

Disc 電氣泳動法에 의한 數種 淡水魚 血漿 蛋白質의 分割

洪思澳

成均館大學校 藥學大學

朴聖培

서울特別市 保健研究所

(Received November 25, 1977)

Sa Uk Hong and Sung Bai Park*

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Seoul 110
and Seoul Institute of Public Health, Seoul 140*

Fractionation of Plasma Protein on the Several Fresh Water Fishes
by Disc Electrophoresis

Abstract—The plasma proteins of fresh water fishes have been fractionated by disc electrophoresis in acrylamide gels utilized as an electrophoretic supporting medium. The species of fishes examined in this experiment were *Anguilla japonica*, *Misgurnus mizolepis*, *Parasilurus asotus*, *Siniperca scherzeri*, *Pelteobagrus fulvidra*, *Carassius carassius*, *Cyprinus carpio*, and *Hemibarbus labeo*, obtained in the Han River. Disc electrophoresis was performed as described by Ornstein and Davis. Gels and buffer solution were prepared by the method developed by W.J. Kim. The separation gels were 7% acrylamide gel. The fractionation of plasma proteins showed 13 bands in *Anguilla japonica*, 10 in *Misgurnus mizolepis*, 15 in *Parasilurus asotus*, 12 in *Siniperca scherzeri*, 11 in *Pelteobagrus fulvidra*, 13 in *Carassius carassius*, 9 in *Cyprinus carpio*, and 16 in *Hemibarbus labeo*. The patterns of plasma protein on the each species of fishes were different in the number of bands, ratio of contents, relative mobilities, and forms of fractionation.

Ferris 等¹⁾은 사람의 血清 蛋白質을 disc 電氣泳動法에 의하여 分離研究하였고 Jones 等²⁾은 魚卵의 蛋白質을 分割하였으며 朝倉等³⁾은 salmonella 의 菌鞭毛에서 flagellin 을 分離하였다. Nakano 等⁴⁾은 魚卵중에서 LDH isozyme 을 分離하였고 Evans 등⁵⁾은 種子 蛋白質을 分離한바 있다. 金等^{6,7)}은 腺蛋白을 disc electrophoresis에 의하여 分離하였다.

著者들은 今般 disc electrophoresis에 의하여 數種의 淡水魚類의 血漿 蛋白質을 分離하였고 分割된 pattern의 數와 量의 比 및 相對移動度에 의한 位置등을 檢討하였기에 이에 報告하는 바이다.

實驗方法

試料—漢江流域에棲息하는 *Anguilla japonica*(장어), *Misgurnus mizolepis*(미꾸리지), *Parasilurus asotus*(메기), *Siniperca scherzeri*(쏘가리), *Pelteobagrus fulvidra*(동자개), *Carassius carassius*(붕어), *Cyprinus carpio*(잉어) 및 *Hemibarbus labeo*(눈치)등 8種의魚種을擇하여各魚種에서成魚 5~8首씩採集하여心臟 또는毛細血管으로부터血液을採取하고그血漿을試料로하였다.

裝置 및 機器—Disc電氣泳動裝置⁸⁾는透明한메타아크릴로만든內徑15cm, 높이6cm의원통형電極槽2個를上下로組立한것으로서上層槽의바닥에는同心圓上에直徑1.5cm의column삽입용孔(adapter)이8개가있으며上下각中心部에白金線電極을固定한장치를사용하였다.

電源의volt range는0~1,000V, ampere range는0~100mA까지조정될수있는shandon power supplier를 사용하였다.

Chromato scanner는 Shimadzu Dual-wave length TLC scanner, C. S-900을 사용하고tube型의disc電氣泳動gel用特殊cell(Quartz)을 이용하였다.測定條件은Transmission으로하고Sens. $\times 1$, Slit. 0.1 \times 1.0, wave-length reference 730, Sample 555, Scan. speed, 10mm/min.으로하였다.

