사로 희생시킨 후 대흉근을 적출하였고, 한국관박쥐는 ether로 가볍게 마취시킨 후 빠른 시간안에 대흉근을 적출하였다. 적출해낸 근육으로부터 근막을 제거한 다음 0.15 M KCl, 10 µg/ml aprotinin, 2 µg/ml leupeptin, 10 µg/ml iodoacetamide를 포함하는 20 mM MES 완충액(pH 6.8)으로 2 회 세척함으로써 혈액을 제거 하였다. 세척한 근육을 가정용 식도로 작게 다진 후 동일 완충액과 함께 다용도 조직분쇄기(Samsung, CR-481W)에 넣고 5분간 최고속도로 작동시켜 20%(W/V)균질액을 만들었다. 이 균질액을 Hitachi Model 20PR-5 Centrifuge를 이용하여 10,000 Xg에서 30분간 원심분리하여 상등액만 모아서 Whatman NO.2 filter paper로 걸러준 후, 이를 다시 20,000 Xg에서 60분간 원심분리 하여 침전물만을 동일 완충액에서 현탁하여 최종단백질 농도가 10 mg/ml이 되도록 조정하여 근소포체 마이크로솜 분획으로 사용하였다. 이상의 모든 과정은 0~4°C에서 수행하였으며, 완충액 역시 0~4°C로 미리 냉장된 것을 사용 하였다.

근소포체 외부의 마이크로솜 Ca^{2+} 수준 측정

근소포체 마이크로솜 외부의 Ca^{2+} 수준 측정은 Ikemoto 등(1989)의 방법을 변형하여 수행하였다. 즉, crystal cuvette내 반응용액의 전체부피를 1 ml로 하여, 이 용액의 최종농도가 마이크로솜 분획의 경우 1 mg/ml, anti-pyrylazo-Ⅲ는 10 μ M, $CaCl_2$ 는 100 μ M, ATP는 2.5 mM이 되도록 하였다. 여기에 caffeine과 $MgCl_2$ 는 농도별로 처리하였고, 온도와 pH에 변화를 주었을 때 나타나는 710 nm와 790 nm에서의 흡광도 변화의 차이를 Hitachi Model U-2000 Spectorphotometer를 이용하여 5분간 조사하였다.

Ca^{2+} ATPase의 활성도 측정

Ca^{2+} ATPase 활성은 NADH의 산화로 나타나는 340 nm에서의 흡광도 감소를 Hitachi Model U-2000 Spectorphotometer를 이용하여 측정하였다(Varga *et al.*, 1986). 전체 ATPase 활성은 20 mM MES, 150 mM KCl, 4 mM $MgCl_2$, 100 mM Phosphoenol pyruvate, 4 mM NADH, 2 mM $CaCl_2$, 500 units/ml Pyruvate kinase, 500 units/ml Lactic dehydrogenase, D.W. 0.9 ml을 포함하는 반응액 10 mg/ml 마이크로솜 분획을 넣고 25°C에서 5분간 방치시킨 다음 여기에 100 mM ATP를 첨가하여 1분간 측정하여 결정하였다. Mg^{2+} ATPase 활성은 2 mM $CaCl_2$ 대신 100 mM EGTA를 넣어주어 결정하였고 Ca^{2+} ATPase 활성은 전체 ATPase 활성에서 Mg^{2+} ATPase 활성을 빼준 값으로부터 결정하였다

광학현미경 관찰

한국관박쥐와 토끼로부터 대흉근을 적출한 다음 10% 중성 포르말린 용액에 고정하고 탈수과정과 파라핀 포매과정을 거쳐 8 μ m 두께의 연속 절편을 만들어 Hematoxylin 및 Eosin(H-E)염색법으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

전자현미경 관찰

한국관박쥐와 토끼로부터 대흉근을 적출한 다음 1 mm³의 크기로 세절하고 0.1 M PBS로 조정된 2.5% Glutaraldehyde로 2시간 전고정한 후, 동일 완충액으로 세척하여 다시 1% osmium tetroxide로 2시간 후고정하였다. 후고정한 표본을 동일 완충액으로 5분간 2회 세척 후 ethyl alcohol 농도상승순으로 탈수하여 propylen oxide로 10분씩 2회 치환한 다음 epoxy resin에 포매하였다(Luft, 1967). 포매한 표본을 37°C에서 24시간, 60°C에서 48시간 방치하여 중합시킨 후, Reihert-Jung ultracut E ultramicrotome을 이용하여 0.35 μ m의 두께로 잘라 대흉근의 종단면과 횡단면을 광학현미경으로 확인한 후, 70 nm의 두께로 초박편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색하여 JEOL JEM-1200 EX II형 투과 전자현미경으로 관찰하였다.

