

조직내 효소형 분석에 의한 집쥐류의 분류학적 특성 조사

김희선 · 강문일 · 이재일

전남대학교 수의과대학
(1996년 5월 22일 접수)

Taxonomic characters of wild rats by isoenzyme analysis

Hee-sun Kim, Mun-il Kang, Jae-il Lee

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University Kwangju, Korea
(Received May 22, 1996)

Abstract : Sixty wild rate (fifty eight of *Rattus norvegicus* and two *R rattus*) were caught from Seoul, Kyonggi, Kangwon, Honam, and Yongnam areas between August and October 1992. From liver homogenates of the wild rats, isoenzyme patterns were analysed by starch gel electrophoresis. Using 9 enzyme systems, eight electrophoretic types were identified among wild rats with genetic diversity per locus between 0.00 and 0.49 (Mean 0.15). *R rattus* from Kyonggi (Kanghwa) and Kangwon (Cholwon) were distinct from *R norvegicus* from nine regions with 0.581 in genetic divergence. Therefore genetic divergence was different not only in interspecies(0.581) but also in intraspecies(0.111~0.375).

These data suggested that isoenzyme electrophoresis could be used as a potential application in taxonomic studies of wild rats.

Key words : *Rattus norvegicus*, *R rattus*, isoenzyme, genetic divergence.

서 론

야생동물 각 개체가 갖고 있는 특성을 규명하여 종을 정확히 구분하는 일은 분류학적 가치 뿐만아니라 관련 질병의 역학을 규명하기 위해선 중요하다. 야생 집쥐류의 종을 분류하는 방법으로 형태학적인 비교¹⁻⁷ 이외에 염색체 수와 특이 분질의 비교⁴, 미토콘드리아내 핵산분

석법^{8,9}, 체내에 분포하는 효소와 단백질들의 다양성을 찾아내어 종간의 유전적 특성을 비교하는 방법¹⁰⁻¹⁶ 등이 알려져 있는데 이들중 하나의 방법보다는 두 개이상 방법이 병용되어가고 있는 실정이다.

종 분류의 방법으로 조직내 효소형의 분석활용은 포유동물, 조류, 파충류, 쥐 그리고 물고기 등에서 LDH, MDH, isocitrate dehydrogenase를 검출하여 종과 조직간의 특이성이 확인¹¹된 바 있고, 생쥐¹⁷ *Mus musculus*의 헤모

글로빈형과 집쥐류의 적혈구내 카탈라아제 형을 비교¹⁴하여 그들 종간의 교잡정도를 추론한 적이 있다. 또한 국내에서 서울지역에서 포획된 집쥐를 대상으로 단백질과 효소의 다양성을 바탕으로 유전적인 변이를 조사한 보고^{18,19}가 있었으나 선자들의 보고는 하나 혹은 몇 개의 효소만을 대상으로 연구한 것이 대부분이었다. 저자들은 여러 가능성 있는 조직효소 가운데 특이성이 있는 효소를 선정하여 국내서식 집쥐류의 종 구분에 활용코자 이 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

예비실험 : 예비실험은 생후 일주일령, 2개월령, 6개월령 그리고 1년 이상된 *Sprague-Dawley*(SD, Charles River, Japan) 랫트와 실험실 마우스(ICR, Charles River, Japan)를 암수 각 5마리씩 선택하여 halothane으로 마취하고, 심장으로부터 혈액을 제거한 후 비장, 신장, 심장, 간장 그리고 근육을 채취하였다. 채취한 장기들은 같은 장기별로

동량 혼합하여 조직을 분쇄한 후 상층액을 액체질소 탱크에 저장하여 실험에 사용하였다. 먼저 각 장기에 효소의 존재를 파악하기 위하여 각 장기별로 분쇄된 상층액으로 전기영동시켜 glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH), adenosine deaminase(ADA), peptidase-A(PEP-A), peptidase-B(PEP-B), superoxide dismutase(SOD), aspartate aminotransferase(AAT), lactate dehydrogenase(LDH), malate dehydrogenase(MDH), purine nucleoside phosphorylase (PNP), aconitase hydratase(ACOH), alcohol dehydrogenase (ADH), α -galactosidase(α -GAL), α -mannosidase(α -MAN), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH) 그리고 fumarate hydratase(FUMH)의 존재를 확인하여 검출양과 질에서 신뢰성이 높은 효소이면서 동시에 해당 효소의 분포농도가 높은 조직을 선택하였다.

재료채취 : 1992년 8월부터 10월 사이에 서울, 경기(인천, 평택, 강화), 강원(속초, 철원), 호남지역(군산) 그리고 영남(진해, 강구) 등에서 포획하여 형태학적으로 구분한 58마리 집쥐와 두 마리 곰쥐에서 간장을 채취하였다. 채

Table 1. Enzymes, resolved and buffer systems used in the electrophoretic analysis of wild rats

