

토끼의 각 조직에 있어서 C¹⁴-포도당의 산화 대사 경로의 비교에 관한 실험

The Glucose Catabolic Pathways in the Various Tissues of the Rabbits

서울대학교 의과대학 생리학교실

<지도 南 基 鏞 교 수>
李 相 敦 조교수>

林 淳 朝

생체의 가장 중요한 에너지원으로서 포도당의 중간 대사 과정에 관한 실험은 1930년 이래 Embden¹⁾의 phosphoglycolic acid의 발견으로 천명된 포도당의 무기성 대사와 Krebs²⁾등이 주장한 TCA cycle을 거치는 유기성 산화대사로 구분되어 많은 실험이 거듭되므로써 현재와 같이 Embden Meyerhoff pathway(EMP) 및 tricarboxylic cycle(TCA)과 같은 포도당의 해당 경로에 관한 중간 대사과정이 확고히 체계화 되었다. Warburg Lipman 및 Dickens³⁾ 등이 포도당의 산화과정에 있어서 6-phosphogluconate를 통한 다른 산화경로를 발견 하였음에도 불구하고 생체에 있어서 포도당의 탄산가스의 완전 산화과정은 EMP-TCA 경로가 중심적인 역할을 한다고 믿어져 왔다. 그러나 포도당의 산화 대사는 EMP-TCA 경로 이외에도 Warburg, Lipman 및 Dickens의 hexose monophosphate pathway(HMP)를 비롯해서 여러 다른 산화경로가 있음이 미생물에서 발견되었다. 즉 Gansalus⁴⁾등은 leuconostoc mesenteroides에서 포도당 1분자는 1분자의 탄산가스, lactate 및 alcohol로 분해됨을 보았고 이때 유리되는 탄산가스는 포도당의 C-1에서 유래함을 Horecker⁵⁾ 등이 증명하였다. 그외에 Gibbs⁶⁾ 등은 pseudomonas lindneri의 C¹⁴-포도당 발효 실험에서 CO₂는 포도당의 C-1 및 C-4에서 유리되고 나머지 탄소는 2분자의 알콜로 분해됨을 발견한바 있고 Wood⁷⁾ 등도 이와 같은 포도당 대사 경로에 관하여 다른 미생물을 이용하여 검토한바 있다. 여러 종류의 이상과 같은 미생물에 있어서 포도당의 탄산가스로의 분해 경로가 발견됨에 따라 생체 조직에 있어서도 포도당의 기본적 산화 경로인 EMP-TCA 경로 이외의 다른 대사 경로에 관하여 주의를 환기하게 되었다. 특히 근래에 와서 Bloom⁸⁾ 등이 간장 절편에서 C¹⁴-포도당 및 젖산을 이용하여 포도당의 산화 경로를 검토한 결과 EMP-TCA 경로에 의거한 탄산가스는 20

% 내외에 불과하여 대부분의 탄산가스는 다른 경로를 밟아 산출되었음이 밝혀진 이래 생체 조직에 있어서 EMP-TCA 경로 이외의 HMP와 같은 다른 포도당 산화 경로에 대한 중요성을 주장하게 되었다. Stetten 및 Stetten⁹⁾은 흰쥐에서 주입한 gluconic acid의 상당한 양이 호흡 탄산가스로 산화됨과 동시에 포도당으로 일부 환원됨을 관찰하였고 그후 gluconate에서 유래한 탄산가스는 C-1의 decarboxylation으로 유리됨을 증명하였다¹⁰⁾. 이러한 사실로 보아 Warburg-Lipman-Dickens의 HMP 경로가 생체의 포도당 산화 대사에 있어서 EMP-TCA 경로 이상으로 중요한 위치를 차지함을 보였다. 본실험은 생체 각 조직의 포도당 산화 과정의 대사경로를 비교 관찰하기 위하여 C¹⁴-U-glucose, C¹⁴-1-glucose 및 C¹⁴-표지 젖산을 토끼의 간장, 콩팥 및 대뇌조직의 균등액(homogenate)과 배양(incubation)하였을 때 발생하는 C¹⁴O₂를 측정하여 Bloom⁹⁾ 등의 방법으로 포도당이 EMP-TCA 경로를 밟아 산화된 분율을 산출하여 각조직의 포도당의 산화대사 경로를 비교 관찰한 것이다.

실험 방법

1. 실험재료

토끼 24 마리를 3군으로 나누어 제 1군은 간장실험, 제 2군은 콩팥실험, 제 3군은 대뇌조직실험에 사용하였다. 각군에 있어서 각 실험마다 같은 개체에서 적출한 조직을 5등분 하여 5소군 a,b,c,d, 및 e소군으로 나누어 각 소군의 균등액(homogenate)은 서로 다른 동위원소 기질을 함유하는 Krebs-Ringer-phosphate 용액에 동시에 배양하였다. 각 소군의 균등액은 1~2 gm의 조직을 사용하여 5소군 단위로 실험하였다.

