

## 담수 및 해수사육한 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli*의 수온 상승에 따른 PEPCK 유전자 발현과 혈장 cortisol 및 glucose 변화

장영진 · 민병화 · 최철영<sup>1\*</sup>

부경대학교 양식학과, <sup>1</sup>한국해양대학교 해양·환경생명과학부

### 서 론

스트레스에 의한 glucose의 분비는 glucocorticoids의 자극에 의한 phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK)의 당신생(gluconeogenesis)을 통해 일어난다고 알려져 있다(Hanson and Reshef, 1997). 그러므로 PEPCK의 활성은 스트레스로 분비된 cortisol에 의한 당신생 능력을 나타내는 지표로 나타낼 수 있다.

감성돔, *Acanthopagrus schlegeli*은 광염성 경골어류로 염분내성과 관련된 연구를 하는 데 좋은 모델로 이용되고 있다. 따라서, 본 연구의 목적은 담수 및 해수사육한 감성돔을 대상으로 스트레스 요인(수온상승)에 따른 조직의 PEPCK 유전자 발현과 혈중 cortisol 및 glucose의 변화를 비교하고자 한다.

### 재료 및 방법

- 실험어 및 실험조건: 순환여과 사육시스템에서 담수순화시킨 후 담수(0 psu)에서 35일 지난 감성돔(14.3±0.4 cm, 51.0±6.0 g, 이하 담수돔이라 함) 30마리와 해수(33 psu)에서 사육하던 감성돔(14.4±0.2 cm, 48.6±0.6 g, 이하 해수돔이라 함) 30마리를 사용하였다. 담수돔 또는 해수돔을 온도조절 장치가 장착된 2개의 40 L 수조(20℃)로 옮겨 24시간동안 안정시켰으며, 이후 1℃/day로 30℃까지 수온을 상승시켰다. 실험기간동안 먹이는 공급하지 않았으며, 광주기는 12L:12D로 유지하였다. 혈액 및 조직은 20, 25, 30℃에 채취하였으며, 혈장과 조직(뇌, 간, 신장, 생식소, 장)을 분석 전 까지 -80℃의 초저온 냉동고에서 보관하였다.

- Total RNA 추출 및 cDNA 합성: -80℃에서 보관중인 간 조직을 사용하여 Total RNA Extraction Kit (Promega, USA)로 total RNA를 추출한 후, 방법에 의거 cDNA를 합성하였다.

- PCR에 의한 PEPCK cDNA의 합성: PEPCK cDNA 합성을 위한 mixed primer는 forward primer [5'-ATGTSATCCCCCTTCAGYATGG-3']와 reverse primer [5'-CGCCAGTTAAABGMCTCGTAC-3']로 설계하였다. PCR 반응에

있어 열변성은 94℃에서 1분간, 56℃에서 45초간, 72℃에서 45초간을 1주기로 총 35회 실시하고, 최종 신장반응은 72℃에서 5분간 실시하였다.

- PCR 산물의 전기영동 및 정량화: PCR 산물을 1.0% agarose gel로 전기영동하여, 조직내 PEPCK mRNA의 발현량을  $\beta$ -actin의 발현량에 대한 비율로 환산하여 정량화하였다.

### 결과 및 요약

20℃에서 담수돔과 해수돔의 PEPCK mRNA는 발현은 신장 이외의 조직에서 발현되지 않았다. 그러나 30℃에서는 담수돔의 간에서 가장 높은 발현을 보였으며, 신장과 장의 발현량은 20℃의 신장 발현량과 차이를 보이지 않았다. 해수돔은 간에서 PEPCK mRNA가 처음으로 발현되었지만, 신장에서의 발현량과는 차이가 없었다(Fig. 1).

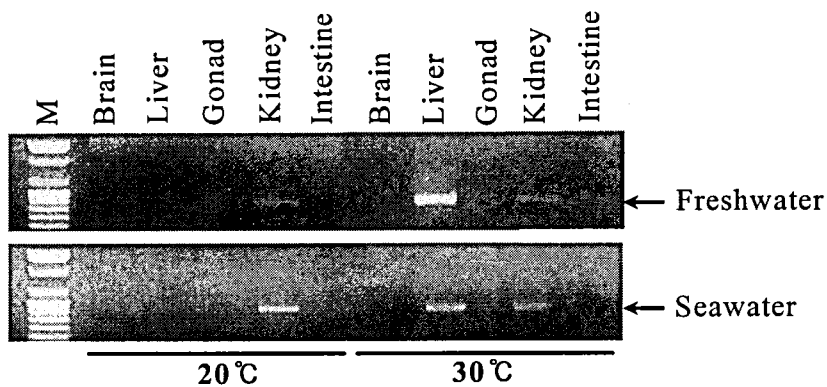


Fig. 1. Tissue specificity of PEPCK mRNA expression in black porgy reared in freshwater and seawater .

담수돔과 해수돔의 혈장 cortisol은 20℃에서 각각  $6.5 \pm 0.7$ ,  $8.7 \pm 1.4$  ng/ml였던 것이 30℃에서는  $106.6 \pm 29.9$ ,  $47.1 \pm 11.7$  ng/ml로 증가하였다. glucose 역시 20℃에서 각각  $49.5 \pm 6.5$ ,  $54.6 \pm 2.5$  mg/dl였던 것이 30℃에서  $91.0 \pm 14.0$ ,  $70.8 \pm 2.3$  mg/dl로 증가하였는데, 이러한 결과는 cortisol의 간 자극에 의한 PEPCK의 당신생합성으로 추정된다.

### 참고문헌

Hanson, R.W. and L. Reshef, 1997. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) gene expression. *Ann. Rev. Biochem.* 66, 581-611.

\*Corresponding author: choic@bada.hhu.ac.kr