

# 한국 진도개와 삽사리 혈액 단백질의 비교연구

## II. 혈청 Lactate Dehydrogenase와 혈청 Alkaline Phosphatase의 동위효소와 활성화도

김종봉 · 윤인숙 · 옥현숙 · \*탁영빈 · \*\*하지홍

효성여자대학교 생물학과, \*경북대학교 수의학과, \*\*경북대학교 유전공학과

진도개와 삽사리 혈청 lactate dehydrogenase와 혈청 alkaline phosphatase의 동위효소 및 효소활성도를 분석하였다. 전기영동결과 진도개와 삽사리의 혈청에서는 5가지 종류의 LDH의 동위효소가 모두 확인되었다. LDH의 활성화도는 진도개의 경우  $522.53 \pm 279.96(U/L)$ 이었고 삽사리는  $534.10 \pm 280.35(U/L)$ 이었다.

진도개와 삽사리의 혈청 alkaline phosphatase 전기영동상에서는 한 종류의 동위효소만 관찰되었고 활성화도는 진도개의 경우  $7.61 \pm 4.52(K-A \text{ unit})$ 였고 삽사리는  $10.46 \pm 7.10(K-A \text{ unit})$ 였다. 삽사리의 ALP 활성화도는 연령에 따라 커다란 차이를 나타내었다.

KEY WORDS: Serum lactate dehydrogenase, Serum alkaline phosphatase, Sapsaree.

혈청 LDH(lactate dehydrogenase)와 혈청 ALP(alkaline phosphatase)의 동위효소와 효소활성도 등은 동물에서 종, 조직 혹은 성장단계 등의 요인에 따라 양상이 달라지기도 하며 질병 감염, 장기의 손상, 영양상태 등의 여러 가지 체내 조건과도 밀접한 관계를 가지고 있다(Preus *et al.*, 1989; 이와 김, 1989).

LDH는 각 각 별개의 유전자에 의하여 생합성이 조절되는 H형과 M형의 polypeptide subunit가 tetramer를 이룬 것으로 subunit의 구성에 따라 5 종류의 동위효소가 만들어지며 동물의 종, 심장이나 간 등과 같은 장기 혹은 발육단계 등의 요인에 따라 이들의 분포가 달라 특유의 전기영동상을 나타내는 것으로 밝혀졌다(Plagemann *et al.*, 1960; Simonson, 1976; 이와 조, 1980). 또한 알카리성 용액에서 phosphate monoester들의 가수분해를 촉매하는 ALP도 주 생성 장기가 간이지만 뼈, 창자, 태반 등에서도 만들어지며 전기영동,

열처리, 화학저해제처리 등의 방법에 의하여 각 장기특이적 동위효소를 동정할 수 있다고 보고되었다(김 등, 1980; Van Hoof *et al.*, 1989).

혈청 중에는 각 장기나 조직에서 만들어진 이러한 LDH와 ALP 등의 동위효소나 활성화도가 일정한 특징을 나타내지만 장기의 이상, 특정질환, 유전자 변이 등의 요인에 따라 그 구성이 달라지게 되어 이와같은 점을 이용, 집단간의 유전적 구성뿐만 아니라 질병의 진단이나 예후판정의 자료로서도 사용된다(Tietz *et al.*, 1976; 강 등, 1982; Tanabe, 1990).

그러나 우리나라 고유품종에 속하는 진도개나 삽사리에 관하여서는 임 등(1980)에 의한 진도개의 ALP 활성화도등에 관한 보고 뿐이다. 본 연구에서는 이러한 점들과 관련하여 이들의 유전적 특징과 활성을 밝히고 이를 사육관리를 위한 기초자료를 얻기 위한 연구의 일환으로 cellulose acetate plate electrophoresis 등의 방법으로 진도개와 삽사리의 혈청 LDH와 혈청 ALP를 분석하였다.

본 연구는 한국과학재단의 지원(일반연구 및 목적외) 연구비에 의하여 수행된 연구의 일부임.

