

## 황해산 두족류의 가용성 단백질에 대한 연구(I)

허 회 권

Structure, Fonction et Evolution du Genome Eukaryote Institut de Biologie, CNRS E.R.S. 155  
34060 Montpellier Cedex, FRANCE

### Soluble Proteins Analysis of Class Cephalopoda in the Yellow Sea(I)

Hoi-Kwon HUE

Structure, Fonction et Evolution du Genome Eukaryote Institut de Biologie, CNRS E.R.S. 155  
34060 Montpellier Cedex, FRANCE

To investigate a possibility of the species genetic relationship for the soluble proteins analysis on the class Cephalopoda in the Yellow Sea, the isolated eye, muscle and liver proteins from five species (*Sepia esculenta*, *Sepiella japonica*, *Loligo chinensis*, *Loligo beka* and *Octopus minor*) were analysed using different electrophoretic techniques (Davis-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE, exponential gradient SDS-PAGE, thin-layer isoelectrofocusing and two-dimensional PAGE). The average molecular weight of the soluble eye and muscle proteins was estimated at 35-50 KDa, separated by the exponential gradient SDS-PAGE. It was corresponds to that of electrophoretic patterns by two dimensional PAGE. By which the thin layer IEF, the target proteins showed a reasonable specificity based on their isoelectric points(pI) 7.5-8.5.

Key words : cephalopoda, soluble proteins, electrophoretic techniques

### 서 론

두족류(class Cephalopoda)는 연체동물(Mollusca)중 가장 체제가 발달한 무리로 이동성이 높고 주변환경에 민감하며, 대단히 활동적인 포식자이다. 또한 최종 포식자의 먹이로서 해양 생태계에서 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 이 동물군에 속하는 많은 종들은 대체로 크기가 크고 육질이 풍부하며, 대부분 해역에서 다량 어획되므로 식량자원으로서의 가치가 매우 높다(Lane, 1957 ; Roper et al., 1984). 앵무조개류(subclass Nautiloidea)와 이새류(subclass Coleoidea)로 나뉘어지는 두족류는 전세계에 44종(family) 약 1,000 여종이 보고되어 있으며, 국내에서는 이새류 45종만이 알려져 있다(Boss,

1982 ; Roper et al., 1984 ; 제종길, 1990).

우리나라 연근해 어업의 주요 대상어종인 두족류의 연간 생산량은 약 11만 M/T이며 황해에서의 어획량은 그 중 1/3 정도이고, 특히 황해산 살오징어(*Todarodes pacificus*)의 생산량은 총 생산량 77,000 M/T의 33%인 23,000 M/T 가량을 나타낸다(농림수산연보, 1988). 한편 해역별 생산량은 동해와 남해에서는 문어류(order Octopoda)가 월등하며, 황해에서는 갑오징어류(order Sepioidea)중에서 참갑오징어(*Sepia esculenta*)와 한치꼴뚜기(*Loligo chinensis*)가 최대 포획량을 기록하였다(농림수산연보, 1988 ; F.A. O. 1988).

국내에서의 두족류에 관한 연구는 매우 빈약하여 살오징어류(order Teuthoidea)에 대한

연구만이 단편적으로 이루어 졌을 뿐 (Lim, 1976 ; Park and Hue, 1977), 전체 출현종에 대한 연구로는 1942년 山本에 의해 수행된 이래 최근 제종길(1990)에 의한 연구가 보고된 바 있다. 더욱이 황해서식 두족류에 대한 연구 또한 매우 미비한 실정이며 이미 보고된 대부분의 연구자료들도 외국의 것이 많아 출현종에 대한 생물생태학적 관계를 정확히 규명할 수 없었다. 따라서 두족류에 대한 정확한 이해를 통한 수산자원 보호측면에서의 지속적인 연구가 필요하며 그 중요성 또한 매우 크다 하겠다.

수산자원학(fishery dynamics) 측면에서 지속적인 수산자원 어획고의 조절은 대상해역의 수산생태, 1차 생산량 및 수계지리학(hydrography)의 이해와 관리에 있다고 하겠다(Gulland, 1977). 여기서 연구대상 생물의 단위는 개체군(population), 혹은 계군(population stocks)이 된다. Odum(1977)에 의하면 개체군은 '특정공간을 차지하고 있으며 유전자 교환이 가능한 종으로 이루어진 무리'로 정의하고 있다. 고전생물학에서 종(species)의 정의는 '교배를 통하여 유전자 교환이 가능한 개체의 모임'이라고 말하고 있으나 같은 종도 환경적 과 과정에서 서식공간이 달라져 시간이 경과함에 따라 자연적인 교환이 되지 않으면 생화학적 또는 생리학적 반응이 달라지게 되고, 행동이 서로 다르게 되며 결국은 유전적으로 결정되는 형태가 서로 달라지게 된다.

최근에는 종분화 문제나 분류상 어려운 종의 유전적 근연관계의 해석에 분자생물학적 방법론이나 생화학적, 면역학적 방법이 많이 이용되고 있다. 이것은 전기영동방법의 응용으로 Sick (1961)가 수산자원학에 도입한 이래 수산생물의 개체군 단위를 정의하는데 널리 이용되고 있다 (Jamieson and Jones, 1967 ; Ligny, 1969 ; Jamieson, 1970).

