

감성돔, *Acanthopagrus schlegeli*의 GTH β 유전자 발현 및 성스테로이드 합성에 미치는 GnRHa의 효과

최철영*, 민병화¹, 장영진¹, 박인석, 조성환, 안광욱
한국해양대학교 해양환경·생명과학부
¹부경대학교 수산과학대학 양식학과

Effects of Gonadotropin-Releasing Hormone Analogue (GnRHa) on Expression of the Gonadotropin Subunit Gene and on Synthesis of the Sex Steroids in Black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*

Cheol Young Choi*, Byung Hwa Min¹, Young Jin Chang¹, In-Seok Park,
Sung Hwoan Cho and Kwang Wook An

Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea
¹Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

We examined the effects of GnRHa on expression of the gonadotropin subunit gene in the pituitary and on synthesis of the plasma sex steroids (testosterone and 17 β -estradiol) in protandrous black porgy. Fish were injected intraperitoneally with 0.2 g GnRHa/g and then both the pituitary and the plasma were sampled 0, 6, 12, 24 and 48 hours after injection. The mRNA level of the FSH subunit increased at 6 hours post-injection, while the LH mRNA levels expressed are same with or without GnRHa treatment. Also, GnRHa stimulation caused a significant increase of the plasma testosterone (T) and 17 β -estradiol (E₂) after 24 hours. The homologies of black porgy FSH to red seabream, *Pagrus major* FSH, snakehead fish, *Channa maculata* FSH and striped bass, *Morone saxatilis* FSH were 83.3%, 79.2% and 76.0% respectively. Amino acid homology analysis using the GenBank and EMBL general searches indicated that black porgy FSH has a high homology with yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* LH (97.7% identity) and red seabream LH (83.3% identity).

Keywords: Black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*, GnRHa, GTH subunit mRNA, Testosterone, 17 β -estradiol

서 론

일반적으로 포유류에서는 시상하부에서 분비되는 생식소자극 호르몬방출호르몬(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)이 뇌하수체 전엽에 위치한 GnRH 수용체를 활성화시켜, 여포자극 호르몬(follicle-stimulating hormone, FSH)과 황체형성호르몬(luteinizing hormone, LH)의 분비를 조절함으로써 생식소의 발달 및 성숙에 관여한다고 알려져 있다(Andrews et al., 1988; Wierman et al., 1989). 또한 어류에서도 GnRH가 FSH와 LH의 분비를 촉진시킨다는 결과가 금붕어, *Carassius auratus* (Khakoo et al., 1994; Melamed et al., 1998; Klausen et al., 2002), coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Dickey and Swanson, 2000), 털라피아, *Oreochromis mossambicus* (Melamed et al., 1998) 및

striped bass, *Morone saxatilis* (Hassin et al., 1998; Hassin et al., 2000)에서 보고된 바 있다. 따라서 어류를 포함한 척추동물에서 번식 과정은 시상하부-뇌하수체-생식소축을 바탕으로 한 내분비 시스템에 의해 조절된다고 할 수 있다.

뇌하수체 전엽에서 분비되는 glycoprotein 호르몬에는 FSH와 LH가 있으며, 각각 α 와 β subunit로 구성되어 있다. FSH와 LH의 α subunit은 구조적으로 동일한 반면, β subunit은 각 호르몬의 생물학적 활성을 특징화하는 역할을 한다(Pierce and Parsons, 1981). 또한 이들 호르몬은 성스테로이드를 조절함으로써 생식소가 발달함에 있어 중요한 역할을 담당한다(Habibi and Huggard, 1997; Dickey and Swanson, 1998; Melamed et al., 1998). FSH β 는 초기 배우자 형성 및 생식소의 성장에 관여하고, LH β 는 생식소의 최종성숙, 배란 및 배정을 유도한다고 알려져 있다(Mateos et al., 2002; Ando et al., 2004). 그러나 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss*에서는 최종성숙 단계에서 FSH β 와 LH β

*Corresponding author: choic@bada.hhu.ac.kr

mRNA의 발현이 모두 증가한 것으로 나타났으며(Gomez et al., 1999; Kitahashi et al., 2002), 미성숙 참돔, *Pagrus major*의 경우에는 GnRHa를 처리하였을 때 LH β mRNA 및 혈장 LH가 증가한 반면, FSH β mRNA는 변화를 보이지 않았다고 보고하였다(Kumakura et al., 2004).

