

## Molecular Characterization and Expression Analysis of Peroxiredoxin 2 cDNA from Abalone (*Haliotis discus hannai*)

Ji Young Moon, Eun Hee Park, Hee Jeong Kong, Young-Ok Kim, Dong-Gyun Kim, Cheul Min An and Bo-Hye Nam\*

Biotechnology Research Division, NFRDI, Busan 619-705, Korea

Received October 20, 2014 / Revised November 28, 2014 / Accepted December 9, 2014

Peroxiredoxins (Prxs) are a ubiquitous family of antioxidant enzymes that participate in a variety of biological processes, including H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated signal transduction, molecular chaperoning, and mitochondrial function. In this study, we isolated and characterized a Prx 2 cDNA from abalone (*Haliotis discus hannai*). The abalone Prx 2 cDNA encoded a 199-amino acid polypeptide that belongs to a class of typical 2-Cys Prxs that contain peroxidatic and resolving cysteines. The deduced abalone Prx 2 protein showed strong homology (64-99%) with Prx 2 proteins from other species, including mollusk, fish, amphibians, and mammals, and it was most closely related to disk abalone (*H. discus discus*) Prx 2. Abalone Prx 2 mRNA was ubiquitously detected in tested tissues, and its expression was comparatively high in the mantle, gills, liver, foot, and digestive duct. The expression level of abalone Prx 2 mRNA was 106.7-fold, 51.9-fold, and 437.8-fold higher, respectively, in the gills, digestive duct, and liver than in the muscles. The expression level of abalone Prx 2 mRNA in the liver peaked at 6 hr postinfection with *Vibrio parahaemolyticus* and decreased at 12 hr postinfection. The expression level of abalone Prx 2 mRNA in hemocytes was drastically increased at 1 hr postinfection with *V. parahaemolyticus*. These results suggest that abalone Prx 2 is conserved through evolution and that it may play a role similar to that of its mammalian counterpart.

**Key words** : Abalone, *Haliotis discus hannai*, peroxiredoxin, reactive oxygen species, *Vibrio parahaemolyticus*

### 서 론

산화스트레스는 독성 산화물질의 축적, 병원균 감염, 염증 반응과 같이 활성산소(Reactive oxygen species, ROS)의 생성으로 유발되며 높은 산화스트레스는 핵산과 단백질과 같은 세포 내 구성요소에 심각한 손상을 준다[17, 18]. 생명체는 산화스트레스로부터 세포를 보호하기 위하여 peroxiredoxins (Prxs), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD)와 같은 항산화효소를 이용한 생체방어 메커니즘을 발달시켰다[17, 44, 49]. Prx는 thioredoxin (Trx), thioredoxin reductase (TrxR), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form, NADPH)의 존재 하에서 과산화수소를 환원시키는 항산화효소인 peroxidase family 중 하나이다[22, 47, 48]. 최근에는 Prx가 세포 내 과산화수소의 신호조절인자 또는 redox sensor로 작용한다는 보고가 있다[39, 40].

Prxs는 효모에서 처음 보고된 후, 미생물부터 식물, 동물에

도 존재하고 있음이 밝혀졌다[4, 5, 31, 45]. Prxs는 종에 따라 그리고 조직에 따라 발현되는 동형(isoform)이 다르며, 현재까지 알려진 포유류의 Prx에는 6가지 동형(1-6)이 있다. Prx 1과 2는 주로 세포질에 존재하며, Prx 3은 미토콘드리아 내에 있고, Prx 4는 세포 밖으로 분비되며, Prx 5는 미토콘드리아 및 퍼옥시솜(peroxisome)에, Prx 6은 주로 세포질에 존재한다[1, 14, 21, 46, 48]. 포유류의 Prx는 cysteine잔기의 수에 따라 크게 2-Cys Prxs와 1-Cys Prx로 구분되고 촉매 반응의 메커니즘에 따라 2-Cys Prxs는 다시 typical 2-Cys Prxs (Prx 1-4), atypical 2-Cys Prxs (Prx 5)로 분류된다[10, 11, 14, 22, 43, 48]. Typical 2-Cys Prxs에는 가장 일반적으로 알려진 Prx로 Prx 1부터 4가 포함되며 N-말단과 C-말단 부위에 2개의 cysteine잔기를 가지며 두 종류의 subunit간에 disulfide bond를 형성하면서 dimer를 이루는 것이 특징이다[22]. Atypical 2-Cys Prx는 Prx 5가 포함되며 2개의 cysteine잔기를 갖지만 typical 2-Cys Prx와 달리 내부의 disulfide bond를 형성해서 monomer형태로 작용한다는 것이 특징이다[14, 43]. 마지막으로 1-Cys Prxs에는 Prx 6가 포함되며 N-말단에 하나의 cysteine (peroxidatic Cys) 잔기를 가지며 효소의 다른 cysteine잔기와 disulfide bond를 형성하지 않아 thioredoxin에 의한 과산화물의 환원이 일어나지 않는다는 차이가 있다[10].

진핵생물의 typical 2-Cys Prxs는 항산화효소로 작용할 뿐만 아니라 과산화수소에 의한 세포 내 신호전달을 조절하고

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-720-2452, Fax : +82-51-720-2456

E-mail : nambohye@korea.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

면역반응에 관여한다[24, 25, 39, 40]. 사람의 Prxs는 세포내 신호전달계와 상호작용하여 tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ 에 의해 유도되는 nuclear factor (NF)- $\kappa$ B 전사활성을 조절할 뿐만 아니라 platelet-derived growth factor (PDGF)와 epidermal growth factor (EGF) 자극에 의한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성을 억제하기도 한다[27]. 또는 apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)과 상호작용하여 ASK 1 신호전달을 억제하거나, c-Myc의 타겟유전자의 발현을 억제하고, Toll-like receptor (TLR 4)와 상호작용하여 TNF- $\alpha$ 와 interleukin (IL)-6와 같은 염증성 cytokine의 분비를 촉진한다[29, 41]. Prxs는 항산화효소로 작용하지만 어류를 포함한 해양생물에서는 natural killer cell enhancing factors (NKEF)로도 알려져 있다[7, 8, 16, 28, 34].