상기 방법을 이용하는  $\gamma$ -taxonomy는 그 중에서도 전기영동법(electrophoresis) 및 동위효소의 다형현상(isozyme polymorphism)을 이용한 방법이 많이 쓰여지고 있다(Day et al.,

1974 ; 양서영, 1983 ; 김익수등, 1985). 즉 근육이나 기타조직에서 gene product인 가용성 효소들을 starch gel electrophoresis 한 뒤 특이기질과 반응시켜 나타나는 유전인자 allele에 대한 다형현상(polymorphism)을 해석하여 분류에 이용하므로써 종 분류에 획기적인 성과를 얻고있다(Avise et al., 1987).

본 연구에서는 황해에서 채집된 두족류 5종(갑오징어목 2종, 살오징어목 2종 및 문어목 1종)의 가용성 단백질을 분석하기 위하여 각종 전기영동방법(Davis-PAGE, SDS-PAGE, exponential gradient SDS-PAGE, thin layer IEF 및 2차원 전기영동)을 이용하였다. 이 결과를 통해 종사이의 유전적 근연관계(relationship)를 분자생물학적 차원에서 연구 해석하였다. 또한 이러한 분석방법을 통해 기타 중요 수산자원 관리에 응용하여 수산생물의 계군분석 및 분류에 결정적 도움을 줄 수 있으며, 결과적으로 수산생물의 증식과 보호에 최적화를 기할 수 있다고 생각한다.

## 재료 및 방법

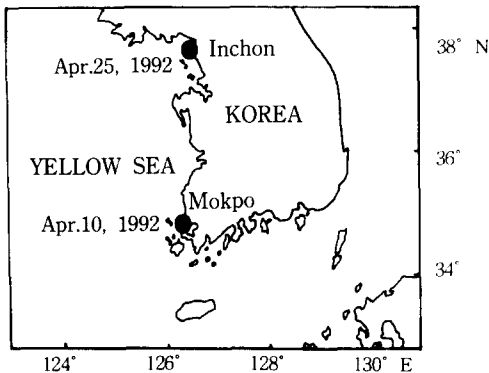
본 연구에 사용된 연구시료는 황해산 두족류 3목 16종 중에서 시료의 채집 시기 및 채집 가능한 종의 제한 등으로 각 목(order)에서 5종을 선정하였다(Table 1). 따라서 연구대상 종으로 갑오징어목에서 참갑오징어(*Sepia esculenta*) 및 쇠갑오징어(*Sepiella japonica*), 살오징어목에서 한치풀뚜기(*Loligo chinensis*) 및 참풀뚜기(*Loligo beka*) 그리고 문어목에서 낙지(*Octopus minor*)를 선택하였다.

시료의 채집은 인천 및 목포 연근해에서 종당 10-20 마리씩 오징어 채취기방법으로 직접 채집하였으며 채집일시 및 장소는 Fig. 1과 같다. 채집된 시료는 선상에서 dry-ice로 급속냉동하여 실험실로 운반한 뒤 초저온냉동고(deep-freezer)에 보관하여 매 실험시 해동하여 시료로 사용하였다. 한편 각 시료는 Okutani(1967), Roper et al.(1984) 및 제종길(1990)에 의한 두족류

**Table 1.** The species list of class Cephalopoda occurred in the Yellow Sea. (Roper et al., 1984 ; Je, 1993)

- Class Cephalopoda
- Subclass Coleoidea
- Order Sepioidea
  - Sepia tenuipes*
  - Sepia esculenta*\*
  - Euprymna morsei*
  - Sepiolla birostrata*
  - Sepiella japonica*\*
- Order Teuthoidea
  - Loligo beka*\*
  - Loligo japonica*
  - Loligo chinensis*\*
  - Todarodes pacificus*
  - Thysanoteuthis rhombus*
- Order Octopoda
  - Octopus minor*\*
  - Octopus ocellatus*
  - Paraoctopus dofleini*
  - Tremoctopus violaceus gracilis*
  - Argonauta argo*
  - Octopus vulgaris*

\*indicate that samples used in this study.



**Fig. 1.** Map showing the sampling sites and dates.

분류방법으로 정확한 형태분류를 하였다.

전기영동을 위한 原試料(original sample)의 처리는 두족류 5種의 각종 조직(근육, 안구 및 간조직) 적량을 신속하게 적출하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 생리식염수 또는 증류수를 2 volume이 되도록

넣고, 고속마쇄기(omnimixer)로 균일하게 마쇄한 뒤 고속냉동 원심분리기(Kontron T 2407, rotor 24.24)에서 원심분리하여 그 상등액을 原試料로 사용하였다. 실험은 다음 4가지 전기영동방법 (Davis-PAGE 및 SDS-PAGE, Exponential gradient SDS-PAGE, thin layer IEF, 2차원 전기영동)으로 구분하여 실시하였다.

**1. Davis-polyacrylamide gel electrophoresis (Davis-PAGE) 및 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)**

Davis-PAGE 전기영동은 위에서 준비된 전기영동용 原試料에 marker dye인 bromophenol blue(BPB)와 glycerol을 적당량 넣고 각 well당  $30\mu\text{l}$ 의 시료를 넣은 후 Davise 원법(1971)에 따라 전기영동을 실시하였다.

