

한국동물분류학회지 제7권 제1호

**The Korean Journal of Systematic Zoology**

Vol. 7, No. 1: 65-72 (June 1, 1991)

단백질 전기영동 분석에 의한 *Leucophenga*속 (Drosophilidae)  
초파리의 종간 유연관계

이 택준·오준영  
(중앙대학교 생물학과)

**Interspecific Relationships of the Genus *Leucophenga* (Drosophilidae)  
by Electrophoretic Analysis of Protein**

**Lee, Taek-Jun and Oh, Joon-Young**

(Department of Biology, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Republic of Korea)

---

**ABSTRACT**

The interspecific relationships of the genus *Leucophenga*, *L. concilia*, *L. maculata*, *L. orientalis*, and *L. quinquemaculipennis* were investigated by soluble proteins analysis. The electrophoretic banding patterns of the four species analyzed by SDS-PAGE were scanned by densitometer. The soluble protein patterns of *L. maculata* and *L. concilia* by SDS-PAGE appeared similarly and on the other hand, those of *L. quinquemaculipennis* had a different forms from three other species.

The genetic distance among the four species of TDE analysis was calculated by formula of the Aquadro and Avise (1981). The genetic distance between *L. maculata* and *L. concilia* was 0.393, the lowest of all and between *L. maculata* and *L. quinquemaculipennis* was 0.496, the highest of all. The dendrogram was established using UPGMA method based on genetic distance obtained by TDE analysis. Clustered pattern as follows; first, *L. maculata* and *L. concilia* were clustered, and *L. orientalis* and *L. quinquemaculipennis* followed the first one in order. In consequence, it seems that the interspecific relationship of *L. quinquemaculipennis* was farther from the other three species, while that of *L. maculata* and *L. concilia* was closer than that of *L. orientalis*.

Key words: interspecific relationships, *Leucophenga* (Drosophilidae).

## 서 론

*Leucophenga*속은 Mik에 의해서 1886년에 처음 기재된 속으로 초파리과에서는 2번째로 큰 속이며, 세계적으로 2아속 162종이 분포되어 있고 (Wheeler, 1986), 국내에는 2아속 8종이 보고 되었다(Lee와 Kim, 1987). *Leucophenga*속에는 *Neoleucophenga*아속과 *Leucophenga*아속으로 나누고 있는데 한국에 분포하고 있는 4종 중 *L. quinquemaculipennis*는 *Neoleucophenga*아속에 속하고 다른 3종은 *Leucophenga*아속에 속한다. *L. quinquemaculipennis*는 날개에 black spot가 있어 다른 3종과 쉽게 구별되며, *L. maculata*, *L. concilia* 및 *L. orientalis*의 3종은 복부반문에서 뚜렷한 차이를 보이므로 쉽게 구별할 수 있다.

한편 Hubby와 Throckmorton(1965)은 *D. virilis* species group 9종에 대한 수용성 단백질을 분석하여 종간 유사도를 구하였으며 Singh와 Coulthart(1982)는 *D. melanogaster*와 *D. pseudoobscura*를 대상으로 수용성 단백질을 분석하여 유전적 변이를 연구하였다. Del Puerto 등 (1985)은 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 이용하여 초파리 21종의 3령기 유충에서 cuticle protein을 분석하였다. O'Farrell(1975)에 의하여 고안된 two dimensional gel electrophoresis (TDE)를 이용하여 Brown과 Langley(1979)는 *D. melanogaster*의 자연집단에 대한 heterozygosity의 수준을 재 평가한 바 있고, Aquadro와 Avise(1981)는 설치류 8종에 대해 TDE를 이용하여 유전적 거리를 산출하고 starch gel에 의하여 얻어진 유전적 거리와 비교하였다. 그리고 Ohnishi등 (1982)은 *D. montium* subgroup에 대하여 TDE로 생화학적 계통을 밝혔으며, Lee와 Pak(1985)이 *D. auraria complex* 5종에 대해 생화학적인 방법으로 단백질을 분석하여 종간 유연관계를 보고하였다. Lee와 Joo(1987)는 한국산 *D. quinaria* group 5종에 대해 단백질을 분석하여 종간의 단백질 특이성과 유전적 거리를 밝히고 계통유연관계를 보고 한 바 있다. 이제까지 *Drosophila*속에 속하는 초파리에서는 많은 연구가 있었으나, *Leucophenga*속에 속하는 초파리는 SDS-PAGE나 TDE법으로 보고한 바는 없다.

본 연구는 소리산과 치악산에서 20개체 이상 채집된 *Leucophenga*속 4종에 대하여 수용성 단백질을 분석하여 이들 종간의 유연관계를 밝히고자 하였다.

