

原報

數種脊椎動物의 LDH Isozyme 에 對한 比較生化學的 研究

林 中 基*

(Received May 23, 1972)

Choong Ki Lim: Comparison of LDH Isozymes in
Several Vertebrates.

Lactate dehydrogenase isozymes in heart, kidney, liver and skeletal muscle of 15 species of vertebrate animals belonging to 5 classes were separated by cellulose acetate electrophoresis and the levels of them were measured and compared with each other. Lactate dehydrogenase isozyme patterns were different from each other among animal species and among tissues. The activity of LDH₅ was superior in anaerobic tissues such as liver and skeletal muscle, and the activity of LDH₁ was superior in aerobic tissues such as heart and kidney.

The level of LDH of vertebrate animals of the 5 classes has found approximatry increasing in the following order: Pisces>Amphibia>Reptelia<Aves<Mammalia.

LDH(lactate dehydrogenase)는 單一酵素體가 아니며 數個의 isozyme 의 混合體로 構成되어 있다는 것을 Neilands¹⁻²⁾가 報告한 바 있으며 電氣泳動法에 依한 LDH isozyme 의 分離法이 研究되었³⁻¹²⁾ 數種 動物의 組織에 있어서의 個別的인 報告가 있다.¹³⁻²⁴⁾ 또한 病理學的 所見에 따른 LDH isozyme 의 變動²⁵⁻²⁸⁾ 및 動力學的 研究²⁹⁻³⁰⁾에 關한 報文도 發表된 바 있다.

그러나 系統學的인 面에서 動物種間의 LDH isozyme 을 比較研究한 報告는 아직 없으므로 本實驗에서는 脊椎動物 5綱에 걸쳐 好氣的 및 嫌氣的 組織을 감안하여 心臟, 腎臟, 肝臟 및 骨骼筋肉의 4種 組織을 選定해서 動物種屬間 및 組織間의 LDH isozyme 의 分布相과 活性化의 差異를 系統學的인 見地에서 比較 檢討하였다. 著者는 LDH isozyme 을 cellulose acetate electrophoresis 로 分離 同定하였고 total LDH 와 LDH isozyme 의 活性值를 比色法으로 測定하여 檢討한 結果, 動物種屬間에 따르는 LDH isozyme pattern 의 特異性을 認知하였으며 一般的으로 嫌氣的組織에서는 LDH₁ 의 活性이 크고 好氣的 組織에서는 LDH₅ 의 活性이 크다는 것을 確認하였다. 또한 進化學的인 見地에서 볼 때 進化系列에 따라 有意한 相關性이

* College of Pharmacy, Sung-Kyun-Kwan University, Seoul, Korea.

있음을 究明하였다. 따라서 本研究은 生體內 代謝 研究를 爲한 基本資料가 될뿐 아니라 動物의 生化學的 進化研究에 있어서 새로운 方向性을 提示할 것으로 思料되어 이에 報告하는 바이다.

實 驗

實驗材料 및 方法

實驗材料—實驗動物은 서울近郊에서 採集한 것과 屠殺場에서 供與 받은 新鮮한 것을 使用하였으며 脊椎動物 5綱, 15種에 걸쳐 心臟, 腎臟, 肝臟 및 骨骼筋肉의 4種 組織을 選定하였다. (Table I).

Cellulose acetate electrophoresis 에 依한 LDH isozyme 의 分離—實驗動物을 屠殺直時 心臟, 腎臟, 肝臟 및 骨骼筋肉을 各各 摘出하여 冷 barbital buffer (barbital 및 sodium barbital) (pH 8.6) 로 3~5倍의 稀釋 homogenate 를 만들었다.

Table I. The Materials used in Experiment

Class	Species
Pisces	<i>Carassius carassius</i>
	<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>
	<i>Opsariichthys bidens</i>
Amphibia	<i>Rana nigromaculata nigromaculata</i>
	<i>Rana temporaris ornativentris</i>
	<i>Rana rugosa</i>
Reptelia	<i>Zamensis spinalis</i>
	<i>Natrix tigrina lateralis</i>
	<i>Amyda maackii</i>
Aves	<i>Eophona personata persoinata</i>
	<i>Carduelis sinica ussuriensis</i>
	<i>Columba livia domestica</i>
Mammalia	<i>Bos taurus</i>
	<i>Sus scrofa</i>
	<i>Albino rat</i>

이것을 Kohn 法¹⁰⁻¹²⁾에 準하여 cellulose acetate strip (5cm×5cm) 上에 試料를 spotting 하고 barbital buffer (pH 8.6) 를 展開液으로 使用하여 100V, 4mA (0.8mA/cm) 의 電流를 60分間 通해서 電氣泳動하여 分離後 nitroblue tetrazolium 로 染色시켜 固定하였다. LDH isozyme 의 分布曲線은 microphotometer (Jarrell Ash, Model 23-100) 로 作成하고 그 面積을 planimeter 로 求하여 isozyme 의 濃度比를 算出하였다.