Enzyme ^a	Enzyme ^b commission number	Buffer systems ^c		Running conditions		
		Gel	Electrode	Current(mA)	Voltage(V)	Time(h)
G6PDH	1.1.1.49	TC 6.3 : TC 6.7 = 1.7	TC 6.3	53 ^d	60	17:00
ADA	3.5.4.4	THCl 8.5	LiOH	19 ^d	60	18:08
PEP-A(glycyl-L-leucine)	3.4.-.-	LiOH 8.3 ^e	LiOH	28	60 ^d	16:52
PEP-A(L-leucyl-glycylglycine)	3.4.-.-	LiOH 8.3 ^e	LiOH	28	60 ^d	17:13
AAT	2.6.1.1	LiOH 8.3 ^e	LiOH	19	60 ^d	16:52
SOD	1.15.1.1	LiOH 8.3 ^e	LiOH	19	60 ^d	17:13
LDH	1.1.1.27	THCl 8.5	THCl 9.0	19 ^d	60	17:46
MDH	1.1.1.37	THCl 8.5	THCl 9.0	19 ^d	60	17:46
PNP	2.4.2.1	THCl 8.5	THCl 9.0	19 ^d	60	17:46
ACOH	4.2.1.3	THCl 8.3 ^e	LiOH	18	60 ^d	18:30
ADH	1.1.1.1	LiOH 8.3 ^e	LiOH	40	60 ^d	14:42
α -GAL	3.2.1.22	THCl 9.0	THCl 9.0	35 ^d	60	14:00
α -MAN	3.2.1.24	THCl 9.0	THCl 9.0	35 ^d	60	14:00
GAPDH	1.2.1.12	TC 6.7	TC 6.7	34 ^d	50	14:32
FUMH	4.2.1.2	TC 6.7	TC 6.7	50 ^d	73	14:50

a : Enzymes abbreviation see text.

b : Commission on Biochemical Nomenclature(1973).

c : For buffer composition see reference.

d : The figures show the constant current(for continuous gels) or constant voltage. (for discontinuous) for the appropriate buffer systems.

e : Discontinuous gel; the current for discontinuous buffer dropped during the run.

취된 간장은 액체질소 탱크에 보관하면서 실험에 사용하였다.

종 구분 : 포획된 야생 집쥐류 중 분류는 외형과 두개골의 형태 및 특징을 중심으로 구분하였다. 약술하면 귀의 길이가 짧아서 접어도 눈까지 도달하지 못하거나 꼬리의 길이가 머리에서 꼬리 기저부까지의 길이에 비하여 90% 이하로 나타날 경우의 집쥐 *Rattus norvegicus* 로 인정하였다³.

또한 많은 두개골 특징 가운데 두정골 상부 측두 융기의 평형과 앞니구멍의 위치 등에서 Woon³과 Corbet⁵가 기술한 내용과 일치할 경우 집쥐로 구분하였다.

조직분쇄 및 보관 : 조직분쇄를 위하여 Pasteur 등²⁰의 방법에 의해 조직분쇄용 Tris-EDTA 완충액을 최종 20% (V/W) 농도가 되도록 각각의 간장 조직에 첨가한 후 조직분쇄기(Tembrock tissue grinder, Wheaton)를 이용하여 분쇄한 다음, 4℃에서 1,000rpm으로 10분간 원심하였다. 원심후 상층액을 채취하여 저온 저장용 시료용기(Sarstet, 500 μ l)에 50 μ l씩 분주하여 -70℃에 보관하면서 실험에 사용하였다.

전기영동 : 탈수된 감자 녹말가루(Sigma, USA)를 이용하여 10%의 젤을 만들었으며, 완충액의 제조와 전기영동은 Murphy 등²¹의 기준에 따라서 수행하고 조건들을 Table 1에 기술하였다. 간단히 기술하면 젤 제조용 완충액으로는 Tris-citrate buffer(pH 6.3, TC 6.3), Tris-citrate buffer(pH 6.7, TC 6.7), Tris-HCl buffer(pH 8.5, Tc 8.5), Tris-HCl buffer(pH 9.0, THCl 9.0), 그리고 Lithium hydroxide buffer(pH 8.3, LiOH 8.3)를, 전기영동을 위한 완충액으로 Tris-citrate buffer(pH 6.3, TC 6.3), Lithium hydroxide buffer(pH 8.1, LiOH) 그리고 Tris-HCl buffer(pH 9.0, THCl 9.0)를 이용하였다. 전기영동은 18~53mA와 50~73 Voltage의 범위에서 14~19시간에 걸쳐서 수행하였다. 0.3×1.0mm로 절단한 여과지(Whatman, No. 2)에 검사용 조직액을 흡수시켜 젤의 절단면에 최소한 재료간에 0.5mm 간격을 두고 삽입한 다음, 전기영동(Bio-Rad Lab, USA)하였다.

본 실험에서는 전기영동시 비교대상으로 SD랫트, 등줄쥐 *Apodemus agrarius* 등의 간장 조직액을 대조로 이용하였다.

GeI 염색 및 고정 : 전기영동후 염색은 Murphy 등²⁰이 기술한 방법에 따라 수행하였다. ADA, PEP-A, PEP-B,

PNP, ACOH, ADH의 검출을 위해 1.4% agar를 젤위에 포배하였고, 모든 반응은 37℃에서 수행하였다. 염색된 효소의 고정은 glacial acetic acid : methyl alcohol : distilled water가 1:5:5로 혼합된 용액에서 약 30분간 하였고, 결과의 기록은 눈금종이에 기록하고 사진촬영(Minolta, Japan)하였다.

Allele 지정과 분석 : 같은 allele은 동일번호를 매겼으며, 각 효소의 젤상에서의 이동거리 차이에 의해 나타난 전기영동상에 따라 감소한 순서대로 번호를 매겼다(Fig 2). 서로 다른 allele을 보인 재료들은 다음의 전기영동 때 대조재료로 사용하였고, 결과의 정확성을 확보하기 위해 한 재료에 대하여 최소한 두 번 이상의 전기영동을 실시하였다. 마지막 확인단계로 같은 allele을 보이는 재료들을 다른 allele를 보인 대조재료와 함께 전기영동을 시켰다. 모든 효소에 대해 위와 같은 방법으로 allele을 지정하고 똑같은 이동양상을 보인 재료들을 같은 집단(group)으로 나누어 같은 electrophoretic type(ET) 즉, 전기영동상에 나타난 동일한 표현형(표현형)을 부여하였다. 각 효소의 locus에 있어서 유전적 다양성(genetic diversity:h)은 다음의 식에 의해서 계산하였다.

$$h = 1 - \sum Pi^2[n/(n-1)]$$

Pi : 각 locus에서의 allele의 빈도

n : 재료의 수, 즉 n(n-1)은 시험재료수가 적을 때 편차의 교정을 나타낸다.

