



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공학석사 학위논문

국내 양식산
시베리안 철갑상어(*Acipenser baerii*)의
성 성숙 및 vitellogenin 유전자
발현 특징



2012년 2월

부경대학교 대학원

해양생명공학협동과정

박 철 홍

공학석사 학위논문

국내 양식산
시베리안 철갑상어(*Acipenser baerii*)의
성 성숙 및 vitellogenin 유전자
발현 특징

지도교수 김 동 수

이 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함

2012년 2월

부경대학교 대학원

해양생명공학협동과정

박 철 홍

박철홍의 공학석사 학위논문을 인준함.

2011년 12월



주 심 수산학박사 노충환 (인)

위 원 수산학박사 남윤권 (인)

위 원 이학박사 김동수 (인)

목 차

목차	I
요약(Abstract)	III
표 목차(List of Tables)	V
그림 목차(List of Figures)	VI
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	5
1. 실험군 생산을 위한 친어 선발	5
2. 인공산란 유도 및 종묘 생산	5
3. Year-class 생산 및 실험군 생산	7
4. 생식소 성숙 및 발달 분석	8
5. 간 조직으로부터 total RNA의 분리	8
6. 역전사 반응 및 cDNA 주형의 합성	10
7. Vitellogenin transcripts의 RT-PCR 분석	10
8. 통계처리	13

III. 결 과	14
1. 인공 산란 및 종묘 생산	14
2. 2011년 생산군(UGB-Y0)의 생식소 발달	14
3. 2010년 생산군(UGB-Y1)의 생식소 발달	15
4. 2009년 생산군(UGB-Y2)의 생식소 발달	16
5. 2008년 생산군(AGB-Y3)의 생식소 발달	20
6. 2003년 생산군(AIS-Y8)의 생식소 발달	22
7. Year-class의 암수별 vitellogenin 유전자의 발현 수준	25
IV. 고 찰	29
국문 요약	38
감사의 글	39
참고 문헌	40

Sexual Maturation and Vitellogenin Expression of Siberian sturgeon
(*Acipenser baerii*) Farmed in Korea

Chulhong Park

*Marine Biotechnology Interdisciplinary Graduate Course,
Pukyong National University*

Abstract

Sturgeons, frequently referred to as "living fossils" in the actinopterygian lineage, are potential candidates for aquacultural production especially with respect to the highly valued caviar products from females. For this reason, the induction of all-femaleness in sturgeons has been one of long-cherished wishes in order to improve the productivity of sturgeon farming. However, they have readily long life spans and achieve reproductive maturity late in life. It consequently hurdles the practical identification of phenotypic sex in their early life, and further their reproductive mechanisms have not been comprehensively illuminated yet. In line with our long-term goal to achieve all-femaleness of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), the objective of this study was to provide a basis for sexual maturation of this species under farming conditions, based on the examination of morphological change of gonads along with vitellogenin

gene expression in different year classes. The gonad development was not clearly visible in the eight-month-old individuals that had been produced in 2011, in which distinct gonadal tissues could be seen in none of individuals examined. At 1 year of age, fishes represented visible and sex-distinguishable gonads, although there was variation in the size and maturity of the gonads among individuals. Most 1-year-old females, showed immature, underdeveloped ovaries with a high portion of ovarian fat. The same-aged males displayed more significant development of testicular tissues than their female counterparts. Afterwards, the gonad developments in both sexes were progressively advanced with a time function of age, and such that the phenotypic sexing of the fish became highly feasible in both sexes from the year class of 2009. Based on the qRT-PCR, the basal expression levels of vitellogenin mRNAs in the fish produced in 2011 were negligible. However the hepatic mRNA expression of vitellogenin were modulated toward upregulation with ages and peaked at the fishes belonging to the year class of 2008. Then, the vitellogenin expression was significantly down-regulated in fully matured fishes belonging to the year class of 2003 irrespective of sexes.

표 목차(List of Tables)

Table 1. Oligonucleotide primers used in this study 12

Table 2. Average body weight, total length and condition factor of
experimental fish 17



그림 목차(List of Figures)

Fig. 1. External morphology (A) and immature gonad (B) of <i>A. baerii</i> produced in 2011	18
Fig. 2. Ovarian (A) and testicular (B) morphology of <i>A. baerii</i> produced in 2010.	19
Fig. 3. Ovarian (A) and testicular (B) morphology of <i>A. baerii</i> produced in 2009	21
Fig. 4. Ovarian (A) and testicular (B) morphology of <i>A. baerii</i> produced in 2008	23
Fig. 5. Ovarian development (upper) and isolated yolk-laden eggs (lower) of <i>A. baerii</i> produced in 2003	24
Fig. 6. Testicular development (upper) and surgically removed testes (lower) of <i>A. baerii</i> produced in 2003	27
Fig. 7. Relative hepatic expression level of vitellogenin transcripts in different year-classes of <i>A. baerii</i> , as determined by quantitative RT-PCR analysis	28

I. 서론

살아있는 화석이라 일컬어지는 철갑상어는 자연 생태계에 존재하는 가장 큰 담수 어종중 하나로 백악기 시대부터 현존하는 고대 원시 어류이다. 북반구의 중위도 이북(유럽, 아시아, 북미 등) 하천과 기수지역, 또는 바다에 분포하며 1목 2과 26종으로 알려져 있다(Kim et al., 2009). 골격의 70% 이상이 연골로 이루어져 있으나 분류학상 경골어류로 분류되어 있으며, Acipenseridae 과(科)에 속하는 어류로 Acipenser, Huso 속(屬)이 있으며, Scaphirhynchidae 과(科)의 Scaphirhynchus 속(屬)도 철갑상어로 칭한다(Webb and Doroshov, 2011).

철갑상어는 크기에 따라 일반적으로 소형, 중형, 대형종으로 나뉘는데, 소·중형종의 경우 2 m 내외로 성장하며 체중은 10~60 kg이고 대형종의 경우 6 m까지 자라며 체중은 1톤을 넘는 경우도 있다. 수명은 소형종의 경우 35년 내외라고 알려져 있으며 중형종의 경우 75~120년, 대형종의 경우 170년 이상된 철갑상어도 보고된 적이 있어 장수의 상징으로 알려져 있기도 하다. 성질이 온순하고 이빨이 없으며 하천이나 바다의 바닥에서 실린더 형태의 널따란 입 주

위 4개의 수염으로 조개와 같은 어패류나 새우 등의 갑각류, 작은 물고기 등을 감지하여 먹잇감으로 삼는 철갑상어는 연어와는 다소 구분되는 다회성 산란 어류로 산란기에 담수로 돌아와 산란을 한 후 돌아가는 종과 일생을 담수에서 서식하는 종으로 구분된다. 실린더형의 몸체로 비늘은 꼬리 지느러미 부분에 약간의 경린(ganoid scale)만이 존재하고, 딱딱한 굳비늘(scute)이 5열로 등과 배부분에 배치되어 있다(Karpinsky, 2010).