2. 배양 용매(incubation medium)

Table 1. Composition of incubation medium.

a Subgroup	b Subgroup	c Subgroup	d Subgroup	e Subgroup	Amount
glucose-U-C ¹⁴	glucose-1-C ¹⁴	glucose	glucose	glucose	100 μM
gluconate	gluconate	gluconate	gluconate	gluconate	50 μM
lactate	lactate	lactate-1-C ¹⁴	lactate-2-C ¹⁴	lactate-3-C ¹⁴	50 μM
Na-acetate	Na-acetate	Na-actate	Na-acetate	Na-acetate	50 μM
K-R-P	K-R-P	K-R-P	K-R-P	K-R-P	10 cc

각 소균의 배양 용매는 제 1 표와 같이 10 cc의 Krebs-Ringer-phosphate 완충용액에 기질로서 포도당 100μM 를 넣고 포도당의 중간 대사물질인 Na-lactate 및 Na-acetate 와 HMP 대사 과정의 중간 대사물질인 gluconate 를 각각 50 μM 씩 넣어 각 소균 균등액의 기질의 종류와 농도를 일정하게 유지하였다. 다만 a 소균 에서는 포도당 대신 C¹⁴-U-glucose, b 소균에서는 C¹⁴-1-glucose 를 넣고 c 소균에서는 Na-lactate 대신 C¹⁴-1-lactate, d 소균에서는 C¹⁴-2-lactate, e 소균에서는 C¹⁴-3-lactate 로 대체하여 각소균의 C¹⁴-표지 동위원소 기질을 달리하게 하였다. 각 소균의 배양 용매 내의 방사능(radioactivities) 혹은 동위원소 기질의 총계수(total counts)는 a 소균에서 6,975 cpm, b 소균에서 24,875 cpm, c 소균에서 16,800 cpm, d 소균에서 14,130 cpm e 소균에서 8,460 cpm 을 유지하였다.

3. 실험조건

각균에 있어서 매 실험마다 토기에서 적출한 동일 조직을 1~2 gm 씩 정확히 5 등분하여 전술한 배양 용매와 같이 균등액으로 만들어 각소균의 균등용액은 각각 50 cc 주사기에 산소와 함께 밀폐하여 38°C 항온조 내에 넣고 매분 60 회 정도의 좌우 진탕을 하면서 2 시간 동안 배양하였다. 배양 직후 각 소균의 주사기를 음압을 유지시킨 CO₂ 이동관¹¹⁾에 연결하여 주사기 내의 균등액과 가스를 CO₂ 이동관 내에 옮겼다. 다음에 조직 균등액에서 유리된 C¹⁴O₂ 의 흡수를 완전히 하기 위하여 CO₂ 이동관 내의 중심관에 CO₂ 흡수제 (CO₂ free 2 N NaOH)를 넣고 CO₂ 이동관을 2 시간 이상 진탕하였다. CO₂ 이동관 내에는 CO₂ 흡수제 이외에 균등액의 산화 과정을 중지함과 동시에 균등액 내에 용해되어 있는 CO₂를 유리하기 위하여 0.5 cc 의 농염산을 미리 넣어 두었다. CO₂ 이동관 진탕이 끝난 다음 이동관 내의 중심관에서 alkaline carbonate 상태로 흡수된 C¹⁴O₂ 를 채취하여 각 소균에서 유리된 호흡 CO₂ 내의 총계수(total counts)를 측정하여 비교 관찰하였다.

4. 방사능 측정법

각소균의 배양 용매 내의 방사능 측정은 각 배양 용매의 동위원소 저장액(1μc/cc) 1 cc 를 20 mg 내외의 비 방사능 기질과 함께 Van Slyke-Folch¹²⁾ 방법으로 총

CO₂로 분해한 다음 이를 알칼리로 흡수시켜 얻은 alkaline carbonate 를 다시 BaCl₂ 와 혼합하여 Whatman No. 542 여과지 위에 BaCO₃ 로 침전하여 Geiger-Müller counter 로 계측하였다. 각 소균에서 유리된 C¹⁴O₂의 방사능도 CO₂ 이동관내 중심관에 흡수된 alkaline carbonate 를 위와 같이 직접 BaCO₃로 침전시켜 총계수를 Geiger-Müller counter 로 계측하였다. 이때 측정 한 값은 모두 BaCO₃ 의 자가 흡수 (selfabsorption)에 대한 교정을 하였다. 각 소균의 C¹⁴O₂의 총방사능의 측정값은 용매 동위원소 기질의 방사능에 차이가 있으므로 이를 통일하기 위하여 용매방사능의 총계수 10,000 cpm 이라고 가정하였을 때 C¹⁴O₂의 총계수로 환산한값을 사용하였다.

5. 포도당의 각 대사 경로 분률의 산출원리

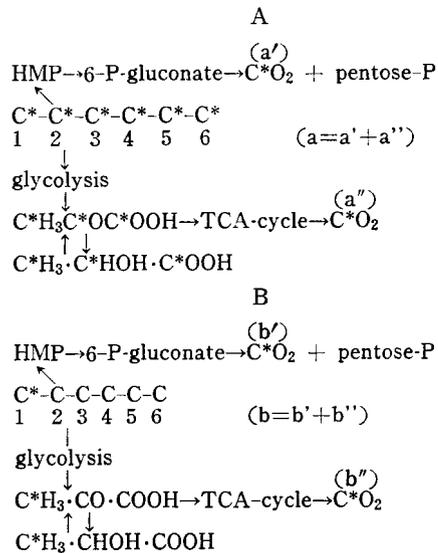


Fig 1. C¹⁴-U--glucose (A) 및 C¹⁴-1-glucose (B) 가 HMP 및 EMP-TCA 경로를 밟아 C¹⁴O₂로 분해되는 과정(C*는 C¹⁴표지탄소를 표시함)

