

이하선 타액내 Parotid Middle-Band Protein(Pm)의 유전적 다형현상에 관한 연구

연세대학교 치과대학 구강진단·구강내과학교실

김 하 진 · 김 중 열

목 차

I. 서 론

II. 연구재료 및 연구방법

III. 연구성적

IV. 총괄 및 고찰

V. 결 론

참고문헌

영문초록

I. 서 론

Mendel 및 Morgan에 의하여 유전자에 의한 유전법칙이 발견된 이래 유전법칙을 따르는 유전자의 다형현상에 관한 연구는 법의학상의 개인식별, 친자감정 및 집단간의 유전학적 근연성 조사에 응용되어왔다. ^{1-8, 15, 17-20, 25-27, 31-35, 37-40)} 이와 같이 단백질의 표현형질을 조절하는 유전자의 구조를 밝히기 위하여 전기영동법 및 면역학적 분석방법이 광범위하게 연구, 개선되었고 이에 따라 많은 종류의 단백질의 다형현상이 관찰되어 왔으며, 주로 채취가 용이한 혈액을 주연구재료로 사용하여 생화학적 유전형질에 대한 연구가 시행되어 왔는데, 1960년 이후부터 다른 체액을 이용한 연구도 이루어지고 있다.

이중 타액내 관한 연구는 1953년 Curby에 의하여 이하선 타액을 채취할 수 있는 Curby's double chamber cup¹¹⁾이 고안되어 이하선 타액의 채취가 용이해짐에 따라 타액의 성분분석 및 기능을 밝히려는 연구가 활기를 띠게 되었다. 1971년 Ward등은 타액내 존재하는 소화효소 *alase*의 다형현상을 밝혔으며³⁴⁾, 이어 산성

gel을 이용하여 이하선 타액을 전기영동한 결과 다형현상을 보이는 염기성 단백질을 발견했는데²⁾ (Azen, 1972), 이 단백질이 *amylase*, *immunoglobulin(IgA)*, *lysozyme*등과는 서로 다른 단백질이며 오직 타액내에서만 나타났음을 관찰하고 이 단백질을 *salivary basic protein(Pb)*이라고 명명하였다. 이어서 *proline-rich protein(Pr)*(Azen과 Oppenheim, 1973³⁾, *double-band protein(Db)*, Azen과 Denniston, 1974⁴⁾ 및 *parotid acidic protein(Pa)*(Friedman등, 1975)¹⁵⁾과 같은 단백질의 존재가 보고되었고 이 단백질들이 유전적으로 다형현상을 보이고 있음이 보고 되었으며 Ikemoto 등(1977)¹⁷⁾은 Pa와 Pb 사이에서 새로운 다형현상을 나타내는 단백질을 발견하고 이를 *parotid middle-band protein(Pm)*이라고 하고 이 단백질은 상염색체 상에 있는 유전자의 지배를 받는다고 하였으며 Minaguchi등²⁵⁾은 Pm이 당단백질이고 이전에 보고된 타액내 당단백질과 구조적으로 유사함을 발견하였다. 또한 Azen과 Denniston(1981)⁶⁾이 이하선타액을 *polyacrylamide gel*상에서 *isoelectric focusing*하여 *parotid isoelectric focusing variant(PIF)* 단백질을 발견, 이 또한 다형현상을 보이며 PIF 표현형질은 상염색체 상에 위치하는 두 대립인자 PIF⁺와 PIF⁻에 의하여 나타나며 PIF⁺ 유전자가 우성임을 최초로 밝힌 바 있고, Ikemoto 등(1979)²¹⁰⁾은 *sodium dodecyl sulfate(SDS)* 처리 후 타액단백질을 전기영동 하였을때 분자량이 가장 무거운 타액단백질이 다형현상을 보이므로 이 단백질을 *salivary parotid heavy protein(Ph)*이라 명명한 바 있다.

이와 같이 이하선 타액에는 특히 여러종류의

타액 단백질이 함유되어 있으며 이들 타액 단백질 가운데는 유전적으로 다형현상을 보이는 것들이 다수 존재함을 발견하게 되었고^{2-8, 15, 17, 18, 27)} 이후로 타액 단백질의 다형현상을 통하여 인종간의 근연성과 지리적인 관계 등을 밝히려는 여러 시도가 이루어졌다^{19, 20, 25, 26, 31-33, 35, 37, 38-40)}.

