

참굴, *Crassostrea gigas*, hemocytes의 분류 및 특징

권문경 · 박수일

부경대학교

서론

이매패의 hemocytes는 상처 치유, shell repair, 영양물질의 소화, 수송 그리고 분비에 관여한다고 알려져 있으며, 체내 방어 기능에서 필수적이다(Carmen et al., 1997).

패류의 hemocytes에 관해서는 주로 형태, 세포화학적 특징이 연구되어 왔으며 (Pipe, 1990 등), 밀도차원심분리법(Bachère et al., 1988)으로 분리된 hemocytes를 면역학적 방법에 의해(Cheng et al., 1980; Yoshino and Granath, 1983) 여러 가지 subpopulation으로 구분하지만, 현재로서는 같은 종의 패류에서도 분류 방법에 따라 다양하게 분류되고 있다.

본 연구에서는 참굴 *Crassostrea gigas*의 hemolymph 중에 있는 hemocytes의 형태적 특징을 조사하고, hemocytes 내의 방어 기능과 관계가 있는 효소 및 다당류의 존재, 위치를 조사하고, *in vitro*에서 항원과 반응시킨 후 효소의 활성 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험용 참굴은 경상남도 통영의 수하식 양식장에서 채집하였으며, 실험실에서 약 1주간 순치 후 실험에 사용하였다.

Hemolymph의 채취

hemolymph는 멸균 주사기에 M'Berl et al.(1988)의 modified HAAS를 채운 후 심장에서 채혈하였다.

광학현미경용 hemocytes cytopsin 표본 제작

hemocytes cytopsin 표본은 slide glass에 hemolymph 100 μ l를 적하한 후 500g, 5분간 cytopsin하여 표본으로 사용하였다.

Hemocytes의 염색

hemocytes cytopsin 표본을 Pappenheim의 May-Grünwald Giemsa 염색액으로 염색하여, hemocytes의 형태, 크기를 관찰하였다.

Hemocytes의 효소 활성 검사 및 PAS 반응

Hemocytes의 효소 활성은 세포화학적 방법을 이용하여 alkaline phosphatase activity, acid phosphatase activity, peroxidase activity, 비특이적 α -naphthyl acetate esterase activity, β -glucuronidase activity 및 PAS 반응 등을 검사하였다.

투과전자현미경용 hemocytes 표본 제작

투과전자현미경용 표본을 제작하여 Uranyl acetate & lead citrate 중염색을 한 후 투과전자현미경(JEM 2010, JEOL LTD.)으로 관찰하였다.

Hemocytes의 식작용 시험

hemolymph에 항원(*Vibrio harveyi* ATCC 14126의 FKC 100mg/ml) 20 μ l, 40 μ l를 첨가하여 27 $^{\circ}$ C, 24시간 배양한 후, 일정 시간별로 식균율과 식균지수를 구하였고, 아울러 hemocytes에 대한 여러 가지 효소의 활성 변화를 세포화학적으로 조사하였다.

결과 및 요약

Hemocytes cytopsin의 May-Grünwald Giemsa 염색의 결과, hyalinocytes와 granulocytes로 분류할 수 있었으며 이들은 다시 2종류의 granulocytes와 2종류의 hyalinocytes로 나눌수 있었다.

Hemocytes cytopsin 표본에 대하여 효소 염색을 한 결과는 다음 표와 같다.

	Granulocytes		Hyalinocytes	
	Small	Large	Small	Large
Alkaline phosphatase	-	-	+	-
Acid phosphatase	-	-	+	-
Peroxidase	-	-	-	+
α -naphthyl acetate esterase	-	-	++	++
β -glucuronidase	-	-	+	++
PAS 반응	+/-	-	+	++

식작용을 조사한 결과 식균율과 식균지수는 반응 15분 쯤부터 급격하게 증가하여 1시간 쯤까지 지속되었으며, 이후 서서히 감소하는 경향을 나타내었다.

식작용 후 효소 활성을 조사한 결과 시간이 경과함에 따라 양성반응을 나타내는 hemocytes의 수가 감소하는 경향을 나타내었지만, 대조구에 비하여 식작용한 시험구에서 양성 반응을 나타내는 hemocytes 수가 더 빠르게 감소하였다.

참고문헌

- Bachère, E., Chagot, D., Grizel, H. 1988. Separation of *Crassostrea gigas* haemocytes by density gradient centrifugation and counterflow centrifugal elutriation. Dev. Comp. Immunol. 12: 549-559.
- Pipe, R. K. 1990. Hydrolytic enzymes associated with the granular hemocytes of the marine mussel *Mytilus edulis*. Histochem. J. 22: 595-603.