動物組織中の LDH 活性值 測定—Berger & Broida 法³⁷⁾에 準하여 動物組織中の LDH 活性值를 比色定量하였다. 基質緩衡液의 calibration curve 의 限度를 감안하여 유혈목이와 끄리는 500倍, 돼지는 1,500倍, 소는 2,000倍, 其他 實驗動物은 1,000倍로 稀釋한 homogenate 를 만들어 遠心分離 (3,000 rpm) 하여 上澄液을 試料로 使用하였다. 基質緩衡液은 pyruvic

acid(Wako pure chemical Co. 特級試藥) 100mg, K_2HPO_4 132.5mg 을 蒸溜水에 녹여서 全體 量을 1,000ml 로 만들고 0.1N- K_2HPO_4 液으로 pH 7.8 로 調節한 것을 使用하였으며 이 基質 緩衝液 1ml 에 β -NADH₂(Sigma chemical Co.) 1mg 을 溶解시키고 37°C 水浴에서 2~3 分間 加溫한 後 試料0.1ml 를 넣고 充分히 흔들어 섞은 다음 正確히 30 分間 37° 水浴中에서 다시 加溫하고 dinitrophenyl hydrazine 液²⁹⁾ 1.0ml 를 넣어서 充分히 흔들어 섞어 室溫에서 20 分間 放置後 0.4N-NaOH 液 10ml 를 넣어 섞은 다음 5分間 放置하였다가 25分 以內에 spectrophotometer(Colmann Jr. Model 6C)로 525m μ 에서 optical density 를 測定하였다. 미리 作成해둔 calibration curve 에 依해서 試料 1ml 中의 LDH 活性值를 B-B 單位(Berger-Broider unit)로 算出하고 試料의 稀釋倍率을 곱하여 動物의 新鮮組織 1g 當 LDH 의 活性值를 算出 하였다. 各 LDH isozyme 의 活性值는 分離 測定한 LDH isozyme 의 濃度比로서 LDH 活性 值를 配分算出하였다.

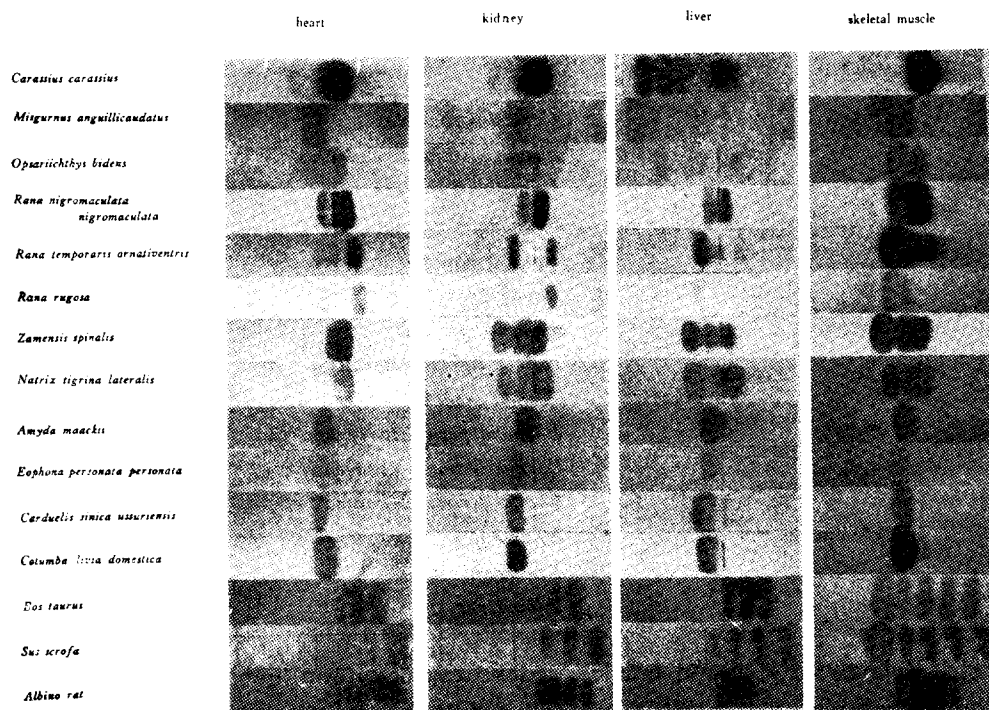
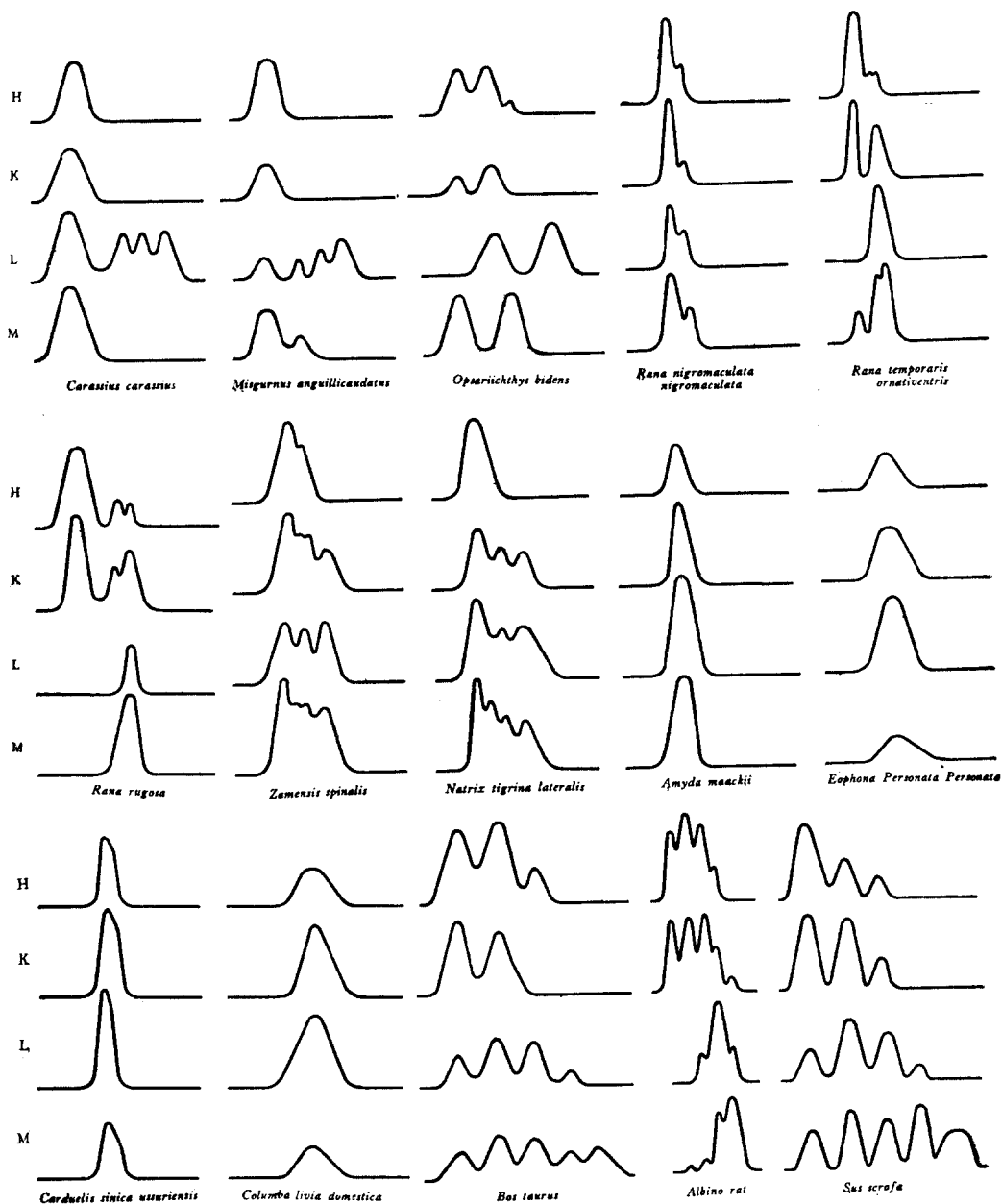