각 소균에서 발생한 C¹⁴O₂를 기준으로 하여 포도당 산화 과정에 있어서 HMP 및 EMP-TCA 경로가 관여하는 분률 (fraction) 의 계산 원리³⁾는 다음과 같았다. a 소균에서 유리된 C¹⁴O₂ (a)는 그림 1의 A에서 보는 바와 같이 C¹⁴-U-glucose 가 HMP 경로를 밟아 6-P-glu-

conate 를 거쳐서 포도당의 C-1 탄소에서 유래하는 C¹⁴O₂ (a')와 EMP-TCA 경로를 밟아 포도당 각탄소에서 유래하는 C¹⁴O₂ (a'')가 합친것이므로

$$a = a' + a'' \dots \textcircled{1}$$

로 표시할 수 있다.

b 소군에서 유리된 C¹⁴O₂ (b) 도 a 소군에서와 같이 양경로를 거쳐서 발생한 것 (그림의 B) 이므로

$$b = b' + b'' \dots \textcircled{2}$$

로 표시한다.

HMP 및 EMP-TCA 양경로를 밟아 용매 포도당의 C-1에서 유래하는 CO₂ 생산물을 m μM 라 하고 그중에서 EMP-TCA 경로를 밟아 형성된 CO₂의 분율을 E라고 하면 HMP를 거쳐 형성된 CO₂의 분율은 1-E가 된다. 따라서 포도당의 C-1이 EMP-TCA 경로에 의거하여 발생한 CO₂ 생산물은 mE가 되고 HMP로 인한 포도당의 C-1에서의 CO₂ 발생물은 m(1-E)가 된다.

만약에 각 소군의 배양 실험에 있어서 C¹⁴-표지 동위원소 기질의 방사능이 총계수 10,000 cpm 라고 하면 a 소군 즉 C¹⁴-U-glucose 배양실험에 있어서 용매 포도당의 C-1의 방사능은 총계수 $\frac{10,000}{6}$ cpm 이 되고 b 소군 즉 C¹⁴-1-glucose의 배양 실험에 있어서 용매 포도당의 C-1의 방사능은 10,000 cpm 이 되며 EMP-TCA 이의 경로에 의거하여 생산되는 CO₂는 포도당의 C-1에서 유리된다고 가정하면 a 소군에서 발생한 C¹⁴O₂(a)는

$$a = a' + a'' = \frac{10,000}{6}m(1-E) + \frac{10,000}{6}X \dots \textcircled{3}$$

③ 식의 X는 EMP-TCA 경로에 의거한 포도당의 모든 탄소에서 유리된 CO₂의 발생물을 표시한다. 일방 b 소군에서 발생하는 C¹⁴O₂의 방사능 b는

$$b = b' + b'' = 10,000(1-E)m + 10,000mE \dots \textcircled{4}$$

로 표시된다.

③ 식의 X는 직접 산출할 수 없기 때문에 다음과 같이 EMP-TCA 경로의 중간 대사물질인 C¹⁴-표지 lactate를 이용하여 간접적으로 결정한다. 즉 포도당의 해당 경로에 있어서 1분자의 포도당은 2분자의 pyruvate 혹은 lactate로 분해되며 분해된 3탄 화합물의 1,2 및 3번 탄소는 포도당의 3과 4번, 2와 5번 및 1과 6번 탄소와 각각 일치되므로 $\frac{X}{2}$ 는 C¹⁴-1-lactate, C¹⁴-2-lactate, 및 C¹⁴-3-lactate에서 유리되는 C¹⁴O₂의 방사능의 총화에 비례하며 포도당의 C-1은 lactate의 C-3과 일치하고 EMP-TCA 경로에 의거한 포도당의 C-1에서 유리되는 CO₂ 발생물 mE는 e 소군에 있어서 C¹⁴-3-lactate에서 유리되는 C¹⁴O₂의 방사능에 비례하는 고로 다음과 같은 등식을 만들 수 있다.

$$\frac{X}{2mE} = \frac{c+d+e}{e} \dots \textcircled{5}$$

⑤식의 c는 C¹⁴-1-lactate, d는 C¹⁴-2-lactate e는 C¹⁴-3-lactate에서 유리된 C¹⁴O₂의 방사능의 총계수를 표시한다. 즉 c, d, 및 e 소군에서 측정된 C¹⁴O₂의 방사능을 말한다. ⑤식에서 X는 다음과 같이 구하고

$$X = \left(\frac{c+d+e}{e} \right) 2mE \dots \textcircled{6}$$

(6) 식을, (3)식에 대입하면

$$a = \frac{10,000}{6}m(1-E) + \frac{10,000}{6} \left(\frac{c+d+e}{e} \right) 2mE \dots \textcircled{7}$$

⑦ 식과 (4)식의 비를 구하면

$$\frac{a}{b} = \frac{\frac{10,000}{6}(1-E) + \frac{10,000}{6} \left(\frac{c+d+e}{e} \right) 2E}{10,000(1-E) + 10,000E} \\ = \frac{1-E}{6} + \frac{c+d+e}{3e} E \dots \textcircled{8}$$

⑧ 식에서 보는바와 같이 EMP-TCA 경로를 밟아 생산된 CO₂의 분율은 a, b, c, d 및 e 소군에서 측정된 C¹⁴O₂의 방사능의 함수가 되므로 쉽게 산출하게 된다.

