

두가지 말라리아원충에서 젖산수소페기효소(LDH)들의 항원결정기에측과 그 비교

한진성, 박진성, 리혜영

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《생물공학부문에서는 세포공학과 유전자공학, 미생물공학을 비롯한 현대생물학의 발전에 큰 힘을 넣으며 현대생물학의 성과를 농업과 축산업, 의학과 식료공업에 널리 받아들여 생산성이 높은 농작물과 집짐승의 새 품종을 만들어내며 질 좋은 여러가지 의약품과 식료품을 많이 생산할수 있도록 하여야 합니다.》(《김정일선집》증보판 제15권 487~488페이지)

말라리아를 신속히 진단하는것은 질병의 전파를 막고 그 근원을 제거하는데서 중요한 공정으로 된다. 혈액속의 말라리아기생충은 당분해경로의 말단효소로서 젖산수소페기효소(LDH)를 합성한다.[2] LDH는 젖산을 피루빈산으로 전환시킬 때 NAD류사체인 3-아세틸피리딘아데닌디뉴클레오티드(APAD)를 리용하는데 말라리아원충의 LDH(pLDH)는 사람LDH에 비하여 APAD를 약 200배나 더 신속하고 효과적으로 리용할수 있다. LDH에 의하여 APAD가 APADH로 변화되는것을 감별하여 pLDH의 활성을 측정할수 있으며 이에 근거하여 말라리아를 진단할수 있다.[3, 4]

pLDH의 농도가 낮을 때에는 효소적인 방법으로 이것을 검출할수 없다. 그러나 항체 특히 단클론항체에 의한 분석방법을 리용하면 수천수만가지 단백질을 정확하게 검출할수 있으며 그 감도도 상당히 높다.[6] 그러므로 우리는 pLDH에 대한 단클론항체를 개발하기 위하여 두가지 말라리아원충에서 pLDH의 항원결정기를 예측하고 그것들을 비교하였다.

재료 및 방법

GenBank 170.0판(2009.2)에 공개된 유전자정보를 연구에 리용하였다.

pLDH의 아미노산배열을 리용하여 단백질들간의 상동성을 분석하고 항원결정기를 예측하였으며 예측된 항원결정기들사이의 상동성을 분석하여 기원이 서로 다른 LDH들을 비교하였다. 항원결정기예측과 상동성분석에는 생명정보해석통합프로그램 《려명》 2.0[1]에 있는 supermatcher기능과 antigenic기능을 리용하였다.

결과 및 논의

말라리아는 병을 일으키는 원충의 류형에 따라 네가지 즉 열대열말라리아, 3일열말라리아, 4일열말라리아, 알형말라리아가 있는데 세계적으로 가장 많이 퍼진것은 열대열말라리아이고 우리 나라에는 주로 3일열말라리아가 발생하고있다. 그러므로 우리는 3일열말라리아와 열대열말라리아를 일으키는 원충인 *Plasmodium vivax*와 *Plasmodium falciparum*을 대상으로 하여 비교를 진행하였다.