實驗

內徑6.5mm, 길이9cm의glass column내에試料gel,濃縮gel및分離gel을조제하여重合하였다.이때試料의量은4~20μl로하였고gel조제방법은金等^{6,7)}의方法을이용하였으며分離gel은7%acrylamide gel로만들었다.實驗方法은J. Broome,⁹⁾金等⁷⁾의방법을준용하였다.위의column을泳動裝置의adapter에삽입한후에上下電極槽에buffer sol.로서tris-glycine용액을넣어電極이약1cm정도잠기게하고上層電極槽에는追跡染色液으로0.01%bromphenol blue(BPB)液을1滴넣은후上層을陰極,下層을陽極으로연결하여每column當5mA의電流를흐르게하면서泳動하였다. BPB의青色disc band가column下部5mm정도에이를때에電流를中斷시키고泳動을끝냈다.

電氣泳動이끝난column은그속의gel을상처가나지않게주의하면서빼내고試驗管에넣어약1시간동안0.5%aniline blue black液으로染色하고脫色管에옮겨電氣泳動대와同一한操作에의하여脫色을하되上下電極槽에7%acetic acid를넣고每gel當12.5mA의電流가흐르도록하였다.脫色이끝난gel은7%acetic acid용액이든試驗管에넣어서保存하였다.

上記조작에의하여gel내에分離된各種의band를肉眼및사진으로觀察하였고특수cell에넣어chromato scanner로scanning하여linear peak를기록하였다.

結果 및 考察

Anguilla japonica(장어)의血漿蛋白質의分劃像은Fig. 1에서보는바와같이13個의band로分離되었다.相對移動度(Rm)가0.54인band10의위치에서가장높은peak가나타났고다음으로band1(Rm:0.02), band3(Rm:0.17), band8(Rm:0.39)및band7(Rm:0.34)과

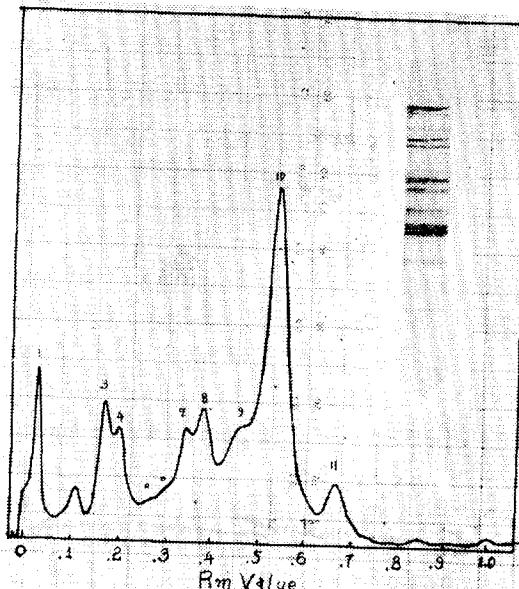


Fig. 1—The electrophoresis of *Anguilla* plasma proteins.

band 4($R_m : 0.2$)의 순으로 peak의 높이가 작게 나타났으며 그외의 band들은 더욱 낮았으며 band 2($R_m : 0.11$)가 가장 낮았다.

장어의 血漿蛋白質의 分割像은 사람의 血漿蛋白質分割像과 比較할때 사람 血漿蛋白質에서는 16個의 band 가 分割되었는데 장어에서

는 13個의 band 가 分割되었다. 量의 相對比率로 보면 Table I과 같고 사람의 血漿蛋白質의 band에서는 $R_m 0.64$ 에서 34.7%로 많았으나 장어에서는 $R_m 0.54$ 인 band 10이 49.1%로 많은것이 특색이었으며 기타 band는 대체로 10% 以下이며 band 1이 8.3%, band 8이 7.2%, band 9가 6.5%, band 3이 5.7%이고 기타 band들은 더 적은 量이 나타났으며 band 12($R_m :$

