

담수사육한 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli*의 수온 스트레스 요인에 따른 HSP90, HSP70 유전자의 발현양상 비교

최철영* · 안광욱 · 민병화¹ · 장영진¹

한국해양대학교 해양환경 · 생명과학부, ¹부경대학교 양식학과

담수사육한 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli*의 수온 스트레스 요인에 따른 HSP90, HSP70 유전자의 발현양상 비교

최철영* · 안광욱 · 민병화¹ · 장영진¹

한국해양대학교 해양환경 · 생명과학부, ¹부경대학교 양식학과

서 론

Heat shock proteins (HSPs)은 스트레스를 받으면 모든 개체에서 발현하는 가장 잘 보존된 단백질이다. HSPs는 열, 혈관수축에 의한 빈혈, 중금속, 에탄올, 니코틴, 활성산소 등 다양한 환경적, 생리적인 스트레스로부터 세포를 보호함으로써 세포의 항상성을 유지하는 중요한 역할을 담당하는 유전자로 알려져 있다(Beckmann et al., 1990).

따라서 본 연구에서는 담수에서 사육한 감성돔을 대상으로 스트레스 요인(수온상승)에 따른 조직별 HSP90과 HSP70 유전자의 발현양상을 비교·검토하고자 한다.

재료 및 방법

- 실험어 및 실험조건 : 순환여과 사육시스템에서 담수순화시킨 감성돔(14.4±0.2 cm, 48.6±0.6 g) 30마리를 사용하였다. 초기 수온은 20℃로 하였으며 이후 1℃/day씩 30℃까지 상승시켰다. 실험기간 동안 먹이는 공급하지 않았으며, 광주기는 12L:12D로 유지하였다. 조직은 20℃, 30℃ 실험구에서 각각 채취하였고, 분석 전까지 -80℃의 초저온 냉동고에 보관하였다.

- Total RNA 추출 및 cDNA 합성 : -80℃에 보관중인 조직에서 RNAgents Total RNA Isolation System (Promega)를 사용하여 total RNA를 추출하였다. Total RNA 추출 후, 상법에 의거 cDNA를 합성하였다.

- PCR법에 의한 HSP90 cDNA의 합성을 위한 mixed primer의 설계는 forward primer [5'-AAYGACTGGGARGAHCACYTG-3']와 reverse primer [5'-CATGATBCKCTCCATGTTBGC-3']로 작성하여 RT-PCR을 실시하였다.
- PCR법에 의한 HSP70 cDNA의 합성을 위한 mixed primer의 설계는 forward primer [5'-CCCTGCCTACTTCAACGATTCA-3']와 reverse primer [5'-AACGAGCCCTGGTGATGGAG-3']로 작성하여 RT-PCR을 실시하였다.
- PCR 산물의 전기영동 : PCR 산물을 전기영동하여, 조직내 HSP90과 HSP70 유전자의 발현량을 β -actin의 발현량에 대한 비율로 환산하여 정량하였다.

결과 및 요약

1. HSP90 mRNA의 발현

20°C 실험구의 담수순화 감성돔의 모든 조직에서 HSP90 mRNA가 발현되었다. 30°C 실험구의 모든 조직에서 HSP90 mRNA의 발현이 관찰되었으며, 20°C 실험구와 비교한 결과, 모든 조직에서 HSP90 mRNA의 발현이 높게 나타났다.

2. HSP70 mRNA의 발현

20°C 실험구의 담수순화 감성돔의 어느 조직에서도 HSP70 mRNA의 발현이 관찰되지 않았으나, 30°C 실험구에서는 생식소에서 유일하게 HSP70 mRNA의 발현이 나타났다. 스트레스 지표 유전자인 HSPs는 온도에 의해 조직별 발현의 차이가 인정되며, HSPs 유전자의 발현을 조절하는 메커니즘은 서로 다르다는 것을 알 수 있다.

참고문헌

Beckmann, R.P., Mizzen, L.E., Welch, W.J., 1990. Interaction of HSP70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly. *Science* 248, 850-854.

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