본 연구에서는 1년생 용성선속형 감성돔을 대상으로 GnRHa를 처리하였을 때, 시상하부-뇌하수체-생식소축의 활성화로 인한 GTH β subunit mRNA의 발현 정도 및 성스테로이드인 testosterone (T)과 17 β -estradiol (E₂)의 혈장 농도의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험어

실험어는 실내 순환여과 사육수조에서 사육중인 1년생 감성돔(16.4 \pm 0.8 cm, 66.7 \pm 10.9 g) 30마리를 사용하였다. 실험기간 동안 수온은 20 \pm 1, 광주기는 12L:12D로 유지하였으며, 먹이는 실험개시 24시간 전부터 공급하지 않았다.

호르몬 처리

실험개시시(2004년 12월)에 GnRHa (des Gly¹⁰-[D-Ala⁶]LHRH ethylamide, Sigma, USA)를 체중(g)당 0.2 μ g으로 복강주사 하였다. 주사량은 체중 당(g) 100 μ l가 되도록 감성돔을 정량 후 주사하였다. 주사 후 0, 6, 12, 24 및 48시간째에 각각 5마리씩을 꺼내어 혈액 및 뇌하수체를 채취하였다.

샘플링 및 분석

혈액은 헤파린 처리된 주사기(3 ml)를 사용하여 미부혈관으로부터 채취한 후, 원심분리(4°C, 10,000 rpm, 5분)하여 얻은 혈장을 호르몬 분석 전까지 -80°C의 초저온 냉동고에 보관하였다. 채혈 후 뇌하수체를 절취하여 total RNA 추출 시까지 -80°C에 보관하였다. 혈장 T와 E₂는 각각 T RIA kit (DSL, USA), E₂ RIA kit (ADLTIS, Italy)를 사용하여 방사면역측정법(RIA)으로 분석하였다.

GTH subunit 유전자의 RT-PCR 및 정량화

-80°C 초저온 냉동고에서 보관중인 GnRHa 주사 후 시간대별로 채취된 감성돔의 뇌하수체로부터 Total RNA Extraction Kit (Promega, USA)를 사용하여 total RNA를 추출하였다. FSH β 및 LH β cDNA의 증폭을 위하여 이미 알고있는 다른 어류들의 염기배열을 참고로 하여 종내-종간을 통해서 잘 보존되어 있는 영역에서 FSH β forward primer; 5'-ATG CAG CTR GTT GTC ATR GYA G-3'와 FSH β reverse primer; 5'-ACT CGC AGR TTC TGG CCA CA-3'를, LH β forward primer; 5'-ATG TTG GGT TCC TTC CTG GGA-3'와 LH β reverse primer; 5'-TGC AGA AAT TGG GCT GCA GG-3'를 각각 설계하여 Reverse

transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)을 실시하였다. RT-PCR은 SuperScriptTMII Reverse Transcriptase (Invitrogen)를 사용하여 50°C에서 30분간 역전사 반응 후, 열변성을 94°C에서 2분간, 94°C에서 15초간, 56°C (FSH β) 및 58°C (LH β)에서 각각 30초간, 68°C에서 45초간 총 35회 실시하고, 최종신장 반응을 68°C에서 5분간 실시하였다. 이후 증폭된 PCR 산물은 1.0% agarose gel로 전기영동한 다음, GTH β subunit mRNA의 발현량은 내부표준 유전자인 β -actin의 발현량에 대한 비율로 환산하여 정량화하였다. β -actin의 primer는 forward primer; 5'-TCG AGC ACG GTA TTG TGA CC-3'와 reverse primer; 5'-ACG GAA CCT CTC ATT GCC GA-3'로 설계하여 내부표준 유전자로 사용하였다.

