

맹꽁이 肝의 酸素消費量에 미치는 數種 아미노酸의 影響

朴 相 允 · 崔 媛 永

(成均館大學校 文理科大學 生物學科)

Effect of Amino Acids on Oxygen Consumption of the Mang-Kong
Frog (*Gallula tornieri* VOGT) Liver

PARK, Sang Yoon and CHOI, Won Yung

(Dept. of Biology, College of Liberal Arts and Sciences, Sung Kyun Kwan University)

(1961年 12月 17日 接受)

SUMMARY

The present experiment was conducted to investigate the rate of oxygen consumption in relation to the several amino acids in the Mang-Kong frog, *Gallula tornieri* VOGT.

1. When the liver tissue was suspended in the Ringer's solution (0.85% NaCl), the amount of oxygen consumption per hour was $0.043\mu\text{l}/\text{mg}$, whereas when it was suspended in M/15, pH 5.8 phosphate buffer the oxygen consumption reached $0.93\mu\text{l}/\text{mg}$.
2. When 0.5ml of 1% alanine and 0.5ml of 0.5% arginine were used as respiratory material the amount of oxygen consumption increased remarkably, while on the other hand glycine showed little influence on the amount of oxygen consumption.
3. When 0.5ml of 0.1%, 0.5% alanine-arginine mixture, 0.5ml of 0.1%, 0.5% alanine-glycine mixture and 0.5ml of 1% arginine-glycine were added the oxygen consumption in the liver tissue increased somewhat in comparison to the case in which single amino acid was used.
4. Glycine appeared to have influence on the respiration of the liver tissue but the amount of oxygen consumption increased as the concentration of arginine-glycine mixture increased, whereas the rate of oxygen consumption increased remarkably as alanine-glycine mixture decreased. It was evidenced that in the combination of alanine-arginine the rate of oxygen consumption increased as the concentration of the mixture decreased and *vice versa*.

I. 緒 論

맹꽁이 *Gallula tornieri* VOGT에 관한 研究는 大藪等(1938)이 개구리의 形態와 比較한 것이 있고 李(1955)에 의하여 發生이 알려졌으나 生理에 관한 問題는 전혀 報告된바가 없다. 本實驗은 比較生理學的인 觀點에서 進化學的으로 重要한 位置에 있는 맹꽁이의 肝을 材料로 하여 游離의 狀態로 兩棲類肝에 比較的 많이 包含되어 있다고 생각되는 (朴·吳1960) 아미노酸이 酸素消費量에 미치는 影響을 調査하였다. 兩棲類의 呼吸에 관한 研究는 Krough (1904, 1904)가 *Rana fusca*와 *R. esculenta*의 皮膚와 肺呼吸을 比較한 것이 있고 Dolk, Postma(1927)의 *Rana temporaria*의 報告가 있으며 그 밖에도 Jordan (1929), Krebs (1934), Atlas (1938),

Zeuthen (1947), Hill (1948)의 研究가 있다.

動物肝組織의 酸素消費量에 관한 研究를 보면 Dickens & Simer (1931)는 斷食狀態의 쥐의 肝이 glucose를 含有한 simple salt內에서는 RQ가 生理學的level 보다 低下되나 血清內에서 測定할 때는 RQ value가 正常的인 이라는 것을 밝혔고 Elliott & Elliott (1939)는 肝組織浮游液에 salt와 어떤 intermediary metabolites를 주어 呼吸率에 對한 變化를 보았는데 malate, oxaloacetate, citrate, α -ketoglutarate, pyruvate 등을 加함으로써 오래 동안 RQ의 높은 level을 維持하는데 이것은 chloride ion이 存在하기 때문이라고 報告하였으며 이어서 Feinstein & Stare(1940)는 흰쥐 肝組織呼吸에 미치는 phosphate와 여러가지 media의 影響을 보았고 Muss & Hardenberg (1949)도 血清과 淋巴內에서 쥐 肝의 酸

