

집쥐와 닭 뇌의 γ -Aminobutyric acid 함량

진주농과대학 수의학과

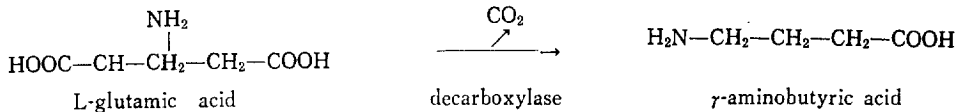
허 린 수

서 론

근래에 γ -aminobutyric acid와 그의 관련된 여러가지 물질이 뇌의 대사에서 정상 대사 산물이며 뇌기능 및 몇몇 말초 신경구조에 대하여 중요한 생리적 작용을 하고 있다는 점에서 흥미 켜리로 등장하여, 이들 물질에 대한 연구가 폭주하기에 이르렀다. 신경 생리학자들의 흥미는 Synapse 흥분전도에서 액성매개(humoral mediator) 또는 중추신경계에서 일어나는 신경 활동의 조절 역할에 관한 중요성에 의해서 고조되고 있다.

γ -aminobutyric acid(GABA)는 부패물질에서 glutamic acid로부터 생성된다는 것을 처음으로 Ackermann과 Kutscher에 의해서 발표 되었다. (1,2) 최근에 와서는

여러 생물 조직에서 발견되고 있는데 여러 세균에서 생성 또는 존재하고 있다는 사실이 밝혀졌고, (16,52) 그후 Yeast, (32) Mould, (16) Fungus, (61) Chlorella (40) 및 고등 식물 (5,24,40,41,44,50) 등에도 포함되어 있다는 것이 밝혀졌다. 첫번이동물의 체내에도 GABA가 함유되어 있다는 사실이 밝혀진것은 1950년에 처음 있는 일이다. (3,33,35) 이때는 기능적 중요성에 대한 지식이 보급되기 전의 일이다. 그러나 곧 이어서 이 물질 및 관련 물질에 관한 연구가 집중되어 glutamic acid로부터 특수효소인 decarboxylase가 脫炭酸作用으로서 GABA의 생성을 촉매한다는 사실이 알려지게 되었다. (3,5,10,16,18,33,34,35,39,40) 그 작용은 다음과 같다.



1958년에 이르러 비로서 GABA의 생리적 기능에 관한 보고가 있었다. 갑각류의 근육세포 내외에 극미전극(microelectrode)을 삽입하여 근육이 신전하는 동안 근육세포 내외의 전기적 변화를 기록하면 1-5 μ g/ml의 GABA 용액을 적용하므로써 세포에 탈분극(depolarization) 또는 Generator potential이 역전되거나 또는 억제되었다고 한다. (26)

GABA는 첫번이동물의 신경 근육 접합부와 말초신경절에 대해서도 Acetylcholine과 길항작용을 갖기므로써 Acetylcholine에 의하여 흥분하는 부위를 GABA는 억제적 영향을 준다. (12,14,22,23,42) Curtis와 Phillis(9)에 의하면 척수에서도 GABA에 의해서 후각세포(cells of dorsahorn), 중간핵세포(cells of intermediate horn) 및 전각세포(cells of anterior horn)등의 발사(discharge)가 차단된다고 한다.

뇌에 있어서는 고양이 대뇌피질의 반응과 전기적 활동에 대하여 GABA는 빠른 반대효과를 준다. (25,31) 동물의 수면중에 대뇌 및 중뇌에는 GABA의 함량이 증

가하며, 대뇌에서 일어나는 흥분을 진정시키므로써 대뇌의 안정과 제정비에 기여한다는 보고가 있다.

본 실험은 소위 주간 활동성 동물과 야간 활동성 동물중에서 집쥐와 닭의 대뇌피질, 중뇌 및 소뇌의 GABA함량차를 광선 및 어둠에 폭로시켰을 때 어떻게 달라지는가를 알아 보려는 목적으로 본 실험의 예비실험으로서 이루어진 것이다. 이 예비실험을 통해서 집쥐 및 닭의 정확한 정상 GABA의 뇌 함량을 정하기 위하여 본 실험을 한 것이다. 그 결과를 여기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

본 실험의 공시동물은 성숙한 집쥐 16마리, 닭 22마리(이 닭은 머리만을 떼어서 시장에서 구입한 것)였다. 닭은 암닭(성숙한 재래종 닭)만, 쥐는 암, 수를 혼용하였다. GABA의 분리 및 정량은 Maynert와 Klingmann (28)의 방법에 따라서 Paper chromatographic method로써 처리했다. chromatographic method는 여러

가지 방법이 많이 개발되어 있는데 특히 이 사람들의 방법을 택한 이유는 조직이 비교적 용이하며 욕구를 충족시켜 주는 이유에서 택한 것이다.