Fig. 1 LDH isozyme patterns of several vertebrate animal tissues by cellulose acetate electrophoresis



H: heart, K; kidney, L; liver, M; skeletal muscle.

Fig. 2. The densitometric traces of cellulose acetate electrophoregram of LDH isozyme from several vertebrate animal tissues

實驗 結果

組織別 LDH isozyme pattern—實驗動物의 組織別 LDH isozyme pattern 은 Fig. 1과 같고 이에 依한 實驗動物의 組織別 LDH isozyme 의 densitometric trace 는 Fig. 2와 같다.

本實驗에서 LDH isozyme 의 名稱은 Wieland & Pfliederer 法³³⁾에 準하여 陽極쪽으로 가장 멀리 移動한 isozyme 부터 順序대로 LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄ 및 LDH₅ 로 하였다.

魚類에서 붕어는 心臟, 腎臟 및 骨骼筋肉에 LDH₁ 1種, 肝臟에 LDH₁, LDH₃, LDH₄ 및 LDH₅ 의 4種 isozyme 이 있고, 미꾸리는 心臟, 腎臟에 LDH₁ 1種, 肝臟에 LDH₁, LDH₃, LDH₄ 및 LDH₅ 의 4種, 骨骼筋肉에 LDH₁ 및 LDH₃ 의 2種 isozyme 이 있으며, 끄리는 心臟에 LDH₁~LDH₃ 의 3種, 腎臟에 LDH₁ 및 LDH₂ 의 2種, 肝臟에 LDH₂ 및 LDH₅ 의 2種, 骨骼筋肉에 LDH₁ 및 LDH₃ 의 2種 isozyme 이 있다. 兩棲類에서 개구리는 4種組織에 모두 LDH₁ 및 LDH₅ 의 2種 isozyme 이 있고, 산개구리는 心臟 및 骨骼筋肉에 LDH₁, LDH₄ 및 LDH₅ 의 3種, 腎臟에 LDH₁ 및 LDH₅ 의 2種, 肝臟에는 LDH₅ 1種의 isozyme 이 있으며, 움개구리는 心臟과 腎臟에 LDH₁, LDH₄ 및 LDH₅ 의 3種, 肝臟과 骨骼筋肉에는 LDH₅ 1種의 isozyme 이 있다. 爬蟲類에서 실뱀은 心臟에 LDH₁ 및 LDH₂ 의 2種, 腎臟 및 骨骼筋肉에 LDH₁, LDH₂, LDH₃ 및 LDH₅ 의 4種, 肝臟에 LDH₁, LDH₃ 및 LDH₅ 의 3種 isozyme 이 있고, 유혈목이는 心臟에 LDH₁ 1種 腎臟과 肝臟에 LDH₁, LDH₃ 및 LDH₅ 의 3種, 骨骼筋肉에 LDH₁, LDH₂, LDH₃ 및 LDH₅ 의 4種 isozyme 이 있으며 자라는 4種 組織에 모두 LDH₅ 1種 뿐이다. 鳥類에서 밀화부리, 방울새 및 비둘기는 4種組織에 모두 LDH₅ 1種 뿐이었다. 哺乳類에서 소는 心臟에 LDH₁~LDH₃ 의 3種, 腎臟에 LDH₁ 및 LDH₂ 의 2種, 肝臟에 LDH₁~LDH₄ 의 4種, 骨骼筋肉에 LDH₁~LDH₅ 의 5種 isozyme 이 있고, 돼지는 心臟 및 腎臟에 LDH₁~LDH₃ 의 3種, 肝臟에 LDH₁~LDH₄ 의 4種, 骨骼筋肉에 LDH₁~LDH₅ 의 5種 isozyme 이 있으며, 흰쥐는 心臟에 LDH₁~LDH₄ 의 4種, 腎臟에 LDH₁~LDH₅ 의 5種, 肝臟에 LDH₃~LDH₅ 의 3種, 骨骼筋肉에 LDH₂~LDH₅ 의 4種이 isozyme 이 있다.

