

Distribution and Role of Mitochondrial Lactate Dehydrogenase Isozymes in Bird and Mammals

Sung Kyu Cho* and Jung Joo Yum

Department of Life Science, Cheongju University, Cheongju 28503, Korea

Received March 20, 2017 / Revised May 1, 2017 / Accepted May 2, 2017

Mitochondria were isolated from bird and mammals. The activity of monoamine oxidase (EC 1.4.3.4) was then measured to identify mitochondrial isolation. Lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27, lactate dehydrogenase, LDH) isozymes in mitochondrial fractions were analyzed by biochemical and immunochemical methods. The activity of mitochondrial LDH was lower in mammals than in bird. Therefore, the role of mitochondrial LDH seems to be more important in bird than in mammals. The concentration of protein in all tissues of bird and mammals was less in the mitochondria than in the cytosol. In the cytosol of mice and golden hamsters, testis-specific LDH C₄ isozyme was expressed in testis in addition to the LDH A₄, A₃B, A₂B₂, AB₃, and B₄ isozymes. A single LDH AB hybrid isozyme was expressed in the chicken mitochondria. In mammals, mitochondrial LDH isozymes were differed according to tissues. LDH A₄ and testis-specific LDH C₄ isozymes were expressed in the mitochondria of mice. The mitochondrial testis-specific LDH C₄ isozyme was expressed only in the mice. In the golden hamster mitochondria, the LDH B₄ isozyme functioned as a lactate oxidase. As our results show, the mitochondrial LDH seemed to be playing the different role in the bird and mammals in relation with their metabolic conditions and habitats.

Key words : Cytosolic LDH, isozyme, lactate dehydrogenase, mitochondrial LDH

서 론

해당과정의 마지막 단계 후 기능하는 젓산탈수소효소(EC 1.1.1.27, lactate dehydrogenase, LDH)는 NAD⁺-oxidoreductase 활성을 갖는 효소로서 피루브산과 젓산의 상호전환반응을 촉매하며[17], 독립적인 세 유전자 *Ldh-A, B, C*에 의하여 만들어지는 하부단위체 A, B 및 C로 구성된 사량체 동위효소이다[19, 26]. 척추동물에서 LDH A₄ 동위효소는 골격근 등의 혐기적 대사가 우세한 조직에서 주로 발현되어 pyruvate reductase로서 작용하고 LDH B₄ 동위효소는 심장 등의 호기적 대사가 우세한 조직에서 주로 발현되어 lactate oxidase로서 작용한다[8, 18, 26]. 포유류에서 testis-specific LDH C₄ 동위효소는 특정 종의 정소에서 발현되고 정자의 에너지생성과정에서 관여 한다는 기능이 일부 알려져 있다[3, 14, 15, 28].

주로 세포기질에 존재하는 세포기질 LDH (cytosolic LDH, c-LDH)가 미토콘드리아 LDH (mitochondrial LDH, m-LDH)로도 존재한다는 것은 Dianzani [12]에 의하여 제안되었고 흰

쥐 심장과 골격근의 미토콘드리아 내막과 기질에서 미토콘드리아 LDH가 발견되었다[1]. 이 후 세포 내 lactate shuttle이 제안되었고[6] 미토콘드리아 LDH의 존재는 일부 부정적인 견해[13]에도 불구하고 포유류, 식물, 효모의 미토콘드리아에서 분명하게 확인되었다[5, 21, 22, 24]. 미토콘드리아의 외부로부터 monocarboxylate transporter (MCT), lactate/H⁺ symporter, lactate/pyruvate antiporter 및 lactate/oxaloacetate antiporter를 통하여 들어온 젓산은 미토콘드리아 기질에서 NAD(P)⁺ 존재 하에 m-LDH에 의하여 산화되어 전기화학적 양성자 구배를 형성한다고 알려져 있다[21, 29]. 그러나 현재 m-LDH가 어떤 동위효소인지는 알려진 바가 없다.