SDS-PAGE 전기영동은 Laemmli의 방법(1970)에 따라 실시하였다. Separating gel은 30% acrylamide 용액, 0.75M Tris-HCl buffer (pH 8.8) 및 증류수를 실험조건에 맞는 gel 농도 (percentage)가 되도록 혼합하여 기포를 제거한 뒤, 2.5% TEMED, 10% SDS와 ammonium persulfate(150mg/ml)를 첨가하여 1% gel 농도가 되도록 조절하였다. Stacking gel은 30% acrylamide 용액, 0.25 Tris-HCl buffer(pH6.8) 및 증류수를 적당량 혼합하여 기포를 제거하고 2.5% TEMED, 10% SDS용액과 ammonium persulfate를 적당량 첨가하여 gel 농도 3.3%가 되도록 하였다.

**2. Exponential gradient SDS-polyacrylamide gel electrophoresis**

Exponential gradient SDS-PAGE 전기영동을 위한 시료의 처리는 Laemmli의 방법(1970)에 따랐으며, 전기영동을 위한 separating gel은 SDS-PAGE 전기영동과 같은 방법으로 만들며 gel 농도는 7.5%에서 12%로 형성시킨 뒤 분석용 시료인 안구단백질과 근육단백질의 가용성 분획(soluble gradient)을  $20\mu\text{l}$ 씩 넣어

전기영동을 실시하였다.

3. 등전점 전기영동방법(thin-layer isoelectrophoresis=thin-layer IEF)

준비된 각종 시료들에 대한 등전점 전기영동은 Pharmacia manual에 따라 실시하였으며 전기영동이 끝난 뒤 gel의 염색(staining)은 염색 1차액인 1% CuSO<sub>4</sub>와 20% acetic acid 혼합액, 그리고 염색 2차액인 0.3% Coomassie Brilliant Blue(CBB) G-250과 90% methyl alcohol 혼합액을 같은 량씩 섞어 염색시켰으며, 1% CuSO<sub>4</sub>, 20% acetic acid, 50% methyl alcohol 용액으로 탈색(destaining)하였다.

4. 2차원 전기영동(two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis=2D-PAGE)

유의성이 있다고 판단된 시료 단백질을 중심으로 실시한 2차원 전기영동은 O'Farrell(1975)과 Andrew(1988)의 방법을 사용하였다. 즉 1차원은 등전점 전기영동(IEF)을 실시하고, 2차원으로 SDS-PAGE 전기영동을 수행하여 pe-

ptide를 수량화한 뒤 분류학을 기초로 분석하였다.

2차원 전기영동(2D-PAGE)을 위한 시료의 처리는 Anderson 등(1977)의 방법에 따라 10 μl의 시료에 2% SDS, 10% glycerol 및 5% mercaptoethanol 혼합액 20μl를 섞어 95°C에서 5분간 가열하여 변성시킨 후 2차원 전기영동용 시료로 사용하였다.

결 과

1. Davis-PAGE 및 SDS-PAGE 에 의한 전기영동상

황해산 두족류에 대한 Davis-PAGE 전기영동을 실시한 결과 가용성 단백질이 많은 간조직(liver)이 안구단백질(eye protein)에 비해 전기영동 pattern이 매우 다양하였다(Fig. 2).

근육단백질(muscle protein)의 전기영동상은 살오징어目の 참꽃뚜기(*L. beka*)와 한치꽃뚜기(*L. chinensis*)에서 비슷한 단백질 양상을 보였으며, 낙지(*O. minor*)는 나머지 2개目(갑오징어目과 살오징어目)과 매우 다른 전기영동상을 나

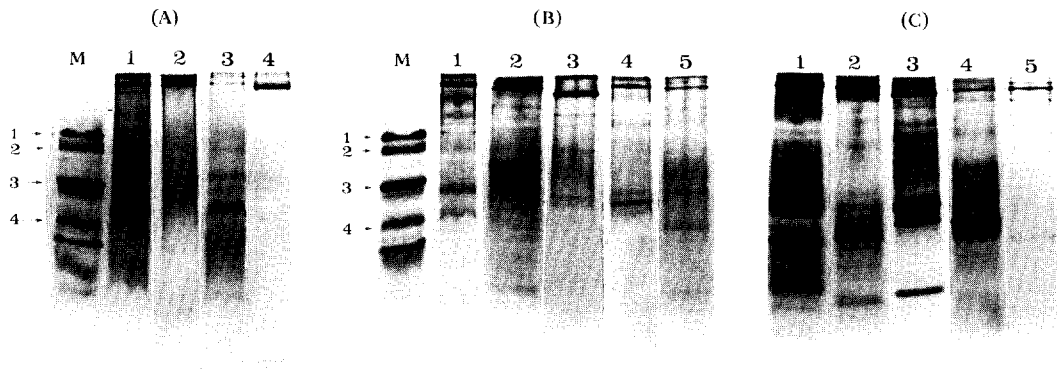


Fig. 2. Davis-polyacrylamide gel electrophoresis of (A) eye, (B) muscle and (C) liver proteins from class Cephalopoda with standard molecular weight marker protein.