결과

근소포체 마이크로솜의 Ca^{2+} 흡수양상

한국관박쥐와 토끼 대흉근 근소포체 마이크로솜의 Ca^{2+} 흡수양상을 metallochromic Ca^{2+} indicator인 antipyrylazo-Ⅲ를 이용하여 조사하였다. caffeine을 농도별로 처리시 한국관박쥐의 경우 2 mM에서 대조군에 비해 Ca^{2+} 흡수가 급격히 증가한 반면, 토끼의 경우 절반으로 감소하였고, 특히 한국관박쥐의 경우 caffeine의 농도상승과 더불어 나타난 Ca^{2+} 흡수 감소의 폭이 토끼에 비해 월등히 큰 것으로 나타났다(Fig. 1). $MgCl_2$ 역시 농도별로 처리해 본 결과 한국관박쥐의 경우 1 mM에서 대조군에 비해 Ca^{2+} 흡수가 최고수준에 도달한 후, 그 이상의 농도에서는 급격한 감소현상을 보인 반면, 토끼의 경우 0.1 mM에서 대조군에 비해 약간 증가하였고 $MgCl_2$ 의 농도에 따른 Ca^{2+} 흡수 감소의 폭은 완만한 것으로 나타났다(Fig. 2). 온도변화에 따른 Ca^{2+} 흡수양상을 조사한 결과 한국관박쥐의

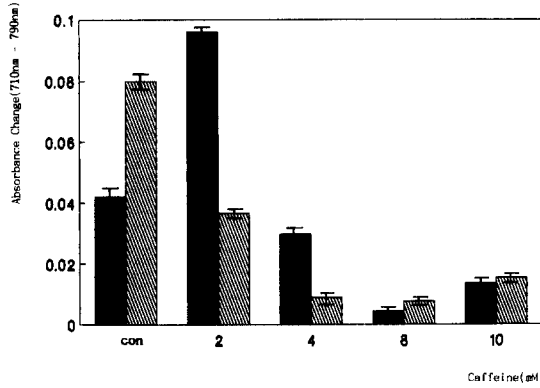


Fig. 1. Effect of the Caffeine on the Ca²⁺ uptake of microsome of sarcoplasmic reticulum Data are expressed as mean ± standard error with 3 experiments. All P values are <0.05 ■: microsome of sarcoplasmic reticulum in the bat pectoralis major muscle ▨: microsome of sarcoplasmic reticulum in the rabbit pectoralis major muscle

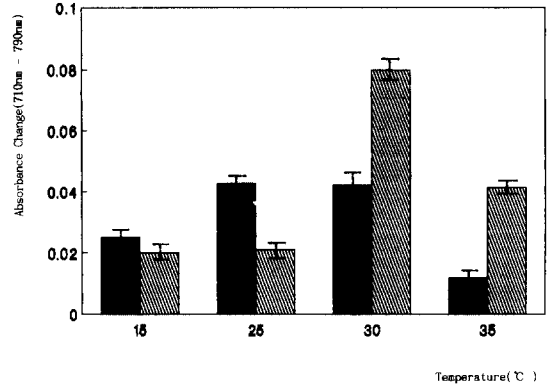


Fig. 3. Effect of the temperature on the Ca²⁺ uptake of microsome of sarcoplasmic reticulum Data are expressed as mean standard error with 3 experiments. All P values are < 0.05 ■: microsome of sarcoplasmic reticulum in the bat pectoralis major muscle ▨: microsome of sarcoplasmic reticulum in the rabbit pectoralis major muscle

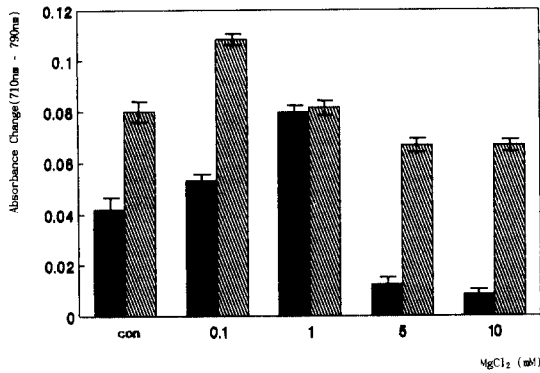


Fig. 2. Effect of the MgCl₂ on the Ca²⁺ uptake of microsome of sarcoplasmic reticulum Data are expressed as mean standard error with 3 experiments. All P values are < 0.05 ■: microsome of sarcoplasmic reticulum in the bat pectoralis major muscle ▨: microsome of sarcoplasmic reticulum in the rabbit pectoralis major muscle

