

한국산 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*) Alcohol
dehydrogenase의 전기영동상 및 활성에 대한 연구

鄭 琮 載 · 尹 蓮 植
(梨花女子大學校 · 科學教育科)

A Study on Electrophoresis and Activity of Alcohol
Dehydrogenase of *Drosophila melanogaster*

Yong-Jai Chung and Youn-Sik Yoon
(Dept. of Science Education, Ewha Womans University)
(Received June 20, 1980)

Summary

The purpose of the present study is to investigate the electrophoretic patterns of ADH isozymes and activity at various developmental stages of Oregon-R and Kwangju strains of *D. melanogaster*. The ADH isozymes were separated by agarose gel plate electrophoresis and they were stained for ADH activity study.

The optical density was measured by using densitometer and the total activity was determined by measuring the enzyme solution's absorbance of 340 nm by spectrophotometer.

The results are as follows:

1. At egg stages of Oregon-R and Kwangju strains ADH 2, ADH 3, ADH 4 were observed in the zymograms, but all of ADH 1, ADH 2, ADH 3, ADH 4 and ADH 5 were detected in larval, pupal and imaginal stages.
2. The amount of ADH 1+ADH 2 (anion) was 20-40% and that of ADH 3+ADH 4+ADH 5 (cation) was 60-80%. In the developmental stages other than egg stages, ADH 3 of both strains showed the largest amount among all ADH isozymes, and especially ADH 4 of Kwangju strain showed less amount than that of Oregon-R strain.
3. The total activity of the ADH at the egg stage was found to be the lowest, at larval stage became to be higher and to be lower

at pupal stage and then became to be the highest at the imaginal stage. It is noticeable that the activity of the ADH in Kwangju strain was higher than that in Oregon-R strain.

서 론

최근 유전형질의 발현문제에 관하여 생화학적인 면을 많이 도입하는 경향이 있는데 이런 연구중의 하나로 유전자에 의해 제 1 차적으로 만들어지는 효소에 촛점을 두어 유전자의 작용과 효소와의 관계를 탐구하려는 노력이 활발히 진행되고 있다.

그중에서도 Alcohol dehydrogenase (ADH)의 작용은 기질인 alcohol을 산화시켜 aldehyde가 되게 하며 여기에 aldehyde oxidase가 작용하여 alcohol을 분해시킨다. 초파리의 ADH기능은 확실히 알려져 있지 않지만, 환경에 적절한 반응을 하여 외부의 alcohol을 해독시키거나, 이 alcohol을 이용하기도 하며 경우에 따라서는 해독작용과 동시에 이용하기도 한다(McDonald & Avise, 1976).

초파리의 경우에 ADH를 만드는 구조유전인자는 제 2 염색체위에 존재하며 ADH의 활성에 영향을 주는 유전자는 조절유전자로 제 3 염색체에 있고 이들에 의해 ADH분자수를 적절히 조절하여 적응을 유도한다고 보고되어 있다 (McDonald & Francisco, 1978). 이때 적응된 ADH의 활성이 높은 초파리가 기질에 alcohol을 첨가시킬 때 생존력이 높은 것은 조절유전자의 변화에 의한다고 생각된다 (McDonald *et al.*, 1977). 이외에도 초파리를 재료로 한 보고가 많이 있다 (Grell *et al.*, 1965; Coyne & Felton, 1977; O'Donnell *et al.*, 1974; Ursprung & Carlin, 1968; Morgan, 1975; Thompson & Kaiser, 1977; McKenzie & McKenzie, 1978; Clarke *et al.*, 1979; Thatcher & Camfield, 1977; Fukutami, 1977; Triantaphyllidis, 1977).

초파리를 재료로 ADH isozyme를 연구할 때 대개의 경우 노랑초파리(*Drosophila melanogaster*)를 사용하는 데 이는 초파리분류 중 종간에 homology의 광범위한 관계를 분자수준에서 설명하는 데 좋은 자료가 되기 때문이다 (Jha *et al.*, 1978). 노랑초파리를 재료로 ADH활성을 측정하였을 때 각 발생단계마다 차이가 나타나며, isozyme이 생겼다 없어지는 것을 Dunn *et al.* (1969)은 ADH가 생리적으로 조절되고 isozyme form을 생기고 없어지게 하는 기작이 존재한다고 밝혔다. 또한 노랑초파리의 ADH isozyme을 전기영동으로 분리한 후 차이를 조사하면 빠르게 이동한 F type과 느리게 이동한 S type이 발견되는 데 이들을 ADH유전좌위인 Adh^F 와 Adh^S 에 의한 것이며, Adh^F/Adh^S 는 FS type으로서 heterozygous한 것이다 (Grell *et al.*, 1965; Wright & Shaw, 1970).