전복(*Haliotis discus*)은 예로부터 고급 식재료로 소비되어 왔으며 최근 중국의 해산물 소비 증가에 따라 해양수산부에서 10대 전략 수출 품목으로 지정되었다(Korean National Statistical Office, 2012). 해상가두리 양식을 통한 전복 생산량 증가로 우리나라는 중국에 이어 세계 2위의 전복 생산국이나 해상가두리 양식에 의한 대량 폐사로 인해 안정적 생산에 어려움이 있다. 전복의 대량 폐사의 원인으로 수온, 부유토사와 같이 유생 단계의 부착 문제뿐만 아니라 유생 단계 이후 병원균의 감염이 주요 원인으로 작용하고 있다[30, 42]. 최근에는 감성돔(*Sparus aurata*), 연어(*Salmo salar*), 방어(*Seriolala landi*), 까막전복(*Haliotis discus discus*)과 같은 해양생물의 Prx가 보고되고 있다[33, 34, 37, 38]. 감성돔과 연어에서 대사스트레스와 병원균감염에 의한 Prx의 발현 변화[34, 37]와 까막전복에서의 과산화수소 자극에 의한 Prx의 발현변화가 보고된 바 있으나[38], 참전복에서 병원균감염에 의한 항산화효소의 발현 및 기능에 대한 연구는 부족한 실정이다.

본 연구에서는 참전복(*Haliotis discus hannai*)의 Prx 2 유전자의 단편을 대용량 염기서열 분석으로 확보한 후, 유전자의 전체 염기서열을 확인하고 아미노산 서열을 분석하였다. 정상 전복조직에서 Prx 2 mRNA의 발현과 비브리오균을 감염시킨 전복의 간체장과 혈구에서 시간에 따른 Prx 2의 발현변화를 분석하였다. 본 연구를 통하여 참전복의 선천성면역 반응에 관한 기초 자료로 활용하고자 하며 향후 병원균 감염에 대한 바이오마커로의 활용 가능성에 대해 알아보하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

본 연구에 사용된 참전복(*Haliotis discus hannai*)은 국립수산과학원 육종연구센터에서 공급받아, 40리터 수조 내에서 18~20°C의 흐르는 해수에 일주일간 순치시킨 후, 외관상 건강한 개체(평균 중량; 50 g, 평균 각장; 62 mm, 평균 각폭; 45 mm, 평균 각고; 15 mm)를 선별하여 사용하였다.

### 미생물 배양 및 감염

*Vibrio parahaemolyticus*는 25°C에서 brain-heart infusion medium (BD Biosciences, USA) 배지에 배양하였다. 배양된 균은 phosphate buffered saline (PBS)에 희석한 후 sub-lethal dose (1.2×10<sup>8</sup> cells)의 농도로 근육 주사하였으며, 대조군은 동량의 PBS를 근육 주사하였다. 균을 주사한 후 0, 1, 3, 6, 9, 12시간마다 세마리씩 선별하여 외투막, 아가미, 근육, 폐각근, 간체장, 족부, 소화관 조직을 적출하였다. 그 후 즉시 액체질소로 고정하였으며 RNA 분리를 위해 -80°C에 보관하였다. 혈액은 주사기로 채취한 후 원심분리(4°C, 3,000 rpm, 5분)로 혈구 세포만을 분리하여 액체질소에 고정한 후 다른 조직과 마찬가지로 RNA 분리를 위해 -80°C에 보관하였다.

### 참전복 Prx 2 유전자의 전장 cDNA 클로닝

참전복 조직(외투막, 아가미, 근육, 간체장, 혈구)에서 RNAseq 분석을 수행하였다(data not shown). De novo assembly를 진행한 후 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)을 이용한 대용량 시퀀스 분석을 통하여, 까막전복 Prx 2 유전자(EF103377.1)와 아미노산 수준에서 상동성을 가지는 약 303 bp의 Prx 2 cDNA단편을 찾았다. 전장 Prx 2 cDNA 클로닝을 위해서, 303 bp의 Prx 2 cDNA단편의 염기서열을 기초로 한 Prx 2 유전자 특이프라이머를 디자인하였으며 (Prx 2 ORF-F1 : 5'-ATG GCC CAA GTC GGA AAC CTC CA-3', Prx 2 ORF-F2 : 5'-ATG AAG ATT CCT CTC CTG GC-3', Prx 2 ORF-R : 5'-TCA GTT GAC CTT GGA GAA GT-3'), SMART RACE cDNA amplification kit (Clontech)를 이용하여 5'-과 3'-말단의 염기서열을 확보하였다. 확보된 5'-과 3'-말단의 유전자 단편을 pGEM-T easy vector (Promega)에 클로닝하여, *Escherichia coli* strain XL1-blue로 형질전환하였다. Plasmid purification kit (Intron)로 plasmid를 정제한 후 자동염기 서열분석기(AB-3730XL, Applied Biosystems)로 염기서열을 결정하였다.

### RNA 분리 및 RT-PCR 과 qPCR을 이용한 발현분석

-80°C에 보관한 각각의 샘플은 TRIzol reagent (Invitrogen)를 사용하여 RNA를 분리하였다. 1 ug의 RNA로부터 transcriptor first strand cDNA synthesis kit (Roche)와 oligo (dT) primer를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 참전복의 조직에서 Prx 2 유전자의 발현은 cDNA 서열을 기초로 제작한 프라이머를 이용하여 RT-PCR과 quantitative real time-PCR (qPCR)로 확인하였다. 내재 표준 유전자로는 참전복 18S rRNA 유전자 accession no. AY319433; 18S rRNA F : 5'-CTC ACG GAA AGA GCG CGT TTA-3', 18S rRNA R : 5'-GAC TTG CCC TCC AAT AGA TC-3')를 사용하였다. RT-PCR 조건은 다음과 같다: Pre-denaturation 95°C, 5분; denaturation, annealing, extension 각각 95°C 30초, 55°C 30초, 72°C 30초, 35회; ex-

tention 72°C, 10분. 증폭된 PCR산물은 ethidium bromide (100 ng/ml)이 섞인 3% 아가로스젤에 전기영동하여 확인하였다. qPCR은 FastStart DNA Master SYBR Green I을 이용하여 LightCycler system (Roche Diagnostics)에서 수행하였다. qPCR 조건은 다음과 같다: Taq activation step, 95°C, 10분; denaturation, annealing, extension 각각 95°C 10초, 57°C 5초, 72°C 30초; 40회 반복. PCR cycle이 끝난 후, 온도를 단계적으로 증가시켜 melting-curve를 분석하였다. 참전복 Prx 2 유전자의 상대적인 발현량은  $2^{-\Delta\Delta CT}$  방법[32]으로 결정하였고 참전복 18S rRNA 유전자를 내재 표준 유전자로 이용하였다. 모든 실험은 3반복하였으며 데이터는 mean  $\pm$  SD로 나타내었다.