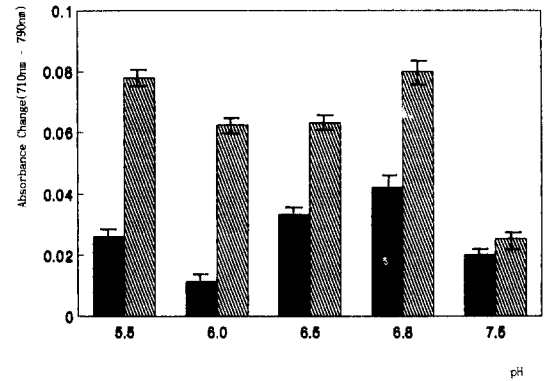


Fig. 4. Effect of the pH on the Ca²⁺ uptake of microsome of sarcoplasmic reticulum Data are expressed as mean standard error with 3 experiments. All P values are < 0.05 ■: microsome of sarcoplasmic reticulum in the bat pectoralis major muscle ▨: microsome of sarcoplasmic reticulum in the rabbit pectoralis major muscle

경우 25°C에서 최고수준에 도달한 반면, 토끼의 경우, 30°C에서 최고수준에 도달하는 상이함을 나타내었다(Fig. 3). pH를 5.5에서 7.5까지 변화시킴으로써 나타난 Ca²⁺ 흡수량상으로는 한국 관박쥐와 토끼 모두 전체적인 경향은 비슷하였으나, 한국관박쥐의 경우 토끼에 비해 Ca²⁺ 흡수수준은 낮은 것으로 나타났다(Fig. 4).

Ca²⁺ATPase 활성도

외부조건에 따른 대흉근 근소포체 마이크로솜의 Ca²⁺ 흡수량상과 관련하여 Ca²⁺ 흡수에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있는 Ca²⁺ ATPase의 활성을 NADH coupled assay를 통하여 조사하였다. caffeine을 농도별로 처리한 결과, 한국 관박쥐의 경우 모든 농도에서 대조군에 비하여

유의성있게 감소한 반면, 토끼의 경우 2 mM에서만 대조군의 64%로 유의성있게 감소하였고, 4 mM, 8 mM, 10 mM에서는 대조군과 비슷하거나 약간 증가하는 경향을 보였다(Fig. 5). MgCl₂를 농도별로 처리시 한국관박쥐의 경우 1 mM에서 대조군에 비해 활성이 급격히 증가하여 최고수준에 도달한 후, 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향을 보인 반면, 토끼의 경우 0.1 mM에서 최고 활성에 도달하였고, 1 mM과 5 mM에서는 오히려 감소하였다가 10 mM에서 대조군의 71%까지 유의성있게 회복되는 상이함을

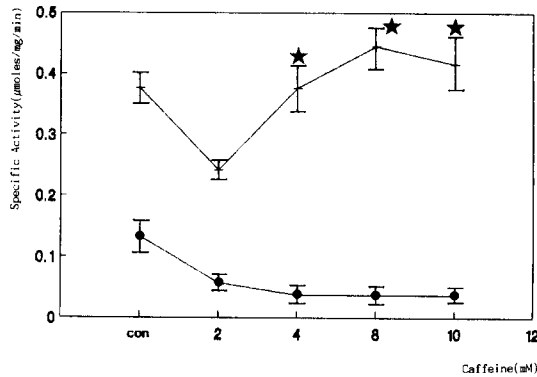


Fig. 5. Effect of the caffeine on the Ca²⁺-ATPase activity Data are expressed as mean ± standard error with 3 experiments. All P value are <0.05 (except ★; P>0.05) ●: bat +: rabbit

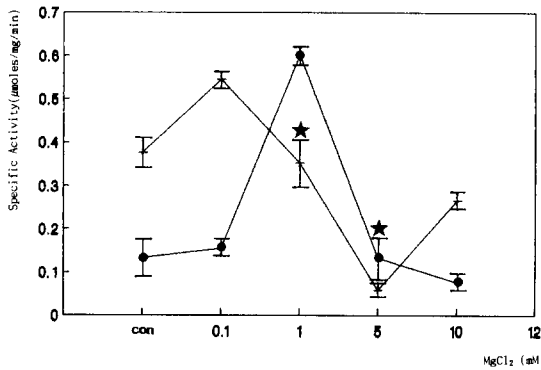


Fig. 6. Effect of the MgCl₂ on the Ca²⁺-ATPase activity Data are expressed as mean ± standard error with 3 experiments. All P value are <0.05 (except ★; P>0.05) ●: bat +: rabbit

을 보였다(Fig. 6). 온도변화에 따른 활성을 측정한 결과 한국관박쥐의 경우 25°C에서 최고활성을 보인 반면, 토끼의 경우 30°C에서 상이함에 도달하는 상이함을 나타냈다(Fig. 7). pH 변화에 따른 활성은 한국관박쥐의 경우 pH 증가와 더불어 유의성있게 활성이 증가하여 pH 6.8에서 최고활성에 도달한 후, pH 7.5에서 다시 pH 5.5에서와 같은 수준으로 감소한 반면, 토끼의 경우 pH 6.0 6.5에서 pH 5.5보다 활성이 감소하였고, pH 6.8에서 급격히 활성이 증가하였다가 pH 7.5에서 다시 감소하는 양상을 나타내었다(Fig. 8).

