

Metabolic Adjustment of Lactate Dehydrogenase Isozymes to a Change in Dissolved Oxygen in Bluegill (*Lepomis macrochirus*)

Bora Ku¹, Sung Kyu Cho^{2*} and Jung Joo Yum³

¹Division of Vectors & Parasitic Diseases, Korea Disease Control and Prevention Agency, Cheongju 28159, Korea

²Department of Premedicine, Eulji University, Daejeon 34824, Korea

³Department of Life Science, Cheongju University, Cheongju 28503, Korea

Received August 25, 2021 / Revised November 28, 2021 / Accepted December 8, 2021

The aim of this study was to examine the metabolic adjustment of lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27, LDH) isozymes to a change in dissolved oxygen (DO) in bluegill (*Lepomis macrochirus*). After bluegills were adapted to a constant environment in an aquarium, the DO was changed to investigate the activity of LDH isozyme and the relative ratio of subunits A, B, and C for each tissue. When the DO was decreased from 18 ppm to 6 ppm, LDH in skeletal muscle, heart, and brain tissues recovered to the level of control activity within 12, 12, and 6 hr, respectively. LDH activity changed in accordance with a change in DO. The compensation was performed rapidly and is thought to be an important function of LDH in enabling bluegills to adapt to their environment. In bluegill heart, eye, and brain tissues, the relative ratio of subunit A increased and showed a tendency to recover similarly to the subunit ratio of control groups up to 12 hr. It is thought that the anaerobic metabolism using subunit A was increased in the initial stage when DO was changed. In addition, the results revealed that subunit C was more similar to subunit A than subunit B. In bluegills, subunits A and C of LDH seem to be evolutionarily similar. LDH isozymes, mainly containing subunits A and C, are likely responsible for the function of pyruvate reductase, which plays a role in making the bluegill adapt to a hypoxic environment through anaerobic metabolism.

Key words : Bluegill, DO, isozyme, lactate dehydrogenase, LDH subunit

서 론

어류는 다른 동물에 비하여 다양한 환경에 서식하고 있는 동물로서 생리적 기능 및 대사효율은 주변 환경요인에 직접적으로 영향을 받고 있다[17]. 그러므로 어류는 환경요인들에 대한 생리학적연구에 있어서 좋은 대상이다. 환경요인들 중 용존산소량(DO)은 수생환경에서 중요한 요인이다[8]. 생명체는 저산소 조건에서 에너지 대사를 감소시키거나 혐기적 해당과정으로 ATP를 생성하여 산소유용성에 따라 호기적, 혐기적 대사의 비율을 조절한다고 알려져 있다[9, 19, 21].

혐기적 해당과정의 마지막 단계에서 기능하는 젖산탈수소효소(EC 1.1.1.27, lactate dehydrogenase, LDH)는 피루브산과 젖산의 상호전환반응을 촉매하며[10], 독립적인 세 유전자 *Ldh-A, B, C*에 의하여 만들어지는 하부단위체 A, B 및 C로 구성된 사량체 동위효소이다[15]. 그 중 LDH A₄ 동위효소는

혐기적 대사가 우세한 골격근 같은 조직에서 주로 발현되어 pyruvate reductase로서 작용하고 LDH B₄ 동위효소는 호기적 대사가 우세한 심장 같은 조직에서 주로 발현되어 lactate oxidase로 작용한다[4, 14, 16, 20, 25]. 농어목 어류의 눈 조직에서 주로 발현되는 eye-specific LDH C₄ 동위효소는 광수용기 세포에서 광색소 재생성에 필요한 NAD⁺를 생성한다고 보고되었다[18, 23, 24]. 따라서 LDH 동위효소들은 혐기적인 조건과 호기적인 조건에서 각기 다른 대사상의 특성을 보여주고 있으므로 LDH 동위효소들의 연구는 대사 생리학적 수준에서 환경요인에 대한 적응양상을 밝히는 좋은 수단이 되어 왔다[1, 2, 26].

실험에 사용된 파랑볼우럭은 북미가 원산지인 1969년 우리나라에 도입된 후 담수생태계에 많은 피해를 주고 있는 외래종으로 LDH A₄, B₄ 및 eye-specific LDH C₄ 동위효소가 모두 나타난다[11, 13]. 본 연구는 파랑볼우럭이 서식환경의 DO변화에 적응하는 과정에서 LDH 동위효소들에 의한 대사조절을 어떻게 하고 있는지 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

농어목 검정우럭과 파랑볼우럭(*Lepomis macrochirus*)은 10±3 cm, 0.3±0.12 kg 정도의 크기로 충청북도 진천군 덕산읍 신척

*Corresponding author

Tel : +82-42-259-1618, Fax : +82-42-259-1619

E-mail : skcho@eulji.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.

