

## 조피볼락 (*Sebastes schlegeli*) 생식선자극호르몬의 full-length cDNA cloning 및 유전자발현

황인성 · 우득영 · 임상훈 · 김대중\* · 한창희\*\* · 전중균 · 손영창  
강릉대학교 해양생명공학부, \*국립수산과학원 양식생물과, \*\*동의대학교 생물학과

### 서론

생식선자극호르몬 (GTH) 은 어류의 생식계를 조절하는 상위의 호르몬이며, 난황형성 및 생식세포의 분화/발달을 촉진하는 중추적인 기능을 담당한다 (Suzuki et al., 1988). 두 종류의 GTH (FSH, LH)는 각각 공통의  $\alpha$  쇄와 호르몬 특이적인  $\beta$  쇄의 이량체로 구성되어 있다 (Querat et al., 2000). 현재까지, 다수의 경골어류에서 FSH와 LH subunit에 관한 정보가 축적되어있으나, 해산 난태생 어류에서는 보고된 예가 매우 부족하다 (Yaron et al., 2003). 본 연구에서는 난태생 어류인 조피볼락 뇌하수체로부터 GTH $\alpha$ , FSH $\beta$ , LH $\beta$  쇄의 full-length cDNA를 클로닝하고 각각의 호르몬 유전자 발현에 미치는 내분비계 장애물질, 노닐페놀의 영향에 관하여 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 뇌하수체 cDNA pool 제작

조피볼락 성어의 뇌하수체 (n=3) 에서 mRNA를 추출 (QuickPrep™ Micro mRNA Purification Kit, Amersham Pharmacia biotech) 한뒤 cDNA 합성 kit (First-strand cDNA Synthesis Kit, Amersham Pharmacia biotech)를 사용하여 cDNA를 합성 하였다.

#### 2. 조피볼락의 full-length GTH $\alpha$ , FSH $\beta$ , LH $\beta$ cDNAs 서열

기지의 어류 GTH $\alpha$ , FSH $\beta$ , LH $\beta$  mRNA 염기서열을 분석하고 보존되어 있는 영역의 정보를 기초로 하여, 각각의 oligo primer를 제작하였다. 먼저 partial cDNA를 PCR 방법으로 클로닝하고 다음으로 5' 및 3'-Rapid amplification of cDNA ends (RACE) 방법으로 full-length cDNA를 증폭하였고 각각의 PCR 증폭산물을 cloning vector에 삽입하고 염기서열을 5' 및 3' 방향으로 각각 확인하였다.

### 3. GTH mRNA 발현에 미치는 4-nonylphenol (NP) 영향 분석

실험에 사용된 어종은 성숙초기의 숯컷 (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. 전술의 mRNA 추출 방법과 RT-PCR방법으로 각각의 GTH subunit 유전자의 전사산물 밴드를 정량화하였다. 실험에 사용된 control 유전자로  $\beta$ -actin 및 vitellogenin (VTG) 전사산물을 정량화하여 각각 결과의 보정 및 positive control로서 활용하였다.

### 결과 및 요약

조피볼락의 뇌하수체로부터 GTH $\alpha$ , FSH $\beta$ , LH $\beta$ 의 full-length cDNA 염기서열을 결정하였다. GTH $\alpha$ 는 경골어류 중 sea bass (*Dicentrarchus labrax*), red seabream (*Pagrus major*), grouper (*Epinephelus coioides*), striped bass (*Morone saxatilis*)의 GTH $\alpha$ 와 89~90%, FSH $\beta$ 는 sea bass, grouper, striped bass, red seabream의 FSH $\beta$ 와 80~82%, LH $\beta$ 는 grouper, striped bass, sea bass, Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*)의 LH $\beta$ 와 각각 86~91%의 상동성을 기록하였으므로, 3개의 GTH subunit 염기서열은 조피볼락의 것으로 판단된다.

조피볼락의 LH $\beta$ 는 NP처리 12시간 후 급격한 증가를 보였으나 24시간 및 48시간 후에는 뚜렷한 변화를 보이지 않았다. 한편, GTH $\alpha$ 는 sampling time에 관계없이 일정한 수준을 유지하였으며, 내분비 장애물질의 표적유전자로 알려진 VTG는 24시간 후에 급격히 증가하는 경향을 보였다. NP계열의 내분비계 장애물질이 조피볼락의 뇌하수체호르몬 유전자발현을 선택적으로 증가시킬 가능성이 시사되었다.

### 참고문헌

- Querat B, Sellouk A, Salmon C. 2000. Phylogenetic analysis of the vertebrate glycoprotein hormone family including new sequences of sturgeon (*Acipenser baeri*) beta subunits of the two gonadotropins and the thyroid-stimulating hormone. Biol Reprod. 63(1):222-8.
- Suzuki K, Nagahama Y, Kawauchi H. 1988. Steroidogenic activities of two distinct salmon gonadotropins. Gen Comp Endocrinol. 71(3):452-8.
- Yaron Z, Gur G, Melamed P, Rosenfeld H, Elizur A, Levavi-Sivan B. 2003. Regulation of fish gonadotropins. Int Rev Cytol. 225:131-85.