

산불로 인한 해양환경오염원의 생물학적 방어반응 스트레스 유전자 규명

최재석 · Long-guo Jin · 강세은 · 흥용기

부경대학교 생물공학과

서론

해조류를 대상으로 한 해양환경 오염원의 영향에 대한 연구는 지금까지 주로 자연환경 스트레스에 대한 연구가 주로 진행되어져 왔으나 (Davison and Pearson, 1996), 해양오염원의 영향 (진 등, 1999)등은 아직 연구가 미진한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 산불로 인하여 야기될 수 있는 오염원들을 포함한 잣물 (소나무 잣물, KOH), 토사 (황토, 화강암 마사토), 중금속 ($CdCl_2$, $CuSO_4$) 등을 재료로 하여 방사무늬김의 viability 정도 측정과 이를 stress에 따른 반응 유전자들을 분리하고자 한다.

재료 및 방법

- ① 해조시료 : 초음파처리, Betadine 처리 등으로 무균처리 (Park et al., 1998)를 한 방사무늬김 (*Porphyra yezoensis*)
- ② Viability 측정 : TTC 활력 측정법 (Nam et al., 1998)으로 MNLC, LD50 그리고 MLC 결정.
- ③ RNA추출 · cDNA 합성 · PCR 증폭반응 · Agarose gel 전기영동 · DDRT-PCR 생성물의 cloning : 진 등(1999)의 방법에 따름

결과 및 요약

- ① 방사무늬김 (*Porphyra yezoensis*)을 대상으로 하여 적송재에 대한 MNLC, LD50, MNC 농도는 각각 0.08, 0.4, 1.0mg/ml 으로 나타나서 토사인 황토나 화강암 마사토보다도 2배 혹은 10배의 활력 감소를 보였다.

Table 1. Concentrations of MNLC, LD50 and MLC on the seaweed *Porphyra yezoensis* by fire-related pollutants. The 0.1g of thallus were cultured under 2500 lux light density at 18°C for 24h in 100ml PES medium without Tris buffer. Viability was measured by TTC method and the relative viability was expressed for the dose-response curve.

Pollutant	unit	MNLC	LD50	MLC
<i>Pinus densiflora</i> ash	mg/ml	0.08	0.4	1.0
KOH	ug/ml	33.7	224.4	561.1
Yellow loess	mg/ml	0.15	0.9	1.6
Granite sand	mg/ml	0.4	4.0	10
CdCl ₂	ug/ml	2.0	11	25
CuSO ₄	ug/ml	1.5	5.5	12

② 적송재에 대한 생물학적 방어반응 stress gene을 규명하기 위해 DDRT-PCR을 실행한 결과 10-mer arbitrary primer를 30종류 중에서 13개로 부터 새로 생성 유도되거나 없어지는 labile 유전자를 발견하였다. 현재 이들 유전자 구조를 밝히기 위하여 DNA sequencing하는 과정에 있다.

참고문현

- 진형주, 박선미, Long-Guo Kim, 진덕희, 공인수, 홍용기. 1999. 해조류 김 *Porphyra yezoensis* 엽체로부터 산에 민감한 유전자의 분리. 한국생물공학회지. 14. 702-706.
- Davison, I.R. and G.A. Pearson. 1996. Stress tolerance in intertidal seaweeds. *J. Phycol.* 32, 197-211.
- Hong, D.D., T.H. Kim, M.S. Hwang, I.K.Chung, and C.H. Lee. 1998. Effects of salinity on chlorophyll fluorescence from *Porphyra* thalli and comparison of species with different intertidal distribution. *J. Fish Sci. Tech.*, 1. 122-128.
- Nam, B.H., H.J. Jin, S.K. Kim and Y.K. Hong. 1998. Quantitative viability of seaweed tissues assessed with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride. *J. Appl. Phycol.*, 10, 31-36.
- Park, J.W., Y.C. Cho, B.H. Nam, H.J. Jin, C.H. Sohn and Y.K. Hong. 1998. RAPD identification of genetic variation in the seaweed *Hizikia fusiformis* (Fucales, Phaeophyta). *J. Mar. Biotechnol.*, 6, 62-64.