이러한 연구들을 토대로 하여 1979년 Ikemoto 등은 이하선 타액의 다형현상에 관한 연구가 인류 유전학적 근연성 조사에서 뿐만이 아니라 법의학상 개인식별 및 친자감정에 응용될 수도 있음을 보고하면서 일본인에 있어서 기존의 혈액성분의 다형현상만을 이용하여 친자감정을 할 경우, 잘못 짝지워진 친자를 91.9%까지 제외시킬 수도 있는데 타액단백질 다형현상을 추가로 이용할 경우 94.4%까지 그 제외율을 증가시킬 수 있음을 제시한 바도 있다.⁹⁾

한편 타액 단백질의 구조와 기능에 관해서도 연구가 이루어져 왔다. 특히 proline-rich protein(Pr)이 콜라겐과 구조가 비슷하고 proline, glycine, glutamine, asparagine을 많이 함유하고 있으며 치아의 에나멜 단백질과도 유사한 구조를 갖고 있고(Oppenheim, 1971)²⁸⁾ ionic calcium(Bennick 등, 1983)¹⁰⁾, hydroxyapatite와 현저한 친화력을 가진 점 등으로 미루어보아 Pr 단백질이 치아건강과 밀접한 관계가 있다고 생각되어 (Azen과 Denniston, 1974)⁴⁾ 구강질환과 Pr의 표현형질과의 관계에 대한 관심이 고조되게 되었다. Hay¹⁶⁾, Cowman 등^{12, 13)}, Choi 등¹⁴⁾에 의하여 타액단백질과 구강내 세균과의 상관관계, 타액단백질의 다형현상과 치아우식증과의 직접적인 상관관계 등을 관찰하는 연구 또한 시도되어 왔으며 국내에서도 구와 김(1991)³⁶⁾은 타액단백질 Pr, Db, Pa, Pm의 다형현상과 DMFT index 및 PMA index와의 상관관계에 대한 연구를 하여 DMFT index는 Pm(+)형에서, PMA index는 Pa(+)형과 Pm(+)형에서 각각 높게 나타남을 보고하였고 이어서 1992년 최와 김⁴¹⁾에 의하여 타액단백질 성분과 치아우식증과의 상관관계를 비교분석해 본 결과 치아우식활성군에서 Db가 많이 나타나며 유의한 차이가 있었다고 보고한 바 있다.

이와 같이 타액단백질의 다형현상과 구강질환과의 상관관계는 주로 acidic PRPs를 중심으로

로 하여 연구가 계속되어 왔으나 Pm과 같은 basic PRPs와 구강질환과의 관계는 상대적으로 연구가 미비한 실정이며 특히 구와 김³⁶⁾의 연구에서 구강질환에 대한 Pm의 역할이 강하게 시사되었으나 이를 추적하기에는 Pm에 관한 자료가 극히 부족한 상황이다.

또한 타액단백질의 유전적 다형현상에 관한 국내 연구로 1986년 이가 온양집단에서의 Pr, Db의 유전자 빈도를 처음 보고한 후로 이^{38, 39)}, 구와 김³⁵⁾, 정과 김⁴⁰⁾에 의하여 한국인의 Pr과 Db의 유전자 빈도와 한국내에서도 지리적으로 멀리 떨어져 있는 집단간의 유전자 빈도를 산출하여 한국인 집단내의 유전적 변이가 달리 유지되어 온 원인이나 집단 유전적 특성을 밝혀보고자 하는 시도가 있었다. 이 결과 한국인 이하선 타액내의 Pr 및 Db의 유전자 빈도는 일본인과 중국인의 유전자 빈도의 중간정도임과 한국내에서도 지리적으로 멀거나 고립되어 있는 지역에서의 유전자 빈도는 차이가 있음을 밝힌 바 있다. 이와 같이 타액단백질 다형현상을 통하여 민족간의 유전적 특성과 지역적 근연성을 밝히고자 하는 연구는 Pr, Db 등과 같은 acidic PRPs를 중심으로 이루어져 왔는데 마찬가지로 basic PRPs의 유전적 다형현상에 관해서는 국내에서 아직까지 보고된 바가 없는 실정이다.

이에 본 연구에서는 이러한 타액단백질 다형현상에 관한 연구의 일환으로 임의의 선정된 건강한 한국 성인남녀 160명을 대상으로 각각 이하선 타액을 채취, acid-urea starch gel상에서 전기영동하여 basic PRPS중의 하나인 타액단백질 Pm을 검출하고 표현형분포를 조사하고 다형현상에 근거하여 표현형질을 결정하는 유전자빈도를 구하였다.

II. 연구재료 및 연구방법

1. 연구재료

20세에서 29세까지의 건강한 한국인 남녀 160명으로 부터 Curby(1957)¹¹⁾가 고안해낸 기구를 변형시킨 acrylic plastic capsule을 사용하여 이하선 타액을 채취한 후 이를 실험재료로 사용하였다. 타액채취 기구를 구강내 협점막

후방부에 위치한 Stensen's duct의 개구부가 중앙에 오도록 위치시킨 후 주사기가 연결된 polyethylene관의 끝을 잡고 주사기의 plunger를 바깥쪽으로 끌어당겨 협점막과 plastic capsule사이에 음압이 형성되도록 하여 이를 구강내에 고정시켰다. capsule이 협점막에 부착된 것을 확인한 후 2.5% citric acid로 혀의 가장 자리를 자극하여 개인당 3-4ml의 이하선 타액을 10ml용량의 원심분리용 시험관에 채취하였다.