① *Sepiella japonica* ② *Sepia esculenta* ③ *Loligo beka* ④ *Loligo chinensis* ⑤ *Octopus minor*

M : marker protein

1. phospholylase b (94 KDa)

2. albumin (67 KDa)

3. ovalbumin (43 KDa)

4. carbonic anhydrase (30 KDa)

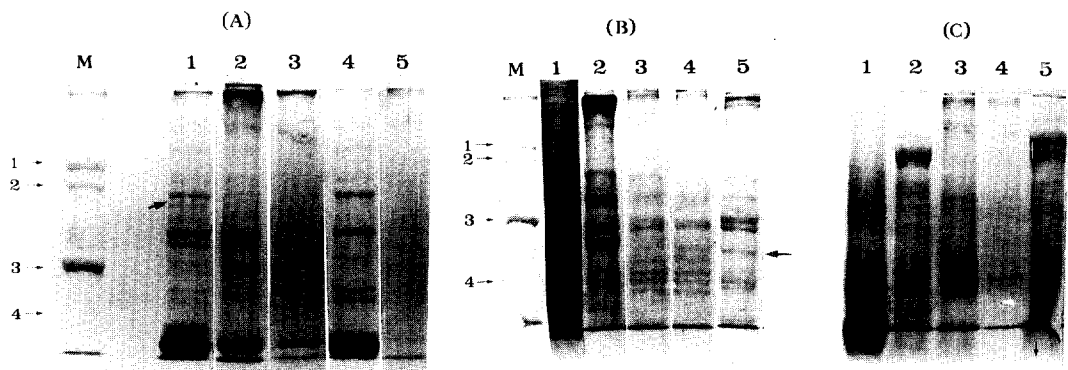


Fig. 3. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of (A) eye, (B) muscle and (C) liver proteins from class Cephalopoda with standard molecular weight marker protein.

① *Sepiella japonica* ② *Sepia esculenta* ③ *Loligo beka* ④ *Loligo chinensis* ⑤ *Octopus minor*

M : marker protein

- |                             |                                |
|-----------------------------|--------------------------------|
| 1. phospholylase b (94 KDa) | 2. albumin (67 KDa)            |
| 3. ovalbumin (43 KDa)       | 4. carbonic anhydrase (30 KDa) |

타내었다(Fig. 2-B).

또한 각 시료의 간조직을 Davis-PAGE 전기영동한 결과 나머지 조직과 달리 다양한 분리 pattern을 볼 수 있는데 특히 갑오징어目に 속하는 참갑오징어(*S. esculenta*)와 쇠갑오징어(*S. japonica*)에서 가장 많은 단백질 pattern을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2-C).

한편 detergent를 이용하여 시료를 가용화(soluble)시킨 후 SDS-PAGE 전기영동을 실시한 결과 참갑오징어(*S. esculenta*)와 쇠갑오징어(*S. japonica*)의 안구단백질은 분자량 55 KDa 부위(←)를 제외하고 전반적인 전기영동 양상이 비슷하였으며, 참꼐뚜기(*L. beka*)의 경우 분자량 35 KDa 부위(←)에서 단일 전기영동 band를 나타내어 한치꼐뚜기(*L. chinensis*)와 차이를 나타내었다(Fig. 3-A).

낙지(*O. minor*)의 근육단백질 분리양상은 he 실험種과 구분되었으며 특히 분자량 38 KDa 부위(←)에서는 특이성을 볼 수 있다(Fig. 3-B).

간조직의 SDS-PAGE 전기영동 결과 분자량 25-30 KDa(↔)에서 실험종간 다양한 단백질 분리 pattern을 볼 수 있었고 나머지 부위는

뚜렷한 band pattern이 없는 단순한 양상을 나타내었다 (Fig. 3-C).

## 2. Exponential gradient SDS-PAGE 에 의한 전기영동상

Exponential linear gradient SDS-PAGE에 의한 전기영동 결과 안구단백질의 경우 전반적으로 근육단백질에 비해 단백질 pattern수가 적었으나 몇 개의 특이단백질이 있음을 알 수 있었다.

살오징어目に 속하는 한치꼐뚜기(*L. chinensis*)와 참꼐뚜기(*L. beka*)에 대한 안구단백질의 exponential gradient SDS-PAGE 전기영동 결과 특히 45-50 KDa 부위(↔)에서 유의성있는 band pattern의 차이를 볼 수 있었으며, 갑오징어目に 속하는 쇠갑오징어(*S. japonica*)의 경우 35 KDa 부위(←)에서 매우 두드러진 단백질 pattern을 보여 참갑오징어(*S. esculenta*)와 차이를 나타내었다. 한편 문어目に 속하는 낙지(*O. minor*)의 안구단백질에서는 분자량 60 KDa 부위(←)에서 뚜렷한 band를 볼 수 없어 기타 실험종과 구분됨을 알 수 있다(Fig. 4-A).