결과 및 고찰

본 실험에서 얻은 집쥐 뇌의 GABA 함량은 표 1과 같다. 집쥐의 뇌에 포함된 GABA 함량을 종합하여 보건대 집쥐 대뇌피질에는 90 $\mu\text{g}/\text{gm}$ ~310 $\mu\text{g}/\text{gm}$ 의 넓은 범위의 함량을 가지고 있다. 실험에 사용한 조직의 무게는 젓은 무게이며, 집쥐의 중뇌 및 소뇌의 함량은 각각 130~150 $\mu\text{g}/\text{gm}$, 30~150 $\mu\text{g}/\text{gm}$ 이었다. 이들의 평균치는 대뇌피질, 중뇌 및 소뇌의 순서로 각각 195 μg , 343.1 μg , 91.2 $\mu\text{g}/\text{gm}$ 이었다.

닭에 있어서는 대뇌피질, 중뇌 및 소뇌의 순서로 각각 230~590 $\mu\text{g}/\text{gm}$, 250~620 $\mu\text{g}/\text{gm}$, 50~280 $\mu\text{g}/\text{gm}$ 의 넓은 범위에 걸쳐 분포되어 있다. 이들의 평균치는 406.2, 414.8, 120.3 $\mu\text{g}/\text{gm}$ 의 값을 보였다.

Maynert와 Klingman은 분석방법에서 균질조직을 증복하여 추출하고 이것을 분석할 때는 4중복으로 분석하였다고 한다. 이 결과를 확인하기 위하여 균질 조직에 표준 GABA 200 μg 을 첨가하여 그 회수율(recovery)을 보았다. 그 값은 95.5 \pm 5.5%였다고 하므로 크게 믿을 만한 방법이기에는 본 실험에서는 회수 실험을 별도로 행하지는 아니했다. 그러나 본 실험에서도 측정치의 정확성을 기하기 위하여 모든 개체 시료(Sample)는 균질화한 다음 증복으로 추출하였고 이렇게 추출한 용액을 증복으로 정량분석하여 얻은 값을 평균하여 그 개체의 정상값으로 삼았다. 제 1표 및 제 2표에 나타난 모든 값은 4개의 값을 평균하여 얻은 개체의 평균치를 나타낸다. 이상을 종합하여 보건대 주간 활동성 동물이라 볼 수 있는 닭의 뇌에 함유되어 있는 GABA의 평균치(대뇌피질, 406.2; 중뇌 414.8; 소뇌 120.3)는 야간 활동성 동물인 집쥐의 뇌에 함유되어 있는 GABA의 (대뇌피질, 195; 중뇌 343.1; 소뇌 91.2)에 비하여 대체로 높은 경향이며 한 동물에 서로 조직에 따라 함량의 차가 있는 것을 보여준다. 조직 별 함량을 보건대 두 동물에서 다 같이 중뇌 대뇌피질 및 소뇌의 순서로 함량 경사를 보인다. 각 조직간의 함량차는 무엇을 의미하는지에 관하여는 명확히 아는 바가 없으며, 아마도 대사와 관련이 깊은 것 같다.

적 요

중추신경계 및 몇몇 말초신경계에서 신경 흥분 진도에 관련되어 생리적으로 중요한 기능을 하는 것으로 보

는 GABA 함량을 대뇌피질, 중뇌 및 소뇌의 조직별로 정량 분석하였다. 또한 주간 활동성 동물인 집닭과 야간 활동성 동물인 집쥐에서 위의 각 조직의 정상함량을 발견하여 그것의 정상치를 정할 목적으로 본 실험을 하였다. 본 실험에서 적용한 방법은 paper chromatographic method로서 Maynert와 Klingman이 개발한 정확한 방법이다. 그 결과를 여기에 보고 하고자 한다.

1) 집쥐의 대뇌피질, 중뇌 및 소뇌에 함유된 GABA의 함량은 순서대로 각각 90~310 $\mu\text{g}/\text{gm}$, 130~150 $\mu\text{g}/\text{gm}$, 30~150 $\mu\text{g}/\text{gm}$ (젓은 조직무게)로 함량차는 중뇌 대뇌피질, 소뇌의 순서로 감소를 보인다.