組織別 LDH 活性值—實驗動物의 組織別 LDH 活性値는 Table II와 같으며 이 中에서 소의 活性値를 基準으로 해서 各種 動物間의 組織別 LDH 活性値를 比較하였다. 心臟에 있어

Table II. The Activities of LDH in Several Vertebrate Animal Tissues.

Species	Heart	Kidney	Liver	Skeletal muscle
<i>Carassius carassius</i>	408,000	276,000	278,000	376,000
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	352,000	132,000	324,000	204,000
<i>Opsariichthys bidens</i>	195,000	96,000	116,000	196,000
<i>Rana nigromaculata nigromaculata</i>	304,000	154,000	76,000	136,000
<i>Rana temporaris ornativentris</i>	218,000	97,000	114,000	63,000
<i>Rana rugosa</i>	230,000	162,000	80,000	38,000
<i>Zamensis spinalis</i>	260,000	45,000	154,000	45,000
<i>Natrix tigrina lateralis</i>	200,000	97,000	128,000	36,000
<i>Amyda maackii</i>	110,000	96,000	220,000	32,000

<i>Eophona personata personata</i>	150,000	256,000	340,000	92,000
<i>Carduelis sinica ussuriensis</i>	82,000	268,000	400,000	38,000
<i>Columba livia domestica</i>	96,000	334,000	406,000	46,000
<i>Bos taurus</i>	340,000	244,000	132,000	342,000
<i>Sus scrofa</i>	390,000	264,000	66,000	105,000
<i>Albino rat</i>	184,000	270,000	238,000	68,000

Numbers are B-B units of LDH per gram of fresh tissues.

서의 比較値는 방울새가 約 0.2倍, 비둘기와 자라가 約 0.3倍 밀화부리가 約 0.4倍 흰쥐가 約 0.5倍, 유혈목이, 산개구리 및 끄리가 約 0.6倍, 움개구리가 約 0.7倍, 실뱀이 約 0.8倍, 개구리가 約 0.9倍, 미꾸리는 소와 거의 비슷하며 돼지가 約 1.1倍, 붕어가 約 1.2倍이다. 腎臟에 있어서는 실뱀이 約 0.2倍, 유혈목이, 끄리, 산개구리 및 자라가 約 0.4倍, 미꾸리가 約 0.5倍, 개구리가 約 0.6倍, 움개구리가 約 0.7倍, 밀화부리, 방울새, 돼지, 흰쥐 및 붕어가 約 1.1倍, 비둘기가 約 1.4倍이다. 肝臟에 있어서는 돼지가 約 0.5倍, 개구리 및 움개구리가 約 0.6倍, 산개구리 및 끄리가 約 0.9倍, 유혈목이가 소와 거의 비슷하며 실뱀이 約 1.2倍, 자라가 約 1.7倍, 흰쥐가 約 1.8倍, 붕어가 約 2.1倍, 미꾸리가 約 2.5倍, 밀화부리가 約 2.6倍, 방울새가 約 3.0倍, 비둘기가 約 3.1倍이다. 骨骼筋肉에 있어서는 유혈목이, 실뱀, 자라, 움개구리, 방울새 및 비둘기가 約 0.1倍, 산개구리 및 흰쥐가 約 0.2倍, 밀화부리 및 돼지가 約 0.3倍, 개구리가 約 0.4倍, 미꾸리 및 끄리가 約 0.6倍, 붕어가 約 1.1倍이다.

組織別 各 LDH isozyme 의 活性値—實驗動物의 各組織別 LDH isozyme 의 活性値는 Table III~VI 과 같다. 心臟에서는 붕어, 미꾸리, 개구리, 산개구리, 움개구리, 실뱀, 유혈목이 및 돼지의 8種動物은 LDH₁ 이 最高活性値를 나타내고 있으며 끄리, 소 및 흰쥐의 3種動物은 LDH₂ 가 最高活性値를 나타내고 있으나 LDH₁ 의 活性値와 別 差異가 없다. 자라, 밀화부리, 방울새 및 비둘기는 LDH₅ 1種 뿐이었으며 鳥類와 爬蟲類인 자라를 除外하고는 모두가 LDH₁ 側이 優勢함을 나타내고 있다. 腎臟에서는 붕어, 미꾸리, 개구리, 움개구리, 실뱀

Table III. The Activities of LDH Isozyme of Several Vertebrate Animal Heart.

Species	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
<i>Carassius carassius</i>	408,000* (100)**				
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	352,000 (100)				
<i>Opsariichthys bidens</i>	66,514 (34.1)	116,278 (59.6)	12,208 (6.3)		
<i>Rana nigromaculata nigromaculata</i>	257,480 (84.7)				46,520 (15.3)
<i>Rana temporaris ornativentris</i>	167,489 (76.8)			22,651 (10.4)	27,860 (12.8)
<i>Rana rugosa</i>	193,154 (84.0)			20,332 (8.8)	16,514 (7.2)

* Numbers are B-B units of LDH isozyme per gram of fresh tissues.