시험관에 채취한 이하선 타액을 원심분리기로 3,000rpm에서 15분간 원심 분리한 다음, 상층액을 급속냉동기로 -70°C 까지 급속 냉동시킨 후 동결건조시켜 사용시까지 -20°C 에서 보관하였다.

2. 연구방법

acid-urea starch gel을 이용한 타액의 전기영동

Azen(1972)²⁾의 방법대로 동결건조시킨 타액을 8M urea를 포함한 gel 완충액에 녹여 사용하였다. 전기영동시 지지체로 전분 gel³⁰⁾을 사용하였는데 먼저 aluminum lactate 1.765g, lactic acid 5.7ml, 요소 60g(urea, Sigma U-1250), 증류수 200ml을 혼합한 gel 완충용액을 만든 후 여기서 다시 200ml의 용액을 취하여 삼각플라스크에 넣고 교반기위에서 전분 39.5g (Starch Sigma S-4501)을 덩어리가 생기지 않도록 천천히 첨가한 다음 전열기로 가열하였다.

전분을 가열하는 동안 계속적으로 잘 흔들어 주어 플라스크 전체에 열이 고루 전달되도록 하였으며 어느정도 시간이 지나면 전분용액의 점도가 증가하며 용액이 맑아지게 된다. 전분용액이 거품을 내며 끓기 시작하고, 충분히 끓었으면 플라스크를 전열기에서 내려 놓고 잘 흔들어 주어 전체적으로 균등한 온도가 되도록 한 후 흡입기(aspirator)를 이용하여 기포를 제거하였다. 이러한 기포 제거(degassing)과정은 되도록 짧게 효율적으로 하였으며 기포가 제거된 후 준비된 acrylic gel tray(15×15cm)에 전분 용액을 부어 gel tray 사방으로 용액이 충분히 퍼지도록 하였다.³⁹⁾ 이때 완전히 제거되지 않았던 기포들은 전분 gel의 온도가 높으므로

위로 떠오르게 되어 실제로 사용하게 될 gel 하방에는 기포가 없는 균일한 상태를 얻을 수 있었다. 약 2-3시간 정도 경과하여 gel이 굳으면 출톱을 사용하여 gel의 두께가 약 6mm가 되도록 상층부를 절단한 후 spatular tip이나 blade를 이용하여 gel상에 시료를 묻힌 여과지가 삽입될 수 있도록 gel의 양극쪽 끝(anodal end)에서 1.5cm정도 떨어진 부위에 홈을 만들었다.

준비된 타액을 gel 완충액에 녹여 그 중 25 μl 를 여과지(4×6mm)에 고루 스며들도록 한 뒤 형성된 홈에 여과지를 삽입하였으며, 이 때 형성된 홈과 여과지와는 밀접하게 접합되도록 하였다. gel에 시료를 묻힌 여과지를 다 심었으면 심은 쪽이 chamber의 (+)쪽으로 오게 하여 gel tray를 전기 영동 장치에 장착시킨후, 양쪽 chamber에 aluminum lactate 8.825g, lactic acid 28.5ml, 증류수 1000ml을 섞어 만든 완충액(pH 2.4-2.7)을 동량 채우고 chamber의 완충액과 시료를 심은 gel plate가 전기적으로 연결될 수 있도록 gel plate의 양끝이 1cm정도 덮이게 하여 여과지 4장을 겹쳐서 연결하였다.

bridge 완충액이 여과지에 충분히 스며들도록 한 후, gel 표면에 밀착되도록 vinyl wrap을 덮어 전기영동이 진행되는 동안 gel의 수분 증발을 막도록 하였다. 전기영동은 일정전압 150V에서 14시간 동안 수평으로 시행하였으며 전기영동이 진행되는 동안 running plate에서 발생하는 열을 분산시키기 위하여 4°C 의 항온실에서 전기영동하였다. 전기 영동이 끝난 후 gel을 약 2mm 두께로 절단하여 기포가 많은 상층부는 버리고 하부 2mm만 취하여 amidoblack 10B 1.23g/1% acetic acid 1000ml 용액에 1M cobalt acetate 3ml을 첨가하고, 상온에서 1시간 염색한 후 0.5M H_2SO_4 용액으로 30분간 탈색하여 청색으로 염색된 Pa, Pm band를 관찰하였다.

III. 연구성적

임의로 선정된 20세 부터 29세 까지의 남녀 160명으로 부터 채취한 이하선 타액을 Azen(1972)²⁾의 방법에 따라 acid-urea starch gel상에서 전기 영동하여 나온 gel을 amidoblack 10B로 염색한 후 0.5M H_2SO_4 용액으로 탈색하

여 나타난 결과물의 사진은 다음과 같다(Figure 1).

사진 1에서 볼 수 있는 바와 같이 salivary middle band protein(Pm)은 gel 중간 부위, 즉 Pa band와 Pb band의 사이에서 관찰되었으며 이 band가 나타나는 경우를 Pm(+), 나타나지 않는 경우를 Pm(-)형이라 하였다(Ikemoto, 1977).¹⁷⁾

Table 1. Parotid middle-band protein(Pm) phenotypes and estimated gene frequencies in Korean population.