리 신척저수지에서 채집하였다. 파랑볼우럭은 차량용 기포발생기(DH-10000, Daehwa Electronic Co., Daegu, Korea)를 사용하여 살아있는 상태로 실험실로 운반하였다. 모든 실험에는 5마리(n=5)의 실험군을 사용하였고 실험과정은 청주대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: CJUIACUC - B111009)을 받아 진행하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma-Aldrich사에서 구입하였다.

실험조건

온도조절에는 온도조절기가 부착된 히터(SSE 9000, Sung Sin Co., Korea)와 냉각기(EYELA ECS-0, Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하였다. pH 조절에는 pH 상승제 및 하강제(Fritz Chem. Co., Dallas, TX, USA)를 사용하였고, 온도 및 pH 측정에는 pH 미터(HM-11P, TOA Electronics Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하였다. DO 조절은 전기기포발생기(DK-8000, Dae Kwang Co., Korea) 및 조절기가 장착된 고압 산소탱크를 사용하였고 DO 미터(DO-14P, TOA Electronics Ltd., Tokyo, Japan)로 측정하였다. 실험은 수조(90×30×45 cm) 내 온도 20±0.5°C, pH 6±0.5, DO 18 ppm 조건에서 15일간 순응시킨 후, 온도 20±0.5°C, pH 6±0.5, DO 6 ppm으로 급격히 변화시켰으며, 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 및 12시간이 경과한 후, 각 시각마다 5마리씩 도살하여 실험재료로 사용하였다. 파랑볼우럭의 먹이로는 장구벌레를 3일에 한번씩 급여하였으며 조식을 적출하기 24시간 전에 먹이 급여를 중단하였다.

조직추출액의 준비

파랑볼우럭의 골격근, 심장, 눈 및 뇌 조직을 적출한 후, 증류수로 씻어 혈액을 제거한 다음 4°C로 유지시킨 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.85)를 3배(v/w)로 첨가한 후, 얼음에 잠긴 Dounce homogenizer 및 Potter-Elvehjem homogenizer로 파쇄하여 조직 파쇄액을 얻었다. 이 파쇄액은 4°C, 20,000×g (Refrigerated centrifuge, Hanil 21R, Hanil Sci. Inc., Korea)에서 1시간 동안 2회 반복하여 원심분리한 뒤 상층액을 시료로 사용하였다.

LDH 활성의 측정 및 단백질 정량

LDH 활성은 Whitt의 방법을 변형하여 1.5 mM 피루브산과 0.14 mM NADH를 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.85) 3 ml에 시료를 첨가한 후, NADH로부터 NAD⁺로 산화되는 정도를 분광광도계(UV-160A, Shimadzu Co. Ltd., Kyoto, Japan)로 25°C, 340 nm에서 측정하였다[4, 22]. 효소활성 단위는 기질 1 μmole을 생성물로 전환시키는데 필요한 효소의 양을 1 unit로 정하였다. 단백질은 Bradford의 방법[3]에 따라 정량하였다. Coomassie brilliant blue G-250 100 mg을 85% H₃PO₄ 100 ml에 넣고 자석교반기로 세게 섞은 후 95% (v/v) 에탄올 50 ml를 첨가하고 4°C로 유지시킨 증류수로 최

종 1 l를 만들고 여과하여 사용하였다. BSA를 표준단백질로 이용하여 분광광도계로 595 nm에서 표준곡선을 얻었고 이를 기준으로 시료의 단백질함량을 정량하였다.