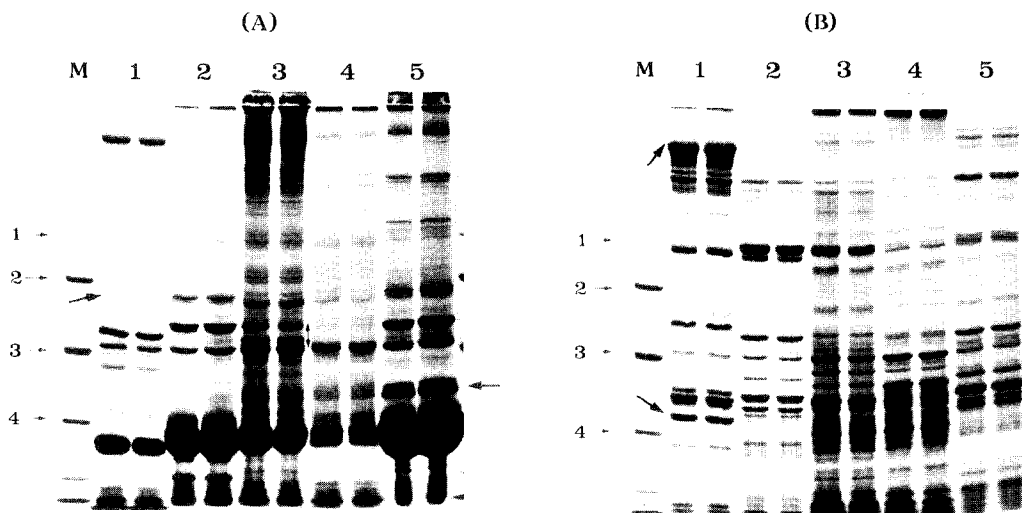


Fig. 4. Exponential gradient SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of (A) eye and (B) muscle proteins from class Cephalopoda with standard molecular weight marker protein.

① *Octopus minor* ② *Sepia esculenta* ③ *Loligo chinensis* ④ *Loligo beka* ⑤ *Sepiella japonica*

- M : marker protein  
 1. phospholylase b (94 KDa) 2. albumin (67 KDa)  
 3. ovalbumin (43 KDa) 4. carbonic anhydrase (30 KDa)

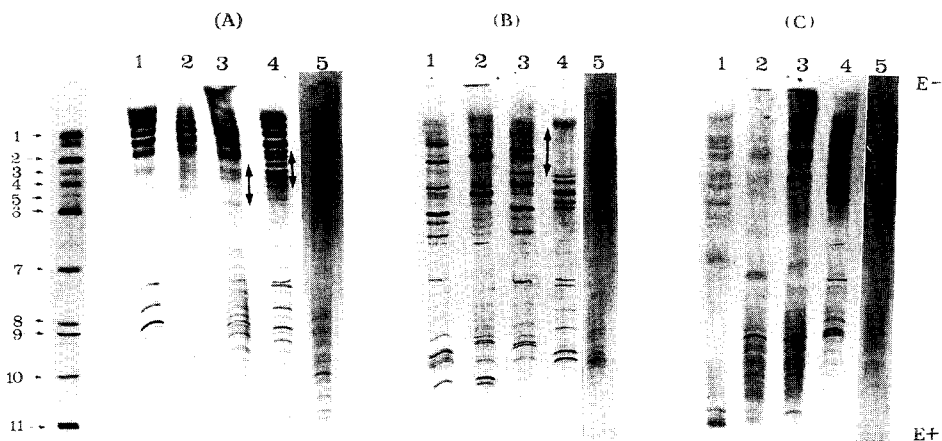


Fig. 5. Thin-layer isoelectrofocusing electrophoresis of (A) eye, (B) muscle and (C) liver proteins from class Cephalopoda with standard pI(isoelectric point) marker protein. E+ and E- indicate anodic and cathodic ends of the gel.

① *Sepiella japonica* ② *Loligo chinensis* ③ *Sepia esculenta* ④ *Octopus minor* ⑤ *Loligo beka*  
 M : pI marker protein

1. Trypsinogen (pI 9.30) 2. Lactic dehydrogenase (pI 8.65)  
 3. Lactic dehydrogenase (pI 8.45) 4. Lactic dehydrogenase (pI 8.15)  
 5. Horse Myoglobin (pI 7.35) 6. Horse Myoglobin (pI 6.85)  
 7. Human Carbonic Anhydrase I (pI 6.55) 8. Bovine Carbonic Anhydrase I (pI 5.85)  
 9.  $\beta$ -Lactoglobulin A (pI 5.20) 10. Soybean Typsin inhibitor (pI 4.55)  
 11. Amyloglucosidase (pI 3.50)