## 재료 및 방법

진도개 70마리와 삽사리 37마리의 앞다리 정맥에서 5 ml의 혈액을 채취하였고 이를 3,000 rpm으로 10분간 원심하여 혈청을 분리, 실험재료로 하였다. 전기영동은 cellulose acetate plate electrophoresis system을 이용하였다.

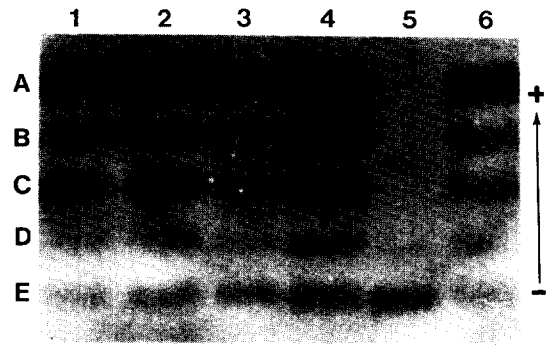
혈청 LDH의 경우 Titan III cellulose acetate plate 2장을 pH 8.6의 sodium barbital 완충액에 20분간 담구었다가 한장은 전기영동에, 그리고 다른 한장은 염색하는데 사용하였다. 혈청을 plate에 점종한 후 180 volt에서 25분간 전기영동하였고 이 plate를 염색액(NAD 4.7 mM, lithium lactate 52.1 mM, MTT 0.8 mM, PMS 0.2 mM, NBT 2.0 mM 을 3 ml의 증수류에 용해시킨 것)을 묻힌 plate와 밀착시켜 염색, 전기영동상을 얻었다. Cabaud-Wroblewski(1958)의 방법으로 LDH 총활성도를 측정하였으며 각 동위효소들의 활성도는 얻어진 전기영동상을 525 nm 조건의 densitometer로 scanning 하여 총 활성도에 대한 백분율을 적용시켜 산출하였다.

ALP의 전기영동은 LDH와 동일한 방법으로 행하였으며 발색반응만 달리하였다. 발색반응은 기질액으로서  $\alpha$ -naphthol AS-MX phosphate를, 그리고 발색제로서 fast blue RR을 사용하여 전기영동한 plate를 염색하였다. ALP활성도는 Kind-King(1954)의 방법에 의하여 측정하였다.

## 결 과

진도개와 삽사리의 혈청을 cellulose acetate plate를 사용하여 전기영동한 결과 Fig. 1에서 보는바와 같이 일반적으로 두 품종 모두에게 5가지 동위효소를 확인할 수 있었다. 그러나 개체에 따라서는 일부의 동위효소가 확인되지 않은 것도 있었으며 변이형은 관찰되지 않았다.

혈청 LDH의 활성도는 진도개의 경우  $552.53 \pm 279.96$  (U/L)이었고(Table 1) 삽사리는  $534.10 \pm 280.35$  (U/L)이어서 (Table 2) 두 품종간



**Fig. 1.** Electrophoretic patterns of serum lactate dehydrogenase in Jindo dog and Sapsaree. A, B, C, D and E indicate LDH1, LDH2, LDH3, LDH4 and LDH5, respectively (1, 2, 3: Jindo dog, 4, 5, 6: Sapsaree).

의 차이가 없었다. 그러나 삽사리중 연령이 1년 미만 되는 것은 다른 연령군보다 활성도가 낮은 경향을 보여주었다. 또한 각 동위효소가 차지하는 비율을 보면 제일 많은 것이 LDH5로서 진도개의 경우 32%이었고 삽사리는 39%였다.

한편 진도개와 삽사리의 혈청 ALP를 전기영동한 결과 두 품종 모두에서  $\beta$ -fraction에 위치하는 하나의 띠만 관찰되었다(Fig. 2).

APL의 활성도는 진도개가  $7.61 \pm 4.52$  (K-A unit)였고 삽사리는  $10.46 \pm 7.10$  (K-A unit)이어서 삽사리가 높은 경향을 나타내었다(Table 3).

