

한국산 무당개구리 (*Bombina orientalis*) 수컷에서 에스트로젠성 내분비계장애물질 노출 평가 표준화 연구

계 명 찬

한양대학교 생명과학과

전 세계적으로 수환경생태계에서 양서류의 감소가 급속히 진행되고 있으며 환경 매체에 존재하는 내분비계장애물질에 의해 다양한 척추동물에서 성의 교란 등 내분비계장애 효과가 보고되고 있다. 특히 여성호르몬과 유사한 생리활성을 갖는 xenoestrogen을 검색과 위해성 평가를 위해 다양한 biomarker가 개발, 활용되고 있다. 분자바이오마커를 이용한 환경매체 내의 내분비계장애물질의 생태독성 평가과정에서는 지역적 특성의 고려가 매우 중요하다. 전세계적으로 여성호르몬과 유사한 생물학적 활성을 갖는 내분비계장애물질에 의한 야생척추동물의 생태독성 평가를 위한 분자바이오마커로는 난생 척추동물 수컷의 간조직에서 발현되는 난황전구단백질 (vitellogenin, Vg)이 널리 이용되고 있다. 본 연구에서는 한국산 양서류에서 xenoestrogen 노출에 따른 여성호르몬 유사 내분비계장애물질의 위해성 평가기법 개발의 일환으로 무당개구리(*Bombina orientalis*)를 모델로 간에서 발현되는 Vg mRNA의 정량적 RT-PCR 분석법을 이용하여 대표적 에스트로젠성 내분비계장애물질의 일종인 bisphenol A, nonylphenol 및 octylphenol에 의한 Vg의 유도현상을 확인하였다. 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 발현을 확인하였고, 수컷에서도 암컷의 2^{-14} 에 해당하는 Vg의 발현을 확인하였다. 무당개구리의 수컷에 대표적인 내분비계장애물질인 bisphenol A 또는 nonylphenol, octylphenol을 0.1 - 100 mg/kg 농도로 복강 투여 후 최대 5일 후 Vg mRNA 발현을 정량분석 하였다. 1회의 BPA, nonylphenol 및 octylphenol 처리 후 간에서 유의적 수준의 Vg mRNA 발현이 유도되었다. 1회투여로 반응을 보이지 않는 농도에서 반복 투여

시 유의적인 Vg mRNA의 발현이 확인되어 환경매체내에서 이들 xenoestrogen에 대한 지속적인 노출은 내분비계장애 효과를 유발하는 것으로 나타났다. 본 연구 결과는 한국 토종의 양서류를 대상으로 내분비계장애물질 위해성 평가 표준화 방안으로 활용 가능할 것이다.