

## 사료의 단백질이 조피볼락 혈액중 Insulin-like growth factor-I (IGF-I) 및 IGF-binding protein-3에 미치는 영향

남택정<sup>+</sup> · 권미진 · 이상민\* · 박기영\* · 김 윤\*\* · 박승렬\*\* · 변재형  
부경대학교 식품생명공학부, \*강릉대학교 해양생명공학부, \*\*국립수산진흥원

## Effects of Dietary Proteins on Serum Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) and IGF-Binding Protein-3 in Korean Rockfish, *Sebastes schlegeli*

Teak-Jeong NAM<sup>+</sup>, Mi-Jin KWON, Sang-Min LEE\*, Kie-Young PARK\*, Yun KIM\*\*  
Sung-Real PARK\*\* and Jae-Hyeung PYEUN

Faculty of Science and Biotechnology, Pukyong University, Pusan 608-737, Korea

\*Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea

\*\*National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 619-902, Korea

Insulin-like growth factor-I (IGF-I) is a mitogenic peptide with a molecular mass of 7 kDa. It is produced mainly in the liver and has important functions in the regulation of development and somatic growth. Moreover, Serum IGF-I concentration is regulated by the quantity and the nutritional quality of dietary protein. To determine the IGF-I level in Korean rockfish, *Sabastes schlegeli*, were fed four experiment diets that contained different protein quantities, namely 30%, 40%, 50% and 60% for 70 days. Weight gain of the fish increased depending dietary protein quantity. Also, IGF-I concentrations increased according to dietary protein quantity. Feeding experiments were conducted to examine the effects of dietary protein sources on the serum IGF-I level in Korean rockfish. Fish meal (CO), soybean meal (SM), corn-gluten meal (CGM), meat meal (MM) and feather meal (FM) were used as variable protein sources of the formulated diet. IGF-I concentrations of the CO and MM groups ( $277.7 \pm 23.2$ ,  $291.5 \pm 41.2$  ng/mL) were higher than those of the CGM and FM groups ( $208.9 \pm 21.3$ ,  $217.2 \pm 38.2$  ng/mL). And IGFBP-3 levels by western blot analysis increased in good protein diets such as in the CO and MM groups. In conclusion, IGF-I may be a sensitive indicator the protein metabolism in fish as well as mammalian.

**Key words:** Insulin-like growth factor-I (IGF-I), Korean rockfish (*Sabastes schlegeli*), Dietary protein

### 서 론

어류가 활동하고 성장하는 데는 많은 필수영양소와 에너지가 필요하다. 이 중에서 단백질은 어류의 성장에 가장 큰 영향을 미치는 필수영양소이다. 양질의 단백질 35~60% 정도가 사료를 통해 적절히 공급되어 계속적으로 새로운 조직을 만들고 손상된 조직을 회복시켜 성장하게 되는데, 최적의 성장을 위해 필요한 단백질량은 종, 크기, 식이조건, 그리고 식이내 에너지원에 따라 다르다. 하지만 여러 양식어종을 대상으로 주로 사료단백질에 따른 어류의 성장률을 검토하고 (Ogino, 1980; Ikehara and Nagahara, 1980; Beamishi and Medland, 1986), 균형된 배합사료 제조에 관한 연구가 대부분인 반면 사료단백질이 어류의 대사에 미치는 영향에 관한 연구는 드물다 (Gallagher and Matthews, 1987; Kim and Chin, 1995; Lee and Lee, 1996; Kim and Santoshi, 1999).

Insulin-like growth factor-I (IGF-I)은 70개의 아미노산으로 이루어진 polypeptides로서 proinsulin과 구조적으로 유사하다 (Froesch and Zapf, 1985). IGF-I은 척추동물에서 성장호르몬의 매개로 생성되어 동물의 성장에 중요한 역할을 하고 있으며 세포의 성장, 분화, 대사에 다양한 효과를 보여주고 있다 (Baxter, 1993; Cohich

and Clemmons, 1993). Insulin과 유사한 대사효과를 발휘하면서도 (Caro et al., 1988) insulin과는 달리 IGFs는 주로 간에서 생성·분비되며 그의 뇌하수체, 난소, 뼈 등과 같은 다른 기관에서도 생성된다. 그리고 뇌하수체에서 의해 성장호르몬의 분비를 억제하여 성장호르몬의 작용을 중재하는 데에도 중요한 역할을 한다 (Thissen et al., 1994). 또한 체성장을 가속화시키고 여러 조직의 성장을 선택적으로 유도할 뿐만 아니라 *in vivo*에서 단백질의 합성을 촉진시킨다. 성장호르몬 외에도 식이로 섭취하는 단백질 양과 더불어 단백질내 포함되어 있는 필수아미노산 비율 또한 IGF-I 합성 조절에 관여하여 정상적인 혈중농도를 유지하게 된다. 절식을 한 흰쥐에 저단백식을 재급여하게 되면 단백질과 에너지를 충분히 재급여했을 때보다 혈액중 IGF-I의 상승률이 적다 (Isley et al., 1984). 그리고 단백질을 재급여하더라도 필수 아미노산의 비율에 따라 다르며, 단백질 제한식이 필수 아미노산을 재급여하면 질소평형은 개선된다. 혈청내 IGF-I 조절에 있어서 필수 아미노산의 작용을 증가시키기 위해 Clemmons et al. (1985)은 정상적인 성인을 대상으로 5일간 절식시킨 후, 9일간 low protein-adequate energy diet를 재급여하였을 때 80%의 필수 아미노산이 포함된 식이군에서 혈중 IGF-I 농도가 크게 상승하였다고 보고하였다. 다시 말해서 질소평형을 유지하기 위한 필수 아미노산의 공급, 즉 양질의 단백질이 IGF-I의 상승효과를 중재함을 알 수 있