염기배열의 결정

정제된 FSH β 및 LH β 단편을 pGEM-T Easy Vector (Promega)에 삽입한 후, 이를 대장균 DH5 α 에 형질전환하여 형성된 colony를 배양하여 LaboPass Mini Plasmid DNA Purification Kit (Cosmo Co.)에 의하여 plasmid DNA를 정제하였다. 정제된 plasmid DNA의 sequence 반응은 ABI DNA Sequencer (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 염기배열을 결정하였다.

통계분석

각 실험결과로부터 얻어진 자료값 사이의 유의차 유무를 SPSS-통계패키지(version 10.0)에 의한 One way ANOVA를 실시하여 최소유의차 검정(LSD)으로 평균간의 유의성(P<0.05)을 검정하였다.

결 과

FSH β 및 LH β cDNA의 상동성

감성돔의 FSH β 및 LH β 특이적인 primer를 이용한 RT-PCR에 의하여 각각 증폭된 289 bp 및 376 bp의 cDNA 염기배열을 결정하였다. 염기배열이 결정된 감성돔 FSH β 염기배열을 유전자 database인 GenBank에서 아미노산 상동성을 확인해 본 결과, 참돔 FSH β (Gen at al., 2000)와 83.3%, snakehead fish, *Channa maculata* FSH β (Chatterjee et al., 2005)와 79.2% 및 striped bass FSH β (Hassin et al., 1995)와 76.0%의 상동성이 나타났다(Fig. 1). 또한 LH β yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* LH β (L11722)와 97.7%, 참돔 LH β (Gen at al., 2000)와 96.2%의 높은 상동성을 보였다(Fig. 2).

뇌하수체 GTH mRNA 발현

GnRHa 처리에 따른 뇌하수체 GTH β subunit mRNA의 발현을 조사한 결과, FSH β mRNA의 발현량은 실험개시시에 비하여 6시간째에 유의적으로 증가한 후에 점차 감소하는 경향을 보였다(P<0.05) (Fig. 3). LH β mRNA의 발현량은 실험개시시

```

bpFSHb 1:MQLVVMVAVVLLTGTGQSCRFGCHPTNISMPVESCGETEFIDTTICAGQCYHEDPVYLSH 60
rsFSHb 1:MQLVVMVAVVLLTGTGQSCRFGCHPTNISMPVESCGETEFIDTTICAGQCYHEDPVYLSH 60
sfFSHb 1:MQLVVMVAVVLLTGTGQSCRFGCHPTNISMPVESCGETEFIDTTICAGQCYHEDPVYLSH 60
sbFSHb 1:MQLVVMVAVVLLTGTGQSCRFGCHPTNISMPVESCGETEFIDTTICAGQCYHEDPVYLSH 60
      *****
bpFSHb 61:HDWAEQRTCNGDWSYEVKHIHGCPVAITYPVARTCE 96
rsFSHb 61:HDWAEQRTCNGDWSYEVKHIHGCPVAITYPVARSCE 96
sfFSHb 61:HDWTEQKICNGDWSYEVKHIHGCPVAITYPVARNCE 96
sbFSHb 61:YERPEQRICNGDWSYEVKHIKGPVGVTPVARNCE 96
      ** ***** **
    
```

Fig. 1. Comparison of amino acid sequences of the black porgy, *A. schlegeli* FSHβ (bpFSHb, AY921613), red seabream, *P. major* FSHβ (rsFSHb), snakehead fish, *C. maculata* FSHβ (sfFSHb) and striped bass, *M. saxatilis* FSHβ (sbFSHb). The amino acid sequences were optimally aligned so as to match identical residues, which are indicated by asterisks.

```

bpLHb 1:MLGSFLGASPSIWPLAPAEAFQLPPCQLINQTVSLEKEGCPKCHPVETTICSGHCITKDP 60
ysLHb 1:MLSFFLGASASIWPLAPAAAFQLPPCQLINQTVSLEKEGCPKCHPVETTICSGHCITKDP 60
rsLHb 1:MLSSFLGASPSIWPLAPAEAFQLPPCQLINQTVSLEKEGCPKCHPVETTICSGHCITKDP 60
      ** *****
bpLHb 61:VMKTRYVYQHVCITYRDLHYKTFELPDCPPGVDPTVTVYPVAVSCNCGLCAMDTSDCTFESL 120
ysLHb 61:VMKTRYVYQHVCITYRDLHYKTFELPDCPPGVDPTVTVYPVAVSCHCGLCAMDTSDCTFESL 120
rsLHb 61:VMKTRYVYQHVCITYRDLHYKTFELPDCPLGVDPTVTVYPVAVSCNCGLCAMDTSDCTFESL 120
      *****
bpLHb 121:QPNFCMNDIPFYY 133
ysLHb 121:EPNFCMNDIPFYY 133
rsLHb 121:QPNFCMNDIPFYY 133
      *****
    
```