** Parenthesized numbers indicate the percentage of LDH isozymes.

<i>Zamensis spinalis</i>	189,436 (72.9)	70,564 (27.1)		
<i>Natrix tigrina lateralis</i>	200,000 (100)			
<i>Amyda maackii</i>				11,000 (100)
<i>Eophona personata personata</i>				150,000 (100)
<i>Carduelis sinica ussuriensis</i>				82,000 (100)
<i>Columba livia domestica</i>				96,000 (100)
<i>Bos taurus</i>	133,246 (39.2)	147,322 (43.3)	59,432 (17.5)	
<i>Sus scrofa</i>	225,108 (57.7)	94,692 (24.3)	70,200 (18.0)	
<i>Albino rat</i>	48,669 (26.5)	60,830 (33.1)	55,660 (30.2)	18,841 (10.2)

Table IV. The Activities of LDH Isozyme of Several Vertebrate Animal Kidney.

Species	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
<i>Carassius carassius</i>	276,000* (100)**				
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	132,000 (100)				
<i>Opsariichthys bidens</i>	32,985 (34.4)	63,015 (65.6)			
<i>Rana nigromaculata nigromaculata</i>	133,333 (86.6)				20,667 (13.4)
<i>Rana temporaris ornativentris</i>	45,532 (46.9)				51,468 (53.1)
<i>Rana rugosa</i>	83,058 (51.2)			31,881 (19.7)	47,061 (29.1)
<i>Zamensis spinalis</i>	18,648 (41.5)	7,282 (16.2)	9,598 (21.3)		9,472 (21.0)
<i>Natrix tigrina lateralis</i>	38,966 (40.2)		28,867 (29.7)		29,167 (30.1)
<i>Amyda maackii</i>					96,000 (100)
<i>Eophona personata personata</i>					256,000 (100)
<i>Carduelis sinica ussuriensis</i>					268,000 (100)
<i>Columba livia domestica</i>					334,000 (100)
<i>Bos taurus</i>	135,493 (55.5)	108,507 (44.5)			
<i>Sus scrofa</i>	120,648 (45.7)	95,964 (36.3)	47,388 (18.0)		
<i>Albino rat</i>	71,874 (26.6)	73,791 (27.4)	81,891 (30.3)	38,637 (14.3)	3,807 (1.4)

* Numbers are B-B units of LDH isozyme per gram of fresh tissues.

** Parenthesized numbers indicate the percentage of LDH isozymes.

Table V. The Activities of LDH Isozyme of Several Vertebrate Animal Liver.

Species	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
<i>Carassius carassius</i>	112,369* (40.4)**		52,041 (18.7)	52,903 (19.1)	60,687 (21.8)
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	86,670 (26.7)		30,034 (9.3)	62,078 (19.2)	145,218 (44.8)
<i>Opsariichthys bidens</i>		54,137 (46.7)			61,863 (53.3)
<i>Rana nigromaculata nigromaculata</i>	46,717 (61.5)				29,283 (38.5)
<i>Rana temporaris ornativentris</i>					114,000 (100)
<i>Rana rugosa</i>					80,000 (100)
<i>Zamensis spinalis</i>	63,000 (40.9)		40,565 (26.4)		50,435 (32.7)
<i>Natrix tigrina lateralis</i>	58,368 (45.6)		14,656 (11.5)		54,976 (42.9)
<i>Amyda maackii</i>					220,000 (100)
<i>Eophona personata personata</i>					340,000 (100)
<i>Carduelis sinica ussuriensis</i>					400,000 (100)
<i>Columba livia domestica</i>					406,000 (100)
<i>Bos taurus</i>	28,104 (21.3)	55,756 (42.2)	43,890 (33.3)	4,250 (3.2)	
<i>Sus scrofa</i>	12,304 (18.6)	26,928 (40.8)	21,964 (33.3)	4,804 (7.3)	
<i>Albino rat</i>			56,002 (23.5)	140,396 (59.0)	41,602 (17.5)

* Numbers are B-B units of LDH isozyme per gram of fresh tissues.

** Parenthesized numbers indicate the percentage of LDH isozymes.

Table VI. The Activities of LDH Isozyme of Several Vertebrate Animal Skeletal Muscle.

Species	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
<i>Carassius carassius</i>	376,000* (100)**				
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	158,100 (77.5)		45,900 (22.5)		
<i>Opsariichthys bidens</i>	99,764 (50.9)		96,236 (49.1)		

* Numbers are B-B units of LDH isozyme per gram of fresh tissues.

** Parenthesized numbers indicate the percentage of LDH isozymes.

<i>Rana nigromaculata nigromaculata</i>	91,650 (67.4)				44,350 (32.6)
<i>Rana temporaris ornativentris</i>	10,767 (17.0)			20,878 (33.1)	31,355 (49.9)
<i>Rana rugosa</i>					38,000 (100)
<i>Zamensis spinalis</i>	12,784 (28.4)	7,340 (16.3)	9,297 (20.7)		15,579 (34.6)
<i>Natrix tigrina lateralis</i>	13,960 (38.8)	3,852 (10.7)	4,845 (13.5)		13,343 (37.0)
<i>Amyda maackii</i>					32,000 (100)
<i>Eophona personata personata</i>					92,000 (100)
<i>Carduelis sinica ussuriensis</i>					38,000 (100)
<i>Columba livia domestica</i>					46,000 (100)
<i>Bos taurus</i>	59,305 (17.3)	107,695 (31.5)	102,873 (30.1)	27,223 (8.0)	44,904 (13.1)
<i>Sus scrofa</i>	18,522 (17.6)	20,182 (19.2)	19,992 (19.0)	20,212 (19.3)	26,092 (24.9)
<i>Albino rat</i>		1,815 (2.7)	4,890 (7.2)	15,633 (23.0)	45,662 (67.1)