## 재료 및 방법

본 실험에 사용된 *Leucophenga*속에 속하는 4종 (*L. maculata* Dufour, 1839; *L. concilia* Okada, 1956; *L. orientalis* Lin and Wheeler, 1972; *L. quinquemaculipennis* Okada, 1956)은 1989년 4월부터 동년 10월에 걸쳐 채집하였다. *L. maculata*, *L. orientalis* 및 *L. quinquemaculipennis*는 경기도 소리산에서 *L. concilia*는 강원도 치악산에서 sweeping method에 의해 채집하여 사용하였다.

수용성 단백질을 분석하기 위하여 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)는 Laemmli(1970)의 방법에 따랐다. 단백질 시료는 초파리를 개체당 35  $\mu$ l의 중류수에서 분쇄한 다음 4°C에서 4,000rpm으로 25분간 원심분리시켜 그 상층액을 취하였다. Two-dimensional electrophoresis(TDE)는 O'Farrell(1975)의 방법에 따랐다. 시료는 각 종의 수컷 8마리씩을 lysis buffer로 분쇄한 후 4°C, 10,000rpm에서 25분간 원심분리하여 그 상층액 중 75 $\mu$ l를 영동시료로 하였다. 그리고 유전적 거리는 Aquadro와 Avise(1981)의

공식을 이용하였다.

$$F = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$$

$$D = 1 - F$$

D : 유전적 거리

F : 유전적 유사도

$n_x, n_y$  : 비교하는 단백질 spot의 총수

$n_{xy}$  : 공통되는 단백질 spot수

### 결과 및 고찰

#### SDS-PAGE에 의한 수용성 단백질 분석

*Leucophenga* 속 4종을 SDS-PAGE로 분석한 전기영동상은 Fig.1과 같다.

이들 단백질 영동상의 차이를 LKB-2202 Ultroscan laser densitometer에서 630nm으로 scanning한 결과는 Fig.2와 같다.

Standard protein은 높은 분자량의 순으로 a,b,c,d,e,f로 나누었다. 각 구간별로 비교하여 보면 시발점과 a(M.W. 97,400이상)구간에서는 4종 모두 5개의 뚜렷한 band가 나타났으며, band 양상은 4종 모두 유사하였다. a와 b구간 (M.W. 97,400-68,000)에서는 4종 모두 뚜렷한 4개의 band가 나타났는데 band 양상이 *L. maculata*와 *L. concilia*에서 유사하였으며, *L. orientalis*와 *L. quinquemaculipennis*는 band 양상이 유사하였으나 앞 2종과는 구별이 된다. b와 c구간 (M.W. 68,000-43,000)에서는 *L. maculata*와 *L. concilia*의 band수가 9개로 나타났으며, *L. orientalis*와 *L. quinquemaculipennis*는 7개로 나타나 band 양상이 유사하였다. c와 d구간 (M.W. 43,000-29,000)에서 *L. maculata*와 *L. concilia*는 band 수가 6개로 band 양상이 같았다. 한편 *L. orientalis*와 *L. quinquemaculipennis*는 band 양상이 앞 2종과는 다른데 *L. orientalis*는 6개이고 *L. quinquemaculipennis*는 5개로 나타났다. d와 e구간 (M.W. 26,000-20,100)에서 *L. maculata*와 *L. concilia*는 band 수가 3개씩인데 band 양상이 각각 다르게 나타났고 *L. orientalis*와 *L. quinquemaculipennis*는 band 수가 3개로 band가 유사한