<sup>+</sup>Corresponding author: namtj@pknu.ac.kr

었다. 또한 단백질의 결핍상태일 때에도 혈중 IGF-I의 농도가 감소하는데 (Isley et al., 1984; Maiter et al., 1988), Maes et al. (1988)의 보고에 의하면 뇌하수체를 절제한 쥐에게 저단백식을 섭취시키면 성장호르몬의 투여 후에도 혈중 IGF-I의 농도는 증가하지 않았다. 절식과 재급여 기간동안 IGF-I의 변화와 질소평형의 변화는 매우 유의적인 관계를 나타내고, 이는 혈중 IGF-I 농도의 변화가 결국 단백질 대사상태의 변화를 반영하며 또한 IGF-I이 단백질 합성을 촉진시키기 때문에 혈중 IGF-I 농도 감소는 단백질 합성의 감소를 의미한다. 따라서 적절한 칼로리와 단백질의 섭취는 혈중 IGF-I 농도를 정상적으로 유지하는데 필요하고 IGF-I 농도와 질소평형간에 상관관계를 나타냄으로써 IGF-I 또한 단백질 대사 상태를 파악할 수 있는 하나의 지표임을 알 수 있다 (Maes et al., 1988; Baxter and Martin, 1989; Manson and Wilmore, 1986).

따라서 본 연구에서는 현재 주요양식 어종인 조피볼락을 실험어로 하여 사료내 단백질 함량 및 사료의 단백질원 조건을 달리 하여 혈중 IGF-I 및 IGFBP-3 농도를 측정하므로써 사료단백질이 혈청중의 IGF-I과 IGFBP-3의 수준에 어느 정도 영향을 미치며, 그 정도가 사료단백질의 품질평가가 가능한지를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험사료제조 및 실험어 사육관리

어류의 단백질 요구량 범위인 30~55%를 참고로 (NRC, 1993) 본 실험에서는 백색어분 (WFM)과 갈색어분 (BFM)을 3:1로 배합한 것을 단백질원으로 사용하였으며, 단백질의 함량을 30%, 40%, 50% 및 60%로 조정하였고, 실험사료의 조성은 Table 1과 같다. 또 실험사료 중 단백질원을 달리하는 실험에서는 백색어분과 갈색어분을 1:1로 배합한 어분을 대조군으로 하여 대두박분, 육분, 콘글루텐분, 우모분을 같은 함량으로 혼합시켜 조제하였다. 그리고 대두박분은 함량을 달리하여 (20, 30, 40%) 대체가능한 양적인 비율도 함께 검토하였다. 사료의 단백질 함량은 약 50%로 조정하였으며, 실험사료의 조성은 Table 2와 같다. 모든 원료를 혼합한 후 펠렛제조기로 압출, 성형하였으며 입자크기는 1 mm sieve로 고르게 친 후 밀봉하여 -20°C에서 냉동보관하면서 사용하였다.

본 연구에 사용한 실험어, 조피볼락 (*Sebastes schlegelii*)은 친어로부터 산출된 조피볼락 치어를 국립수산진흥원 (부산시 기장군 소재)의 2 ton FRP 사각수조에서 예비사육하다가 건강한 실험어를 선별하여 실험사료마다 2반복으로 배치된 각각의 실험수조 (300 L)에 50마리씩 수용하였다. 고압모래 여과장치로 여과된 자연해수를 각 실험수조마다 10 L/min씩 유수시켰다. 사료공급은 1 일 1회 반복에 가감도록 공급하면서 약 70일간 사육하였다.

### 2. 실험어 처리

사육한 조피볼락을 MS222 100 ppm에서 마취시킨 후 주사기를 이용하여 정맥으로부터 채혈하였다. 채혈한 것을 약 30분간 얼음 위에 방치한 후 원심분리 (890 g, 20 min)하여 혈청을 분리하였으며, 분리한 혈청은 -75°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

### 3. IGF-I 측정을 위한 RIA법

실험어 혈청 샘플들은 Breier et al. (1990)의 방법에 따라 추출하였다. 혈청 100  $\mu$ L를 1:4의 비율로 acid-ethanol (87.5% ethanol과 12.5% 2 N HCl, v/v)에 완전히 혼합시킨 후 실온에서 30분간 방치시켰다. 시험관은 4°C에서 원심분리 (3,000 $\times$ g, 20 min)하여 상층액을 새 시험관으로 옮기고, 0.885 M Tris base와 0.2 N NaOH (v/v, 5:2)로 중화시켰다. 시료들은 4°C에서 1시간 방치한 후 4°C에서 20분간 3,000 $\times$ g로 원심분리하여 얻어진 상층액을 IGF-I 분석용으로 사용하였다.

