

조피볼락 (*Sebastes schlegeli*) 뇌하수체 호르몬의 유전자 발현에 미치는 nonylphenol의 영향

김대중 · 임상훈* · 민관식** · 정지현*** · 한창희*** · 전중균* · 손영창*

국립수산과학원 양식생물과, *강릉대학교 해양생명공학부,
한경대학교 생물정보대학원, *동의대학교 생물학과

서론

생식선자극호르몬 (GTHs; FSH/LH) 은 어류의 생식계를 조절하는 상위의 호르몬이며, 난황형성 및 생식세포의 분화/발달을 촉진하는 중추적인 기능을 담당한다. 그러나, 해양의 환경오염물질이 어류 GTH의 유전자발현에 미치는 영향에 관한 연구는 매우 부족한 실정이다 (Khan et al., 2001; Yadetie and Male, 2002). 본 연구에서는 난태생 어류인 조피볼락 뇌하수체 호르몬의 유전자 발현에 미치는 내분비계 장애물질의 영향에 관하여 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험어 및 nonylphenol (NP) 처리

실험에 사용된 어종은 성숙초기의 수컷 (평균체중 220g, 평균 생식선 중량지수 0.07%) 조피볼락이며, NP를 ethanol에 용해하여 각각 10 mg/kg/체중, 25 mg/kg/체중의 농도로 복강에 주사하였고, 주사후 12시간, 24시간, 48시간 단위로 수컷만을 선별하여 실험에 사용하였다.

2. mRNA 추출 및 Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

어류의 생식선자극호르몬 GTH α , LH β 와 그리고 성장호르몬(GH)의 염기서열을 기초로 하여 oligo primer를 각각 제작하였다. 또한 β -actin 및 vitellogenin (VTG)의 oligo primer를 제작하여 control marker로 본 실험에서 사용하였다. 뇌하수체 및 간에서 유래한 mRNA로부터 합성한 cDNA를 template로 하여 PCR 방법으로 GTH α , LH β , GH, β -actin 및 VTG를 각각 증폭하였으며 증폭된 밴드를 정량화하였다.

3. Cloning 및 plasmid DNA 추출

각각의 증폭된 산물을 pcDNA3 (Invitrogen) vector에 삽입하여 *E. coli*에 형질전환한 뒤 plasmid DNA를 추출하여 5' 및 3' 말단에 인식부위로 붙여준 효소로 다시 소화시켜 insert의 유무를 확인한 다음 염기서열을 결정하였다.

결과 및 요약

조피볼락 LH β 의 partial cDNA는 grouper (*Epinephelus coioides*), striped bass (*Morone saxatilis*), sea bass (*Dicentrarchus labrax*), Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*)의 LH β 와 각각 91, 88, 87, 86%의 상동성을 보였으며, GTH α 는 경골어류 중 sea bass, red seabream (*Pagrus major*), grouper, striped bass와 89~90%의 높은 상동성이 기록되었다.

조피볼락의 LH β 및 성장호르몬은 NP처리 농도에 큰 차이없이 12시간 후 급격한 증가를 보였으나 24시간 및 48시간 후에는 뚜렷한 변화를 보이지 않았다. 한편, GTH α 는 sampling time에 관계없이 일정한 수준을 유지하였으며, 내분비 장애물질의 표적 유전자로 알려진 VTG는 24시간 후에 급격히 증가하는 경향을 나타내었다. 본 연구에서는 NP와 같은 내분비계 장애물질이 조피볼락의 뇌하수체호르몬 유전자의 발현을 교란시킬 가능성이 시사되었다.

참고문헌

- Khan IA, Mathews S, Okuzawa K, Kagawa H, Thomas P. 2001. Alterations in the GnRH-LH system in relation to gonadal stage and Aroclor 1254 exposure in Atlantic croaker. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 129, 251-259.
- Yadette F, Male R. 2002. Effects of 4-nonylphenol on gene expression of pituitary hormones in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquatic Toxicology.* 58, 113-129.