두 품종 모두에서 연령이 1년 미만인 개들의 활성도가 그 이상인 개들보다 높은 경향을 나타내었고 이러한 차이는 삽사리에서 훨씬 심하였다.

## 고 찰

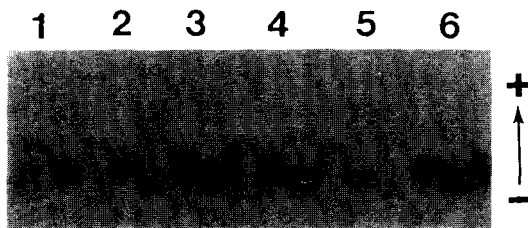
LDH는 동위효소는 5종류가 있지만 혈청의 전기영동상에 나타나는 것은 종에 따라 그 종류나 양이 다르다. 사람의 경우 혈청중에 5종류의 동위효소가 모두 존재하지만 구성비율에 있어서는 LDH2가 가장 많고 LDH5가 제일 적다(Tietz, 1976; 강 등, 1982). 또한 쥐의 혈청을 전기영동한 결과를 보면 LDH5와 LDH1을 뚜렷하게 확인할 수 있다고 보고되었다(이와 조, 1980). 그러나 진도개와 삽사리의 경우 5종류의 동위효소가 모두

**Table 1.** The relative activities of serum lactate dehydrogenase in Jindo dog.

Group	No. of dogs	Lactate dehydrogenase (%)					Total
		LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5	
Color							
White	23	20.52	13.04	20.06	15.20	31.19	145.01 ± 186.43
Yellow	47	18.64	12.37	20.72	15.99	32.30	560.45 ± 308.56
Sex							
Male	27	19.03	11.90	21.14	16.29	31.65	528.14 ± 286.53
Female	43	19.20	13.04	20.15	15.39	32.22	518.76 ± 271.75
Age (yrs.)							
< 1	18	17.70	12.65	21.08	16.80	31.78	565.88 ± 259.12
1	9	18.09	12.12	19.71	15.21	34.85	376.88 ± 168.81
2	19	19.71	12.48	21.46	14.99	31.35	466.57 ± 257.10
3	14	21.92	13.64	21.25	14.93	28.24	590.42 ± 282.58
4 <	10	19.15	12.56	19.08	15.06	34.15	597.49 ± 352.57
Total	70	19.13	12.57	20.55	15.76	31.99	522.53 ± 279.96

**Table 2.** The relative activities of serum lactate dehydrogenase in Sapsaree.

Group	No. of dogs	Lactate dehydrogenase (%)					Total
		LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5	
Color							
Blue	22	10.45	12.44	15.61	20.58	42.17	594.57 ± 256.20
Yellow	15	13.71	13.42	18.09	19.11	35.67	447.19 ± 290.83
Sex							
Male	17	11.94	11.49	15.76	19.88	40.96	557.76 ± 250.40
Female	20	11.66	14.00	17.37	20.06	36.91	514.67 ± 300.45
Age (yrs.)							
< 1	11	17.69	13.75	18.35	12.72	37.50	377.00 ± 250.20
1	12	7.18	11.01	14.63	24.72	42.47	664.62 ± 290.31
2	7	9.36	11.41	16.20	22.93	40.09	587.43 ± 280.76
3 <	7	13.29	15.83	17.88	9.65	33.39	491.38 ± 200.56
Total	37	11.79	12.84	16.63	19.97	38.78	534.10 ± 280.35

**Fig. 2.** Electrophoretic patterns of serum alkaline phosphatase in Jindo dog and Sapsaree (1, 2, 3: Jindo dog, 4, 5, 6: Sapsaree).

