Journal of Life Science 2008 Vol. 18. No. 6. 782~788 ©JLS / ISSN 1225-9918

조피볼락, 용치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸복 장관의 복합당질 성상 및 분포

정길남*

부산대학교 사범대학 과학교육학부 생물교육전공

Received March 20, 2008 / Accepted May 5, 2008

Characterization and Distribution of Glycoconjugates in the Intestines of *Sebastes schlegeli, Halichoeres poecilopterus, Bryzoichthys lysimus,* and *Takifugu pardalis*. Gil Nam Jeong*. *Biology Education Major, Division of Science Education, College of Education, Pusan National University, Busan 609-735, Korea* - The aim of this work is to show differences in the pattern of glycoconjugate composition in the intestines of four teleostean species (*Sebastes schlegeli, Halichoeres poecilopterus, Bryzoichthys lysimus,* and *Takifugu pardalis*). We compared four regions of all species studied. The specimens were processed and stained with nine kinds of biotinylated lectins (DBA, SBA, PNA, BSL-Ⅰ, RCA-Ⅰ, sWGA, UEA-Ⅰ, LCA and Con A). Except for *Sebastes schlegeli*, no differences between regions were observed. The intestinal epithelium of *Halichoeres poecilopterus* possessed D-glucose/mannose residues in all regions. β-N-acetyl-D-galactosamine was distinctive along the intestines, although the pattern of diversity was different in *Sebastes schlegeli, Bryzoichthys lysimus,* and *Takifugu pardalis*. Additionally, the occurrence of Galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine and α-D-galactose were confirmed in the proximal, middle, and distal intestine of *Sebastes schlegeli*, while rectal intestine lacked these sugar residues. Along with β-N-acetyl-D-galactosamine, β-N-acetyl-D-glucosamine and D-glucose/mannose were also determined in *Bryzoichthys lysimus*. Galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine, D-galactose, and D-glucose/mannose were also present in *Takifugu pardalis*.

Key words : Intestine, glycoconjugate, lectin, teleost, goblet cell

서 론

경골어류의 장관 점막은 사이사이에 배상세포가 개재된 단층원주상피로 덮여 있는데 원주세포 선조연의 외층은 glycocalyx로 되어 있으며[15], 점액질 분비세포인 배상세포는 어종 및 부위에 따라 세포의 형태, 크기, 분포상태 및 점액질 성상에서 차이가 있다[3,28].

척추동물 소화관에서 분비되는 복합당질은 수용성 당단백질로서 oligosaccharide side chain을 가지며 100여 종의 hexose 중 glucose, mannose, fucose, galactose, N-acetyl-D-glucosamine 등이 포함되어 있다[13]. 복합당질은 세포표면 및 내강면에 분포하고 세포의 분화 및 형태 형성에 따라 잔기가 완성되므로 분화정도에 따라 그 분포와 양에는 차이가 있다[26,34]. 이러한 복합당질은 당 잔기에 대해 높은 친화성 및 특이성을 가진 단백질 또는 당단백질인 lectin으로 조직화학적 분석이 가능하다[14,29].

경골어류 장관 점액질의 조직화학적 연구는 많으나 복합당질의 조직화학적 성상에 관한 연구는 Madrid 등[24]의 감성돔과 Fiertak와 Kilarski [9]의 잉어 장관 배상세포에 한정되어 있다. 본 연구에서는 경골어류 중 현재까지 연구된 바 없는 조피볼락, 용치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸복 장관 점막의 복합당질 성상을 lectin 조직화학으로 연구하였다.

***Corresponding author**
Tel : +82-51-510-2696, Fax : +82-51-514-8576
E-mail : nami6346@hanmail.net

재료 및 방법

실험 재료 및 조직 표본 제작

본 실험에 사용한 경골어류는 점액질의 조직화학적 연구는 되어 있으나 아직까지 복합당질의 조직화학적 성상에 관한 연구가 되어 있지 않은 횟대목(Scorpaeniformes) 양볼락과(Scorpaenidae)의 조피볼락 *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf), 농어목(Percida) 놀래기과(Labridae)의 용치놀래기 *Halichoeres poecilopterus* (Temminck et Schlegel), 장갱이과(Stichaeidae)의 송곳니베도라치 *Bryzoichthys lysimus* (Jordan et Snyder) 및 복어목(Tetraodontiformes) 참복과(Tetraodontidae)의 졸복 *Takifugu pardalis* (Temminck et Schlegel)을 사용하였다.

실험 동물을 희생시킨 후 흉복강을 절개하고 장이 시작되는 부위부터 장이 끝나는 부위까지 장 전체를 4 부위(근위장, 중간장, 원위장 및 직장)로 나누어 장을 3~4 mm 두께로 절취한 뒤 10% 중성 포르말린용액에 24시간동안 고정한 다음 수세과정을 거친 후 각급 알콜에서 탈수과정, 투명화과정을 거쳐 paraplast (융점 56~58°C)에 포매하여 6 μm 두께의 연속절편을 만들었다. 장관의 조직학적 구조를 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin (H-E) 염색을 실시하였다.