### 바이오인포메틱스 분석

참전복의 전장 Prx 2 cDNA 염기서열을 완성하기 위하여 Prx 2 단편과 5'- 및 3'-Rapid amplification of cDNA ends (RACE)로부터 확보된 염기서열을 조합하는 작업과 이로부터 아미노산 서열을 유추하는 작업은 GENETYX8.0 (SDS Software Development, Japan) 프로그램을 이용하였고, 등전점과 분자량 예측은 ExPASy 웹사이트([http://web.expasy.org/compute\\_pi/](http://web.expasy.org/compute_pi/))에서 예측된 아미노산 서열을 이용해서 분석하였다. Prx 2의 염기서열과 아미노산서열의 비교를 위해 NCBI의 BLAST 프로그램을 사용하였다. NCBI 데이터베이스에서 연체동물문에 속하는 생물 및 기타 생물들의 유사서열을 찾은 후, 상동성이 높은 아미노산 서열을 참고서열로 활용하였다. 참전복의 Prx 2와 참고서열을 MEGA 4.0 프로그램의 CLUSTALW 모듈을 이용하여 다중서열비교를 수행하였으며, phylogenetic analysis는 아미노산 서열에 기초한 Neighbor-Joining 알고리즘으로 분석하여 제작하였다.

## 결 과

### 참전복 Prx 2 cDNA 염기서열 및 아미노산서열 분석

참전복(*Haliotis discus hannai*)의 대용량 유전체 분석 사업을 통하여 100개의 아미노산을 코딩하는 303 bp의 Prx 유전자 염기서열 일부를 확보할 수 있었다. BLAST search 결과, 확보된 염기서열은 참전복의 thioredoxin peroxidase 유전자의 부분서열(accession no. DQ118780.1)과 까막전복의 thioredoxin peroxidase 2 유전자(accession no. EF103377.1)와 99%의 상동성을 보였다. 확보된 303 bp의 염기서열을 바탕으로 유전자 특이프라이머를 제작한 후, 이를 이용하여 5'- 및 3'-RACE 방법으로 총 1,052 bp의 전장 cDNA를 완성하였다. 참전복 Prx 유전자는 597 bp의 open reading frame (ORF)에 199개의 아미노산을 코딩하고 있었으며 81 bp의 5'-untranslated region (UTR)과 371 bp의 3'-UTR로 구성되었다. ORF로부터 번역된 아미노산 서열을 BLASTP 프로그램으로 분석한 결과 참전복 Prx는 두 개의 cysteine 잔기를 가진 typical 2-Cys Prx로 밝혀

졌다(Fig. 1). ExPASy ([http://web.expasy.org/compute\\_pi/](http://web.expasy.org/compute_pi/)) 웹사이트에서 분자량과 등전점을 분석한 결과 분자량은 22 kDa으로 등전점은 7.58로 예측되었다.

Motif scan 프로그램을 이용하여 참전복 Prx의 아미노산 서열을 분석한 결과, peroxiredoxin의 특징적인 motif 두 군데를 발견할 수 있었다. 효소활성을 조절하는 motif I (FYPLDFTFVCP-TEI)과 motif II (GEVCPA)가 존재하였으며, 각각의 motif 내의 52, 173번 위치에 효소활성에 중요한 역할을 하는 2개의 cysteine 잔기가 보존되어 있었다(Fig. 1). 일반적으로 Prxs는 cysteine 잔기의 수와 위치에 따라 분류하며 typical 2-Cys Prx는 과산화 활성을 갖는 cysteine 잔기가 peroxidatic Cys는 50번, resolving Cys는 170번 근처에 위치하므로 참전복 Prx는 typical 2-Cys Prx로 볼 수 있다. Cysteine 잔기 외에도 N-말단의 cysteine 잔기 근처에 존재하면서, 주변의 과산화수소와 반응하기 쉽도록 loop-helix 구조를 안정화시켜 효소활성을 증가시킨다고 알려진[11, 19, 36] Pro44, Thr48 그리고 Arg127 잔기가 존재하였다(Fig. 1). 또한 참전복 Prx 2의 N-말단 부위에는 올리고머화(oligomerization)에 매우 중요한 motif I, region I과 region II가 잘 보존되어 있었다(Fig. 2). 이외에도 높은 농도의 과산화물질로 인한 Prx 2의 과다활성화를 억제시키는 GGLG motif와 YF motif가 존재하였다(Fig. 2).

### 참전복 Prx 2의 multiple sequence alignments와 phylogenetic analysis

BLASTP 프로그램을 이용하여 참전복의 Prx 아미노산 서열을 NCBI 데이터베이스와 비교해 본 결과, 패류(ABO26635.1), 어류(ABW88997; AFX74861), 개구리(NP001085414), 초파리(AAF42986), 쥐(NP035693; AAH58481), 양(NP001159672), 돼지(NP001231403), 소(AAG53659), 사람(NP005800)를 포함한 다른 종과 약 64~99%의 유사성을 보였다(Table 1). 특히 참전복 Prx 2는 까막전복(*Haliotis discus discus*), 진주조개(*Pinctada fucata*) 그리고 귀이빨대칭이(*Cristaria plicata*)와 각각 99, 77, 80%의 유사성을 보였다(Table 1). NCBI 데이터베이스에서 18개의 참고 서열을 선정하고 Clustal W 프로그램으로 multiple sequence alignments를 구축하여 비교해 본 결과, Prx의 특징적인 motif I, II, 그리고 N-말단과 C-말단의 cysteine 잔기 또한 종간에 매우 보존되어 있었다(Fig. 2). Multiple sequence alignments 결과를 토대로 MEGA 4 프로그램을 이용하여 참고서열과의 계통관계를 분석해본 결과, 크게 포유류와 양서류, 어류와 무척추동물군으로 나누어졌고 참전복 Prx 2는 연체동물과 갑각류와 하나의 그룹을 형성했다(Fig. 3).

### 참전복 조직에서 Prx 2 mRNA 발현 분석

참전복 조직에서 Prx 2 유전자의 mRNA 발현을 확인하고 병원균 감염에 따른 Prx의 발현변화를 분석함으로써 Prx 2의 기능을 알아보기 위해 qPCR을 수행하였다. 참전복 Prx 2의

AGACTGTCACGTGACCCGAA

CATTTCGTCCATCTATCGTTCGACCGGTAACCTCTCGAACTTCATCTGTAATTTGATCACC  
ATGGCCCAAGTCGGAAACCTCCAATTGACGAAACCTGCCCTGAATTCAGTGCAAAGGCT 60  
 M A Q V G N L Q L T K P A P E F S A K A