우선 두가지 원충에서 만들어지는 LDH의 단백질배열을 비교하였다.(그림)

```
#####
# 기능이름: supermatcher
# 실행시간: Sun 26 Dec 2014 08:41:38
# 정렬형식: simple
# 출력화일: txt.supermatcher
#####
#=====
# 정렬된 배열: 2개
# 1: LDH-f(protein).txt
# 2: LDH-v(protein).txt
# 행렬: EBL0SUM62
# 길이: 315
# 동일성: 285/315 (90.5%)
# 유사성: 300/315 (95.2%)
# Gap수: 0/315 ( 0.0%)
# 점수: 1468.0
#=====
f(protein).txt      1  MAPKAKIVLVGSGMIGGVMATLIVQKNLGDVVLFDIVKNMPHGKALDTS  50
|.|.|||||||||||||||||||||||||||||||||||||
v(protein).txt      1  MTPKPKIVLVGSGMIGGVMATLIVQKNLGDVVMFVVKMPQKALDTS  50
f(protein).txt      51  TNVMAYSNCKVSGSNTYDDLADGVVIVTAGFTKAPGKSDKEWNRDDL  100
:|||||||||:|||||.||||.|||||||||||||||||
v(protein).txt      51  SNVMAYSNCKVSGSNTYDDLADGVVIVTAGFTKAPGKSDKEWNRDDL  100
f(protein).txt      101 LNNKIMIEIGGHIKNCNPNAFIIVVTNPVDVMVQLLHQHSGVPKNKI  150
|||||||||.|||||||||.|||||.|||||.|||||
v(protein).txt      101 LNNKIMIEIGGHIKNCNPNAFIIVVTNPVDVMVQLLFEHSGVPKNKI  150
f(protein).txt      151 GGVLDTSRLKYYISQKLNVCPRDVNAHIVGAHGKMKVLLKRYITVGG  200
|||||||||.|||||.|||||.|||||.|||||.|||||
v(protein).txt      151 GGVLDTSRLKYYISQKLNVCPRDVNAHIVGAHGKMKVLLKRYITVGG  200
f(protein).txt      201 QEFINMKLISDAELEAIFDRTVNTALEIVNLHASPYVAPAAAIEMAES  250
|||||.|.|.|.|.|||||.|||||.|||||.|||||
v(protein).txt      201 QEFINMKKITDEEVEGIFDRTVNTALEIVNLASPYVAPAAAIEMAES  250
f(protein).txt      251 LKDLKKVLICSTLLEGQYGHSDIFGGTPVVLGANGVEQVIELQLNSEKA  300
||||:||||:|||||:||||:|:|.|||||:|:|.
v(protein).txt      251 LKDIKKVLVCSTLLEGQYGHSNIFGGTPLVIGGTGVEQVIELQLNAEKT  300
f(protein).txt      301 KFDEATAETKRMKAL      315
||||:|||||
v(protein).txt      301 KFDEAVAETKRMKAL      315
#-----
```

그림. *Plasmodium vivax*와 *Plasmodium falciparum*의 LDH단백질배열상동성비교결과

그림에서 보는바와 같이 두가지 원충의 LDH는 대체로 같지만 일부 부위에서는 차이가 있었다.

다음으로 두 LDH의 항원결정기를 예측하였다.(표 1, 2)

항원결정기를 예측한 결과 두가지 종류의 말라리아원충에서 각각 11개의 항원결정기가 예측되었다. 예측된 항원결정기의 개수에서는 차이가 없었지만 개별적인 항원결정기의 아미노산배열이 약간 차이나는 부분들이 있었다. 그러므로 우리는 예측된 항원결정기들간의 상동성검색을 통하여 비교를 진행하였다.(표 3)

분석결과를 통하여 알수 있는바와 같이 *P. vivax*와 *P. falciparum*의 항원결정기들이 거의 일치하였다. 3개의 항원결정기들은 완전히 일치하고 7개의 항원결정기들은 상동성이 매우 높았다. 그러나 두 종류의 원충에서 각각 1개씩의 항원결정기들이 완전히 다른것으로 나타났다. 여기로부터 11개로 예측된 항원결정기들가운데서 이 두가지 항원결정기에 대한 항체들을 얻어내면 두가지 종류의 원충을 감별할수 있다는것을 예측할수 있다.

두가지 말라리아원충에서 젖산수소페기효소(LDH)들의 항원결정기 예측과 그 비교

표 1. *P. vivax*에서 LDH의 항원결정기 예측결과

No.	배열	길이/aa	위치	점수
1	ESYLKDIKKVLVCSTLLEGQ	20	248-267	1.228
2	VMATLIVQKNLGDVVMFDVVKN	22	18-39	1.188
3	KNLCPNAFIIVVTNPVDVMVQLLFEHSGV	29	114-142	1.171
4	NTALEIVNLLASPYVAPAAAI	22	223-244	1.169
5	GADVVIIVTAG	10	72-81	1.164
6	PKIVLVGS	8	5-12	1.156
7	KMVLLKRYITVGGIPLQE	18	185-202	1.143
8	VEQVIELQLN	10	286-295	1.131
9	IIGLGGVLDTSRLKYYISQKLNVCPRDVNALIVGAH	36	147-182	1.127
10	YSNCKVT	7	56-62	1.105
11	GTPLVIGG	8	276-283	1.072