Lectin histochemistry

장관 복합당질의 당잔기를 검색하기 위해 탈 파라핀한 조

직을 3% methanolic hydrogen peroxide에 실온에서 30분간 처리하고, phosphate buffer saline (PBS, 0.01M, pH 7.4)으로 10분간 3회 세척한 후 비특이성 반응을 없애기 위하여 1% bovine serum albumin 용액에 실온에서 30분간 두었다가 여분의 용액을 제거시킨 후 4°C에서 습도를 유지하면서 9가지의 biotinylated lectin (Vector Lab., Burlingame, C.A., USA) 중 DBA, PNA, BSL-I, sWGA 및 UEA-I은 Hepes buffer (10mM Hepes 용액, pH 7.5, 0.15M NaCl, 0.1mM Ca^{2+}, 0.045% sodium azide)에, LCA와 Con A는 상기 Hepes buffer에 0.01 mM의 Mn^{2+}이 포함된 용액에, RCA-I은 phosphate 용액(10mM phosphate buffer, pH 7.5, 0.15M NaCl, 0.085% sodium azide)에 Table 1과 같은 농도로 희석하여 24시간 동안 반응시켰다.

PBS로 세척한 후 ABC kit (avidin-biotin-peroxidase complex, Vector Lab.) 시약에 실온에서 60분간 반응시켰다. 다시 PBS로 세척한 후 Tris buffer (TB, 0.05M, pH 7.6)에 0.02% 3,3′-diaminobenzidine tetrahydrochloride (Sigma, USA)와 0.01% H_2O_2를 혼합한 용액에 실온에서 약 10분간 발색시켰다. 그 후 증류수로 세척하여 Mayer's hematoxylin으로 대조염색한 후 polymount (Polyscience, USA)로 봉입하였다.

Lectin의 반응정도는 음성은 0, 흔적적인 반응은 ±, 약한 반응은 +, 중등도의 반응은 ++, 강한 반응은 +++, 매우 강한 반응은 ++++ 등으로 표시하였다.

결 과

4종 경골어류 모두 장관 벽은 점막, 점막하조직, 근층 및 장막으로 구성되어 있었으며 주름 모양은 조피볼락은 장 부위에 따라 모양이 다른 일차주름이 뚜렷한 반면 용치놀래기는 표면에 굴곡이 많고 가늘고 길며 간혹 분지되거나 두개의 주름이 융합된 것도 관찰되었다. 송곳니베도라치는 길이가 짧은 기둥형 또는 추체형 주름이 두 세갈래로 무디게 분지되어 있었으며 졸복의 점막주름은 나뭇가지 모양으로 분지되어 있었다. 장점막상피는 선조연이 뚜렷한 원주세포가 단층으로 덮여 있었으며 원주세포 사이에 위치한 배상세포는 주름 상부에서는 조밀하게 분포하나 하부에서는 적게 나타났다. 배상세포 크기는 조피볼락과 용치놀래기에서는 대부분 중간 크기이나 이보다 크거나 작은 것도 관찰되었으며, 송곳니베도라치와 졸복에서는 중간 크기이거나 작았다.

Lectin의 결합양상은 Table 2와 같았으며, 배상세포 크기에 따른 반응성의 차이는 없었다.

조피볼락

조피볼락은 장 부위에 따라 반응하는 lectin 종류가 달랐다. 근위장, 중간장 및 원위장의 선조연은 DBA (Fig. 1), SBA, PNA, BSL-I (Fig. 2), RCA-I 및 sWGA (Fig. 4)에 반응하였으나 직장의 선조연은 sWGA (Fig. 5)에만 반응하였다. 근위장, 중간장 및 원위장의 원주세포는 사용한 lectin들에 대부분 반응성이 없거나 있더라도 미약한 반응을 나타낸 반면 (Fig. 1,2,3) 직장의 원주세포는 SBA와 sWGA에 반응하였다. 근위장 및 중간장의 배상세포는 DBA (Fig. 1), SBA, PNA, BSL-I 및 sWGA (Fig. 4)에 반응을 나타내었으며 원위장의 배상세포는 이 외에 RCA-I에도 반응을 나타내었고 직장의 배상세포는 DBA, SBA, RCA-I 및 sWGA (Fig. 5)에 반응을 나타내었다.

또한 lectin 반응정도에서도 차이가 나타났다. 근위장, 중간장 및 원위장보다 직장에서는 원주세포의 SBA 반응성과 배상세포의 DBA 및 SBA 반응성이 높았다.

근위장, 중간장 및 원위장의 선조연에는 N-acetyl-D-galactosamine과 β-N-acetyl-D-glucosamine이 중등량 내지 상당량, α-D-galactose가 중등량, galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine와 β-D-galactose가 소량 함유되어 있었고, 배상세포에는 galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine은 소량 내지 중등량, N-acetyl-D-galactosamine, α-D-galactose 및 β-N-acetyl-D-glucosamine가 미량 내지 소량 함유되어 있었으며, 원위장의 배상세포에는 이 외에도 β-D-galactose가 미량 내지 소량 함유되어 있음을 알 수 있었다.

직장의 선조연에는 β-N-acetyl-D-glucosamine이 상당량, 원주세포에는 N-acetyl-D-galactosamine과 β-N-acetyl-D-glucosamine이 소량 내지 중등량, 배상세포에는 N-acetyl-D-

Table 1. Lectins used for identifying carbohydrate residues

Lectin	Origin	Major sugar specification	Common name	Concentration (μg/ml)
DBA	*Dolichos biflorus*	α-N-acetyl-D-galactosamine	*Dolichos biflorus* agglutinin	10
SBA	*Glycine max*	α/β-N-acetyl-D-galactosamine	Soybean agglutinin	10
PNA	*Arachis hypogaea*	galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine	Peanut agglutinin	10
BSL-I	*Bandeiraea simplicifolia*	α-D-galactose	Bandeiraea *simplicifolia* lectin-I	10
RCA-I	*Ricinus communis*	β-D-galactose	*Ricinus communis* agglutinin-I	5
sWGA	*Triticum vulgaris*	β-N-acetyl-D-glucosamine	Succinylated wheat germ agglutinin	5
UEA-I	*Ulex europaeus*	α-L-fucose	*Ulex europaeus* agglutinin-I	10
LCA	*Lens culinaris*	α-D-mannose/α-D-glucose	*Lens culinaris* agglutinin	3
Con A	*Canavalia ensiformis*	α-D-mannose/α-D-glucose	Concanavalin A	2

