

## 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)의 Cytochrome P450 Aromatase (CYP19) 유전자 염기 서열 및 발현량 분석

김주영, 김상훈, 권준영

선문대학교 해양생명과학과

### 서론

Aromatase는 cytochrome P450 enzymes에 속하며 체내에서 성스테로이드 호르몬의 생합성 경로에 관여하여 androgen을 estrogen으로 전환시키는 역할을 한다. 대부분의 포유류나 조류는 한가지 종류의 aromatase 유전자를 가지는 것으로 밝혀져 있다. 그러나 어류에서는 이와 달리 두 종류의 aromatase 유전자가 존재하는 것으로 알려져 있다. 하지만 지금까지 어류 aromatase에 관한 연구들은 난생 어류에 국한되어 있어 태생 어류의 aromatase 유전자에 대한 특징은 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 해산 태생 어류인 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)으로부터 두 종류의 cytochrome P450 aromatase (CYP19) 유전자를 cloning한 후, 번식 단계별로 이 두 유전자의 발현량 차이를 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 조피볼락 Ovarian Aromatase와 Brain Aromatase의 cDNA Cloning

조피볼락 성어의 생식소와 뇌에서 total RNA를 추출한 후, cDNA를 합성하였다. 타 어종의 aromatase 유전자 염기서열을 분석하여 중간 보존도가 높은 영역의 정보를 기초로 각 유전자에 대한 degenerate primers를 제작하였다. 이 primer들을 이용하여 각 유전자에 대한 partial cDNA 단편을 얻은 후, 5' - 및 3' - rapid amplification of cDNA ends (RACE) Kit (clontech, USA)를 이용하여 각 유전자의 coding sequence 전체를 cloning 하였다.

#### 2. 번식 단계별 Aromatase 유전자들의 발현

서로 다른 시기에 얻어진 조피볼락의 생식소들(주변인기, 초기 난황 형성기, 후기 난황 형성기, 체내 발생기, 출산 이후)을 조직학적 및 분자 생물학적으로 분석하여 번식단계에 따른 aromatase 유전자들의 발현량 차이를 조사하였다. 각 생식소 표본의 일부는 파라핀 상법에 의해 포매처리하고 Hematoxylin & Eosin

이중 염색 후, 검경하여 번식 단계를 구분하는데 사용하였다. 나머지 표본은 급속 냉동 후, total RNA를 추출한 다음, semi-quantitative RT-PCR 분석을 통한 유전자 발현량 조사에 이용하였다.

#### 결과 및 고찰

조피볼락의 생식소와 뇌로부터 각각 ovarian aromatase와 brain aromatase 유전자를 cloning 하고, cDNA 염기서열을 결정하였다. Ovarian aromatase coding sequence는 1548bp였고, brain aromatase coding sequence는 1497 bp였다. 두 aromatase 유전자는 European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)의 각 aromatase 유전자와 상동성이 가장 높았다(89%). 번식 단계별로 두 aromatase 유전자들의 발현을 조사한 결과, 두 유전자 모두 후기 난황형성기에서 발현량이 가장 많았으며, 조사한 모든 번식 단계에서 ovarian aromatase의 발현량이 brain aromatase 발현량 보다 많았다. 본 연구에서는 태생 어류인 조피볼락도 두 종류의 aromatase 유전자를 가지며, ovarian aromatase 유전자 발현이 이 종의 번식 활동과 밀접한 관련이 있음을 확인하였다.