

육계에서 가시오갈피와 두충의 첨가 급여가 항산화 효소, 지방 및 근육 관련 유전자 발현에 미치는 영향

강혜경 · 자가디쉬 벨로 · 손시환 · 장인석 · 문양수[†]

진주산업대학교 동물생명과학과

Effect of Dietary Supplementation of *Acanthopanax senticosus* and Eucommiaceae on the Expression of Lipogenic, Myogenic and Antioxidant Enzyme Genes in Broiler Chickens

H. K. Kang, J. Beloor, S. H. Sohn, I. S. Jang and Y. S. Moon[†]

Department of Animal Science & Biotechnology, Jinju National University

ABSTRACT This study was carried out to investigate the effect of dietary supplementation of *Acanthopanax (A) senticosus* and Eucommiaceae on the expression of lipogenic, myogenic and oxidative stress genes in broiler chickens. Birds were subjected (assigned) to one of the following 5 dietary treatments: control (CON), *A. senticosus* 0.5% (T1), 1.0% (T2), Eucommiaceae 0.5% (T3) and 1% (T4). Each treatment was replicated 8 times with 4 birds per replication, housed in 4 birds per cage. Birds were arranged according to randomized block design. Feeding trial was conducted from day 4 to 35th day of age. Liver and muscle tissues were collected for analysis. Broilers subjected to 1% *A. senticosus* had higher feed conversion ratio than the other treated birds whereas no significant differences were found in body weight, weight gain and feed intake. The gene expression levels of fatty acid synthase were not different among the treatments while the transcription factor PPAR γ was highly expressed in Eucommiaceae but not in control and *A. senticosus*. The gene expression levels of myogenin were high in both *A. senticosus* and Eucommiaceae compared to control group. MyoD also showed high expression in treated groups furthermore, Eucommiaceae stimulated the expression of MyoD more than that of *A. senticosus*. The antioxidant gene expressions (SOD, CAT, SOD, GPX) generally were not much different among the treatments, however, SOD and GPX were stimulated in broilers consumed 1% Eucommiaceae diet. The result of this experiment showed that dietary supplementation of *A. senticosus* and Eucommiaceae in broiler may improve the antioxidant defence system through SOD and GPX without affect of growth performance in broilers.

(Key words : *Acanthopanax senticosus*, Eucommiaceae, antioxidant, gene expression, broiler)

서 론

국민의 소득 수준과 의식 수준의 향상은 국민들의 소비 형태에도 영향을 미치고 있다. 과거의 양적인 소비에서 질적인 소비 즉, 안전하면서도 질 좋고 우수한 축산물을 선호하는 방향으로 소비가 변하고 있다. 따라서 축산물 생산자도 축산물의 생산성을 향상시키기 위한 생산 기술에서 친환경 축산물 생산을 위한 기술 개발에 심혈을 기울이고 있다. 가금산업도 친환경적, 건강 지향적인 방법 즉, 식품안전성, 무항생제, 저지방, 동물 복지 등을 고려한 사육 방법에 많은 연구가 진행되고 있다. 축산물 생산에 사용되는 기능성 소재로서 다양한 천연물(생리활성)이 주목 받고 있다. 천연 식물에서 분

리한 유기산과 flavonoids, beta-carotene 등의 다양한 생리활성 물질은 질병의 예방, 치료 및 건강에 효과가 있는 것으로 보고되었다(신길구, 1981; 진재인, 1990). 대표적인 생리 활성 물질인 flavonoids는 지질의 산화 억제와 항병원성 등의 다양한 생리 활성 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Son 등, 1998). 이외에도 천연물의 생리 활성에 대한 효과는 항균력(Hong, 2000), 항산화 및 유해 산소 제거 등의 연구 보고가 있다(Mortensen 등, 1997). 그 중 천연 식물 사료 첨가제는 주로 항산화 기능을 가지는 바, 이런 물질은 지방산의 산패에 의한 사료 품질을 보호하는 기능뿐만 아니라 가축이 섭취시 체조직의 항산화, 면역 증진, 번식 능력 등과 같은 생리적 작용에 중요한 영향을 미친다. 두충에는 phytochemicals이 많이 들어 있는