실험 성적

토끼 8마리의 간장조직(제1군)의 각 소군을 10,000 cpm의 방사능을 유지하는 C¹⁴-U-glucose, C¹⁴-1-glucose, C¹⁴-1-lactate, C¹⁴-2-lactate, 및 C¹⁴-3-lactate 용매에 배양 하였을 때 이들 기질의 산화과정에 있어서 발생한 호흡 C¹⁴O₂에 관한 실험 성적을 제 2 표에 종합하였다.

a 소군의 C¹⁴O₂의 방사능의 총계수는 평균 110 cpm, b 소군에서는 202 cpm의 값을 얻었고 relative specific activity(RSA)를 보려는 용매 방사능의 1.1%가 a 소군에서 2.02%가 b 소군에서 각각 호흡 C¹⁴O₂로 실험기 간중 산출되었으며 간장조직에서는 C¹⁴-1-glucose에서 발생한 C¹⁴O₂가 C¹⁴-U-glucose의 그것보다 언제나크고 후자에서 발생한 C¹⁴O₂는 전자의 54%에 불과하였다. c, d, 및 e 소군의 C¹⁴-lactate 배양 실험에 있어서 각 소군의 C¹⁴O₂의 방사능의 총계수는 c군에서 696 cpm, d 소군에서 261 cpm, e 소군에서 322 pm의 값을 보였으므로 RSA는 a 소군에서 6.99%, b 소군에서 2.61%, c 소군에서 3.22%가 된다. 이들 값들은 C¹⁴-포도당 배양 소군보다 모두 높은 값을 보였다. lactate의 각 탄소의 호흡 CO₂로의 산화율을 비교 하면 d, e 소군에서 보는 바와 같이 lactate의 α 및 β 탄소에서 기인된 CO₂ 발생물은 별차이가 없었으나 lactate의 C-1 즉 carboxyl 탄소에서 기인된 CO₂ 발생물은 α 탄소에서 기인된 것보다 2.68배(c/d), β탄소에서 기인된 것보다 2.17배(c/e) 가량 높은 값을 보였다. 이상 5소군에서 얻은 C¹⁴O₂의 방사능의 총계수를 공식 8에 대입하여 토끼의 간장조직의 포도당 산화 과정에 있어서 EMP-TCA 경로가 관여하는 분율을 계산한 결과 평균 31.8%의 값을 얻었다. 간장조직에서는 포도당에서 유리된 CO₂의 2/3 이상이 EMP-TCA 이외의 경로를 밟아 산화되었음을 보였다. 제 2군에서는 토끼 8마리의 콩팥조직을 이용

Table 2. C¹⁴O₂ yield by liver homogenate.

Rabbit No.	Radioactivities of C ¹⁴ O ₂ from glucose			Radioactivities of C ¹⁴ O ₂ from lactate				E
	G-U-C ¹⁴ (a)	G-I-C ¹⁴ (b)	a/b	L-I-C ¹⁴ (c)	L-2-C ¹⁴ (d)	L-3-C ¹⁴ (e)	$\frac{c+d+e}{2e}$	
unit	cpm	cmp		cmp	cmp	cmp	cmp	%
1	119	181	0.66	270	193	196	1.12	51.7
2	176	252	0.70	417	277	240	1.30	47.0
3	222	452	0.49	534	450	336	1.31	28.3
4	90	117	0.77	987	211	330	1.50	45.3
5	90	192	0.47	975	238	298	1.69	19.7
6	60	137	0.44	877	240	306	1.55	19.7
7	94	208	0.45	1030	334	408	1.43	22.6
8	27	78	0.35	500	143	460	0.80	28.5
Mean	110	202	0.54	699	261	322	1.34	31.8

Table 3. C¹⁴O₂ yield by kidney homogenate

Rabbit No.	Radioactivities of C ¹⁴ O ₂ from glucose			Radioactivities of C ¹⁴ O ₂ from lactate			fraction of EMP-TCA	E
	G-U-C ¹⁴ (a)	G-I-C ¹⁴ (b)	a/b	L-I-C ¹⁴ (c)	L-2-C ¹⁴ (d)	L-3-C ¹⁴ (e)	$\frac{c+d+e}{3e}$	
unit	cpm	cmp		cmp	cmp	cmp	cmp	%
11	176	263	0.67	3720	2080	2430	1.13	52.0
12	181	270	0.67	3680	1730	1670	1.41	40.3
13	179	263	0.86	2460	1830	1420	1.34	43.7
14	323	294	1.10	3300	1840	1170	1.14	96.0
15	188	188	1.0	2700	1460	1140	1.55	68.5
16	595	700	0.85	3220	2420	1740	1.41	55.0
17	351	546	0.64	2860	2000	2120	1.11	50.0
18	228	272	0.84	2070	1220	1215	1.23	66.5
Mean	278	350	0.83	3001	1823	1613	1.29	59.0

하여 포도당의 산화 과정을 검토한 결과 각 소군에 있어서 발생한 C¹⁴O₂에 관한 실험성적은 제 3 표와 같다. a 소군의 C¹⁴-U-포도당 배양 실험에 있어서 C¹⁴O₂의 방사능의 총계는 평균 278 cpm, b 소군의 C¹⁴-I-포도당 배양 실험에서는 평균 350 cpm의 값을 얻었고, RSA는 전자에서 2.78%, 후자에서 3.5% 이었다. 즉 콩팥 조직에서도 간장조직에서와 같이 C¹⁴-I-포도당에서 유리된 C¹⁴O₂의 발생률이 a 소군의 C¹⁴-U-포도당에서 유리된 C¹⁴O₂보다 큰 값을 보였으나 제 1 군에서와 같은 현저한 차이는 없었다. 즉 양군의 C¹⁴O₂의 방사능의 총계수의 비율(a/b)은 0.83 이었다. c.d 및 e 소군의 C¹⁴-lactate 배양 실험에서는 c 소군에서 lactate의 C-1에서 기인된 C¹⁴O₂ 발생률은 d 소군보다 1.65 (c/d), e 소군보다 1.85배(c/e) 가량 크고 방사능의 총계수는 평균 3,000 cpm을 보였다. 즉 실험 기간중 용매 C¹⁴-I-lactate의