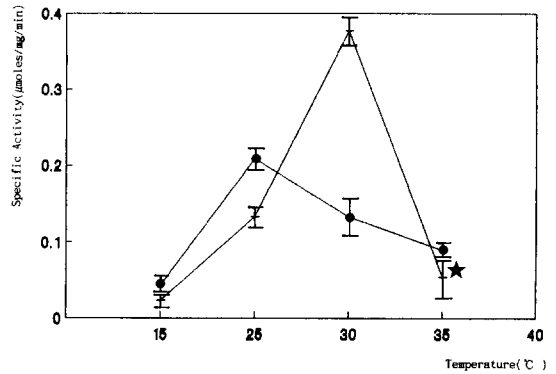


Fig. 7. Effect of the temperature on the Ca²⁺-ATPase activity Data are expressed as mean ± standard error with 3 experiments. All P value are <0.05 (except ★; P>0.05) ●: bat +: rabbit

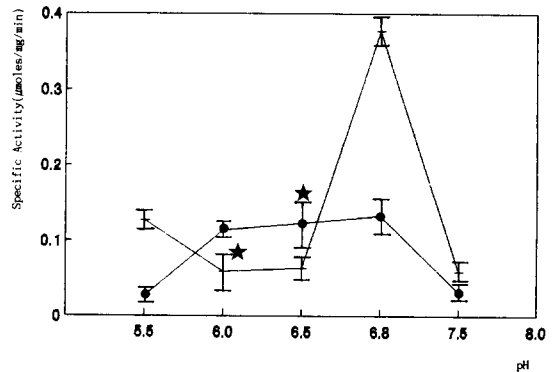


Fig. 8. Effect of the pH on the Ca²⁺-ATPase activity Data are expressed as mean ± standard error with 3 experiments. All P value are <0.05 (except ★; P>0.05) ●: bat +: rabbit

대홍근 조직과 미세구조상의 특징

한국관박쥐와 토끼대홍근 조직을 광학현미경과 전자현미경하에서 관찰하였다. 광학현미경 관찰 결과 한국관박쥐 대홍근의 경우 근섬유가 굵고,

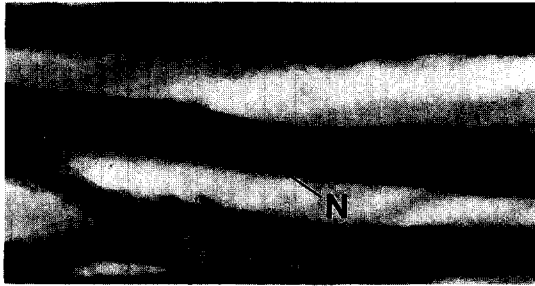


Fig. 9. Light Micrograph of the Longitudinal section in the Bat pectoralis major muscle Hematoxylin-Eosin stain (× 400) MF: Muscle Fiber, N: Nucleus

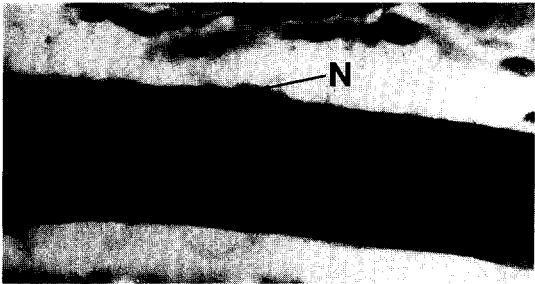


Fig. 10. Light Micrograph of the Longitudinal section in the Rabbit pectoralis major muscle Hematoxylin-Eosin stain (× 400) MF: Muscle Fiber, N: Nucleus

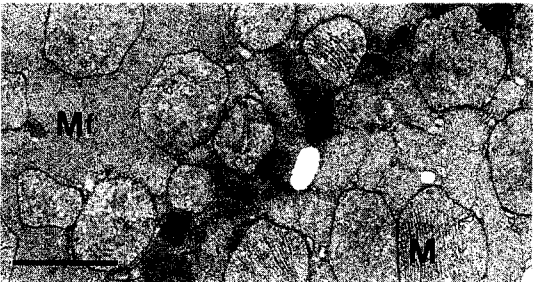


Fig. 11. Electron micrograph of the cross-section of myofibrils in the bat pectoralis major muscle (Bar represents 1 μm, × 16,000) Mf: Myofibrils, M: Mitochondria

횡문이 관찰되지 않는 상이함을 보였으나, 두 동물 모두 근섬유의 핵은 주변부에 위치하는 것으로 나타났다(Fig. 9, 10). 전자현미경 관찰 결과 한국관박쥐 대홍근의 경우 근원섬유에 대해 미토콘드리아가 매우 큰 것으로 관찰된 반면 (Fig. 11, 15), 토끼 대홍근의 경우 근원섬유에 비해 미토콘드리아가 작은 것으로 나타났다 (Fig. 12, 16). 그러나, 두 동물 모두 근원섬유 내의 A대, I대, 근소절의 간격, 그리고 근소포체의 발달정도에서는 두드러진 차이점은 발견할 수 없었다(Fig. 13, 14, 15, 16).