ATGTCAATGGTGAATTCAAAGATGTCAAAGTGTCAAGTGTGACTACAGGGGAAATATGTTGTC 120  
 I V N G E F K D V K L S D Y R G K Y V V

TTATTTTCTACCCCTAGACTTCACGTTTGTCTGCCCAACAGAAATATTGCATTTCAGC 180  
 L F **F Y P L D F T F V C** P T E I I A F S

GATCGGTCTGAAGAGTTCAAAGCATCAACTGTGAGGTCCTTGGATGTTCAACAGACAGT 240  
 D R S E E F K S I N C E V L G C S T D S

GTGTACTCACATCTAGCAAGGATCAACACCCCGAGGAAGCAGGGTGGTCTTGGCAACATG 300  
 V Y S H L A R I N T P R K Q **G G L G** N M

AAGATTCCCTCTCCTGGCAGACAAGACAATGGAGATTTCCCGAAAATATGGCTGTCTGAAG 360  
 K I P L L A D K T M E I S R K Y G C L K

GAGACGAAGGAGTTGCATTTCAGAGGACTTTTCATCATTGATGACAAGGCCAACCTGCGC 420  
 E D E G V A F **R** G L F I I D D K A N L R

CAGATCACCATTAACGACCTCCCTGTTGGACGCTCAGTGGATGAGACCCTCAGACTTGTT 480  
 Q I T I N D L P V G R S V D E T L R L V

CAGGCATTCCAGTTCCTGACAAGCACGGAGAAGTTTCTCCTGCTGGATGGAAACCAGGC 540  
 Q A F Q F T D K H **G E V C** P A G W K P G

GCAGACACCATGAAGCCCGACCCCAAGGGCAGCCAGAACTACTTCTCCAAGGTCAACTGA 600  
 A D T M K P D P K G S Q N **Y F** S K V N \*

GGACTGAGGACGACATGCTTAGTCACGACAAGGGGATCAGAATCAAGGGCACAAACAG 660  
 CCTGCGGGGATTTGGACAACCTCAATAGTGTCTGCAAACTGGGAACAATGTCATCATGTGTC 720  
 AGGTTCCCTGCCATGATCAGTGACATTTGGCTGTTTGTGTAGTAACAGCTTCATCGTTCAA 780  
 CATACTGGCACAGGGGAGATAACTGCTGTGATATCTCATTCTTCACTTGATTTGGAGT 840  
 TGTTTATTGAAGACATTTGTTCTCTGTCCCCAGCTATGTTTATTGTTAAGGGCACAT 900  
 CTTAACTGTCCATGAAATAAATTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGTACTCTGCGTTA 960  
 TACCCTGCTT

Fig. 1. The full-length cDNA and deduced amino acid sequences of Prx 2 from abalone *Haliotis discus hannai*. Start (ATG) and stop codons (TAA) are underlined. The putative F motif (FYPLDFTVCPTEI) and the hydrophobic region (VCPXXW) are bold shaded. Conserved cysteines (in the motif I and hydrophobic region) are circled. The GGLG and YF motifs are bold underline. The polyadenylation signal sequence (AATAAA) is underlined in italics.

mRNA는 실험에 사용된 모든 조직에서 관찰되었으며 외투막, 아가미, 간췌장, 족부, 소화관에서 높게 근육에서 낮게 발현되

었다(Fig. 4A). 특히 아가미, 소화관과 간췌장에서 Prx 2의 발현양은 근육보다 106.7배, 51.9배, 437.8배 더 높았다. 병원균 감염으로 항산화효소의 발현이 유도되는지 알아보기 위해 비브리오 균을 감염시킨 후, Prx 2 mRNA의 발현을 확인해 보았다. 비브리오균을 감염시킨 참전복의 간췌장과 혈구세포에서 Prx 2의 발현이 유도되었다(Fig. 4B). 간췌장에서 참전복 Prx 2의 발현은 병원균을 감염시킨 후 3시간부터 발현이 유도되었고 6시간 뒤 약 1.6배까지 증가한 후 감소하였다. 혈구에서는 감염 후 1시간 뒤 약 2.25배 증가했다가 9시간까지 서서히 감소했다.

Table 1. Clustal W pair-wise identity results of abalone Prx 2 with selected Prx amino acid sequences

Species	Accession number	Identity (%)
Tpx 2 [ <i>Haliotis discus discus</i> ]	ABO26635.1	99%
Tpx [ <i>Cristaria plicata</i> ]	ADM88874	80%
Prx [ <i>Pinctada fucata</i> ]	ADC35419	77%
Prx 2 [ <i>Thunnus maccoyii</i> ]	ABW88997	74%
Prx 2 [ <i>Miichthys miiuy</i> ]	AFX74861	74%
Prx 2 [ <i>Sparus aurata</i> ]	ADI78065	73%
Prx 2 [ <i>Danio rerio</i> ]	NP001002468	72%
Prx [ <i>Salmo salar</i> ]	NP001134858	69%
Prx 2 [ <i>Sus scrofa</i> ]	NP001231403	73%
Prx 2 [ <i>Ovis aries</i> ]	NP001159672	71%
Prx 2 [ <i>Bos taurus</i> ]	AAG53659	71%
Prx 2 [ <i>Homo sapiens</i> ]	NP005800	70%
Prx 2 [ <i>Mus musculus</i> ]	NP035693	70%
Prx 2 [ <i>Rattus norvegicus</i> ]	AAH58481	70%
Prx 2 [ <i>Xenopus laevis</i> ]	NP001085414	64%
Tpx 2 [ <i>Drosophila melanogaster</i> ]	AAF42986	64%

### 고 찰

본 연구에서는 참전복의 Prx 2 염기서열을 동정하고 분석한 후 발현양상을 알아봄으로써 참전복 Prx 2의 기능을 알아보고자 하였다. 참전복의 597 bp 의 염기서열로부터 번역된 아미노산 서열에서 효소활성에 중요한 Prx의 특징적인 부분(motif I, motif II, region I과 region II)과 peroxidatic Cys와 resolving Cys를 포함한 주요 잔기들이 존재하였고 종간에 매우 보존되어 있었다. Prxs는 cysteine 잔기의 수와 위치에 따라 분류되며 Prx 활성에 중요한 잔기의 위치로 볼 때 참전복 Prx는 typical