확인되었지만 구성에 있어서는 제일 많은 양을 차지한 것이 LDH5이고 제일 적은 것이 LDH1이어서 사람들과는 큰 차이를 나타내었다. 이는 LDH5가 근육형의 M polypeptide로만 이루어졌다는 점을 불매 방전을 하여 사육하기 때문에 운동량이 많고 이로 인하여 LDH5가 증가된 것으로 생각된다. 특히 활성도를 보면 Beagle dog의 경우 220(U/L)이었지만(Robinson과 Ziegler,

**Table 3.** The activities of serum alkaline phosphatase in Jindo dog and Sapsaree.

Group	Jindo dog		Sapsaree	
	No.	K-A unit	No.	K-A unit
Color				
Yellow	47	8.21 ± 4.94	15	9.86 ± 6.88
White	23	6.47 ± 3.29	—	—
Blue	-	—	22	10.88 ± 7.58
Sex				
Male	27	7.84 ± 4.30	17	10.35 ± 6.98
Female	43	7.47 ± 4.66	20	10.61 ± 7.64
Age (yrs.)				
< 1	18	10.07 ± 5.24	11	20.58 ± 8.47
1	9	6.16 ± 2.94	12	7.23 ± 1.74
2	19	6.06 ± 3.36	7	6.96 ± 2.54
3 <	24	7.42 ± 4.12	7	6.74 ± 1.56
Total	70	7.61 ± 4.52	37	10.46 ± 7.10

Each value is mean ± standard deviation.

1968) 질병에 걸리면 600(U/L)이상이되고 (Crowley와 Swenson, 1963) 규칙적인 운동을 시키면 771.2 ± 339(U/L)이 된다고(Reece, 1972) 하여 운동량과 밀접한 관계가 있음을 알 수 있다.

동물의 ALP도 생성부위에 따라 물리, 화학적 성질에 차이가 있는 여러종류의 동위효소가 존재 하지만 성인의 혈청에는 주로 간과 뼈에서 만들어지는 동위효소가  $\alpha_1$ -fraction이나  $\alpha_2/\beta$ -fraction에 나타나며, 토끼의 혈청 ALP는  $\alpha_2/\beta$ -fraction에서, 쥐의 경우는  $\alpha_1/\alpha_2$ -fraction과  $\beta/\gamma$ -fraction에 나타난다고하여(김 등, 1980; 이와 조, 1980; Van Hoof *et al.*, 1988)  $\beta$ -fraction에 나타나는 진도개나 사파리의 경우와 차이가 있었다. 그러나 진도개와 사파리의 혈청 ALP가 어느 조직에서 만들어진 것인지는 확실치 않다. 또한 ALP활성도는 Beagle dog의 경우 5.1(K-A unit)로(Mckelvie *et al.*, 1966), 진도개는 3.6(K-A unit)으로 보고(임 등, 1980)되어 본 연구 결과와는 차이가 있었다. 진도개와 사파리의 비교에서도 사파리의 ALP 활성도가 진도개보다 높은 경향을 나타내었으며 그의 원인이 연령이 1년 미만의 사파리들의 활성도가 다른 연령 집단보다 훨씬 높았기 때문인데 이와같은 사파리의 연령 특이성 ALP활성도의 원인에 관하여서는 더 많은

연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

## 인용문헌

- Cabaud, P. G. and F. Wroblewski, 1958. Colorimetric measurement of lactate dehydrogenase activity of body fluids, *Am. J. Clin. Path.* **30**: 234-236.
- Crowley, G. J. Swenson, 1963. Blood serum enzymes as diagnostic aids in canine heart disease. *Am. J. Vet. Res.* **24**: 1271-1279.
- 강성욱, 박승환, 김기홍. 1982. 각종 간질환에서의 혈청 총 LD활성 및 LD isoenzymes의 분획비측정. 대한병리학회지 **15**: 29-36.
- 김재식, 김경선, 김중명, 김영태, 정정선, 이현기. 1980. 인 제장기 alkaline phosphatase isoenzyme의 전기영동 및 정량. 경북의대잡지 **21**: 575-583.
- Kind, P. R. N. and E. J. King, 1954. In "Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis (S. Frankle, S. Reitman, A. C. Sonnenwirth, editors)". Great Britain, London, pp. 345-347.
- 이두용, 조준승. 1980. 총담관결찰로 인한 혈청 Alkaline Phosphatase 및 Lactate Dehydrogenase의 Isoenzyme 상의 변동. 경북의대잡지 **21**: 512-521.
- 이우영, 김종봉. 1989. 한국인 다운증후군 환자의 젖산 탈수소효소와 알칼라인포스파타아제에 관한 연구. 효성여대기초과학연구집 3집 : 33-40.
- 임봉호, 박남용, 이방환. 1980. 진도견의 혈액상 및 혈액화학치에 관한 연구. 한국수의학회지 **16**: 143-149.