[†] To whom correspondence should be addressed : ysmoon@jinju.ac.kr

데, 대표적인 것이 polyphenolics pyrogallol, protocatechuic acid, coumaric acid, chlorogenic acid, triterpenes, 그리고 quercetin, kaempferol, astragalin을 함유한 flavonoids 등이 있다(Park 등, 2006). 이와 같이 두충에는 alkaloid, pectin, 지질, 유기산, 당류 및 vitamin C 등과 phenolic 화합물이 함유되어 있어 혈압 강하 작용(Meteri 등, 1997), 이노 작용과 항당뇨 활성, cholesterol 저하 및 비만 방지(Nakasawa 등, 1995) 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다. Hsieh(2000)등에 의하면 다양한 지질 과산화 모델 시험에서 두충이 항산화 활성이 있음을 보여 주었다. 두충잎을 반추동물(한우)에 급여할 경우, 육질 개선과 하리 발생 비율 감소(김 등, 2005)와 두충의 이유 자돈 사료에 첨가시 설사 빈도 감소와 생산성 증가(김 등, 2006) 등의 효과가 있는 것으로 보고되어 있다. 가시오갈피에는 암이나 노화 등의 원인이 되는 과산화 지질의 생성을 억제하는 타닌 성분 중의 하나인 chlorogenic acid가 그 대표적 성분이다. 이외에도 주요 성분에는 eleutherosides, chiisanoides, isofraxidin, acanthosides, daucosterine, sesame, savinine 등이 있다(Davydov와 Krikorian, 2000). 가시오갈피는 스트레스에 의해 유발된 생리적 변화에 대한 치료 물질로서 건강 첨가제로 널리 애용되고 있다(Fujikawa 등, 1996; Gaffney 등, 2001). 가시오갈피를 섭취한 사람은 단백질의 산화 억제뿐만 아니라 혈구 세포의 DNA 손상도 억제하는 것으로 보고되었다(Lee 등, 2008). 당뇨에 걸린 환자가 높은 혈중 포도당 농도에 지속적으로 노출되게 되면 항산화 방어 시스템의 조절 작용이 저하되는데, 이의 측정지표인 SOD, CAT, GSH-Px 등 또한 활성이 감소하게 된다(Dursun 등, 2005). 그러나 정상적인 생리적 상태에서 조류에게 천연 항산화 물질을 급여한 후 항산화 관련 반응 및 근육 및 지방 합성 관련 유전자의 발현 등, 분자생물학적 지표에 의해 검증한 결과는 거의 없는 것으로 사료된다. 닭의 생산성을 높이는 것도 중요하지만 닭의 면역 기능 증진 또한 중요하다. 따라서 산화적 스트레스를 감소시키는 방안으로 천연 물질인 두충과 가시오갈피를 첨가하였을 때 항생제 첨가 없이 닭의 건강을 증진시킬 수 있는 방법을 강구할 필요성이 있다. 따라서 본 연구는 가시오갈피와 두충의 첨가가 육계의 산화적 스트레스, 근육 및 지방 합성에 영향을 미치는지 관련 유전자들의 발현 양상을 조사하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물

본 시험에 공시된 시험동물은 육계 수컷 Ross종을 (주)을

품에서 구입하였으며, 구입 후 2일간의 적응 기간을 거친 후 4일령 병아리를 완전 임의 배치법에 의해 5개 처리구에 케이지당 4수씩 8반복 배치하였다.

2. 사양 관리

시험에 사용한 기초 사료는 상업용 육계 사료를 이용하였고 가시오갈피 및 두충은 w/w 비율로서 0.5% 및 1.0% 수준으로 각각 첨가하였다. 시험 사료의 조성 및 화학적 성분은 Table 1과 같다. 공시동물들은 35일령까지 control, T1(가시오갈피 0.5%), T2(가시오갈피 1.0%), T3(두충 0.5%), T4(두충 1.0%)의 처리 사료로 자유 급여를 실시하였다. 사양 관리는 진주산업대학교 종합농장 무창 시험계사에서 Ross 육계 사육관리지침(2002)에 따라 사육하였다.