Locus당 평균 diversity는 검사된 모든 loci의 h의 평균값으로 계산하였다. 재료들이 속한 각 표현형들간의 유전거리(genetic distance : D)는 TAXAN2 package(Burr²²)에 기초를 둔 "phentree"라는 컴퓨터 프로그램을 이용하여 각각의 표현형들간에 서로 다른 allele들이 존재하는 locus들의 비율에 의해 산출하였다. 알려진대로 이 프로그램은 표현형간의 상호관계를 squared euclidean distance(SED)로 나타내기 위해 unweighted pair-group method of arithmetic averages (UPGMA) strategy를 이용하여 phenogram을 만든다. 그러므로 이 SED는 표현형들간의 유전거리(D)와 같으며, 표현형들간의 유전적인 근접관계를 나타낸 것이다.

통계처리 : 종간의 외부형태 차이는 Statistical Analysis Software(SAS Institute, Inc., NC)의 MANOVA로 처리하여 비교하였다.

결 과

예비실험으로써 SD랫트와 ICR 마우스의 장기별로 조직내 효소를 전기영동한 결과를 Table 2에 기록하였다. G6PDH는 SD랫트의 비장, 신장과 간장에서, ICR 마우스의 전체 장기에서 검출되었다. ADA는 SD랫트의 전체 장기에서 ICR 마우스의 비장, 신장과 간장에서 검출되었다. PEP-A는 SD랫트와 ICR 마우스의 전체 장기에서 검출되었다. PEP-B는 SD랫트의 근육을 제외한 전체 장기와 ICR 마우스의 전체 장기에서 검출되었다. SOD는 SD랫트의 비장, 신장과 간장, ICR 마우스의 비장, 심장과 간장에서 검출되었다. AAT는 SD랫트와 ICR 마우스의 전체 장기에서 검출되었다. LDH는 SD랫트와 ICR 마우스의 근육을 제외한 전체 장기에서 관찰되었다. MDH는 SD랫트의 비장을 제외한 전체 장기, ICR 마우스의 전체 장기에서 관찰되었다. PNP는 SD랫트의 심장을 제외한 전체 장기, ICR 마우스의 전 장기에서 관찰되었다. ACOH는 SD랫트의 심장과 근육, ICR 마우스의 간장과 근육이 실험에 이용되지 않았지만 전체의 장기에서 검출되었다. α -GAL, α -

MAN 그리고 FUMH 역시 검출이 불가능하였다. GAPDH는 SD랫트의 간장과 근육에서 검출되었으며, ICR 마우스의 비장을 제외한 전체 장기에서 관찰되었으나 세번의 반복된 실험결과 반응이 약할 뿐만아니라 해독이 불가능하여 실험에서 제외하였다. 이상의 결과로서 G6PDH, ADA, PEP-A, PEP-B, SOD, AAT, LDH, MDH 그리고 PNP의 9가지 효소가 검출양과 질에서 신뢰성이 높은 효소들로 나타났으며 특히 간장에서 이들 효소의 분포도가 높은 것으로 나타났다. 그래서 본 실험에서는 야생 집쥐류의 간장에서 이 아홉가지 효소들의 다양성을 통해 야생 집쥐류의 유전학적 차이를 조사하였다.

생포되어 간장 조직내 효소형의 분석에 이용된 58마리 집쥐와 두 마리 곰쥐를 포획지역에 따라 Table 3에 열거하였다. 경기지역(인천, 평택, 강화)과 영남지역(진해, 강구)에서 15마리씩의 집쥐류가 생포되었으며, 서울지역에서 14마리, 강원과 호남지역에서 각 8마리의 순서로 포획되었다. 여기에는 경기지역(강화)과 강원지역(철원)에서 포획된 한 마리씩의 곰쥐가 포함되어 있었다.

집쥐와 곰쥐의 외형을 비교하여 Table 4에 나타내었다. 경기와 강원지역에서 포획된 한 마리씩의 곰쥐는 머

Table 2. Preliminary test to detect isoenzymes of various organs from different species rodents

Enzymes ^a	SD rats					ICR mice				
	spleen	kidney	heart	liver	muscle	spleen	kidney	heart	liver	muscle
G5PDH	+ ^b	+	-	+	-	+	+	+	+	+
ADA	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
PEP-A	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+
PEP-B	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
SOD	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-
AAT	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LDH	+	+	+	+	-	±	±	±	±	-
MDH	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PNP	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
ACOH	+	+	NT	+	NT	+	+	+	NT	NT
ADH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -GAL	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
α -MAN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GAPDH	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
FUMH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

a : Enzymes abbreviation see text.

b : + ; good reaction, - ; no reaction, ± ; weak enzyme reaction, NT, not tested.