육질의 우수함과 가죽, 지느러미 등 기타 부위의 높은 효용가치가 어종의 희소가치와 함께 높은 부가가치를 창출하는 원인이 되며, 가장 중요한 산물인 철갑상어 알(캐비아)은 세계 3대 진미의 하나로 일컬어지며 가장 비싼 음식으로 치부되어 왔다. 이로 인해 철갑상어는 지난 세기 무분별한 포획의 희생물이 되어 1998년 4월 이후 현재까지 전 종이 국제적 멸종 위기종 동식물 거래 협약(the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora; CITES)에 의해 관리되고 있다(Karpinsky, 2010).

이에 새로운 양식 어종의 개발과 멸종 되어 가는 수산 자원 보호를 위한 목적으로 지난 20여년간 유럽, 미주, 아시아 약 35개국에서 지속적으로 사육, 관리되고 있으며 한국은 1997년 3월, 양양 내

수면 연구소를 통해 러시아로부터 들여온 시베리안 철갑상어 (*Acipenser baerii*) 자어를 시험 사육한 것이 공식적인 첫 입식 기록으로 되어 있다(Seong et al., 1999).

이 후 지난 14년간 국내 철갑상어 양식은 빠르진 않지만 지속적으로 성장하여 현재 각 도의 내수면 연구소와 민간 양식장 등에서 7종, 20만 마리의 철갑상어가 사육 관리되고 있으며 최근 들어서는 어육을 이용한 제품 개발과 철갑상어 양식의 최고 부가가치 생산물인 캐비아의 상품화를 시도하는 곳도 생겨나고 있는 실정이다. 그러나 캐비아 생산을 위해 소요되는 7년 이상의 난 성숙 기간은 국내 내수면 양식 여건에 비추어 여전히 소득 창출 측면에서 커다란 제한적 요인으로 작용하고 있으며 또한 캐비아를 생산하는 암컷에 비해 어육만 생산하는 수컷의 경제적 가치가 현저히 낮은 점은 빠른 시기에 수컷을 선별 할 수 있는 방법을 필요로 하고 있다. 하지만 암수의 외형적 구분이 어려운 철갑상어의 특성상 초기 생식소 발달이 이루어지고 난 부화 3년 이후 비로소 복부 미세 절개(gonad biopsy) 방법이나 내시경을 이용한 검경으로 생식소 조직을 직접 확인하여 성감별해야 하는 어려움이 또 하나의 제한적 요소로 자리하고 있는 것이 현실이다. 따라서 이러한 철갑상어 양식의 제한 요소를 근본적으로

로 제어할 수 있는 방법 중 하나로 전암컷 철갑상어의 생산의 필요성이 대두되고 있다.

그러나 이것 역시 긴 사육 기간 동안 통제된 실험군의 관리가 어려운 점과 연구를 위한 물적 인적 자원의 부족, 그리고 현재까지 유전자 검사를 통한 성판별 불가능한 점, 철갑상어 성 성숙에 관한 충분한 연구 자료의 부족, 그리고 전 암컷 처리 효과 분석에 장기간의 시간이 소요 된다는 어려움이 있어 관련 연구는 극히 미비하게 이루어져 왔다. 따라서 철갑상어 전 암컷 생산을 위해서는 먼저 철갑상어 early life에서 최초 성 판독 가능 시점 확인, 성전환 처리에 필요한 최초 시점과 처리효과의 유무, 성 성숙에 관여하는 유전자 혹은 단백질 정보 등과 같은 기초자료를 수집하는 단계가 필요하다고 사료된다.

이에, 본 연구는 시베리안 철갑상어의 부화 초기자어 부터 사육기 육성어, 그리고 난 성숙이 이루어진 친어의 성 성숙 단계를 해부학적, 분자 생물학적 방식으로 접근하여 철갑상어의 암수간 성 성숙 메커니즘을 좀 더 이해하고 향후 철갑상어 양식과 연구 개발에 기초가 될 수 있는 자료를 제공하고자 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험군 생산을 위한 친어 선발

치어생산을 위해 선별된 친어들은 2001년 부화된 것으로 경남 함양의 디노빌 영어조합법인에서 2003년부터 사육하고 있었으며 2007년 이후 매년 동일 친어군(암컷 12마리, 수컷 12마리)에서 종묘 생산을 해오고 있다. 암컷 친어의 경우 전장 120~180 cm, 체중 12~24 kg 내외이며 수컷의 경우 전장 80~120 cm, 체중 4~10 kg 내외로 측정되었다. 친어는 암컷의 경우 매년 산란 시작 시기인 2월경에 선별적으로 채집되어 복부 미세절개를 통해 난을 수집, 관찰한 후 종묘 가능한 친어가 선발되었고 산란 적기가 결정되어졌다. 수컷의 경우 역시 같은 시기에 복부 미세절개를 통해 정소 조직의 성숙도를 검사하여 매년 6~7마리의 수컷이 선발되었다.

2. 인공산란 유도 및 종묘 생산

선별된 친어들은 산란 예정 시기에 인공 종묘 장소에 설치된 수조에 옮겨져 LH-RHa 주사를 통해 배란, 배정 유도 되었다. 주사된 LH-RHa의 농도는 어체중 당 약 50~100 μg 이었으며, 산란 유도 수

조 내 수온에 따라 수컷은 주사 후 18~24시간, 암컷은 주사 후 36~44시간 사이에 배정, 배란 유도 되었다. 채집은 수컷의 경우 생식공(urogenital pore)에 직경 3 mm의 가는 튜브를 연결한 50 ml 주사기를 삽입하여 정액을 채취, 정액이 물 또는 기타 다른 액체에 닿지 않도록 하였으며 채정 작업은 사육 수조에서 바로 들것(stretcher)으로 옮겨져 수행된 후 작업이 끝난 수컷은 원 사육 수조로 돌려 보내었다. 채집된 정액은 배란 작업이 시작될 때까지 4℃ 냉장 보관하여 사용하였다. 암컷의 경우 배란이 시작 되어 산란유도 수조 내 바닥에 떨어진 알이 관찰되는 시점에서 배란 유도 시간을 결정하여 들것에 옮겨 안정시킨 후 복부 압박을 통해 난관에 들어 있는 난은 생식공을 통해 제거한 후 복부 절개로 복강 내 배란된 알을 채집 확보하였다. 배란이 끝난 암컷은 절개 부위를 봉합한 후 회복 수조로 옮겨 7일 정도의 안정 기간을 거친 후 본래의 사육 수조로 이송하였다.