Fig. 2. Comparison of amino acid sequences of the black porgy, *A. schlegeli* LHβ (bpLHb), yellowfin seabream, *A. latus* LHβ (ysLHb) and red seabream, *P. major* LHβ (rsLHb). The amino acid sequences were optimally aligned so as to match identical residues, which are indicated by asterisks.

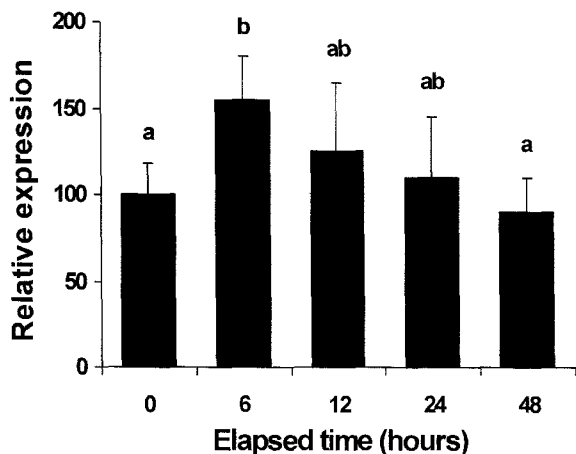


Fig. 3. Time-related effect of GnRHa (0.2 μg/g) on FSHβ mRNA levels in the black porgy, *A. schlegeli*. Total RNA was extracted 0, 6, 12, 24 and 48 h after treatment, and 1 μg was used for RT-PCR. The values are percentage increase relative to control value. The expression level of each sample was normalized with respect to the of β-actin signal, and expressed as relative expression level. Values with dissimilar letters are significantly different (P<0.05) from each other. Values are means±SD of these three experiments.

에 비하여 12시간째에 증가한 것으로 나타났으나, GnRHa 처리에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다(P>0.05) (Fig. 4).

혈장 T 및 E₂ 농도

GnRHa 처리에 따른 혈장 T와 E₂의 변화는 Fig. 5에 나타내었다. 혈장 T 농도는 실험개시시에 65.0±7.1 pg/ml이었던 것이, 24시간째에 144.0±67.3 pg/ml로 2배 정도 증가하여(P<0.05), 실험종료시인 48시간째에는 최고값인 146.0±68.8 pg/ml로 나타났다. 혈장 E₂ 농도는 실험개시시에 9.0±0.7 pg/ml이었던 것이, 24시간째부터 21.1±5.4 pg/ml로 유의하게 증가하기 시작하여, 실험종료시인 48시간째에는 최고값인 33.3±14.7 pg/ml로 나타나, 혈장 T의 농도의 변화와 유사한 경향을 나타내었다.

