

점망둑 (*Chasmichthys dolichognathus*)의 생식 스테로이드 호르몬 분석

박명희 · 백혜자 · 유명숙
부경대학교 해양생물학과

서론

경골어류의 난소 성숙 과정은 여포층에서 생성·분비되는 성 스테로이드 호르몬에 의해 조절된다. 성 스테로이드 호르몬 중에서도 C21-스테로이드가 난소 성숙 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 특히 20α 와 20β -hydroxy group을 가지고 있는 스테로이드, 17α -hydroxy, 20α -dihydroprogesterone ($17\alpha 20\alpha$ OHP)과 17α -hydroxy, 20β -dihydroprogesterone ($17\alpha 20\beta$ OHP)가 성숙유도에 가장 효과적인 것으로 보고하고 있다 (Canario and Scott, 1989; 1990).

최근의 연구는 민어류와 농어류의 성숙 과정에 $17\alpha,20\beta,21$ -trihydroxy-4-pregnen-3-one ($17\alpha 20\beta 21$ P)이 관여한다고 알려져 있다. 본 연구는 점망둑의 난성숙 과정에서 생성·분비되는 성 스테로이드 호르몬의 종류와 그 외 다른 특이 호르몬의 존재여부를 밝히고자 한다.

재료 및 방법

실험어 : 실험어는 4~5월에 부산 동백섬에서 채집한 전장 5.4~7.2 cm, 체중 1.4~3.9g을 대상으로 하였다.

난모세포 분리 : 실험어들은 2-phenoxy-ethanol로 마취 후 clean bench로 옮겨졌다. 난소조직을 절취하여 TBSS (trout balanced salt solution, Jalabert and Fostier, 1984)로 세척한 뒤 얼음 위에서 난모세포들을 하나씩 분리하였다. 핵이 거의 중앙에 위치 또는 중앙에서 이동 중인 난모세포들을 사용하였다. 난소로부터 난모세포를 분리한 후 방사선으로 표지된 스테로이드 전구물질인 ^3H - 17α hydroxyprogesterone을 첨가하여 24시간 배양하였다.

스테로이드 호르몬 분석 : 80% 에탄올로 난모세포와 배양액을 함께 균질화하여 원심분리한 뒤 에탄올 상등액을 건조시킨 후 $500\mu\text{l}$ 물에 용해시켜 다시 dichloromethane 으로 2번 추출하여 스테로이드만을 얻었다. 스테로이드 추출물은 표준스테로이드와 동시에 실리카겔을 입힌 얇은막 지지체에 점적된 후 밀폐된 혼합용매(benzene : acetone =80:20)속에서 2회 전개되었다. 일정시간 후 얇은막을 건조시킨 뒤 자외선 (254 nm)으로 증기로 대사물질의 반점을 확인하였다. 얇은 막에 나타난 물질들은 방사선사진법 (autoradiography)과 GC-MS에 의해 재확인되었다.

결과 및 요약

난황형성기 (난경 0.74~0.80 mm)와 GVBD (germinal vesicle breakdown)단계 (난경 0.91~0.97 mm)로 추정되는 점망독의 난소를 대상으로 전구물질 ^3H -17 α hydroxyprogesterone (^3H -17 α OHP)를 첨가하여 24시간 배양한 뒤 생성된 성 스테로이드 대사물질은 다음과 같다.

1. 난황형성기

^3H -17 α OHP로부터 생성된 TLC 상의 반점은 testosterone (T) + estradiol-17 β (E2) 와 androstenedione (Δ 4) + estrone (E1) 등의 표준 물질과 일치하였다.

2. 난형형성말기

^3H -17 α OHP로부터 생성된 TLC 상의 반점은 17 α 20 α OHP, 17 α 20 β OHP, T+E2 그리고 Δ 4+E1 등의 표준물질과 일치하였다.

3. GVBD

^3H -17 α OHP로부터 생성된 TLC 상의 반점은 17 α 20 β 21P, 17 α 20 α OHP, 17 α 20 β OHP, T+E2 그리고 Δ 4+E1 등의 표준물질과 일치하였다.

생식소 발달 단계에 따라 T+E2, 17 α 20 α OHP와 17 α 20 β OHP에 해당되는 TLC 상의 반점을 용리 한 후 GC-MS로 재분석 결과 E2를 제외한 T, 17 α 20 α OHP 그리고 17 α 20 β OHP는 ^3H -17 α OHP의 대사물질로 확인되었으며, 그 외 다른 반점 특히 17 α 20 β 21P의 대사물질 확인 실험이 추후 요구된다.

참고문헌

- Baek. H. J. 2001. Biosynthesis of 17 α -hydroxy, 20 α -dihydroprogesterone by Ovaries of the Spotted flounder (*Verasper variegatus*). J. fish. Sci. Tech. 4(2), 70-74
- Canario, A.V.M. and A.P. Scott. 1989. Synthesis of 20 α -hydroxylated steroids by ovaries of the dab (*Limanda limanda*). Gen. Comp. Endocrinol., 76, 147-158