PD - 22

열목어 (*Brachymystax lenok*)의 생식선자극호르몬 대량생산을 위한 기초연구

최은주 · 진덕희 · 손영창
강릉대학교 해양생명공학부

서론

경골어류의 뇌하수체에서는 두 종류의 생식선자극호르몬 (GTHs; FSH와 LH)이 생산된다. 이들 호르몬들은 공통적인 α 쇄와 특이적인 β 쇄를 가진다 (Querat, 1995). 연어과 어종들에서, FSH는 난황형성과 정자형성의 역할을 하며, LH는 배우자의 최종성숙을 유도한다 (Blazquez et al., 1997; Swanson and Dittman, 1997).

냉수성 고유어종인 열목어의 멸종을 방지하고 번식시키기 위한 생명공학적 연구방법을 검토하기 위하여 GTHα, FSHβ와 LHβ 쇄를 발현벡터에 cloning하여 염기서열을 결정하였다.

재료 및 방법

1. Sample의 수집

본 연구에 이용한 열목어는 2002년 삼척내수면 연구소로부터 수용된 것으로 성숙초기의 암컷 개체 (평균체중: 190.6 g) 뇌하수체를 적출 한 뒤 액체질소에 급속 냉동한 후 -80℃에서 mRNA 추출 전까지 보관하였다.

2. 뇌하수체에서 mRNA 추출 및 cDNA 합성

열목어의 뇌하수체에서 mRNA를 추출 (QuickPrep™ Micro mRNA Purification Kit, Amersham Pharmacia Biotech., UK) 한 뒤 cDNA로 합성 (First-strand cDNA Synthesis Kit, Amersham Pharmacia Biotech., UK) 하였다.

3. 호르몬 영역의 oligo primer제작 및 polymerase chain reaction (PCR)

산천어 GTHα, FSHβ, LHβ 각각의 염기서열 (NCBI Accession number S69273, S69275, S69276)을 기초로 하여 oligo primer를 제작하였다. 뇌하수체에서 합성한 cDNA를 주형으로 사용하여 PCR 방법으로 GTHα, FSHβ, LHβ를 각각 증폭하였다.

4. Cloning 및 plasmid DNA 추출

각각의 증폭된 산물을 pcDNA3 (Invitrogen life technologies, USA) vector에 삽입하여 *E. coli*에 transformation한 뒤 Alkali lysis법으로 plasmid DNA를 추출하여 5', 3'-말단에 인식부위로 붙여준 효소로 절단하여 삽입의 유무를 확인한 다음 염기서열을 결정하였다.

결과 및 요약

열목어 GTH의 번역부위는 GTHα, FSHβ, LHβ 각각 350, 414, 429 bp 이었으며, 산천어와의 상동성은 각각 84, 95, 98%로 높은 유사성을 확인 할 수 있었으며, 번역되는 아미노산은 각각 74, 92, 97%의 유사성이 있었다. 이를 바탕으로 overapping PCR법을 실시하여 단일 쇄 FSH와 LH 생산용 유전자를 확보하였다. 이를 이용하여 진핵세포에서의 뇌하수체 호르몬 대량생산의 가능성 여부를 연구 중이다. 이는 열목어뿐만 아니라 번식이 어려운 경골어류나 하등 척추동물에서도 인공적인 번식방법의 개선에 도움을 줄 것으로 사료된다.

참고문헌

Blazquez M., Bosma P.T., Fraser E. J., Van Look K.J.W., Trudeau V.L., 1998. Fish as models for the neuroendocrine regulation of reproduction and growth. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 119, 345-364.

Querat B., 1995. Structural relationships between 'fish' and tetrapod gonadotropin. In: Goetz F.W., Thomas P. (Eds.), Proc. 5th Int. Symp. Reproductive Physiology of Fish FishSymp 95, University of Texas, Austin, TX, pp. 7-9.

Swanson P., Dittman A., 1997. Pituitary gonadotropins and their receptors in fish. In: Kawashima S., Kikuyama S. (Eds.), Advances in Comparative Endocrinology XIII International Congress of Comparative Endocrinology, Yokohama, Japan, pp. 841-846.