Table 2. Lectin binding to the epithelial elements of different regions of the intestines of all species studied

Species	Regions	Epithelial Element	DBA	SBA	PNA	BSL- I	RCA- I	sWGA	UEA- I	LCA	Con A
Sebastes schlegeli	PI	SB	++∼+++	++∼+++	±∼+	++	+	++∼+++	0	0	0
		CC	±>0	±	0>±	0	0	0	0	0	0
		GC	±∼++	±∼+	±∼+	±∼+	0>±	±	0	0	0
	MI	SB	++∼+++	++∼+++	+>++	++∼+++	+	+++>++	0	0	0
		CC	±>0	±	0>±	0	0	0	0	0	0
		GC	±∼+	±∼+	+∼++	±∼+	0>±	±∼+	0	0	0
	DI	SB	++∼+++	++∼+++	+	++	+	+++	0	0	0
		CC	0>±	±	0>±	0	0	0	0	0	0
		GC	±∼+	±∼+	+∼++	±∼+	+>±	±∼+	0	0	0
	RI	SB	0	0	0	0	0	+++>++	0	0	0
		CC	0	+∼++	0>±	0	0	+∼++	0	0	0
		GC	++∼+++	++∼+++	0	0	+>±	±	0	0	0
Halichoeles poecilopterus	PI	SB	0	0	0	0	0	0	0	0	+∼++
		CC	0	0	0	0	0	0	0	0	+,++*
		GC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MI	SB	0	0	0	0	0	0	0	0	++
		CC	0	0	0	0	0	0	0	0	+
		GC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	DI	SB	0	0	0	0	0	0	0	0	++∼+++
		CC	0	0	0	0	0	0	0	0	+,++*
		GC	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	RI	SB	0	0	0	0	0	0	0	0	+∼++
		CC	0	0	0	0	0	0	0	0	+,++*
		GC	0	0	0	0	0	0	0	0	0∼±
Bryzoichthys lysimus	PI	SB	0	0	0	0	0	++∼+++	0	0	++
		CC	0	0>±	0	0	0	+	0	0	+
		GC	0	+∼++	0>±	0	0	±∼+	0	0	0
	MI	SB	0	0	0	0	0	+++	0	0	++
		CC	0	0>±	0	0	0	+	0	0	+
		GC	0	+∼++	0>±	0	0	±∼+	0	0	0
	DI	SB	0	0	0	0	0∼±	++∼+++	0	0	+
		CC	0	0>±	0	0	0	+	0	0	+
		GC	0	+∼++	±∼+>0	0	0	±>+	0	0	0
	RI	SB	0	0	0	0	0	++∼+++	0	0	+
		CC	0	0>±	0	0	0	+	0	0	+
		GC	0	+++	±∼+>0	0	0	±>+	0	0	0>±
Takifugu pardalis	PI	SB	0	++∼+++	++∼+++	++∼+++	+>++	0	0>±	0	±∼+
		CC	0	++	++	+∼++	±∼+	0	0	0	+
		GC	0	±∼++	0	0>±	0	±>0,+	0	0	0
	MI	SB	0	++∼+++	+∼++	+∼++	++∼+++	0	0>±	0	±∼+
		CC	0	++	++	+∼++	±∼+	0	0	0	+
		GC	0	±∼++	0	0>±	0	±	±	0	0
	DI	SB	0	++∼+++	++∼+++	++∼+++	++∼+++	0	0>±	0	±∼+
		CC	0	++	++	+∼++	±∼+	0	0	0	+
		GC	0	±∼++	0	0	0	±	±∼+	0	0
	RI	SB	0	++>+++	+>++,+++	++∼+++	+>++	0	0>±	0	±∼+
		CC	0	++	++	+∼++	±∼+	0>±	0	0	+
		GC	0	±∼++	0	0	0	±>0	±∼+	0	0

Degrees of staining: ++++, very intense: +++, intense: ++, moderate: +, weak: ±, trace: 0, absent: >, most marked

Abbreviations: SB, striated border of columnar cells; CC, columnar cells; GC, goblet cells; PI, proximal intestine; MI, middle intestine; DI, distal intestine; RI, rectal intestine

*Reaction products were observed only at the Golgi area.

galactosamine이 중등량 내지 상당량, β-D-galactose와 β-N-acetyl-D-glucosamine가 미량 내지 소량 함유되어 있었다.

용치놀래기

사용된 9가지 lectin들 중 α-D-mannose 및 α-D-glucose에 특이성을 가진 Con A (Fig. 6)만이 모든 장의 선조연과 원주세포에서 약한 반응 내지 중등도 반응을 나타낸 것으로 보아 용치놀래기는 부위에 따른 차이 없이 모든 장의 선조연과 원주세포에 α-D-mannose 및 α-D-glucose가 소량 내지 중등량 함유되어 있음을 알 수 있었다.

