

한 효과를 보임을 확인 할 수 있었다. Authentic peroxynitrite를 첨가한 결과에서 compound 2-4는 각각 88.2%, 86.8%, 65.9%의 소거 효과를 보였고, compound 1, 5는 각각 95.3%, 98.1%로 대조군 L-ascorbic acid (100.2%), penicillamine (96.3%)과 유사한 효과를 보임을 확인 할 수 있었다.

마지막으로 compound 1-5의 thymus, spleen cell을 이용한 apoptosis 저해 정도는 control 과 비교해 거의 효과가 없는 것으로 확인되었다.

위의 실험 결과, 함초의 분획물 특히 n-BuOH fr.은 DPPH와 peroxynitrite 소거에 효과를 보이며 MTT assay를 통해 함초의 일부 추출물이 면역관련 장기인 thymus와 spleen cell의 활성을 증가시킴을 알 수 있었고, 이것은 아마도 함초가 세포의 증식을 자극시키거나 세포의 apoptosis를 억제하는 것이라 추측할 수 있었다. 이에 반해 분리된 이차대사물질들은 저조한 활성을 보임을 확인할 수 있었다. 이는 아직 분획물에 활성을 보이는 물질이 남아 있을 것으로 생각되며 향후 더 분리될 가능성이 있을 것으로 보인다.

#### 4. 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis* 간조직의 expressed sequence tags (ESTs) 분석 및 estradiol-17 $\beta$ 처리에 의한 발현 특징

해양생명환경학과 이 수 진  
지도교수 박 인 석

Expressed sequence tags (ESTs)는 cDNA library로부터 얻은 대량의 길이가 짧은 유전자 단편들의 DNA 염기서열에서 발현되는 유전자들에 관한 정보를 대량 확보하는 기술로서 이를 통해 본 연구에서는 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*, Günther, 1888 간조직으로부터 분리한 mRNA로 만들어진 cDNA를 이용하여 제작된 cDNA library 내에서 무작위로 선택된 1,032개의 클론에 대한 ESTs 데이터베이스를 구축하였다.

미꾸라지 간조직의 ESTs 내에서 GenBank 내에 등록된 유전자들과 상당한 상동성을 보인 클론(e-value<10<sup>-3</sup>)들의 경우 94.9%였으며, 상동이 아주 낮거나(e-value $\geq$ 10<sup>-3</sup>) GenBank 내에 등록된 유전자들과 맞는 것이 없는 클론들의 경우 6.2%로 나타났으며, ESTs 내에 존재하는 singletons의 비율은 38.6%였다. 생물종에 따른 분석에서 가장 잘 맞는 종은 어류로 82.6%를 차지한다. 기능별로 분류된 10개의 class 중에서 가장 많은 클론들이 속한 group은 18.5%의

Class (V) 번역 기능, chaperones, 방어기작에 관련되는 기능을 하는 경우, 18.9%의 Class (VIII) 일반적인 대사과정에 관련되는 기능을 하는 경우가 있다. 이러한 점을 바탕으로 미꾸라지 간조직의 ESTs에서 unigene 502개를 선별할 수 있었다.

Estradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>)를 이용한 미꾸라지 수컷의 성전환 유도에 있어서 호르몬 처리로 인한 생존률에 있어서 처리 농도와 기간에 영향을 받았으며, 성장에 있어서는 영향을 받지 않았다. E<sub>2</sub> 호르몬에 단기간 노출시 외형의 변화로 인해 사망에 이르렀으며, 장기간 노출시 담낭의 조직적인 변화가 일어났으나, 간 및 생식소에 있어서는 조직학적인 변화가 나타나지 않았다.

E<sub>2</sub> 호르몬에 노출된 수컷 미꾸라지의 간조직을 대상으로 한 cDNA microarray를 통한 유전자 발현 분석에 있어서는 산화적인 스트레스와 생리학적인 불균형이 초래했을 때 관여하는 유전자들이 다른 유전자들에 비해 높은 signal을 나타내고 있었으나, 이에 비해 다른 유전자들에 비해 일반적인 대사와 관련된 유전자들은 낮은 signal을 나타내고 있는 것이 조사되었다.

따라서 본 연구의 목적은 미꾸라지의 간에서 발현되는 유전자들에 관한 정보의 분석과 이를 통해 축적된 데이터베이스를 활용한 cDNA microarray를 통해 수생환경에서 환경호르몬의 일종인 estradiol-17 $\beta$ 에 노출된 수컷 미꾸라지 간에서 발현되는 유전자들의 발현양상을 조사하고, 조직학적·형태학적인 변화를 조사 분석하는데 있다.

