

TBTO에 노출된 조피볼락, *Sebastes schlegeli* 간의 해독효소 변화

민은영 · 지정훈 · 김성길 · 황운기 · 조규석* · 강주찬
부경대학교 수산생명의학과, *충청북도 내수면연구소

서론

TBTO (Tributyltin-oxide)는 ppb 수준에서도 해양 생물에 미치는 독성은 매우 크며 특히, 복족류에서는 암컷에서 수컷의 생식기가 자라며 생식능력을 떨어뜨리는 등 성변화 현상을 발생시킨다 (Oehlmann et al., 1998). 그래서 선진국에서는 TBT의 사용을 금지하였고 (Huggett et al., 1992), 우리나라도 선박활동이 활발한 연안해역의 TBT농도가 외국에 비해 결코 낮지 않은 것으로 조사되어 1998년에 TBT 방오제의 사용에 대한 부분적인 규제계획을 발표한 바 있다. 한편, 산업화에 따른 환경오염의 심각성이 대두되면서 해양생물의 생화학적 변화를 조사함으로써 오염물질의 존재와 양을 추정하려는 bioindicator에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 특히, TBTO는 활성산소류를 발생시키는 화합물이므로 항산화 효소 활성에 미치는 TBTO의 영향에 관한 연구는 bioindicator로서의 활용 가능성을 볼 때 의미가 클 것으로 생각된다.

본 연구는 조피볼락을 대상으로 TBTO에 대해, 항산화 효소이며, 유기오염물질의 해독효소인 Glutathione S-transferase (GST), Glutathione reductase (GR), Glutathione peroxidase (GPx)의 활성을 조사함으로써, 이들 효소를 TBTO에 대한 bioindicator로서 활용 될 수 있는가를 검토하였고, 기초적인 스트레스 지표의 보충자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

조피볼락, *Sebastes schlegeli*는 경남 소재 양어장에서 분양 받아 실험실에서 순치 시킨 후에 사용하였다 (체중 70~110g, 체장 13~16cm). 실험은 항온실 (20±1℃)에서 정수식 방법으로 실시하여 3일 마다 환수하였다. 염분, pH, 용존산소는 각각 32.3~33.3‰, 8.0~8.2, 및 6.9~7.4mg/ℓ 이었고, 실험농도는 TBTO (C₂₄H₅₄OSn₂, Fluka.co)를 아세톤과 1:3비율로 희석하여 1g/ℓ의 표준용액을 만든 후, 실험농도를 0, 0.52, 1.41, 3.05μg/ℓ로 설정하였다. 실험어는 MS-222로 마취한 후, 간을 적출하여 sucrose buffer (250mM sucrose, 10mm HEPES, 1mM EDTA, 1mM PMSF and DTT, pH 7.4)를 가하여, Teflon-glass homogenizer (099C K4424, Glas-col)에 옮긴 뒤 균질화 한

다음 4°C, 10,000×g로 30분간 원심분리하였다. 이 과정으로 얻어진 상등액을 100,000×g, 4°C, 60분간 초원심분리하여 얻어진 cytosolic fraction으로 GST의 활성은 Habig et al (1974)의 방법으로, GR의 활성은 Racker et al (1955)의 방법으로, GPx의 활성은 Yamamoto. Y와 Takahashi. K (1993)의 방법에 의하여 분석하였다. 혈청학적 분석을 위하여 미부정맥에서 채혈 후 원심분리하여 얻어진 혈청으로 총단백질, 알부민, 혈당량과 간 기능 검사에 대표적으로 이용되고 있는 효소인 GOT, GPT를 측정하였다.

결과 및 요약

TBTO 노출에 따른 조피볼락 간의 해독효소에 미치는 영향을 조사한 결과, GST활성은 노출 14일째에 대조구가 $0.064 \pm 0.01 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg protein}$ 이었으나, TBTO $0.52 \mu\text{g}/\ell$ 농도구는 대조구에 비해 1.7배 상승되었고, $1.41 \mu\text{g}/\ell$ 농도구는 2배, $3.05 \mu\text{g}/\ell$ 농도구는 3.8배로 유의한 상승을 보였다 ($P < 0.05$). GR의 활성은 TBTO를 처리한 전구간에서, 노출 14일째에 높은 효소 활성을 보이다가 ($P < 0.05$), 노출 21일째는 감소하는 경향을 보였다 ($P < 0.05$). GPx 활성은 노출 7일째와 21일째에는 유의성이 없었으나, 노출 14일째는 노출구의 활성이 전반적으로 상승하는 결과를 나타내었으며, 이 때 유의한 구간은 $1.41, 3.05 \mu\text{g}/\ell$ 으로 대조구에 비해 각각 17배, 8배 증가하였다 ($P < 0.05$). TBTO 노출에 따른 혈청변동을 조사한 결과 혈청 유기성분인 알부민과 총단백질의 혈중농도가 노출기간이 연장됨에 따라 감소하는 경향을 나타내었고, 혈당은 노출에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 혈청 전이효소인 GOT, GPT는 농도 구배량과 노출기간이 연장됨에 따라서 증가하는 경향을 나타내었다 ($P < 0.05$).

참고문헌

- Huggett. R. J., M. A. Huger, P. E. Seligman and O. A. Valkirus, 1992. The marine biocide tributyltin: Assessing and managing the environmental risk. Environ. Sci. Tech. 26: 232-237.
- Jörg Oehlmann, Eberhard stroben, Ulrike Schulte-Oehlmann, Barbara Bauer. 1998. Imposex development in response to TBT pollution in *Hinia incrassata* (Prosobranchia, stenoglossa) Aquatic toxicology 43 : 239-260