3. RNA 분리

시험 종료일에 근육과 간을 취하여 액체질소에 급냉하였으며, 분석 때까지 -80°C 에서 보관하였다. RNA 분리를 위하여 각 시료는 액체질소에 넣고 분쇄한 후 Trizol(Invitrogen, USA)을 넣고 실온에서 5분간 배양시킨 후 Trizol 1 mL당 chloroform 0.2 mL를 첨가하고 15초간 교반시키고 실온에서 2분 반응시켰다. 반응시킨 반응물을 12,000 g, 4°C , 15분간 원심분리한 후 상층액에 isopropanol 0.5 mL를 첨가하고 10분간 실온에서 반응시켰다. 반응시킨 반응물을 12,000 g, 4°C , 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거하고 RNA 펠렛을 회수하였다. 각 시료의 RNA는 ND-1000 spectrophotometer(Nanodrop technologies, Inc. USA)를 이용하여 농도를 측정하였다.

4. RT에 의한 cDNA 합성

Reverse transcription system(Promega, USA)을 이용하였으며, primer는 oligo(dT)를 이용하였다. 반응 조성은 RNA 1.5 μg , buffer 4 μL , MgCl_2 (25 mM) 3 μL , dNTP(2.5 mM) 1 μL , reverse transcriptase 1 μL , primer 0.5 μL 이며, total volume은 DEPC로 20 μL 로 맞추었다. 이들 반응물은 25°C 에서 5분간 접합 과정과 42°C 에서 60분간 확장 과정을 통하여 cDNA를 합성하였으며, 이후 70°C 에서 15분간 열처리를 하여 역전사 효소를 불활성화 시켰다. 생성된 cDNA는 다음 단계의 실험을 위하여 -20°C 에서 보관하였다.

5. Real-time PCR

본 시험에 이용된 PCR primer의 정보는 Table 2와 같다. Real-time PCR은 MyiQ(BIO-RAD, USA)을 이용하여 다음과 같이 실시하였다. cDNA 1 μL , primer(5 pmole)는 각각 0.5 μL ,

SYBR Green 10 μ L, DEPC H₂O 8 μ L 반응물을 94 °C, 5분간 최초의 변성을 시키고, 94 °C 15초간 두 번째 변성, 각각 유

Table 1. Feed formula and chemical composition of basal diets

Items	Diets	
	Starter	Finisher
Ingredients (%)		
Corn	38.26	44.28
Wheat	20.00	20.00
Wheat bran	5.00	4.00
Animal fat	2.20	3.00
Corn gluten	4.00	4.00
Soybean meal (44% CP)	23.00	16.50
Rapeseed meal	1.50	2.00
Fish meal	1.00	1.00
Meat meal	2.00	2.00
Salt	0.20	0.23
Calcium carbonate	0.40	0.20
Tricalcium phosphate	1.40	1.60
Lysine (liquid)	0.46	0.66
Methionine	0.13	0.12
Choline-HCl	-	0.01
Vitamin premix ¹	0.20	0.20
Mineral premix ²	0.20	0.20
Maduramycin + nicarbazine	0.05	-
Antibiotics	0.0133	0.001
Total	100.00	100.00
Chemical composition (%)		
Crude protein	21.00	19.00
Ether extract	4.80	5.20
Crude fiber	4.30	3.90
Crude ash	5.00	4.90

¹Contained per kg: vit. A, 5,500,000 IU; vit. D₃, 1,500,000 IU; vit. E, 15,000 mg; vit. K, 800 mg; thiamin, 1,000 mg; riboflavin, 4,000 mg; niacin, 25,000 mg; biotin, 30 mg; folic acid, 500 mg; pantothenic acid, 5,000 mg; pyridoxine, 1,500 mg; vit. B₁₂, 15 mg.

²Contained per kg: Cu, 12,000 mg; Fe, 35,000 mg; Zn, 25,000 mg; Co, 150 mg; Co, 150 mg; Se, 120 mg; Mn, 38,000 mg.

전자에 맞는 접합 온도를 30초간 접합과 확장 과정을 72 °C 30초간 실시하였다. 그리고 94 °C 1분간 재 접합 과정을 거친 후 55 °C에서 1분간 재 확장 과정을 실시하였다. 마지막으로 유전자간 설정한 접합 온도에서 94 °C까지 0.5 °C씩 상승 하면서 94 °C에 이를 때까지의 형광 접합 물질인 SYBR Green이 떨어져 나오는 마지막 과정을 수행하였다. 유전자 발현의 상대적 발현량은 Livak and Schmittgen(2001)의 방법에 따라 계산하였다.