Phenotypes	Number observed	Number expected ^a	Gene frequency ^b
Pm(+)	91	90.9	Pm ⁺ = 0.343
Pm(-)	69	69.1	Pm ⁻ = 0.657
Total	160	160.0	

a : Number expected

Pm(+); $(p^2 + 2pq) \times N(\text{Total number})$,

Pm(-); $q^2 \times N(\text{Total number})$

p, q; Gene Frequency

b : Gene frequency

$q(\text{Pm}^-); \sqrt{N/\text{Pm}(-)}$

$p(\text{Pm}^+); 1 - q$

a, b : by Hardy-Weinberg's law

이 방법에 따라 표현형을 결정하여 남녀 160명을 대상으로 표현형 빈도와 유전자 빈도를 조사한 결과는 다음과 같다. 즉 160명중 Pm(+),의 표현형을 보이는 사람은 91명, Pm(-)의 표현형을 보이는 사람은 69명이었고, Hardy-Weinberg의 산출법에 따라 기대빈도를 구해 보면 Pm(+),형이 90.9명, Pm(-)형이 69.1명으로 나타났으며, 각각의 유전자 빈도를 구한 결과 Pm⁺ 0.343, Pm⁻ 0.657이었다(Table 1).

또한 일본인, 중국인 집단을 대상으로 한 Pm의 표현형 분포 및 유전자 빈도를 조사해 보면, 일본인 223명 중 Pm(+),형이 145명(65.0%), Pm(-)형이 78명(35.0%)이며 유전자 빈도는 Pm⁺ 0.409, Pm⁻ 0.591로 나타났고, 중국인 20명 중 Pm(+), Pm(-)형은 각각 10명씩으로 Pm⁺ 0.29, Pm⁻ 0.71을 보이고 있는데, 이는 한국인 집단의 유전자 빈도 Pm⁺ 0.343,

Pm⁻ 0.657과 비교해 볼 때 중국인 집단과 일본인 집단의 중간에 위치하는 것을 볼 수 있었다(Table 2).

Table 2. Comparison of the allelic frequencies of parotid middle-band protein(Pm) polymorphism

Population	Number of Examined	Phenotypes		Gene frequency	
		Pm(+)	Pm(-)	Pm ⁺	Pm ⁻
Japanese ²⁰⁾	223	145	78	0.409	0.591
Korean	160	91	69	0.343	0.657
Chinese ²⁰⁾	20	10	10	0.29	0.71

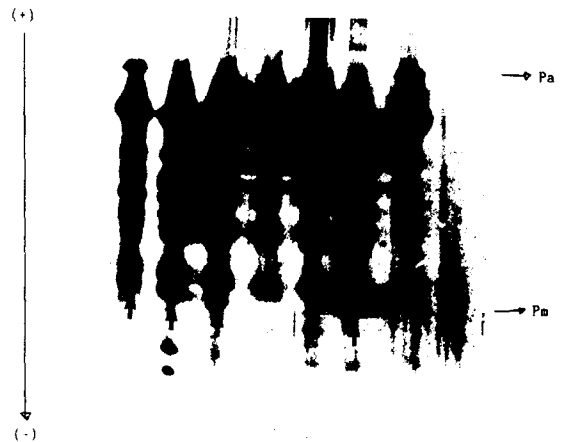


Figure 1. Acid-urea starch gel 상에서 전기영동한 사진.

화살표로 표시한 부분이 Pm band.

lane1 ; Pa(+), Pm(-), lane2 ; Pa(-), Pm(+)
lane3 ; Pa(-), Pm(+), lane4 ; Pa(-), Pm(-)
lane5 ; Pa(-), Pm(-), lane6 ; Pa(-), Pm(+)
lane7 ; Pa(+), Pm(-),

IV. 총괄 및 고찰

타액 구강내에서 종종 진단적 가치가 있는 도구로서 그 중요성이 높은 것으로 생각되나 실제로 그 분비율(flow rate)이나 분비지속시간, 그리고 타액 성분이 타액분비전과 후에 어떻게 조절되고 변형되는지의 문제등에 관한 다양성때문에 그 응용이 매우 복잡하고 미묘하다. 이러한 물리적 정상뿐만이 아니라 타액내

의 존재하고 있는 여러가지 효소나 유전적 특성을 갖고 있는 단백질들에 대해서도 그 역할이 확실하게 규명되지 않은 부분들이 많아서 임상으로의 응용은 아직껏 지극히 제한적이라 할 수 있다. 그러나 최근에 실험적 방법의 발달에 힘입어 타액을 구성하고 있는 단백질의 구성성분과 구강내에서의 역할, 그리고 단백질의 효현을 결정하는 유전형질 등을 밝히고자 하는 시도가 이루어져 그 결과, 사람의 이하선 타액 중에서 proline, glycine, glutamic acid 성분이 거의 70-80%로 구성되어 있는 단백질을 발견하고¹¹⁾, 이 단백질을 proline-rich proteins (PRPs)라 명명하였으며, 이러한 PRPs는 전 이하선, 악하선 타액의 40% 이상을 차지하고 있음이 밝혀졌다.²¹⁾