표 2. *P. falciparum*에서 LDH의 항원결정기 예측결과

No.	배열	길이/aa	위치	점수
1	VMATLIVQKNLGDVVLFDIV	20	18-37	1.215
2	ESYLKDLKKVLICSTLLEGQ	20	248-267	1.195
3	PNAFIIVVTNPVDVMVQLLHQHSGV	25	118-142	1.173
4	GADVVIIVTAG	10	72-81	1.164
5	KAKIVLVGS	9	4-12	1.156
6	NTALEIVNLHASPYVAPAAAI	22	223-244	1.148
7	KMVLLKRYITVGGIPLQE	18	185-202	1.143
8	GTPVVLGAN	9	276-284	1.132
9	VEQVIELQLN	10	286-295	1.131
10	IIGLGGVLDTSRLKYYISQKLNVCPRDVNAHIVGAH	36	147-182	1.119
11	YSNCKVS	7	56-62	1.105

표 3. *P. vivax*와 *P. falciparum*에서 예측된 항원결정기들의 비교결과

<i>P. vivax</i> 의 항원결정기	대응되는 <i>P. falciparum</i> 의 항원결정기
ESYLKDIKKVLVCSTLLEGQ	ESYLKDLKKVLICSTLLEGQ
VMATLIVQKNLGDVVMFDVVKN	VMATLIVQKNLGDVVLFDIV
KNLCPNAFIIVVTNPVDVMVQLLFEHSGV	PNAFIIVVTNPVDVMVQLLHQHSGV
NTALEIVNLLASPYVAPAAAI	NTALEIVNLHASPYVAPAAAI
GADVVIIVTAG	GADVVIIVTAG
PKIVLVGS	KAKIVLVGS
KMVLLKRYITVGGIPLQE	KMVLLKRYITVGGIPLQE
VEQVIELQLN	VEQVIELQLN
IIGLGGVLDTSRLKYYISQKLNVCPRDVNA LIVGAH	IIGLGGVLDTSRLKYYISQKLNVCPRDVNA HIVGAH
YSNCKVT	YSNCKVS
GTPLVIGG	대응되는 항원결정기가 없음
대응되는 항원결정기가 없음	GTPVVLGAN

선행연구결과[5]에 의하면 LDH에 대한 두가지 단클론항체를 선발하여 검사해본 결과 한가지 항체는 *P. vivax*와 *P. falciparum*의 LDH를 동시에 인식하였고 다른 항체는 *P. falciparum*의 LDH만을 인식하였다. 이러한 선행연구결과를 통하여 우리가 진행한 비교결과를 간접적으로 입증할 수 있다고 본다.

맺는 말

*P. vivax*와 *P. falciparum*의 LDH에서는 각각 11개의 항원결정기가 예측되었으며 예측된 항원결정기들은 상동성이 매우 높았다.

상동성이 전혀 없는 항원결정기들이 각각 1개씩 있는데 이것을 리용하면 두 말라리아원충을 감별할수 있다.

참고 문헌

- [1] 한진성 등; 생물공학학회지, 2, 9, 주체100(2011).
- [2] D. L. Vander Jagt et al.; Molecular and Biochemical Parasitology, 42, 277, 1990.
- [3] M. T. Markler et al.; American Journal of Tropical Medicine Hygiene, 48, 205, 1993.
- [4] D. J. Bzik et al.; Molecular and Biochemical Parasitology, 59, 155, 1993.
- [5] N. Valecha et al.; Annals of Tropical Medicine & Parasitology, 96, 333, 2002.
- [6] B. Albert et al.; Molecular Biology of the Cell, Garland Science, 444~446, 2015.

주체105(2016)년 1월 5일 원고접수

Estimation and Differentiation of Epitopes of LDH in Two Plasmodiums

Han Jin Song, Pak Jin Song and Ri Hye Yong

We demonstrated that 11 epitopes were estimated respectively from LDH of *P. vivax* and *P. falciparum* which were very similar.

Two types of malaria have one epitope which is quite different and we could use this epitope so as to diagnose two types of malaria which are spread widely.

Key words: LDH, epitope, malaria