Native-polyacrylamide gel 전기영동

Polyacrylamide gel은 Davis의 방법[7]에 의해 7.5%T, 2.67% C separation gel과 3%T, 2.67% C stacking gel을 만들고 vertical slab gel system (SE 250, Hoefer Sci. Instr., San Francisco, CA, USA)으로 thermostatic circulator (EYELA CA-1100, Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 4°C에서 전기영동을 수행하였다. 시료에 50% (w/v) sucrose와 0.01% (w/vw) BPB를 함유하는 0.0625 M Tris-HCl buffer (pH 6.8)를 1:1(v/v)로 첨가하였고, 5 mM Tris-glycine buffer (pH 8.3)를 사용하여 100 V에서 20분간 전개시킨 후 200 V에서 2시간 10분간 전기영동 하였다. LDH 염색은 Whitt의 방법[22]에 의해

Table 1. LDH activities and protein concentrations of tissue extracts from bluegill (*L. macrochirus*)

Tissue	Time (hr)	LDH activity (units/g)	Protein (mg/g)	Specific activity (units/mg)
Skeletal muscle	0	64.6±0.9	37.2±0.3	1.74
	0.5	74.5±0.8*	56.0±0.8*	1.33
	1	107.7±1.2*	49.1±0.9*	2.19
	2	48.2±0.6*	22.2±0.4*	2.17
	4	34.3±0.3*	12.2±0.5*	2.81
	6	110.6±1.1*	78.2±0.7*	1.41
	12	68.1±0.5*	64.7±0.5*	1.05
Heart	0	47.8±0.6	33.9±0.4	1.41
	0.5	70.7±0.5*	37.3±0.8*	1.90
	1	100.8±1.0*	39.2±1.4*	2.57
	2	65.5±0.9*	32.5±1.0	2.02
	4	80.3±0.8*	32.0±1.2	2.51
	6	84.8±1.7*	30.6±0.3*	2.78
	12	45.3±1.2	20.0±0.6*	2.27
Eye	0	7.9±0.3	31.0±0.3	0.25
	0.5	7.7±0.5	21.4±0.5*	0.36
	1	7.0±0.7	20.9±0.3*	0.33
	2	7.2±0.3	26.9±0.4*	0.27
	4	5.3±0.5*	4.6±0.3*	1.15
	6	6.7±0.8	19.3±0.6*	0.35
	12	5.2±0.4*	16.4±0.5*	0.32
Brain	0	19.9±0.1	16.8±0.3	1.18
	0.5	19.3±0.1*	19.4±0.3*	0.99
	1	18.6±0.2*	20.3±0.9*	0.92
	2	13.5±0.1*	9.3±0.4*	1.45
	4	15.9±0.3*	13.7±0.5*	1.16
	6	20.0±0.3	20.7±1.2*	0.97
	12	19.1±0.1*	19.2±0.6*	0.99

Data are mean ± SD, n=5, *Significantly different from the corresponding control value (0 hr) using the Student's *t*-test, *p*<0.05.

DL-lactic acid, nitro blue tetrazolium (NBT), phenazine methosulfate (PMS) 및 NAD⁺ 혼합용액에 gel을 넣어 37°C에서 20분간 염색한 후 증류수로 염색약을 씻어주고 15% (v/v) 초산용액으로 고정시켰다. LDH 동위효소의 분석 및 확인에는 image analyzer (Viber Lourmat BIO-ID++)를 사용하였다.

통계처리

LDH 활성 및 단백질함량의 변화는 SPSS version 27 (IBM Corp., Armonk, NY, USA)을 사용하여 Student's *t*-test로 유의성을 검증(*p*<0.05)하였다.

결과 및 고찰

급격한 DO감소에 적응시킨 파랑볼우럭 조직 내 LDH 활성의 변화

파랑볼우럭을 온도 20±0.5°C, pH 6±0.5 및 DO 18 ppm 조건에서 적응시킨 후 DO 조건만 6 ppm으로 급격히 변화시킨 다음 조직들의 LDH 활성을 측정하였다(Table 1, Fig. 1). 온도 20±0.5°C, pH 6±0.5 및 DO 18 ppm 조건에서 적응된 각 조직들의 LDH활성을 대조군의 LDH 활성으로 정하여 상대적 활

성변화를 확인하였다. 골격근의 경우, 1시간과 6시간 경과 후에 LDH 활성이 각각 66%와 71% 증가하였고 12시간이 경과되었을 때, 대조군의 LDH 활성에 도달하였다. LDH 활성이 높을 때에는 단백질량도 증가하였고 활성이 낮을 때에는 단백질량도 함께 감소하였다. LDH 비활성은 1-4시간까지 증가하는 양상을 보이다 6시간 경과 후에 감소하였다. 심장의 경우 1시간과 6시간 경과 후에 LDH 활성이 각각 110%와 77% 증가되었고 12시간 경과 시 대조군의 LDH활성에 이르렀으며 LDH 비활성도 활성이 비교적 높았던 1, 6시간에 높게 나타났다. 눈 조직의 경우 시간이 경과됨에 따라 전반적으로LDH 활성이 감소하였고 단백질함량도 감소하였다. 4시간이 경과한 후에는 LDH 활성이 34% 감소되어 변화가 크게 나타났다. 뇌 조직의 경우도 눈 조직과 같이 4시간까지 대조군의 LDH활성에 비하여 활성이 감소되었고 6시간 경과 후에 대조군의 LDH 활성에 이르렀다. LDH 활성이 증가될 때 단백질도 함께 증가되었고 2시간 경과 후에 비활성이 가장 높게 나타났다.