6. 통계 분석

통계 분석은 SAS package program(SAS Institute Inc, Cary, NC, USA)을 이용하여 one-way ANOVA 및 Turkey 다중 검정 분석법으로 처리간 평균간 유의성 검증을 실시하였다.

Table 2. Oligonucleotide primers used for real-time PCR

Item	Direction	Sequence(5'-3')	Size (bp)
Actin	F	5'-CAAAGCGCTCGATTTCATCGC-3'	180
	R	5'-TCTCTTCCACGGAGATGTCCT-3'	
FAS*	F	5'-CACCCCAAACAAGCTCATACA-3'	200
	R	5'-GCCAGTCATACTGTATCCCAA-3'	
Myo-genin	F	5'-ATGGAGCTTTTIGAGACCAAC-3'	170
	R	5'-GTCAGATCCTTCTCTCCAAA-3'	
MyoD	F	5'-ACTCCGACGTTCCAGTCGCC-3'	193
	R	5'-GGTGCTCCTCGGGCTTCAGCA-3'	
PPAR γ	F	5'-CAATGGTTGACACAGAAATGC-3'	180
	R	5'-GCTTGTTTGATCAGCTCTTCC-3'	
GST	F	5'-GTCAATTCGGTGGCTGTTAGC-3'	281
	R	5'-AAGGGAGAGCCATGATCATTCC-3'	
CAT	F	5'-GGCTCATTTTGACAGAGAGAG-3'	251
	R	5'-GATCCCAGTTACGTTCTTCTG-3'	
GPX	F	5'-ACGGTGTCTGTCACAAGTACA-3'	281
	R	5'-GATGTTGGTGACAGAGTGAGC-3'	
SOD	F	5'-TGAAGGCCGTGTGCGTGATGA-3'	190
	R	5'-GCCTCAGGATTAAGTGAGC-3'	

Abbreviations: FAS (fatty acid synthase), MyoD (myoblast determination protein), PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors), GST (glutathione S-transferase), CAT (catalase), GPX (glutathione peroxidase), and SOD (superoxide dismutase).

결과 및 고찰

1. 가시오갈피 및 두충 첨가 급여에 따른 증체, 사료 섭취량 및 사료 요구율

가시오갈피와 두충 등 천연물 첨가에 따른 육계의 사양 성적 결과(Table 3)를 살펴보면 대조구와 처리구, 또는 처리구간에 체중 및 증체율의 차이가 없었다. 가시오갈피와 두충을 각각 사료에 1%를 첨가한 경우 체중과 증체에 부정적 영향을 미치는 경향을 보이거나 유의적 차이는 없었다. 사료 섭취량 또한 대조구와 처리구간에 유의적 차이가 나타나지 않았다.

T2구에서 대조구와 T3구와 비교시 사료 요구율이 유의적으로($P<0.05$) 낮은 결과를 보였다. 가시오갈피 및 두충 0.5% 첨가구에서는 대조구와 유사한 사양 성적을 보였으나, 가시

오갈피와 두충 1% 급여구는 사료 요구율이 대조구와 비교시 감소되었다($P<0.05$). 이와 같은 결과로 보아 가시오갈피 및 두충 0.5% 급여는 체중, 증체, 사료 섭취량 및 사료 요구율의 부정적인 영향 없이 생리활성 소재로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

2. 육계에서 가시오갈피 및 두충 첨가가 지방 및 근육 관련 유전자 발현에 미치는 영향

가시오갈피와 두충을 0.5%와 1% 수준으로 첨가한 사료를 육계에 급여한 후 시장 출하 일령인 35일령에 근육과 간을 취하여 근육 및 지방 합성 관련 유전자의 발현을 측정하였다. Table 4에서 보는 바와 같이 간에서 지방을 합성하는 효소 유전자인 FAS(fatty acid synthase)의 발현은 처리간에 차이가 없었다. 지방 합성 관련 유전자를 조절하는 전사인자인 PPAR

Table 3. Effect of dietary supplementation of *Acanthopanax senticosus* and Eucommiaceae on growth performance, feed intake and feed conversion ratio (FCR) in broiler chickens