素消費량을測定하였는데 burning 한 後에 淋巴內에서測定한 QO_2 는 正常淋巴內에서測定한 QO_2 보다 41%가增加하였고 burning 하기 前後에 取한 血清內에서測定한 QO_2 의 값도 淋巴內에서測定한 結果와 多少一致한다고 報告하였다. 또 Wright & Sabine(1944)는 쥐의 肝, 腦, 腎 切片은 atabrine으로서 酸素消費량이 阻害받는다라고 報告하였다. Fuhrman & Fuhrman (1945)는 anoxic rat의 心筋과 肝의 酸素消費량을 control tissue와 比較할때 QO_2 의 값이 各各 21%, 30%나 減少된다고 報告하였다. 最近에 Vitaze, Gershof, Sinistera, & Hegsted (1956)는 guinea pig와 rat의 肝과 腸의 metabolism에 關한 aminopterin의 影響을 研究하였다. 後 淺野(1960)는 guinea pig의 腦, 肝, 腎 切片의 酸素消費량에 미치는 數種의 아미노酸의 影響을 보았는데 腦와 腎에서는 L-glutamic acid와 γ -aminobutylic acid가 酸素消費량을 增加시켰고, 그밖의 아미노酸은 오히려 抑制하는 傾向이 있었으나 肝에서는 아무런 影響이 없음을 밝혔다.

Gallula tornieri VOGT는 韓國과 滿洲 그리고 中國 東南部에만 棲息하는 種이며 첫장마철에만 地上에 나와서 交尾가 끝나면 바로 長期冬眠으로 들어가는 特殊性과 아미노酸 代謝와의 關係를 究明하는 一端으로서 本實驗을 行한 것이다.

II. 實驗材料과 方法

實驗材料는 京畿道楊州郡九里面新內里와 서울特別市外近郊清涼里에서 1960年6月30日~7月25日 사이에 採集한 맹꽂이 *Gallula tornieri* VOGT (♂ 258, ♀ 157) 體重 $11 \pm 4g$ 의 것을 使用하였다. 水溫 $23^\circ \pm 3^\circ C$ 의 넓은 水槽中에서 雌雄을 區別하여 比較的 서늘한 暗所에서 飼育하고 每日 한번씩 井水를 갈아주었다. 肝組織의 酸素消費량은 Warburg's manometer로서 測定하고 反應容器的 v. f.를 3.0ml로 하였다. 測定溫度는 $30^\circ C$ 로 하고 肝組織浮游液으로서는 i) Ringer's solution과 ii) 磷酸緩衝液(M/15 Na_2HPO_4 : M/15 $KH_2PO_4=1:9$, pH 5.8)을 썼다. 反應容器的 副室에는 0.5ml의 20% KOH 溶液과 濾紙片을 넣었다. 主室에는 1 ml의 肝組織浮游液과 呼吸基質로서 0.5 ml 아미노酸과 1ml의 磷酸緩衝液을 넣었다. 呼吸基質로서 使用한 아미노酸은 alanine, arginine, glycine 이고, amino acid mixture로서는 alanine + arginine, alanine + glycine, arginine + glycine을 사용하였으며 final concentration은 各各 0.1%, 0.5%, 1%의 세가지로 하였다. 雌雄이 區別된 *Gallula tornieri*를 水槽에서 꺼내어 斷頭하여 即死케 한後, 腹部를 解剖

하여 膽汁이 들어가지 않도록 가위로 肝을 切取하여 glass homogenizer로 Ringer's solution 또는 磷酸緩衝液中에서 磨碎하였다. 이때에 切取한 肝의 lobe 하나의 무게는 130 ± 30 mg였다. 完全히 磨碎한 肝組織浮游液을 20 ml用的 cylinder에 쏟아서 spoid로 1 ml씩 側室이 하나있는 反應容器에 넣고 40分以內에 準備를 끝마쳤다. 測定後 liver homogenate를 $105^\circ C$ oven 속에서 數時間 乾燥시키고 그 乾燥重量으로서 酸素消費량을 計算하였다.

III. 實驗結果와 考察

1. 呼吸에 미치는 3種 아미노酸의 影響

呼吸基質로서 各各 0.1%, 0.5%, 1%의 alanine, arginine, glycine을 使用했을때의 結果는 table 1과 fig. 1, fig. 2, fig. 3과 같다. 0.5% arginine과 1% alanine에서 最高의 酸素消費를 하였다. alanine과 arginine은 control보다 增加하나 glycine은 별로 影響이 없었다. maximum phase는 alanine, arginine, glycine이 다같이 30分 안에 나타났다.