DO를 6 ppm에서 18 ppm으로 변화시켜 적응시킨 꺾지 및 모래무지[6]와 비교하면 파랑볼우럭 눈과 뇌 조직의 LDH 활성 변화유형이 꺾지에서의 결과와 유사한 양상을 나타냈다. 파랑볼우럭 심장조직에서의 결과는 모래무지의 결과와 유사

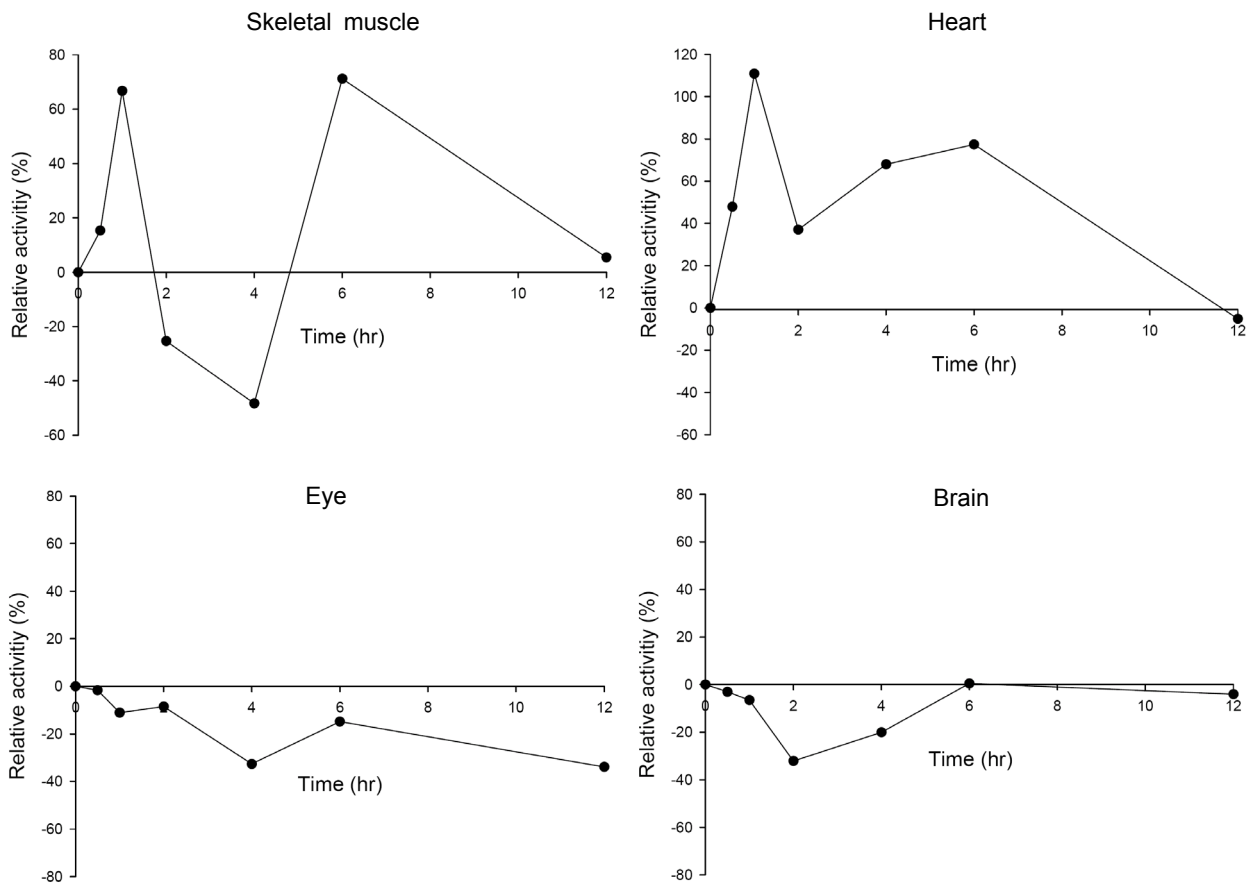


Fig. 1. Changes of relative activity (%) in LDH isozymes of tissue extracts. Fishes were acclimated to 20°C, pH 6 and DO 18 ppm. The fish was sacrificed by time after environmental condition was changed to DO 6 ppm.