RIA assay buffer는 140 mM NaCl, 1% BSA, 0.05% (v/v) Triton X-100, 0.05% (v/v) sodium azide를 함유하는 pH 7.5의 20 mM phosphate buffered saline (PBS)을 사용하였다. Standard, test hormones, plasma를 최종부피가 100  $\mu$ L가 되게 PBS buffer로 희석하고 1:10에서 1:20까지 희석된 standards (0.012~12.5 ng/100 mL)나 plasma samples은 polyethylene tubes (12 $\times$ 75 mm)에 옮겼다. Anti-rsIGF-I 혈청 (assay buffer로 1:5,000으로 희석된 것)의 100  $\mu$ L를 assay buffer에 첨가하여 24시간 배양한 후, 이온화된 rsIGF-I 100  $\mu$ L (대략 6,000~7,000 cpm)를 첨가하여 24시간 더 배양하였다. 항체와 결합된 호르몬 복합체들은 0.5% Pansorbin (Calbiochem Behring Corp., La Jolla, CA) 100  $\mu$ L의 첨가로 free tracer로부터 분리되는데, pansorbin으로 24시간 배양 후 assay buffer (250  $\mu$ L)를 각 시험관에 첨가하여 원심분리 (3,000 $\times$ g, 20 min)하였다. 모든 배양과 원심분리는 4°C에서 행하였다. 상층액은 흡입, 제거시키고 침전된 잔사는 Automatic gamma counter (1470 WIZARD<sup>TM</sup>, Pharmacia Biotech)로 측정하였다.

### 4. 실험어 혈액중 IGF binding proteins (IGFBPs) 분석

IGFBPs의 분석은 Hossenlopp et al.의 방법 (1986)을 이용하였다. 즉, 실험어 혈청 약 1  $\mu$ L를 취하여 전기영동용 sample buffer (glycerol 함유)에 혼합한 후 12.5% SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동을 하였다. 전기영동 후 분리된 단백질을 Immobilon filter (Millipore Corp., MA, U.S.A.)로 semidry electroblotter를 이용하여 옮겼다. 이때 표준 분자량은 Rainbow marker (Amersham, U.K.)를 이용하였다. Membrane을 건조한 후 <sup>125</sup>I-IGF-I 또는 <sup>125</sup>I-IGF-II (500,000 cpm)로 incubation (저온실, overnight)시킨 후, ligand blot buffer (LBB, 10 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.5 mg/mL Na azide; pH 7.4)와 LBB+0.1% Tween 20으로 세척하여 건조시켰다. 건조된 membrane을 autoradiography로 IGF binding proteins의 밴드를 확인하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 실험사료의 영양가

단백질 원료인 어분의 첨가량에 따라 사료단백질의 함량을 달리하여 (30%, 40%, 50%, 60%) 조제한 실험사료의 일반성분을 분석한 결과, 조단백질이 각각 31.1%, 41.1%, 51.1% 그리고 59.5%를 나타내었는데 (Table 1), 사료 설계시 계산한 단백질의 양과 거의 비슷하였다. 한편 사료단백질의 공급원을 달리한 사료의 일반성분

분석결과에서도 (Table 2) 단백질의 함량을 약 50%로 설계하였으므로 화학적 분석결과와 큰 차이가 없었다.

**Table 1. Composition of the experimental diets**  
(% of dry matter)

Ingredients	Dietary protein levels (%)			
	30	40	50	60
WFM+BFM (3:1 mixture)*	38	53	67	81
Wheat flour	20	14	8	2
Dextrin	20	14.9	9.8	4.7
Squid liver oil	7	5.1	3.3	1.3
Soybean oil	3	2.3	2	1.8
Vitamin mix (+choline 0.5)	3	3	3	3
Mineral mix	3	3	3	3
Binder (CMC)	3	3	3	3
Cellulose	3	1.7	0.9	0.2
Proximate analysis (% in dry matter)				
Protein	31.1	41.4	51.1	59.5
Lipid	14.1	13.1	12.1	10.7
Ash	8.8	11.2	13.5	15.8

\*WFM: White fish meal, BFM: Brown fish meals.