한국산 노랑초파리의 ADH에 대한 연구는 Chung & Lee (1972)에서 부터 시작되었으며, 그들의 한국산 노랑초파리의 생화학적 집단유전학의 체계를 세우기 위하여 한국의 18 개지역에서 채집하여 ADH의 영동상, 이동도를 조사하였다. 또한 Chung & Oh (1974)는 acrylamide gel을 이용하여 한국산 노랑초파리 ADH isozyme에 대하여 보고한 바 있으며, Chung (1977)은 한국산 노랑초파리 ADH 인자형에 관한 연구를 하였으며, 강 (1978)은 한국산 노랑초파리의 자연집단을 대상으로 하여 agarose 전기영동법에 의해서 ADH의 인자빈도를 조사한 바 있다. 아울러 정 (1979)은 한국산 노랑초파리의 ADH의

계절적 변화에 대한 연구를 하였으며, 오등 (1979)은 노랑초파리의 ADH활성과 분리에 대한 연구를 한 바 있다.

지금까지의 여러 보고들을 감안하여 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*)의 Oregon-R strain과 Kwangju strain을 실험재료로 하여 발생단계에 따른 ADH의 전기영동상과 각 isozyme 및 활성을 비교하여 한국산 노랑초파리의 생화학적 특성을 추궁하는 것이 본 연구의 목적이다.

재료 및 방법

A. 초파리

1. Oregon-R strain : 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*) 중 가장 standard한 형태를 지닌 것으로 오랜기간 동안 이화여자대학교 과학교육과 유전학연구실에서 standard-corn-meal-yeast-ager media로 항온실 (25±1°C)에서 사육하여 보관해온 strain을 사용하였다.

2. Kwangju strain : 1978년 7~9월 사이 전남의 광주지역에서 채집된 노랑초파리로 Oregon-R과 같은 방법으로 사육하여 보관해온 strain을 사용하였다.

B. 초파리 발생단계별 사육보존

초파리의 4가지 발생단계 (알, 유충, 번데기 및 성충)를 준비하기 위하여 아래와 같은 방법을 이용하였다.

알을 채취하기 위하여 직경 5 cm, 높이 15 cm 되는 병의 양끝을 잘라서 윗부분은 통기를 위하여 가아제로 마개를 하였고 아랫부분에는 agar-acetic media판 (100ml의 물에 3g agar와 2.5 ml ethyl alcohol 및 1.5 ml acetic acid로 만든다)을 페트리접시에 얇게 만들어 주어 알의 산란을 촉진시켰다. 우화되지 3~5일이 경과된 초파리 300~400마리를 병속에 넣어 agar-acetic media판에 알을 낳게 하였다. 주위는 어둡게 하였으며 25°C 항온실에서 5시간 간격으로 채취하여 냉한보관하였다. 유충은 agar-acetic media에 있는 알을, standard-corn-meal-yeast-ager media를 페트리접시에 준비한 후, 이곳에 옮겨 90시간이 경과한 후 3령유충이 된 것을 채취하여 보관하였다. 번데기는 전술한 방법으로 120시간이 경과하였을 때 채취하여 보관하였다. 성충은 직경 5 cm, 높이 15 cm되는 병에 standard-corn-meal-yeast-ager media를 4 cm정도 부어 산란기가 적절한 초파리 40~50마리를 넣어주어 알에서 성체로 된 후 3일된 초파리를 채취하여 보관하였다.

C. 효소추출

알, 유충 및 번데기 각각의 무게 1g에 4 ml의 0.1 M phosphate buffer (pH 7.5)를 넣고 microhomogenizer로 10분간 얼음위에서 균질화시킨 다음 24000 g로 1시간 동안 4°C에서 원심분리시켰다. 상등액에서 cell debris를 제거하기 위하여 Toyo No. 4 filter paper로 걸러서 효소액을 추출하였다. 이 효소액을 각각 -40°C로 냉동보관하였다가 전기영동과 효소활성분석에 사용하였다.

성충은 우화되지 3일된 초파리 10 g과 0.1 M phosphate buffer (pH 7.5) 40 ml을, 증류수로 씻어 미리 -40°C로 냉각시킨 막자사발에 넣으며 균질화를 도와주는 seasand (초파리와 섞일 정도)와 함께 얼음위에서 10분간 균질화시켰다. 이렇게 균질화된 용액을 위

와같은 방법으로 준비한 후 -40°C 에 냉동보관하였다가 전기영동과 효소활성분석에 사용하였다.

D. 전기영동법

본 실험에서는 agarose gel 전기영동방법을 이용하여 효소의 양상을 조사하였고 gel을 만들기 위하여서는 유리판 ($0.2 \times 10 \times 11$ cm)을 이용하였다. 농도는 3%로 agarose 1g과 polyvinylpyrrolidone 2g을 $\frac{1}{10}$ 로 희석한 ethylene boric tris (E.B.T) buffer 33 ml (pH 8.7)와 증류수 67 ml의 혼합액속에 넣고 1시간동안 끓는 물에서 증탕시켰다. 유리판을 뜨겁게하여 수준을 맞춘 곳에서 기포가 생기지 않게 gel을 부은 다음 응고되었을 때 냉각고에서 5°C 로 10분간 보관한 후 사용하였다.