2) 닭은 각각 230~590 $\mu\text{g}/\text{gm}$, 250~620 $\mu\text{g}/\text{gm}$, 50~280 $\mu\text{g}/\text{gm}$ 이며, 함량차는 역시 중뇌, 대뇌피질, 소뇌의 순서로 경사를 보인다.

3) 두 동물에서 모두 넓은 범위의 개체차가 있음을 보여주며, 동물간에 있어서도 주간 활동성 동물인 닭의 함량이 야간활동성 동물인 집 쥐에 비하여 높은 편임을 보여준다.

Table 1. GABA Content in House Rat Brain

No.	$\mu\text{g}/\text{gm}$		
	Cerebral cortex	Midbrain	Cerebellum
1	200	330	95
2	183	497	30
3	280	170	115
4	255	233	73
5	210	130	56
6	170	280	135
7	167	269	125
8	95	383	120
9	120	369	97
10	150	510	51
11	135	427	63
12	230	313	89
13	310	359	93
14	90	467	120
15	230	412	110
16	295	331	87
Total	3121	5480	1459
Mean	195.0	342.5	91.2
Standard deviation	\pm 47.04	\pm 99.4	\pm 23.86

Table 2. GABA Content in the Brain of Fowl
 $\mu\text{g}/\text{gm}$

No.	Cerebral cortex	Midbrain	Cerebellum
1	350	400	110
2	360	273	50
3	340	569	60
4	225	620	230
5	513	456	165
6	325	510	75
7	456	417	96
8	590	458	173
9	275	317	130
10	310	362	66
11	465	455	53
12	230	416	270
13	526	410	77
14	400	328	62
15	270	250	65
16	320	272	53
17	396	398	110
18	310	460	70
19	350	356	280
20	230	595	262
21	419	535	100
22	277	269	90
Total	7920	9114	2647
Mean	360.0	414.3	120.3
Standard deviation	± 79.2	± 80.9	± 38.99

References

- 1) Ackermann, D. 1910. Über ein neues auf bakteriellem Wege gewinnbares Apporrhgma. *Z. Physiol. Chem.*, 69: 273-281, cit. (11)
- 2) Ackermann, D. and F. Kutscher, 1910. Über Apporrhgmen. *Z. Physiol. Chem.*, 69:1265-1272, cit. (11)
- 3) Awapara, J.A., J. Landua, R. Fuest, and B. seale, 1950. Free gamma aminobutyric acid in brain J. *Biol. Chem.*, 187: 35-39.
- 4) Baxter, C.F. and E. Roberts, 1958. The gamma-aminobutyric acid-ketoglutaric acid transaminase

- of beef brain. *J. Biol. Chem.*, 223: 1135-1139.
- 5) Beevers, H. 1951. An L-glutamic acid decarboxylase from Barley. *biochem. J.*, 48:132-137.
- 6) Beloff-chain, A., R. Catanzaro, E.B. Chain, I. Masi, and F. Pacchiari, 1955. Fate of uniformly labelled ^{14}C glucose in brain slices. *Pra. Roy. Soc. London, S.B.*, 144:22-28.
- 7) Berl, S. and H. Waelsch, 1958. Determination of glutamic acid, glutamine, glutathione, and gamma-aminobutyric acid and their distribution in brain tissue. *J. Neurochem*, 3: 161-169.
- 8) Cravioto, R.O., G.Massiew, and J. J. Izquierdso. 1951. Free amino acids in rat brain during insulin shock. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 78: 856-858.
- 9) Curtis, D.R. and J.W. phillis, 1958. Gamma-amino-n-butyric acid and spinal synaptic transmission. *Nature*, 182:323.
- 10) Davison, A.N. 1956. Amino acid decarboxylase in rat brain and liver. *Biochem. et Biophys. Acta.*, 19:66-73.
- 11) Elliot, K.A.C. and H.H. Jasper, 1959. γ -aminobutyric acid. *Physiol. Rev.*, 59:383.
- 12) Elliott, K.A.C. and N.M. VanGelder, 1958. Occlusion and metabolism of γ -aminobutyric acid by brain tissue. *J. Neurochem.*, 3:28-40.
- 13) Florey, E., 1954. An inhibitory and excitatory factor of mammalian central nervous system and their action on a single sensory neuron. *Arch. Internat. Physiol.*, 62:93-53.
- 14) Florey, E. and E. Florey, 1958. Studies on the distribution of Factor I in mammalian brain. *J. Physiol.*, 144:220-228.
- 15) Florey, E. and H. McLennan, 1955. Effects on an inhibitory factor (Factor I) from brain on central synaptic transmission. *J. Physiol.*, 130:446-455.
- 16) Fuerst, R. and R.P. wagner, 1957. An analysis of the free intra-cellular amino acids of certain strains of Neurospora. *Arch. Biochem. Biophys.*, 70:311-326.
- 17) Gale, E.F. 1946. The bacterial amino acid decarboxylases. *Advances in Enzymology*. 6:1-32.
- 18) Gilligan, D.R., J. R. Moor, and S. Warren, 1951. Paper partition chromatography of free amino acids and peptides of human gastric juice. *J. notl.*