총방사능의 30%가 호흡 CO₂로 산화되었음을 볼 수 있었다. d 및 e 소군에서 측정된 C¹⁴O₂의 방사능은 각각 평균 1823 cpm, 1613 cpm의 값을 얻었고 이들 값은 별차이가 없는 것으로 보아 lactate의 α 및 β 탄소는 비등하게 산화 과정에 관여함을 볼 수 있었다.

각소군의 C¹⁴O₂의 방사능을 공식 (8)에 대입하여 EMP-TCA 경로에 의거하여 포도당이 CO₂로 산화된 분율은 제 2 군의 콩팥조직에서 약 59%로 계산되었다.

제 3 군에서는 토끼 8 마리의 대뇌조직을 이용하여 포도당의 산화 과정을 관찰한바, 각 소군에 있어서 C¹⁴O₂의 방사능의 측정값은 제 4 표에 종합하였다.

a 소군의 C¹⁴O₂의 방사능의 총계수는 평균 261 cpm, b 소군에서는 평균 101 cpm의 값을 보였고 제 1 및 제 2 군에서와 달리 C¹⁴-U-포도당에서 기인된 C¹⁴O₂의 발생률이 C¹⁴-I-포도당에서 발생한 C¹⁴O₂보다 크고 양 소군

Table 4. $C^{14}O_2$ yield by brain homogenate.

Rabbit No.	Radioactivities of $C^{14}O_2$ from glucose			Radioactivities of $C^{14}O_2$ from lactate				E
	G-U- C^{14} (a)	G-1- C^{14} (b)	a/b	L-1- C^{14} (c)	L-2- C^{14} (d)	L-3C- 14 (e)	c+d+e/3e	
Unit	cpm	cpm		cpm	cpm	cpm	cpm	%
21	350	115	3.03	2680	2100	700	2.60	117
22	369	150	2.46	2380	1890	687	2.40	102
23	136	89	1.53	1560	736	588	1.59	95
24	91	59	1.54	1350	1600	672	1.80	84
25	310	148	2.10	2160	2830	925	2.13	98
26	172	87	1.97	1380	1030	470	2.04	96
27	86	36	2.39	2130	1720	545	2.67	89
28	216	120	1.80	2450	2110	935	1.92	93
Mean	216	101	2.10	2011	1752	690	2.13	96.8

Table 5. The comparison of oxidative pathway of glucose in the liver, kidney and brain tissues.

Tissue	No. of case	Radioactivities of $C^{14}O_2$ from glucose			Radioactivities of $C^{14}O_2$ from lactate				E
		G-U- C^{14} (a)	G-1- C^{14} (b)	a/b	L-1- C^{14} (c)	L-2- C^{14} (d)	L-3- C^{14} (e)	c-d-e/3e	
Liver	8	110	202	0.54	690	261	322	1.34	32.8
Kidney	8	278	350	0.83	3001	1823	1613	1.29	59.
Brain	8	216	101	2.10	2011	1752	690	2.14	96.8

의 방사능의 비율(a/b)은 평균 2.10의 값을 보였다.

C^{14} -lactate 배양 실험에 있어서 c 소군의 $C^{14}O_2$ 의 방사능은 평균 2011 cpm, d 소군에서 1752 cpm, e 소군에서 690 cpm의 값을 얻었다. 대뇌조직에 있어서도 lactate의 C-1 탄소는 호흡 CO_2 발생에 크게 관여함을 볼 수 있다. d 소군의 호흡 CO_2 의 방사능은 c 소군의 약 88%로 별차이를 볼 수 없었으나 e 소군에서는 c 소군의 약 34.5%에 불과한 것으로 보아 대뇌조직 포도당 산화 과정에 있어서 포도당의 C-1 및 C-6 탄소 혹은 lactate의 methyl기는 호흡 CO_2 발생에 관여하는바 적음을 지적할 수 있다.

이상 각 소군에서 얻은 성적을 이용하여 대뇌조직의 포도당의 산화 경로에 있어서 EMP-TCA 경로에 의거한 호흡 CO_2 의 발생률을 계산한 결과 (공식 8) 포도당에서 발생한 CO_2 의 평균 96.8%가 EMP-TCA 경로에 의하여 산화되었음을 산출 하였다.

각군에 있어서 각 조직의 포도당의 CO_2 로의 산화 경로를 비교하려는 제 5 표에서 보는바와 같이 제 1군의 간장 조직에서는 포도당의 산화 과정이 복잡하며 EMP-TCA 경로가 관여한 CO_2 의 발생률은 약 32.8%에 불과하였으나 제 2군의 콩팥 조직에서는 약 60%의 포도당에서 산화된 호흡 CO_2 가 EMP-TCA 경로를 밟아 산화되었고 제 3군의 대뇌조직에 있어서는 거의 100%의 포도당에서 유리된 CO_2 가 EMP-TCA 경로에

의거하여 산화되었음을 볼 수 있었다. 이상과 같이 각 조직의 포도당의 산화 과정에 차이가 있는 것으로 보아 간장과 같이 대사기능의 중심 역할을 하는 곳의 대사 경로는 복잡하며 대뇌조직과 같은 특수 조직의 대사 경로는 비교적 단순로우며 EMP-TCA와 같은 경로가 포도당 산화 과정의 중심적 역할을 하는 것을 지적 할 수 있다.