Table 1. Effect of three amino acids on oxygen consumption of the liver homogenate

Exp. No.	final concentration of amino acids (%)	amino acids			QO_2 /ml/mg /hr, mean	% of increase compared to control
		ala.	arg.	gly.		
2.	Control	—	—	—	0.043	
3.	0.1	+			0.049	13.9
4.	0.5	+			0.051	18.6
5.	1.0	+			0.113	163.0
6.	0.1		+		0.048	11.6
7.	0.5		+		0.160	270.0
8.	1.0		+		0.045	0.46
9.	0.1			+	0.042	0.2*
10.	0.5			+	0.037	13.9*
11.	1.0			+	0.043	0.0

Temp.: $30^\circ C$ — : no added substrates were replaced with double distilled water

pH : 5.8 + : added substrate

gas : air ※ : % of decrease

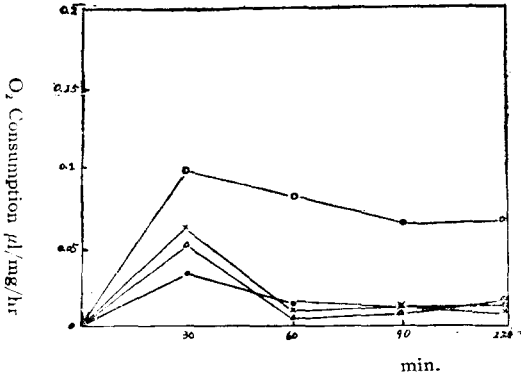


Fig. 1. Effect of alanine on respiration of the liver homogenate.

●—● Control
 ×—× 0.1%
 △—△ 0.5%
 ○—○ 1.0%

The symbols are the same through Fig. 1. to Fig. 6.

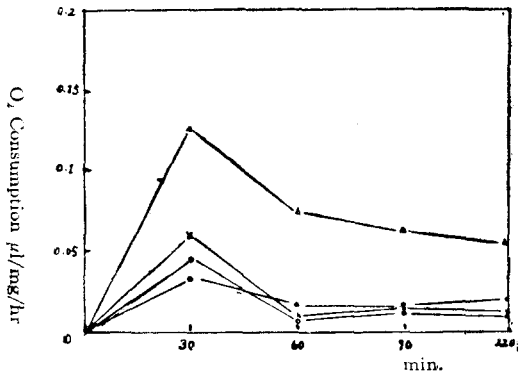


Fig. 2. Effect of arginine on respiration of the liver homogenate

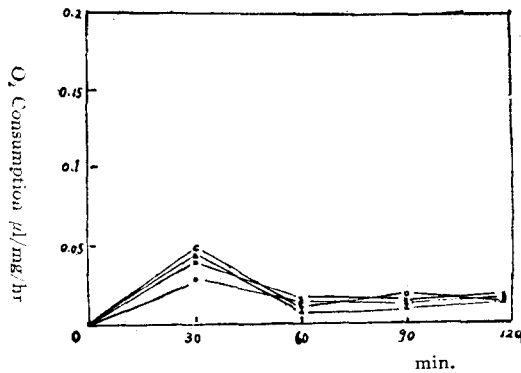


Fig. 3. Effect of glycine on respiration of the liver homogenate

2. Amino acid mixture가 肝組織의 酸素消費量에 미치는 影響

Amino acid mixture는 實驗에서 使用한 것을 alanine+arginine, alanine+glycine, arginine+glycine으로 混合해서 各各 0.1%, 0.5%, 1%로 하고 肝組織에 對한 酸素消費量의 影響을 보면 Table 2, fig. 4, fig.5, fig. 6과 같다. 0.1%와 0.5% alanine+arginine, 0.1%와 0.5% alanine+glycine, 1% arginine+glycine에서는 單獨으로 아미노酸을 投與했을때보다도 顯著한 增加를 볼수있다. Alanine과 arginine이 單獨으로 使用했을때는 各各 1%와 0.5%에서 影響이 있었고 0.1%에서는 別다른 變化가 없었으며 glycine도 아무런 變化가 없었으나 alanine-glycine mixture는 0.1%의 低濃度에서 顯著한 增加를 보이고 1%의 高濃度에서는 減少되는 傾向이 있다. Alanine-arginine mixture도 이와 마찬가지로 0.5%, 0.1%에서 增加하고 1%에서는 약간의 減少가 보인다. Arginine-glycine mixture는 이와 反對로 1%의 高濃度에서 顯著히 增加하고 低濃度로 되면서 增加率이 漸次 줄어든다. Glycine은 單獨으로는 影響이 없었는데 alanine이나 arginine을 混合 함으로써 어느程度의 增加를 볼수 있었다.