고 찰

본 연구에서는 1년생 감성돔을 대상으로 GnRHa 처리에 따른 시상하부-뇌하수체-생식소 축의 활성여부를 파악하고자 뇌

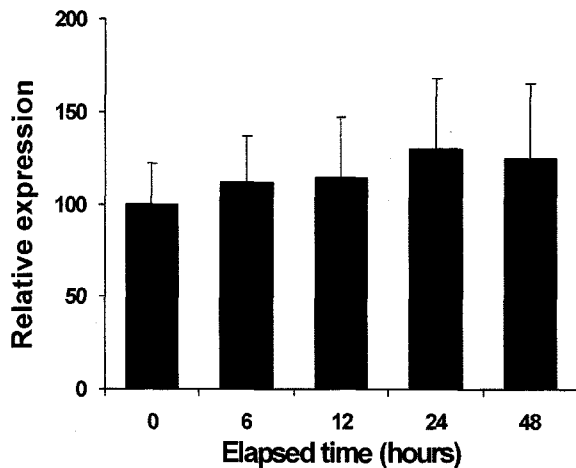


Fig. 4. Time-related effect of GnRHa (0.2 µg/g) on LHβ mRNA levels in the black porgy, *A. schlegeli*. Total RNA was extracted 0, 6, 12, 24 and 48 h after treatment, and 1 µg was used for RT-PCR. The values are percentage increase relative to control value. The expression level of each sample was normalized with respect to the of β-actin signal, and expressed as relative expression level. Values are means±SD of these three experiments.

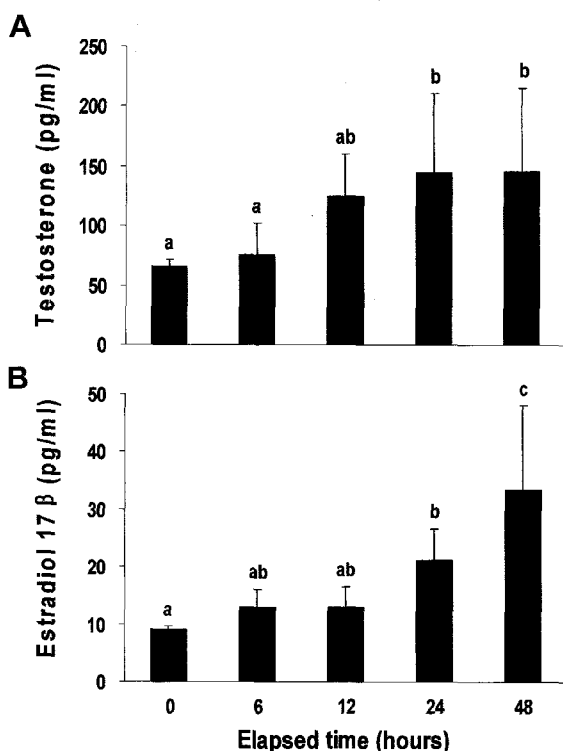


Fig. 5. Time-related effect of GnRHa (0.2 µg/g) on testosterone (A) and 17β-estradiol (B) plasma levels in the black porgy, *A. schlegeli*. Values with dissimilar letters are significantly different ($P < 0.05$) from each other. Values are means±SD of these three experiments.

히수체 FSHβ 및 LHβ mRNA의 발현정도 및 생식소호르몬의 일종인 T와 E₂의 혈장내 변화를 조사하였다.

일반적으로 경골어류에서 GnRH는 번식과정과 성스테로이드 생성을 조절하는 중요한 호르몬으로, 뇌하수체내 GTH mRNA

의 발현을 촉진하여 혈중 GTH 수준을 상승시킴으로서 생식소 발달 및 배란을 유도한다. Mateos et al. (2002)은 성숙단계 중 휴지기 상태인 sea bass, *Dicentrarchus labrax*에 GnRHa를 처리하였을 때, FSHβ는 억제된 반면, LHβ mRNA는 2배정도 증가하였으며, 혈장 LH 농도 또한 증가하였다고 보고하였다. 또한 GnRH를 처리한 striped bass에서는 LHβ mRNA의 발현이 FSHβ mRNA보다 더 높게 나타났다(Hassin et al., 1998).