Table 3. *Rattus norvegicus* and *R rattus* from different areas of Korea for enzymatic analysis

Province	Regions	Species	No. of specimen
Seoul	Seoul	<i>R norvegicus</i>	14
Kyonggi	Inchon	<i>R norvegicus</i>	6
	Pyongtaek	<i>R norvegicus</i>	4
	Kanghwa	<i>R norvegicus</i>	4
		<i>R rattus</i>	1
Kangwon	Sokcho	<i>R norvegicus</i>	2
	Cholwon	<i>R norvegicus</i>	5
		<i>R rattus</i>	1
Honam	Kunsan	<i>R norvegicus</i>	8
Yongnam	Chinhae	<i>R norvegicus</i>	5
	Kanggu	<i>R norvegicus</i>	10
Total		<i>R norvegicus</i>	58
		<i>R rattus</i>	2

Table 4. Comparison of external characters of *Rattus norvegicus* and *R rattus*

Characters	<i>R norvegicus</i>	<i>R rattus</i>
	Mean±SE, n=56	Mean±SE, n=2
Length of head to tail(cm)	36.02±2.99	35.90±7.64
Length of tail(cm)	15.66±3.27	17.35±4.03 ^a
Length of hind foot (cm)	3.64±0.19	3.55±0.49
Length of ear(cm)	1.92±0.35	2.30±0.42 ^b

a : p<0.01 b : p<0.05

Table 5. Number of wild rats assayed for electrophoretic type

Species	Number of wild rats		Number of ETs* identified
	Assayed	Typed	
<i>Rattus Norvegicus</i>	58	58	6
<i>Rattus rattus</i>	2	2	2
Total	60	60	8

* Electrophoretic types.

Table 6. Allelic frequencies for 9 enzyme loci in 8 electrophoretic types of wild rats

ET	Areas	No. of specimen	Alleles of the enzyme locus								
			G6PDH	ADA	PEPA	PEPB	SOD	AAT	LDH	MDH	PNP
1	Seoul	8	1 ^a	1	1	1	1	1	1	3	1
2	Seoul	3	1	1	1	1	1	1	1	3	2
3	Inchon	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1
4	Cholwon	1	1	1	1	-1 ^c	1	1	1	2	1
5	Seoul	3	1	1	1	-1	1	1	1	1	1
	Inchon	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Pyongtaek	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Kanghwa	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Sokcho	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Cholwon	4	1	1	1	-1	1	1	1	1	1
	Chinhae	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	Kanghwa	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1
	Kangku	10	1	1	1	1	1	-1	1	1	1
	Kunsan	8	1	1	1	1	1	-1	1	1	1
7 ^b	Kanghwa	1	1	2	1	1	1	2	2	3	2
8 ^b	Cholwon	1	1	2	2	-1	1	2	3	2	2

a : Enzymes abbreviation see text.

b : *Rattus rattus*.

c : No activity was never dedetected.

리에서 꼬리 기저부까지의 길이와 꼬리 길이의 상대적 비율이 93.53%로 76.82%인 집쥐에 비해 훨씬 높았다. 또한 두 종간에 꼬리의 길이(p<0.01)와 귀의 길이(p<0.05)에서 차이가 인정되었다.

이 연구에 이용된 집쥐와 곰쥐의 개체수와 전기영동 결과로 얻어진 표현형을 Table 5에 기록하였다. 전기영동후 젤상에 표현되는 염색점편들의 이동양상을 종합비교하여 본 결과 집쥐에서 6가지, 곰쥐에서 2가지의 표현

형이 관찰되었다.

SD랫트와 ICR 마우스의 장기내 장기내 효소 검출을 기초로 하여 본 실험에 이용된 60마리 집쥐류 간장에서 9가지 효소가 검출되었다. SD랫트, 등줄쥐의 간장을 비교대상으로 국내에서 포획된 집쥐류의 간장 조직내 효소형을 조사한 결과 60마리의 집쥐류들은 8가지의 표현형으로 나뉘어 졌으며, G6PDH를 포함하여 ADA, PEP-A, PEP-B, SOD, AAT, LDH, MDH 그리고 PNP를 검출하

였는데 G6PDH, PEP-B 및 SOD는 모든 집쥐류에서 동형으로 관찰되었으며 ADA, PEP-A, AAT, PNP는 2가지형 그리고 LDH와 MDH는 3가지형으로 타나났다(Table 6).

전기영동후에 젤을 염색하였을 때 G5PDH는 1-2개의 절편이 검출되었는데 상단부에 위치한 절편은 염색정도가 약하게 나타났다. ADA는 한 개의 절편이 검출되었는데 경기지역(강화)에서 포획된 표현형 7과 강원지역(철원)에서 포획된 표현형 8은 이동양상이 느리게 보였다. PEP-A는 한 개의 절편을 나타내었는데 강원지역(철원)에서 포획된 표현형 8은 이동양상이 다른 표현형들에 비하여 빠르게 관찰되었다. PEP-B는 전체적으로 두 개의 절편이 보였는데 상단부의 절편이 하단부의 절편에 비교하여 약하게 관찰되었다. SOD는 두 개의 절편이 염색후에 짙은 보라색의 배경에 비교해 하얗게 염색되었는데 하단부의 절편이 상단부에 밀접하여 약하게 나타났다. AAT는 1-2개의 절편이 이동양상에 따라서 두 가지 표현형으로 보였는데 경기지역(강화)에서 포획된 표현형 6에 속하는 두 마리, 표현형 7에 속하는 한 마리와 강원지역(철원)에서 포획된 표현형 8에 속하는 한 마리는 이동이 느리게 관찰되는 상단부의 절편이 흐리게 나타나는 다른 표현형들의 하단부 절편 사이에 위치하여 관찰되었다. LDH는 비교대상으로 이용한 등줄쥐의 절편

대부분이 양극쪽을 향하여 나열되어 관찰된 반면 집쥐류는 반응결과 음극쪽을 향하여 1-2개의 절편이, 양극쪽을 향하여 한 개의 절편이 회피하게 검출되었다. 특히 경기지역(강화)에서 포획된 표현형 7은 음극쪽을 향하여 하나의 절편을 소유하고 두 개의 절편을 나타내는 다른 표현형들에 비하여 상부에 위치하여 구별되었고, 강원지역(철원)에서 포획된 표현형 8은 다른 표현형들의 최상단부 절편에 인접하여 상하 두 개의 구분되어 나타났다(Fig 1).