따라서 본 연구는 조류 및 포유류의 각 기관 내 조직에서 미토콘드리아를 분리하고 LDH 동위효소들의 분포를 조사하여 각 동위효소들의 미토콘드리아 내에서의 기능을 비교생리학적 관점에서 살펴 보고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

생쥐 (*Mus musculus*)와 골든햄스터 (*Mesocricetus auratus*)는 청주대학교 생명과학과 사육실에서 분양 받았으며 닭 (*Gallus gallus domesticus*)은 생체재료상에서 구입하여 사용하였다. 모든 실험에는 종별 5마리(n=5)의 생체를 모아서 사용하였고 생쥐의 심장 및 정소 조직은 청주대학교 발생학연구실로부터 20마리 분을 따로 공급받아 더하여 사용하였다. 실험과정은

*Corresponding author

Tel : +82-43-229-8525, Fax : +82-43-229-8525

E-mail : skcho@cju.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

청주대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: CJUIACUC-B162005)을 받아 진행하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma-Aldrich사에서 구입하였고 쏘가리 골격근 LDH A₄, 소심장 B₄ 및 조피볼락 eye-specific LDH C₄ 동위효소에 대한 1차 항체들은 본 연구실에서 제작한 것[7, 8]을 사용하였다.

미토콘드리아의 분리 및 LDH의 추출

생체의 각 조직을 적출한 후, 증류수로 세척하여 혈액을 완전히 제거하였다. 각 조직시료에 4°C, 0.25 M sucrose를 포함한 5 mM potassium phosphate buffer (pH 6.5)를 3배(v/w) 가한 후 autohomogenizer (Rikakikai GTR-1000)로 파쇄한 다음 거즈로 걸러서 지방을 제거하여 조직파쇄액을 얻었다. 1,000× g (Refrigerated centrifuge, Hitachi 20 PR-52D)에서 15분간 원심분리 한 후 침전물을 0.25 M sucrose 용액(1:3, v/w)으로 다시 파쇄하여 상등액을 모았다. 모은 상등액은 미토콘드리아분획을 얻기 위하여 10,000× g에서 1시간 동안 원심분리 한 후 침전물을 5 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0) 30 ml를 사용하여 재현탁 시켜, 10,000× g에서 10분씩 LDH 동위효소의 활성이 나타나지 않을 때까지 여러 번 원심분리하여 침전물(미토콘드리아분획)을 얻었고, 상등액은 세포기질 LDH를 얻는데 사용하였다.

실험과정의 검증을 위하여 닭의 미토콘드리아분획은 모노아민산화효소(EC 1.4.3.4, monoamine oxidase, MAOX)의 활성을 측정하여 분리정도를 확인하였다[23]. 각 시료 별 미토콘드리아분획은 Cho 등의 방법[9]에 따라 175 mM NaCl, 0.25 M sucrose를 포함하는 5 mM potassium phosphate buffer (pH 6.5)로 현탁 시켰다. 현탁액은 30 kHz로 30초간 3분 간격, 7회 초음파처리(Ultrasonicator, IKA U50) 후 4°C, 20,000× g에서 30분간 원심분리 한 다음 상등액을 m-LDH 검출을 위한 시료로 사용하였다.

MAOX의 활성측정

MAOX 활성은 Tabor 등의 방법[25]을 변형한 Yum과 Yeon의 방법[29]으로 측정하였다. 2.5 mM Benzylamine을 함유하는 0.05 M potassium phosphate buffer (pH 7.2) 3 ml에 시료를 가한 후 benzylamine이 감소되는 정도를 분광광도계(Shimadzu UV-160A)를 사용하여 25°C, 250 nm에서 측정하였다. 활성의 단위(unit)는 benzylamine 1 μmole을 분해하는데 필요한 효소의 양을 millimolar extinction coefficient 13.8을 사용하여 계산하였다.

LDH의 활성측정

1.5 mM 피루브산과 0.14 mM NADH를 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.85) 3 ml에 시료를 가한 후 NADH로부터 NAD⁺로 산화되는 정도를 분광광도계를 사용하여 25°C, 340 nm에서 측정하였다. 활성의 단위(unit)는 기

질 1 μmole을 생성물로 전환시키는데 필요한 효소의 양을 millimolar extinction coefficient 6.22를 사용하여 전환율을 계산하였으며 units/g wet tissue로 나타내었다.