Alanine과 arginine은 멍꽁이肝에서 呼吸酵素系의 基質이 될수 있고 glycine은 效果가 없다. Alanine과 arginine, 그리고 alanine과 glycine, 또 arginine과 glycine을 混合함으로써 單獨으로 作用할때 보다도 增加하는 것은 混合함으로써 그들이 받고 있는 抑制因子가 除去 되어서 酸素消耗의 好條件을 만들어 준다고 生覺되며 特히 glycine의 抑制因子는 alanine이나 arginine으로서 除去되는 것이 分明하고 어느 것이나 一定한 濃度에서 가장 活潑하다. 그 最適濃度는 各各 1% alanine, 0.5% arginine, 0.1%와 0.5%alanine-arginine mixture, 0.1%와 0.5% alanine-glycine mixture, 1% arginine-glycine mixture 近處에 있다.

要 約

本實驗에서 멍꽁이 Gallula tornieri VOGT 肝의 酸素消費量을 Warburg's manometer로서 測定하고 몇가지 아미노酸에 依한 影響을 調査한 結果는 다음과 같다.

Table 2. Effect of amino acid mixture on oxygen consumption of the liver homogenate

Expt. No.	final concentration of amino acid (%)	amino acids		QO ₂ μ l/mg /hr, mean	% of increase compared to control
		ala.	arg. gly.		
2	control	—	—	0.043	
3	0.1	+	+	0.146	239
4	0.5	+	+	0.164	281
5	1.0	+	+	0.031	※ 28
6	0.1	+	+	0.259	455
7	0.5	+	+	0.192	347
8	1.0	+	+	0.040	※ 7
9	0.1		+	0.049	14
10	0.5		+	0.072	67
11	1.0		+	0.266	519

Temp. : 30°C — no added substrate were replaced with double distilled water
 pH : 5.8 + added substrate
 gas : air ※ % of decrease

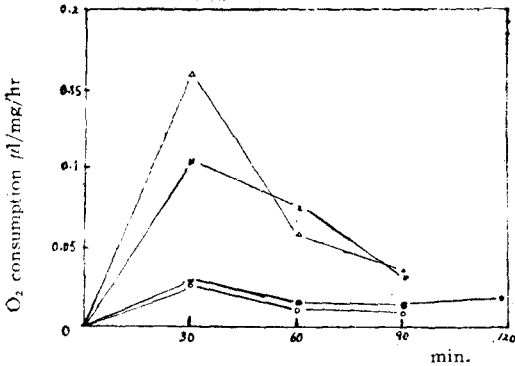


Fig. 4. Effect of alanine-arginine mixture on respiration of the liver homogenate.

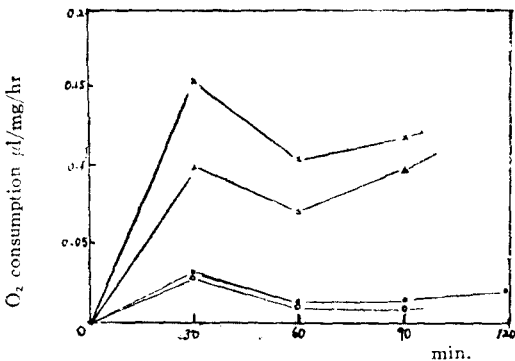


Fig. 5. Effect of alanine-glycine mixture on respiration of the liver homogenate.

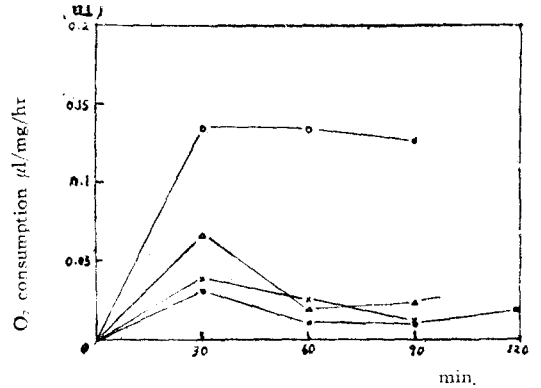


Fig. 6. Effect of arginine-glycine mixture on respiration of the liver homogenate.