고 찰

본실험의 결과를 고찰하기 위하여 다음 몇가지 점에 유의하여야 한다. 즉 EMP-TCA 경로에 의거한 포도당의 분해 과정은 첫단계로 2 분자의 3탄 화합물 즉 pyruvate 또는 lactate로 분해되고 이때 분해된 lactate의 C-1, C-2, C-3는 포도당의 3 및 4, 2 및 5, 1 및 6 탄소와 일치하므로 c, d 및 e 소군의 C^{14} -lactate 배양실험에서 얻은 lactate의 각 탄소에서 기인된 $C^{14}O_2$ 의 방사능은 포도당의 해당 탄소가 EMP-TCA 경로를 밟아 산화된 $C^{14}O_2$ 의 방사능과 같다고 가정하였으며 EMP-TCA 경로 이외의 산화 과정이라 함은 HMP 산화 경로를 포함한 포도당의 C-1이 우선적으로 호흡 CO_2 로 산화되는 경로를 말한다.

각 소군에 있어서 C^{14} 표지 각 기질에서 발생한 $C^{14}O_2$ 의 방사능은 C^{14} -표지 기질과 조직 효소와 평형상태를 이루어 일정한 $C^{14}O_2$ 의 발생률을 보일 때까지 상당한

시간을 요한다라는 점으로 보아¹⁴⁾ 각 소군에서 얻은 C¹⁴O₂의 방사능의 값은 실지의 값보다 적겠으나 같은 물로 저하되었다고 가정하고 각 소군을 비교 관찰하였다.

각군에 있어서 C¹⁴-U-포도당 및 C¹⁴-1-포도당 배양 실험에서 얻은 C¹⁴O₂의 발생률은 c, d, 및 e 소군의 C¹⁴-lactate 배양 실험에서 얻은 C¹⁴O₂ 발생률보다 일반적으로 적은 값을 보이는 사실은 본 실험의 배양 용매에는 포도당은 생체의 혈당량과 비슷한 농도 즉 180 mg%를 유지하고 있으나 lactate 농도는 45 mg%로 정상 생체내 농도보다 높은 농도를 유지하고 있으므로 화학력학적(chemical kinetic)인 면에서 볼 때 포도당이 젖산으로 분해하는 해당 과정보다 TCA 경로를 밟아 젖산이 CO₂로 분해하는 과정이 촉진됨으로 c, d 및 e 소군에서 발생한 C¹⁴O₂의 방사능이 높은 값을 보이게 된다.

a 및 b 소군에 발생한 C¹⁴O₂의 발생률을 비교하며는 제 1군 및 제 2군에서는 C¹⁴-1-포도당에서 발생한 C¹⁴O₂는 C¹⁴-U-포도당의 C¹⁴O₂ 발생률보다 크고 제 3군에서 반대 현상을 보였다. 이때에 C¹⁴-1-포도당 및 C¹⁴-U-포도당의 CO₂ 발생률의 비율 즉 a 및 b 소군의 C¹⁴O₂의 방사능의 비(a/b)는 간장조직이 제일 낮고 췌장, 대뇌조직의 순서로 증가하였다. a/b가 적다는 사실은 포도당의 C-1이 다른 탄소보다 HMP와 같은 산화 경로를 밟아 쉽게 호흡 CO₂로 분해됨을 의미한다. 만약에 조직의 포도당 산화 과정에 있어서 HMP 산화 경로와 같이 포도당의 C-1만 호흡 CO₂ 발생에 관여하고 나머지 C-2, 3, 4, 5 및 6은 전연 CO₂ 발생에 관여하지 않는다고 가정하며는 a/b=1/6이 될 것이다. 반면에 HMP 경로는 호흡 CO₂ 발생에 전연 관여치 않고 EMP-TCA 경로와 같이 포도당의 모든 탄소가 동물로 호흡 CO₂ 발생에 관여한다고 가정하며는 a/b=6/6=1이 될 것이다. 그러므로 이론적으로 볼 때 각 조직의 포도당의 산화 경로에 HMP 및 EMP-TCA의 2 경로가 있다고 가정하며는 a/b는 최하 1/6에서 최고 1사이의 값을 보이게 되며 이 값이 적을수록 HMP 경로에 의거한 포도당의 CO₂ 발생률이 증가함을 의미하게 된다. 제 3군에 있어서는 이론값을 벗어나는 최고값을 보이고 있으나 이론값이하 함은 전술한 바와 같이

$$\frac{c+d+e}{3e} = 1 \text{ 일때의}$$

EMP-TCA 경로에 의거한 포도당이 CO₂로의 산화 과정에서 포도당의 모든 탄소가 동물로 CO₂ 발생에 관여한다고 가정하였을 때의 값을 말하고 실지로 본 실험에 있어서 각 군의 c, d 및 e 소군의 C¹⁴O₂의 발생률에서 보는바와 같이 각 소군의 C¹⁴O₂ 발생률에 차이가 있어서 $\frac{c+d+e}{3e}$ 는 언제나 1 이상의 값을 보이고 특히 제 3군의 대뇌조직에 있어서는 포도당의 C-1 및 C-6에 해당하는 e 소군의 C¹⁴-3-lactate에서 발생하는 C¹⁴O₂가 가

장 적다는 점으로 보아 EMP-TCA 경로에 의거한 포도당의 산화 과정에 있어서도 a/b가 1보다 커질 수 있는 것이다.