유혈목이, 소 및 돼지의 8種動物은 LDH₁이 最高活性值를 나타내고 있으며 크리는 LDH₂ 흰쥐는 LDH₃이 最高活性值였고 산개구리, 자라, 밀화부리, 방울새 및 비둘기의 5種動物은 LDH₅가 最高活性值를 나타내고 있으나 산개구리에서는 LDH₁와 LDH₅의 活性值가 거의 비슷하였으며 자라 및 鳥類를 除外하고는 LDH₁側이 優勢함을 나타내고 있다. 肝臟에서는 붕어, 개구리, 실뱀 및 유혈목이의 4種動物만이 LDH₁이 最高活性值를 나타냈으며 소와 돼지는 LDH₂, 흰쥐는 LDH₄, 미꾸리, 크리, 산개구리, 움개구리, 자라, 밀화부리, 방울새 및 비둘기의 8種動物은 LDH₅가 最高活性值를 나타내고 있어 全般的으로 LDH₅側이 優勢하다. 骨骼筋肉에서는 붕어, 미꾸리, 크리, 개구리 및 유혈목이 5種動物이 LDH₁이 最高活性值를 나타내고 있으며 소는 LDH₂, 산개구리, 움개구리, 실뱀, 자라, 밀화부리, 방울새 비둘기, 돼지 및 흰쥐의 9種動物은 LDH₅가 最高活性值를 나타내고 있어 全般的으로 LDH₅가 優勢함을 나타내고 있다. 即 4種組織에서 心臟과 腎臟은 LDH₁이 全般的으로 優勢한 活性值를 나타내고 있으며 肝臟과 骨骼筋肉에서는 LDH₅가 全般的으로 優勢한 活性值를 나타내고 있다.

考 察

Wieland & Pfeiderer¹⁴⁾는 動物組織에서 5種의 LDH isozyme의 存在를 確認하였고 一般的으로 動物組織中에는 그 5種中 1種以上の LDH isozyme이 들어 있다고 指摘하였다. 또한 Market & Møller³⁶⁾는 5種의 哺乳動物 心臟의 homogenate로 부터 LDH isozyme을 分離하여 各 動物種類間에 特異的인 electrophoretic mobility를 갖인 LDH isozyme band가 있음을

밝혔으며 LDH 活性値에 差異가 있을 뿐만 아니라 LDH isozyme 의 數와 移動像에도 差異가 있다고 하였다. 또한 Kreutzer²⁶⁾ 등은 病的組織에 있어서 LDH isozyme pattern 의 變化가 있음을 밝힌바 있다. 本實驗에서는 系統發生學的인 面을 考慮하여 15種의 脊椎動物을 擇하였고 各動物에서 4種組織을 各各 摘出하여 LDH isozyme 을 分離하였던바 全區에서 1種以上 5種의 LDH isozyme 을 分離 確認하였으며 이는 지금까지 報告된 斷片의 實驗 結果와 類似하다. 그러나 5綱의 動物 全般에 걸친 動物組織間의 LDH isozyme 이 電氣泳動像, 活性値 및 移動도에 있어서 動物의 種類에 따른 差異는 勿論이고 各 組織別로도 差異가 顯著하여 系統學的 面에서 考察할 때 遺傳學的 背景과 더불어 一次的인 問題點을 提示해 주고있다. 即 本實驗에서 소와 돼지에 있어서는 腎臟에 若干의 差異가 있을 뿐이며 其他 組織에서는 LDH isozyme 의 分離像이 비슷하고 isozyme 의 種類와 數가 同一한대 比해 같은 哺乳類인 흰쥐에 있어서는 isozyme 의 分離像과 種類 및 數에 差異가 있었다. 鳥類에 屬하는 밀화부리, 방울새, 비둘기의 各 組織에서는 모두 LDH₅ 만이 確認되었는데 이것은 實驗에 使用한 鳥類가 모두 成體인 점을 감안할때 Vessel等¹⁷⁾이 닭의 胸筋中의 LDH isozyme 가 個體發生學的인 面에 있어서 成熟됨에 따라 LDH isozyme 이 LDH₅ 는 增加되며 LDH₁~LDH₄ 는 漸次的으로 消失되어 約 35日 以後는 거의 LDH₅ 만이 남게 된다는 報告와 符合되는 結果라 하겠다. 또한 3種의 鳥類와 마찬가지로 爬蟲類에 屬하는 자라도 4種 組織에서 모두 LDH₅ 1種만이 確認되었으며 鳥類의 pattern 과 同一하였는데 이것은 LDH₅ 가 regulatory enzyme 이고 LDH₁ 는 그렇지 않다는 Fritz의 報告³⁶⁾를 想起할 때 動物의 系統發生學的 面에서 爬蟲類에서 鳥類로 進化되는 過程을 說明해주는 證據로도 생각된다. 실뱀과 유혈목이에 있어서는 心臟과 腎臟에 있어서 pattern 의 差異를 認定할수 있었으나 肝臟과 骨格筋肉에 있어서는 類似한 pattern 으로 나타나고 있었다. 兩棲類에서는 心臟에 있어서 산개구리와 옴개구리는 類似한 pattern 이었으나 개구리만은 差異가 있었다. 腎臟에서는 개구리와 산개구리가 類似한 pattern 이었으나 옴개구리만이 差異가 있었으며 肝臟에서는 산개구리와 옴개구리의 pattern 이 같으며 개구리만이 相異한 pattern 을 나타내고 있었다. 骨格筋肉에 있어서는 3種의 兩棲類動物이 各各 다른 pattern 을 나타내고 있었다. 魚類인 붕어와 미꾸리에 있어서는 心臟, 腎臟, 肝臟의 pattern 이 各各 同一하였으며 骨格筋肉에서만 兩動物間의 pattern 의 差異가 나타났으나 크리에 있어서는 心臟, 腎臟 및 肝臟의 3種 組織에서 붕어 및 미꾸리의 該當組織의 pattern 과 差異를 나타내고 있으며 骨格筋肉에서만 미꾸리와 類似한 pattern 을 나타내고 있다.