수정은 배란된 난이 들어있는 그릇에 정액과 사육수를 1:200의 비율로 섞어 붓는 것으로 이루어졌으며, 수정이 이루어진 난은 교질 제거제를 이용, 난에서 생성되는 점착성 물질을 제거하여 서로 달라 붙지 않게 한 후 부화기(McDonald's jar)에 넣어 부화 시기까지 관리하였다. 부화는 수온에 따라 7~9일 정도에 이루어졌으며, 부화된 난

황 자어는 약 9~10일 정도의 난황 흡수 기간을 지나 먹이를 먹기 시작하였고 먹이는 알테미아(brine shrimp)를 사용하여 매 4시간에 한번씩 7일간, 이후 매 5시간에 한번씩 7일간 급이한 후 인공 사료 (commercial diet)로 전환 급이 하였다.

3. Year-class 생산 및 실험군 생산

각 실험군은 15℃의 지하수로 semi circulating system (300 ton/day, 전체 사육수 3,000 ton)에서 year-class 별로 각각의 수조(0년에서 2년 사이, 4 m×12 m 트랙 수조, 3년생 이상, 8 m 원형수조)에서 사육 되었으며 평균 밀도는 3.3 kg/m³를 유지 하였다. 사육 수온은 연중 9~20℃로 계절별 차이를 보였다. 먹이의 경우 인공 사료 급이 시작 후 6개월간 1일 어체중의 3%를 하루 4회 급이하였고, 이후 6개월간 1일 어체중의 2%를 하루 3회 급이 하였으며 이후 1년간 1일 어체중의 1%를 하루 2회 급이 하였다. 2년 이상 3년 이하의 실험군 개체의 경우 1일 어체중의 0.5%, 3년 이상의 실험군 개체는 1일 어체중 0.3%의 사료를 하루 1회 급이하였다. 실험군의 설정은 복부의 미세 절개(gonad biopsy)를 통한 성판별이 가능한 시점을 기준으로 하여 각 year-class를 설정하였다.

Gonad biopsy를 통한 성판별이 불가능한 시점의 실험군을 설정하여 Class 1 (unavailable for gonad biopsy; UGB)로 정하였으며 이에 속한 year-class는 2011년생(year-0), 2010년생(year-1), 그리고 2009년생 (year-2)으로 하였다. Gonad biopsy를 통한 성판별이 가능한 시점의 실험군은 Class 2 (accessible to gonad biopsy; AGB)로 정하였으며 2008년생(year-3)을 이 실험군으로 하였으며, 인공 종묘생산이 가능한 시점의 성숙한 친어를 Class 3 (applicable to induced spawning; AIS)로 정하여 2003년생 친어를 이 실험군에 속하게 하였다.

4. 생식소 성숙 및 발달 분석

생식소 성숙 정도를 판단하기 위해 각 실험군에서 암수 각각 3~4미씩, 총 6~9미를 선발하여 고농도 유제놀(ugenol)을 사용하여 실험어를 마취한 후 어체중과 전장을 측정하고 복부를 절개하여 생식소 조직의 성숙도와 적출 가능여부를 판단하였다. 생식소의 성숙 정도에 따라 육안 및 현미경 관찰을 통해 암수 성판별을 실시하였다.

5. 간 조직으로부터 total RNA의 분리

비텔로제닌(vitellogenin) mRNA 발현 분석을 위해서 적출된 간 조직으로부터 total RNA를 분리하였다. 적출한 간 조직은 RNA 안정화 시약 RNAlater (Ambion, USA)을 이용하여 제조사의 권고 방법으로 처리하였으며 분석 시 까지 -80°C 에 보관하였다. 간 조직을 잘게 절편으로 만든 다음 균질화(homogenization)를 수행하였고 RNeasy Midi Kit (Qiagen, Germany)를 이용하여 역시 제조사의 권고 방법에 의거 total RNA를 추출하였다. 1차 추출한 total RNA 시료를 대상으로 추출과정 중 혼입 가능성이 있는 DNA 분자를 제거하기 위해 DNase I 처리를 실시하였고, 역시 Clontech 사의 RNA Clean-up Kit를 이용하여 total RNA 분획만을 순수 분리하였다. 분리한 각 total RNA 시료의 integrity를 확인하기 위해서 1% formaldehyde MOPS agarose gel 전기영동을 실시하였으며 ethidium bromide (EtBr) 염색을 통해서 28S rRNA : 18S rRNA band ratio를 평가하였다. 전기영동상은 Versa Doc 4000 (Bio-Rad, USA)에 장착된 Quantity-One image 분석 software (Bio-Rad, USA)를 이용하여 28S : 18S ratio가 2:1 유사값을 갖는지를 확인함으로써 양질의 total RNA가 분리되었음을 확인하였다.

6. 역전사 반응 및 cDNA 주형의 합성

각 실험어로부터 분리한 total RNA를 대상으로 역전사(reverse transcription) 반응을 통해 cDNA를 합성하였다. cDNA 합성을 위해서 total RNA 2 μ g을 주형으로 역전사 반응을 실시하였으며 이때 역전사를 위한 반응 조건은 Omni-Script Reverse Transcription System (Qiagen, Germany)를 이용하여 제조사의 권고방법대로 수행하였다. 역전사 반응의 3'-priming을 위해서 oligo-d(T)₂₀ primer를 최종 농도 1 μ M로 첨가하였고, 이와 함께 normalization 대조군을 함께 합성하기 위해서 시베리안 철갑상어로부터 클로닝한 18S rRNA reverse primer (AB18S rRNA RV)를 최종 농도 0.1 μ M 농도로 반응에 첨가하였다. 역전사 반응은 총 20 μ l 용량으로 실시하였다. 역전사 반응이 완료되면 각 반응물로부터 2 μ l씩을 1% agarose gel에 전기영동을 실시하여 각 시료간 역전사 반응의 효율이 유사하게 이루어졌는지를 확인하였다. 확인 후 각 cDNA 시료는 aliquot으로 분주하여 -80°C에 보관하면서 실험에 이용하였다.

7. Vitellogenin transcripts의 RT-PCR 분석

비텔로제닌 유전자 발현의 분석을 위해서 각 year-class 실험

군에서 선발한 개체들의 간 조직 cDNA를 주형으로 RT-PCR 분석을 실시하였으며, 이때 암수를 구분하여 유전자 발현 분석을 실시하였다. RT-PCR 분석은 실시간 정량 RT-PCR (real-time quantitative RT-PCR) 분석을 실시하였다. 상기 마련된 cDNA 주형을 대상으로 vitellogenin 유전자 산물의 증폭을 위해서 멸균 증류수로 4배 희석 후 2 μ l를 취하여 각 증폭 반응에 이용하였다. 반면 normalization control인 18S rRNA를 증폭하기 위해서는 멸균 증류수로 16배 희석 후 역시 2 μ l를 취하여 실시간 증폭을 실시하였다. 비텔로제닌 transcripts의 PCR 증폭 반응을 위해서 예비 실험을 통해 합성한 AB-VTG 1F 및 AB-VTG 1R 프라이머를 이용, 182 bp의 vitellogenin internal segment를 증폭하였다. 본 연구에서 사용한 PCR primer들의 염기서열 정보는 Table 1에 나타내었다. 실시간 정량 분석을 위해서 94°C 3분의 최초 변성(denaturation) 과정 후 94°C 20초, 60°C 20초 및 72°C 20초의 열 순환 과정을 45회 반복하였고, 증폭 반응물에 첨가한 SYBR (Bio-Rad) 형광 염료를 이용하여 증폭산물을 정량하였다. 각 열순환 과정이 종료될 때마다(elongation 반응 직후) Real-Time Detection Module (Bio-Rad, USA)을 이용하여 형광 세기를 측정함으로써 증폭의 상대정량 값을 측정하였다. 최종 반응이 완료된 후