이상과 같이 EMP-TCA 산화 경로에 있어서 포도당의 각 탄소가 관여하는 호흡 CO₂의 발생률을 lactate의 각 탄소에 C¹⁴-표지한 기질을 이용하여 비교하며는 각군의 c 소군의 C¹⁴O₂의 발생률이 가장 큰 값을 보이는 점으로 보아 포도당의 C-3 및 C-4가 EMP-TCA 경로에 있어서 호흡 CO₂ 발생에 크게 관여함을 볼 수 있다. 이러한 사실은 포도당의 C-3, 및 C-4 탄소는 젖산으로 분해할 때 젖산의 C-1인 carboxyl 탄소가 되어 이는 TCA 경로로 들어가기 전에 decarboxylation을 입어 쉽게 호흡 CO₂로 산화될 수 있으나 나머지 2탄 화합물인-acetyl-COA는 일부는 TCA 경로를 밟고 호흡 CO₂로 산화되지만 일부는 지방산 또는 다른 합성 과정에 관여하기 때문에 lactate의 C-2 및 C-3에서 유리되는 CO₂ 발생률은 C-1 탄소의 CO₂ 발생률보다 저하됨을 지적할 수 있다. 특히 대사 과정이 활발한 간장조직에서 이러한 차이는 현저하게 나타난다. 제 1 및 제 2군에서 보는 바와 같이 lactate의 C-2 및 C-3 탄소에서 유리되는 C¹⁴O₂ 발생률은 별차이가 없이 비등한 값을 보이는 것으로 보아 이들 탄소는 같이 TCA 경로에서 호흡 CO₂로 완전 산화되기 때문에 비슷한 값을 보이게 된다. 그러나 제 3군의 대뇌조직 실험에 있어서는 e 소군의 C¹⁴O₂ 발생률이 제일 작다는 점으로 보아 포도당의 C-1 및 C-6에 해당하는 탄소 또는 lactate의 methyl 탄소는 EMP-TCA 산화 과정에서 호흡 CO₂ 발생에 관여하는바 적응을 지적 할 수 있으나 본 실험에서는 설명 할 수가 없었다.

포도당 산화 과정에 있어서 EMP-TCA 및 HMP 경로가 관여하는 바를 산출하기 위하여 본 실험에서 이용한 공식 (8)의 E 또는 (1-E)는 공식 유도에서 보는 바와 같이 포도당의 C-1 탄소에서 발생한 CO₂가 EMP-TCA 경로에 의지하여 산화된 분률과 HMP에 의거한 분률을 표시한다. 또한 공식 (8)은 EMP-TCA 경로에 의지하여 발생한 CO₂는 포도당 각 탄소에서 동물로 발생하였다고 가정하여 유도되었다. 그러나 실지에 있어서 본 실험의 c, d 및 e 소군의 C¹⁴O₂ 발생률에서 보는바와 같이 서로 차이가 있는 것으로 보아 포도당의 각 탄소의 동물산화는 생각할 수 없다. 즉 HMP와 같은 산화 과정은 포도당의 C-1 탄소가 직접 호흡 CO₂로 산화할 수 있으나 EMP-TCA 경로를 밟은 포도당→CO₂로의 산화 과정은 도중에 20여개의 중간 대사물질을 거쳐 CO₂를 발생하고 각 중간 대사물은 아미노산 또는 지방산과 같은 물질로 변화할 수 있기 때문에 상당한 량의 C¹⁴-배양 기질의 C¹⁴이 C¹⁴O₂ 이외의 다른 물질로 소실할 수 있게 된다. 그러므로 본 실험의 E 또는(1-E)은 각 경로를 밟

아 소실되는 포도당 총량의 분율을 의미하는 것이 아니며 포도당 특히 C-1 탄소에서 발생한 총 CO₂ 발생물이 각 경로에 의거한 분율을 표시하는 것이므로 간장에서와 같이 낮은 E를 산출하였다 하더라도 실지에 있어서 EMP-TCA 경로에 들어간 포도당의 총량은 E보다 큰 값을 보이게 된다.

이상 논의한 바와 같이 본 실험에서 유도한 공식 (8)은 포도당 산화 경로를 정확히 분류는 할 수 없으나 포도당 산화 과정에 있어서 각 경로가 차지하는 비중은 서로 비교 관찰할 수 있는 것이다. 즉 간장과 같이 대사 과정에 중심적 역할을 하는 곳에서는 포도당 산화 과정에 있어서도 복잡하며 EMP-TCA와 같은 중심적인 산화경로 이외의 대사경로가 크게 관여하며 콩팥 대뇌조직의 순으로 특수한 조직일수록 포도당 산화 경로는 단조로우며 EMP-TCA 경로가 크게 관여한다는 것은 흥미있는 사실임을 지적할 수 있다.

총괄

스물네마리의 토끼를 3군으로 나누어 제 1군은 간장 실험, 제 2군은 콩팥 실험, 제 3군은 대뇌 실험에 이용하였다. 각 군은 다시 5 소군으로 나누어 각 소군의 조직 균등액을 C¹⁴-U-포도당, C¹⁴-1-포도당, C¹⁴-1-젖산, C¹⁴-2-젖산, C¹⁴-3-젖산 용매에 배양하였을 때 C¹⁴O₂의 발생률을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) C¹⁴-1-포도당 배양 실험에서 얻은 C¹⁴O₂ 발생률이 C¹⁴-U-포도당에서 얻은 것보다 간장 및 콩팥에서 높고 대뇌군에서는 낮은 값을 보였다.

