

O-4.

## 한국산 무당개구리 (*Bombina orientalis*) 난황전구단백질 cDNA 염기서열 결정 및 유전자발현의 RT-PCR 검출

이명식, 계명찬\*

한양대학교 자연과학대학 생명과학과

전 세계적으로 수환경에서 양서류의 감소가 급속히 진행되고 있다. 무당개구리 (*Bombina orientalis*)은 유럽과 아시아에 분포하는 무미양서류이다. 최근 담수환경 내에 존재하는 내분비계교란물질 (Endocrine Disrupting Compound, EDC)에 의해 다양한 척추동물에서 성의 교란 등 내분비계장애 효과가 보고되고 있다. 특히 여성 호르몬과 유사한 생리활성을 갖는 xenoestrogen을 검색하기 위한 다양한 생물학적 지표가 개발, 활용되고 있는데 난생 척추동물수컷의 간조직 또는 혈액에서 발견되는 난황전구단백질 (vitellogenin, Vg)은 xenoestrogen의 노출 검색의 중요한 지표로 이용되고 있다. 본 연구에서는 한국산 양서류를 이용한 담수환경에서 xenoestrogen의 노출 및 검색과 그 위해성 평가에 무당개구리를 모델생물로 이용하기 위한 분자 biomarker 개발 연구의 일환으로 무당개구리의 Vg cDNA 염기서열 일부를 확정하였고 Vg mRNA에 대한 semiquantitative RT-PCR 조사법을 최적화 하였다.

2003년 춘계 한강 수계 가평천 일대에서 채집된 암컷의 간으로부터 cDNA를 제조하였고 난생 척추동물의 Vg cDNA 염기서열 상동성을 비교하여 보존된 부위의 염기서열에 기초하여 3'-RACE를 시행하여 712 bp의 Vg cDNA절편에 대한 염기서열을 확정하였다. Vg cDNA의 3'-RACE 생성물 내부 염기서열에서 RT-PCR 분석을 위한 primer를 고안하여 RT-PCR시험법을 확립하였다. Semiquantitative RT-PCR법을 최적화하기 위해 내부 정량을 위한 무당개구리 beta actin cDNA 염기서열을 degenerative RT-PCR법으로 확인하여 455 bp의 beta actin cDNA 절편에 대한 염기서열을 확정하였다. Semiquantitative RT-PCR 방법으로 암컷에서 다량의 Vg mRNA 발현이 확인되었고 수컷에서도 암컷은  $2^{-14}$ 에 해당하는 Vg의 발현을 확인하였다. 본 연구는 한국산 무미양서류 Vg mRNA 분석에 관한 최초의 연구결과이며 향후 무당개구리 수컷을 모델로 한국 내 담수환경에서 내분비계장애물질의 생물학적 추적에 유용할 것이다.

Key words: RT-PCR, vitellogenin, *Bombina orientalis*