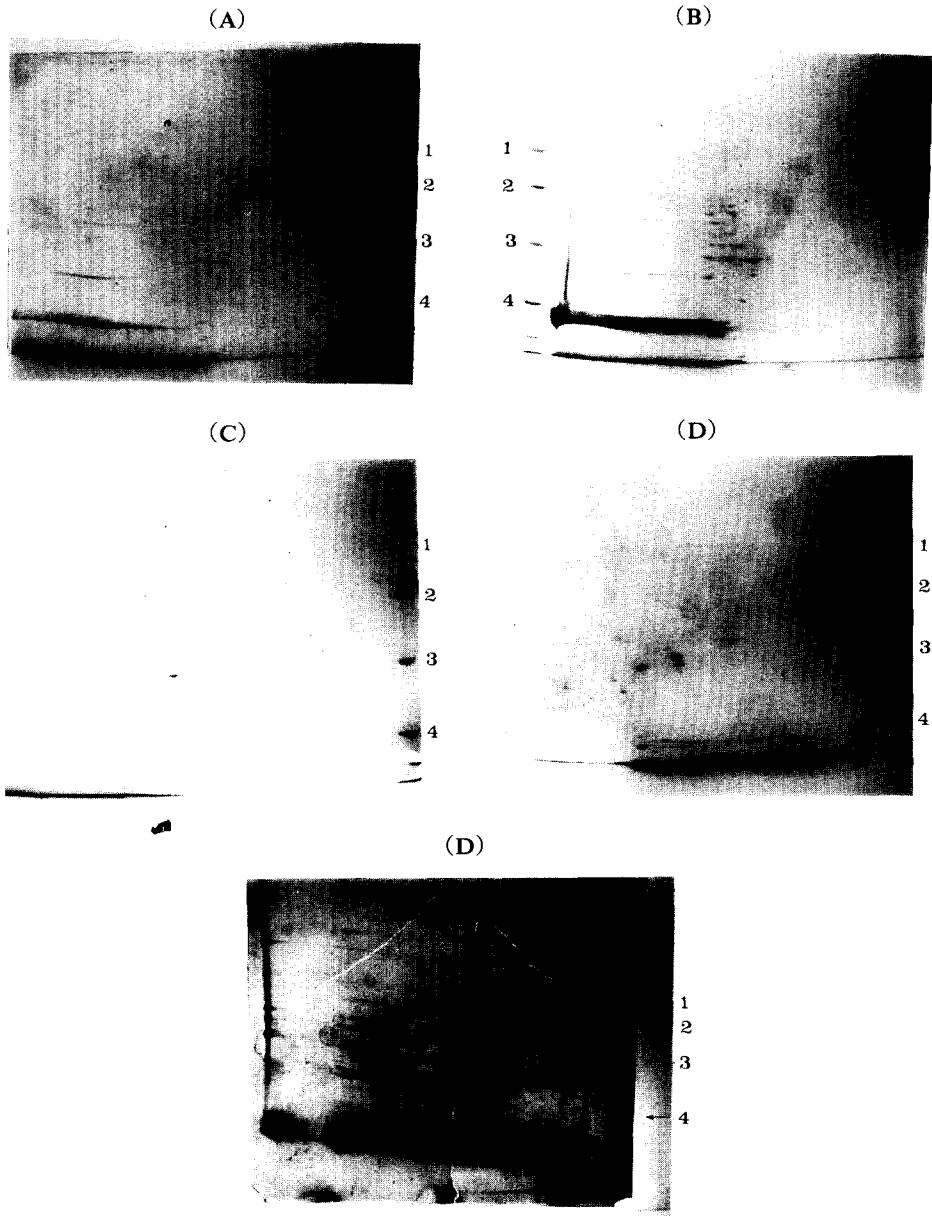


Fig. 6. Two dimensional SDS-polyacrylamide gel electrophoresis pattern of eye soluble protein from class Cephalopoda with standard molecular weight marker protein.

(A) *Sepiella japonica* (B) *Sepia esculenta* (C) *Loligo beka* (D) *Loligo chinensis* (E) *Octopus minor*  
 M : marker protein

- |                             |                                |
|-----------------------------|--------------------------------|
| 1. phospholylase b (94 KDa) | 2. albumin (67 KDa)            |
| 3. ovalbumin (43 KDa)       | 4. carbonic anhydrase (30 KDa) |

근육단백질의 단백질 분리 양상은 낙지의 120 KDa(←)와 35 KDa 부근(←)을 제외하고 각目の 種間 비교에서는 단백질 분리 pattern의 큰 차이가 없음을 알 수 있었다(Fig. 4-B).

### 3. 등전점 전기영동(thin-layer IEF)에 의한 전기영동상

두족류 시료에 대한 전기영동상의 해상력을 보완하기 위하여 11종류의 pI(isoelectric point) marker protein을 각종 시료와 같이 동시에 등전점 전기영동시켜 보면 매우 특징적인 단백질 pattern을 볼 수 있다(Fig. 5).

안구단백질의 경우 쇠갓오징어(*S. japonica*)와 참갓오징어(*S. esculenta*)의 pI값 7.5-8.0 부위(↔)에서 種間 차이를 볼 수 있었고, 낙지(*O. minor*)는 pI값 8.1-8.5 부근(↔)의 단백질 pattern이 매우 다양하게 나타나 타종과 다른 양상을 나타내었다.

근육단백질을 이용하여 등전점 전기영동을 실시한 결과 낙지의 경우 pI값 8.1-9.5 부위(↔)에서는 전기영동상을 거의 볼 수 없었다(Fig. 5).