준비한 효소용액을 1×4 mm 크기의 Whatman No.1 filter paper에 충분히 흡입시켜 gel 위에 spotting 한 후 30분간 냉각고안에서 보관하여 gel속에 효소용액이 흡입되면 strip을 제거하였다. 그 후 E.B.T. buffer (pH 8.7)을 7.4 g disodium ethylene diamine tetra acetate와 30.9 g boric acid 및 109.1 g tris를 증류수 1000 ml에 녹여 만든 후, 두 chamber에 나누어 넣고 filter paper (Whatman No. 1)로 bridge시킨 다음 gel을 전기영동시켰다. 전장의 세기는 20 volt/cm로 일정하게 하여 90분동안 전개시켰다.

E. ADH의 activity staining

염색용액은 증류수 30 ml에 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 8.7) 10 ml을 잘 섞고 조효소 0.07 M nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) 0.25 ml과 염색시약 0.03 M nitro blue tetracetate (NBT) 1 ml 및 기질 isopropyl alcohol 2 ml을 넣고 이온전달체인 phenazine methosulfate (PMS)를 0.01 g 섞어 준비하였다. 전기영동이 끝난 gel을 유리판에서 떼어 염색용액에 넣고 37°C incubator에서 1시간 반응을 시켰다. 이때 염색용액이 광선에 의해 blue로 변하므로 가능한 한 광선을 차단시켰다. 반응이 끝난 gel을 7% acetic acid 용액에 2시간 넣어 고정시켰다.

ADH염색은 일련의 반응에 의해 눈으로 볼 수 있는 blue의 침전물을 만들며, 이를 보관하기 위해 50°C oven에서 건조시켰다.

E. ADH isozyme 분석

ADH를 agarose로 전기영동시킨 gel을 activity staining시킨 후 완전히 탈색하여 gel cutter로 gel을 자르고 Jarell Ash microphotometer로 550 nm에서 각 isozyme band를 관찰하였다. 각 isozyme의 peak에서 제일 어두운 부분을 조사하여 그 비로써 isozyme의 분포를 나타내었다. 이 방법은 각 isozyme의 band를 amido black으로 염색시킨 것을 microphotometer에서 측정된 값과 activity staining을 시켜 측정된 값이 서로 정비례의 관계에 있는 것이 알려졌다으므로 activity staining에 의한 isozyme 분포를 isozyme activity로 대신하여 사용하였다.

G. 활성분석

ADH의 total activity는 Worthington (1972) 방법에 의하여 분석하였다. 즉 Beckman Model 25 Spectrophotometer 2ml의 cell에 0.032 M sodium pyrophosphate buffer (pH 8.8) 1.0 ml 25×10^{-8} M NAD 1.5 ml과 2 M ethanol 0.5 ml을 넣고 흔들어 섞은 후 ADH 효소용액 0.2 ml을 넣자마자 흔들어 완전히 섞어 340 nm에서 1분간 absorbance의

증가를 측정하였다. 이 값으로 부터 활성을 다음과 같이 계산하였다.

1 unit는 25°C에서 1 μ mole의 NAD가 1분동안 NADH로 환원되는 것으로 정의했으며 specific activity는 unit/mg protein으로 나타내었다.

$$\text{unit/mg protein} = \frac{\Delta A \text{ 340/min}}{6.2 \times \text{mg ADH/ml reaction mixture}}$$

H. 단백질 정량

protein의 양은 Folin assay방법에 의하여 분석하였으며 (Lowry *et al.*, 1951) 표준 단백질로서는 bovine serum albumin을 사용하였다.

결 과

Oregon-R strain과 1978년 7~9월 사이에 채집된 Kwangju strain을 실험재료로 전기영동상, ADH isozyme 및 활성을 초파리 발생단계별로 조사한 결과는 다음과 같다.

A. 전기영동상

Agarose 전기영동법에 의해 분리한 isozyme 양상은 ADH 1, ADH 2, ADH 3, ADH 4, ADH 5이다. Oregon-R strain의 발생 4단계에 따른 효소양상을 조사하면, 알에서는 ADH 2, ADH 3, ADH 4가 뚜렷하게 보이며 유충, 번데기 및 성충에서는 알에서 볼 수 없었던 ADH 1, ADH 5가 다 나타나서 ADH 1, ADH 2, ADH 3, ADH 4, ADH 5가 관찰되었다 (Fig. 1).

Kwangju strain에서도 isozyme이 알에서 ADH 2, ADH 3, ADH 4가 뚜렷하게 보이며, 유충 번데기 및 성충에서는 ADH 1, ADH 2, ADH 3, ADH 4, ADH 5가 나타나므로 Oregon-R과 같은 결과를 나타내었다 (Fig. 2).