MDH는 양극쪽을 향한 두 개의 절편이동상이 관찰되었는데 상단부에 위치한 절편이 하단부에 비하여 흐리게 보였다. 서울에서 포획된 표현형 1과 표현형 2, 경기지역(강화)에서 포획된 표현형 7은 하단부 절편의 상하 인접 위치로 검출되었으며, 강원지역(철원)에서 포획된 표현형 4와 표현형 8은 다른 표현형들의 최하단에 위치한 절편보다도 멀리 이동됨으로써 구분되었다(Fig 2). PNP는 전체가 한 개의 절편으로 관찰되었는데 서울에서 포획된 표현형 2, 강원지역(철원)에서 포획된 표현형 7과 표현형 8은 다른 지역에서 포획된 표현형들에 비하여 빠르게 이동됨으로써 구분되었다.

아홉가지 조직내 효소의 loci에 있어서 allele 빈도와 유전학적인 다양성을 Table 7에 기록하였다. Locus의 유전

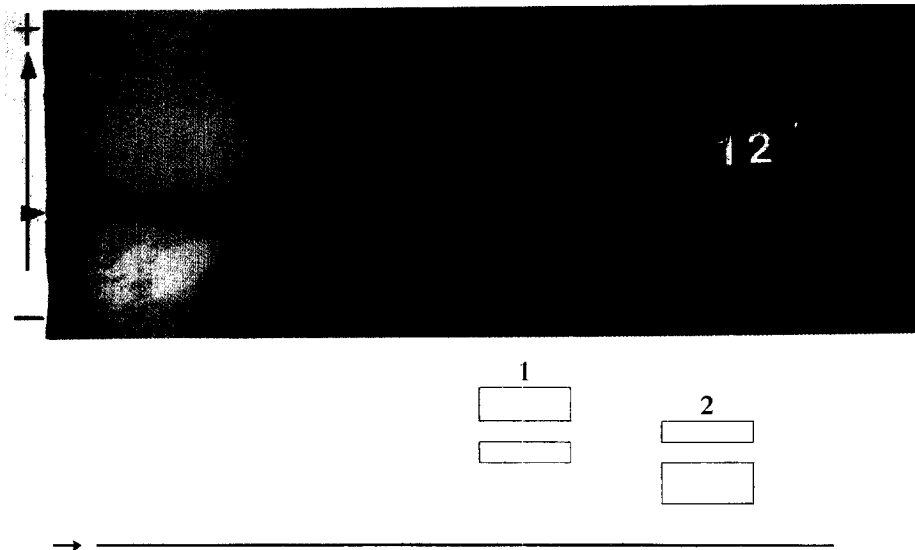


Fig 1. Starch gel electrophoretic patterns of lactate dehydrogenase, showing three alleles as indicated.

A ; *Apodemus agrarius*, 1 ; *Rattus norvegicus*, and 2 ; *R rattus*(above).

An arrow represents the origin. 1 ; LDH type 1 and 2 ; LDH type 2. The cathode is at the top of the figure(below).

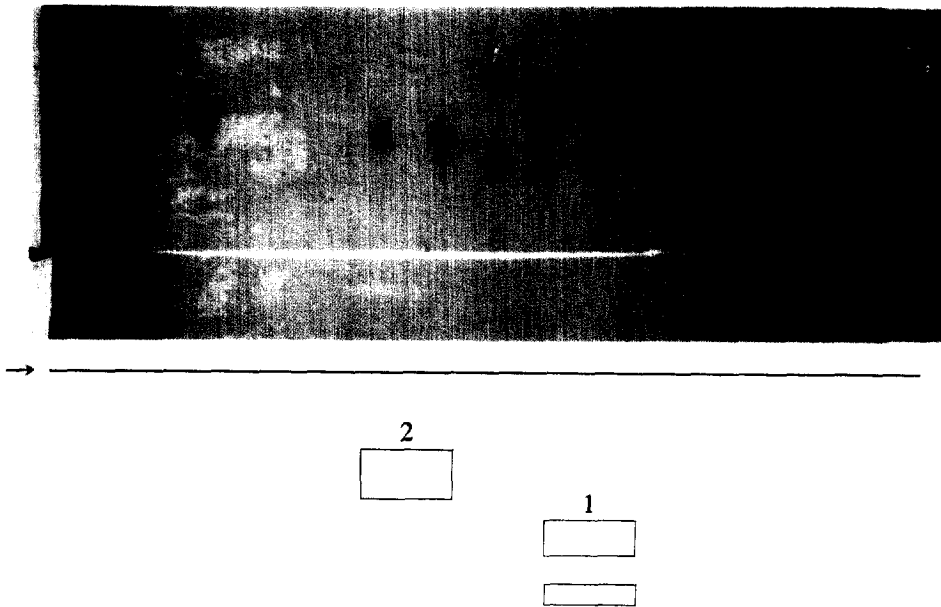


Fig 2. Starch gel electrophoretic patterns of malate dehydrogenase, showing three alleles as indicated.

A ; *Apodemus agrarius*, 1 ; *Rattus norvegicus*, and 2 ; *R rattus*(above).

An arrow represents the origin. 1 ; LDH type 1 and 2 ; MDH type 2. The cathode is at the top of the figure(below).

Table 7. Allele frequencies and genetic diversity at 9 enzyme in 8 electrophoretic types of wild rats

Enzyme locus	Frequency of indicated allele				Genetic diversity/ locus(h)
	0	1	2	3	
G6PDH		1.00			0.00
ADA		0.97	0.03		0.04
PEP-A		0.98	0.02		0.02
PEP-B	0.15	0.85			0.24
SOD		1.00			0.00
AAT	0.30	0.63	0.07		0.49
LDH		0.95	0.03	0.02	0.08
MDH		0.77	0.03	0.20	0.35
PNP		0.92	0.08		0.13

Mean genetic diversity per locus

* : For enzyme abbreviation see text.