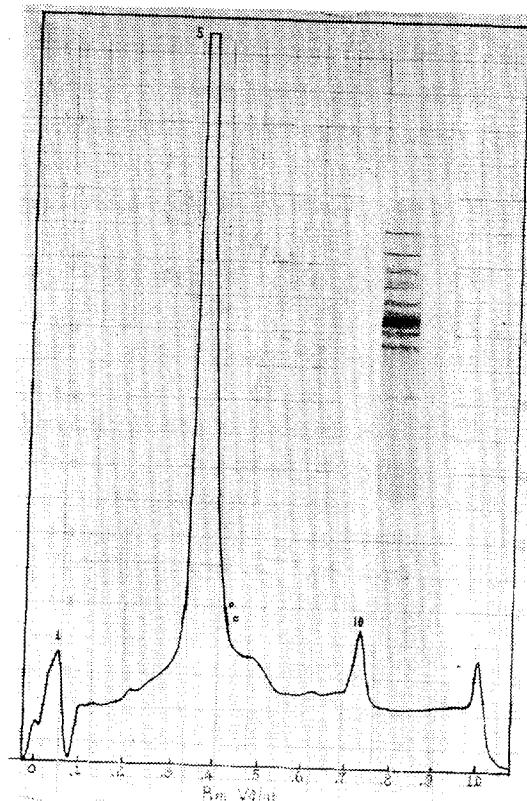


Fig. 2—The electrophoresis of *Misgurnus* plasma proteins.

Table I—The relative mobilities (R_m) and ratio of contents for the each plasma protein band of *Anguilla japonica*

No. of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
R_m value	0.02	0.11	0.17	0.2	0.27	0.3	0.34	0.39	0.47	0.54	0.67	0.79	0.85
Rate of contents	8.3	3.2	5.7	5.3	1.3	1.4	5.3	7.2	6.5	49.1	5.6	0.2	0.7

Table II—The relative mobilities and ratio of contents for the each plasma protein band of *Misgurnus mizolepis*

No. of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
R_m value	0.05	0.1	0.13	0.21	0.36	0.42	0.43	0.49	0.63	0.73
Rate of contents	4.8	1.2	1.3	1.6	74.2	1.4	1.9	5.7	2.4	5.5

0.79)가 0.2%로 가장 적게 나타나고 있었는데 사람血漿蛋白質에서는 band 16($R_m : 0.91$)에서 0.2%로 가장 적은量을 보여주고 있다.

Misgurnus mizolepis(미꾸라지)의 血漿蛋白質은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 10個의 band가 分割되어 사람血漿蛋白質의 分割 band보다 6個나 적었다. 相對移動度가 0.36인 位置에 있는 band 5가 특이하게 높게 分割되었고 그외에는 비교적 작은 band 들로 나타났다. 그중에서 band 1($R_m : 0.05$), band 10($R_m : 0.73$)등이 다소 뚜렷하였다. 量의 相對比率은 Table II에서 보는 바와 같이 미꾸라지 血漿蛋白質分割像에서는 사람 血漿蛋白質分割像 중 가장 높은 $R_m : 0.64$ 部位와 近似한 位置에서는 거의 peak 가 안보였으나 오히려 $R_m : 0.34$ 인 사람 血漿蛋白質에서 2位로 높은 peak 가 나타난 部位와 근사한 위치인 $R_m : 0.38$ (band 5)에서 가장 높은 peak 가 나타나고 있음을 알 수 있었다. 量의 相對比率로 보아도 band 5가 74.2%로 특이하게 커으며 band 8 및 band 10이 각각 5.7% 및 5.5%이었고 band 1 및 band 9가 각각 4.8% 및 2.4%이었다. 나머지 5個의 band들은 2% 以下의 적은 量이었으며 band 2($R_m : 0.1$)와 band 3($R_m : 0.13$)이 가장 적어 각각 1.2% 및 1.3%이었다. 미꾸라지는 다른 band 들에 비하여 globulin 으로 추정되는 band 5를 절대적으로 많이 함유하고 있음을 나타내었다.

Parasilurus asotus(매기)의 血漿蛋白質의 分割像是 Fig. 3에서 보는 바와 같이 15個의 band로 分割되었으며 사람보다는 band 1個가 적었으나 試驗魚種中에서는 band 數가 가장 많았다. 相