**Table 2. Composition of experimental diets**  
(% of dry matter)

Ingredient	Diet groups*						
	CO	SM20	SM30	SM40	CGM	MM	FM
White fish meal	34	26	22	18	23	23	21
Brown fish meal	34	26	22	18	23	23	21
Soybean meal		20	30	40			
Corn gluten meal					20		
Meat meal						20	
Feather meal							20
Dextrin	20	13	10	7	16.5	20	20
Squid liver oil	3	4.5	5.2	6	5	5	5.5
Soybean oil	4	3.5	3.3	3	3.5	3.5	2.6
Vitamin mix (+Choline 0.5)	2	2	2	2	2	2	2
Mineral mix	3	3	3	3	3	3	3
α-Cellulose		2	2.5	3	4	0.5	4.9
Proximate analysis (% in dry matter)							
Protein	49.7	46.9	46.1	45.7	47.9	49.8	46.3
Lipid	11.6	12.4	12.6	12.8	12.2	14.8	12.0
Ash	12.9	11.6	11.1	10.4	9.5	9.9	9.3

\*CO, Fish meal; SM20, 20% Soybean meal; SM30, 30% Soybean meal; SM40, 40% Soybean meal; CGM, Corn-gluten meal; MM, Meat meal; FM, Feather meal

**2. 사료의 단백질 함량 및 단백질원에 따른 성장효과**

성장정도나 영양상태를 파악하는데 있어서 가장 간단한 방법은 체중변화를 살펴보는 것이다. 체중증가율은 현재 배합사료의 적합성 여부를 판단하는 데에 어류의 성장률 및 사료효율을 측정하는 방법으로도 사용되고 있다. Table 3은 사료단백질의 함량에 따른

**Table 3. Body weight of Korean rockfish fed diets containing various dietary protein levels**

Dietary protein levels	Initial weight (g)	Final weight (g)
30%	80.0 ± 0.2 (n=104)	104.4 ± 21.6 (n=97)
40%	80.0 ± 0.1 (n=100)	112.7 ± 19.4 (n=93)
50%	80.1 ± 0.0 (n=100)	110.3 ± 23.6 (n=95)
60%	80.0 ± 0.0 (n=100)	112.2 ± 22.5 (n=95)

Values are mean ± S.E. (n), number of samples.

조피볼락의 성장정도를 살펴본 것으로 70일간의 사육후 모든 조건에서 체중이 증가하였다. 즉, 사료단백질 40~60% 함유군에서는 어체중이 실험개시때보다 30g 이상 증가하였다. 다만, 30% 함유군에서는 30g에 다소 못미치는 증가량을 보였다. 일반적으로 요구량 이상의 단백질을 섭취하거나 성장시기가 지난 경우에는 성장이 더 이상 개선되지 않는 선에서 유지되고 때로는 최대 성장점보다 다소 낮아지는 경향을 보이기도 하였는데 (Yone, 1976), 조피볼락의 초기 체중이 80g 전후였다는 것과 적정 단백질 함량이 이하가 이유가 될 것으로 생각된다.

한편 사료단백질의 질적인 차이에 따른 체중변화를 살펴보면 (Table 4), 성장은 대부분 질적으로 우수한 어분, 육분 및 대두박분을 급여한 그룹 (59.3 ± 8.6, 60.4 ± 11.8, 54.6 ± 10.9 g)이 콘글루텐분이나 우모분을 급여한 그룹 (50.7 ± 8.5, 53.9 ± 10.9 g)보다 우수함을 알 수 있었다. 식물성 단백질임에도 불구하고 대두박을 대체 단백질원으로 많이 사용하는데, 이는 단백질함량과 아미노산 조성 등 영양성분이 비교적 잘 갖추어져 있기 때문이다 (NRC, 1983, 1993). 또한 가격이 싸고 공급이 안정적이기 때문에 어분 대체 단백질원으로 가장 많이 연구되고 있는데, 조피볼락 치어의 경우 (Lee et al., 1996b)는 대두박 10% 이상 첨가시 성장효과가 떨어져 타어종과는 달리 대두박의 이용성이 매우 낮은 것으로 나타났다. 그리고 어체의 크기에 따라서도 이용성이 달라져 (Lee and Jean, 1996) 어체크기가 커짐에 따라 대두박을 20%까지 사료에 첨가 가능한 것으로 밝혀졌다. Table 5에 나타난 바와 같이 본 연구에서도 대두박 20% 첨가군에서는 어분 (Table 4) 첨가군과 큰 차이가 없을 정도의 결과를 보였으나, 대두박 30%와 40% 첨가군에서는 성장속도가 떨어짐을 알 수 있었다.

**Table 4. Body weight of Korean rockfish fed diets containing different plant or animal protein sources**

Diet groups <sup>1)</sup>	Body weight (g)	
	Initial	Final
CO	18.9 ± 2.9	59.3 ± 8.6*
SM20	18.9 ± 2.8	54.6 ± 10.0*
CGM	19.4 ± 3.1	50.7 ± 8.5*
MM	20.3 ± 3.4	60.4 ± 11.8*
FM	19.3 ± 3.3	53.9 ± 10.9*

Values are means ± S.E. (n=40).

\*p<0.05 vs. initial group.

<sup>1)</sup> Refer to footnote in Table 2.

**Table 5. Body weight of Korean rockfish fed diets containing different soybean protein**

Diet groups <sup>1)</sup>	Body weight (g)	
	Initial	Final
SM20	18.9 ± 2.8	54.5 ± 10.0*
SM30	19.2 ± 3.0	48.3 ± 8.2*
SM40	18.8 ± 3.2	45.5 ± 7.6*

Values are means ± S.E. (n=40).