송곳니베도라치

모든 부위에서 선조연과 원주세포는 sWGA와 Con A에, 배상세포는 SBA (Fig. 7), PNA (Fig. 8) 및 sWGA (Fig. 9)에 반응하였으나 반응정도는 부위에 따라 차이가 있었다. sWGA에 모든 부위의 선조연은 중등도 내지 강한 반응을 보였으며 Con A에 근위장과 중간장의 선조연은 중등도 반응을, 원위장과 직장은 약한 반응을 나타낸 것으로 보아 모든 부위의 선조연에는 β-N-acetyl-D-glucosamine가 중등량 내지 상당량 함유되어 있었고, 이 외에 α-D-mannose 및 α-D-glucose가 근위장과 중간장에는 중등량, 원위장과 직장에는 소량 함유되어 있음을 알 수 있었다. 배상세포 반응성에서 모든 부위에서 sWGA (Fig. 9)에 미약한 반응 내지 약한 반응을, SBA (Fig. 7) 에 근위장, 중간장 및 원위장은 약한 반응성 내지 중등도 반응성을 나타낸 것에 비해 직장은 강한 반응성을 나타내었으며, PNA (Fig. 8)에 일부세포가 미약한 반응 내지 약한 반응을 나타낸 것으로 보아 모든 배상세포에는 β-N-acetyl-D-glucosamine가 미량 내지 소량 함유되어 있음을 알 수 있었다. 또한 β-N-acetyl-D-galactosamine가 근위장, 중간장 및 원위장에는 소량 내지 중등량, 직장에는 상당량 함유되어 있으며 일부 세포에는 galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine가 미량 내지 소량 함유되어 있음을 알 수 있었다.

졸복

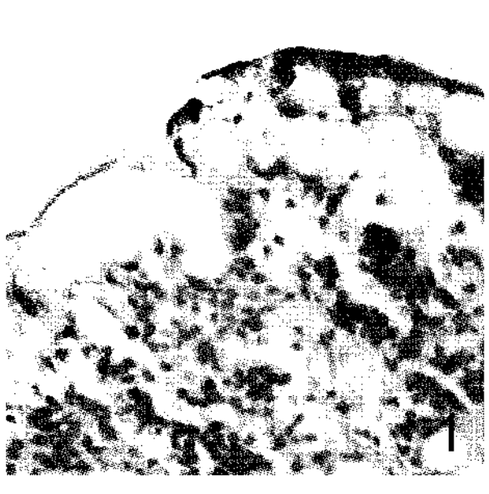
모든 부위에서 선조연과 원주세포는 SBA (Fig. 10), PNA, BSL-I, RCA-I (Fig. 11) 및 Con A에 반응하였고 배상세포는 SBA, sWGA 및 UEA-I (Fig. 12)에 반응하였으며 부위에 따른 반응정도의 차이는 없었다. 선조연은 SBA (Fig. 10), PNA, BSL-I 및 RCA-I (Fig. 11)에 중등도 내지 강한 반응을 보였고, Con A에 미약한 반응 내지 약한 반응을 나타내어 β-N-acetyl-D-galactosamine, galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine, α-D-galactose 및 β-D-galactose가 중등도 내지 상당량, α-D-mannose 및 α-D-glucose가 미량 내지 소량 함유되어 있음을 알 수 있었다. 원주세포에는 β-N-acetyl-D-galactosamine와 galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine이 중등량, α-D-galactose이 소량 내지 중등량, α-D-mannose 및 α-D-glucose가 소량, β-D-galactose가 미량 내지 소량 함유되어 있음을 알 수 있었다. 배상세포는 장 모든 부위에서 SBA에 약한 반응 내지 중등도 반응을 보이고, sWGA와 UEA-I (Fig. 12)에 미약한 반응 내지 약한 반응을 나타내어 β-N-acetyl-D-galactosamine가 소량 내지 중등량, β-N-acetyl-D-glucosamine와 α-L-fucose가 미량 내지 소량 함유되어 있음을 알 수 있었다.