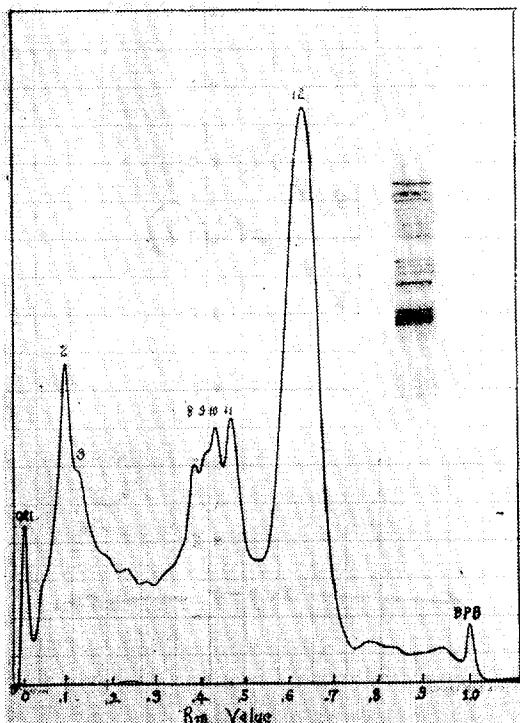
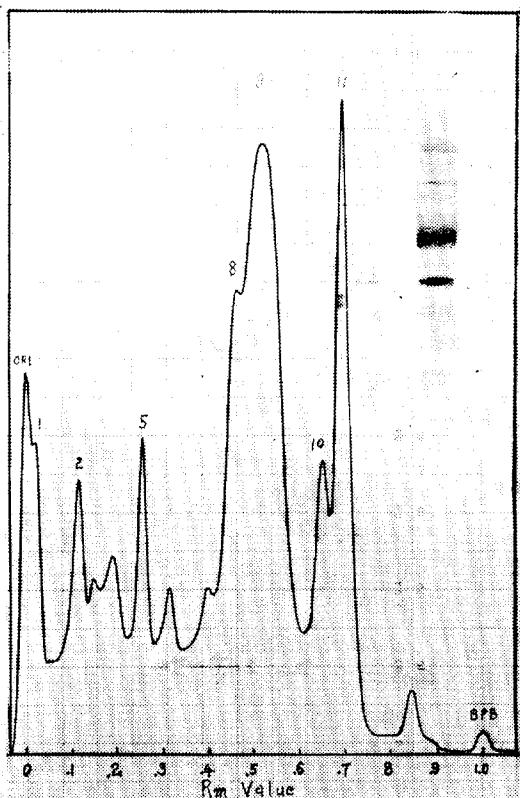


Fig. 3—The electrophoresis of *Parasilurus* plasma proteins.



白質分剖像에서 가장 높은 peak가 사람에서 Rm 0.64부위에 나타났는데 메기에서도類似한 위치인 Rm 0.62부위에서 가장 높았을은 흥미로운 일이다. band 4, 5, 6, 7, 13, 14 및 15등은肉眼으로 상당히 흐리게 보였으며 scanning에서도 역시 특징없는 작은 peak로 나타났다. 이들 band間의量的相對比率은 Table III과 같고 band 12가 52%로서 가장 많으며 다음으로 band 2가 10.7%, band 11이 8.9%, band 8이 5.2%이며 다른 band들은 5%以下였으며 band 14(Rm : 0.83)가 가장 적어 0.8%이었다. 메기의 전체적인 pattern分布像은 장어와類似한 형태를 보여주고 있다.

Table III—The relative mobilities and ratio of contents for the each plasma proteins band of *Parasilurus asotus*

No. of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Rm value	0.04	0.1	0.13	0.18	0.23	0.28	0.32	0.38	0.42	0.43	0.46	0.62	0.77	0.83	0.94
Rate of contents	1.0	10.7	4.3	2.2	2.3	1.7	2.3	5.2	2.3	3.4	8.9	52.0	1.2	0.8	1.7

Table IV—The relative mobilities and ratio of contents for the each plasma proteins band of *Siniperla scherzeri*

No. of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Rm value	0.03	0.11	0.15	0.18	0.25	0.32	0.4	0.46	0.51	0.65	0.69	0.84
Rate of contents	4.0	7.8	1.8	4.1	6.6	3.4	3.9	8.4	28.6	5.3	23.9	2.2

