

## GnRH $\alpha$ 에 의한 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli*의 Steroidogenic Factor-1 (SF-1)과 Estrogen Receptor $\beta$ (ER $\beta$ ) 유전자 발현

최철영 · 안광욱 · 민병화\* · 장영진\* · 조필규  
한국해양대학교 해양환경생명과학부 · \*부경대학교 양식학과

### 서론

어류를 포함한 척추동물의 뇌의 시상하부로부터 분비되는 생식소자극호르몬 분비호르몬(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)은 척추동물의 번식 시스템에 있어 중요한 신경호르몬으로, 뇌하수체로부터 생식소자극호르몬(gonadotropin, GTH)의 합성과 분비를 조절한다. 이런 뇌하수체에서 분비된 GTH는 생식소를 자극하여 생식소 성 스테로이드의 합성과 분비를 통하여 생식소의 발달과 성숙을 조절한다고 알려져 있다(Andrews et al., 1988; Wierman et al., 1989). 따라서 척추동물의 번식과정은 시상하부-뇌하수체-생식소축의 내분비 시스템에 의해 조절된다고 할 수 있다.

따라서 본 연구의 목적은 1년생 웅성선속형 감성돔을 대상으로 외인성 GnRH를 처리하였을 때, 시상하부-뇌하수체-생식소 축의 활성화에 따른 성스테로이드 분비와 생식소 SF-1과 ER $\beta$  유전자의 발현을 관찰하여 생식소의 성숙과 관련된 두 유전자 사이의 상호작용을 알아보려고 한다.

### 재료 및 방법

- 실험어 및 실험조건 : 실내 순환여과 사육시스템에서 사육중인 감성돔(16.4 $\pm$ 0.8 cm, 66.7 $\pm$ 10.9 g) 30마리를 사용하였다. 수온은 20 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, 광주기는 12L:12D로 유지하였으며, 먹이는 실험개시 24시간 전부터 공급하지 않았다.

- 호르몬 처리 : GnRH $\alpha$  (des Gly<sup>10</sup>-[D-Ala<sup>6</sup>]LHRH)를 0.2  $\mu$ g/ 어체중 g 의 농도로 복강 주사 하였다. 주사 후 0, 6, 12, 24 및 48시간째에 각각 5마리씩 꺼내어 뇌하수체, 생식소 및 혈액을 채취하였다.

- 샘플링 및 분석 : 혈액은 미부혈관으로부터 채취한 후, 원심분리하여 분리된 혈장은 분석 전까지 -80 $^{\circ}$ C 초저온 냉동고에 보관하였다. 채혈 후 뇌하수체 및 생식소를 절취하여 Total RNA 추출 시까지 -80 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 혈장 T와 E<sub>2</sub>는 각각 T RIA kit (DSL, USA), E<sub>2</sub> RIA kit (ADLTIS, Italy)를 사용하여 방사면역 측정법(RIA)으로 분석하였다.

- SF-1 및 ER $\beta$  유전자의 RT-PCR : -80 $^{\circ}$ C에 보관중인 뇌하수체와 생식소에서 Total RNA Extraction Kit (Promega, USA)를 사용하여 Total RNA를 추출하였다. SF-1 및 ER

$\beta$  cDNA의 증폭을 위하여, SF-1 forward primer; 5'-ATG CTGCCCAAAGTCGAGACT-3'와 SF-1 reverse primer; 5'-TGGCGTGGAGCATTTTCGAT-3'를, ER $\beta$  forward primer; 5'-TGCTCGCCAGAGAAGGATCA-3'와 ER $\beta$  reverse primer; 5'-ACTCGCAGRTTCTGGCCACA-3'를 각각 설계하여 Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)을 실시하였다. PCR 산물을 전기영동하여 SF-1 및 ER $\beta$  유전자의 발현량을  $\beta$ -actin의 발현량에 대한 비율로 환산하여 정량하였다.

## 결과 및 요약

1. SF-1 mRNA의 발현 : GnRHa 처리 후 6시간째에 생식소 SF-1 mRNA의 발현량은 급격히 증가하여, 12시간, 24시간째에 유의적으로 감소하였으나, 실험개시시보다 높은 발현을 나타내었다. 그 후 유의하게 감소하여 48시간째에는 실험개시시와 비슷한 발현량을 보였다( $P < 0.05$ ).
2. ER $\beta$  mRNA의 발현 : GnRHa 처리에 따른 생식소 ER $\beta$  mRNA 발현량은 SF-1 mRNA 발현 양상과 유사한 경향을 보였는데, 12시간째에 급격히 증가하였고, 그 후로 급격히 감소하여 실험개시시와 비슷한 발현량을 나타내었다 ( $P < 0.05$ ).
3. 혈장 T 및 E<sub>2</sub> 농도 : GnRHa 처리에 따른 혈장 T 농도는 실험개시시에 65.0 $\pm$ 7.1 pg/ml이었던 것이, 24시간째에 144.0 $\pm$ 67.3 pg/ml로 2배정도 증가하여( $P < 0.05$ ), 실험 종료시인 48시간째에는 최고값인 146.0 $\pm$ 68.8 pg/ml로 나타났다. 혈장 E<sub>2</sub> 농도는 실험개시시에 9.0 $\pm$ 0.7 pg/ml이었던 것이, 24시간째부터 증가하여 48시간째에는 최고값인 33.3 $\pm$ 14.7 pg/ml로 나타났다.

## 참고문헌

- Andrews, W.V., R. Mauer and P.M. Conn, 1988. Stimulation of rat luteinizing hormone  $\beta$ -messenger RNA levels by gonadotropin-releasing hormone. *J. Biol. Chem.*, 263, 13755-13761.
- Wierman, M.E., J.E. Rivier and C. Wang, 1989. Gonadotropin-releasing hormone-dependent regulation of gonadotropin subunit messenger ribonucleic acid levels in the rat. *Endocrinol.*, 124, 272-278.