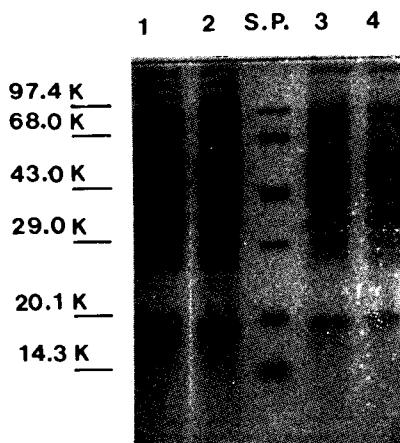
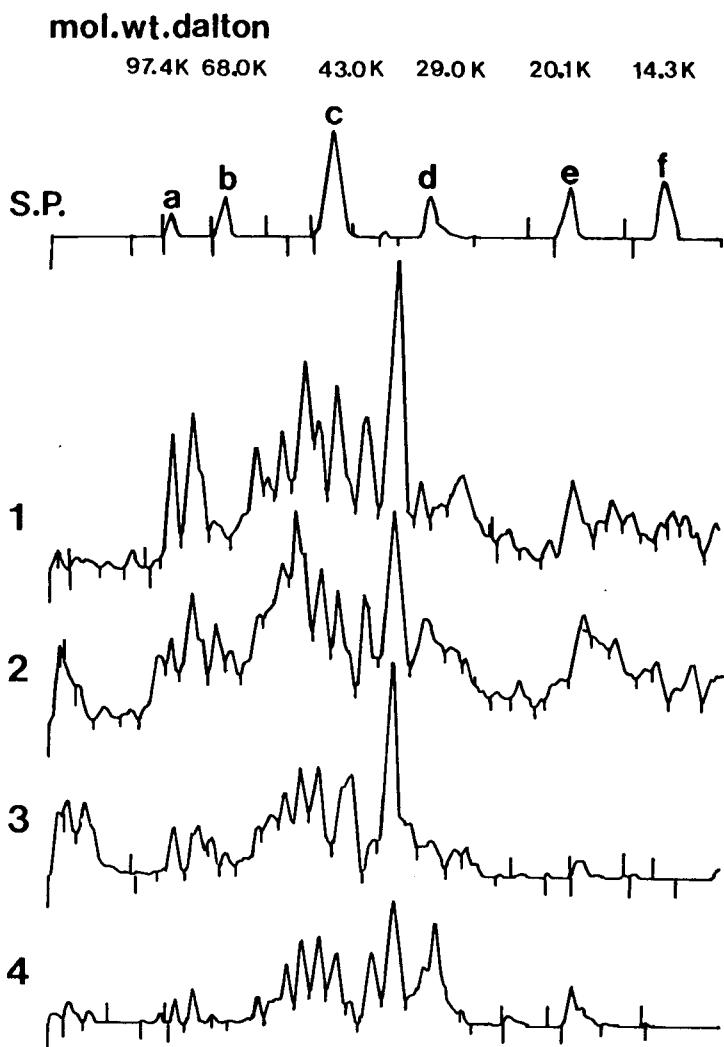


Fig. 1. SDS-PAGE protein banding patterns among the four species of the genus *Leucophenga*.

1, *L. maculata*; 2, *L. concilia*; S.P., Standard protein; 3, *L. orientalis*; 4, *L. quinquemaculipennis*.



**Fig. 2.** Densitometric recordings of the electrophoretic patterns among the four species of the genus *Leucophenga*.  
 S.P., Standard protein; 1, *L. maculata*; 2, *L. concilia*; 3, *L. orientalis*; 4, *L. quinquemaculipennis*; a, Phosphorylase B; b, Bovin Serum Albumin; c, Ovalbumin; d, Carbonic Anhydrase; e, Soybean Trypsin Inhibitor; f, Lysozyme.

양상으로 나타났다. e와 f구간 (M.W. 20,100-14,300)에서는 뚜렷한 band가 한개로 나타났는데 *L. maculata*와 *L. concilia*는 유사한 양상으로 나타났으며, *L. orientalis*와 *L. quinquemaculipennis*는 band 양상이 유사했는데 앞 2종과는 다르게 나타났다.

한국 초파리에 대한 SDS-PAGE법으로 단백질을 분석한 결과는 초파리아속에 속하는 *quinaria* species group 초파리 5종에서는 40개의 band를 관찰하였으며 (Lee와 Joo, 1987), *Hirtodrosophila*아속 초파리 5종에서는 25개의 뚜렷한 band가 관찰 되었다고 보고한 바 있다 (Lee와 Park, 1990). 본 연구에 사용된 *Leucophenga*속 초파리 4종에서는 약 27개의 뚜렷한 band를 관찰 할 수 있어서 *Hirtodrosophila*아속 초파리와 비슷한 양상을 보여 주었다. 또한 SDS-PAGE 결과는 densitometer로 scanning한 결과 종간에 비교적 큰 차이를 보였는데 이

것은 종간의 종특이적인 차이와 종에 따른 단백질의 양적 차이에 기인되는 것이라고 생각된다. *L. maculata*와 *L. concilia*가 다른 2종에 비해 전구간에서 높은 peak양상을 보여 유사하였다. 한편 *L. quinquemaculipennis*의 peak 양상은 다른 3종과 큰 차이를 보여 주었다. 이러한 결과는 초파리의 형태적인 차이와 일치하는 것이라고 생각한다.

#### TDE에 의한 수용성 단백질 분석

TDE에 의한 *Leucophenga*속 4종간의 유연관계를 알아보기 위하여 실시한 영동상(예 : *L. maculata*)은 Fig.3과 같다.