단백질 정량

단백질은 Bradford의 방법[4]으로 정량 하였다. Coomassie brilliant blue G-250 100 mg을 85% H₃PO₄ 100 ml에 세계 저어 주면서 섞은 후 95% ethanol 50 ml를 첨가한 다음 증류수로 1 l를 만든 후 사용하였다. Bovine serum albumin (BSA)을 표준 단백질로 사용하여 분광광도계로 595 nm에서 정량 하였다.

Native-polyacrylamide gel 전기영동(native-PAGE)

Polyacrylamide gel은 항온기(Rikakikai CA-1100)를 사용하여 4°C로 유지시킨 polyacrylamide vertical slab system (Hofer SE250)으로 실시하였다. Davis의 방법[10]에 따라 7.5%T, 2.67%C acrylamide separation gel과 3%T, 2.67%C acrylamide stacking gel이 되도록 slab gel을 만들었다. 시료에는 50% sucrose와 0.05% bromophenol blue용액을 1:1(v/v)로 가한 후 Tris-glycine buffer (pH 8.3)를 사용하여 100 V에서 20분간 전개시킨 다음 200 V에서 2시간 10분 동안 전기영동 하였다. 효소염색은 Whitt의 방법[26]에 의해 gel을 DL-Lactate, NBT, PMS 및 NAD⁺ 혼합용액에 넣어 37°C에서 염색한 후 15% 초산용액 내에서 고정시켰다. Gel 상에 나타난 동위효소의 활성은 image analyser (Viber Lourmat, Bio profil: BIO-ID++ Version 96)를 사용하여 분석하였다.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

ELISA는 native-PAGE 상에서 구별이 명확하지 않은 닭의 LDH 동위효소와 척추동물의 세포기질 내 LDH A₄, B₄ 및 eye-specific LDH C₄ 동위효소에 대한 1차 항체의 관련정도를 확인하기 위하여 실시하였다. Microtitration plate에 항원을 TBS (0.01M Tris, 0.15M NaCl, pH 7.4)로 희석하여 100 μl/well 씩 4°C에서 22시간 동안 흡착시켰다. 1% BSA를 포함한 TBS (0.01M Tris, 0.15M NaCl, pH 7.4)를 사용(150 μl/well)하여 실온에서 1시간 동안 blocking시켰다. 80%로 희석한 LDH A₄, B₄ 및 eye-specific LDH C₄ 동위효소에 대한 항체(1차 항체: 0.5% BSA/TBS)를 50 μl씩 well에 넣고 실온에서 1시간 동안 방치한 후 Tween 20 (0.001%)을 함유한 TBS로 5분간 1회 씻어 주었다. 1:1,000으로 희석한 anti-rabbit IgG peroxidase conjugate (0.5% BSA/TBS) 용액을 각 well에 150 μl씩 가하고 실온에서 1시간 동안 shaking시킨 후 0.001% Tween 20을 함유한 TBS로 5분간 5회 씻어주었다. 효소기질용액인 ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)]를 각 well에 100 μl씩 첨가하여 40분간 반응시키고 ELISA reader (Bio-rad 450)로 405 nm에서 흡광도를 측정하여 관련정도를 확인 하였다.

Table 1. MAOX activity (units/g) in various tissues from chicken (*Gallus gallus domesticus*)

Tissue	Cytosol	Mitochondria
Skeletal muscle	-	0.15
Heart	-	1.31
Kidney	-	1.09
Liver	-	1.16
Brain	-	0.90

결과 및 고찰

미토콘드리아의 분리 및 확인

닭, 생쥐 및 골든햄스터 골격근, 심장, 신장, 간 및 뇌 조직 미토콘드리아의 분리를 확인하기 위하여 미토콘드리아 외막의 표지효소로 알려져 있는 MAOX활성을 측정하였다[23]. 닭의 골격근, 심장, 신장, 간 및 뇌 조직에서 분리하여 얻은 미토콘드리아와 세포기질의 MAOX활성은 Table 1과 같이 나타났다. 모든 조직에서 MAOX활성이 나타났으므로 본 실험의 미토콘드리아 분리방법이 적합하다는 것을 알 수 있었다.