Siniperla scherzeri(초가리)의 血漿蛋白質의 分剖像은 Fig. 4에서 보는 바와 같이 12個의 band로 分剖되었다. 相對移動度가 0.69인 band 11의 위치에서 가장 높고 예리한 peak가 나타났고 Rm 0.51인 band 9가 다음으로 높은 peak를 나타냈다. 다음 순위로는 band 8(Rm : 0.43), band 2(Rm : 0.11), band 5(Rm : 0.25), band 9(Rm : 0.51), band 4(Rm : 0.18)등의 순으로 점차 낮은 peak를 보여 주었다. Band 8은 band 9에 密着되어 있어서 아주 크게 보였다. 나머지 band들도 흐리기는 하나 확실히 band를 형성하였고 scanning에서도 명확히 peak가 나타났다. 量의 相對比率은 Table IV와 같고 band 9가 28.6%로서 가장 많고 다음으로 band 11이 23.9%로 높았으며 나머지 band는 10%以下로서 band 8이 8.4%, band 2가 7.8%, band 5가 6.6%, band 10이 5.3%이고 band 3이 가장 적어 1.8%이었다.

Pelteobagrus fulvidra(동자개)의 血漿蛋白質分剖像은 Fig. 5에서 보는 바와 같이 11個의 band로 分剖되었다. 相對移動度가 0.37인 band 6의 위치에서 가장 높은 peak가 나타났고 다음으로 band 9(Rm : 0.55), band 10(Rm : 0.59), band 1(Rm : 0.03) 및 band 5(Rm : 0.22)등이 비교적 명확한 peak로 分離되었다. 사람에서 Rm 0.64부위에서 가장 높았고 다음이 Rm 0.36부위인데 이것과 비교할 때 동자개는 반대로 Rm 0.37부위에서 가장 높았고 Rm 0.65부위가 다음 순이었다. 量의 相對比率은 Table V와 같고 band 6이 61.5%로서 절대적으로 많은 量을 차지하고 있으며 band 10이 9.5%, band 9가 7.5%, band 5가 5.8%, band 1이 5.5%로 10%以下이며 나머지 band들은 더욱 적어 4%이하의 量이었으며 band 2 및 band 4가 가장 적어 각각 1.0%이었다.

Carassius carassius(붕어)의 血漿蛋白質의 分剖像是 Fig. 6에서 보는 바와 같이 13個의 band

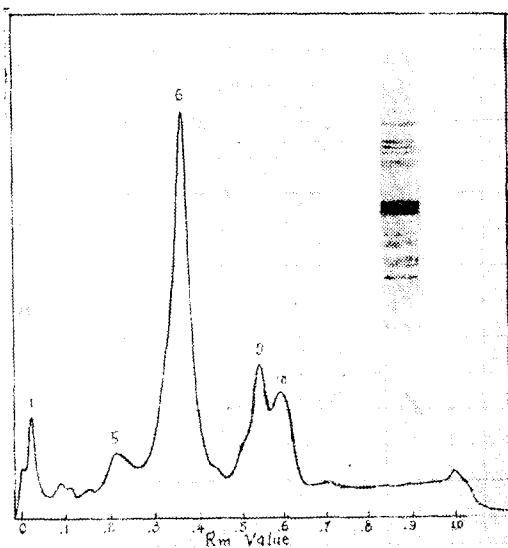


Fig. 5—The electrophoresis of *Pelteobagrus* plasma proteins.

對移動度가 0.62인 band 12의 위치에서 가장 높은 peak 가 나타났고 다음은 band 2(Rm : 0.1), band 11(Rm : 0.46), band 10(Rm : 0.

43)의 순으로 점차 낮은 band 가 나타났다. 血漿蛋白로 分割되었다. 相對移動度가 0.33인 band 6의 위치에서 가장 높은 peak 가 나타났고 Rm: 0.58인 band 10의 위치에서도 상당히 높은 peak 가 나타났다. 이는 동자개에서 Rm : 0.37에서 가장 높은 peak 가 나타났고 다음이 Rm : 0.59에서 나타난것과 類似한 像이었다. 다음으로 band 8(Rm : 0.47), band 2(Rm : 0.08) 및 band 9(Rm : 0.51)의 순위로 peak 가 다소 낮아졌고 나머지 band 들은 더욱 작은 것들이었다. 量의 相對比率은 Table VI와 같고 band 6이 41.1%로 가장 많고 band 10이 29.4%, band 8이