본 연구에서는 GnRHa 처리 후 6시간째에 FSHβ mRNA가 유의적으로 증가하는 것으로 나타났으며, LHβ mRNA는 실험 기간동안 유의적인 차이를 보이지 않은 점으로 보아, 1년생 미성숙 감성돔에서는 GnRHa가 LHβ mRNA 보다는 FSHβ mRNA의 발현을 촉진하는 것으로 나타났다. 이러한 연구보고는 sGnRHa를 처리한 잉어, *Cyprinus carpio*에서 FSHβ와 LHβ mRNA는 번식단계에 따라 서로 다르게 발현되었다는 즉, 난황형성 단계에서는 sGnRHa 처리 후 6시간째에 FSHβ mRNA가 LHβ mRNA보다 발현량이 높게 나타났으며, 후기난황형성 단계에서는 LHβ mRNA만 증가하였다는 연구보고(Khakoo et al., 1994)와 일치하였다. 그러나 이와는 반대로 난황형성단계의 sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*에 GnRHa를 주입하였을 때 LHβ mRNA가 증가하였지만 FSHβ mRNA는 변화가 없었으며 (Kitahashi et al., 1998), 미성숙한 1년생 참돔을 대상으로 GnRH를 처리하였을 때 뇌하수체 LHβ mRNA 및 혈장 LH가 증가한 반면, FSHβ mRNA는 변화를 보이지 않았다(Kumakura et al., 2004). 한편 Bhandari et al. (2002)의 보고에 의하면, masu salmon, *Oncorhynchus masou*에 GnRHa를 어체중당 35 µg을 처리한 경우, 14일째에 LHβ mRNA가 발현하였지만, 75 µg을 처리한 경우에는 7일째 모든 GTHβ mRNA가 발현되었다. 이러한 연구결과는 GnRHa의 처리농도에 따라 GTHβ mRNA의 발현정도의 차이가 있음을 의미하는 것으로, 본 연구에서 처리한 GnRHa의 농도(0.2 µg/g) 및 처리시간인 48시간은 LHβ mRNA를 발현시킬 수 있는 최소한의 농도 및 경과시간이 아닐 수 있으며, 이로 인하여 LHβ mRNA 발현의 변화가 나타나지 않았을 가능성도 생각해 볼 수 있다. 이상의 결과들을 종합해 보면, GnRH에 의한 두종류의 FSHβ와 LHβ subunit의 발현은 어종, 성별, 성숙단계 및 GnRHa 농도에 따라 다르게 나타날 수 있음을 고려해 보아야 할 것이다.

본 연구에서 혈장 T의 농도는 실험개시시에 65 pg/ml이었던 것이 GnRHa 처리 후 24시간째부터는 140 pg/ml 이상으로 유의하게 증가한 것으로 나타났다. Lee et al. (2001)에 따르면 수컷에서 성전환되지 않은 3년생 감성돔의 경우, 혈장 11-KT는 3~4월에, E₂는 10~11월에 최고값을 나타내었다고 보고하였다. 또한 본 저자들의 이전 연구에서 실내 사육한 1년생 수컷 감성돔의 성스테로이드 양상을 조사해 본 결과, 혈장 E₂는 12월에 12 pg/ml이었던 것이 1~3월에는 2.2~4.4 pg/ml로 감소한 것으로 나타났다(Noh et al., 2005). 이러한 결과는 수컷 감성돔에서는 E₂의 작용이 11-KT나 T에 비해 빠르다는 것을 의미한다. 그러

나 본 연구에서 혈장 E₂의 농도는 실험개시시에 9.0 pg/ml이었던 것이 GnRHa 처리 48시간째에는 최고값인 33.3 pg/ml로 증가하였다. 또한 Lee et al. (2000)은 성전환 이전의 2년생 수컷 감성돔에 E₂를 처리하였을 때, 정자형성과정 및 배정이 억제된 반면 난모세포의 크기와 수가 증가하여 성전환이 촉진된다고 보고하였다. 따라서 이러한 사실을 바탕으로 본 연구결과를 고찰해 보면, 1년생의 수컷 감성돔에 있어 GnRHa 처리효과는 혈장 T 뿐만 아니라 E₂의 합성에도 직접적으로 관여하여 성전환을 위한 생식소내의 난모세포를 발달시키는 것으로 추측된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 외인성 GnRH의 처리는 시상하부-뇌하수체-생식소축을 활성화 시켜 GTHβ mRNA가 발현되고, 이로 인하여 혈장의 T와 E₂ 농도를 증가시킨 것으로 판단된다. 앞으로의 연구는 다양한 호르몬 농도 및 처리 시간대별 GTHβ mRNA의 발현 정도와 함께 감성돔의 성별, 성숙도에 따른 GTHβ mRNA의 발현과 성스테로이드의 변화 양상을 조사해 보아야 할 것이다.