Levine 등²²⁾이 사람의 이하선 타액중에서 major glycoprotein을 분리하여 연구한 결과 부분적으로 그 특성에 관하여 알려지기 시작하였고 glycoprotein의 일부분과 유사한 아미노산 조성을 갖는 glycoprotein과 면역학적으로 관련이 있는 단백질 등의 존재 또한 알려지기 시작하였다. 그 후로도 타액에 관한 연구가 계속되어 이들 중 독특한 생물학적 특성을 갖는 acidic PRPs의 존재가 보고되면서 이들 단백질에 대한 성분조사 및 기능에 관한 연구가 시도되었고 이에 따라 acidic PRPs는 Ca^{+2} , phosphate의 길항체로 작용하면서 구강내에서 hydroxyapatite가 안정화될 수 있도록 하는 역할과 동시에 이러한 단백질 각각이 유전적인 다형현상을 보인다는 사실이 보고되었고 acidic PRPs를 구성하고 있는 단백질은 현재까지 Pr, Db, Pa, PIF, As의 다섯가지가 밝혀져 있다.

한편으로 Azen이 처음으로 발견하여 명명한 salivary basic protein (Pb)은 염기성 타액 단백질로 basic proline-rich protein군에 속하는데 지금까지 11가지의 염기성 단백질이 모두가 서로 밀접하게 연관되어 있으나 각각 아미노산 조성이 다른, 동일하지 않은 단백질로 구성되어 있음이 밝혀졌다.²³⁾ 이 basic PRPs의 생물학적 기능에 대해서도 꾸준히 연구가 계속되고 있는데 1979년 Kauffman 등²¹⁾은 basic PRPs에서 추출물을 얻어 관찰한 결과 lipid 성분이 존재하고 이 단백질이 50% acetone과 1:1 ethanol:ether과 같은 유기용매에 잘 용해된다고

보고하였는데 이는 이 단백질이 세포 막(Membrane)과의 상호작용에 관련이 있음을 시사해 주고 있다. 실제로 robinovitch 등(1975)²⁹⁾이 실험한 바에 의하면 쥐의 이하선에서 얻은 분비성 과립에서 proline, glycine, glutamate 등이 풍부하게 존재하는 basic PRP를 발견했으며 이 단백질이 granule membrane과 밀접한 관련이 있다는 보고를 한 바 있다. 그러나 이러한 Basic PRP의 생물학적 기능이 구강내 치아와 같은 경조직이나 구강점막 혹은 타액내 분비물질등에 어떻게 작용하는지에 대해서는 아직도 명확히 밝혀진 바가 없는 실정이다.

본 연구에서 검출하고자 했던 parotid middle band protein (Pm)은 basic PRPs의 하나로서, 1977년 Ikemoto 등¹⁷⁾이 처음으로 사람의 이하선 타액을 acid-urea starch gel 상에서 전기영동하여 Pa와 Pb의 중간 위치에 존재하는 단백질 band를 발견하고 이를 Pm이라 명명, 이 단백질이 유전적으로 다형현상을 보인다고 보고했던 것이다. 이 Pm에 관한 연구로는 1980년 Azen과 Denniston⁵⁾이 동일한 이하선 타액을 재료로 하여 acid polyacrylamide gel 상에서 전기영동하여 새로운 다형현상을 보이는 타액 단백질 parotid size variant (Ps)를 발견하여 보고하면서, 아울러 Ps, Pr, Db, Gl보다 이동속도가 상대적으로 느린 PmF (Pm fast)와 PmS (Pm Slow) 단백질 band를 발견, 보고하였는데 이 PmF와 PmS는 parotid proline-rich protein (PPP) gene complex, 즉 Gl, Pr, Pa, Ps 및 Db와 연관되어 있음을 밝힘과 동시에 Ikemoto 등이 보고한 pPm과 aAcid pPolyacrylamide gel 상의 PmF와는 서로 동일한 물질이라고 보고하였다. 또한 1981년 Minaguchi 등²⁵⁾은 Pm 단백질을 분리, 동정하여 분석한 결과 Pm이 당 단백질이며 이전에 보고된 타액내 당단백질¹⁾과 그 구조가 유사함을 밝힌 바 있다.

이외에 Pm의 유전적 특성에 관하여 1979년 Ikemoto 등¹⁸⁾이 조사한 바에 따르면 198명의 일본인 중 Pm(+)형이 120명(61.5%), Pm(-)형이 75명(38.5%)로 나타났고 이에 대한 유전자 빈도는 $Pm^+ 0.38$, $Pm^- 0.62$ 이며, 중국인 20명중의 Pm(+), Pm(-)형은 각각 10명으로 이의 유전자 빈도는 $Pm^+ 0.71$, $Pm^- 0.29$ 로 나타나 일본인과 중국인 집단간에 그 유

전자 빈도가 서로 상이함을 보인 바 있다.