Item	Diets*				
	CON	T1	T2	T3	T4
Initial BW (g)	69.38 ± 0.72	70.14 ± 0.69	69.38 ± 0.49	69.69 ± 0.59	70.00 ± 0.64
Final BW (g)	2,035.00 ± 46.55	2,016.79 ± 54.54	1,893.91 ± 45.93	2,014.84 ± 2.28	1,973.75 ± 56.14
Total gain (g)	1,965.63 ± 46.83	1,946.64 ± 54.32	1,824.53 ± 45.93	1,945.16 ± 27.66	1,903.75 ± 55.83
Total FI (g)	2,854.90 ± 64.83	3,129.52 ± 122.94	3,135.69 ± 183.85	2,844.38 ± 57.83	2,962.81 ± 125.11
Total FCR	1.46 ± 0.04 ^b	1.61 ± 0.05 ^{ab}	1.72 ± 0.10 ^a	1.46 ± 0.02 ^b	1.56 ± 0.06 ^{ab}

*Con (control), T1 (*Acanthopanax senticosus*, 0.5%), T2 (*Acanthopanax senticosus*, 1%), T3 (Eucommiaceae, 0.5%), T4 (Eucommiaceae, 1%).

^{ab}Values with different superscripts differ significantly ($P<0.05$) among treatments.

Table 4. Effect of dietary supplementation of *Acanthopanax senticosus* and Eucommiaceae on lipogenic and myogenic gene expressions in broiler chickens

Items	Treatment									
	CON		T1		T2		T3		T4	
	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
FAS	15.42 ± 1.17	1 ^a	15.27 ± 0.54	1.11 ^a	15.98 ± 0.43	0.67 ^a	15.53 ± 1.11	0.92 ^a	15.00 ± 0.87	1.33 ^a
PPAR	15.98 ± 0.37	1 ^a	13.83 ± 2.35	4.43 ^b	13.44 ± 1.74	5.85 ^b	11.15 ± 2.81	28.44 ^c	1.75 ± 2.58	37.53 ^c
Myogenin	17.04 ± 2.11	1 ^a	13.80 ± 2.20	9.45 ^b	13.58 ± 0.79	11.00 ^b	12.41 ± 0.83	24.76 ^b	12.39 ± 1.46	25.10 ^b
MyoD	23.84 ± 0.77	1 ^a	21.06 ± 2.12	6.86 ^b	20.51 ± 0.81	10.05 ^b	18.78 ± 1.57	33.35 ^c	18.48 ± 1.03	41.06 ^c

CON (control), T1 (*Acanthopanax senticosus* 0.5%), T2 (*Acanthopanax senticosus* 1.0%), T3 (Eucommiaceae 0.5%), T4 (Eucommiaceae 1.0%). The ΔCt values are represented as the Ct of each target gene corrected by Ct of the control actin gene. The fold difference in the relative expression of the target gene was calculated as the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ value.

^{a-c}Values with different superscripts differ significantly ($P<0.05$) among treatments.

γ 의 경우 대조구에 비하여 가시오갈피와 두충 처리구에서 발현이 증가함을 볼 수 있었으며, 두충이 가시오갈피보다 상대적 발현량이 높았다($P<0.05$). PPAR γ 의 발현 증가는 일반적으로 지방 합성 또는 지방세포 분화 관련 유전자들의 발현을 유도하므로 지방 합성을 증가시키는 방향으로 작용하기 때문에 혈중 지방 성분에 영향을 미칠 수 있다. 손 등(2008)의 보고에 의하면 가시오갈피와 두충을 0.5% 또는 1% 육계 사료에 첨가한 경우 혈중 중성지방의 함량이 대조구에 비하여 높은 수준을 보였는데, 특히 두충 처리구에서 더 높은 경향을 보였으며, 콜레스테롤 또한 두충 첨가구에서 높은 수준을 나타내었다. 가시오갈피를 사람이 섭취한 결과를 보면 6개월 이상 장기 섭취를 하여도 혈중 중성지방의 함량에는 영향을 미치지 않고 다만 LDL cholesterol의 함량이 감소하였다는 보고(Lee 등, 2008)가 있으나, 가금을 이용한 관련 보고는 손 등(2008)의 보고 이외에는 아직까지 없는 것으로 사료된다. 어떤 기작에 의하여 가시오갈피 또는 두충의 급여가 육계의 혈중 지방 함량을 증가시켰는지에 대한 구체적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한, 간에서 지방 합성 효소(FAS) 유전자의 발현에는 큰 변화가 없음에도 불구하고 단지 전사인자의 발현 증가가 혈중 지방 함량을 증가시킨 것 또한 앞으로 밝혀져야 할 것으로 사료된다. 시험 종료 35일령에 근육 관련 유전자인 MyoD와 Myogenin의 발현을 조사 분석하였다. Table 4에서 보는 바와 같이 가시오갈피와 두충을 처리한 구에서 MyoD의 발현이 증가하였음을 알 수 있다($P<0.05$). 가시오갈피에 비하여 두충처리에 의해 이 유전자의 발현이 증가함을 보였다.