결과적으로 Oregon-R strain과 Kwangju strain은 유충시기부터 isozyme이 새롭게 생겨남을 알 수 있다.

B. Isozyme 분석

ADH isozyme에 대한 zymogram (Fig. 1과 Fig. 2)을 O.D. 550에서 microphotometer로 측정하였다. Oregon-R strain의 알, 유충, 번데기 및 성충에서 측정된 결과는 Fig. 5와 같으며, isozyme peak를 전체 peak의 상대적 비율을 조사하면 Table 1과 같다.

Oregon-R strain의 알시기에서 ADH 4가 ADH 2, ADH 3 isozyme 보다는 가장 큰 비율을 차지하고 있으나, 유충, 번데기 및 성충에서는 ADH 3가 다른 4개 isozyme ADH 1, ADH 2, ADH 4, ADH 5 보다는 가장 큰 비율을 차지하고 있는 것이 특이하였다. 또한 알, 유충, 번데기 및 성충에서 양극쪽으로 이동한 isozyme이 전체 isozyme의 50% 이상을 차지하고 있는 것으로 나타났다.

Kwangju strain의 발생 4단계에 따른 전기영동상의 zymogram을 O·D 550에서 microphotometer로 측정하였을 때 결과는 Fig. 4과 같이 나타났다. 이 isozyme peak에 대하여 전체 peak의 상대적인 비율을 조사하면 Table 2와 같다.

Oregon-R strain과 같이 알시기에서 ADH 4가 다른 ADH 2, ADH 3 isozyme보다 가장 큰 비율을 차지하고 있으며, 유충 번데기 및 성충에서는 ADH 3가 다른 4개의 isozyme 보다 훨씬 큰 비율을 차지하는 것으로 나타났다. 또한 알, 유충, 번데기 및 성충에서 양

Table 1. Percentage of ADH isozymes at various developmental stages of Oregon-R strain

ADH Isozyme Developmental stage	ADH 1	ADH 2	ADH 3	ADH 4	ADH 5
Egg	·	29.6	33.3	37.1	·
Larva	10.9	14.1	29.3	19.6	26.1
Pupa	19.4	19.4	28.3	15.6	17.3
Imago	13.7	18.6	36.3	13.7	17.6

Table 2. Percentage of ADH isozyme at various developmental stages of Kwangju strain.

ADH Isozyme Developmental stage	ADH 1	ADH 2	ADH 3	ADH 4	ADH 5
Egg	·	18.5	30.8	50.7	·
Larva	10.1	20.2	46.5	7.0	16.2
Pupa	12.0	20.5	36.1	12.0	19.4
Imago	4.7	12.5	50.0	10.9	21.9

극쪽으로 이동한 isozyme이 전체 isozyme의 50%이상을 차지하고 있다.

Fig. 3와 Fig. 4에서 Oregon-R strain과 Kwangju strain을 비교하면 ADH isozyme의 단백질 비율이 4가지 발생단계에서 Kwangju strain이 Oregon-R 보다 변화가 다양하며, ADH 4에 대해서는 모든 발생단계에서 Oregon-R strain이 Kwangju strain보다 큰 비율로 나타나는 것이 뚜렷하였다.

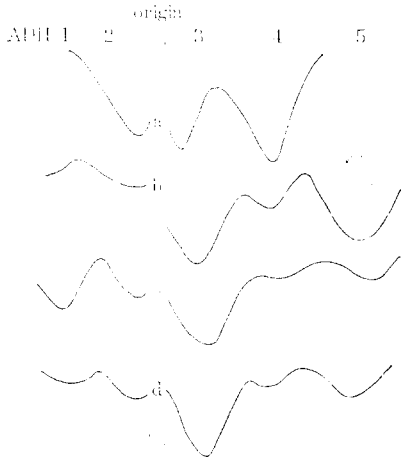


Fig. 3. Densitometric scans for ADH isozyme patterns at various stages of Oregon-R strain.
(a) embryo for 5 hours (b) larva
(c) pupa (d) imago

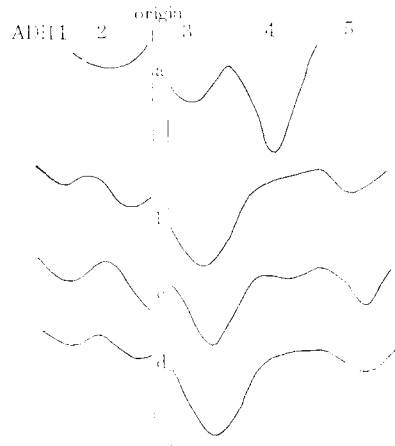


Fig. 4. Densitometric scans for ADH isozyme patterns at various stages of Kwangju strain
(a) embryo for 5 hours (b) larva
(c) pupa (d) imago

C. ADH 활성

Oregon-R strain 및 Kwangju strain의 각 발생단계에 따른 활성을 조사하면 Table 3과 같은 결과가 나왔으며 total activity를 graph로 나타내면 Fig. 5와 같다.