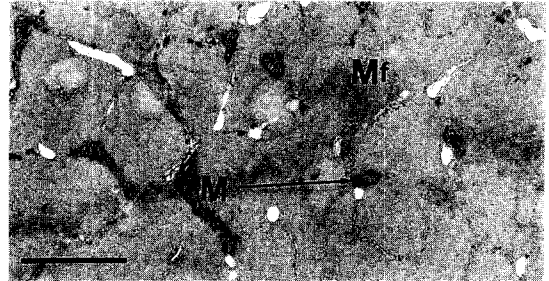


Fig. 12. Electron micrograph of the cross-section of myofibrils in the rabbit pectoralis major muscle (Bar represents 1 μm, × 16,000) Mf: Myofibrils, M: Mitochondria

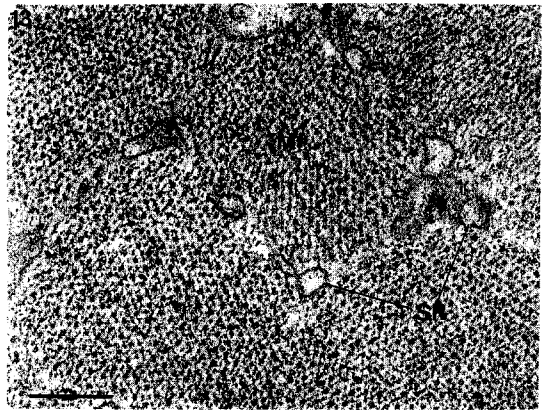


Fig. 13. Electron micrograph of the cross-section of myofibrils in the bat pectoralis major muscle (Bar represents 0.2 μm, × 100,000) Mf: Myofibrils, SR: Sarcoplasmic Reticulum

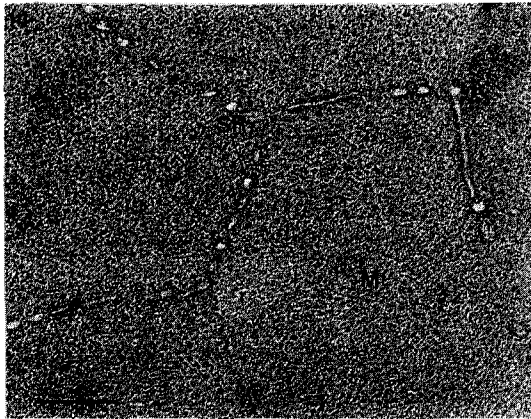


Fig. 14. Electron micrograph of the crosssection of myofibrils in the rabbit pectoralis major muscle (Bar represents $0.2 \mu\text{m}$, $\times 100,000$) Mf: Myofibrils, SR: Sarcoplasmic Reticulum

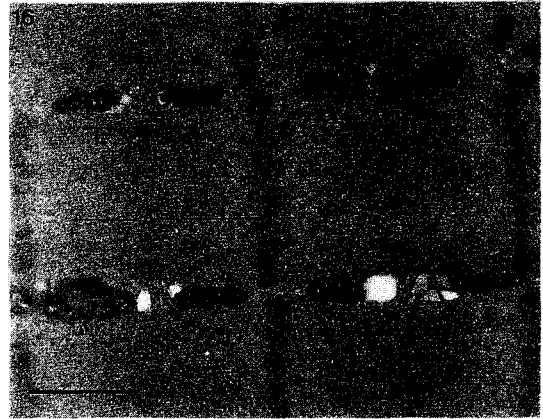


Fig. 16. Electron micrograph of the longitudinal section of myofibrils in the rabbit pectoralis major muscle (Bar represents $0.5 \mu\text{m}$, $\times 50,000$) M: Mitochondria, Z: Z-line, I: I-band, A: A-band

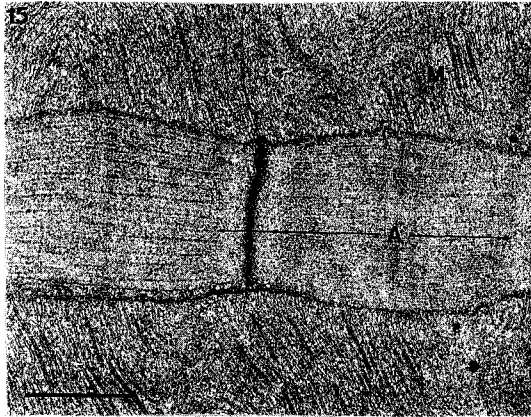


Fig. 15. Electron micrograph of the longitudinal section of myofibrils in the bat pectoralis major muscle (Bar represents $0.5 \mu\text{m}$, $\times 50,000$) M: Mitochondria, Z: Z-line, I: I-band, A: A-band