TDE에 의한 영동상은 4종 모두 약 100여개의 protein spot가 나타났으며, Aquadro와 Avise (1981)의 공식에 의해 산출한 각 종간의 유전적 거리는 Table 1과 같다.

*L. maculata*와 *L. concilia*간의 유전적 거리는 0.393으로 가장 가까운 유연관계를 보였으며, *L. concilia*와 *L. quinquemaculipennis* 사이의 유전적 거리는 0.402로 특이하게 가까운 유연관계를 보였다. 그리고 *L. maculata*와 *L. quinquemaculipennis*는 유전적 거리가 0.496으로 유연관계가 가장 멀었다. TDE에서 얻어진 유전적 거리를 UPGMA(Sneath와 Sokal, 1973)법으로 작성한 dendrogram은 Fig.4와 같다. *L. maculata*와 *L. concilia*가 가장 가까운

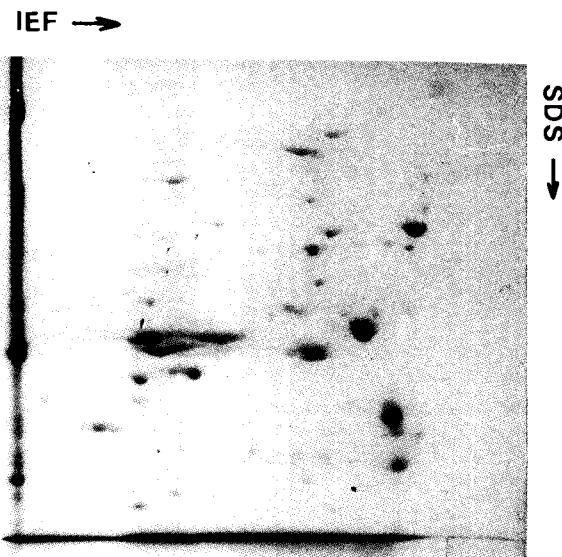
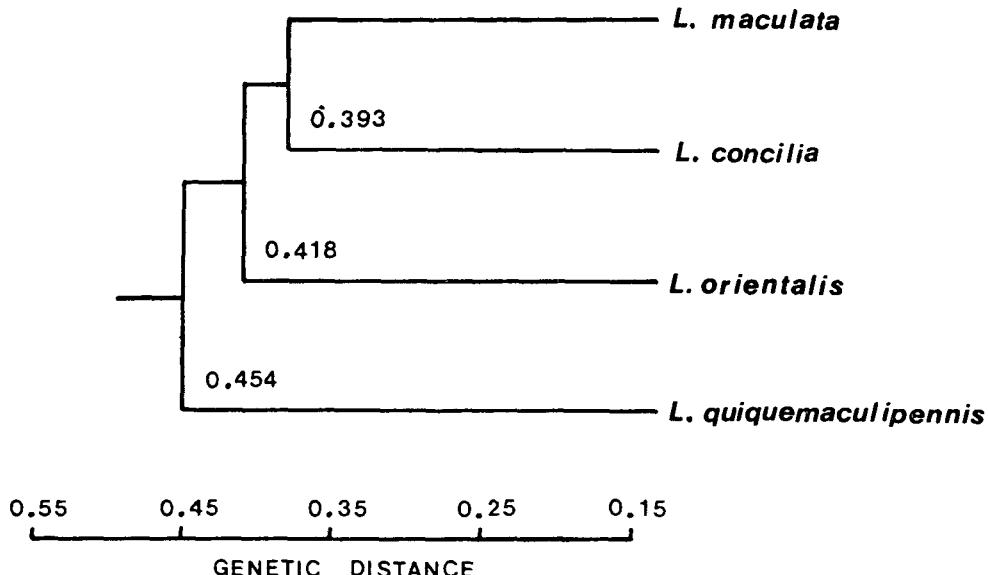


Fig. 3. An example of TDE (a sample from male adults of *L. maculata*), after staining with commassie brilliant blue R.

Table 1. Genetic distance among the four species of the genus *Leucophenga* obtained by TDE

Species	<i>L. maculata</i>	<i>L. concilia</i>	<i>L. orientalis</i>
<i>L. concilia</i>	0.393		
<i>L. orientalis</i>	0.417	0.418	
<i>L. quinquemaculipennis</i>	0.496	0.402	0.458



**Fig. 4.** A dendrogram showing the phylogenetic relationship among the four species of the genus *Leucophenga*, based on data of genetic distance obtained by TDE.