Table 3. Changes in activity of ADH during ontogeny of Oregon-R and Kwangju strains

Strain Activity Developmental stage	Oregon-R		Kwangju	
	Total activity unit/mg weight	Specific activity unit/mg protein	Total activity unit/mg weight	Specific activity unit/mg protein
Egg	90	3.1	90	4
Larva	180	14.5	210	23.1
Pupa	120	10.2	190	18.1
Imago	200	25.8	240	30

Oregon-R strain과 Kwangju strain에서 활성을 발생단계로 측정하여 조사하면 두 strain의 graph 모습이 일반적으로 비슷하게 나온다. 즉 알에서 활성이 가장 낮고 유충에서 높아지며 번데기에서 낮아져서 성충에 이르면 가장 높게 나타났다.

그러나 Kwangju strain이 Oregon-R strain보다 ADH 발생단계에서 활성이 높게 나타나는 것으로 strain 사이에 차이가 발견되었다.

Table 3에서 나타난 비활성 (unit/mg protein)을 graph로 그려보면 Fig. 6과 같다. 비활성에서도 Kwangju strain이 Oregon-R strain보다 모든 발생단계에서 높게 나타나는 것으로 Kwangju strain이 Oregon-R strain보다 활성이 크다는 것이 판명되었다. 이런 strain에서 발견되는 차이는 환경요소에 의하여 변화된 것으로 추측된다.

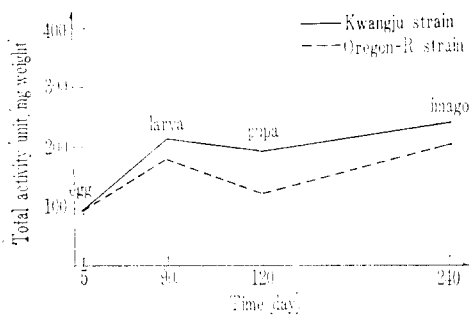


Fig. 5. Graph showing changes in total activity of ADH listed in Table 3.

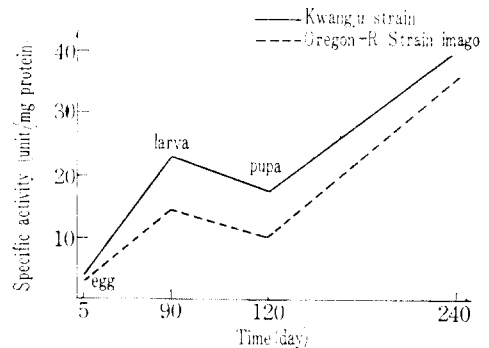


Fig. 6. Graph showing changes in specific activity of ADH listed in Table 3.

고 찰

완전변태를 하는 초파리의 특성과 ADH가 다른 효소보다도 환경에 적절한 반응을 하는

유리한 점을 이용하여 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*)인 Oregon-R strain과 Kwangju strain을 실험재료로 하여 발생 4단계에 따라 isozyme 및 활성의 변화를 조사하였다. 전기영동에 의한 zymogram을 관찰하면 Oregon-R strain과 Kwangju strain 모두가 알의 시기에서는 ADH 2, ADH 3, ADH 4 등 3개의 isozyme이 나타났고, 유충, 번데기 그리고 성충에서는 5개 isozyme ADH 1, ADH 2, ADH 3, ADH 4, ADH 5 모두 나타났다. 이 결과는 Dunn *et al.* (1969)가 발표한 것과 유사하나, ADH 3, ADH 5가 모든 시기에 나타나고 ADH 2는 번데기가 될 즉시 나타났다가 없어지며 번데기가 계속되는 동안에는 나타나지 않으며 성충에 이르러서야 나타난다는 것과는 일치하지 않는다. 그러나 효소가 발생시기가 달라짐에 따라서 필요한 isozyme이 새로이 생기며 이런 작용이 일어나도록 이끄는 기작이 존재할 수 있다는 가정에 비추어 유충시기부터 새로운 isozyme ADH 1, ADH 5를 만드는 기작이 있다고 사료된다.

전기영동에 있어서는 agarose plate 전기영동이 disc 전기영동 (acrylamide 7.5% gel)이나 slab gel 전기영동 (3% agarose gel)보다도 훨씬 취급하기 편리하고 쉽게 결과를 얻을 수 있었다. 또한 ADH 활성염색의 기질로는 isopropyl alcohol이 다른 alcohol보다 훨씬 염색이 잘 났었고 이는 Holmes (1979)의 보고와 일치하였다.