MyoD의 발현 증가는 근육의 재생, satellite 세포의 분화

유도 및 근육의 발달 유도 등 근육 성장에 긍정적으로 작용하는데(Pownall 등, 2002), 가시오갈피보다는 두충 처리구에서 이 유전자의 발현이 높게 나타나 시험을 35일령 이후 연장할 경우 증체에 영향을 미칠 것으로 사료된다. Myogenin은 근육세포의 최종 분화에 관여(Berkes와 Tapscott, 2005)하는데, 본 시험에서 이 유전자 또한 MyoD와 유사한 결과이나, 다만 두 항산화제 처리에 따른 차이는 없었다. 이들 유전자의 발현 결과를 종합하여 보면 항산화제 처리가 근육의 증식과 분화에도 긍정적으로 작용하는 것으로 사료되어 이에 대한 추가적인 시험이 필요한 것으로 사료된다.

3. 육계에서 가시오갈피 및 두충 첨가가 항산화 효소 유전자의 발현에 미치는 영향

육계에 가시오갈피와 두충을 급여하는 목적은 이들 첨가물이 항산화 효과가 높다는데 기인하기 때문에 항산화 효소 관련 유전자들의 발현에 영향을 미치는지를 조사 분석하였다. Table 5에서 보는 바와 같이 GST(glutathione-S-transferase)의 경우, 가시오갈피 1%와 두충 1% 처리 간에 차이가 있을 뿐 다른 처리들 간에는 발현의 차이가 없었다. 그러나 이들 발현의 차이 또한 대조구와 차이가 없는 것으로 분석됨에 따라 가시오갈피와 두충의 첨가가 육계의 GST 활성화에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 두 번째로 분석한 CAT(catalase)의 경우 또한 첨가제의 종류나 농도에 관계없이 이 효소의 활성화에는 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. SOD(superoxide dismutase)의 경우, 가시오갈피 처리에서는 대조구와 차이가 없었으나 두충 1% 처리구에서 이 항산화 효소의 유전자 발현이 증가하는 것으로 나타났다($P<0.05$). 두충

Table 5. Effect of dietary supplementation of *Acanthopanax senticosus* and Eucommiaceae on the RNA expressions of antioxidant enzymes in broiler chickens

Items	Treatment									
	CON		T1		T2		T3		T4	
	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
GST	4.08 ± 1.09	1 ^{ab}	4.78 ± 1.28	0.65 ^{ab}	5.14 ± 0.43	0.48 ^a	4.03 ± 0.95	1.03 ^{ab}	3.6 ± 0.98	1.39 ^b
CAT	7.60 ± 0.67	1 ^a	7.37 ± 0.90	1.17 ^a	7.33 ± 0.36	1.21 ^a	6.78 ± 0.73	1.76 ^a	7.30 ± 0.93	1.23 ^a
SOD	5.85 ± 0.99	1 ^a	5.21 ± 0.99	1.56 ^{ab}	4.88 ± 0.99	1.94 ^{ab}	4.77 ± 0.65	2.11 ^{ab}	4.37 ± 1.57	2.79 ^b
GPX	23.37 ± 0.84	1 ^a	20.87 ± 3.93	5.65 ^b	22.00 ± 1.11	2.58 ^b	19.92 ± 1.05	10.92 ^c	19.68 ± 1.05	12.82 ^c

CON (control), T1 (*Acanthopanax senticosus* 0.5%), T2 (*Acanthopanax senticosus* 1.0%), T3 (Eucommiaceae 0.5%), T4 (Eucommiaceae 1.0%). The ΔCt values are represented as the Ct of each target gene corrected by Ct of the control actin gene. The fold difference in the relative expression of the target gene was calculated as the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ value.