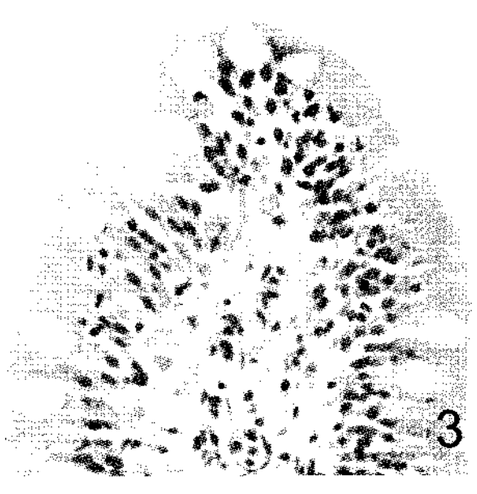
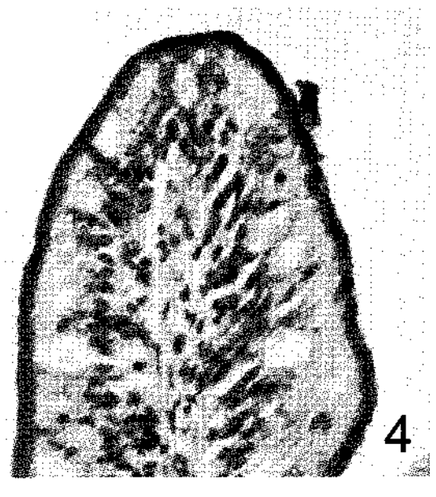
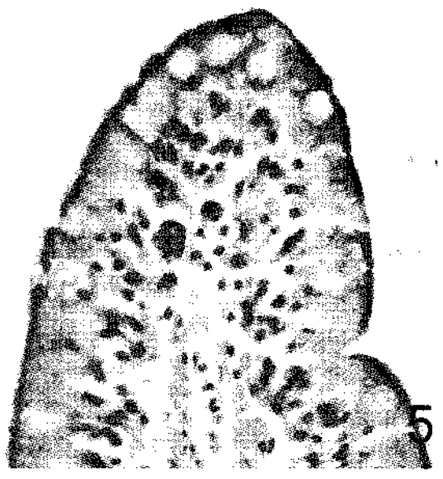
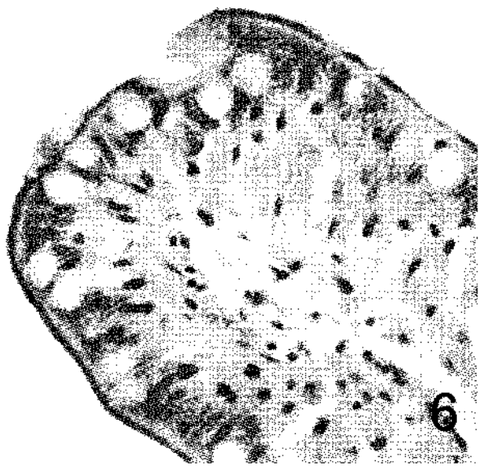
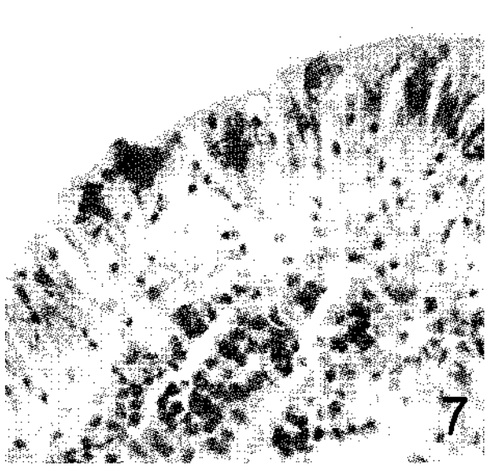
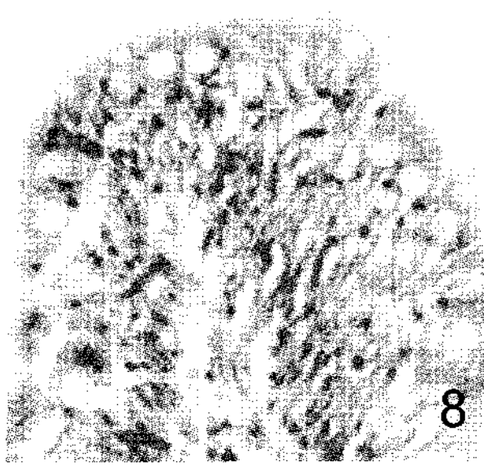
고 찰

일반적으로 조직 내에 들어 있는 탄수화물은 대개 단백질 혹은 지질에 결합되어 존재하는데 이를 각각 당단백질 및 당지질이라고 하며, 이를 통칭하여 복합당질(glycoconjugates)이라고 한다[1,4]. 척추동물 소화관에서 분비되는 복합당질은 수용성 당단백질[13]로 중성 pH에서 음전하를 띠게 하는데 관여하는 sialic acid residue [21]를 함유하며 또한 mannose, glucose, glucosamine, galactose 및 galactosamine과 같은 당과 serine, threonine과 같은 아미노산[13]을 함유한다. 복합당질은 세포에 안정성을 주고 세포가 외부물질을 인식하는데 관여할 뿐 아니라 삼투조절, 기계적 손상과 감염에 대한 보호, 위와 장의 산성 환경으로부터의 보호, 상피를 통한 이온 수송, 소화작용 및 윤활작용에 관여한다고 알려져 있다[11,23,31,32].

Lectin은 비면역성 단백질 또는 당단백질로서 탄수화물의 특정한 당잔기(sugar residue)에 높은 친화성과 특이성을 가지므로 조직 내 복합당질의 당잔기를 규명하는데 유용한 도구로 사용된다[8,10,14,29,30,33]. 경골어류 장관 점액질의 조직화학적 연구는 많으나[2,5-7,12,16-19,22,25,27] 복합당질에 대한 lectin의 조직화학적 성상에 관한 연구는 몇몇에 한정되어 있다[9,24].

본 연구에서는 조피볼락, 용치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸복 장관 점막의 복합당질을 lectin 조직화학으로 분석한 결과 어종 및 부위에 따라 차이가 있었다. 조피볼락은 UEA-1, LCA 및 Con A를 제외한 6가지 lectin에 반응하였으나 장 부위별로 반응하는 lectin 종류에서 큰 차이를 나타낸 반면 용치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸복은 장 부위에 따른 차이가 뚜렷하지 않았다. 조피볼락의 선조연과 원주세포의 반응성은 근위장, 중간장 및 원위장은 서로 유사하나 직장과는 큰 차이를 보였으며, 배상세포의 반응성은 근위장과 중간장은 유사하나 원위장과 직장은 각각 달랐다. 또한 lectin 반응정도에서도 차이가 나타나 근위장, 중간장 및 원위장보다 직장에서는 원주세포의 SBA 반응성과 배상세포의 DBA 및 SBA 반응성이 높았다. 용치놀래기는 사용된 9가지 lectin 중 α-D-mannose 및 α-D-glucose에 특이성을 가진 Con A만이 모든 장의 선조연과 원주세포에서 약한 반응 내지 중등도 반응을