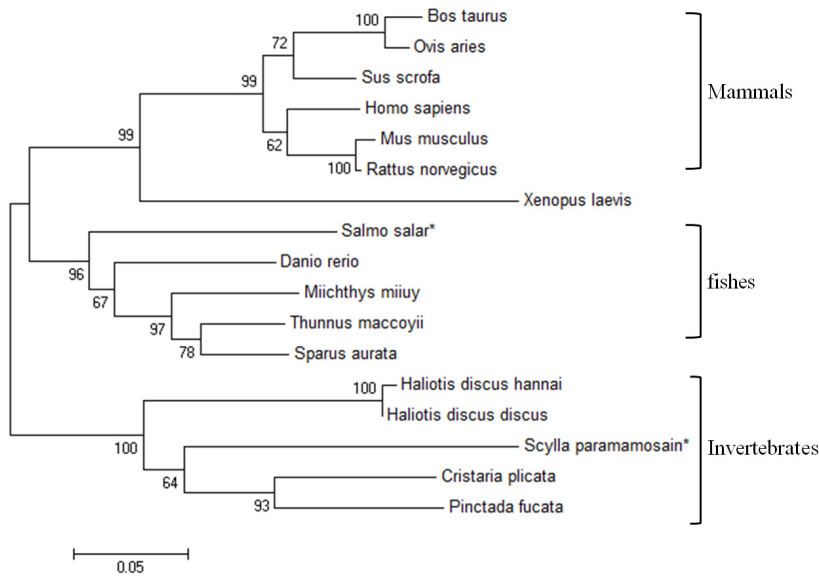


Fig. 3. Phylogenetic relationships of abalone Prx 2 proteins with those of other species, calculated using the neighbor-joining method. GenBank: human (*Homo sapiens*; NP 005800), mouse (*Mus musculus*; NP 035693), rat (*Rattus norvegicus*; AAH 58481), pig (*Sus scrofa*; NP 001231403), cow (*Bos Taurus*; AF305562), sheep (*Ovis aries*; NP 001159672), frog (*Xenopus laevis*; NP 001085414), zebrafish (*Danio rerio*; NP 001002468), salmon (*Salmo salar*; NP 001134858), croaker (*Miichthys miiuy*; AFX 74861), tuna (*Thunnus maccoyii*; ABW 88997), sea bream (*Sparus aurata*; ADI 78065) and shellfishes (*Pinctada fucata*; ADC35419, *Cristaria plicata*; ADM88874, *Scylla paramamosain*; ACO36036).

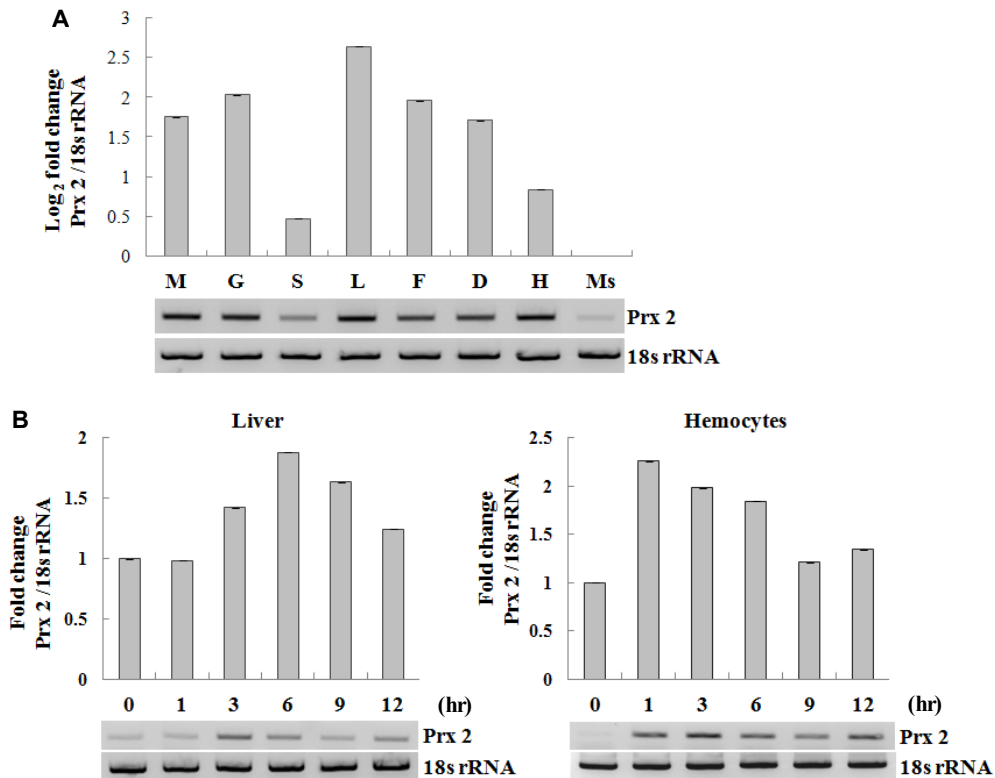


Fig. 4. Quantitative PCR of abalone Prx 2. (A) Tissue distribution of abalone Prx 2 mRNA. The level of abalone Prx 2 mRNA was quantified relative to that of 18S rRNA. To determine tissue-specific expression levels, the expression level in each tissue was compared to that in the muscle, arbitrarily defined as 1. (B) Expression level of abalone Prx 2 mRNA in the liver and hemocyte after *V. parahemolyticus* infection. Abalone Prx 2 expression levels were calculated relative to that in the liver or hemocyte of un-infected control, arbitrarily defined as 1. Data are presented as means  $\pm$  SD with three replicates from each sample. (M, Mantle; G, Gill; S, Shell muscle; L, Liver; F, Foot; D, Digestive duct; H, Hemocytes; Ms, Muscle)

2-Cys Prx로 볼 수 있다. 참전복 Prx 2는 근연관계의 연체동물과 갑각류와 서열의 유사도가 높았고 phylogenetic tree 분석 결과 무척추동물과 하나의 그룹을 형성하였다. Typical 2-Cys

Prx 단백질은 작용기전에 따라 sensitive형과 robust형의 두 가지 타입으로 나눌 수 있다[4, 47]. 포유류의 typical 2-Cys Prx의 대부분은 sensitive형으로 GGLG와 YF motif가 있으며

높은 농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 존재할 때 효소활성을 잃는 반면 원핵생물의 경우 robust형으로 보존된 motif가 없어서 높은 농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 있을 때에도 활성을 가진다[4, 47]. 그러므로 참전복 Prx 2 역시 외부의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>농도에 민감하게 반응할 수 있음을 시사한다. 염기서열과 아미노산 서열 분석결과를 볼 때, 참전복의 Prx 2는 typical 2-Cys Prx 타입으로 진화적으로 잘 보존되어 있었으며, 현재까지 보고된 포유류의 Prx 2와 유사한 기능을 할 것이라 예상된다.

참전복 Prx 2의 조직 내 발현을 확인해 본 결과, 까막전복과 돌돔 (*Oplegnathus fasciatus*)을 포함한 어류와 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 참전복 Prx 2의 mRNA는 정상조직의 외투막, 아가미, 간체장, 족부, 소화관에서 높게 발현되었다(Fig. 4). 이와 유사하게 Prx의 높은 발현은 참전복 외에도 까막전복과 돌돔의 아가미, 소화관 그리고 각시붕어의 소화관에서 보고된 바 있고[9, 28, 37, 38] 복어(*Tetraodon nigroviridis*), 은어(*Plecoglossus altivelis*), 돌돔의 간체장에서 Prx의 발현이 높다는 보고된 바 있다[7, 16, 28]. 특히 간체장의 경우 대사과정에서 생성되는 물질과 산화물질의 해독작용을 담당하는 다양한 효소를 생성하는 주요기관[20]으로 참전복 또한 간체장에서 Prx 2의 발현이 높은 것으로 생각된다.