본 연구에서는 한국인을 대상으로 Pm의 유전적 다형현상을 관찰하기 위하여 그 표현형 분포 및 유전자 빈도를 구하였는 바 160명중 Pm(+)형이 91명(56.9%), Pm(-)형이 69명(43.1%)으로 관찰되었고, 각각의 유전자 빈도는 Pm⁺ 0.343, Pm⁻ 0.657로 나타났는데, 이는 중국인의 Pm⁺ 0.71, Pm⁻ 0.29, 일본인의 Pm⁺ 0.38, Pm⁻ 0.62과 비교해볼 때 한국인의 유전자 빈도가 지역적으로 중국인과 일본인 유전자 빈도의 중간에 위치하고 있는 것을 볼 수 있다 (Table 2). 이는 이³⁷⁻³⁹⁾, 구와 김³⁵⁰⁾, 정과 김⁴⁰⁾의 타액단백질 다형현상에 관한 연구에서 Pr, Db, Pa의 유전자 빈도가 중국과 일본의 중간에 위치하고 있다고 보고했던 것과 동일한 경향을 보이고 있다. 그러나 흑인, 백인 등과 같은 다른 인종간의 Pm에 관한 비교는 아직 없으며, acid polyacrylamide gel 상에서의 PmF와 PmS에 관한 보고에서도 PmF와 Pm이 동일한 단백질이라고는 하나 PmF의 유전자 빈도에 관한 고찰을 누락되어 있어 PmS만 가지고는 이의 정확한 비교는 어려운 실정에 있다. 또한 이미 가계조사를 통하여 Pm 표현형질을 결정하는 유전인자가 상염색체상의 대립인자에 의하여 조절됨이 밝혀져 있으며⁵⁾ 궁극적으로 나타나게 되는 Pm의 표현형질 자체는 현재 인체에 해로운 형질을 포함하고 있지는 않는 것으로 알려져 있으나 아직까지도 각 인종 집단마다 그리고 세월에 따라 어떻게 변화하고 집단 내에서 유전자 빈도의 평형을 이루고 있는 지는 알려져 있는 바가 거의 없다.

이와 같이 집단에서의 유전자 빈도는 어떠한 유전자가 다른 집단으로부터 이주에 의해 도입되거나 돌연변이와 같은 유전정보의 변화, 그리고 유전자형의 적응력에 따른 도태 등과 같은 여러가지 원인에 의하여 변화될 수 있다. 또한 지금까지의 집단을 대상으로 한 유전자 빈도는 그 집단이 크다는 전제하에서 이루어졌는데 그 이유는 소집단에 있어서 발생할 수 있는 어떠한 유전자의 고정이나 소실이 일어나는 기회가 줄어들게 되어 상대적으로 대집단에서 유전자 빈도가 안정하기 때문이다. 이러한 견지에서 볼 때 현재 조사, 보고되어 있는 집단의 크기로는 위와 같은 간섭이 일어날 가능성

이 상대적으로 커지게 되어 세월에 따라 그리고 조사집단의 선정이 달라질 경우, 변화할 수 있는 가능성이 존재하게 되므로 광의의 인종 및 민족을 대표하기에는 그 의미가 축소될 가능성 또한 배제할 수 없다.

본 연구에서는 basic PRPs의 하나인 Pm을 검출하고 이의 유전적인 다형현상을 관찰하고자 하였으며 향후 이러한 단백질들의 생물학적 역할, 그리고 유전적, 지리적 특성을 밝히기 위하여 계속적인 유전적 다형현상에 관한 분석과 자료의 축적으로 유전자 빈도의 변화를 관찰함이 필요할 것으로 보여지며 acidic PRPs와 동시에 아직까지 규명되지 못한 타액 단백질의 구강내 기능과 상호 작용에 관해서 보다 많은 실험적 연구와 고찰이 요구된다 하겠다.

V. 결 론

임의로 선택한 20세부터 29세까지의 건강한 한국인 성인남녀 160명으로부터 이하선 타액을 채취하여 동결 건조시킨 타액을, acid-urea starch gel상에서 aluminum lactate-lactic acid 완충액을 사용하여 수평으로 전기영동하였다. gel을 amidoblack 10B/1% acetic acid 용액으로 염색하고 이를 0.5M H₂SO₄ 용액으로 탈색하여 나타난 parotid middle band protein(Pm)의 표현형 및 이의 유전자 빈도를 구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 한국인 집단 160명의 이하선 타액내 parotid middle-bana Protein(Pm)의 표현형 분포는 Pm이 존재하는 Pm(+)형이 91명(56.9%), Pm이 없는 Pm(-)형이 69명(43.1%)인 것으로 나타났다.
2. 한국인 이하선 타액내 parotid middle-band protein(Pm)의 유전자 빈도는 Pm⁺ 0.343, Pm⁻ 0.657인 것으로 나타났다.
3. 한국인 이하선 타액내 parotid middle-band protein(Pm)의 유전자 빈도는 일본인과 중국인의 유전자 빈도의 중간정도임이 관찰되었다.