하였다. 파랑볼우럭 골격근과 심장 조직의 경우, 12시간 이내에 대조군의 LDH 활성으로 회복되었고 뇌 조직은 6시간 이내

에 대조군의 LDH 활성으로 회복되었다. 적응은 다양한 환경 변화에 대한 체내의 변화를 보상하려는 생명체의 생존방식으

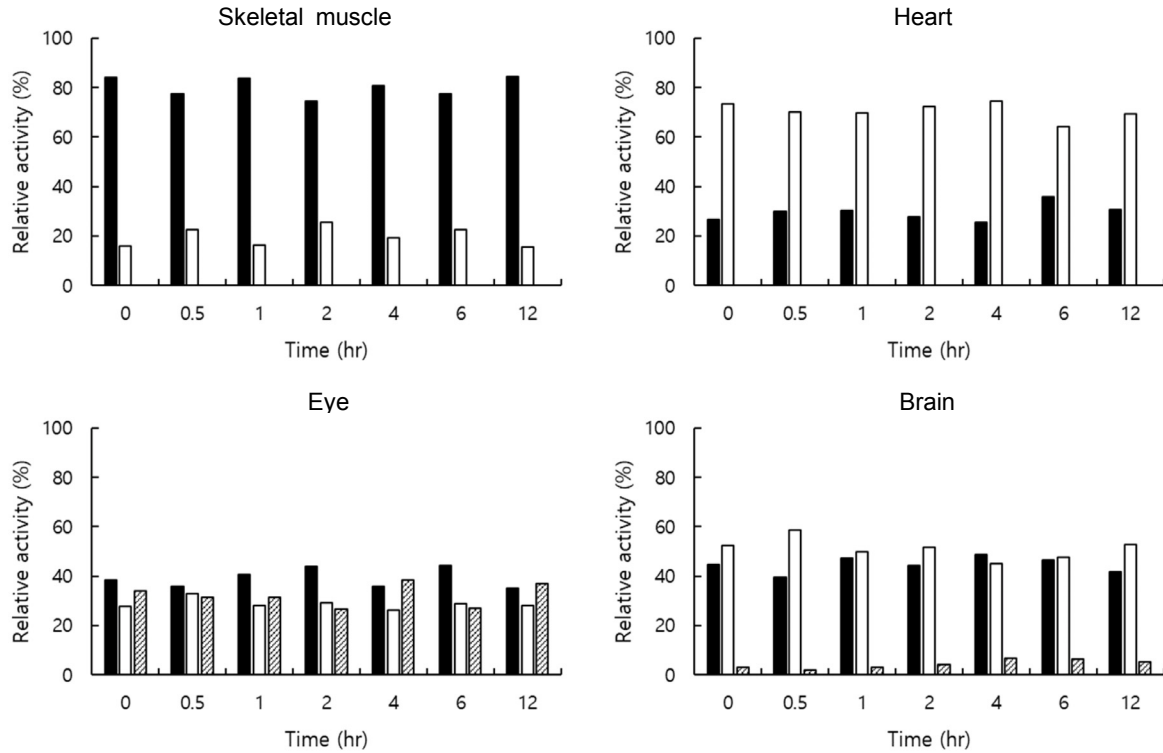


Fig. 2. Relative activity (%) of LDH subunit A (■), B (□), and C (▨) in tissue extracts. *L. macrochirus* was acclimated at 20°C, pH 6 and DO 18 ppm. The fish was sacrificed by time after environmental condition was changed to DO 6 ppm.