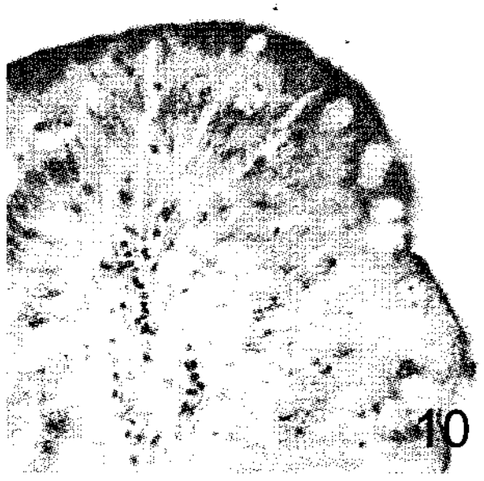
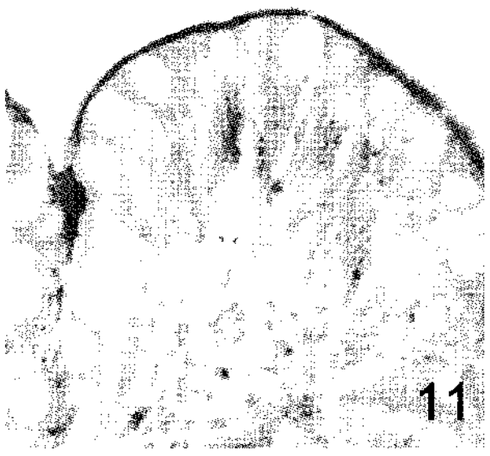
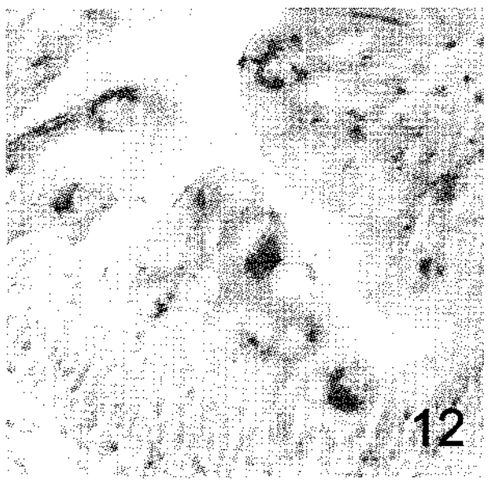




Fig. 1. DBA binding pattern in the proximal intestine of *Sebastes schlegeli*. The striated border shows a moderate to intense positive reaction. Goblet cells show a faint to moderate positive reaction. ×400.

Fig. 2. BSL-1 binding pattern in the distal intestine of *Sebastes schlegeli*. The striated border shows a moderate positive reaction, while columnar cells are unreactive. Goblet cells show a faint to weak positive reaction. ×400.

Fig. 3. BSL-1 binding pattern in the rectal intestine of *Sebastes schlegeli*. All of the epithelial elements are unreactive. ×400.

Fig. 4. sWGA binding pattern in the middle intestine of *Sebastes schlegeli*. The striated border shows a moderate to intense positive reaction, while columnar cells are unreactive. Goblet cells show a faint to weak positive reaction. ×400.

Fig. 5. sWGA binding pattern in the rectal intestine of *Sebastes schlegeli*. The striated border show a intense positive reaction. Columnar cells show a weak to moderate positive reaction. Goblet cells show a faint positive reaction. ×400.

Fig. 6. Con A binding pattern in the middle intestine of *Halichoeles poecilopterus*. The striated border shows a moderate positive reaction. Columnar cells show a weak positive reaction, while goblet cells are unreactive. ×400.

Fig. 7. SBA binding pattern in the distal intestine of *Bryzoichthys lysimus*. The striated border and columnar cells are unreactive, while goblet cells show a weak to moderate positive reaction. ×400.

Fig. 8. PNA binding pattern in the middle intestine of *Bryzoichthys lysimus*. The striated border, columnar cells and the majority of goblet cells are unreactive, though some goblet cells show a faint positive reaction. ×400.

Fig. 9. sWGA binding pattern in the distal intestine of *Bryzoichthys lysimus*. All of the epithelial elements show a positive reaction. The striated border shows moderate to intense positive reaction. Columnar cells and goblet cells show a weak positive reaction. ×400.

Fig. 10. SBA binding pattern in the distal intestine of *Takifugu pardalis*. All of the epithelial elements show a positive reaction. The striated border shows a moderate to intense positive reaction. Columnar cells and goblet cells show a weak positive reaction. ×400.

Fig. 11. RCA-1 binding pattern in the distal intestine of *Takifugu pardalis*. The striated border shows a moderate to intense positive reaction. Columnar cells show a faint to moderate positive reaction, while goblet cells are unreactive. ×400.

Fig. 12. UEA-1 binding pattern in the distal intestine of *Takifugu pardalis*. The majority of striated border and columnar cells are unreactive, while goblet cells show a faint to weak positive reaction. ×400.

나타내었다. 송곳니베도라치는 모든 부위에서 선조연과 원주세포는 sWGA와 Con A에, 배상세포는 SBA, PNA 및 sWGA에 반응하였으나 반응정도는 부위에 따라 차이가 있었다. 졸복은 모든 부위에서 선조연과 원주세포는 SBA, PNA, BSL-Ⅰ, RCA-Ⅰ 및 Con A에 반응하였고 배상세포는 SBA, sWGA 및 UEA-Ⅰ에 반응하였으며 부위에 따른 반응정도의 차이는 없었다.

위의 결과에서 어종에 따라 lectin 반응성이 다른 것으로 보아 함유되어 있는 당질이 상이함을 알 수 있었으며, 부위에 따라 용치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸복은 장관 부위에 따른 뚜렷한 차이가 없었으나 조피볼락은 차이가 있음을 알 수 있었다. 용치놀래기에서는 복합당질 mannose/glucose 한 그룹만이 관찰되었으며, 송곳니베도라치에서는 mannose/glucose group 외에 N-acetylgalactosamine group와 N-acetylglucosamine group 등 세 그룹이 관찰되었고 졸복에서는 N-acetylgalactosamine/galactose group, N-acetylglucosamine group, mannose/glucose group 및 L-fucose group 등 네 그룹이 관찰되었다.