Table 1. Oligonucleotide primers used in this study

Primer	Sequence (5'-3')	Purpose
AB-VTG 1F	ACTACCAAAGGCTCTGTCAG	RT-PCR amplification of <i>A. baerii</i> vitellogenin mRNA
AB-VTG 1R	ACCTTGACCTGCACTGTCTT	
AB-18S 1F	TCCAGCTCCAATAGCGTATA	RT-PCR amplification of normalization control
AB-18S 1R	AGAACCGGAGTCCTATTCCA	
AB18S rRNA RV	CAAGAATTTACCTCTAGCGGC	Preparation of internal control in RT reaction

primer dissociation curve를 검증하여 특이적 증폭 반응이 이루어졌음을 확인하였다. 그 외 threshold cycle 값의 결정은 Real-time PCR 기기의 default setting을 이용하였다. Vitellogenin mRNA 증폭과 함께 18S rRNA transcripts의 증폭하기 위해서 AB-18S 1F 및 AB-18S 1R 프라이머(253 bp 증폭 산물)를 이용하였고, 여타 열순환 증폭 및 검출은 모두 상기와 동일하게 실시하였다. 각 시료에서 얻어진 Ct 값을 이용하여 vitellogenin Ct 값 대비 18S rRNA Ct 값에 대한 normalization을 실시함으로써(delta Ct 측정 법) 각 year-class 실험어들에서 발현하는 vitellogenin mRNA의 상대 발현 수준을 평가하였다 (Schmittgen and Livak, 2008). 각 시료별로 3반복 반응을 독립적으로 수행하였다.

8. 통계 처리

암수별 각 year-class 그룹 간 또는 암수 간 vitellogenin 유전자 발현의 유의성 검정을 위해서 Student's *t*-test 또는 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, ANOVA 분석 후에는 평균 간 grouping을 위해서 Duncan's multiple range test를 추가로 실시하였다. 평균 간의 통계적 유의차는 $P = 0.05$ 수준에서 검증하였다.

III. 결 과

1. 인공 산란 및 종묘 생산

실험군 획득을 위한 인공 산란 및 종묘 생산은 매년 1회 산란기(2월 초~3월 초)에 시행 되어졌다. 2008년의 경우 암컷(2001년생) 2마리에서 약 100,000립의 난을 채집하여 2001년에 생산된 수컷 4미로부터 채정된 정액을 사용하여 산란 유도하였다. 평균 부화율은 60%로 약 60,000미의 난황 자어를 확보하였고 그 중 20,000미가 생존하여 일부가 실험군으로 사용되었다. 생존율은 약 20%로 부화 2개월 후에 개체수 확인을 통해 정해졌다. 같은 방법으로 2009년부터 2011년까지 실험군 치어를 확보 하였으며 친어로 사용된 암컷과 수컷은 모두 2001년에 생산된 물고기로 암컷은 2미에서 4미가 사용되었고 수컷은 4미에서 6미가 사용되어 졌다. 평균 부화율은 60 ~ 65%, 생산된 종묘수는 20,000미에서 45,000미였다.

2. 2011년 생산군(UGB-Y0)의 생식소 발달

실험에 사용된 개체의 평균 체중은 32.0 ± 14.0 g 이였으며 평균 전장은 21.5 ± 3.0 cm, 평균 비만도(K)는 0.31 ± 0.03 로 측정되었다.

아울러 본 연구에서 사용한 year-class 별 실험어들의 평균 어체중, 전장 및 비만도는 Table 2에 나타내었다. 실험대상어의 생식소 조직은 생식소의 부속관인 뮐러관(müllerian duct)의 육안 관찰은 가능하였지만 그 외 생식소 조직과 관련된 어떤 조직도 미성숙 상태로 육안 관찰은 불가능 하였다. 따라서 생식소 적출은 불가능하였다(Fig. 1).

3. 2010년 생산군(UGB-Y1)의 생식소 발달

3-1. 난소

실험에 사용된 개체의 평균 체중은 336.3 ± 132.8 g 이었으며 평균 전장은 51.4 ± 6.1 cm, 평균 비만도(K)는 0.24 ± 0.02 로 측정되었다. 난소 조직의 분화가 시작되어 ovarian fat과 ovarian tissue의 육안 식별이 가능하였다. 난소 조직은 미발달한 상태로 희고 불투명한 색을 띤 선 조직 형태로 관찰 되었으며 현미경 관찰시 previtellogenic stage의 난모세포의 관찰이 가능하였고 ovarian fat의 경우 초기 축척단계로 노란 색의 선 조직으로 관찰되었다(Fig. 2A).

3-2. 정소

실험에 사용된 개체의 평균 체중은 648.0 ± 150.9 g 이었으며 평균 전장은 63.8 ± 3.8 cm, 평균 비만도(K)는 0.26 ± 0.01 로 측정되었다. 정소 조직의 분화가 이루어져 Wolffian duct (WD)이 확인 가능하였으 며(Fig. 2B) lobe 형태의 적황색 testicular fat 사이로 선형의 정소 조직을 육안으로 확인할 수 있었다. 하지만 아직 생식소 조직 전체에 서 정소 조직의 비율이 50% 미만이었으며 실험 개체의 희생 없이 정소 조직 일부를 분리하는 것은 불가능하였다.

4. 2009년 생산군(UGB-Y2)의 생식소 발달

4-1. 난소

실험에 사용된 개체의 평균 체중은 749.2 ± 212.4 g 이었으며 평균 전장은 62.9 ± 4.4 cm, 평균 비만도(K)는 0.29 ± 0.02 로 측정되었다. 확연히 발달한 lobe 형태의 난소 조직이 ovarian fat 조직과 함께 육안으로 쉽게 확인되었으며 vitellogenic stage로 접어든 난세포들 역시 다수 관찰되며 난세포 하나하나의 육안 확인도 가능하였다(Fig. 3A).