### 4. 2차원 전기영동상(2D-PAGE)에 의한 전기영동상

Exponential gradient SDS-PAGE 전기영동에 의해 유의성이 있다고 판단된 시료의 안구단백질을 분자량 수준(peptide 수준)으로 수량화하고자 2차원 전기영동방법에 의해 단백질을 분리해본 결과, 각 시료의 안구단백질은 대부분이 분자량 30-50 KDa 사이에 분포하고 있었다. 또한 2차원 전기영동상을 분석해 보면 형태분류학적으로 나뉘어진 갓오징어目(order Sepioidea)에 속하는 種 사이에서 가장 비슷한 polypeptide spot을 보였으며, 살오징어目(order Teuthoidea) 역시 전반적인 전기영동상은 비슷하였다. 그러나 문어目(order Octopoda) 낙지의 경우 나머지 目과 전혀 다른 분리상을 보였다 (Fig. 6).

## 고 찰

황해 서식 두족류에서 연구대상종으로 갓오징

어目에서 참갓오징어(*S. esculenta*) 및 쇠갓오징어(*S. japonica*), 살오징어目에서 한치꼴뚜기(*L. chinensis*) 및 참꼴뚜기(*L. beka*) 그리고 문어目에서 낙지(*O. minor*)를 선택하여 Davis-polyacrylamide gel electrophoresis (Davis-PAGE)를 실시하였다. 안구단백질이나 근육단백질보다 가용성 단백질이 많은 간조직(liver)에서 많은 단백질 분리 pattern을 볼 수 있었는데, Davis-PAGE 전기영동방법에서와 같이 단백질을 변성시키지 않고 시료로 사용할 경우 전기영동 분리상에 많은 제약 및 단백질 분리양상을 해석하는데 문제점이 있다고 생각되며(Fig. 2-C), 따라서 시료의 일부 불용성 단백질을 detergent에 의해 완전히 가용화(soluble)시킨 뒤 SDS-PAGE 전기영동 방법을 이용하는 것이 種間 비교에 유의성있는 단백질 분리양상을 파악하는데 유리하였다(Fig. 3).

두족류 5種의 안구단백질을 exponential gradient SDS-PAGE 전기영동으로 실험한 결과 SDS-PAGE 보다 해상력이 매우 높아 각 目에 따라 유의성있는 단백질 pattern을 볼 수 있었다. 특히 갓오징어目, 쇠갓오징어目과 문어目 사이에는 매우 판이한 단백질 pattern을 보였으며 이 들로부터 안구 단백질을 세분화하여 분석할 경우 種間 비교 및 계군분석(population stock analysis)에 충분히 이용 가능하리라 생각된다(Fig. 4-A).

실험대상種의 각 시료단백질을 등전점 전기영동(thin-layer IEF)해보면 특히 안구단백질에서 깊은 유연관계(relationship)가 있으며 대략 pI (isoelectric point)값 7.5-8.5 사이에서 특이성(specificity)을 갖는 단백질 분리 양상을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 갓오징어目과 살오징어目の 신경계(nervous system)와 soft tissue는 매우 유사하다고 한 Young(1977)과 Donovan(1977)의 견해와 일치하였다. 여기서 산출된 pI값을 표준 단백질 등전점 전기영동(standard pI marker protein) 값과 비교해 보면 대략의 지정된 pI값 부위에 해당되는 특이 단백질을 추



정할 수 있으며, 이러한 등전점 전기영동은 2차원으로 재분리 할 경우 매우 정밀한 차이값을 통해 종사이에 특이성이 있는 전기영동상을 얻을 수 있다고 생각한다(Fig. 5).

한편 유의성이 있다고 판단되는 시료의 특이 단백질을 peptide수준으로 분리하거나 수량화를 위하여 2차원 전기영동(2D-PAGE) 방법을 통한 분석에서 가용화된 안구단백질(total soluble eye protein)의 분자량은 대부분 30-50 KDa 사이에 있음을 알 수 있었다(Fig. 6).

일반적으로 전기영동방법에 의한 단백질 분리 pattern을 통해 실험종간의 유의성있는 결과를 얻기 위해서는 가능한한 다양한 조직과 단백질을 가용화시켜 전기영동하는 것이 정확한 결과를 얻을 수 있다고 생각되며, 또한 2차원 전기영동은 시료에서 단백질을 분리하고 수량화하기 위한 효과적인 방법중에 하나이며 단백질 분석을 좀더 세분화하기 위해서는 chromatography에 의한 분리방법과 Western Blotting에 의한 단백질 분리도 좋은 방법이라고 생각된다.

## 요 약

황해서식 두족류(class Cephalopoda)의 가용성 단백질에 대한 연구를 위해, 인천 및 목포 연근해에서 채집된 두족류 3목 5종의(오징어목 : 참갑오징어(*Sepia esculenta*) 및 쇠갑오징어(*Sepiella japonica*), 살오징어목 : 한치꼴뚜기(*Loligo chinensis*) 및 참꼴뚜기(*Loligo beka*), 문어목 : 낙지(*Octopus minor*))의 안구단백질, 근육단백질 및 간조직을 추출하여, 각종 전기영동(Davis-PAGE 및 SDS-PAGE, Exponential gradient SDS-PAGE, 등전점 전기영동, 2차원 전기영동) 방법에 의한 단백질 분리 양상을 통해 두족류 종사이의 유전적 근연관계를 분석하였다. 시료의 안구 및 근육 단백질에 대한 exponential gradient SDS-PAGE 전기영동 결과 대략 분자량 35-50 KDa 사이에서 단백질 분리 양상의 차이를 볼 수 있었으며, 등전점 전기영동 방법

(IEF)에 의해서는 pI값 7.5-8.5 사이에서 종간 특이성을 갖는 단백질 분리 양상을 볼 수 있었다. 특히 유의성이 있다고 판단된 시료의 안구 단백질을 2차원 전기영동 방법에 의해 분리 해 본 결과 대부분 분자량 30-50 KDa 사이에 분포하고 있어 exponential gradient SDS-PAGE 전기영동에 의한 결과와 일치함을 알 수 있었다.