요 약

RT-PCR을 이용하여 감성돔의 뇌하수체에서 발현하는 FSHβ와 LHβ cDNA를 각각 cloning하였다. GenBank를 이용하여 FSHβ와 LHβ 아미노산 배열과 상동성을 비교한 결과, 감성돔 FSHβ는 참돔 FSHβ와 83.3%, snakehead fish FSHβ와 79.2% 및 striped bass FSHβ와 76.0%의 상동성이 나타났으며, 감성돔 LHβ는 yellowfin seabream LHβ와 97.7%, 참돔 LHβ와 96.2%의 높은 상동성을 보였다. 또한, 본 연구에서는 1년생 수컷 감성돔에 GnRHa를 처리한 후, 뇌하수체에서 발현하는 GTH subunit mRNA의 농도와 혈중 T 및 혈중 E₂ 농도의 변화를 조사하였다. GnRHa를 체중 g당 0.2 μg으로 복강 주사한 후 0, 6, 12, 24 및 48시간째에 뇌하수체와 혈액을 샘플링한 결과, 호르몬 처리 후 6시간째에 FSHβ mRNA가 유의적으로 증가하였으나, LHβ mRNA 발현에는 유의적인 차이가 없었다. 또한 혈중 T와 혈중 E₂ 농도는 GnRHa 처리 후 24시간째 유의적으로 증가하였다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 한국해양대학교 신진교수연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

Ando, H., P. Swanson, T. Kitani, N. Koide, H. Okada, H. Ueda and A. Urano, 2004. Synergistic effects of salmon gonadotropin-releasing hormone and estradiol-17β on gonadotropin subunit gene expression and release in masu pituitary cells in

- vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 137, 109–121.
- Andrews, W. V., R. Mauer and P. M. Conn, 1988. Stimulation of rat luteinizing hormone β-messenger RNA levels by gonadotropin-releasing hormone. *J. Biol. Chem.*, 263, 13755–13761.
- Bhandari, R. K., H. Ando, M. Nakamura, A. Urano and H. Ueda, 2002. Effects of GnRHa on expression of genes encoding gonadotropin subunits and growth hormone/prolactin/somatolactin in the pituitary of masu salmon. *Zool. Sci.*, 19, 1487.
- Chatterjee A., S. T. Shen and J. Y. Yu, 2005. Molecular cloning of cDNAs and structural model analysis of two gonadotropin beta-subunits of snakehead fish (*Channa maculata*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 143, 278–286.
- Dickey, J. T. and P. Swanson, 1998. Effects of sex steroids on gonadotropin (FSH and LH) regulation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Mol. Endocrinol.*, 21, 291–306.
- Dickey, J. T. and P. Swanson, 2000. Effects of salmon gonadotropin-releasing hormone on follicle-stimulating hormone secretion and subunit gene expression in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 118, 436–449.
- Gen, K., K. Okuzawa, B. Senthilkumaran, H. Tanaka, S. Moriyama and H. Kagawa, 2000. Unique expression of gonadotropin-I and -II subunit genes in male and female red seabream (*Pagrus major*) during sexual maturation. *Biol. Reprod.*, 63, 308–319.
- Gomez, J. M., C. Weil, M. Ollitrault, P. Y. Le Bail, B. Breton and F. L. Le Gac, 1999. Growth hormone (GH) and gonadotropin subunit gene expression and pituitary and plasma changes during spermatogenesis and oogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 113, 413–428.
- Habibi, H. R. and D. L. Huggard, 1997. Control of gonadotropin production in fish. (in) S. Kawashima and S. Kikuyama (ed.), *Advances in Comparative Endocrinol.* Moduzzi Editore, Bologna, pp. 829–934.
- Hassin, S., M. Claire, H. Holland and Y. Zohar, 2000. Early maturity in the male striped bass, *Morone saxatilis*: follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone gene expression and their regulation by gonadotropin-releasing hormone analogue and testosterone. *Biol. Reprod.*, 63, 1691–1697.
- Hassin, S., A. Elizur and Y. Zohar, 1995. Molecular cloning and sequence analysis of striped bass (*Morone saxatilis*) gonadotropin-I and II subunits. *J. Mol. Endocrinol.*, 15, 23–35.
- Hassin, S., Y. Gothilf, O. Blaise and Y. Zohar, 1998. Gonadotropin-I and -II subunit gene expression of male striped bass (*Morone saxatilis*) after gonadotropin-releasing hormone analogue injection: quantification using an optimized ribonuclease protection assay. *Biol. Reprod.*, 58, 1233–1240.
- Khakoo, Z., A. Bhatia, L. Gedamu and H. R. Habibi, 1994. Functional specificity for salmon gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and chicken GnRH-II coupled to the gonadotropin release and subunit messenger ribonucleic acid level in the goldfish pituitary. *Endocrinol.*, 134, 838–847.
- Kitahashi, T., D. Alok, H. Ando, M. Kaeriyama, Y. Zohar, H. Ueda and A. Urano, 1998. GnRH Analog Stimulates Gonadotropin II Gene Expression in Maturing Sockeye Salmon. *Zool. Sci.* 15, 761–765.