4-2. 정소

수컷 개체들의 평균 체중은 $1,031.7 \pm 92.4$ g, 평균 전장은 69.7 ± 2.0 cm, 평균 비만도(K)는 0.31 ± 0.05 이었다. 유백색의 정소 조직

Table 2. Average body weight, total length and condition factor of experimental fish

Year class	Gender	Body weight (g)	Total length (cm)	Condition factor (K)
2011	Unknown	32.0±14.0	21.5±3.0	0.31±0.03
2010	Female	336.3±132.8	51.4±6.1	0.24±0.02
	Male	648.0±150.9	63.8±3.8	0.26±0.01
2009	Female	749.2±212.4	62.9±4.4	0.29±0.02
	Male	1,031.7±92.4	69.7±2.0	0.31±0.05
2008	Female	1,866.7±115.5	78.2±1.9	0.39±0.03
	Male	2,133.3±808.3	83.0±6.0	0.36±0.06
2003	Female	4,425±434.9	96.0±3.5	0.5±0.07
	Male	3,000±424.3	87.5±4.9	0.45±0.01

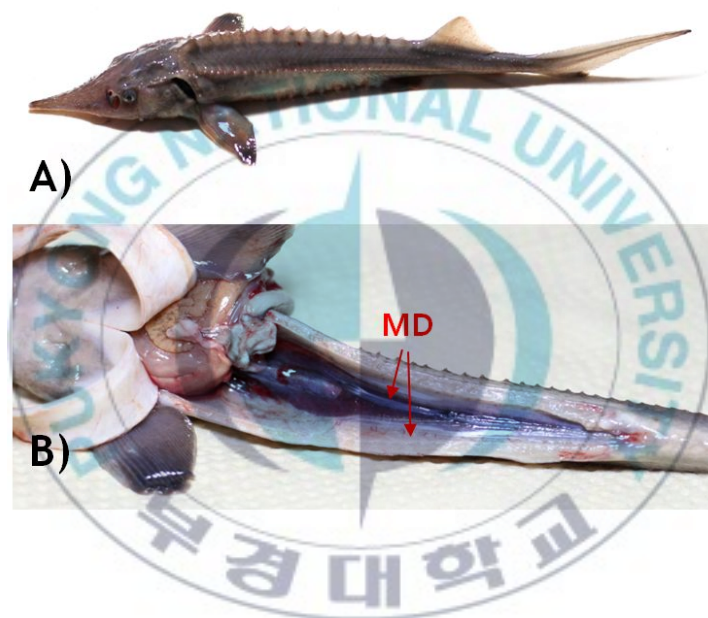


Fig. 1. External morphology (A) and immature gonad (B) of *A. baerii* produced in 2011. MD: müllerian duct.

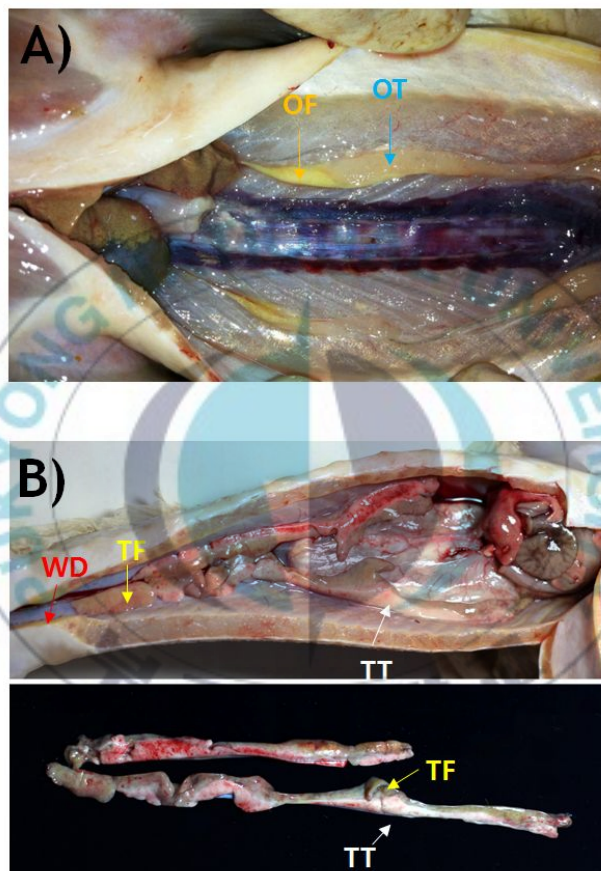


Fig. 2. Ovarian (A) and testicular (B) morphology of *A. baerii* produced in 2010. OF: ovarian fat, OT: ovarian tissue, WD: wolffian duct, TF: testicular fat, TT: testicular tissue.

이 확연히 구분되며 정소 내 지방조직의 비율이 2010년도 실험군 (50% 이상)에 비해 훨씬 적었다(20% 미만). 하지만 생식소의 체적 및 형태는 여전히 성숙한 수컷 친어와 비교 시 미발달 상태이며 external biopsy는 아직 힘들다고 판단되었다(Fig. 3B).

5. 2008년 생산군(AGB-Y3)의 생식소 발달

5-1. 난소

실험에 사용된 개체의 평균 체중은 $1,866.7 \pm 115.5$ g 이었으며 평균 전장은 78.2 ± 1.9 cm, 평균 비만도(K)는 0.39 ± 0.03 로 측정되었다. 난소의 volume 이 크게 확대되어 실험 개체의 희생 없이 external biopsy를 통한 일부 생식소 조직 적출이 가능할 정도이며 대부분의 난모세포에서 vitellogenesis 가 진행 중인 것이 확인 되었다. 또한 각 난모 세포의 난황 축적이 시작되고 있음을 현미경을 통해 관찰 가능 하였다(Fig. 4A).

5-2. 정소

실험에 사용된 개체의 평균 체중은 $2,133.3 \pm 808.3$ g 이었으며 평균 전장은 83.0 ± 6.0 cm, 평균 비만도(K)는 0.36 ± 0.06 로 측정되었다.

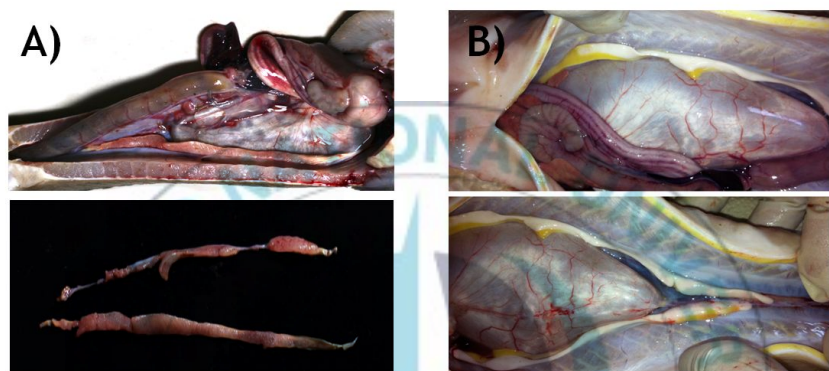


Fig. 3. Ovarian (A) and testicular (B) morphology of *A. baerii* produced in 2009.