병원균 감염으로 인한 패류의 면역반응으로 ROS 생성, 살균활성 변화, 식세포의 활성변화, 가수분해효소의 활성증가가 일어난다[2, 23, 26]. 그러나 과도한 양의 ROS는 산화스트레스를 유발하기 때문에 산화스트레스를 최소화하고 면역반응을 효율적으로 조절하기 위해 패류에도 항산화시스템이 존재한다[2, 23, 35]. 참전복에서 병원성미생물 감염에 따른 항산화효소의 발현변화를 확인해본 결과, 비브리오균을 감염시킨 참전복의 간체장과 혈구세포에서 Prx 2의 발현이 유도되었다(Fig. 4). 이와 유사하게 *Aeromonas hydrophila*에 감염된 은어와 각시붕어, *V. anguillarum*에 감염된 가자미(*Scophthalmus maximus*)와 새우(*Fenneropenaeus chinensis*)의 간체장에서도 병원균 감염 후 Prx의 발현이 증가한다는 보고가 있었다[7, 8, 9, 51]. 또한 병원균을 감염시킨 새우와 지중해담치(*Mytilus galloprovincialis*)의 혈구에서, 그리고 까막전복의 아가미와 혈구에서도 Prx를 비롯한 glutathione peroxidase (Gpx), SOD, CAT, Trx-2와 같은 항산화효소의 발현이 증가하였다[2, 13]. 지중해담치의 혈구에서는 *V. splendidus* 감염 후 CAT와 GST- $\pi$ 의 발현이 증가했으나 *V. anguillarum* 감염시켰을 경우 두 유전자의 발현이 크게 증가하지 않거나 늦게 증가하였다. 그러나 실제 효소활성은 두 종류의 병원균 감염 시 증가하였다[2]. 또한 까막전복의 경우 병원균 감염 시 아가미에서 SOD, CAT와 Gpx의 발현은 증가했으나 Trx-2의 발현은 감소하였다[13]. 병원균 감염 시 항산화효소의 mRNA 전사체의 발현이 변화한다는 것은 병원균 감염에 의한 산화스트레스 증가로 항산화효소의 전사가 증가할 것을 암시한다. 그러나 패류에서 병원균 감염 시 ROS가 생성되는 정도와 항산화효소의 발현과 활성은

종, 조직, 병원균의 종류에 따라 달랐고 mRNA발현 정도와 단백질 발현에도 차이가 있기 때문에 참전복 Prx 2의 발현뿐만 아니라 실제 효소활성도 알아보아야 할 것이며 특히 Prx와 같은 항산화효소의 경우 다양한 isoform이 있기 때문에 각 isoform의 발현과 활성에 대한 연구도 필요하다고 생각된다.

연체동물은 개방혈관계를 순환하는 혈구세포가 척추동물의 단핵구 혹은 대식세포와 유사한 구조와 기능을 하며 pathogen associated molecular patterns (PAMPs)을 인식하고 chemotaxis와 phagocytosis에 관여한다[12, 15, 26]. 특히 지중해담치의 혈구세포는 병원균 감염 시 외투막과 아가미로 이동하고 침투하였고 병원균과 상호작용한다는 연구결과가 보고된 바 있다[2]. 최근 연구에 의하면 포유류에서 transforming growth factor (TGF)- $\beta$ , IL-1과 같은 cytokine의 자극에 의해 Prx 2가 분비된다는 연구결과가 있었다[3, 6, 29]. TNF- $\alpha$ 와 IL-6과 같은 cytokine의 자극으로 세포 밖으로 분비된 Prx는 NK세포막의 TLR 4와 상호작용해서 NK활성을 증가시킨다[41]. 해양생물의 Prx 2는 NKEF로 알려져 있을 뿐만 아니라 참조기(*Pseudosciaena crocea*)의 Prx는 NF- $\kappa$ B의 활성을 감소시켜 pro-inflammatory response를 조절하고 미생물 감염으로부터 어류를 보호한다고 알려져 있다[50]. 그러므로 비브리오균 감염 시 전복 혈구에서 Prx의 발현이 증가하는 것은 참전복의 혈구 역시 병원균 감염에 의한 산화스트레스에 반응하며 Prx가 면역반응에 관여할 가능성을 시사한다. 실제 참전복 Prx 2가 간체장과 혈구세포에서 효소 활성을 갖는지, 그리고 전복의 혈구세포가 PAMPs를 인지하여 면역반응을 하는데 관여하는지에 대한 연구는 후속연구로 필요할 것이다.

본 연구결과를 정리해보면 참전복의 Prx 2는 아미노산 서열 상에 항산화효소의 특징을 잘 보존하고 있었으며, 병원균의 인위감염 후 시간에 따른 발현 변화를 관찰한 결과, 병원균 감염에 대한 면역반응에도 관여함을 알 수 있었다. 본 연구를 통해 무척추동물의 선천성 면역반응을 알아봄으로써 무척추동물에서 척추동물로의 선천성 면역시스템의 발달과정을 이해하는데 유용할 것이라 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 국립수산과학원의 전복유전체 분석 사업(RP-2014-BT-031)에 의해 이루어진 것입니다.

## References

- Alpey, M. S., Bond, C. S., Tetaud, E., Fairlamb, A. H. and Hunter, W. N. 2000. The structure of reduced tryptaredoxinperoxidase reveals a decamer and insight into reactivity of 2 Cys peroxiredoxins. *J Mol Biol* **300**, 903-916.
- Canesi, L., Barmo, C., Fabbri, R., Ciacci, C., Vergani, L., Roch, P. and Gallo, G. 2010. Effects of vibrio challenge on