- 맹꽂이 *Gallula tornieri* VOGT 肝組織의 呼吸測定에 있어서 i) Ringer's solution을 組織浮游液으로 使用하여 測定하였을때는 QO₂는 0.043 μ l/mg/hr이고 ii) 磷酸緩衝液을 使用하였을때는 0.93 μ l/mg/hr이었다.
- 酸素消費量은 1% alanine과 0.5% arginine에서 最高의 增加를 했고 glycine은 影響이 없었다.
- 0.1%와 0.5%의 alanine-arginine mixture와 0.1%와 0.5%의 alanine-glycine mixture 그리고 1% arginine-glycine mixture에서 많은 增加를 하였는데 單獨으로 作用할 때보다 훨씬 크다.
- Glycine은 單獨으로 아무런 影響이 없었는데 混合함으로써 어느程度 增加할뿐만 아니라 arginine-glycine mixture에서는 高濃度로 가면서 顯著한 增加를 볼수 있다. 한편 alanine-glycine mixture에서는 低濃度에서 顯著하게 增加하고 高濃度에서는 오히려 減少한다. Alanine-arginine mixture도 이와 마찬가지로 低濃度에서 增加한다.

文 獻

- 大藪, 金井, 韓, 溝口, 1938. 멘콘蛙의 研究 京城帝國大學文藝部編 清涼 25號
- 李德象, 1955. *Carcopoides tornieri* (VOGT)의 發生學的研究 中央大學校 三十週年紀念論文集
- 朴相允, 吳錫欣, 1960. *Bombina orientalis* 肝의 아미노酸 成分에 關한 研究 동물학회지 Vol. III, No. 1
- Krogh, A., 1904. Cutaneous Respiration; Vertebrate. Scand. Arch. Physiol. 16:348.
- Krogh, A., 1904. Frog Respiration; Cutaneous and pulmonary. Scand. Arch. Physiol. 15:328.
- Dolk, H. E., and N. Pastoma, 1927. Frog Respir-

- ation. *Ztschr. Physiol.* **5**:417.
7. Jordan, H. J., 1929. Oxygen tension and consumption; *Frog. Arch. Nerrol. Sci. Ex. and Nat., Ser. 3C*, **14**:305.
 8. Krebs, H. A., 1934. Oxygen consumption; *Cell and Tissue. Tabul. Biol.* **9**:209.
 9. Atlas, M., 1938. Oxygen consumption of Frog embryo; *Vertebrate. Physiol. Zool.* **11**:278.
 10. Zeuthen, E., 1947. Relation of blood size to metabolic rate. *C. R. Trao. Lab. Carsberg, Ser. Chim.* **26**:17.
 11. Hill, D. K., 1948. Oxygen tension and respiration; Frog muscle. *J. Physiol.* **107**:479-495.
 12. Dickens, F. and F. Simer, 1931. The metabolism of normal and tumour tissue. *Biochem. J.* **25**:985.
 13. Elliott, K. A. C. and F. H. Elliott, 1939. The influence of some intermediary metabolites and salt on the respiration of liver tissue suspensions. *J. Biol. Chem.* **127**:457.
 14. Feinstein, R. N. and F. J. Stare, 1940. The effect of various media and pyrophosphate on the respiration of liver tissue. *J. Biol. Chem.* **135**.
 15. Muss, J. and E. Hardenbergh, 1944. The oxygen consumption of normal rat liver slice in serum and lymph taken from the legs before and after severe burns. *J. Biol.* **152**:1.
 16. Wright, C. I. and J. C. Sabine, 1944. The effect of atabrine on the oxygen consumption of tissue. *J. Biol. Chem.* **155**:315.
 17. Fuhrman, F. A. and C. J. Fuhrman, 1945. Oxygen consumption of excised rat tissue following acute anoxia. *Amer. J. Physiol.* **144**:87.
 18. Vitaze, J. J., Gershoff, S. N., Sinisterra, L., and D. M. Hegsted, 1956. Effect of aminopterin administration on the metabolism of liver and small intestine of guinea pig and rats. *J. Biol. Chem.* **220**:353.
 19. 浅野正夫, 1960 大脳皮質切片に於ける アミノ酸の代謝に関する研究 *日本生理誌*, **22**:644.