확연히 성숙한 유백색의 정소조직이 잘 발달해 있었으며 생식소 내 지방조직은 거의 흡수되어 관찰되지 않았다. 실험 개체의 희생 없이 external biopsy를 통해 조직을 적출하여 암수 구분이 가능하였으며 정소 조직은 호르몬(LH-RHa) 주사를 통한 정액 채취가 가능할 정도로 발달한 것이 관찰되었다(Fig. 4B).

6. 2003년 생산군(AIS-Y8)의 생식소 발달

6-1. 난소

실험에 사용된 개체의 평균 체중은 $4,425 \pm 434.9$ g 이었으며 평균 전장은 96.0 ± 3.5 cm, 평균 비만도(K)는 0.5 ± 0.07 로 측정되었다. 난소무게는 445 ± 81.9 g, GSI는 0.1 ± 0.01 로 측정되었다. 전형적인 캐비아(caviar) 생산이 가능한 검회색의 난세포가 어체의 복강내에 분포해 있는 것이 관찰 되었으며 ovarian fat은 보이지 않거나 거의 흡수되어 난세포들의 표면에 연노란색으로 얇게 흔적이 보이는 정도로 관찰되었다. 평균 난세포의 직경은 약 3 mm로 난핵붕괴(GVBD) 이전의 여포세포를 포함한 난으로 관찰되며 전체 어체중의 약 10% 정도가 난세포 및 난소 조직인 것으로 확인 되었다(Fig. 5).

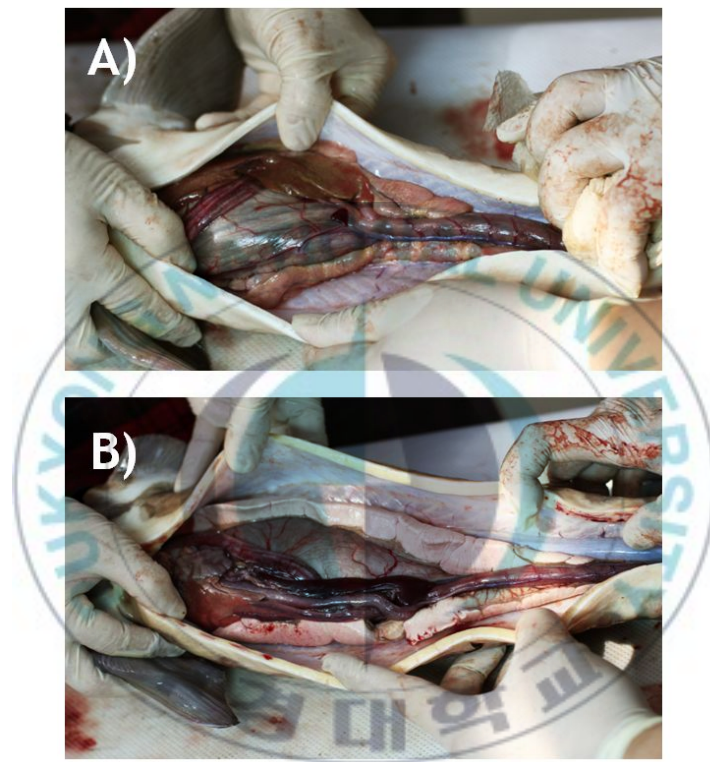


Fig. 4. Ovarian (A) and testicular (B) morphology of *A. baerii* produced in 2008.



Fig. 5. Ovarian development (upper) and isolated yolk-laden eggs (lower) of *A. baerii* produced in 2003.

6-2. 정소

실험에 사용된 개체의 체중은 $3,000 \pm 424.3$ g 이었으며 전장은 87.5 ± 4.9 cm, 평균 비만도(K)는 0.45 ± 0.01 로 측정되었다. 정소 무게는 54 g, GSI는 0.02로 측정되었다. 완전히 성숙한 튜브형태의 유백색의 정소 조직이 확인되었으며 testicular fat은 거의 관찰되지 않았다. 호르몬 처리에 의한 정액채취가 가능하였으며 정세포의 수화(hydration)가 이루어져 있어 조직을 적출할 경우 유백색의 액체가 관찰되었다 (Fig. 6).

7. Year-class의 암수별 vitellogenin 유전자의 발현 수준

최종 성숙단계에 이른 2003년 생산군에서부터 당년 2011년 생산군까지의 총 5개 year-class 실험군의 vitellogenin mRNA 발현 수준에 관한 결과는 Fig. 7에 나타내었다. Fig. 7에서 보듯이 2011년 생산군에서는 vitellogenin 유전자의 발현이 매우 극미하였고 개체간 큰 편차가 관찰되지 않았다. Vitellogenin 유전자의 발현은 이후 개체들의 연령이 증가하면서 2008년까지 점차 증가하는 경향을 나타내었다. 2010년 생산군에서는 2011년 생산군에 비해 월등히 높은 vitellogenin mRNA 발현 수준을 보였고($P < 0.05$), 특히 수컷이 암컷

보다 높은 vitellogenin 발현을 나타내었다. 2009년 생산군의 경우 암컷은 추가적인 vitellogenin 발현의 증가가 관찰되었으나 수컷의 경우 2010년에서 관찰된 발현 수준을 유지하였다. 이후 2008년에는 암수 모두 급격한 vitellogenin mRNA 발현의 증가가 관찰되었고 본 실험에서 조사된 year-class 군들 중 가장 높은 발현율을 보였다($P < 0.05$). 그러나 인공 종묘생산이 가능한 단계에 접어든 2003년 실험군에서는 암수 모두 매우 낮은 수준의 vitellogenin mRNA 발현을 보였다. 2003년 생산군에서 관찰된 vitellogenin mRNA 발현 수준은 2011년 생산된 치어군에서 관찰된 발현 수준 보다는 높았지만 2010년 생산군의 발현 수준과 비교 시 10% 미만에 해당되는 낮은 발현 수준이었다($P < 0.05$). 각 year-class 내에서 암수 간 차이를 분석한 결과, 암수의 생식소 발달이 불분명한 2011년 군에서는 차이가 없었고 역시 2009년 생산군에서도 암수간 vitellogenin mRNA의 발현 차이가 통계적으로 유의하지 않았다($P > 0.05$). 반면 상기 두 year class 생산군 외에 나머지 2010년, 2008년 및 2003년 생산군에서는 모두 암컷이 수컷에 비해 높은 vitellogenin 유전자의 발현 수준을 나타내었다($P < 0.05$).



Fig. 6. Testicular development (upper) and surgically removed testes (lower) of *A. baerii* produced in 2003.