- Cancer. Inst., 12:657-676.
- 19) Gunsalus, J.C. 1950: Decarboxylation and transamination. Fed. proc., 9:556-561.
 - 20) Hayashi, T. 1956. The inhibitory action of γ -amino- β -hydroxybutyric acid upon the seizure following stimulation of the motor cortex of the dog. personal communication.
 - 21) Hayashi, T. and K. Nagai, 1956. Action of ω -amino acids on the motor cortex of higher animals, especially γ -amino- β -oxy-butyrinic acid as the real inhibitory principle of brain. Abstr. Internat. Physiol. Congress., 1956. P.410, cit. (11)
 - 22) Hayashi, T. and R. shuhara, 1956. Substances which produces epileptic seizure when applied on the motor cortex of dogs, and substances which inhibit the seizure directly. Abstr. 20. Internat. Physiol. Congress., 1956. pp. 410-411.
 - 23) Hobbiger, F. 1958. Effects of J-aminobutyric acid on the isolated mammalian ileum. J. physiol., 142: 147-164.
 - 24) Hoffiger, F. 1958. Antagonism by GABA against the acetones of 5-hydroxytryptamine and nicotine on isolated organs. J. Physiol., 144:349-360.
 - 25) Hulme, A.C. and W. Arthington. 1950. γ -aminobutyric acid and β -alanine in plant tissues. Nature, 165:716-717.
 - 26) Iwama, K. and H.H. Jasper, 1957. The action of GABA upon cortical electrical activity in the cat. J. Physiol., 138: 365-380.
 - 27) Kuffler, S. W. and C. Edwards, 1958. Mechanism of GABA action and its relation to synaptic inhibition. J. Neurophysiol., 21:586-610.
 - 28) Maynert, E.W. and C.I. Klingman, 1962. Tolerance to morphine. II. Lack of effects on brain 5-hydroxytryptamine and γ -aminobutyric acid. J. Pharmacol. Exptl. Therap., 135:296-298.
 - 29) Moor, J. R. and B.R. Gilligan, 1951. Paper partition chromatography of free amino acids and peptides of normal human saliva. J. Natl. Cancer. Inst., 12:691-697,
 - 30) Moore, S. and W.H. Stein, 1954. Procedures for the chromatographic detection of amino acids on four per cent crosslinked sulfonated polystyrene resins. J. Biol. Chem., 211: 893-906.
 - 31) Porcellati, G. and R.H.S. Thompson, 1957. The effect of nerve section on the free amino acids of nervous tissue. J. Neurochem., 1: 340-347.
 - 32) Purpura, D.P. M. Girado and H. Grundfest, 1957. Selective blockage of excitatory synapses in the cat brain by GABA. Science, 125: 1200-1202.
 - 33) Reed, L.J. 1950. Occurrence of γ -aminobutyric acid in yeast extracts. Its isolation and identification. J. Biol Chem., 183: 451-458.
 - 34) Roberts, E. and S. Frankel, 1950. γ -aminobutyric acid in brain. Its formation from glutamic acid. J. Biol. Chem., 187: 55-63.
 - 35) Roberts, E. and S. Frankel, 1950. Glutamic acid decarboxylase in brain. J. Biol Chem., 188: 789-795.
 - 36) Roberts, E. and S. Frankel, 1951. Further studies of glutamic acid decarboxylase in brain. J. Biol. Chem. 190:505-512,
 - 37) Roberts, E., S. Frankel. and P.J. Harman, 1950. Amino acids of nervous tissue. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 74:383-387.
 - 38) Roberts, E., M. Rothstein and C.E. Baxter, 1958. Some metabolic studies of γ -aminobutyric acid. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 97: 796-802.
 - 39) Roberts, E., P. J. Harman and S. Frankel, 1951. γ -aminobutyric acid content and glutamic decarboxylase activity in developing mouse brain. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 78:799-803.
 - 40) Schales, O., V. Mims and S.S. Schales. 1946. Glutamic acid decarboxylase of higher plants. Arch. Biochem., 10:455-465.
 - 41) Steward, F.C., J.F. Thompson and C.E. Dent, 1949. γ -amino-butyric acid. A constituent of the potato tuber. Science, 110:439-440.
 - 42) Synge, R.L.M. 1951. Methods for isolating ω -amino acids. γ -aminobutyric acid from rye grass, Biochem. J., 48:429-435.
 - 43) Takahashi, H., M. Tiba, M. Iino and T. Takayasu. 1955. The effect of GABA on blood pressure. Jap. J. Physiol., 5:334-341,
 - 44) Tallan, H., S. Moore and W.H. Stein, 1954. Free amino acids and related compounds in the tissues of the cat. J. Biol. Chem., 211: 927-939.
 - 45) Thompson, J.F., J. K. Pollard and F.O. Steward.

