

Construction of the Detection Systems
for Endocrine Disruptors using Yeasts
and their Application

Dr. Haeng-Seog Lee
(KIST 생체대사연구센터)

효모를 이용한 내분비계장애 활성을 가지는 화학물질의 검출계의
구축과 그 응용에 관한 연구

Construction of the Detection System for Endocrine Disrupters using

Yeast Two-Hybrid Systems and Their Application

이 행석^{1,2}, 류 재천^{1,2}

1 한국과학기술연구원, 독성학 연구실

2 일본 동경대학교 응용생명공학과

인류는 1,500 만 종류에 달하는 화학물질을 합성 혹은 분리·동정 해왔다. 그리고 현재 약 10 만 종류 정도의 화학물질이 상업적으로 이용되고 있다. 이들 화학물질 중에 유기염소화합물, 공업용화합물, 농약류, 유기취소 (bromine)화합물, 중금속 및 유기금속, 식물 및 합성에스트로겐 등을 포함한 수십 종의 화합물이 내분비계장애물질 (Endocrine Disruptors, EDs)로서 생각, 혹은 의심되고 있다. 그러나, 대부분의 다른 화합물에 대해서는 그것들이 내분비계장애 작용을 가지고 있는지에 대한 충분한 지견이 얻어지지 않고 있어 이들 화학물질의 내분비계장애 작용을 평가하기 위해서는 신속 또는 간편한 검출계의 확립은 매우 중요하다.

본 연구는, nuclear receptor 의 특징인 ligand 의존적인 표적유전자의 전사활성화 기구를 이용하여 estrogenic chemical (EDs)의 검출법을 구축하기 위해, 인간 유래의 estrogen receptor (hER α , β)와 GAL4 DNA binding domain (GAL4 DBD)와의 융합단백질에 의한 one-hybrid system, 그리고 GAL4 transcriptional

activation domain (GAL4 TAD)와 각종 co-activators (AIB1, SRC1, TIF2)와의 융합 단백질을 염색체상에 reporter gene (UAS_{Gal4}-TATA-*lacZ*)을 integration 시킨 효모 *Saccharomyces cerevisiae* 에서 발현시켜 EDs 검출계인 two-hybrid system 을 구축했고, 각종 화학물질의 estrogenic activity 의 측정과 그 평가를 실시하였다.

구축한 검출계는 다음과 같다.

One-hybrid system;

1. Gal4p DNA binding domain (GAL4 DBD)/human estrogen receptor α ligand-binding domain (hER α LBD)
2. GAL4 DBD/ human estrogen receptor β ligand-binding domain (hER β LBD)
3. GAL4 DBD/full-length of human estrogen receptor α (hER α)

Two-hybrid system;

1. GAL4 DBD/hER α LBD and Gal4p transactivation domain (GAL4 TAD)/nuclear receptor-binding domain of co-activator AIB1
2. GAL4 DBD/hER α LBD and GAL4 TAD/co-activator SRC1
3. GAL4 DBD/hER α LBD and GAL4 TAD/co-activator TIF2
4. GAL4 DBD/hER β LBD and GAL4 TAD/co-activator AIB1
5. GAL4 DBD/hER β LBD and GAL4 TAD/co-activator SRC1
6. GAL4 DBD/hER β LBD and GAL4 TAD/co-activator TIF2
7. GAL4 DBD/hER α and GAL4 TAD/co-activator SRC1
8. GAL4 DBD/hER α and GAL4 TAD/co-activator TIF2

본 연구에서 구축된 검출계는, 효모에 공역인자 (co-activators)를 도입함으로써 포유동물 세포와 효모간 전사도구의 차이를 극복하여 보다 포유류에 가까운 조건에서 각종 화학물질에 대한 내분비계장애 활성을 가진 화합물을 분석할 수 있다. 효모 two-hybrid system 을 이용한

내분비계장애물질의 검출 방법은 포유동물이나 어류 등을 사용하지 않고도 환경에 존재하는 다수의 화학물질에 대하여 사람 또는 동물의 내분비계에 영향을 미치는 특정 화학물질을 보다 간편하고 신속한 생물학적 방법으로 검출할 수 있으며, 광범위한 내분비계장애 작용을 가진 물질에 대하여 유용하게 사용할 수 있다. 특히 구축한 system 중에서 hER β LBD 와 SRC1 을 이용한 system 그리고, hER α full-length 와 co-activator SRC1, TIF2 을 이용한 system 은 다른 two-hybrid system 보다 저농도의 화학물질에서 보다 높은 내분비계장애 작용의 활성을 얻을 수 있다. 내분비계장애 활성을 나타낸 모든 화학물질들의 reporter 유전자 발현을 위한 필요 농도는 다르지만 이들의 상대적인 내분비계장애 활성 수치는 다른 검출방법(MCF-7 증식 시험법(E-SCREEN assay), 수용체 결합 시험(Receptor binding assay), 리포터 유전자 발현 검출법(Receptor gene expression assay))에 의하여 조사된 내분비계장애 활성의 수치와 거의 일치한 것으로 그 유용성이 확인되었고, 일본 환경성이 발표한 SPEED '98 (Japan Environment Agency, 1998)에 표시된 EDs로써 의심되는 화학물질의 list에 포함되지 않았으나, 본 system 에 의해서 이들 물질이 내분비계장애와 같은 활성이 검출된 것은 상당히 흥미 있는 사실이다.