Microphotometer에 의하여 ADH isozyme 각각의 단백질을 조사하면 pH 8.7인 완충 용액에서 양극 방향으로 이동한 isozyme들의 비율이 대부분을 차지하고 음극으로 이동한 isozyme의 비율이 낮은 것은 Kamping & Vandelden (1978)이 발표한 것과 같이 빠르게 이동한 isozyme이 느리게 이동한 isozyme보다 활성이 더 높게 나타난다는 보고에 비추어, 양극 방향으로 이동한 isozyme이 (빠르게 이동한 isozyme) 활성을 높이는 데 유리한 작용을 한다고 생각된다.

한편 Table 3에 대하여 검토해보면 strain면에서 Kwangju strain이 Oregon-R strain보다 isozyme 각각의 상대비율의 변화가 크게 나타나는 데 이는 Clarke *et al.* (1979)의 보고에서 밝힌 것과 같이 ADH 단백질의 양은 media의 환경요소에 의하여 변화되어질 수 있는 것으로 추정된다. 그러나 변화원인은 확실히 알려지지 않고 다만 환경조건이 알맞는 경우 효소의 분해속도를 감소시켜서 변화가 일어나게 할 수 있으며, 혹은 효소합성이나 분해시간을 변화시켜서 일어날 수 있다고 생각된다.

Spectrophotometer에 의하여 발생단계별로 활성을 측정한 결과에 의하면 알에서 제일 낮고 유충에서 높아지며 번데기에서 낮아져 성충에서 제일 높게 나타났다. Dunn *et al.* (1969)는 활성이 변화하는 것은 ADH가 발생하는 동안 생리적으로 조절된다고 보고하였다. 따라서 알에서는 도처에 ADH의 유전자표현을 방해하는 기작이 있어서 활성을 낮게 하며 유충에서부터는 효소활성이 높아지는 것이 절실히 필요하여 이를 위한 기작이 있을 것이다. 번데기에서는 활성이 감소하는 작용이 요구되어지고 성체에서는 특히 높은 활성을 필요로 할 것이다. 위의 결과는 Wright & Shaw (1970)의 보고와도 일치하였다.

활성을 strain별로 보면 Kwangju strain이 Oregon-R strain 보다 높게 나타났다. 이것은 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*) 중에서 가장 표준이 되는 Oregon-R strain보다 환경이 다른 Kwangju strain이 환경에 더욱 잘 적응하려는 경향이 있는 것으로 추정된다. 이와 비슷한 실험으로 Vendelden *et al.* (1978)은 기질에 alcohol을 많이 섞었을 때 활성이 높은 초파리가 생존력이 크다는 발표를 한 바 있다.

실험결과를 종합하여 전기영동상의 isozyme, 단백질비율 및 활성을 조사하면 발생단계와 strain별에서도 차이를 발견할 수 있었다.

노랑초파리의 ADH에 대한 연구는 ADH의 정확한 분리와 아울러 발생단계와 환경변화에 따라 어떤 isozyme이 어떤 유전자에 의해 조절되는지 상세한 기작이 분자수준에서 더욱 연구되어야 할 것으로 생각된다.

적 요

노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*) Oregon-R strain과 Kwangju strain에서 발생단계에 따라 합성되는 효소의 양상은 다음과 같다.

1. Oregon-R strain 및 Kwangju strain의 발생 4단계에 따른 ADH isozyme pattern은 앞에서 ADH 2, ADH 3, ADH 4가 나타났고, 유충 번데기 및 성충에서는 ADH 1, ADH 2, ADH 3, ADH 4, ADH 5가 모두 나타났다.

2. ADH isozyme의 단백질을 분석하여보면 양극 방향으로 이동한 ADH 3, ADH 4, ADH 5가 대부분을 차지하고 음극 방향으로 이동한 ADH 1, ADH 2는 적은 비율로 나타났다. 한편 유충 번데기 및 성충에서 ADH 3는 Oregon-R strain과 Kwangju strain에서 가장 큰 비율로 나타나지만, ADH 4에 대해서는 Kwangju strain이 Oregon-R strain보다 훨씬 낮은 비율로 나타나는 것이 특이하였다.

3. 활성은 앞에서 가장 낮고 유충에서 높아지고 번데기에서 낮아져 성충에서 제일 높게 나타났다. Strain 별에서도 모든 발생단계에서 Kwangju strain이 Oregon-R strain보다 높게 나타났다. 이것은 환경요소에 의하여 변화될 수 있는 것으로 추정된다.