고찰

포유류 골격근의 근소포체는 근형질내의 Ca^{2+} 농도를 조절하는 것으로 알려져 있는데, 근소포체막에 존재하는 내재성 단백질인 Ca^{2+} ATPase가 Ca^{2+} channel을 통하여 방출된 Ca^{2+} 을 능동수송에 의하여 근소포체 내부로 흡수하는 작용을

한다(Warren *et al.*, 1974). 이러한 Ca^{2+} ATPase에 대한 연구가 수년간 다방면으로 이루어져 왔고, 속근과 지근의 근소포체막에 존재하는 Ca^{2+} ATPase의 기능의 차이가 연속율과 직접 연관되어 있다는 점이 밝혀져 있다. 즉, 속근의 Ca^{2+} ATPase는 지근의 Ca^{2+} ATPase에 비하여 활성이 높을 뿐만 아니라 Ca^{2+} 흡수정도 역시 높은 것으로 알려져 있다(Salviati *et al.*, 1983). 그러나 이러한 연구결과는 일반포유류의 골격근중 연속율상 가장 두드러진 차이가 있는 근육들만을 선별하여 이루어진 반면, 동면동물의 골격근을 대상으로 이루어진 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 실험에서는 동면동물인 한국관박쥐(Korean greater horseshoe bat)의 대표적인 골격근인 대흉근과 일반포유류인 토끼에서 같은 부위인 대흉근으로부터 근소포체 마이크로솜을 분리하여 두 동물의 Ca^{2+} 흡수양상에 차이가 있는지 알아보기 위해 Ca^{2+} 흡수에 각기 다른 영향을 미치는 생리조건, 즉 caffeine과 MgCl_2 는 농도별로 처리하고, pH와 온도에 변화를 주어 조사하였고, 또한 근소포체막에 존재하는 Ca^{2+} ATPase의 생리적 특성을 알아보기 위해 효소의 활성도를 측정하였다.

일반적으로 caffeine은 근소포체의 방출은 촉진시키지만 흡수는 억제하는 것으로 알려져 있으

며, 이와 관련하여 Ca²⁺ ATPase의 활성 역시 감소시키는 것으로 보고되어 있다(Meszáros and Ikemoto, 1985). 본 실험에서도 한국관박쥐와 토끼 근소포체 마이크로솜에 caffeine을 농도별로 처리시 대조군에 비하여 Ca²⁺ 흡수가 전체적으로 감소함으로써 이전의 보고와 유사한 결과를 얻었다(Sorenson *et al.*, 1986). 그러나, 한국관박쥐의 경우 2 mM의 caffeine을 처리시 대조군에 비하여 Ca²⁺ 흡수는 급격히 증가한 반면, Ca²⁺ ATPase활성은 오히려 2.3배 감소함으로써 상이한 양상을 나타냈으며, 토끼의 경우 역시 8 mM과 10 mM의 caffeine을 처리시 대조군에 비하여 활성이 증가하는 상이한 양상을 나타냈다(Fig. 1, 5). 근소포체를 heavy fraction과 light fraction으로 나누어서 MgCl₂를 처리한 결과, 농도상승과 더불어 Ca²⁺ 흡수는 증가하지만 Ca²⁺ ATPase활성은 감소한다는 보고가 있으며(Alice *et al.*, 1986). 본 실험에서는 한국관박쥐와 토끼 모두 위의 보고와는 상이한 결과를 얻었으나, 두 동물간의 전체적인 경향은 비슷한 것으로 나타났다(Fig. 2, 6). pH와 온도에 따른 Ca²⁺ 흡수와 Ca²⁺ ATPase활성은 중성 pH 그리고 온도 상승과 더불어 Ca²⁺ 흡수와 Ca²⁺ ATPase활성이 최고에 도달한다는 이전의 보고와는 유사한 결과를 나타냈으나(Sreter, 1969; Inesi and Watanabe, 1967), 특정온도나 pH에 대한 두 동물의 민감도에는 분명한 차이가 있었다(Fig. 3, 4, 7, 8). 이렇듯 두 동물간에 Ca²⁺ 흡수와 Ca²⁺ ATPase의 활성에 차이를 낼 수 있는 한 요인으로 두 동물에 존재하는 Ca²⁺ ATPase 자체의 상이함을 들 수 있다. 왜냐하면, 근육에 따라 Ca²⁺ ATPase의 활성에 차이가 있으며, Ca²⁺ ATPase를 구성하는 전체 아미노산수에 있어서 4개 그리고 아미노산 서열은 164개나 다르다는 보고가 있기 때문이다(Brandl *et al.*, 1985). 하지만 이러한 예상은 두 동물에서 Ca²⁺ ATPase를 분리하여 생화학적 분석을 해야만 보다 확실히 밝혀질 것으로 생각된다.