닭의 세포기질 LDH와 미토콘드리아 LDH

닭의 각 조직에서 세포기질 LDH 활성을 측정한 결과 활성의 강도는 골격근, 간, 심장, 신장 및 뇌 조직의 순서로 나타났으며, 단백질양은 골격근, 간, 신장, 심장 및 뇌 조직의 순서로 나타났다. 미토콘드리아 LDH의 효소활성을 세포기질 LDH의 활성과 비교한 결과 골격근은 비슷한 활성이 나타났으나 나머지 조직에서는 낮은 효소활성을 보였고, 단백질양은 모든 조직에서 적은 양이 나타났다(Table 2).

닭은 isoelectric focusing 전기영동으로 실험하는 경우 등을 제외하고는 오직 하나의 동위효소만 존재한다고 주로 알려져 있어 논란의 여지가 있다[16]. 본 연구에서 닭의 각 조직 별 세포기질 및 미토콘드리아 LDH를 전기영동 한 결과 모든 조직에서 하나의 동위효소 band만 나타났다(Fig. 1). 따라서 LDH A₄, B₄ 및 C₄와 관련 정도를 확인하기 위하여 ELISA를 실시하였다(Fig. 2). 그 결과 모든 조직에서 anti-LDH A₄, B₄

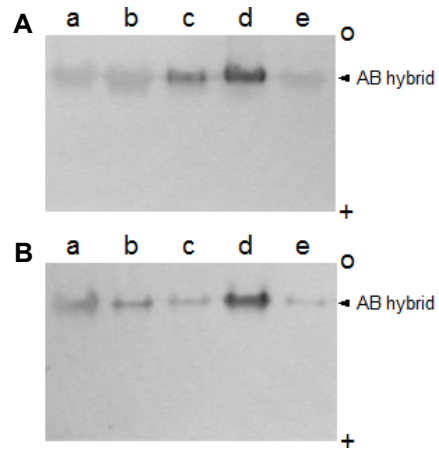


Fig. 1. Native-PAGE zymograms of cytosolic (A) and mitochondrial (B) LDH isozymes in various tissues from chicken (*Gallus gallus domesticus*). a, Skeletal muscle; b, heart; c, kidney; d, liver; e, brain; o, origin.

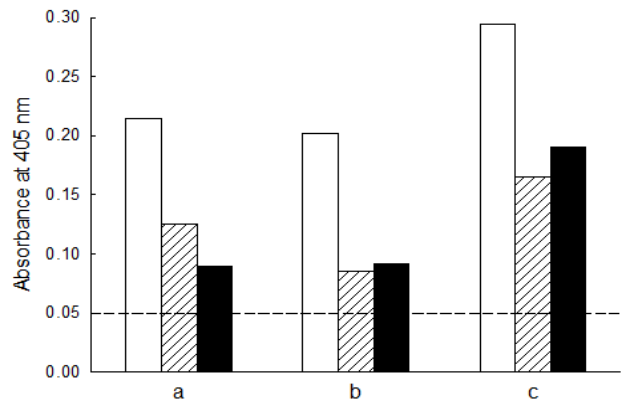


Fig. 2. ELISA analysis of the LDH isozymes in tissues from chicken (*Gallus gallus domesticus*). The LDH isozymes were detected by ELISA. Dashed line was negative control. a, Skeletal muscle; b, heart; c, liver; □, anti-LDH A₄; ▨, anti-LDH B₄; ■, anti-LDH C₄.

및 C₄에 대한 반응이 나타나므로 닭의 LDH 동위효소는 분화 정도가 낮은 AB hybrid 형인 것으로 생각된다.