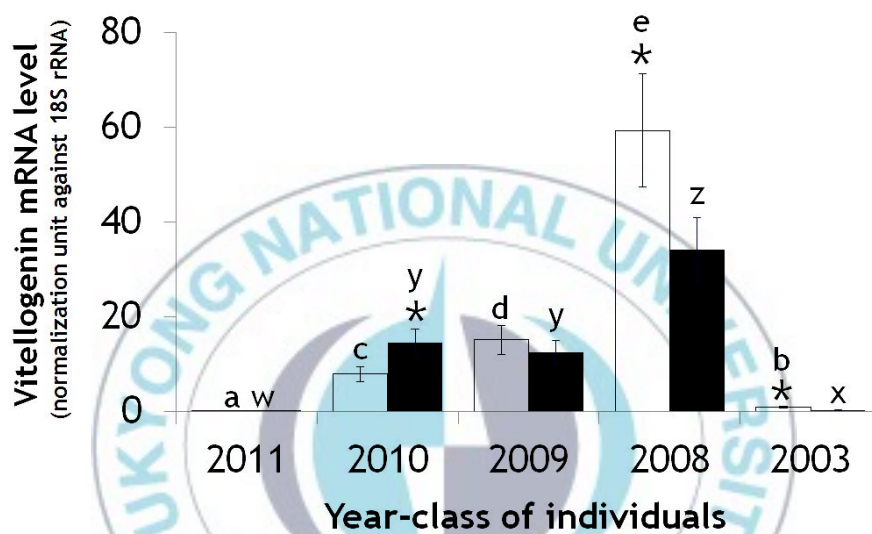


Fig. 7. Relative hepatic expression level of vitellogenin transcripts in different year-classes of *A. baerii*, as determined by quantitative RT-PCR analysis. Open histograms indicate expression in females while closed histograms in males. Within a given, means with different letters (a-e for females; w-z for males) were not significantly different based on ANOVA ($P < 0.05$). Asterisks mean the significant difference between females and males within a given year based on Student's *t*-test ($P < 0.05$).

IV. 고 찰

양식 환경에서 철갑상어의 조기 성판별은 암수간의 경제적 가치가 현저히 발생하는 어종의 특성상 생산성 향상 측면에서 매우 중요한 부분 중에 하나이다. 그러나 성판별의 시점은 대상 어체의 희생 없이 수행되어야 한다는 점이 커다란 제한 요인으로 자리하고 있으며, 따라서 이를 위한 여러 기술적 제안이나 연구가 선행되어 왔다(Chapman and Park, 2005). 가장 일반적이며 확실한 방법으로 어체의 복부를 미세하게 절개하여 육안으로 복강 내 생식소 조직을 확인하여 구분하는 방법(gonad biopsy)을 사용해 왔는데 어체의 희생 없이 성 성숙 정도를 판단할 수 있는 최단 시점으로 수컷의 경우 부화 3년 후, 암컷의 경우 1년 정도의 시간이 더 걸리는 것으로 알려져 왔다. 그러나 본 실험의 결과를 토대로 판단해 볼 때 수컷의 경우 부화 후 2년이면 정소 조직의 적출 혹은 육안 판별이 가능하며 암컷의 경우도 부화 후 3년 이내 판별이 가능한 것으로 판단된다. 이는 철갑상어의 양식 산업의 경제적 가치 측면에서도 상당히 중요한 사실로써 향후 철갑상어의 해부학적 이해를 높이고 좀 더 세련되고 발전된 절제술이 개발된다면 충분히 일반화하여 양식 효율을 증

대하는 데 사용되어 질 수 있다고 사료된다. 어체의 희생을 고려할 경우 본 실험의 결과를 토대로 판단할 때 부화 후 8개월에서 12개월 이내의 치어는 외관상 생식소 조직의 성분화는 알 수 없었으나 부화 12개월 이후라면 암수 모두 생식소 조직의 육안 판별로 성구분이 가능하다고 확인되었으며 이 사실은 앞으로 철갑상어의 성전환을 위한 연구나 성숙속 제어를 위한 연구를 수행하는데 있어 연구의 시행 시점과 판별 시점을 결정하는 데 있어 중요한 단서가 될 것으로 사료된다.

Vitellogenin은 어류의 난황을 구성하는 가장 주요한 단백질 요소 중 하나이며, 난모세포의 발달 과정 중(즉, vitellogenesis) 난황에 다량 축적되는 단백질로서 난모세포의 최종 성숙 및 산란 이후 부화 자어에게로의 에너지 공급에도 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있다(Finn et al., 2009). 때문에 vitellogenin은 흔히 암컷 어류의 성숙을 추정하기 위한 바이오마커로 여겨져 왔으며 어종에 따라 암컷 특이적인 sex marker로의 활용 가능성 역시 타진된 바 있다. 그러나 본 연구 결과, 시베리안 철갑상어 vitellogenin 유전자는 전사 수준(transcription level)에서 성(sex)과 상관없이 암수 모두 왕성한 유전자 발현을 보였고, 외관상 생식소 발달이 거의 이루어지지 않은 2011년

생산군을 제외하고는 전 year class 실험군에서 암컷은 물론 수컷의 간 조직에서도 RT-PCR에서 매우 쉽게 유전자 발현이 검출되었다. 뿐만 아니라 2009년 생산군에서는 암수간 vitellogenin mRNA 발현 수준에 있어 차이가 없었고, 또한 2010년 생산군의 경우 오히려 수컷이 암컷에 비해 유의적으로 높은 vitellogenin mRNA 수준을 나타내었다. 이러한 결과는, 특히 시베리안 철갑상어의 경우, vitellogenin 유전자 발현이 암컷 난모세포의 성숙에만 국한적으로 작용(즉, 난황단백의 축적)하는 것이 아니라 lipoprotein으로서 다양한 세포 대사 경로에 관여함을 잘 보여 주고 있다.

Vitellogenin은 “large lipid transfer protein (LLTP)” superfamily의 한 종류로서 어류, 양서류, 파충류, 조류 및 대부분의 무척추동물에서 관찰되는 단백질이다(Zhang et al., 2011). Vitellogenin 합성은 주로 간에서 합성되어 수용기 매개의 식세포작용(receptor-mediated endocytosis)에 의해서 성숙 난모세포에 축적되고, 이때 vitellogenin은 난황단백(yolk protein)이 되기 위해서 lipovitellin 및 phosvitin으로 분해(proteolysis)되는 과정을 거치는 것으로 알려져 있다(Babin and Gibbons, 2008). Vitellogenin이 밝혀진 초창기에는 본 단백질이 암컷 특이적인 단백질로 여겨져 왔으나(Pan et al., 1969) 이후 연구들에 의

해서 수컷 및 미성숙어류에서도 관찰됨이 알려지고 있다(Piulacks et al., 2003). Vitellogenin은 성 성숙 외에 다양한 대사에 참여하며, 특히 최근의 연구들에 의해서 vitellogenin이 선천성 면역 반응(innate immune response), 심지어 항균기능(anti-bacterial function)을 갖는 다기능 단백질로서 주목을 받고 있다(Zhang et al., 2005; Shi et al., 2006; Liu et al., 2009). 뿐만 아니라 최근의 연구에 의해 최근 대서양 연어의 vitellogenin 연구를 통해 연어과 어류 vitellogenin이 병원성 바이러스(infectious pancreatic necrosis virus; IPNV)에 대한 항바이러스 활성을 가질 수 있음을 보고한 바도 있다(Garcia et al., 2010). 따라서 본 연구에서 완전한 성숙단계에 이르지 않은 개체들 및 수컷 시베리안 철갑상어에서 왕성한 vitellogenin의 전사 반응이 관찰된 결과는 이러한 vitellogenin의 “gender-independent” 한 대사 경로와 밀접한 관련이 있음을 시사하며, 이전 흰철갑상어(white sturgeon, *A. transmontanus*)를 대상으로 한 연구에서 vitellogenin mRNA가 암수 모두에서 관찰된 결과와도 잘 일치한다(Bidwell and Carlson, 1995).