유연관계로 cluster되었고 여기에 *L. orientalis*, *L. quinquemaculipennis*순으로 cluster되었다. TDE법으로 단백질을 분석한 결과는 Lee와 Joo(1987)가 조사한 *quinaria* species group 초파리 5종과 Lee와 Park (1990)이 조사한 *Hirtodrosophila*아속 5종에서의 결과에서 약 100개의 spot를 얻었는데, 본 연구의 *Leucophenga*속에서도 약 100개의 spot를 셀 수 있었다. 이것으로 보아 초파리 종간에는 spot 수에 있어서 큰 차이를 볼 수 없었다.

본 실험 결과에서 *Leucophenga*속 4종간의 유연관계는 *L. quinquemaculipennis*가 다른 3종과는 멀고 3종 가운데서는 *L. maculata*와 *L. concilia*의 유연관계가 더 가까운 것으로 생각된다.

적 요

*Leucophenga*속에 속하는 초파리 *L. maculata*, *L. concilia*, *L. orientalis* 및 *L. quinquemaculipennis*를 대상으로 수용성 단백질을 전기영동법으로 분석하여 이를 종간의 유연관계를 밝히고자 하였다.

SDS-PAGE로 분석한 4종간의 전기영동상을 densitometer로 scanning한 결과 band 양상이 *L. maculata*와 *L. concilia*가 유사했고, *L. quinquemaculipennis*는 이들 3종과 다른 양상을 보였다.

TDE에 의한 4종간의 유전적 거리는 *L. maculata*와 *L. concilia*가 0.393으로 가장 가까운 유연관계를 나타냈으며, *L. maculata*와 *L. quinquemaculipennis*가 0.496로 유연관계가 가장 멀었다. TDE의 유전적 거리의 지수를 근거로 UPGMA법으로 분석한 결과 *L. maculata*와 *L. concilia*가 1차적으로 cluster 되었고 여기에 *L. orientalis*, *L. quinquemaculipennis*순으로 cluster 되었다.

이 결과는 *L. quinquemaculipennis*가 다른 3종과는 유연관계가 멀고 나머지 3종 가운데서는 *L. maculata*와 *L. concilia*간의 유연관계가 더 가까운 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

- Aquadro, C. F. and J. C. Avise, 1981. Genetic divergence between rodent species assessed by two dimensional electrophoresis. Proc. Natl Acad. Sci. USA, **87**: 3785-3788.
- Brown, A. J. L. and C. H. Langley, 1979. Revaluation of level of genic heterozygosity in natural population of *Drosophila melanogaster* by two dimensional electrophoresis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **76**: 2381-2384.
- Del Puerto, G. A., J. J. Culich and C. J. Chihara, 1985. Last larval instar cuticle protein patterns and their use for the identification of twenty-one species of *Drosophila*. D.I.S., **61**: 61-65.
- Hubby, J. L. and L. Throckmorton, 1965. Protein differences in *Drosophila*. II. Comparative species, genetic and evolutionary problems. Genetics, **52**: 203-215.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. Nature, **227**: 680-685.
- Lee, T. J. and J. H. Pak, 1985. Biochemical phylogeny of the *Drosophila auraria* complex. Korean J. Genetics, **7**: 184-197.
- Lee, T. J. and G. J. Joo, 1987. Genetic relationships within the *quinaria* species group of the genus *Drosophila*. Korea J. Genetics, **9**: 11-18.
- Lee, T. J. and N. W. Kim, 1987. Systematic study of the Drosophilidae in Korea. Rev. Nat. Sci., Chung-Ang Univ., **1**: 113-129.
- Lee, T. J. and J. W. Park, 1990. Genetic relationships among the five species of the subgenus *Hirtodrosophila*. Korean J. Genetics, **12**: 75-85.
- Ohnishi, S., A. J. L. Brown, R. A. Voelker and C. H. Langley, 1982. Estimation of genetic variability in natural populations of *Drosophila simulans* by two dimensional and starch gel electrophoresis. Genetics, **100**: 127-136.
- O'Farrell, P. H., 1975. High resolution two dimensional electrophoresis of proteins. J. Biol. Chem., **250**: 4007-4021.
- Singh, R. S. and M. B. Coulthart, 1982. Genetic variation in abundant soluble proteins of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila pseudoobscura*. Genetics, **102**: 437-453.
- Sneath, P. H. A. and R. R. Sokal, 1973. Numerical taxonomy. W. H. Freeman and Company, San Francisco, pp. 573.
- Wheeler, M. R., 1986. Additions to the catalog of the world's Drosophilidae. The genetics and biology of *Drosophila*. Vol., **3e**: 395-409.

수령 : 1991.3.20

채택 : 1991.4.27