

검정망둑, *Tridentiger obscurus*의 난모세포 배양계를 이용한 Estradiol의 생성과 GVBD에 미치는 Xenoestrogens의 효과

황인준, 백혜자, 박창범¹, 이영돈¹, 김형배²

부경대학교 자원생물학과, ¹제주대학교 해양과 환경연구소, ²강원도립대학 해양생물자원개발과

서론

공업용 세제로 사용되는 NP (nonylphenol), 유산방지제로 널리 사용되었던 DES (diethylstilbestrol), 전기절연체로 사용되는 PCBs (polychlorobiphenyl)를 포함하는 내분비장애물질들은 특히 수서생물의 생식과 관련하여 에스트로젠 기능을 모방함으로써 내분비 기능에 심각한 영향을 끼칠 수 있다고 보고되고 있다 (Colburn et al., 1997). 본 연구에서는 제주도 연안에서 채집된 검정망둑의 난모세포를 이용하여 *in vitro* 배양을 통해 생성되는 스테로이드 호르몬을 밝히고 에스트로젠성 내분비 장애물질인 NP와 DES가 estradiol 생성과정과 최종성숙과정 (GVBD : germinal vesicle break down)에 어떤 영향을 미치는지 알아보려고 한다.

재료 및 방법

실험어는 산란기 (5~6월)에 제주 연안에서 채집한 전장 8.0~10.3 cm, 체중 7.22~13.44 g의 어체를 대상으로 하였다 (난경=0.53~0.75 mm). 검정망둑의 난모세포로부터 생성되는 스테로이드 호르몬을 동정하기 위하여 난모세포 분리 후 방사표지된 전구체인 [³H]17 α -hydroxyprogesterone (Amersham)와 내분비교란물질인 NP (Aldrich)와 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126, Accustandard)을 각각 10, 100ng/ml의 농도로 첨가하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 스테로이드 호르몬을 추출하고 TLC (thin layer chromatography)와 BAS bio-imaging analyzer를 통해 분리 및 동정하였다. 이와는 별개로 난경이 0.75 mm인 난모세포를 내분비교란 물질 NP와 DES (Sigma)를 첨가하여 이들 물질에 의한 GVBD 효과 유무를 관찰하였으며 난경 0.53 mm인 난모세포도 같은 방법으로 배양 후 배양계에 분리된 estradiol-17 β (E₂)의 농도를 방사면역측정법 (Radioimmunoassay)으로 측정하였다.

결과 및 고찰

실험결과 주요 대사 호르몬은 0.75 mm의 난경에서는 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17 α 20 β OHP), E₂, androstenedione (A4) 그리고 testosterone (T)이, 0.53 mm의 난경에서는 E₂, A4 그리고 T가 분리되었다. GVBD 효과에 있어서는 NP 처리구는 0.1과 1 ng/ml, DES 처리구는 0.01, 1 그리고 10 ng/ml의 농도로 첨가되었을 때 GVBD가 저해되었다 ($p < 0.05$). RIA의 결과, 난황형성 단계에서는 NP 10 그리고 100 ng/ml 처리구에서 E₂ 생성의 촉진효과를 나타내었으며 DES 처리구에서는 모든 농도에서 촉진효과를 보였다 ($p < 0.05$). 성숙단계에서는 DES 0.1 ng/ml의 농도에서 E₂ 생성을 저해하였으며 NP 처리구는 E₂ 생성에 유의한 효과를 보이지 않았다 ($p < 0.05$).