- Mckelvie, D. H., S. Powers, and F. Mckim, 1966. Microanalytical procedures for blood chemistry long-term study on Beagles. *Am. J. Vet. Res.* **27**: 1405-1412.
- Plagageman, P. G. W., K. F. Gregory, and F. Wroblewski, 1960. The electrophoretically distinct forms of mammalian lactic dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* **235**: 2288-2292.
- Preus, M., B. Karsten, and A. S. Bhargava, 1989. Serum isozyme pattern of creatine kinase and lactate dehydrogenase in various animal species. *J. Clin. Chem. and Clin. Biochem.* **27**: 287-290.
- Reece, W. O., 1972. Serum activity for glutamic oxalacetic transaminase and lactic dehydrogenase and hematologic values for treadmill-exercised Beagle. *Am. J. Vet. Res.* **33**: 357-359.
- Robinson, F. R. and R. F. Ziegler, 1968. Clinical laboratory values of beagle dogs. *Lab. Anim. Care.* **18**: 39-49.
- Simonsen, V., 1976. Electrophoretic studies on the blood proteins of domestic dogs and other canidae. *Hereditas* **82**: 7-18.
- Tanabe, Y., 1990. Genetic relationships among dog breeds with special reference to Asian dog breeds studied by biochemical polymorphisms of blood proteins. In "Isozymes: structure, function, and use in biology and medicine". Wiley-Less, Inc., pp. 619-637.
- Tietz, N. W., 1976. Fundamentals of clinical chemistry. W. B. Saunders Co., pp. 597-682.
- Van Hoof, V. O., L. G. Lepoutre, M. F. Hoylarts, R. Chevigne and M. E. De Broe, 1988. Improved agarose electrophoretic method for separating alkaline phosphatase isoenzymes in serum. *Clin. Chem.* **34**: 1857-1860.

(Accepted November 30, 1991)

---

### **Comparative Studies on Blood Proteins of Korean Jindo Dog and Sapsaree (*Canis familiaris*)**

#### **II. Isozymes and Activities of Serum Lactate Dehydrogenase and Serum Alkaline Phosphatase**

Jong Bong Kim, In Sook Yoon, Hyun Sook Ok, \*Ryun Bin Tak, and \*\*Ji-Hong Ha (Department of Biology, Hyosung Women's University: \*Department of Veterinary Medicine, Kyungbuk National University: \*\*Department of Genetic Engineering, Kyungbuk National University)

Isozymes and activities of serum lactate dehydrogenase and serum alkaline phosphatase were examined in Korean Jindo dog and Sapsaree. The electrophoretic pattern of serum lactate dehydrogenase showed five isozymes. The activities of serum lactate dehydrogenase were  $522.53 \pm 279.96$  and  $534.10 \pm 280.35$ (U/L) in Jindo dog and Sapsaree.

One kind of isozymes was observed in electrophoretic phenotypes of serum alkaline phosphatase. The activities of serum alkaline phosphatase were  $7.61 \pm 4.52$  and  $10.46 \pm 7.10$  (K-A unit) in Jindo dog and Sapsaree. A significant difference of alkaline phosphatase was observed according to the age in Sapsaree.