Table 2. Relative activities (%) of LDH isozymes in tissues of *L. macrochirus* after DO was acutely changed at 18 to 6 ppm (mean ± SD, n=5)

LDH \ Time (hr)		0	0.5	1	2	4	6	12
Skeletal Muscle	B ₄	7.5±0.7	11.7±1.2	8.3±0.9	16.2±0.8	14.0±0.5	6.6±0.3	9.9±0.4
	A ₂ B ₂	16.9±2.5	21.4±1.7	16.2±1.2	18.5±0.3	10.5±0.9	31.7±0.8	11.2±0.1
	A ₄	75.6±1.5	66.9±1.2	75.5±2.2	65.3±1.9	75.5±1.2	61.7±0.9	78.9±1.7
Heart	B ₄	56.3±1.4	53.3±1.6	50.6±1.2	57.0±1.9	55.5±1.5	48.7±0.7	52.8±1.2
	A ₂ B ₂	34.1±0.5	33.3±0.3	38.0±0.8	30.8±0.7	37.8±0.8	30.9±0.3	33.4±0.5
	A ₄	9.6±1.1	13.4±0.5	11.4±0.9	12.2±1.0	6.7±0.8	20.4±1.5	13.8±0.8
Eye	B ₄	13.8±0.8	20.6±1.6	14.5±1.5	14.7±1.8	11.7±1.1	16.3±2.5	13.6±1.8
	A ₂ B ₂	16.0±1.2	14.9±1.5	16.9±1.3	17.5±2.5	21.6±2.9	17.2±1.5	17.6±0.9
	A ₄	17.2±0.5	15.2±0.9	16.1±0.4	23.1±1.6	13.9±0.9	17.8±0.4	13.0±1.5
	A ₃ C	12.4±0.3	14.1±0.7	15.5±0.5	12.2±0.3	8.3±1.8	19.7±0.3	10.3±0.1
	B ₂ C ₂	9.4±0.7	6.8±0.3	9.0±0.2	10.2±0.3	5.9±0.9	6.2±0.7	9.8±0.3
	A ₂ C ₂	7.5±0.9	4.9±0.7	8.6±1.2	5.9±1.5	9.6±1.8	6.0±0.4	11.3±0.3
	BC ₃	5.1±0.8	5.9±1.3	2.2±1.5	3.1±2.2	2.9±0.9	2.5±0.2	2.5±0.9
	C ₄	18.7±2.5	17.6±1.5	17.2±1.8	13.2±0.4	26.2±1.5	14.2±0.8	21.9±1.2
Brain	B ₄	38.3±2.1	42.9±3.2	32±1.7	36.4±1.4	29.3±0.7	28.2±2.0	38.9±2.2
	A ₂ B ₂	28.3±1.5	31.3±1.8	35.3±1.0	30.4±2.2	27.1±1.3	32.4±1.7	24.0±0.6
	A ₄	21.5±0.9	18.3±0.3	20.2±0.2	16.8±0.5	21.3±0.8	21.1±0.9	19.5±0.3
	A ₃ C	11.9±0.9	7.5±1.4	12.5±0.2	16.4±0.6	18.3±0.4	12.1±1.1	13.8±0.8
	B ₂ C ₂	-	-	-	-	4.0±1.2	6.2±0.7	3.8±0.9

로 외온동물은 어떤 환경에 서식하여 적응하느냐에 따라 체내 대사의 변화가 다르게 나타난다[5]. DO가 변화되면 LDH 활성이 변화됨으로써 보상을 빠르게 수행하고 대조군의 LDH 활성 수준으로 다시 회복되며, 이는 환경에 적응할 때 LDH가 매우 중요한 기능을 담당하는 것이라고 할 수 있다[6, 12].

