

명주조개 중장선 마이크로솜의 유기염소계 화합물인
DDT, TCDD와 *in vitro* 배양시 MFO 효소계의
반응

전중균 · 이지선 · 심원준* · 오재룡* · 이수형*
강릉대학교 해양생명공학부
* 한국해양연구소 지구환경연구본부

서론

환경호르몬에 관한 연구가 어류에 관해서는 다소나마 연구가 진행되고 있으나 패류에서는 임포섹스와 같은 현상에만 국한되어 있는 실정이어서, 본 실험에서는 명주조개 (*Coelomactra antiquata*) 중장선의 마이크로솜을 유기염소화합물에 *in vitro* 적으로 노출시켜 cytochrome P450 (CYP) 농도와 EROD 활성의 변화를, 그리고 중장선의 cytosol로는 glutathione S-transferase의 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

유기염소화합물로는 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-dioxin(TCDD)와 DDT를 사용하였으며, 이들 시약의 용해와 희석에는 DMSO를 사용하였다. 실험구로는 비교를 위한 대조구와 sham구(DMSO) 외에 DDT의 경우에는 0.1, 0.4, 1.0 mM를 설정하였고, TCDD와 PCB는 0.01, 0.04, 1.0ppb를 설정하였다. 배양온도는 30°C로 하였고, 배양시간은 0분, 10분, 20분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간 및 6시간으로 하였다. 마이크로솜과 cytosol은 주문진 어항에서 입수한 살아있는 명주조개에서 중장선을 적출하여 제작하였다. 즉, 중장선을 0.1M Tris-HCl/0.15M KCl (pH 7.4) 완충액으로 glass homogenize한 다음 초원심분리 하여 상등액은 cytosol로 하였으며, pellet은 0.1M Tris-HCl/20% glycerol (pH 7.4) 완충액으로 현탁하여 마이크로솜을 만들었고, cytosol과 마이크로솜은 각각 여러 농도의 유기염소화합물에 노출시키면서 시간에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

유기염소계 농약인 DDT와 TCDD를 명주조개의 마이크로솜이나 cytosol과 배양하면서 CYP 함량, EROD 및 GST 활성의 경시적인 변화를 조사하였고, 각 화합물을 첨가하기 전의 CYP 농도를 100%로 하여 각 시간별 배양구의 CYP 단백질과 효소 활성을 상대비 (%)로 나타내었다.

DDT와 배양한 조개 마이크로솜의 CYP 함량을 보면, sham구에서는 처음 $0.54 \text{ nmol mg}^{-1}$ 의 농도이던 것이 30분 후에는 $0.49 \text{ nmol mg}^{-1}$ (91%)로 그다지 줄지 않았고, 0.1 mM 배양구도 30분 배양 후에 처음과 거의 변함이 없었다. 그렇지만 0.4 mM과 1.0 mM 배양구는 10분 후에 각각 115%와 117%로 가장 높았다가 이후에 다소 줄어서 30분 후에는 각각 108%와 112%가 되었다. EROD 활성의 변화에서도 sham구는 처음 $36.4 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ 이었다가 30분 배양 후에는 $37.1 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ (102%)로 그다지 변함이 없었으나, 0.1 mM과 0.4 mM 및 1.0 mM 배양구는 배양시간의 증가와 더불어 활성이 높아져서 30분 후에는 각각 117% ($42.6 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$), 120% ($43.8 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$) 및 120% ($43.8 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)가 되었다.

한편, TCDD를 0.01, 0.04 및 0.10 ppb가 되도록 마이크로솜에 첨가하고 배양하였을 적에는 앞서 DDT와 같이 30분 이내에서는 단백질의 함량과 활성에 차이가 없었기에 배양시간을 최대 6시간까지 늘려서 실시하였다. CYP 함량의 변화를 보면 모든 배양구는 2시간 후에 최대값을 보여 103~110%로 높아졌으나 이후에는 감소하는 경향을 보였고, EROD 활성의 변화도 CYP와 마찬가지로 모든 배양구는 2시간 후에 최고로 높은 수준을 보여 0.01 ppb 배양구는 132%였고, 0.04 ppb 배양구는 139%, 0.10 ppb 배양구는 121%로 높아졌다가 이후에는 모두 줄었다. 이처럼 DDT와 TCDD는 노출시간과 농도의존적으로 CYP 농도와 EROD 및 GST 활성을 유도하여 유도제로 작용하였음을 알 수가 있다.