\*p<0.05 vs. initial group.

<sup>1)</sup> Refer to footnote in Table 2.

3. 사료 단백질의 함량이 혈액중 IGF-I의 농도에 미치는 영향  
 혈청내 단백질 농도는 일반적으로 단백질이 부족하면 감소하는 데 IGF-I 또한 단백질 결핍상태일 때 감소한다 (Clemmons et al., 1981; Maes et al., 1988). 다른 척추동물과 마찬가지로 사료 결핍 시에는 은연어의 immunoreactive IGF-I 농도가 감소하고 사료를 제한시킨 어류의 경우 외부에서 투여된 IGF-I에 의해 체장과 체중이 3배 이상 상승하였다 (Moriyama et al., 1994). 무지개송어에서도 4주간의 절식으로 인해 혈중 IGF-I 수준이 유의적으로 감소하였을 뿐 아니라 (Niu et al., 1993) 도미를 실험어로 하여 연구한 결과에서도 사료단백질 함량에 따라 혈중 IGF-I 농도가 상승하는 것으로 나타났다 (Perez-Sanchez et al., 1995). 또한 넙치를 실험어로 사용하여 15일간 절식시킨 다음 다시 20일간 재급여하여 혈액중 존재하는 IGF-I 농도를 측정된 결과, 절식을 한 경우 사료를 섭취한 것에 비해 약 15% 정도 감소하였다가 다시 재공급에 의해 약간 회복되었다 (Nam et al., 1996). 즉, 척추동물과 마찬가지로 어류의 혈액중 IGF-I 또한 단백질 영양 및 에너지에 크게 영향을 받고 있음을 알 수 있다.

사료내 단백질의 함량을 달리한 사료 (30%~60%)를 조피볼락에게 공급한 후 혈액 중 IGF-I 함량을 측정된 결과, 사료단백질 함량의 증가에 따라 혈액중 IGF-I의 농도는 205.2 ng/mL, 258.9 ng/mL, 288.0 ng/mL, 316.2 ng/mL로 나타났다 (Table 6). 앞서 나타난 체중증가율과 마찬가지로 사료단백질 함량이 증가할수록 혈액중 IGF-I의 농도도 증가하였으며, 사료단백질이 50%, 60%일 때 혈중농도가 다른 두 급여군에 비해 높게 나타났음을 알 수 있었다. 이것은 어종 및 크기별로 조금씩 차이는 있으나 대부분 사료단백질의 함량을 약 50%로 조정하는 점을 고려해볼 때, 혈중 IGF-I 함량 또한 성장률, 사료효율, 단백질 전환효율 등과 마찬가지로 사료단백질의 적정함유량을 추정할 수 있는 하나의 지수로 적용가능함을 의미한다.

**Table 6. Serum IGF-I levels of Korean rockfish fed diets containing various dietary protein levels**

Dietary protein levels	Serum IGF-I (ng/mL)
30%	205.2 ± 22.9
40%	258.9 ± 19.4
50%	288.1 ± 31.1
60%	316.2 ± 29.8

Values are mean ± S.E. (n=20).

4. 사료 단백질 급원에 따라 혈액중 IGF-I에 미치는 영향

어분을 대조군으로 하여 사료 단백질 급원에 따른 성장정도를 체중으로 살펴본 결과, 대두박 및 육분을 급여한 실험군에서 성장효과가 우수하였고, 콩글루텐분과 우모분을 급여한 실험군에서는 그보다 저하됨을 볼 수 있었다. Table 7은 사료단백질 급원을 달리하여 조피볼락을 사육후 혈액중에 존재하는 IGF-I 함량을 측정 한 것이다. 사료단백질의 함량에 따른 결과와 마찬가지로 아미노산 함량뿐만 아니라 필수 아미노산 또한 풍부한 (Lee et al., 1993) 영양가가 우수한 어분 (CO)과 육분 (MM)을 급여한 실험군에서 각각 277.7 ng/mL, 291.5 ng/mL로 다른 급여군에 비해 혈중 농도가 높았다. 그리고 앞서 설명한 바와 같이 식물성 단백질임에도 불구하고 비교적 영양성분이 우수한 대두박분을 급여한 실험군 (SM20)에서도 혈중 IGF-I 농도가 281.2 ng/mL로 높았다. 즉, 사료단백질이 질적으로 우수할 때 성장효과도 좋고 혈액중 IGF-I 함량도 높게 나타나는 것으로 보아 성장정도 (Table 4)뿐 아니라 사료단백질의 질적인 차이가 IGF-I 함량에 영향을 미침을 알 수 있었다.

**Table 7. Serum IGF-I levels of Korean rockfish fed various experimental diets**

Diet groups <sup>1)</sup>	Serum IGF-I (ng/mL)
CO	277.7 ± 23.2
SM20	281.2 ± 29.1
SM30	259.9 ± 15.7
SM40	239.5 ± 27.8
CGM	208.9 ± 21.3
MM	291.5 ± 41.2
FM	217.2 ± 38.2

Values are means ± S.E. (n=20).