보다 가능성 있는 요인으로 동면에 따른 한국관박쥐의 생리현상의 변화를 생각할 수 있는데,

한국관박쥐와 같은 동면동물은 동면기간중 운동량이 감소하며, 심장박동율과 대사율은 현저히 저하되고, 5-10°C 정도로 낮은 체온을 유지하며, 혈중 CO₂ 농도가 높아지는 등 활동기와는 다른 생리조건을 가지므로 이러한 생리조건이 근조직에 영향을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 실제로 Kang 등(1988)은 동면기 한국관박쥐 대흉근에서 체온조절을 위해 Ca²⁺ ATPase 활성이 높은 A형 근섬유의 비율은 감소하는 반면, 활성이 낮은 C형 근섬유의 비율은 증가하는 등 근조직의 변화를 보고함으로써 두 동물의 Ca²⁺ 흡수 정도 및 Ca²⁺ ATPase 활성에 차이를 내는 원인이 동면에 있음을 시사해주고 있다.

일반포유류에서 운동의 종류에 따라 근조직의 형태적 특징이 다른 것으로 보고되어 있는데, 즉 격렬한 운동에 관여하는 골격근의 경우 근섬유가 굵고, 미토콘드리아와 모세혈관의 수는 적은 반면, 비교적 완만하고 지속적인 운동에 관여하는 골격근은 근섬유가 얇고, 미토콘드리아와 모세혈관의 수는 많은 것으로 알려져 있다. 광학현미경과 전자현미경을 이용하여 관찰한 결과 한국관박쥐 대흉근의 경우 근섬유가 굵고, 근원섬유내에 커다란 미토콘드리아가 분포하는 것으로 나타났으며, 토끼 대흉근의 근섬유는 비교적 얇고, 근원섬유에 비해 상대적으로 미토콘드리아의 크기가 작은 것으로 나타났는데, 이러한 차이 역시 두 동물의 대흉근이 수행하는 운동의 종류와 관련이 있는 것 같다. 왜냐하면, 한국관박쥐 대흉근의 경우 비행시 하향날개질(downstroke)이라는 격렬한 운동에 관여하는 반면, 토끼 대흉근의 경우 보행시 상완을 가슴쪽으로 당기는 비교적 완만한 운동에 관여하기 때문이다.

이상의 결과에서, 동면동물인 한국관박쥐와 일반포유류인 토끼의 대흉근 근소포체 마이크로솜의 Ca²⁺ 흡수정도가 다르게 나타났으며, Ca²⁺ ATPase의 활성에도 차이가 있음을 알 수 있었는데, 이로 보아 *in vivo* 상태에서 두 동물의 근소포체가 지니는 생리적 특성에 차이가 있을 것으로 추측된다. 형태적 측면에서도 근섬유의 굵기와 미토콘드리아의 크기에 뚜렷한 차이가 있음을 발견할 수 있었는데, 이는 두동물의 대흉근

이 수행하는 운동의 종류와 관련이 있을 것으로 생각된다. 이에 관해서는 앞으로 생화학적 그리고 형태학적 측면에서 좀더 깊이 있는 연구가 이루어져야 한다고 사료된다.