- Kitahashi, T., S. Taniyama, H. Ando, H. Ueda and A. Urano, 2002. Changes in the gene expression of sGnRHs and TRH and effect of GnRH α during growth and sexual maturation in masu salmon (*Oncorhynchus masou*). Soc. Neurosci. Abst. 28, 3699.
- Klausen, C., J. P. Chang and H. R. Habibi, 2002. Time- and dose-related effects of gonadotropin-releasing hormone on growth and gonadotropin subunit gene expression in the goldfish pituitary. Can. J. Pharmacol., 80, 915–924.
- Kumakura, N., K. Okuzawa, K. Gen, S. Yamaguchi, B. S. Lim and H. Kagawa, 2004. Effects of gonadotropin-releasing hormone on pituitary-ovarian axis of one-year old pre-pubertal red seabream. Gen. Comp. Endocrinol., 138, 105–112.
- Lee, Y. H., F. Y. Lee, W. S. Yueh, P. Tacon, J. L. Du, C. N. Chang, S. R. Jeng, H. Tanaka and C. F. Chang, 2000. Profiles of gonadal development, sex steroids, aromatase activity, and gonadotropin II in the controlled sex change of protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli* Bleeker. Gen. Comp. Endocrinol., 119, 111–120.
- Lee, Y. H., J. L. Du, W. S. Yueh, B. Y. Lin, J. D. Huang, C. Y. Lee, M. F. Lee, E. L. Lau, F. Y. Lee, C. Morrey, Y. Nagahama and C. F. Chang, 2001. Sex change in the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*: a review in gonadal development, estradiol, estrogen receptor, aromatase activity and gonadotropin. J. Exp. Zool., 290, 715–726.
- Mateos, J., E. Mananos, M. Carrillo and S. Zanuy, 2002. Regulation of follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) gene expression by gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and sexual steroids in the mediterranean Sea bass. Comp. Biochem. Physiol., 132B, 75–86.
- Melamed, P., H. Rosenfeld, A. Elizur and Z. Yaron, 1998. Endocrine regulation of gonadotropin and growth hormone gene transcription in fish. Comp. Biochem. Physiol., 119C, 325–338.
- Noh, G. A., B. H. Min, M. H. Jeong and Y. J. Chang, 2005. Effects of 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T₃) on sex steroid levels and gonadal development in Black Porgy, *Acanthopagrus schlegeli* reared in freshwater and seawater. Dev. Reprod., 9 (Suppl.), 50.
- Pierce, J. G. and T. F. Parsons, 1981. Glycoprotein hormones: Structure and function. Annu. Rev. Biochem., 50, 465–495.
- 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.

원고접수 : 2005년 9월 12일

수정본 수리 : 2005년 10월 19일