

E109

대구 간조직 미토콘드리아 젖산수소이탈효소의 생화학적 특성

이상학, 조성규*, 염정주

청주대학교 이공대학 생물학과

Liver-specific C₄를 갖는 대구(*Gadus macrocephalus*) 간조직 미토콘드리아 젖산수소이탈효소(EC 1. 1. 1. 27, Lactate dehydrogenase; LDH)를 이온강도, pH에 따라 용해정도를 확인하고, detergent를 처리하여 미토콘드리아 부위별 LDH를 확인하였다. 또한 세포질 LDH와 특성을 비교하기 위하여 정제 및 면역화학적 실험들을 실시하였다. 대구 간조직 미토콘드리아 LDH는 5mM buffer 일 때, NaCl 75mM 부근에서부터 용해되기 시작하였다. LDH C₄는 세포질, 외막, 내막+매트릭스, 막간물질에서 나타났고, 미토콘드리아 LDH A₄, B₄ 및 C₄는 모두 막에 결합되어 있는 것으로 나타났다. Pyruvate에 의한 미토콘드리아 LDH 활성의 저해정도는 NaCl 5mM 분획의 경우 LDH B₄와 유사하고, 175mM NaCl 분획과 정제된 미토콘드리아 LDH C₄는 B₄와 C₄의 중간형태로 나타났다. 미토콘드리아 LDH는 LDH A₄, B₄ 및 C₄에 대한 항혈청과 C₄>A₄>B₄의 순서로 면역반응하였고, A₄, B₄, C₄의 항원결정군의 일부는 모두 유사한 것으로 확인되었다. 따라서 미토콘드리아 LDH C₄는 세포질 C₄와 동일하지만 기능상 차이를 보이고, B₄보다 A₄와 유사하게 진화되었으며, 대사조건에 따라 세포질 LDH 동위효소들의 특이한 조절기작이 존재하는 것으로 보인다.

E110

Development Specific Phosphorylation of the 63-kDa protein in Chick Embryonic Muscle

김혜선*, 정진하, 하두봉

서울대학교 자연과학대학 분자생물학과

The pattern of protein phosphorylation was found to change during development of chick embryonic muscle. In particular, phosphorylation of the 63-kDa protein markedly increased until to reach a maximal level at about 15-embryonic day and gradually declined to an undetectable level in neonates. Furthermore, little or no phosphorylation of the 63-kDa protein could be seen in adult muscle. The protein kinase responsible for the 63-kDa protein phosphorylation was separated from the substrate using conventional column chromatographies of the muscle extract from 15-day embryos. The kinase had a molecular mass of about 80 kDa upon analysis by gel filtration. The native size of the 63-kDa protein was about 200 kDa on gel filtration. Thus, the 63-kDa protein seems to be a trimer under native conditions. The protein phosphorylation was blocked by treatment of the specific inhibitors of protein kinase C, such as H7 and sphingosine, but not by those of protein kinase A or calmodulin-dependent protein kinases. Phosphoamino acid analysis revealed that the 63-kDa protein was exclusively phosphorylated on its Ser residue(s). Moreover, immunoblot analysis using specific antibodies against PKC isozymes revealed that the kinase belongs to the nPKC θ type. These results suggest that phosphorylation of the 63-kDa protein by nPKC θ may play an important role in the development of embryonic muscle.