<sup>1)</sup> Refer to footnote in Table 2.

5. 사료단백질 급원에 따라 혈액중 IGFBP-3에 미치는 영향

IGFs는 혈액내에서 IGFbPs와 결합하여 존재하고 있다. 현재까지 포유류에서 6종류의 결합단백질이 보고되고 있는데, 이들 결합단백질은 IGFs의 반감기를 연장시켜 주고, IGFs를 표적세포까지 운반해주므로 (Baxter, 1993; Rechler, 1993), IGFs가 생물학적인 작용을 하기 위해서는 세포표면의 수용체뿐만 아니라 IGFs와 높은 친화력을 가지는 IGFbPs가 필요하다. 이렇듯 IGF-I 활성에 영향을 미치기 때문에 다양한 영양상태에 따른 IGFbPs의 변화에 대한 설명은 특히 단백질대사 상태추정에 있어 매우 중요하다. 이중 80%를 차지하고 있는 IGFBP-3는 특히 단백질 및 칼로리 섭취상태에 따라 혈중농도가 조절되는데 (Clemmons and Underwood, 1991), 성장호르몬의 결핍시나 (Jan Oscarsson et al., 1997) 단백질 제한과 같은 이화상태에서 IGF-I의 감소 (Hossenlopp et al., 1990; Guidice et al., 1990), 그리고 에너지 제한으로 인한 IGF-I resistance 등의 원인에 의해 혈중농도가 감소하게 된다 (Clemmons et al., 1989). 어류에서는 human IGF-I을 ligand로 사용하여 3가지 IGFbPs이 동정되었는데 (Anderson et al., 1993; Fukuzawa et al., 1995; Siharath et al., 1996), 아직 이들의 구조나

생물학적 활성에 관해서는 규명되지 않은 실정이다. 그러나 이중 IGFBP-3는 포유류와 마찬가지로 성장호르몬에 의해 상승되고 사료단백질의 결핍으로 인해 감소되는 것으로 보고되었다 (Kelley et al., 1992). Fig. 1은 western ligand blot법으로 조피볼락의 혈중 IGFBP를 살펴본 것인데, 어분 (CO), 대두박분 (SM) 및 육분 (MM)을 각각 20%씩 공급한 실험군에서 40 kDa 부근의 IGFBP-3가 2중 밴드로 진하게 나타남을 볼 수 있었다. 이들 실험군에서는 앞서 나타낸 바와 같이 성장정도도 우수하며 혈중 IGF-I 농도 또한 상승한 것으로 보아 Kelley et al. (1992)의 연구결과와 마찬가지로 혈중 IGF-I 농도증가가 원인일 것으로 생각한다.

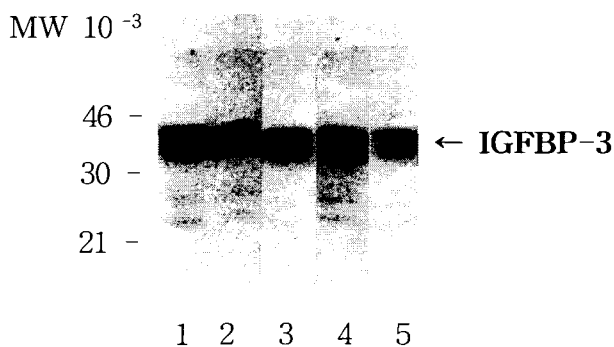


Fig. 1. Serum insulin-like growth factor binding proteins of Korean rockfish.

Following 12.5% SDS-PAGE and transfer to immobilon-PSQ membrane, IGFBP were detected by incubation with [<sup>125</sup>I]-IGF-I to identify the different forms of IGFBP. Molecular markers are indicated on the left.

Lane 1; Fish meal, Lane 2; Soybean meal, Lane 3; Corn-gluten meal, Lane 4; Meat meal, Lane 5; Feather meal.

이상의 연구결과에서 어종 및 성장단계별로 단백질 영양에 크게 영향을 받는 혈액내 IGF-I 함량을 측정하므로써 체중과 함께 성장정도뿐 아니라 질소평형과 더불어 체내 단백질 대사상태 추정, 그리고 사료단백질의 적절한 함량 및 질적인 차이를 평가가능할 것으로 판단된다.

## 요 약

조피볼락을 실험어로 하여 사료 단백질의 함량과 단백질원을 달리하여 공급한 후 동물의 성장인자 중 하나인 Insulin-like growth factor-I (IGF-I)과 IGFBP-3의 혈중농도를 검토하였다. 사료 단백질의 함량이 50%~60% 급여군에서 성장이 좋았고, 혈액중 IGF-I 농도도 높게 나타났다. 그리고 콘글루텐과 우모분보다 질적으로 우수한 어분, 대두박분, 육분을 첨가한 사료로 사육한 조피볼락의 혈액중 IGF-I과 IGFBP-3가 높은 것으로 나타났으므로, 어류 단백질 대사수준을 파악하는 지표로 활용이 가능하였다.