조피볼락 장관의 모든 부위의 선조연과 배상세포에는 N-acetylgalactosamine/galactose group 및 N-acetylglucosamine group의 당질이 함유되어 있었으나 부위에 따라 차이를 보였다. 근위장, 중간장 및 원위장에는 N-acetylgalactosamine/galactose group인 N-acetyl-D-galactosamine, galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine, α-D-galactose, β-D-galactose와 N-acetylglucosamine group인 β-N-acetyl-D-glucosamine이 공통적으로 함유되어 있었으나 직장에는 이들 중 N-acetylgalactosamine/galactose group에 속하는 galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine과 α-D-galactose가 발견되지 않았다. 따라서 조피볼락 직장의 선조연 및 배상세포 복합당질 성상은 근위장, 중간장 및 원위장이 유사하나 직장은 이들 부위와 상이함을 알 수 있었다.

Harris와 Hunt [13]는 어류의 점액질은 생화학적 연구에서 대부분 sialic acid residues와 glucose/mannose, glucosamine, galactose 및 glactosamine을 함유한다고 했는데 본 연구에서는 어종에 따라 당 잔기에 차이가 있어 위의 보고와 상이함을 알 수 있었다. 또한 Madrid 등[24]은 감성돔의 장 배상세포는 PNA, WGA, DBA 및 SBA에 반응하는 세포와 반응하지 않는 세포가 섞여 있으나 Con A에는 반응하지 않는다고 하였다. Fiertak와 Kilarski [9]는 잉어과 4종의 장관 배상세포에서 sneep, grass carp, chub 및 common carp 4종 모두 β-D-galactose, α-N-acetylgalactosamine 및 β-N-acetylglucosamine을 함유하며 sneep, chub 및 grass carp는 이 외에도 α-L-fucose를 함유하고 있으나 부위에 따라 차이가 난다고 하였다.

본 연구와 위의 연구들에서 보면 어종에 따라 lectin 결합양상에 차이가 있는데 이는 Fiertak와 Kilarski [9]의 언급처럼 종의 특이성에 기인하는 것으로 생각되며, 같은 종에서도 부위에 따라 lectin의 결합양상이 다른 것은 Kim 등[20]의 보고처럼 부위에 따라 점액세포의 성숙과정과 기능이 각각 다름을 나타내 주는 것으로 사료되나 앞으로 이에 대한 연구가 더 있어야 할 것으로 생각된다.

요 약

경골어류 4종(조피볼락, 용치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸복) 장관의 복합당질 성상의 차이를 밝히기 위해 장을 네 부위로 나누어 아홉 종류의 biotinylated lectin들(DBA, SBA, PNA, BSL-Ⅰ, RCA-Ⅰ, sWGA, UEA-Ⅰ 및 Con A)로 반응시켰다. 조피볼락을 제외하면 부위에 따른 차이는 없었다. 용치놀래기 장 상피는 모든 부위에서 D-glucose/mannose 잔기를 함유하고 있었다. 조피볼락, 송곳니베도라치 및 졸복 장 모든 부위에서는 정도의 차이는 있지만 β-N-acetyl-D-galactosamine가 함유되어 있었다. 또한 조피볼락의 근위장, 중간장 및 원위장에는 galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine 및 α-D-galactose도 함유되어 있었으나 직장에는 이들 당 잔기들이 함유되어 있지 않았다. 송곳니베도라치에는 β-N-acetyl-D-galactosamine 외에 β-N-acetyl-D-glucosamine 및 D-glucose/mannose도 발견되었으며, 졸복에서는 Galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine, D-galactose 및 D-glucose/mannose도 발견되었다.

References

1. Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts and J. D. Watson. 1989. *Molecular Biology of the Cell*. pp. 298, 2nd eds., Garland Publishing, New York.
2. Anderson, T. A. 1986. Histological and cytological structure of the gastrointestinal tract of the luderick, *Girella tricuspidata* in relation to diet. *J. Morphol.* **190**, 109-119.
3. Andrew, W. and C. P. Hickman. 1974. *Histology of the Vertebrates*. pp. 70, Mosby Co., Saint Louis.
4. Bohinski, R. C. 1983. *Modern Concepts in Biochemistry*. pp. 198, 4th eds., Allyn and Bacon, Boston.
5. Byeon, K. A. and U. B. Jo. 1985. Histochemical properties on mucosubstances of the intestine in *Sparus swinhonis* (Günther), *Erosa erosa* (Langsdorf) and *Sebasbes inermis* (Cuvier et Valenciennes). *J. Sci., Pusan National Univ.* **40**, 251-269.
6. Chakrabarti, P., S. Ganguly and D. K. Mandal. 1994. Histochemical studies of the digestive system of freshwater cichlid fish *Oreochormis mossambicus* (Peters). *J. Freshwat.* **6**, 63-69.
7. Çinar, K. and N. Şenol. 2006. Histological and histochemical characterization of the mucosa of the digestive tract in flower fish (*Pseudophoxinus antalyae*). *Anat. Histol. Embryol.* **35**, 147-151.