학적인 다양성은 0.00에서 0.49(평균 0.15)였으며, AAT가 0.49로 가장 높은 유전적 다양성을 나타냈다.

국내에서 포획된 집쥐류의 조지내 효소의 표현형을 지역에 기준하여 비교한 결과는 8개의 표현형으로 구분되었고 각 지역에서 포획된 집쥐류의 유전학적인 차이는 0.111부터 0.750까지의 범위에 존재하였다(Table 8).

Table 8. Matrix of genetic distances between electrophoretic types of *Rattus norvegicus* and *R rattus*

ET	1*	2	3	4	5	6	7
2	0.111						
3	0.222	0.333					
4	0.125	0.250	0.250				
5	0.111	0.222	0.111	0.125			
6	0.222	0.333	0.222	0.250	0.111		
7	0.444	0.333	0.444	0.625	0.556	0.444	
8	0.750	0.625	0.750	0.625	0.750	0.625	0.375

* : Numbering of electrophoretic types corresponds to table 6

이 계수들을 기초로 하여 표현형들간의 유전학적인 상호관련성을 나타내었다(Fig 3).

집쥐류들은 0.518의 유전적인 차이에서 크게 두군(group)으로 구분되었으며, A군은 집쥐류의 대부분이 속하는 주된 군으로서 다시 4개의 집단으로 구분할 수 있었다. 0.230의 유전적 차이에서 집단 a, b와 나머지 집단 c, d로 구분되었으며, 0.188의 유전적 차이에서 집단 a와 b, 0.167의 유전학적 차이에서 집단 c와 d가 구분되었다.

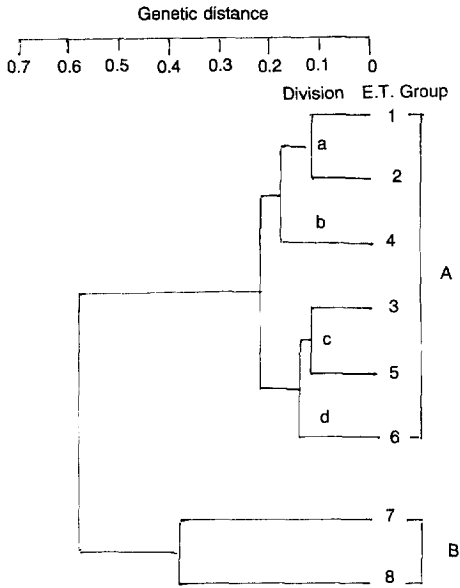


Fig 3. Phenogram of genetic distances among electrophoretic types of *Rattus norvegicus* and *R. rattus* based on geographic variation, clustered by UPGAM, Numbering of ETs corresponds to Table 6.
Two major clusters were identified by groups A and B.
Group A is subdivides into 4(a, b, c, and d).

A군에 포함된 집단 a는 서울지역에서 포획된 집쥐류들 가운데 표현형 1과 2를, 집단 b는 표현형 1과 2, 강원지역(철원)에서 포획된 집쥐류들 가운데 표현형 4를, 집단 c는 서울과 경기지역(인천, 평택, 강화), 강원지역(속초, 철원) 그리고 영남지역(진해)으로부터 포획된 집쥐류를 포함한 집단으로 광범위한 지역의 집쥐들이 속해 있었다. 집단 d는 경기지역(강화)과 영남지역(강주) 그리고 호남지역(군산)에서 포획된 집쥐들이 포함되었다.

B군은 경기지역(강화)과 강원지역(철원)에서 포획된 집쥐류 가운데 표현형 7과 8을 나타낸 한 마리씩을 포함하고 있었다. 이 군은 곰쥐의 집단으로 하나의 다른 집락으로서 A군과 구분되었으며 이 군의 두 마리 곰쥐도 0.375의 유전적 차이를 보였다.

경기지역(강화)과 강원지역(철원)에서 포획된 집쥐류 가운데 표현형 7과 8을 나타낸 한 마리씩을 포함한 집단 B는 0.581의 유전학적인 차이에서 구별된 2개의 집단을 형성하였는데 그 하나는 경기지역(강화)과 강원지역(철

원)에서 포획된 집쥐류로 표현형 7과 8을 포함하는 집단 B였고, 다른 하나는 나머지 표현형들로 구성된 주된 집단 A였다. 집단 B는 곰쥐의 집단으로 하나의 다른 집락으로서 구분되었으며 이 집단의 두 마리 곰쥐도 0.375의 유전적 차이를 보였다.

고찰

세계적으로 넓게 분포하는 집쥐류에 대한 보고는 주로 분류학적인 측면을 중시하여 형태학적 및 생태적인 차이를 기술하고 있다^{5,7}. 아울러 집쥐류의 국내 서식양상 역시 앞서의 보고들¹⁻³을 종합하여 볼 때 전국적 분포를 확인할 수 있었다. 그러나 지금까지의 국내 집쥐류 연구들은 포획수가 적은데가 주로 형태학적 비교와 같은 비교적 단순한 방법만을 적용하여 왔었다. 오늘날 종분류를 위한 수단들이 여러 방법을 종합화하여 정밀성을 높여 가려는 경향에 비추어 볼 때 이 연구 역시 국내 집쥐류의 종분류에 형태적 비교와 더불어 조직내 효소형의 분석의 병행은 바람직하다고 할 수 있다.