^{a-c}Values with different superscripts differ significantly ($P<0.05$) among treatment.

0.5% 처리구에서도 또한 SOD의 발현이 증가하였으나 1% 처리구보다는 낮게 나타났다.

GPX 또는 GSHPX(glutathione peroxidase) 유전자의 발현은 두충 처리구 모두에서 높게 발현되었으며, 가시오갈피 0.5% 처리구에서도 대조구에 비하여 높은 발현율을 나타내었다 ($P<0.05$). 제2형 당뇨병이 있는 쥐에게 두충을 급여하였을 때, SOD, GSHPX에 영향을 미치지 않고 다만 CAT 활성에만 큰 영향을 주었다(Park 등, 2006)는 보고에서와 같이 두충과 가시오갈피와 같이 천연 항산화 물질의 섭취시 항산화 관련 유전자들이 모두 활성화 되는 것 같지는 않으며 항산화 물질의 종류 및 대상 종에 따라 다르게 반응하는 것으로 보인다. 위의 결과들을 종합하여 보면 두충의 육계 사료 첨가는 항산화 효소의 활성을 증진시키는 측면에서 긍정적으로 평가되며 사료내 0.5% 수준보다는 1% 수준에서 보다 좋은 성과를 나타내었다. 그러나 가시오갈피의 경우, 0.5% 처리구의 GPX 증진 효과 이외에는 항산화 효소 증진에 대조구와 차이를 보이지 않아 항산화 효소의 활성 목적으로 위의 항산화 물질을 사료 첨가에 이용하는 것은 추가적인 연구가 더 진행된 후에 결정해야 될 것으로 사료된다.

적 요

가시오갈피 및 두충과 같은 천연 생리활성 사료 첨가제를 사료와 함께 급여하여 지방, 근육, 항산화 효소 등과 관련된 유전자의 발현을 분석하여 생리활성 물질에 의한 육계의 영향을 분자생물학적 측면에서 접근해 보고자 본 연구를 실시하게 되었다. 본 연구는 육계 Ross종 수컷을 5처리 8반복, 반복당 4수씩을 4일령에 완전 임의 배치하였으며, 시험 사료에 가시오갈피와 두충을 0%(대조구), 0.5%, 1% 수준으로 각각 첨가하여 35일령까지 자유 급여를 실시하고 시험 종료일에 근육과 간의 조직을 취하여 RNA를 분리한 후 분석에 이용하였다. 천연물 첨가에 따른 증체, 사료 섭취량 및 사료 요구율의 사양 성적 결과, 사료 요구율을 제외한 사양 성적에 큰 영향을 미치지 않았다. 근육 및 지방 합성 관련 유전자의 발현을 분석한 결과, 지방 합성 관련 유전자 FAS는 처리간에 차이가 없었으나, 전사인자인 PPAR γ 의 유전자 발현은 두충 처리구에서 높은 발현을 보였으나, 대조구와 가시오갈피와는 차이가 없었다. 근육 관련 유전자 MyoD와 Myogenin의 발현을 분석한 결과, Myogenin은 모든 처리구에서 대조구에 비해 높은 발현율을 보였으며, MyoD 또한 대조구에 비해 높은 발현율을 보였으나 가시오갈피에 비하여 두충이 이 유전자

의 발현을 더 유도하는 것으로 나타났다. 항산화 효소 유전자(GST, CAT, SOD, GPX)의 발현을 측정된 결과, 대체적으로 대조구와 큰 차이가 없었으나 두충의 1% 사료내 첨가는 항산화 효소 중 SOD와 GPX의 활성을 증진시켰다. 이상의 결과로부터 육계에 가시오갈피와 두충의 급여는 생산 능력에 큰 영향을 미치지 않으면서 근육 성장에 긍정적으로 작용하여 산화적 스트레스도 감소(SOD, GPX)시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

(색인어: 가시오갈피, 두충, 생리활성 물질, 유전자 발현, 육계)

사 사

본 논문은 농림부 농림기술개발사업(과제번호 106118-3)의 지원에 의해 수행되었습니다.