참 고 문 헌

1. Arneberg, P. : Secretary proteins from pri-

- mate parotid glands. Thesis University of Oslo, Norway. 1974.
2. Azen, E.A. : Genetic polymorphism of basic proteins from parotid saliva. *Science* 176: 673–674, 1972.
 3. Azen, E.A. : Properties of salivary basic proteins showing polymorphism. *Biochem. Genet.* 9:69–86, 1973.
 4. Azen, E.A., Denniston, C. L. : Genetic polymorphism of human salivary proline-rich proteins: Further genetic analysis. *Biochem. Genet.* 12:109–120, 1974.
 5. Azen, E. A., Denniston, C. L. : Polymorphism of Ps(Parotid size variant) and detection of a protein(PmS) related to the Pm(Parotid middle-band protein) System with genetic Linkage of Ps and Pm to GI, Db and Pr genetic determinants. *Biochem. Genet.* 18:83–501, 1980.
 6. Azen, E. A., Denniston, C.L. : Genetic polymorphism of PIF(Parotid isoelectrofocusing variant) proteins with linkage to the PPP (Parotid proline-rich protein) gene complex. *Biochem. Genet.* 19:475–485, 1981.
 7. Azen, E. A., Hurley, C. K., Denniston, C. : Genetic polymorphism of the major parotid salivary glycoprotein(GI) with linkage to the genes for Pr, Db, and Pa. *Biochem. Genet.* 17:257–279, 1979.
 8. Azen, E.A., Oppenheim, f.G. : Genetic polymorphism of proline-rich salivary proteins. *Science* 180:1067–1069, 1973.
 9. Bennick, A. : Salivary proline-rich proteins. *Mol. and Cell. Biochem.* 45:83–99, 1982.
 10. Bennick, A., Chau, G., Goodman, R., Abrams, S., Tustian, D., Madapallimattam, G. : The role of human salivary acidic proline-rich proteins in the formation of acquired dental pellicle in vivo and their fate after adsorption to the human enamel surface. *Arch. Oral. Biol.* 28:19–27, 1983.
 11. Curby, W.A. : Device for collection of human parotid saliva. *J. Lab. Clin. Med.* 41:493, 1953.
 12. Cowman, R.A., Schaefer, S.G., Oppenheim, F.P., Hay, D.I. : Statherin and the proline-rich proteins PRP2 and PRP4 as amino nitrogen sources for plaque-forming oral Streptococci. *J. Dent. Res.* 58:2008–2009, 1979.
 13. Cowman, R. A., Schaefer, S G., Perralla, M. M., Cornell, A. H. : Differential utilization of proteins in saliva from caries-active and caries-free subjects as growth substrates by plaque-forming Streptococci. *J. Dent. Res.* 58:2019–2027, 1979.
 14. Choih, S. J., Quenton, T. Smith, Charles F. Schachtele. : Modification of human parotid saliva proteins by oral Streptococcus sanguis. *J. Dent. Res.* 58(1):516–524, 1979.
 15. Friedman, R. D., Merrit, A. D., Rivas, M. L. : Genetic studies of human acidic protein (Pa). *Am. J. Hum. Genet.* 27:292–303, 1975.
 16. Hay, D. I., Bennick, A., Schlesinger, D. H., Minaguchi, H., Mada-pallimattam, G., Schluckebier, S. K. : The primary structure of six human salivary acidic proline-rich proteins(PR-1, PrRP-2, PRP-3, PRP-4, Pif-s, Pif-f). *Biochem. J.* 255:15–21, 1988.
 17. Ikemoto, S., Minaguchi, K., Suzuki, K., Tomita, K. : New genetic marker in human parotid saliva(Pm). *Science.* 197:378–379, 1977.
 18. Ikemoto, S., Minaguchi, K., Tomita, K., Suzuki, K. : Variant protein in human parotid saliva detected by SDS polyacrylamide gel electrophoresis and its inheritance. *Ann. Hum. Genet. Lon.* 43:11–14, 1979.
 19. Ikemoto, S., Tomita, K., Minaguchi, K., Suzuki, K. : Frequencies of salivary genetic marker systems in the Japanese population and then application to forensic medicine. *Forensic Science International.* 14:41–47, 1979.
 20. Ikemoto, S., Tsuchida, S., Nishiumi, E., Tomita, K. : Genetic polymorphism of PIF