2) C¹⁴-젖산 배양 실험에 있어서 C¹⁴O₂ 발생률은 젖산의 C-1에서 기인된 CO₂ 발생률이 각 군에 있어서 제일 크고 C-2 및 C-3에서 기인된 것을 제 3군(대뇌)을 제외하고 비등한 값을 보였다.

3) 각 소군에서 얻은 C¹⁴O₂의 발생률을 기준으로 하여 포도당의 산화 경로를 산출한 바 제 1군(간장)에서 포도당에서 유리된 CO₂의 평균 32.8%, 제 2군(콩팥)에서 평균 59%, 제 3군(대뇌)에서 평균 96.8%가 EMP-TCA 경로에 의거하여 발생하였다.

(본 실험을 지도편달한 남기용 교수와 이상돈 조교수께 감사한다)

ABSTRACT

The Glucose Catabolic Pathways in the Various Tissues of the Rabbits

Soon Jo Lim, M.D.

Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea.

(Director: Prof. Kee Yong Nam, M.D)
Assist. Prof. Sang Don Lee, M.D)

24 of rabbits were divided into 3 groups. e.g., the

first group for liver incubation experiment, the second group for kidney incubation experiment, and the third group for brain incubation experiment. The same tissue homogenate obtained from each run of every group were subdivided into 5 subgroups. Each subgroup was incubated for a period of 2 hours in the constant temperature water bath with incubation mixture consisting of 10 cc of phosphate buffer and 20 cc of oxygen. to which were added a glucose-1-C¹⁴ in the subgroup "a", glucose-U-C¹⁴ in the subgroup "b", lactate-1-C¹⁴ in the subgroup "c", lactate-2-C¹⁴ in the subgroup "d", and lactate-3-C¹⁴ in the subgroup "e", respectively. The gas samples obtained at the end of incubation period from each subgroup were analyzed for radioactivities of C¹⁴O₂ produced. Data obtained from each groups were summarized as follow;

- 1) In the liver and kidney, C¹⁴O₂ yields from glucose-1-C¹⁴ were always larger than that from glucose-U-C¹⁴, but in the brain tissues, C¹⁴O₂ yields from glucose-U-C¹⁴ were generally larger than that from glucose-1-C¹⁴.
- 2) In the lactate-C¹⁴ incubation experiments, C¹⁴O₂ yields from C-1 of lactate (subgroup c) showed largest value as compared with those from C-2 and C-3 of lactate in each group. There were little differences in C¹⁴O₂ yields from C-2 and C-3 of lactate in liver and kidney tissue.
- 3) Fractions of oxidative pathway of glucose were calculated from C¹⁴O₂ yields of 5 subgroups in each group. 32.8% of respiratory CO₂ was produced through EMP-TCA oxidative pathway from glucose in the first group, 59% in the second group and 96.8% in the third group.

REFERENCES

- 1) Krebs, H.: *Advance in Enzymol.*, 3:191, 1943.
- 2) Krebs H.A.: *In: Greenberg., D.M., Chemical pathways fo metabolism New York; Acad. Press. 1954, Vol. 1, P. 109.*
- 3) Racker, E.: *Advance in Enzymol.*: 15:141, 1954,
- 4) Gunsalus, I.C. and Gibbs, M., : *The Heterolactic fermentation. J. Biol. Chem.* 194:871, 1952.
- 5) Horecker, B.L., Gibbs, M., Klonow, H., and Smyrnoitis, P.Z.: *The Mechanicms of pentose*

- phosphate conversion to hexose monophosphate. J. Biol. Chem.* 207:393, 1954.
- 6) Gibbs, M. and DeMoss, R.D.: *Anaerobic dissimilation of C¹⁴-labeled glucose and fructose by pseudomonas lindneri. J. Biol. Chem.* 207:689, 1954.
- 7) Wood, W.A. and Schwert, R.F.: *Carbohydrate oxidation by pseudomonas fluorescens. J. Biol. Chem.* 201:501, 1953.
- 8) Bloom, B., Stetten, M.R., and Stetten, D.: *Evaluation of catabolic pathways of glucose in mammalian system. J. Biol. Chem.* 204:681, 1953.
- 9) Stetten, M.R. and Stetten, D.: *The Metabolism of gluconic Acid. J. Biol. Chem.* 187:241. 1950.
- 10) Stetten, M.R. and Topper, R.J.: *Pathways from gluconic acid to glucose in vivo. J. Biol. Chem.* 203:653, 1953.
- 11) 이 응섭, : 정상 및 alloxan 당뇨병 흰쥐의 간장절편에 있어서 C¹⁴-포도당의 산화대사에 관한 실험. 서울의대잡지 2:289, 1961.
- 12) Van Slyke, D.D., and Folch, J.: *Manometric carbon determination. J. Biol. Chem.* 136:509, 1940.
- 13) Wood, H.C.: *Significance of alternate pathways in the metabolism of glucose., Physiol. Rev.* 35:841, 1955.
- 14) 장신요, 장가용, 이상돈 : 정상 및 alloxan 당뇨병 흰쥐의 뇌절편에 있어서 C¹⁴-포도당 및 초성포도당의 대사에 관한 실험적 연구. 서울의대잡지 4:1, 1963.