급격한 DO 감소에 적응한 파랑볼우럭의 LDH 동위효소 및 하부단위체의 변화

파랑볼우럭을 DO 18 ppm에서 6 ppm의 환경에 적응시킨 후, 시간에 따른 각 조직의 LDH 동위효소 및 LDH 하부단위체의 비율을 비교하였다(Fig. 2, Table 2). 파랑볼우럭에서 골격근 조직의 LDH 동위효소의 경우 LDH 활성이 증가되는 0.5-1 시간에 A₄ 동위효소는 증가하였고, A₂B₂와 B₄ 동위효소는 감소하였다. 4-6시간에는 LDH A₄ 동위효소와 B₄ 동위효소가 감소될 때에 A₂B₂ 동위효소는 크게 증가하였다. 하부단위체 A가 B보다 높은 비율을 나타낸 것은 격지 및 모래무지와 같았고[6] 6시간 경과 후에 하부단위체 A는 감소하였으며 12시간 경과하였을 때 하부단위체 A 및 B의 비율이 대조군의 하부단위체 비율과 유사하였다. 심장 조직의 LDH는 활성이 증가되는 0.5-1 시간에 LDH B₄ 동위효소가 대조군에 비해 감소할 때 A₄와 A₂B₂ 동위효소는 증가하였다. LDH 하부단위체 B가 A보다 높은 비율을 나타낸 것 역시 격지 및 모래무지와 같았고[6] 6시간 경과 후에 하부단위체 A는 증가하였으며, 12시간이 경과하였을 때 하부단위체 A 및 B의 상대적 비율이 대조군의 상대적 비율에 도달하는 경향이 있었다. 눈 조직은 0.5시간 경과 후에 LDH B₄ 동위효소가 증가하였으며, A₄와 C₄ 동위효소는 감소하였다. LDH 하부단위체 A, B 및 C의 상대적 비율은 다른 조직에 비하여 서로 유사하였고 변화정도는 적었다. 뇌 조직의 경우 1, 4 및 6시간 경과 후에 LDH 하부단위체 A가 증가하였고 하부단위체 C는 1시간 후부터 상대적 비율이 대조군보다 증가하였다. 파랑볼우럭의 심장, 눈 및 뇌 조직에서 LDH 하부단위체 A의 상대적 비율은 증가된 후 12시간까지 대조군과 유사하게 회복되는 경향을 보였다. 또한, 경골어류는 망막 및 뇌 같은 신경 조직에서 하부단위체 C가 발현되는데[16, 22] 파랑볼우럭도 눈과 뇌 조직에서 하부단위체 C가 발현되었고 하부단위체 A와 유사하게 증가되었다. 따라서, 파랑볼우럭의 LDH는 특성상 하부단위체 A와 C가 진화상 매우 유사한 관계를 가지고 있는 것으로 보이며 저산소 환경에서 주로 하부단위체 A와 C로 구성된 LDH 동위효소들이 혐기적 대사과정시에 저산소 환경에 적응할 수 있도록 pyruvate reductase로서의 기능을 나타내는 것으로 사료된다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Almeida-Val, V. M. F. and Val, A. L. 1993. Evolutionary trends of LDH isozymes in fishes. *Comp. Biochem. Physiol. B* **105**, 21-28.
- An, C. S., Cho, S. K. and Yum, J. J. 2010. Variation of lactate dehydrogenase isozymes in angelfish (*Pterophyllum scalare*) according to acute environmental change. *J. Life Sci.* **20**, 416-423.
- 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.
- 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. and Yum, J. J. 2004. Lactate dehydrogenase isozyme of hypoxia tropical catfish (*Pangasius polyuranodon*, *Hypostomus plecostomus*). *J. Life Sci.* **14**, 702-707.
- Cho, S. K. and Yum, J. J. 2005. Changes of activities and isozymes of lactate dehydrogenase in *Coreoperca herzi* and *Pseudogobio esocinus* acclimated to rapid increase of dissolved oxygen. *J. Life Sci.* **15**, 71-79.
- Davis, B. J. 1964. Disc electrophoresis-II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **121**, 404-427.
- Di Giulio, R. T., Washburn, P. C., Wenning, R. J., Winston, G. W. and Jewell, C. S. 1989. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.* **8**, 1103-1123.
- Hochachka, P. W., Land, S. C. and Buck, L. T. 1997. Oxygen sensing and signal transduction in metabolic defense against hypoxia: lessons from vertebrate facultative anaerobes. *Comp. Biochem. Physiol.* **118A**, 23-29.
- 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 ed., Vol. XI. Academic Press Inc., New York.
- Kim, I. S. and Kang, E. J. 1993. *Coloured Fishes of Korea*. 477pp., Academy Publishing Co., Korea.
- Kim, J. B. and Yum, J. J. 1997. Acclimation of lactate dehydrogenase in *Silurus asotus* to acute environmental variation. *J. Ind. Sci. Cheongju Univ. Korea* **15**, 381-388.
- Ku, B., Cho, S. K. and Yum, J. J. 2016. Metabolic adjustments of lactate dehydrogenase isozymes to the environmental temperature in bluegill (*Lepomis macrochirus*). *J. Life Sci.* **26**, 1105-1112.
- Markert, C. L. 1984. Biochemistry and function of lactate dehydrogenase. *Cell Biochem. Funct.* **2**, 131-134.
- 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.
- Park, S. Y. and Yum, J. J. 1993. Lactate dehydrogenase isozymes of cypriniform and perciform fishes: expression of