- proteins in a Japanese population. *Hum. Hered.* 37:263-254, 1987.
21. Kauffman, D.L., Keller, P.J. : The basic proline-rich proteins in human parotid saliva from a single subject. *Archs oral Biol.* 24:249-256, 1979.
 22. Levine, M. J., Veill, J. C., Ellison, s. A. : The isolation and analysis of a glycoprotein from parotid saliva. *Biochem. Biophys. Acta.* 188:165-167, 1969.
 23. Minaguchi, K., Bennick, A. : Genetics of Human Salivary Proteins. *J. Dent. Res.* 68 (1) : 2-15, 1989.
 24. Minaguchi, K., Ikemoto, S., Suzuki, K. : Isolation and partial characterization of a polymorphic protein(Pm) in human parotid saliva. *Biochem. Genet.* 19:617-621, 1981.
 25. Minaguchi, K., Ikemoto, S., Takaesu, Y., Suzuki, K. : Studies of genetic markers in hyman saliva,(IV) Analysis in electrophoresis of parotid saliva by Sal phenotyping system. *Bull. Tokyo Dental College.* 20:25-30, 1979.
 26. Minaguchi, K., Suzuki, K. : Frequencies of salivary genetic marker systems in Caucasians with an emphasis on Pm and Ph system. *Forensic Science International.* 17: 5-7, 1981.
 27. Minaguchi, K., Suzuki, K. : New salivary proteins polymorphisms detected by SDS polyacrylamide gel electrophorsis. *J. Dent. Res.* 65:326, 1986.
 28. Oppenheim, F. G., Hay, D. I., Franzblau, C. : Proline-rich proteins from human parotid saliva. *Biochemistry* 10:4233-4288, 1971.
 29. Rovinovitch, M. R., Keller, P.J., Iversen, J., Kauffman, D. L. : Demon of a class of proteins loosely associated with the secretory granule membrane. *Biochem. Biophys. Acta.* 382:260-264, 1975.
 30. Shaw, R.W., Bozek, R. G., Connell, G. E. : Electrophoresis of saliva in starch gel. *J. Dent. Res.* 41:1322-1326, 1962.
 31. Shintani, M., Minaguchi, K., Suzuki, K., Lim, K.A. : Allelic variants of acidic proline-rich proteins observed in Japanese, Chinese, and Malays. *Biochem. Genet.* 28:173-184, 1990.
 32. Shintani, M., Minaguchi, K., Lim, K. A., Hashimoto, M. : Salivary proline-rich protein polymorphisms in Chinese, Malays and Indians in Singapore. *Hum. Hered.* 40:89-98, 1990.
 33. Takaesu, Y. : Studies of salivary genetic marker system in south western islands of Japan. The 212th Tokyo. Dental College Congress, 1982.
 34. Ward, J. C. : Human salivary amylase ; Genetics of electrophoretic variants, *Am. J. Human. Genet.* 23:403-409, 1971.
 35. 구윤성, 김종열 : 한국인 이하선 타액내 Proline-rich Protein의 다형현상에 대한 연구. *대한구강내과학회지* 13(1):35-41, 1988.
 36. 구윤성, 김종열 : 타액단백질 다형현상과 DMFT index 및 PMA index와의 상관관계에 관한 연구. *대한구강내과학회지* 16(2): 9-16, 1991.
 37. 이하규 : 온양집단의 타액내 Double-Band Protein(Db)의 다형현상에 대한 연구. *성심여자대학 자연과학연구소 연보* 8:19-24, 1986.
 38. 이하규 : 온양집단의 타액내 Proline-rich Protein(Pr)의 다형현상에 대한 연구. *성심여자대학 자연과학연구소 연보*, 제9호, 21-27, 1987.
 39. 이하규 : 한국인 집단에서의 타액단백질 다형과 유전적 변이에 대한 연구. 서울, 서울대학교, 1989.
 40. 정순민, 김종열 : 한국인 울릉도, 자월도 거주민 이하선 타액내 Pr, Db, Pa의 유전적 다형현상에 대한 연구. *대한구강내과학회지* 15(1):91-104, 1990.
 41. 최복실, 김종열 : 치아우식 활성군과 비활성군 간의 타액 단백질 표현형 분포에 관한 비교 연구. 서울, 연세대학교, 1992.

Gentic Polymorphism of Parotid Middle Band Protein (Pm) in a Korean Population

Ha-Jin Kim D.D.S, Chong-Youl Kim D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Oral Medicine and Oral Diagnosis, Yonsei University

[ABSTRACT]

It is known that human saliva includes various kinds of salivary proteins that show genetic polymorphism. With respect to salivary protein polymorphism, this study was conducted on 160 healthy Koreans between the ages of 20 and 29 chosen randomly ; their parotid saliva was collected, freeze-dried, and horizontally electrophoresed over acid-urea starch gel. Aluminum lactate-lactic acid was also used as buffer solution. The gel was stained with amidoblack 10B/1% acetic acid solution, and then destained with 0.5M H₂SO₄ solution. Accordingly, the parotid middle-band protein(Pm) identified, and its phenotypes and gene frequency were obtained.

The following results were obtained :

1. The phenotypes of parotid middle band protein(Pm) observed in parotid saliva of the 160 Koreans were Pm(+) in 91 people (56.9%) and Pm(-) in 69 people(43.1%)
2. The gene frequency of Pm⁺ was 0.343, and that of Pm⁻ was 0.657.
3. The gene frequency of parotid middle band protein(Pm) obtained from Korean's parotid saliva was midway between that of Japanese and Chinese.

Key Words : Salivary protein polymorphism, Pm, Korean population