## 사 사

본 연구는 한국 과학기술재단 지원 기초연구 과제 결과의 일부이며, 또한 본 연구 수행에 조언을 아끼지 않은 인하대학교 의과대학 생화학 교실 장정순 교수께 심심한 감사를 드립니다.

## 참 고 문 헌

- Anderson, L. and N. G. Anderson., 1977. High resolution two dimensional electrophoresis of human plasma proteins. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 74 : 5421-5425.
- Andrew, A. T., 1988. Electrophoresis : theory, techniques and biochemical clinical applications. Clarendon Press, Oxford, 2nd Ed.
- Avise, J. C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb and N. C. Saunders, 1987. Interspecific phylogeography : the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Ann. Rev. Ecol. Syst. 18 : 489-522.
- Boss, K. J., 1982. Mollusca. In S.P.Parker, ed. Synopsis and classification of living organism, 1. McGraw-Hill, N.Y., U.S.A., 945-1166.
- Davise, O. R., E. D. Spurr and J. B. Versey, 1971. Modifications to the technique of two-dimensional immunoelectrophoresis. Clin. Sci., 40 : 411.
- Day, T. H., P. C. Hillier and B. Clarke, 1974. Properties of genetically polymorphic isozyme produced by cells at the alcohol dehydrogenase locus in *D. melanogaster*. Biochem. Genet., 11 : 141.
- Donovan, O. T., 1977. Evolution of the dibranchiata Cephalopoda. In Symp. Zool. Soc.

- London, 38 : 15-48.
- F.A.O. 1983. Yearbook of fishery statistics. Catches and landings 1981. Year. Fish. Stat., 52 : 356.
- F.A.O. 1988. Yearbook of fishery statistics. Catches and landings 1986. Year. Fish. Stat., 63 : 307.
- Gulland, J. A., 1977. The management of marine fisheries. University of Washington Press, Seattle, U.S.A.
- Jamieson, A. and B. W. Jones, 1967. Two races of Cod at Faroe. Heredity, 22 : 610-612.
- Jamieson, A., 1970. Cod transferrins and genetic isolates, XII Europ. Conf. Anims. Blood groups and Biochem., Aggreg. Warsaw, 533-538.
- Je, J. G., 1993. Distribution of molluscs in soft bottom of Korean Seas. Ph.D. thesis, Seoul National University. 296 pp.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, Nature. 227 : 680-685.
- Lane, F. W. 1957. Kingdom of the Octopus. The life history of the Cephalopoda. Jarrolds Publisher Ltd., London. U.K.
- Ligny, W., 1969. Serological and biochemical studies on fish population. Oceanogr. Mar. Biol., 7 : 411-513.
- Lim, J. Y. 1967. Ecological studies on common squids, *Ommastrephes sloani pacificus* STEENSTRUP in the eastern water of Korea. Reports of Fisheries Resources and Development Agency, 7 : 41-49.
- Odum, E. P., 1971. Fundamental of ecology, Sanders, London. 574 pp.
- O'Farrell, P. H., 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. J. Biol. Chem., 250 : 4007-4021.
- Okutani, T., 1967. Preliminary catalogue of Decapodan mollusca from Japanese Waters. Bull. Tokai Res. Fish. Res. Lab., 50 : 1-16.
- Park, B. H. and J. B. Hue, 1977. Distribution, migration and fluctuation of the catch condition of the squid (*Todarodes pacificus* STEENSTRUP). Bull. Fish. Res. Dev. Agency, 18 : 85-89.
- Roper, C. F. E., M. J. Sweeney and C. E. Nauen., 1984. FAO species catalogue. vol.3. Cephalopoda of the world. An annotated and illustrated catalogue of species interest of fisheries. FAO Fish. Synop., 125(3) : 277 pp.
- Sick, K., 1962. Haemoglobin polymorphism in fishes. Nature(London), 192 : 894-896.
- Young, J. Z., 1977. Brain, behaviour and evolution of Cephalopoda. In Symp. Zool. Soc. London, 38 : 377-434.
- 김익수, 이종영, 양서영, 1985. 한국산 황어아과 어류의 계통 분류학적 연구. 한국수산학회지, 18(4) : 381-400.
- 양서영, 1983. 납자루 아과 수종의 유전적변이에 관하여. 생물학적연구연보, 전북대. 4 : 25-32.
- 농림수산연보. 1988. 수산통계연보. 농림수산부.
- 제종길, 1990. 한국산 두족류에 관한 연구(I). 해연보, 146 pp.
- 山本孝治, 1942 a. カフカ *Sepia esculenta* 卵の發生. 植物及動物, 10(2) : 125-130.
- 山本孝治, 1942 b. 韓鮮産 頭足類 目録. 日本貝類學雜誌, 11(4) : 126-133.