## 감사의 글

본 논문은 해양수산부에서 시행한 1995~1999년 수산특정연구 개발사업 지원에 의한 연구결과와 일부임.

## 참 고 문 헌

- Anderson, T.A., L.R. Bonnet, M.A. Conlon and P.C. Owens. 1983. Immunoreactive and receptor active insulin-like growth factor-I and IGF-binding proteins in plasma from the freshwater fish golden perch (*Macquaria ambigua*). *J. Endocrinol.*, 136, 191~198.
- Baxter, R.C. 1993. Circulating binding proteins for the insulin-like growth factors. *Trends Endocrinol. Metab.*, 4, 91~96.
- Baxter, R.C. and J.L. Martin. 1989. Binding proteins for insulin-like growth factors: Structure, regulation and function. *Prog. Growth Factor. Res.*, 1, 49~68.
- Beamishi, F.W.H. and T.E. Medland. 1986. Protein sparing effects in large rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture.*, 55, 35~42.
- Breier, B.H., B.W. Gallaher and P.D. Gluck. 1990. Radioimmunoassay for insulin-like growth factor-I: Solutions to some potential problems and pitfall. *J. Endocrinol.*, 128, 347~357.
- Caro, J.F., J. Poulos, O. Ittop, W.J. Porties, E.G. Flickinger and M.K. Singa. 1988. Insulin-like growth factor I binding in hepatocytes from human liver, human hepatoma, and normal, regenerating and fetal rat liver. *J. Clin. Invest.*, 81, 976~981.
- Clemmons, D.R., A. Klibanski, L.E. Underwood, J.W. McArthur, E.C. Ridgway, I.Z. Beitius and J.J. Van Wyk. 1981. Reduction of plasma immunoreactive somatomedin-C during fasting in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 53, 1247~1250.
- Clemmons, D.R., J.P. Thissen, M. Maes, J.M. Ketelslegers and L.E. Underwood. 1989. Insulin-like growth factor-I infusion into hypophysectomized or protein-deprived rats induces specific IGF binding proteins in serum. *Endocrinology.*, 125, 2967~2972.
- Clemmons, D.R., M.M. Seek and L.E. Underwood. 1985. Supplemental essential amino acids augment the somatomedin-C/insulin-like growth factor-I response to refeeding after fasting. *Metabolism.*, 34, 391~395.
- Clemmons, D.R. and L.E. Underwood. 1991. Nutritional regulation of insulin-like growth factor-I (IGF) and IGF binding proteins. *Annu. Res Nutr.*, 11, 393~412.
- Cohick, W.S. and D.R. Clemmons. 1993. The insulin-like growth factors. *Annu. Rev. Physiol.*, 55, 131~153.
- Froesch, E.R. and J. Zapf. 1985. Insulin-like growth factors and insulin: Comparative aspects. *Diabetologica.*, 28, 485~493.
- Fukuzawa, Y., K. Siharath, T. Iguchi and H.A. Bern. 1995. In vitro secretion of insulin-like growth factor binding proteins from liver of striped bass, *Morone saxatilis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 99, 239~247.
- Gallagher, M.L. and A.M. Matthews. 1987. Oxygen consumption and ammonia excretion of the American eel, *Anguilla rostrata*, fed diets with varying protein energy ratios and protein levels. *J. World Aqua. Soc.*, 18, 107~112.
- Guidice, L.C., F.M. Faeerll, H. Phan, G. Lamson and R.G. Rosenfeld. 1990. Insulin-like growth factor binding proteins in maternal