8. Etzler, M. E. and M. L. Branstrator. 1974. Differential localization of cell surface and secretory components in rat intestinal epithelium by use of lectin. *J. Cell Biol.* **62**, 329-343.
9. Fiertak, A. and W. M. Kilarski 2002. Glycoconjugates of the intestinal goblet cells of four cyprinids, *Cell Mol. Life Sci.* **59**, 1724-1733.
10. Goldstein, I. J. and C. E. Hayes. 1978. The lectins: carbohydrate-binding proteins of plant and animal. *Adv. Carbohydr. Cytochem. Biochem.* **35**, 127-340.
11. Gupta, B. J. 1989. The relationship of mucoid substances and ion water transport, with new data on intestinal goblet cells and a model for gastric secretion. *Symp. Soc. Exp. Biol.* **43**, 81-110.
12. Gutiérrez, M. and M. C. Sarasquete. 1986. Distribución histoquímica de carbohidratos y proteínas en estómago e intestino de *Anguilla anguilla* L., 1758 (Osteichthyes, Anguillidae) de las salinas de Cádiz. *Iav. Preq.* **50**, 553-564.
13. Harris, J. and S. Hunt. 1973. Epithelial mucins of the atlantic salmon (*Salmon salar* L.). *Biochem. Soc. Trans.* **1**, 153-155.
14. Hsu, S. M. and L. Raine. 1982. Versatility of biotin-labeled lectins and avidin-biotin-peroxidase complex for localization of carbohydrate in tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.* **30**, 157.
15. Ito, S. 1969. Structure and function of the glycocalyx. *Fed. Proc.* **28**, 12-25.
16. Jeong, G. N., G. J. Jo, E. H. Lee and U. B. Jo. 2005. Histochemical study of the intestinal mucosubstances in *Sebastes schlegeli, Halichoeres poecilopterus, Bryzoichthys lysimus* and *Takifugu pardalis. Kor. J. Life Sci.* **15**, 707-714.
17. Jeong, G. N and U. B. Jo. 2007. Histochemical studies of the intestinal mucosubstances in *Agramus agramus, Inimicus japonicus, Epinephelus chlorostigma,* and *Helicolenus dactylopterus. Kor. J. Life Sci.* **17**, 1669-1674.
18. Jo, U. B. 1974. Histochemical studies on the acid mucosubstances in the mucosa of alimentary tract of lower vertebrates. *Kor. J. Anat.* **7**, 19-30.
19. Jo, U. B. and H. C. Park. 1972. A comparative histochemical study on the mucosa of the digestive tract of the amphibians and fishes. *J. Pusan National Univ.* **13**, 383-403.
20. Kim, K. L., S. C. Moon, S. Y. Baek, J. B. Kim and B. S. Kim. 1995. Differential glycoconjugate expression in the goblet cells of the rat proximal colon. *J. Pusan Med. Coll.* **35**, 1-7.
21. Kirschner, L. B. 1978. External charged layer and Na^+ regulation, pp. 310-321, In Alfred Benzon Symposium 11, *Osmotic and Volume Regulation,* Academic Press, New York.
22. Krementz, A. B. and G. B. Chapman. 1975. Ultrastructure of the posterior half of the intestine of the Channel Catfish, *Ictalurus punctatus. J. Morphol.* **145**, 441-482.
23. Loretz, C. A. 1995. Electrophysiology of ion transport in teleost intestinal cells, pp. 25-56, *In* Wood, C. H. and T. J. Shuttelworth (eds.), *Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation,* Academic Press, London.
24. Madrid, J. F., M. T. Castells, J. A. Marin and L. M. Pastor. 1989. Characterization of glycoconjugates in the intestinal mucosa of vertebrates by means of lectin histochemistry. *Acta. Histochem. Cytochem.* **22**, 1-14.
25. Patt, D. I. and G. R. Patt. 1969. *Comparative Vertebrate Histology.* pp. 146-205, Harper and Row, New York.
26. Plenderleith, M. B., L. L. Wright and D. J. Snow. 1992. Expression of lectin binding in the superficial dorsal horn of the rat spinal-cord during prenatal and postnatal-development. *Dev. Brain Oes.* **68**, 103-109.
27. Prasad, T. N., D. K. Sahu and A. Moitra. 1992. Histochemical observations on the nature of mucous secreting cells in the gastrointestinal tract of *Channa punctatus. J. Freshwat.* **4**, 267-272.
28. Reifel, C. W. and A. A. Travill. 1979. Structure and carbohydrate histochemistry of the intestine in ten teleostean species. *J. Morphol.* **162**, 343-360.
29. Sharon, N. and H. Lis. 1989. Lectins as cell recognition. *Science* **177**, 949-959.
30. Schulte, B. A. and S. S. Spicer. 1983. Light microscopic histochemical detection of terminal galactose and N-acetylgalactosamine residues in rodent complex carbohydrates using a galactose oxidase-Schiff sequence and peanut lectin-horseradish peroxidase conjugates. *J. Histochem. Cytochem.* **31**, 19-24.
31. Smith, L. S. 1976. Digestion in teleost fishes. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish* **45**, 409-449.
32. Veggetti, A., A. Rowlerson, G. Radelli, S. Arrighi and C. Domeneghini. 1999. Post-hatching development of the gut and lateral muscle in the sole. *J. Fish Biol.* **55**, 44-65.
33. Watanabe, M., T. Muramatsu, H. Shirane and K. Ugai. 1981. Discrete distribution of binding sites for *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA) and for peanut agglutinin (PNA) in mouse organ tissue. *J. Histochem. Cytochem.* **29**, 779-790.
34. Zhou, X. H., H. Kawakami and H. Hirano. 1992. Changes in lectin binding pattern of Leydig-cells during fetal and postnatal development in mice. *J. Histochem.* **24**, 354-360.