인용문헌

- Berkes CA, Tapscott SJ 2005 MyoD and the transcriptional control of myogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 16:585-595.
- Davydov M, Krikorian AD 2000 *Eleutherococcus senticosus* as an adaptogen: croser look. *J Ethnopharm* 72:345-393.
- Dursun E, Dursun B, Suleymanlar G, Ozben T 2005 Effect of haemodialysis on the oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 42:123-128.
- Fujikawa T, Yamaguchi A, Morita L, Takeda H, Nishible S 1996 Protective effects of *Acanthopanax senticosus* Harms from Hokkaido and its components on gastric ulcer in restrained cold water stressed rats. *Biol Pharm Bull* 19:1227-1230.
- Gaffney BT, Hugel HM, Rich PA 2001 *Panax ginseng* and *Eleutherococcus senticosus* may exaggerate an already existing biphasic response to stress via inhibition of enzymes which limit the binding of stress hormones to their receptors. *Med Hypotheses* 56:567-572.
- Hong JH, Lee MH, Kang MC, Hur SH 2000 Separation and identification of antimicrobial compounds from Korean leek. *J Safety* 15:235-235.
- Hsieh CL, Yen GC 2000 Antioxidant actions of du-zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) toward oxidative damage in biomo-

- lecules. Life Sci 66:1387-1400.
- Lee YJ, Chung HY, Kwak HK, Yoon S 2008 The effects of *A. senticosus* supplementation on serum lipid profiles, biomarkers of oxidative stress, and lymphocyte DNA damage in postmenopausal women. Biochemical and Biophysical Research Communications 375:44-48.
- Livak KJ, Schmittgen TD 2001 Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Methods 25:402-408.
- Metori K, Furutsu M, Takahashi S 1997 The preventive effect of ginseng with Du-zhong leaf on protein metabolism in aging. Biol Pharm Bull 20(3):237-242.
- Mortensen A, Skibsted LH, Sampson J, Rice-Evans C, Everett SA 1997 Comparative mechanism and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. FEBS Lett 418:91-97.
- Nagasawa H, Mitamura T, Sakamoto S, Yamamoto K 1995 Effects of lycopene on spontaneous mammary tumour development in SHN virgin mice. Anticancer Res 15(4):1173-1178.
- Park SA, Choi MS, Jung UJ, Kim MJ, Kim DJ, Park HM, Park YB, Lee MK 2006 *Eucommia ulmoides* oliver leaf extract increases endogenous antioxidant activity in type 2 diabetic mice. J Med Food 9:474-479.
- Pownall ME, Gustafsson MK, Emerson CP Jr. 2002 Myogenic regulatory factors and the specification of muscle progenitors in vertebrate embryos. Annu Rev Cell Dev Biol 18: 747-783.
- SAS Institute 1999 SAS User's Guide, Version 6.12. Statistical Analysis System SAS Institute Inc. Cary NC. USA.
- Son MW, Ko JI, Doh HM, Kim WB, Park TS, Shim MJ, Kim BK 1998 Protective effect of taurine on TNBS-induced inflammatory bowel disease in rats. Arch Pharm Res 21(5): 531-536.
- 김재황 김영민 이문도 신재형 고영두 2005 벚짚을 두충잎으로 대체급여 시 거세한우의 생산성, 도체특성 및 육의 지방산 조성에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지 47:963-974.
- 김재황 안경호 고영두 2006 생리활성 물질(쑥, 두충 및 어성초)의 첨가가 이유자돈의 성장, 영양소 이용율, 혈액특성, 장내 미생물 및 설사빈도에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지 48:383-392.
- 손시환 장인석 문양수 김영주 이수희 고영현 강선영 강혜경 2008 가시오갈피와 두충의 첨가 급여가 브로일러의 생산 능력, 혈장 생화학 지표 및 텔로미어 함량에 미치는 영향. 한국가금학회지 35:283-290.
- 신길구 1981 신씨본초학. 수문사.
- 진재인 1990 원설한방의학대사전(중국약학대전). 송옥출판사. (접수: 2009. 2. 23, 수정: 2009. 3. 16, 채택: 2009. 3. 16)