全般的으로 鳥類와 자라를 除外한 各種 實驗動物에 있어서 心臟 組織中에 LDH₁ 의 出現 頻도가 顯著하게 많은 것을 볼수 있는데 이것은 一般的으로 成熟動物에 있어서 好氣의 組織에 LDH₁ 이 豊富하게 含有되어 있다는 것을 立證하는 것이라 하겠다. 한편 骨格筋肉과 肝臟에 있어서는 骨格筋肉에서 魚類, 肝臟에서 哺乳類를 除外한 各種 實驗動物에 LDH₅ 의 出現 頻도가 比較的 優勢하게 나타나고 있는 것은 骨格筋肉이나 肝臟과 같이 一定한 維持에너지의 必要性이 心臟에 比해서 낮은 組織에 있어서는 LDH₅ 가 優勢하게 나타난다는 것과 또한 骨格筋肉은 比較的 短時間內에 높은 에너지要求가 있음으로 短時間內에 多量의 에너지를 얻기 爲해서는 基質 pyruvate 의 濃도가 높은데에서도 活性을 維持할수 있는 LDH₅ 가 豊富하게 含有되어 있을 必要性이 있는 까닭이라고 생각된다. 더욱이 Dawson³⁷⁾ 등이 酸素分壓이 낮은 嫌氣의 組織에서는 LDH₅ 의 合成이 더욱 잘 일어나고 酸素分壓이 높은 好氣의 組織에서는 LDH₁ 의 合成이 旺盛해진다고 發表한 報告를 立證하는 結果라 하겠다. 各 實

驗動物의 組織別 LDH 活性値는 種間에 判異한 差異가 있을 뿐만 아니라 各 組織間에도 明確한 差異를 볼수 있는데 各 綱間의 LDH 活性値를 比較하면 Fig. 3 에서 보는 바와 같이 大體의으로 活性値의 順位가 魚類>兩棲類>爬蟲類<鳥類<哺乳類와 같은 傾向性을 나타내고 있다. 이것은 一般的으로 下等脊椎動物에서 高等脊椎動物에 이르기까지의 進化系列에서 爬蟲類를 底邊으로 하여 下等과 高等의 兩側方向으로 活性値가 漸次的으로 上昇하는 傾向性이 있음을 나타내는 것으로 이는 水棲生活에서 陸棲生活로 옮겨지는 過程 또는 爬蟲類

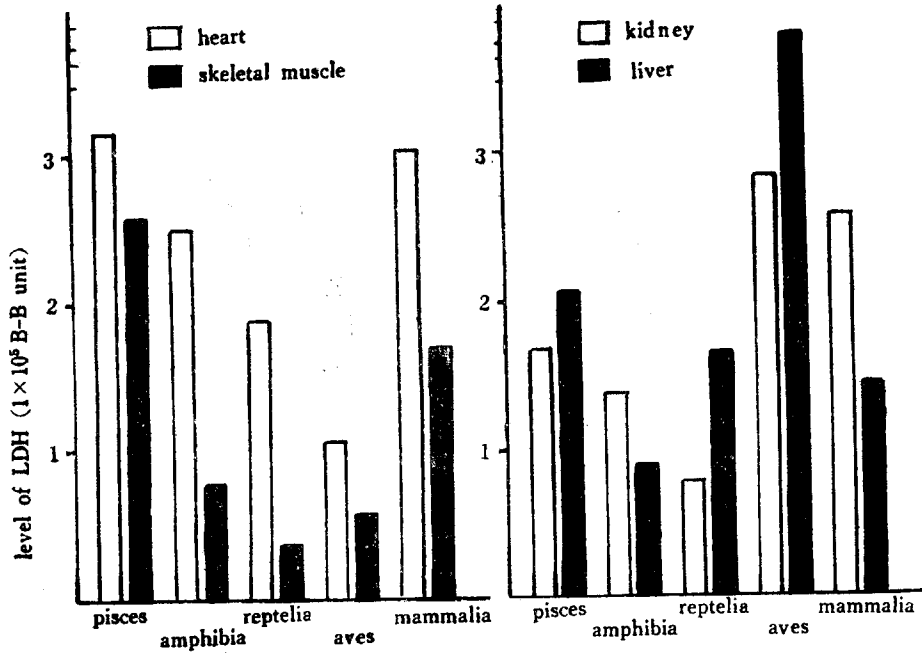


Fig. 3. Total activities of LDH in animal tissues.

時代에 있어서의 代謝型의 轉換을 暗示케 하며 生化學의 面이나 進化學의 面에서 意義가 있다고 생각된다. 또한 魚類에 있어서 溶存酸素가 比較的 높은 水質에서만 棲息하는 鱒의 LDH isozyme pattern 이 붕어나 미꾸리와 같이 溶存酸素가 比較的 낮은 水質에서도 棲息할 수 있는 魚類의 LDH isozyme pattern 과 差異를 갖이고 있다는 것은 LDH isozyme 이 動物의 生活環境 하고도 어느 程度 關聯性을 가지고 있으며 好氣的 代謝나 嫌氣的 代謝의 強度가 動物種에 따라 差異가 있다는 것을 생각할 때 매우 興味있는 結果라고 생각한다.