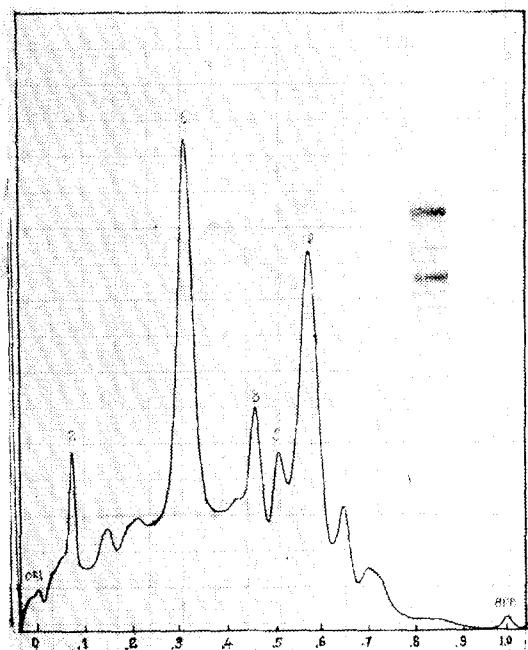


Fig. 6—The electrophoresis of *Carassius* plasma proteins.

Table V—The relative mobilities and ratio of contents for the each plasma protein band of *Pelteobagrus fulvidra*

No. of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Rm value	0.03	0.09	0.11	0.15	0.22	0.37	0.45	0.51	0.55	0.59	0.71
Rate of contents	5.5	1.0	0.7	1.0	5.8	61.5	1.4	3.1	7.5	9.5	3.2

Table VI—The relative mobilities and ratio of contents for the each plasma protein band of *Carassius carassius*

No. of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Rm value	0.06	0.08	0.15	0.19	0.22	0.33	0.42	0.47	0.51	0.58	0.65	0.71	0.85
Rate of contents	1.8	4.4	3.8	1.8	2.8	41.1	3.3	7.4	4.4	20.4	4.1	3.8	0.8

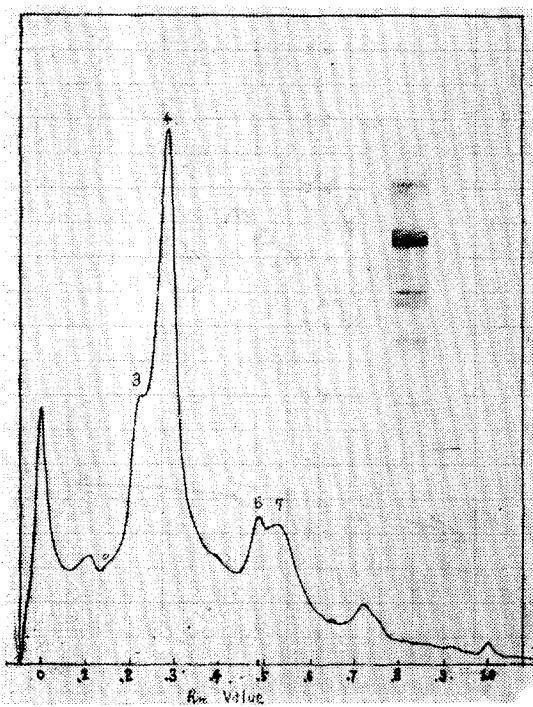


Fig. 7—The electrophoresis of *Cyprinus* plasma proteins.

7.4%이며 나머지 band들은 5% 以下의量이었다. band 1($R_m : 0.06$) 및 band 4($R_m : 0.19$)가 가장 작아 각각 1.8%이었다.