1953. γ -aminobutyric acid in plants with special reference to the potato tuber and a new procedure for isolating amino acids. *Plant Physiol.*, 28: 401-414.
- 46) Tower, D.B. Glutamic acid metabolism in the mammalian central nervous system. symposium on biochemistry of the central nervous system. 4th international congress of Biochemistry. In press. cit. (11)
- 47) Tsukada, Y.,Y. Nagata and G.Takagaki, 1957. Metabolism of γ -aminobutyric acid in brain slices. *Proc. Japan Acad.*, 33:510-514.
- 48) Udenfriend, S. 1950. Identification of γ -aminobutyric acid in brain by the isotope derivative method. *J. Biol. Chem.*, 187: 65-69.
- 49) Van Gelder, N. M. and K.A.C. Elliott, 1958. Disposition of γ -aminobutyric acid administered to animals. *J. Neurochem.*, 3:139-143.
- 50) Warburg, O., H. Klotzsch and G. Krippake, 1957. Glutaminsaure in chlorella. *Z. Naturforschung*, 126: 622-628.
- 51) Westall, R.G. 1950. Isolation of γ -aminobutyric acid from beetroot (*Beta vulgaris*). *Nature*, 165: 717-718.
- 52) Westley, J., J. J. Wren and H.K. Mitchell, 1957. Phospholipids containing amino acid other than serine. I. Detection. *J. Biol. chem.*, 229: 132-138.
- 53) Work, E. 1949. Chromatographic investigation of amino acids from microorganism. I. The amino acids of *Corynebacterium diphtheriae*. *Biochim. et Biophys. Acta.*, 3: 400-411.

γ -aminobutyric Acid Content in House Rat and Fowl Brain

Rhin-Sou Huh, D.V.M.

Jinju Agricultural College

Summary

Current interest in γ -aminobutyric acid (GABA) has arisen from the convergence of several independent lines of investigation leading to the demonstration that this and related substances are normal products of brain metabolism and that GABA has an important physiological action upon brain function as well as upon certain peripheral nervous structures. The interest for neurophysiologists has been enhanced by the importance of the discovery for the role of humoral mediator of synaptic transmission or regulator of neuronal activity in the central nervous system, particularly if it may shed some light upon the nature of central inhibitory processes. In accordance with such an interest and importance, this work was performed in order to standardize the normal content as a preliminary investigation of so-called night active and daytime active animals. GABA content in their brains when they are exposed to light and darkness.

The method, through which the estimation has been made in this work, was paper chromatographic method developed by Maynert and Klingman for the estimation of GABA content in animal tissues. The results obtained are summarized as follows:

- 1) GABA content in the cerebral cortex of house rat ranged from 90 to 310 $\mu\text{g/gm}$ of wet weight.
- 2) The content of GABA ranging from 130 to 510 $\mu\text{g/gm}$ of wet weight was observed from midbrain of the rat.
- 3) GABA content was ranged from 30 to 150 $\mu\text{g/gm}$ of wet weight of the rat cerebellum
- 4) The contents of fowl cerebral cortex, midbrain, and cerebellum are estimated as ranging 230-590, 250-620, 50-280 $\mu\text{g/gm}$ of wet weight, respectively.

As a result, it may be concluded that among three brain tissues of both animals the midbrain is the highest region in GABA content. Fowl brain, on the other side, contains more higher GABA content than the house rat brain does.