- the *Ldh-C* gene. *J. Ind. Sci. Cheongju Univ. Korea* **11**, 265-277.
17. Park, S. Y. and Yum, J. J. 1995. Acclimation of lactate dehydrogenase isozymes in *Coreoperca herzi* by environmental variation. *Kor. J. Environ. Biol.* **13**, 121-130.
 18. Quattro, J. M., Woods, H. A. and Powers, D. A. 1993. Sequence analysis of teleost retina-specific lactate dehydrogenase C: evolutionary implications for the vertebrate lactate dehydrogenase gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **90**, 242-246.
 19. Rees, B. B., Sudradjat, F. A. and Love, J. W. 2001. Acclimation to hypoxia increases survival time of zebrafish, *Danio rerio*, during lethal hypoxia. *J. Exp. Zool.* **289**, 266-272.
 20. Val, A. L. and de Almeida-Val, V. M. F. 1995. *Fishes of the Amazon and Their Environment*. pp. 55-56, Springer-Verlag, Berlin.
 21. Virani, N. A. and Rees, B. B. 2000. Oxygen consumption, blood lactate and inter-individual variation in the gulf killifish, *Fundulus grandis*, during hypoxia and recovery. *Comp. Biochem. Physiol.* **126A**, 397-405.
 22. Whitt, G. S. 1970. Developmental genetics of the lactate dehydrogenase isozymes of fish. *J. Exp. Zool.* **175**, 1-35.
 23. Whitt, G. S. and Booth, G. M. 1970. Localization of lactate dehydrogenase activity in the cells of the fish (*Xiphophorus helleri*) eye. *J. Exp. Zool.* **174**, 215-224.
 24. Whitt, G. S., Shaklee, J. B. and Markert, C. L. 1975. Evolution of lactate dehydrogenase isozymes in fishes, pp. 381-400. In: Markert, C. L. (ed.), *Isozymes: Genetics and Evolution*, Vol. IV. Academic Press, N.Y.
 25. Yum, J. J. 2017. Metabolic adjustment of lactate dehydrogenase isozymes in tissues from *Rana dybowskii*. *J. Ind. Sci. Cheongju Univ. Korea* **34**, 21-29.
 26. 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.

초록 : 파랑볼우럭(*Lepomis macrochirus*)에서 용존산소량의 변화에 대한 젓산탈수소효소 동위효소들의 대사조절

구보라¹ · 조성규^{2*} · 염정주³

(¹질병관리청 매개체분석과, ²을지대학교 의예과, ³청주대학교 생명과학과)

본 연구의 목적은 파랑볼우럭(*Lepomis macrochirus*)에서 용존산소량(DO)을 급격하게 변화시켰을 때 젓산탈수소효소(EC 1.1.1.27, Lactate dehydrogenase, LDH) 동위효소들의 대사조절을 확인하는 것이다. 파랑볼우럭을 수조 내에서 일정한 환경에 적응시킨 후 DO를 변화시켜 조직별 LDH 동위효소의 활성 및 하부단위체 A, B, C의 상대적 비율을 조사하였다. DO를 18 ppm에서 6 ppm으로 감소시켰을 때에 파랑볼우럭 골격근, 심장 및 뇌 조직의 LDH는 각각 12, 12 및 6시간 이내에 대조군의 활성으로 회복되었다. DO가 변화되면 LDH 활성이 변화됨으로써 보상을 빠르게 수행하였고 이는 환경변화에 적응할 때에 LDH가 중요한 기능을 담당하는 것으로 생각된다. 파랑볼우럭의 심장, 눈 및 뇌 조직에서는 하부단위체 A의 상대적 비율이 증가된 후 12시간까지 대조군의 하부단위체 비율과 유사하게 회복되는 경향을 보였다. 이는 DO가 변화된 초기에 하부단위체 A를 이용한 혐기적 대사가 증가된 것으로 생각된다. 또한 하부단위체 C는 하부단위체 B보다 A와 유사하다는 결과를 얻었다. 파랑볼우럭의 LDH는 하부단위체 A와 C가 진화상 유사한 것으로 보이며, 주로 하부단위체 A와 C를 포함하는 LDH 동위효소들이 혐기적 대사를 통하여 저산소 환경에 적응할 수 있도록 pyruvate reductase의 기능을 담당하는 것으로 사료된다.