감사

본 연구는 1993년도 연세대학교 학술연구비의 지원에 의해서 수행되었음

인용문헌

- Alice, C., V. pompeo, C. brian and F. sidney, 1986. Functional characterization of junctional terminal cisternae from mammalian fast skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *Biochemistry* **25**: 8315-8324
- Beringer, T., 1976. A freeze-fracture study of sarcoplasmic reticulum from fast and slow muscle of the mouse. *Anat. Rec.* **184**: 647-664.
- Brandl, C.J., N.M. Green, B. Korozak and D.H. MacLennan, 1985. Amino acid sequence of a Ca^{2+} -Mg²⁺-dependent ATPase from rabbit muscle sarcoplasmic reticulum, deduced from its complementary DNA sequence. *Nature* **316**: 696-700.
- Brandl, C.J., N.M. Green, B. Korozak and D.H. MacLennan, 1986. Two Ca^{2+} -ATPase Genes: homologies and mechanistic implications of deduced amino acid sequences. *Cell* **44**: 597-607.
- Briggs, F.N., J.L. Poland and R.J. Solaro, 1977. Relative capabilities of sarcoplasmic reticulum in fast and slow mammalian skeletal muscles. *J. Physiol.* **266**: 587-594.
- Damiani, E., R. Betto, S. Salvatori and P. Volpeo, 1981. Polymorphism of sarcoplasmic reticulum adenosine triphosphatase of rabbit skeletal muscle. *Biochemical. J.* **197**: 245-248.
- Ebashi, S. 1976. Excitation-Contraction coupling. *Ann. Rev. Physiology.* **38**: 293-313.
- Ikemoto, N., M. Ronjat, L.G. Meszaros and M. Koshia, 1989. Postulated role of calsequestrin in the regulation of calcium release from sarcoplasmic reticulum. *Biochemistry* **28**: 6764-6771.
- Inesi, G. and S. Watanabe, 1967. Temperature dependence of ATP hydrolysis and calcium uptake by fragmented sarcoplasmic membrane. *Arch. Biochem and Biophys.* **121**: 665-667.
- Johansson, B.W. and J.B. Senturia, 1972. Blood Gases. *Acta. Physiol. Scand.* **380**: 34-35.
- Kang, H.S. and Y.D. Lee, 1988. 한국산 관박 쥐 (*Rhinolophus ferrumequinum korai*)의 골 격근에 관한 조직 계층학적 연구. *J. Wonju Medical College.* **1**: 111-120.
- Kim, D.H., & S.T. Onishi and N. Ikemoto, 1983. Kinetic Studies of calcium release from sarcoplasmic reticulum in vitro. *J. Biol. Chem.* **258**: 9662-9668
- Leonard, K.S. and H. Kutchai, 1985. Coupling of Ca^{2+} Transport to ATP Hydrolysis by the Ca^{2+} -ATPase of the sarcoplasmic reticulum: Potential role of the 53-kilodalton glycoprotein. *Biochemistry* **24**: 4876-4884.
- Luft, J., H., 1967. Improvement in epoxy resin embedding methods. *J. Biochem. Cytol.* **9**: 409-414.
- Meszaros, L.G. and N. Ikemoto. 1985. Reticulum red and caffeine affect the Ca^{2+} -ATPase of the sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **127**: 836-842
- Orlowski, S. and P. Champeil, 1991. Kinetics of calcium dissolution from its high - affinity transport sites on sarcoplasmic reticulum ATPase. *Biochemistry* **30**: 352-361.
- Pette D., Smith Me, Staudte H.W., Vrbova G. 1973 Effect of long-term electrical stimulation on contractile and metabolic characteristics of fast rabbit muscle. *Pflugers Arch.* **338**: 257.
- Salmons S., Henri, Ksson J.: The adaptive response of Skeletal muscle to increase use. *Muscle Nerve* **4**: 94, 1981.
- Salviati G., P.volpeo, S. Salviati, R. Betto, E. Damiani and A. Margeth, 1982. Biochemical heterogeneity of skeletal muscle microsomal membranes. *Biochem. J.* **202**: 289-301.
- Smith, E.L., R.L. Hill, I.R. Leman, P.J. Lefkowitz and A. White, 1983. Muscle in principal of Biochemistry 273-295, McGraw-Hill International Editions
- Sorenson, M.M., H., S.L., Coelho and J.P. Reuben, 1986. Caffeine inhibition of calcium accumulation by the sarcoplasmic reticulum in mammalian skinned fibers. *J. Membrane Biol.* **90**: 219-230.
- Sreter, F.A. 1969 Temperature, pH, and seasonal dependence of Ca-uptake and ATPase activity of white and red Muscle microsomes. *Arch. Biochem and Biophys.* **134**: 25-33.
- Varga, S., Muller. N.S. Picula, S. Papp, K. Varga and A. Martonsi, 1986. Pressure effects on sarcoplasmic reticulum of a calcium pump using defined membranes components. *Proc. Natl. Acad. Sci, U.S.A.* **71**: 622-626.
- Wyskovsky, W. Honegger, M.B. Plank, G. Hellmann, S. Kleine and J. Suko. 1990. Activation and inhibition of the calcium-release channel of isolated skeletal muscle heavy sarcoplasmic reticulum. *Eur. J. Biochem.* **194**: 549-559.

(Accepted October 21, 1994)

Ca²⁺ Uptake of the Sarcoplasmic Reticulum-Microsome of Fine Structure Pectoralis Major Muscle in the Rabbit and the Korean Greater Horseshoe Bat*

Yung Keun Oh and Won Sok Yang**

(Dept. of Biology, College of Liberal Arts & Sciences, Yonsei Univ. Wonju, Kangwon-do 222-701, Korea; **Dept. of Biology, Graduate School, Yonsei Univ. Seoul 120-749, Korea)

This experimental study has been designed in order to examine physiological and morphological characteristics of the sarcoplasmic reticulum microsomes and the muscular fibers in the hibernating Korean greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum korai*) and the non-hibernating rabbit, and the following experimental results were obtained.

Ca²⁺ uptake rate of the the sarcoplasmic reticulum microsomes changed in accordance with concentrations of the caffeine, MgCl₂, pH and temperature and Ca²⁺ATPase activity also has been remarkably fluctuated. From the above experimental results, it is possibly to deduce that there may be *in vivo* difference of physiological characteristics between both the Korean greater horseshoe bat and the rabbit. In the fine structural aspects of both animals, there were remarkable differences in the thickness of the muscular fibers and the size of the mitochondria, and these morphological differences were considered to be due to functional differences such as twitch rate of the pectoralis major muscle.