Table 2. LDH activities and protein concentrations in various tissues from chicken (*Gallus gallus domesticus*)

	Tissues	Activity (units/g)	Protein (mg/g)	Specific activity (units/mg)
Cytosol	Skeletal muscle	603.84	63.9	9.45
	Heart	176.52	26.3	6.71
	Kidney	69.45	42.4	1.64
	Liver	212.21	43.3	4.90
	Brain	41.28	21.3	1.94
	Mitochondria	Skeletal muscle	614.93	5.6
Heart		3.09	3.5	0.88
Kidney		2.41	6.9	0.35
Liver		39.45	7.3	5.40
Brain		3.04	1.3	2.34

Table 3. LDH activities and protein concentrations in various tissues from mouse (*Mus musculus*)

	Tissues	Activity (units/g)	Protein (mg/g)	Specific activity (units/mg)
Cytosol	Skeletal muscle	347.26	29.5	11.77
	Heart	191.57	60.5	3.17
	Kidney	182.02	59.6	3.05
	Liver	247.42	112.7	2.20
	Brain	32.12	23.0	1.40
	Testis	21.99	152.0	0.14
Mitochondria	Skeletal muscle	-	2.2	-
	Heart	-	3.7	-
	Kidney	0.48	7.7	0.06
	Liver	0.96	6.7	0.14
	Brain	-	0.6	-
	Testis	0.72	3.2	0.23

생쥐의 세포기질 LDH와 미토콘드리아 LDH

생쥐 세포기질 LDH 활성을 측정한 결과 활성의 강도는 골격근, 간, 심장, 신장, 뇌 및 정소 조직의 순서로 나타났고, 단백질량은 정소, 간, 심장, 신장, 골격근 및 뇌 조직의 순서로 나타났다(Table 3). 미토콘드리아 LDH 활성을 세포기질 LDH 활성과 비교한 결과 골격근, 심장 및 뇌 조직에서는 활성이 나타나지 않았고, 그 외의 조직에서도 1 units/g 이하의 낮은 활성만을 보였다. 단백질량도 모든 조직에서 세포기질보다 적은 양이 나타났다(Table 3).

골격근, 심장, 신장, 간, 뇌 및 정소 조직의 세포기질 LDH 동위효소들은 뇌 및 정소 조직을 제외한 모든 조직에서 A₄ 동위효소가 B₄ 동위효소보다 강한 활성을 보였다(Table 4). 골격근 및 간 조직에서 A₄ 동위효소가 B₄ 동위효소보다 강한 활성을 보이고 뇌 조직에서 B₄ 동위효소가 A₄ 동위효소보다 강한 활성을 보이는 것은 ICR생쥐 및 골든햄스터의 결과[27]와 같았다. LDH C₄ 동위효소는 정소에서만 음극 쪽에 나타났다(Table 4). 미토콘드리아 LDH 동위효소들을 세포기질 LDH 동위효소들과 비교해 보면 심장 및 뇌 조직에서는 LDH 동위효소들의 활성이 나타나지 않았으며, 골격근, 신장 및 간 조직에서는 A₄ 동위효소만 나타났고, 정소 조직에서는 C₄ 동위효소만 나타났다(Table 4). 정소 조직의 미토콘드리아에서 LDH C₄ 동위효소가 나타난 것은 Blanco 등의 결과[2]와 같았다.

골든햄스터의 세포기질 LDH와 미토콘드리아 LDH

골든햄스터 각 조직에서 세포기질 LDH 활성을 측정한 결과 활성의 강도는 골격근, 심장, 신장, 간, 뇌 및 정소 조직의 순서로 나타났으며, 단백질량은 심장, 간, 신장, 골격근, 정소 및 뇌 조직의 순서로 나타났다(Table 5). 미토콘드리아 LDH 활성을 세포기질 LDH의 활성과 비교한 결과는 모든 조직에서 LDH 활성이 낮게 나타났으며, 이는 단백질량에서도 마찬가지로 나타났다(Table 5).