- digestive gland biomarkers and antioxidant gene expression in *Mytilus galloprovincialis*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* **152**, 399-406.
3. Catterall, J. B., Rowan, A. D., Sarsfield, S., Saklatvala, J., Wait, R. and Cawston, T. E. 2006. Development of a novel 2D proteomics approach for the identification of proteins secreted by primary chondrocytes after stimulation by IL-1 and oncostatin M. *Rheumatology (Oxford)* **45**, 1101-1109.
  4. Cha, M. K., Kim, H. K. and Kim, I. H. 1995. Thioredoxin-linked "thiol peroxidase" from periplasmic space of *Escherichia coli*. *J Biol Chem* **270**, 28635-28641.
  5. Chae, H. Z., Kim, I. H., Kim, K. and Rhee, S. G. 1993. Cloning, sequencing, and mutation of thiol-specific antioxidant gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* **268**, 16815-16821.
  6. Chang, J. W., Lee, S. H., Lu, Y. and Yoo, Y. J. 2006. Transforming growth factor-beta1 induces the non-classical secretion of peroxiredoxin-I in A549 cells. *Biochem Biophys Res Commun* **345**, 118-123.
  7. Chen, J., Wu, H. Q., Niu, H., Shi, Y. H. and Li, M. Y. 2009. Increased liver protein and mRNA expression of natural killer cell-enhancing factor B (NKEF-B) in ayu (*Plecoglossus altivelis*) after *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish Shellfish Immunol* **26**, 567-571.
  8. Chen, Y., Zhang, Y. X., Fan, T. J., Meng, L., Ren, G. and Chen, S. L. 2006. Molecular identification and expression analysis of the natural killer cell enhancing factor (NKEF) gene from turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* **261**, 1186-1193.
  9. Choi, H. J., Kang, S. W., Yang, C. H., Rhee, S. G. and Ryu, S. E. 1998. Crystal structure of a novel human peroxidase enzyme at 2.0 Å resolution. *Nat Struct Biol* **5**, 400-406.
  10. Cho, H. K., Kong, H. J., Moon, J. Y., Kim, J. D., Kim, D. G., Kim, W. J., Nam, B. H., Kim, Y. O., Kim, H. S., An, C. M. and Kim, B. S. 2014. Molecular characterization and expression analysis of a peroxiredoxin 1 cDNA from Korean rose bitterling (*Rhodeus uyeckii*). *Mol Biol Rep* **41**, 2363-2370.
  11. Claiborne, A., Yeh, J. I., Mallett, T. C., Luba, J., Crane, E. J., Charrier, V. and Parsonage, D. 1999. Protein-sulfenic acids, diverse roles for an unlikely player in enzyme catalysis and redox regulation. *Biochemistry* **38**, 15407-15416.
  12. Coyne, V. 2011. The importance of ATP in the immune system of molluscs. *Invertebrate Surviv J* **8**, 48-55.
  13. De Zoysa, M., Whang, I., Nikapitiya, C., Oh, C., Choi, C. Y. and Lee, J. 2011. Transcriptional analysis of disk abalone (*Haliotis discus discus*) antioxidant enzymes against marine bacteria and virus challenge. *Fish Shellfish Immunol* **31**, 155-160.
  14. Declercq, J. P., Evrard, C., Clippe, A., Stricht, D. V., Bernard, A. and Knoop, B. 2001. Crystal structure of human peroxiredoxin 5, a novel type of mammalian peroxiredoxin at 1.5 Å resolution. *J Mol Biol* **311**, 751-759.
  15. Donaghy, L., Lambert, C., Choi, K. S. and Soudant, P. 2009. Hemocytes of the carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) and the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*), current knowledge and future prospects. *Aquaculture* **297**, 10-24.
  16. Dong, W. R., Xiang, L. X. and Shao, J. Z. 2007. Cloning and characterization of two natural killer enhancing factor genes (NKEF-A and NKEF-B) in pufferfish, *Tetraodon nigroviridis*. *Fish Shellfish Immunol* **22**, 1-15.
  17. Ermak, G. and Davies, K. J. 2002. Calcium and oxidative stress, from cell signaling to cell death. *Mol Immunol* **38**, 713-721.
  18. Finkel, T. and Holbrook, N. J. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* **408**, 239-247.
  19. Flohé, L., Budde, H., Bruns, K., Castro, H., Clos, J., Hofmann, B., Kansal-Kalavar, S., Krumme, D., Menge, U., Plank-Schumacher, K., Sztajer, H., Wissing, J., Wylegalla, C. and Hecht, H. J. 2002. Tryparedoxin peroxidase of *Leishmania donovani*, molecular cloning, heterologous expression, specificity and catalytic mechanism. *Arch Biochem Biophys* **397**, 324-335.
  20. Halliwell, B., Zhao, K. and Whiteman, M. 2001. The gastrointestinal tract: a major site of antioxidant action? *Free Radic Res* **33**, 819-830.
  21. Hirotsu, S., Abe, Y., Okada, K., Nagahara, N., Hori, H., Nishino, T. and Hakoshima, T. 1999. Crystal structure of a multifunctional 2-Cys peroxiredoxin heme-binding protein 23 kDa/proliferation-associated gene product. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 12333-12338.
  22. Hofmann, B., Hecht, H. J. and Flohé, L. 2002. Peroxiredoxins. *Biol Chem* **383**, 347-364.
  23. Hooper, C., Day, R., Slocombe, R., Handlinger, J. and Benkendorff, K. 2007. Stress and immune responses in abalone, limitations in current knowledge and investigative methods based on other models. *Fish Shellfish Immunol* **22**, 363-379.
  24. Ishii, T., Warabi, E., Yanagawa, T. 2012. Novel roles of peroxiredoxins in inflammation, cancer and innate immunity. *J Clin Biochem Nutr* **50**, 91-105.
  25. Jang, H. H., Lee, K. O., Chi, Y. H., Jung, B. G., Park, S. K., Park, J. H., Lee, J. R., Lee, S. S., Moon, J. C., Yun, J. W., Choi, Y. O., Kim, W. Y., Kang, J. S., Cheong, G. W., Yun, D. J., Rhee, S. G., Cho, M. J. and Lee, S. Y. 2004. Two enzymes in one; two yeast peroxiredoxins display oxidative stress-dependent switching from a peroxidase to a molecular chaperone function. *Cell* **117**, 625-635.
  26. Jeong, J. E. and Lee, Y. S. 2013. Identification, sequence characterization and expression analysis of the arginine kinase gene in response to laminarin challenge from the Oriental land snail, *Nesiohelix samarangae*. *Korean J Malacol* **29**, 171-179.
  27. Kang, S. W., Chae, H. Z., Seo, M. S., Kim, K., Baines, I. C. and Rhee, S. G. 1998. Mammalian peroxiredoxin isoforms can reduce hydrogen peroxide generated in response to growth factors and tumor necrosis factor-alpha. *J Biol Chem* **273**, 6297-6302.
  28. Kim, J. W., Choi, H. S., Kwon, M. G., Park, M. A., Hwang, J. Y., Kim, D. H. and Park, C. I. 2011. Molecular identification and expression analysis of a natural killer cell enhancing factor (NKEF) from rock bream *Oplegnathus* fas-