- serum throughout gestation and in the puerperium: effects of a pregnancy-associated protease activity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 71, 806~816.
- Hossenlopp, P., D. Seurin, B. Segovia-Quinson, S. Hardouin and M. Binou. 1986. Analysis of serum insulin-like growth factor binding proteins using western blotting: use of the method for titration of the binding proteins and competitive binding studies. *Anal. Biochem.*, 154, 138~143.
- Hossenlopp, P., B. Segovia, C. Lassarre, M. Roghani, M. Bredon and M. Binoux. 1990. Evidence of enzymatic degradation of insulin-like growth factor binding proteins in the 150K during pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 71, 797~805.
- Ikehara, K. and M. Nagahara. 1980. Fundamental studies for establishing rockfish culture techniques. VI. The protein digesting ability and the favourable contents of protein in diets for the rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Bull. Japan Sea Reg. Fish. Res. Lab.*, 31, 65~72 (in Japanese).
- Isley, W.L., L.E. Underwood and D.R. Clemmons. 1984. Changed in plasma somatomedin-C in response to ingestion of diets with variable protein and energy content. *J. Parenter. Enter. Nutr.*, 8, 407~411.
- Oscarsson Jan, G. Johannsson, J.O. Johannsson, P.A. Lundberg, G. Lindstedt and B.A. Bengtsson. 1997. Diurnal variation in serum insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF binding protein-3 concentrations during daily subcutaneous injections of recombinant human growth hormone in GH-deficient adults. *Clinical Endocrinology*, 46, 63~68.
- Kelley, K.M., K. Siharath and H.A. Bern. 1992. Identification of insulin-like growth factor binding proteins in the circulation of four teleost fish species. *J. Exp. Zool.*, 263, 220~224.
- Kim, C.H. and P. Chin. 1995. The effects of dietary energy/protein ratio on oxygen consumption, ammonia nitrogen excretion and body composition in juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J. Korean Fish. Soc.*, 28, 412~420 (in Korean).
- Kim, J.D. and P. Lall. Santosh. 1999. Effects of dietary protein concentration on growth and feed utilization of Juvenile Haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *J. Aquacul.*, 12, 137~143.
- Lee, J.K. and S.M. Lee. 1996. Effects of dietary protein and energy levels on growth in fat cod (*Hexagrammos otakii* Jordan et Starks). *J. Korean Fish. Soc.*, 29, 464~473 (in Korean).
- Lee, I.Y., Y.J. Kang, S.M. Lee and I.B. Kim. 1993a. Protein requirements of the Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. *Korean J. Aquacult.*, 6, 13~27 (in Korean with English abstract).
- Lee, I.Y., Y.J. Kang, S.M. Lee and I.B. Kim. 1993b. Optimum digestible energy to protein ratio in diets for the Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. *Korean J. Aquacult.*, 6, 29~46 (in Korean with English abstract).
- Lee, S.M., J.H. Yoo and J.Y. Lee. 1996a. The use of soybean meal, corn gluten meal, meat meal, meat and bone meal, or blood meal as a dietary protein source replacing fish meal in Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Kor. J. Anim. Nutr. Feed.*, 20, 21~30 (in Korean).
- Lee, S.M. and J.G. Jeon. 1996b. Evaluation of soybean meal as a partial substitute for fish meal in formulated diets for Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). *J. Korean Fish. Soc.*, 29, 586~594 (in Korean).
- Maes, M., Y. Amand, L.E. Underwood, D. Maiter and J.M. Ketelslegers. 1988. Decreased serum insulin-like growth factor-I response to GH in hypophysectomized rats fed a low protein diets: Evidence for a post receptor defect. *Acta. Endocrinol.*, 117, 320~326.
- Maiter, D., M. Maes, L.E. Underwood, T. Fliesen, G. Gerard and J.M. Ketelslegers. 1988. Early changed in serum concentrations of somatomedin-C induced by dietary deprivation in rats: concentrations of growth hormone receptor and post-receptor defects. *J. Endocrinol.*, 118, 113~120.
- Manson, J.M. and D.W. Wilmore. 1986. Positive nitrogen balance with growth hormone and hypocaloric intravenous feeding. *Surgery.*, 100, 188~197.
- Moriyama, S., P. Swanson, M. Nishi, A. Takahashi, H. Kawachi, W. W. Dickhoff and E.M. Plisetskaya. 1994. Development of a homologous radioimmunoassay for coho salmon insulin-like growth factor-I. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 96, 149~161.
- Nam, T.J., K.Y. Park, Y.D. Lee and Y.U. Kim. 1996. Serum levels of insulin-like growth factor-I in Flounder, *Parlichthys olivaceus*. *J. Korean Fish. Soc.*, 29, 150~156 (in Korean).
- Niu, P.D., J. Perez-Sanchez and P.Y. Le Bail. 1993. Development of a protein binding assay teleost insulin-like growth factor (IGF)-like: Relationships between growth hormone (GH) and IGF-like in the blood rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry.*, 11, 381~391.
- NRC (National Research Council). 1983. *Nutrient Requirements of Warmwater Fishes and Shellfishes*. National Acad. Press, Washington, D.C., 102pp.
- NRC (National Research Council). 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. National Acad. Press, Washington, D.C., 114pp.
- Ogino, C. 1980. Protein requirements of carp and rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 46, 385~388 (in Japanese).
- Perez-Sanchez, J., H. Marti-Palance and S.J. Kaushik. 1995. Ration size and protein intake affect circulating growth hormone concentration, hepatic growth hormone binding and plasma insulin-like growth factor-I immunoreactivity in a marine teleost, the gilthead seabream (*Sparus aurata*). *J. Nutr.*, 125, 546~552.
- Rechler, M.M. 1993. Insulin-like growth factor binding proteins. In "Vitamins and Hormones" (G.D. Aurbach and D.B. McCormick, Eds) Vol. 47, pp1~114, Academic Press, New York.
- Siharath, K., K.M. Kelley and H.A. Bern. 1996. A low molecular weight (25 kDa) IGF binding protein is increased with growth inhibition in the fasting striped bass, *Morone saxatilis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 102, 307~316.
- Thissen, J.P., J.M. Ketelslegers and L.E. Underwood. 1994. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocrine Reviews.*, 15, 80~101.
- Yone, Y. 1976. Nutritional studies of red seabream. In K.S. Price, W. N. Shaw and K.S. Danberg (editors). *Proc. 1st. Int. Conf. Aquaculture*. Lewes, Delaware, pp. 39~64

---

2001년 6월 2일 접수

2001년 9월 21일 수리