각 조직의 세포기질 LDH 동위효소들을 비교한 결과는 골격근 및 간 조직을 제외한 모든 조직에서 B₄ 동위효소가 A₄ 동위효소보다 강한 활성을 보여 Yasuda 등의 결과[27]와 일치하였다. Testis-specific LDH C₄ 동위효소는 정소 조직에서만 음극 쪽에서 나타나서 생쥐의 결과[20]와 일치하였다(Table 6). 미토콘드리아 LDH를 세포기질 LDH와 비교해 보면 골격근에서는 동위효소가 확인되지 않았으며 나머지 조직에서는 B₄ 동위효소가 상대적으로 증가되어 나타났다(Table 6).

포유류에서는 미토콘드리아 LDH의 활성이 조류보다 낮은데 이는 그 역할이 적기 때문으로 세포기질 내 대사의 분화가 잘되어 있고 세포기질 내의 대사만으로도 에너지 공급이 원활하여 미토콘드리아 LDH의 필요성이 적은 것으로 사료된다. 조류보다 역할이 적다고는 하나 골든햄스터의 경우 골격근을 제외한 모든 조직의 미토콘드리아에서 LDH B₄ 동위효소의

Table 4. Relative activity (%) of LDH isozymes in various tissues from mouse (*Mus musculus*)

	Isozymes	Muscle	Heart	Kidney	Liver	Brain	Testis
Cytosolic LDH	C ₄	-	-	-	-	-	46.9
	A ₄	53.2	22.9	33.6	89.7	11.9	15.2
	A ₃ _B	18.6	27.8	27.9	10.3	17.3	9.4
	A ₂ _B ₂	9.1	20.1	13.9	-	15.6	1.3
	AB ₃	10.3	17.6	12.9	-	23.6	9.3
	B ₄	8.9	11.7	11.7	-	31.6	17.9
Mitochondrial LDH	C ₄	-	-	-	-	-	100
	A ₄	100	-	100	100	-	-

Table 5. LDH activities and protein concentrations in various tissues from golden hamster (*Mesocricetus auratus*)

	Tissues	Activity (units/g)	Protein (mg/g)	Specific activity (units/mg)
Cytosol	Skeletal muscle	484.42	34.9	13.88
	Heart	281.86	101.7	2.77
	Kidney	177.68	39.2	4.53
	Liver	153.76	52.0	2.96
	Brain	41.28	25.1	1.64
	Testis	23.34	31.0	0.75
Mitochondria	Skeletal muscle	-	0.7	-
	Heart	3.18	5.2	0.61
	Kidney	1.35	5.0	0.27
	Liver	1.35	4.6	0.29
	Brain	0.48	0.8	0.60
	Testis	0.29	1.8	0.16

Table 6. Relative activity (%) of LDH isozymes in various tissues from golden hamster (*Mesocricetus auratus*)

	Isozymes	Muscle	Heart	Kidney	Liver	Brain	Testis
Cytosolic LDH	C ₄	-	-	-	-	-	8.0
	A ₄	40.3	-	11.4	47.5	3.7	11.8
	A ₃ B	13.9	-	33.7	25.8	13.0	11.1
	A ₂ B ₂	15.4	28.3	23.2	15.1	23.0	15.6
	A _B ₃	15.0	26.6	14.1	7.3	28.7	24.6
	B ₄	15.5	45.1	20.8	4.3	31.5	28.9
Mitochondrial LDH	A ₄	-	-	5.3	40.0	2.0	0.8
	A ₃ B	-	-	9.1	17.2	7.4	3.9
	A ₂ B ₂	-	-	13.4	17.2	16.9	8.3
	A _B ₃	-	-	17.4	9.3	24.2	21.6
	B ₄	-	100	54.8	16.4	49.5	65.4

비율이 증가되었는데, 이는 흰쥐 간 조직 미토콘드리아 내의 LDH가 NAD(P)⁺를 환원시키며 lactate oxidase 역할을 한다는 결과[11, 21]와 같이 미토콘드리아 내에서 LDH가 lactate oxidase로서의 기능을 하는 것으로 사료된다. 다만 생쥐와 골든 햄스터 같은 포유류 미토콘드리아 LDH의 주요 동위효소가 각각 LDH A₄ 및 B₄ 동위효소로 다르게 나타난 것은 대사조건 및 생활 환경의 차이에 의한 것으로 생각된다.