Cyprinus carpio(잉어)의 血漿蛋白質의 分割像은 Fig. 7에서 보는 바와 같이 分割된 band數는 9個로 他魚種에 比하여 가장 적은 數이었다. 잉어의 分割像은 一見 동자개의 分割像과

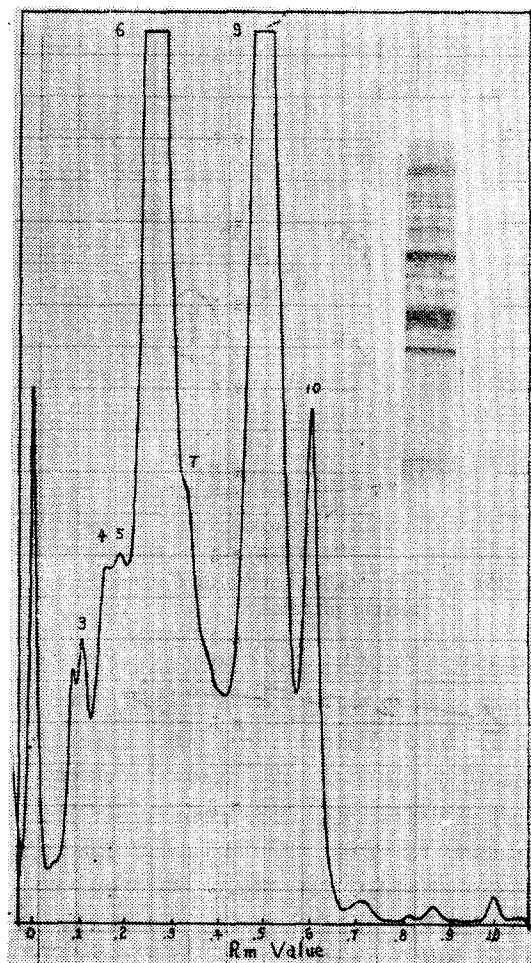


Fig. 8—The electrophoresis of *Hemibarbus* plasma proteins.

Table VII—The relative mobilities and ratioof contents for the each plasma protein band of *Cyprinus carpio*

No. of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Rm value	0.11	0.15	0.22	0.29	0.39	0.49	0.53	0.65	0.72
Rate of contents	4.8	1.5	11.9	52.2	5.5	6.6	11.6	1.1	4.9

Table VIII—The relative mobilities and ratio of contents for the each plasma protein band of *Hemibarbus labeo*

No. of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Rm value	0.05	0.09	0.11	0.15	0.19	0.26	0.33	0.37	0.5	0.6	0.71	0.81	0.86
Rate of contents	0.3	1.9	2.1	3.3	3.4	32.6	4.8	2.2	37.4	11.3	0.5	0.1	0.3

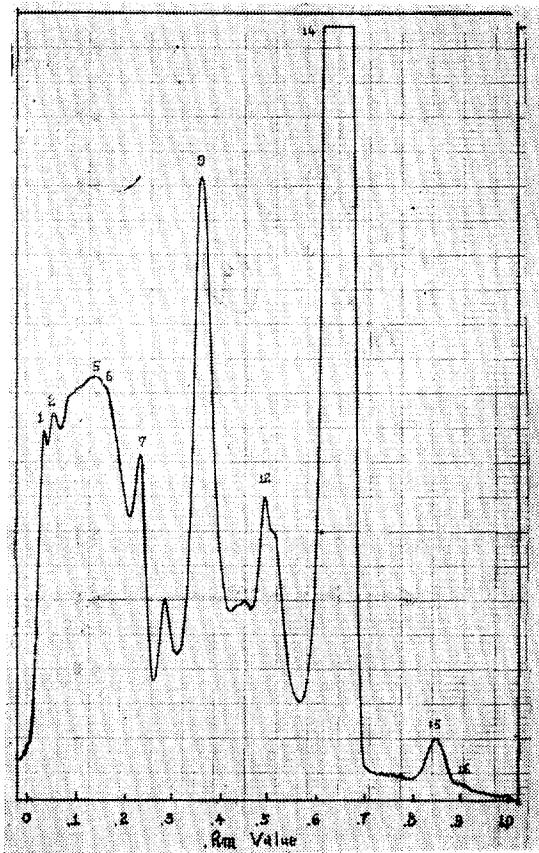


Fig. 9—Disc electrophotograms for the proteins of human plasma.