- catus and the biological activity of its recombinant protein. *Results Immunol* **1**, 45-52.
29. Kim, S. Y., Kim, T. J. and Lee, K. Y. 2008. A novel function of peroxiredoxin 1 (Prx-1) in apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-mediated signaling pathway. *FEBS Lett* **582**, 1913-1918.
  30. Lee, K. S. 2008. The effects of suspended solids on the mortality and the glycogen content of abalone, *Haliotis discus hannai*. *J Korean Soc Marine Environ Safety* **14**, 183-187.
  31. Lim, Y. S., Cha, M. K., Kim, H. K. and Kim, I. H. 1994. The thiol-specific antioxidant protein from human brain, gene cloning and analysis of conserved cysteine regions. *Gene* **140**, 279-284.
  32. Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods* **25**, 402-408.
  33. Loo, G. H. and Schuller, K. A. 2010. Cloning and functional characterization of a peroxiredoxin 4 from yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* **156**, 244-253.
  34. Loo, G. H., Sutton, D. L. and Schuller, K. A. 2012. Cloning and functional characterization of a peroxiredoxin 1 (NKEF A) cDNA from Atlantic salmon (*Salmo salar*) and its expression in fish infected with *Neoparamoeba perurans*. *Fish Shellfish Immunol* **32**, 1074-1082.
  35. Lopes, P. A., Pinheiro, T., Santos, M. C., Mathias, M. D., Collares-Pereira, M. J. and Viegas-Crespo, A. M. 2001. Response of antioxidant enzymes in fresh water fish populations (*Leuciscus alburnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. *Sci Total Environ* **280**, 153-163.
  36. Montemartini, M., Kalisz, H. M., Hecht, H. J., Steinert, P. and Flohé, L. 1999. Activation of active-site cysteine residues in the peroxiredoxin-type tryparedoxin peroxidase of *Crithidia fasciculata*. *Eur J Biochem* **264**, 516-524.
  37. Pe´rez-Sa´nchez, J., Bermejo-Nogales, A., Calduch-Giner, J. A., Kaushik, S. and Sitja´-Bobadilla, A. 2011. Molecular characterization and expression analysis of six peroxiredoxin paralogous genes in gilthead sea bream (*Sparus aurata*), insights from fish exposed to dietary, pathogen and confinement stressors. *Fish Shellfish Immunol* **31**, 294-302.
  38. Pushpamali, W. A., De Zoysa, M., Kang, H. S., Oh, C. H., Whang, I., Kim, S. J. and Lee, J. 2008. Comparative study of two thioredoxin peroxidases from disk abalone (*Haliotis discus discus*), cloning, recombinant protein purification, characterization of antioxidant activities and expression analysis. *Fish Shellfish Immunol* **24**, 294-307.
  39. Rhee, S. G. and Woo, H. A. 2011. Multiple functions of peroxiredoxins, peroxidases, sensors and regulators of the intracellular messenger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and protein chaperones. *Antioxid Redox Signal* **15**, 781-794.
  40. Rhee, S. G., Chae, H. Z. and Kim, K. 2005. Peroxiredoxins, a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic Biol Med* **38**, 1543-1552.
  41. Riddell, J. R., Wang, X. Y., Minderman, H. and Gollnick, S. O. 2010. Peroxiredoxin 1 stimulates secretion of proinflammatory cytokines by binding to TLR4. *J Immunol* **184**, 1022-1030.
  42. Sawabe, T., Fujimura, Y., Niwa, K. and Aono, H. 2007. *Vibrio comitans* sp. nov., *Vibrio rarus* sp. nov. and *Vibrio inusitatus* sp. nov., from the gut of the abalones *Haliotis discus discus*, *H. gigantea*, *H. madaka* and *H. rufescens*. *Int J Syst Evol Microbiol* **57**, 916-922.
  43. Seo, M. S., Kang, S. W., Kim, K., Baines, I. C., Lee, T. H. and Rhee, S. G. 2000. Identification of a new type of mammalian peroxiredoxin that forms an intramolecular disulfide as a reaction intermediate. *J Biol Chem* **275**, 20346-20354.
  44. Sies, H. 1993. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem* **215**, 213-219.
  45. Umate, P. 2010. Genome-wide analysis of thioredoxin fold superfamily peroxiredoxins in Arabidopsis and rice. *Plant Signal Behav* **5**, 1543-1546.
  46. Wood, Z. A., Poole, L. B., Hantgan, R. R. and Karplus, P. A. 2002. Dimers to doughnuts, redox-sensitive oligomerization of 2-cysteine peroxiredoxins. *Biochemistry* **41**, 5493-5504.
  47. Wood, Z. A., Poole, L. B. and Karplus, P. A. 2003. Peroxiredoxin evolution and the regulation of hydrogen peroxide signaling. *Science* **300**, 650-653.
  48. Wood, Z. A., Schröder, E., Robin Harris, J. and Poole, L. B. 2003. Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends Biochem Sci* **28**, 32-40.
  49. Yu, B. P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* **74**, 139-162.
  50. Yu, S., Mu, Y., Ao, J. and Chen, X. 2010. Peroxiredoxin IV regulates pro-inflammatory responses in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) and protects against bacterial challenge. *J Proteome Res* **9**, 1424-1436.
  51. Zhang, Q., Li, F., Zhang, J., Wang, B., Gao, H., Huang, B., Jiang, H. and Xiang, J. 2007. Molecular cloning, expression of a peroxiredoxin gene in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* and the antioxidant activity of its recombinant protein. *Mol Immunol* **44**, 3501-3519.

---

**초록 : 참전복(*Haliotis discus hannai*)에서 분리한 peroxiredoxin 2 유전자의 분자생물학적 고찰 및 발현분석**

문지영 · 박은희 · 공희정 · 김영옥 · 김동균 · 안철민 · 남보혜\*  
(국립수산과학원 전략양식 연구소 생명공학과)

본 연구에서는 참전복(*Haliotis discus hannai*)의 대용량 염기서열 분석을 통해 peroxiredoxin (Prx) 2 유전자의 full length의 cDNA를 동정하였다. 참전복 Prx 2 유전자의 총 길이는 1,052 bp로 597 bp의 open reading frame는 총 199개의 아미노산을 코딩하고 있으며 분자량은 22 kDa, 등전점은 7.58로 예측되었다. 참전복 Prx 2 아미노산서열에는 typical 2-Cys Prx의 특징을 갖는 motif와 효소활성에 중요한 cysteine잔기가 매우 보존되어 있었다. 참전복 Prx 2 아미노산 서열은 다른 종의 Prx 2와 64~99% 유사하였고, 특히 패류의 Prx 2와 가장 유사성이 높았다. 참전복 Prx 2 유전자의 mRNA는 관찰된 모든 조직에서 발현하고 있었으며, 특히 외투막, 아가미, 족부, 간체장, 소화관에서 높은 발현이 확인되었다. 참전복의 Prx 2는 비브리오균으로 감염시킨 전복의 혈구세포에서 감염 후 1시간 쯤 발현이 증가했다가 서서히 감소하였고, 간체장 조직에서는 감염 6시간 경과 후 발현 정도가 최고로 증가했다가 감소하였다. 따라서 typical 2-Cys Prx의 특징을 잘 보존되어 있는 참전복 Prx 2는 병원균 감염에 따른 산화스트레스 조절에 관여하는 인자로 중요한 역할을 할 것으로 예상된다.