REFERENCES

- Chung, Y.J., 1977. A study of alcohol dehydrogenase alleles in the Korean strains of *D. melanogaster*. *Kor. Jour. Breeding* 9(2) : 38-42.
- Chung, Y.J., 1979. A study on the seasonal changes of alcohol dehydrogenase of the Korean *D. melanogaster*. *Jour. Kor. Res. Inst. Bet. Liv.* 23 : 159-165 (in Korean).
- Chung, Y.J. and K.S. Lee, 1972. A biochemical and genetic study of alcohol dehydrogenase in the Korean natural populations of *D. melanogaster*. *Jour. Kor. Res. Inst. Bet. Liv.* 9 : 123-132.
- Chun, Y.J. and S.H. Oh, 1974. A study of alcohol dehydrogenase of *D. melanogaster* in Korea by means of acrylamide gel electrophoresis. *Jour. Kor. Res. Inst. Bet. Liv.* 13 : 115-125.
- Clarke, B., R.C. Camfield, A.M. Galvin and C.R. Pitts, 1979. Environmental factors affecting the quantity of alcohol dehydrogenase in *D. melanogaster*. *Nature* 280 : 517-518.
- Coyne, J.A. and A. Felton, 1977. Genetic heterogeneity at two alcohol dehydrogenase loci in *Drosophila pseudobscura* and *Drosophila persimilis*. *Genetics* 87 : 285-304.
- Dunn, G.R., T.G. Wilson and K.B. Jacobson, 1969. Age dependent changes in alcohol dehydrogenase in *Drosophila*. *J. Exp. Zool.* 171 : 185-190.

- Fukatami, A., 1977. Enzyme polymorphism in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *J. Genetics* **52** : 341—356.
- Grell, E.H., K.B. Jacobson and J.B. Murphy, 1965. Alcohol dehydrogenase in *D. melanogaster*. *Science* **149** : 80—82.
- Holmes, R.S., 1979. Genetics and ontogeny of alcohol dehydrogenase isozyme in the mouse. *Biochem. Genet.* **17** : 461—472.
- Jha, A.P., D.N. Mishra and B.N. Pandey, 1978. Drosophila alcohol dehydrogenase isozyme. *Indian J. Exp. Biol.* **16** : 1261—1263.
- Kamping, A. and W. Vandeldon, 1978. Alcohol dyhydrogenase polymorphism in populations of *D. melanogaster*. *Biochem. Genet.* **16** : 546—551.
- Kang, S.J., 1978. A study on alcohol dehydrogenase alleles of the Korean natural populations of *D. melanogaster*. *Jour. Kor. Res. Inst. Bet. Liv.* **21** : 39—44 (in Korean).
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and W.H. Handal, 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biochem.* **193** : 265—275.
- McDonald, J.F. and J.C. Avise, 1976. Evidence for the adaptive significance of enzyme activity levels. *Biochem. Genet.* **14** : 347—355.
- McDonald, J.F., G.K. Chambers, J. David and F.J. Ayala, 1977. Adaptive response due to changes in gene regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **74** : 4562—4566.
- McDonald, J.F. and J.A. Francisco, 1978. Genetic and biochemical basis of enzyme activity variation in natural population. *Biochem. Genet.* **89** : 371—388.
- McKenzie, J.A. and S.W. McKenzie, 1978. Ethanol tolerance and ADH polymorphism in a natural population of *D. melanogaster*. *Nature* **272** : 75—76.
- Morgan, P., 1975. Selection acting directly one enzyme polymorphism. *Heredity* **34** : 124—127.
- O'Donnel, J., L. Gerace, F. Leister and W. Sofer, 1974. Chemical selection of mutants that affect alcohol dehydrogenase in *Drosophila*. *Genetics* **79** : 73—83.
- Oh, S.H., Y.J. Chung and S.Y. Park, 1979. A study on the activity and separation of alcohol dehydrogenase of *D. melanogaster*. *Kor. J. Zool.* **22** (3) : 55—63 (in Korean).
- Thatcher, D.R. and J. Camfield, 1977. Chemical basis of the electrophoretic variation between two naturally occurring alcohol dehydrogenase alloenzyme from *D. melanogaster*. *Biochem. Soci. Trans.* **5** : 271—272.
- Thompson, J.N. and T.N. Kaiser, 1977. Selection acting upon slow-migrating ADH alleles differing in enzyme activity. *Heredity* **38** : 191—195.
- Triantaphyllidis, C.D., 1977. Allozyme variation in populations of *D. melanogaster* and *D. simulans* from Northern Greece. *J. Heredity* **69** : 69—72.
- Ursprung, H. and L. Carlin, 1968. Drosophila alcohol dehydrogenase. *Annals New York Academy of Science* **151** : 456—475.
- Vandelden, W., A.C. Boerema and A. Kamping, 1978. The alcohol dehydrogenase polymorphism in populations of *D. melaogaster*. *Genetics* **90** : 161—191.
- Worthington Biochemical Corporation, 1972. *Worthington Enzymes*. p.3.
- Wright, D.A. and C.R. Shaw, 1970. Times of expression of gene controlling specific enzymes in *Drosophila* embryos. *Biochem. Genet.* **4** : 385—394.