References

- Baba, N. and Sharma, H. M. 1971. Histochemistry of lactic dehydrogenase in heart and pectoralis muscles of rat. *J. Cell Biol.* **51**, 621-635.
- Blanco, A., Burgos, C., Gerez de Burgos, N. M. and Montamat, E. E. 1976. Properties of the testicular lactate dehydrogenase isoenzyme. *Biochem. J.* **153**, 165-172.
- Blanco, A. and Zinkham, W. H. 1963. Lactate dehydrogenases in human testes. *Science* **139**, 601-602.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Brooks, G. A. 2009. Cell-cell and intracellular lactate shuttles. *J. Physiol.* **587**, 5591-5600.
- Brooks, G. A., Dubouchaud, H., Brown, M., Sicurello, J. P. and Butz, C. E. 1999. Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 1129-1134.
- Cho, S. K. 2000. *Mitochondrial lactate dehydrogenase in tissues of vertebrate*. 88pp., Ph.D. Thesis Cheongju Univ., Korea.
- Cho, S. K., Ku, B., An, H., Park, E. M., Park, S. Y., Kim, J. B. and Yum, J. J. 2009. Purification and characterization of lactate dehydrogenase A₄ isozyme in mandarin fish (*Siniperca scherzeri*). *J. Life Sci.* **19**, 256-263.
- Cho, S. K., Lee, S. H. and Yum, J. J. 2005. Effect of mitochondrial inhibitor on lactate dehydrogenase of *Mesocricetus auratus* and *Bos taurus coreanae*. *J. Life Sci.* **15**, 100-105.
- Davis, B. J. 1964. Disc electrophoresis-II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **121**, 404-427.
- De Bari, L., Atlante, A., Valenti, D. and Passarella, S. 2004. Partial reconstruction of in vitro gluconeogenesis arising from mitochondrial L-lactate uptake/metabolism and oxaloacetate export via novel L-lactate translocators. *Biochem. J.* **380**, 231-242.
- Dianzani, M. U. 1951. Distribution of lactic acid oxidase in