종분류에 효소 분석의 이용은 Markert과 Møller¹¹가 돼지, 소, 양, 토끼 그리고 쥐의 심장에서 lactate dehydrogenase를 전기영동법으로 분석하여 종간의 표현형의 차이를 확인하였을 뿐만 아니라 돼지 태아와 성숙간에 효소의 표현형도 비교하였고, Markert¹²는 소와 돼지를 포함한 포유류, 펭귄같은 조류, 방울뱀 그리고 물고기내 lactate dehydrogenase를 서로 비교하여 종과 조직 특이성을 규명한 바 있다.

Kimura와 Yamamoto¹⁵는 참새의 혈장과 간장의 16가지 효소와 3가지 단백질질을 전기영동하여 그들간에 여러가지 표현형을 조사하기도 하였다. Simonsen¹³은 개의 품종간을 비롯 개와 다른 개과(科) 동물의 혈액내 존재하는 18가지 효소와 3가지의 단백질질을 분석하여 종간에 효소 표현형의 차이를 비교하였다. 따라서 이러한 일련의 보고들은 특정효소분석에 의한 분류가 포유류나 조류는 물론 야생 설치류에 이르기까지 광범위하게 적용이 가능함을 시사하고 있다.

쥐아과에 대한 효소형의 분석활동은 Petras와 Martin¹⁷이 완충액과 시약의 종류에 의한 생쥐 헤모글로빈의 검출양상을 비교하는 과정에서 타종간의 교잡 정도에 따라서 다양성에서 차이를 나타내는데 사용하였고, Yamada 등¹⁴도 집쥐의 혈액내 카탈라아제를 전기영동한 후

이동양상에 따라서 표현형을 비교하고 종간의 차이 뿐만 아니라 그들간의 교잡정도에 따라서 역시 표현형이 다르게 나타날 수 있다고 주장하였다. 국내에서 김 등¹⁸과 김과 이¹⁹가 서울지역에서 포획한 집쥐를 대상으로 두가지 단백질과 네가지 효소를 검출하고 유전학적인 변이를 조사하였는데 transferrin과 fumarate hydratase, esterase에서 차이를 나타내어 G6PDH, PEP-B와 SOD를 제외한 6가지 효소에서 1~3가지의 다양성을 가지고 검출된 본 조사의 성적과 유사하였으나, 서울 이외의 지역에서 포획된 개체에서 적어도 한 개 이상의 LDH가 확인되어 전국적인 조사가 필요하다는 것을 알 수 있었다.

그러나 선자들의 보고는 사용했던 효소의 종류에서 본 조사와 차이를 보일 뿐만 아니라 종 분류의 측면에서만 검토되었다. 이에 이 연구에서는 본 실험에 앞서 랫트와 마우스의 주요 장기와 조직에 대해 15가지 효소 분포를 검색하여 신뢰도가 높은 효소 9가지를 찾아내어 이를 집쥐류에 적용하여 얻은 결과를 검사 개체와 포획지역간의 차이까지 다각도로 비교하였던 바 이러한 시도는 종 구分的 정확도를 높이는 것은 물론 실례적인 생태학적 이해를 도모하는 조사방법이 될 수 있으리라 본다.

실제로 최근의 보고들은 종 분류의 방법을 여러 수단을 모아 종합적으로추구함으로써 신뢰도를 높이고자 애쓰고 있다. 그 예로서는 Davidian 등¹⁶이 남유럽의 여러지역에서 포획한 4종의 등줄쥐 염색체 분석, 외형 및 종 분류의 수단으로서 이용한 조직내 효소들의 종과 지역간의 차이 비교를 들 수 있다. 이런 선자의 보고는 멕시코 북부를 제외한 지역에서 포획한 가시주머니 생쥐 *Liomys pictus*에 대한 효소분석법에 의한 지역별, 종별 유전학적인 차이를 기술한 Roger 등²³에 의하여 확인받고 있다. 하지만 지금까지 선인들의 연구를 종합해 보면 형태학적인 비교로써 종의 구분된 집쥐류들을 조직내 효소의 다양성을 통한 유전학적인 차이까지 조사한 바는 없다. 본 연구에서 나타난 집쥐류의 지역이나 종간의 유전학적인 차이 역시 비록 실험방법에서 차이를 보이지만 서울지역에 한정하여 포획한 집쥐로부터 효소나 단백질의 다양성을 기술한 Kim 등¹⁸의 보고를 통하여 확인할 수 있었다. 또한 국내에서는 전국을 대상으로 포획된 집쥐류의 조직내 효소를 이용한 분류학적인 조사는 전혀 이루어진 바 없어서 이 연구는 새로운 시도라고 할 수 있다.

특히 예비실험을 통하여 SD랫트와 ICR 마우스의 비장, 신장, 심장, 간장, 근육내 효소분포와 농도를 확인하

여 최종적으로 간장을 가장 조직내 효소분석에 알맞은 장기로 선발하였는데 이는 간장은 다른 기관에서 검출되는 각종 효소들을 포함하고 있기 때문이다¹⁰.

최근 Koh⁹는 형태학적 비교와 염색체 분석으로 집쥐와 곰쥐를 구분키위해 이들의 미토콘드리아내 핵산을 8가지 제한효소로 처리하여 절단한 다음 표현형을 비교한 바 두 종간에 6.7%의 유전학적인 차이와 동일 종간의 차이를 보고한 바 있다. 이러한 결과는 곰쥐간에 0.2%에서 9.6%, 집쥐간에는 0.2%에서 1.8%의 유전학적인 차이를 기술한 Brown과 Simpson⁸의 견해와 유사하였다. 이 실험에서도 효소분석에 의한 집쥐와 곰쥐사이에 뚜렷한 유전학적인 차이(0.581)를 보여서 형태학적인 관찰의 결과를 뒷받침해주고 있다. 또한 이 방법은 광범위한 개체수의 분석이 어렵고 많은 시간과 비용이 드는 미토콘드리아내 핵산분석법에 비해 간편성과 경제성에서 대응할 만한 유용한 종 분류법으로 판단된다.