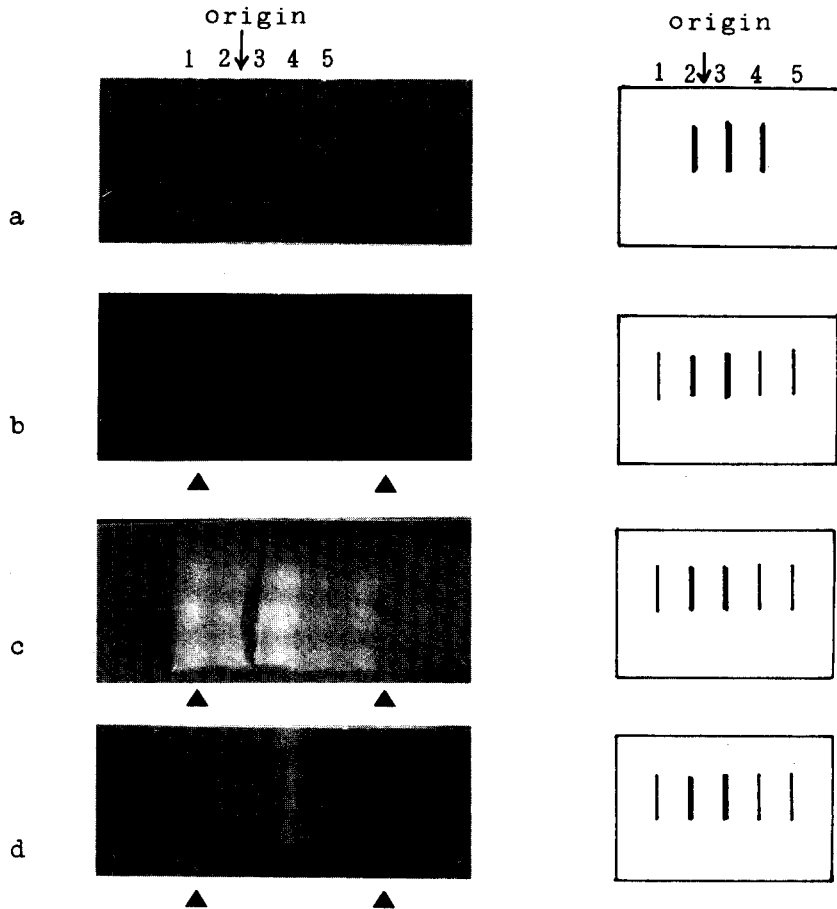


Fig. 1. ADH isozyme zymograms at various developmental stages of Oregon-R strain. (a) 5 hour-old embryo, (b) third instar larva, (c) pupa, (d) imago, (▲) indicates ADH isozymes specific to larva, pupa and imago.

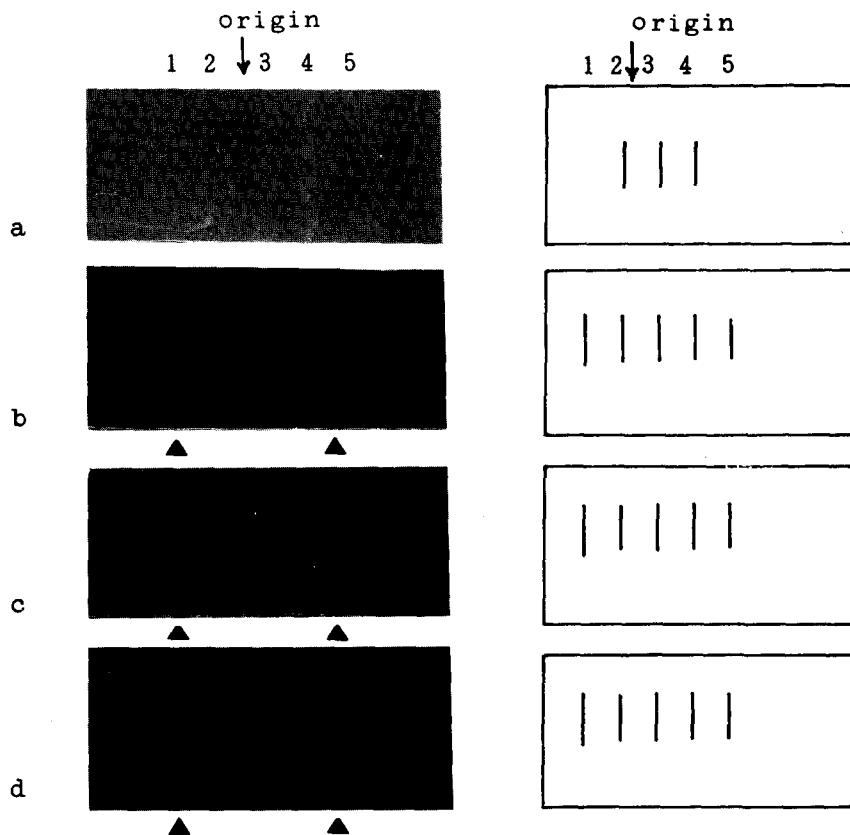


Fig. 2. ADH isozyme zymograms at various developmental stages of Kwangju strain. (a) 5 hour old-embryo, (b) third instar larva, (c) pupa, (d) imago, (▲) indicates ADH isozymes specific to larva, pupa and imago.