- liver and kidney cells of normal rats and rats with fatty degeneration of the liver. *Arch. Fisiol.* **50**, 181-186.
13. Elustondo, P. A., White, A. E., Hughes, M. E., Brebner, K., Pavlov, E. and Kane, D. A. 2013. Physical and functional association of lactate dehydrogenase (LDH) with skeletal muscle mitochondria. *J. Biol. Chem.* **288**, 25309-25317.
 14. Goldberg, E. 1972. Amino acid composition and properties of crystalline lactate dehydrogenase X from mouse testes. *J. Biol. Chem.* **247**, 2044-2048.
 15. Goldberg, E., Eddy, E. M., Duan, C. and Odet, F. 2010. LDHC: the ultimate testis-specific gene. *J. Androl.* **31**, 86-94.
 16. Heinova, D., Rosival, I., Avidar, Y. and Bogin, E. 1999. Lactate dehydrogenase isoenzyme distribution and patterns in chicken organs. *Res. Vet. Sci.* **67**, 309-312.
 17. Holbrook, J. J., Liljas, A., Steindel, S. J. and Rossmann, M. G. 1975. Lactate dehydrogenase, pp. 191-192, In Boyer, P. D. (ed.), *The Enzymes*, 3rd eds., Vol. XI. Academic Press Inc., New York.
 18. Markert, C. L. 1984. Biochemistry and function of lactate dehydrogenase. *Cell Biochem. Funct.* **2**, 131-134.
 19. Markert, C. L., Shaklee, J. B. and Whitt, G. S. 1975. Evolution of a gene: multiple genes for LDH isozymes provide a model of the evolution of gene structure, function and regulation. *Science* **189**, 102-114.
 20. Park, S. Y. and Yum, J. J. 1997. Purification and characterization of lactate dehydrogenase eye- and testis-specific C₄ isozyme. *J. Ind. Sci., Cheongju Univ., Korea* **15**, 263-270.
 21. Passarella, S., de Bari, L., Valenti, D., Pizzuto, R., Paventi, G. and Atlante, A. 2008. Mitochondria and L-lactate metabolism. *FEBS Lett.* **582**, 3569-3576.
 22. Passarella, S., Paventi, G. and Pizzuto, R. 2014. The mitochondrial L-lactate dehydrogenase affair. *Front. Neurosci.* **8**, 407.
 23. Schnaitman, C., Erwin, V. G. and Greenawalt, J. W. 1967. The submitochondrial localization of monoamine oxidase: an enzymatic marker for the outer membrane of rat liver mitochondria. *J. Cell Biol.* **32**, 719-735.
 24. Schurr, A. 2006. Lactate: the ultimate cerebral oxidative energy substrate? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **26**, 142-152.
 25. Tabor, C. W., Tabor, H. and Rosenthal, S. M. 1954. Purification of amine oxidase from beef plasma. *J. Biol. Chem.* **208**, 645-661.
 26. Whitt, G. S. 1970. Developmental genetics of the lactate dehydrogenase isozymes of fish. *J. Exp. Zool.* **175**, 1-35.
 27. Yasuda, J., Tateyama, K., Syuto, B. and Too, K. 1990. Lactate dehydrogenase and creatine phosphokinase isoenzymes in tissues of laboratory animals. *Jpn. J. Vet. Res.* **38**, 19-29.
 28. Yum, J. J. and Kim, G. D. 2016. Metabolism of lactate dehydrogenase in tissues from *Ldh-C* expressed fish at starved state. *J. Life Sci.* **26**, 155-163.
 29. Yum, J. J. and Yeon, J. H. 2012. Lactate dehydrogenase and monocarboxylate transporters 1, 2 and 4 in tissues of *Micropterus salmoides*. *J. Life Sci.* **22**, 98-109.

초록 : 조류 및 포유류 내 미토콘드리아 젖산탈수소효소 동위효소들의 분포와 역할

조성규* · 염정주

(청주대학교 생명과학과)

조류 및 포유류에서 미토콘드리아를 분리하고 모노아민산화효소(EC 1.4.3.4, monoamine oxidase)의 활성을 측정하여 미토콘드리아의 분리도를 확인하였다. 미토콘드리아 각 분획에서 젖산탈수소효소(EC 1.1.1.27, lactate dehydrogenase, LDH)의 발현도를 생화학적 및 면역화학적 방법으로 분석하였다. 조류에 비하여 포유류에서는 미토콘드리아 LDH의 활성이 낮은 것으로 나타났다. 따라서 미토콘드리아 LDH의 역할은 포유류보다 조류에서 중요시된다고 생각된다. 조류 및 포유류 모든 조직의 단백질양은 세포기질보다 미토콘드리아에서 적게 나타났다. 생쥐와 골든햄스터의 세포기질에서는 LDH A₄, A₃B, A₂B₂, AB₃ 및 B₄ 다섯 가지 동위효소 이외에 testis-specific LDH C₄ 동위효소가 정소 조직에서 나타났다. 닭의 미토콘드리아 내에서는 AB hybrid형 동위효소 한 종류가 나타났다. 포유류에서 미토콘드리아 LDH 동위효소들은 조직 별로 다르게 나타났다. 생쥐의 미토콘드리아 내에서는 LDH A₄ 및 testis-specific C₄ 동위효소가 나타났다. 미토콘드리아 testis-specific LDH C₄ 동위효소는 생쥐에서만 나타났다. 골든햄스터 미토콘드리아 내에서는 LDH B₄ 동위효소가 lactate oxidase로서 작용하였다. 조류 및 포유류의 대사조건 및 서식환경에 따라 미토콘드리아 LDH 동위효소의 역할도 구분되는 것으로 생각된다.