結 論

本實驗에서 5綱, 15種의 脊椎動物의 心臟, 腎臟, 肝臟 및 骨骼筋肉 4種 組織에서 各各 LDH isozyme 을 分離 檢出하여 isozyme 의 分布像을 밝히고 LDH 活性値를 測定하여 比較하였다.

1. 各實驗動物의 種屬間 및 組織間에 있어서 LDH isozyme pattern 의 差異가 있음을 確認

하고 分布相을 밝혔다.

2. 혐氣的 組織인 肝臟과 骨骼筋肉에 있어서는 LDH₅가 大體的으로 優勢하였으나 好氣的 組織인 心臟 및 腎臟에서는 LDH₁이 大體的으로 優勢하였다.

3. 實驗動物 各綱間的 LDH 活性値는 大體的으로 下等脊椎動物에서 부터 高等脊椎動物에 이르는 進化系列에서 爬蟲類를 底邊으로 하여 下等과 高等의 兩側方向으로 上昇하는 傾向性이 있음을 알았다.

4. 3種의 鳥類 및 爬蟲類의 자라에서는 4種 組織의 LDH isozyme pattern이 類似하며 모두 LDH₅ 1種만이 確認되었는데 이는 LDH₅의 安定性을 뜻하고 進化學的 意義가 있다고 할 수있다.

文 獻

1. J.B. Neilands, *Science*, **115** 143 (1952)
2. J.B. Neilands, *J. Biol. Chem.*, **199**, 373 (1952)
3. E.S. Vesell and A.G. Bearn, *Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y.*, **94**, 96 (1957)
4. E.S. Vesell and A.G. Bearn, *J. Clin. Invest.*, **40**, 586 (1961)
5. D.T. Plummer, B.A. Elliott, K.B. Cooke, and J.H. Wilkinson, *Biochem. J.*, **87**, 416 (1963)
6. N. Ressler, J.L. Schulz, and R.R. Joseph, *Nature*, **198**, 888 (1963)
7. J. Charpentier and R. Goutefongea, *Nature*, **201**, 1325 (1964)
8. H. Barnett, *J. Clin. Path.*, **17**, 567 (1964)
9. J.A. Preston, R.O. Briere, and J.G. Batsakis, *J. Clin. Path.*, **43**, 256 (1965)
10. J. Kohn, *Clin. Chem. Acta.*, **2**, 297 (1957)
11. J. Kohn, *Clin. Chem. Acta.*, **3**, 450 (1959)
12. J. Kohn, *Chromatographic and electrophoretic techniques*, Vol. 2, 2nd Ed., 81 (1968)
13. G.W. Plagemann, K.F. Gregory, and F. Wroblewski, *J. Biol. Chem.*, **235**, 2282 (1960)
14. J.M. Allen, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **94**, 937 (1961)
15. M. Van Wijhe, M.C. Blanchaer, and S. St. George-Stubbs, *J. Histochem. Cytochem.*, **12**, 608 (1964)
16. T.P. Fondy, A. Pesce, I. Fredberg, F. Stolzenbach, and N.O. Kaplan, *Biochem.*, **3**, 522(1964)
17. E.S. Vesell and I.A. Brody, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **121**, 544 (1964)
18. E.S. Vesell, *Science*, **150**, 1735. (1965)
19. J. Kellen, *Nature*, **207**, 783 (1965)
20. L. Riles, *Nature*, **208**, 814 (1965)
21. M.S. Kanungo, and S.N. Singh, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **21**, 454 (1965)
22. C.R. Sova, *Science*, **154**, 1661 (1966)
23. A. Pesce, T.P. Fondy, F. Stolzenbach, F. Castillo, and N.O. Kaplan, *J. Biol. Chem.*, **242**, 2151 (1967)

24. A.E.H. Emery, *Biochem. J.*, **105**, 599 (1967)
25. H.A. Zondag, *Science*, **142**, 965 (1964)
26. H.H. Kreutzer, P. Jacobs, and C. Francke, *Clinica. Chimica. Acta.*, **11**, 159 (1965)
27. E.B. Goldberg, and S.P. Colowick, *J. Biol. Chem.*, **240**, 2786 (1965)
28. H.L. Johnson, and R.F. Kampschmidt, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **120**, 557 (1965)
28. A.D. Winer, and G.W. Schwer, *J. Biol. Chem.*, **231**, 1065 (1958)
30. V. Zewe, and H.J. Fromm, *Biochem.*, **4**, 782 (1965)
31. L. Berger, and D. Broida, *Sigma tach. Bull.*, 500-8-60 (1960)
32. P.G. Cabaud, and F. Wroblewski, *Am. J. Clin. Path.*, **30**, 234 (1958)
33. T. Wieland, and G. Pfeiderer, *Biochem. Z.*, **329**, 112 (1957)
34. C. Merkert, and F. Møller, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **45**, 753 (1959)
35. R.D. Cohn, N.O. Kaplan, L. Levine, and E. Zwillling, *Science*, **136**, 962 (1962)
36. P.J. Fritz, *Science*, **150**, 364 (1965)
37. D.N. Dawson, T.L. Goodfriend, and N.O. Kaplan, *Science*, **143**, 929 (1964)