外觀上 類似하게 보였으며 相對移動度가 0.29인 band 4의 위치에서 제일 높은 peak 가 나타났고 다음으로 band 3(Rm : 0.22)이 band 4에 密着되어 있으나 높았으며 band 1(Rm : 0.11), band 7(Rm : 0.53) 및 band 6(Rm : 0.49) 등이 비교적 명확한 peak 를 나타냈으며 나머지 band 들은 peak 가 낮게 나타나고 있다. 量의 相對比率은 Table VII에서 보는 바와 같이 band 4가 52.2%로서 가장 많은 量을 차지하고 있으며 band 3이 11.9%, band 7이 11.6%, band 6이 6.6%의 순으로 나타났다. band 8(Rm : 0.65)이 가장 적어 1.1%이었다.

Hemibarbus labea(눈치)의 血漿蛋白質의 分割像是 Fig. 8에서 보는 바와 같이 分割數가 붕어나 장어와 같이 13個로 分割되었다. 相對移動度가 0.26인 band 6 및 0.5인 band 9의 兩位置에서 가장 높은 peak 가 2個 나타났으며 다음으로 band 10(Rm : 0.6) 및 band 7(Rm : 0.33)이며 band 7은 band 6과 接着되어 있었다. Band 5(Rm:0.19) 및 band 4(Rm:0.15)도 相互密接되어 있으면서 큰 peak 를 形成하고 있었다. 相對的으로 극히 낮은 peak 로 나타난 것은 band 11, band 12 및 band 13이었다. 量의 相對比率은 Table VIII에서 보는 바와 같이 band 9가 37.4%로 제일 많고 band 6

Table IX—The relative mobilities and ratio of contents for the each protein band of human plasma

No. of band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Rm value	0.03	0.05	0.08	0.1	0.14	0.16	0.23	0.29	0.36	0.43	0.45	0.49	0.52	0.64	0.85	0.91
Rate of contents	4.3	3.8	2.3	2.4	5.8	4.8	4.7	3.5	20.6	0.8	1.6	4.2	4.7	34.7	1.6	0.2

이 32.6%, band 10이 11.3%이었고 나머지 band 들은 모두 5% 이하이었다. 특히 band 11, band 12 및 band 13은 1% 以下의 量을 보여주고 있다.

以上의 8種魚類의 血漿蛋白質이 disc 電氣泳動法에 의하여 모두 선명하고 확실한 9~15個의 band로 分離된 것을 볼 수 있었고 각각의 魚種에 따라 分離된 band의 數가 大體로 相異하였으며 量의 相對比率도 서로 特異하였다. 또한 分離된 band의 像이나 크기 및 移動거리등이 서로 特異함을 알 수 있었다. 試料중 큰 band의 相對移動度가 서로 相異하여 제일 많이 함유된 血漿蛋白質의 種類가 魚類에 따라 다르다는 것을 보여 주고 있다.

結 論

1. 이試驗은 漢江에서 수집한 8種의 淡水魚類의 血漿蛋白質을 disc 電氣泳動法으로 分離하여 分割像을 얻었다.
2. 試驗 魚種別 血漿蛋白質의 分割 band 數는 각각 장어가 13個, 미꾸라지가 10個, 배기가 15個, 쇠가리가 12個, 동자개가 11個, 봉어가 13個, 잉어가 9個 그리고 눈치가 13個이었다.
3. 魚種에 따라 血漿蛋白質 分割의 數와 量의 比 및 分割 形態 등이 서로 特異하였다.

文 獻

1. T.G. Ferris, R.E. Easterling and R.E. Budd, *Anal. Biochem.*, 8, 477 (1964).
2. H. Jones and K. Yamagami, *Zool. Mag.* 73, 127 (1964).
3. 朝倉, 江口, 飯野, *J. Mol. Biol.*, 16, 302 (1966).
4. E. Nakano and A.H. Whitletey, *J. Exp. Zool.*, 159, 167 (1965).
5. W.J. Evans, W.B. Carney, J.M. Dechary and A.M. Altschul, *Arch. Biochem. Biophys.*, 96, 233 (1962).
6. 金源准 外 2人, *J. Korean Med. Assoc.* 15, 63 (1972).
7. 金源准 外 2人, *ibid.*, 15, 64 (1972).
8. L.I. Rogers, *Biochim. Biophys. Acta*, 94, 324 (1965).
9. J. Broome, *Nature*, 199, 179 (1963).