결론

서울, 경기(인천, 평택, 강화), 강원(속초, 철원), 영남(진해, 강구) 그리고 호남지역(군산)에서 포획되어 형태학적으로 종이 분류된 70마리의 집쥐류 가운데 죽은 상태로 포획된 집쥐류를 제외하고 생포된 58마리 집쥐와 두 마리 곰쥐에 대하여 간장에서 9가지 효소들(G6PDH, ADA, PEA-A, PEP-B, SOD, AAT, LDH, MDH, PNP)의 분석을 통해 야생 집쥐류의 유전학적 차이를 조사하였다.

집쥐에서 6개, 곰쥐에서 2개의 표현형이 관찰되었고, locus의 평균 유전학적 다양성은 0.15로 나타났다. 조직내 효소를 전기영동하여 개체 및 포획지역에 따른 유전학적인 차이를 비교했던 바, 곰쥐와 집쥐는 0.581의 유전학적인 차이로 분명히 구분되었으며, 경기(강화)와 강원 지역(철원)에서 포획된 곰쥐가 0.375의 유전학적인 차이를 보이고, 포획지역별 집쥐간에 0.111에서 0.230의 차이가 보였다. 각 지역에서 포획된 집쥐류의 유전학적인 차이는 0.111에서 0.750으로 상대적인 차이가 인정되었다.

참고 문헌

1. Kuroda N. Korean mammals preserved in the collection of Marquis yamashina. *J. Mamm*, 15:229-239, 1934.

2. Jones JK, Johnson DH. Synopsis of the lagomorphs and rodents of Korea. *University of Kansas Publs, Mus Nat Hist*, 16:357-407, 1965.
3. Woon PH. Illustrated encyclopedia of fauna and flora of Korean mammals. Samhwa, Seoul, 1967.
4. Kral B. Chromosome characteristics of certain murine rodents(Muridae) of the asiatic part of the USSR. *Zool Listy*, 20:331~347, 1971.
5. Corbet GB. The mammals of the palaeartic region : a taxonomic review. British Museum(Natural History), Cornell University Press, London, 1978.
6. Nadachowski A. On a collection of small mammals from the People's Democratic Republic of Korea. *Acta Zool Cracov*, 27:47~60, 1984.
7. Zhuge Y, Jiang S, Zheng A, et al. Geographical ecology of mammals and birds on the islands of Zhejiang province. Contemporary mammalogy in China and Japan. *Mammalogical Society of Japan*. 39-42:1985.
8. Brown GC, Simpson MV. Intra- and interspecific variation of the mitochondrial genome in *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus* : restriction enzyme analysis of variant mitochondrial, DNA molecules and their evolutionary relationships. *Genetics*, 97:125-143, 1981.
9. Koh HS. Systematic studies on Korean rodents : VI. analyses of morphometric characters, chromosomal karyotypes and mitochondrial DNA in two species of genus *Rattus*. *Korean J Syst Zool*, 8:231-242:1992.
10. Hunter RL, Markert CL. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science*, 125:1294-1295:1957.
11. Markert CL, Møller F. Multiple forms of enzymes : tissue, ontogenetic, and species specific patterns. *Proc Natl Acad Sci USA*, 45:753-763, 1959.
12. Markert CL. The molecular basis for isozymes. *Annal New York Acad Sci*, 151:14-40, 1969.
13. Simonsen V. Electrophoretic studies on the blood proteins of domestic dogs and other canidae. *Hereditas*, 82:7-18, 1976.
14. Yamada J, Nikaido H, Kondo Y. Genetic studies RBC catalase in the rat(*Rattus norvegicus*). *Jpn J Genet*, 56: 447-455, 1981.
15. Kimura M, Yamamoto S. Electrophoretic variations of proteins in the tree sparrow, *Passer montanus*. *Ani Blood Groups Biochem Gen*, 14:59-61, 1983.
16. Davidian JB, Vahdati M, Benmehdi F. Genetic differentiation in four species of *Apodemus* from southern Europe. *A sylvaticus*, *A flavicollis*, *A agrarius* and *A mystacinus*(Muridae, Rodentia). *Z Säugetierkd*, 56: 25-33, 1991.
17. Petras ML, Martin JE. Improved electrophoretic resolution of some hemoglobin variants in *Mus Musculus*. *Bioche Genet*, 3:303-309:1969.
18. 김남근, 이하규, 이정주. 한국산 야생집쥐(*Rattus norvegicus*) 집단들의 단백질 다형과 유전적 변이. *Korean J Zool*, 36:193-199, 1993.
19. 김남근, 이정주. 한국(서울) 야생집쥐(*Rattus norvegicus*) 집단의 Es-2, Tf 및 Alb 다형. *Korean J Genetics*, 11:129-135, 1989.
20. Pasteur N, Pasteur G, Bonhomme F, et al. Practical isozyme genetics. Ellis Horwood Limited. England, 1988.
21. Murphy RW, Sites JW, Buth DG, et al. Molecular systematics : protein I : isozyme electrophoresis. Sinauer Associates, Inc. USA. 19:45-126, 1990.
22. Burr EJ. Cluster sorting with mixed character types II. *Fusion Strategies Aust Comp J*, 2:98-103, 1090.
23. Rogers DS, Engstrom MD. Genetic differentiation in spiny pocket mice of the *Liomys pictus* species-group (family Heteromyidae). *Can J Zool*, 70:1912-1919, 1992.