하지만 비록 시베리안 철갑상어의 vitellogenin이 암수 모두에서 왕성한 발현을 보이기는 하지만 그 전사 발현이 항시구성적 발현 양상을 나타내지는 않았고 암수 모두에서 성숙 정도와 밀접한 연관

관계를 나타내면서 year-class간 큰 폭의 발현 수준 차이를 보였다. qRT-PCR 정량 분석에 기초하여 year-class 암컷 그룹들 간 vitellogenin transcripts의 수준변화를 비교할 때 2011년 생산군에 비해 2010년 생산군에서 1500배 이상의 유전자 발현 증가가 관찰되었는데, 이는 2011년 생산군에서 vitellogenin 유전자가 거의 발현되지 않았으며, 따라서 시베리안 철갑상어의 경우 약 부화 1년 이후부터 vitellogenin 유전자의 발현이 본격화됨을 시사하고 있다. 이후 2009년 그룹에서는 2010년 그룹에 비해 2배의 증가를, 그리고 vitellogenic 단계에 접어든 2008년 군에서는 전년도 그룹에 비해 4배의 증가를 보여 본 연구에서 조사한 year-class에서 최고치 수준을 보였다. 본 vitellogenin 발현 수준 결과는 앞서 난소 발달 및 성숙에 관한 관찰치와도 잘 일치하며 난황단백질로서 vitellogenin의 전형적인 특징을 잘 보여주고 있다(Byrne et al., 1989; Schneider, 1996; Polzonetti-Magni et al., 2004). 하지만, 캐비아 생산 가능 단계에 도달한 2003년 생산 암컷의 vitellogenin 발현 수준은 2008년 생산군에 비해 급격히 감소하여 2008년 생산된 암컷에서 관찰된 hepatic vitellogenin 수준의 1.5%에 해당하는 낮은 유전자 발현 수준이었다. 성숙 암컷이 이처럼 낮은 vitellogenin 유전자 발현 활성을 갖는 이유에 대해서는 추후 보

다 다각적인 조사가 필요한 상태이다. 하지만 본 관찰 결과는 vitellogenic stage 이후에 충분한 난황 축적 난모세포(fully-yolk-laden oocytes)가 형성되었고, 때문에 더 이상의 많은 vitellogenin 합성을 어체가 요구하지 않기 때문인 것으로 추정된다. 또한 vitellogenin이 비교적 긴 반감기(half-life cycle)를 갖는 “long-lasting” 단백질임을 고려할 때 본 연구의 관찰 결과를 간접적으로 뒷받침하고 있다(Finn and Kristoffersen, 2007). 따라서 향후 vitellogenin 유전자 발현(전사발현), 혈청 내 vitellogenin 단백질의 수준 및 난모세포 내 vitellogenin 단백질의 함량에 관한 추적 비교가 이루어진다면 철갑상어의 vitellogenin 조절에 관한 보다 자세한 연구 정보와 연구 방향을 제시할 수 있을 것이다.

반면 흥미롭게도 이러한 vitellogenin 유전자 발현 양상(즉, 연령의 증가에 따라 vitellogenin 발현의 증가 후 최종 성숙 단계에서의 급격한 감소)은 수컷에서도 동일하게 나타났다. 수컷의 경우 2010년 생산군에서 이미 동일 연령의 암컷에서 관찰된 vitellogenin mRNA 수준의 1.8배의 vitellogenin 발현을 나타내었는데, 이는 앞서 생식소 발달 조사에서 암컷에 비해 수컷의 성숙이 선행된다는 관찰 결과와 일치한다. 2009년 그룹에서는 2010년 그룹과 유사한 경향을 보였고,

역시 암컷에서와 마찬가지로 2008년에 3배에 가까운 vitellogenin 발현 수준의 증가를 보였다. 하지만 역시 수컷에서도 인공종묘생산에 사용가능한 단계에 이른 2003년 그룹에서는 2008년 그룹에서 관찰된 vitellogenin 수준의 1% 미만의 vitellogenin mRNA 수준을 나타내었다. 난황 축적이 필요 없는 수컷에서도 암컷과 매우 유사한 성숙 정도에 따른 vitellogenin 발현 양상이 관찰되는 이유와 그 기작은 아직 분명치 않은 상태이며, 추후 이에 대한 많은 자료 축적이 필요할 것으로 판단된다. 그러나 본 수컷에서의 결과는 vitellogenin이 칠갑상어의 암컷뿐만 아니라 수컷의 성숙에 밀접하게 관여함을 선명하게 보여주고 있으며 이는 칠갑상어에서 난황 축적이외에 암수 공통의 여러 생식 생리에 vitellogenin이 관여할 가능성을 시사하고 있다. 때문에 간 및 생식소 조직들을 대상으로 한 transcriptome 및 proteome profiling을 병행함으로써 암수에서 비텔로제닌의 역할과 관련 유전자들의 상호 작용에 대한 연구가 요구된다(Keyvanshokoo and Vaziri, 2008; Keyvanshokoo et al., 2009).

반면 종래의 연구들을 통해서 경골어류(teleosts)들은 “fish-specific genome duplication (FSGD)”에 의해 multiple vitellogenin isoform들을 genome내 보유하고 있다고 알려진 바 있으며, 진화 과정

중 이들 vitellogenin isoforms간 기능분화(subfunctionalization) 또는 신규 기능의 획득(neofunctionalization)의 가능성이 보고된 바 있다 (Meyer and Van de Peer, 2005; Finn and Kristoffersen, 2007; Kristoffersen et al., 2009). 특히 Acipenser 속의 철갑상어류는 어종에 따라 ploidy의 차이가 있으며, 이 역시 genome duplication에 의한 종 분화를 시사하므로 다양한 vitellogenin isoform들의 diversification 가능성이 높다(Kim et al., 2004). 따라서 향후 다양한 isoform들이 발굴된다면 “gender-dependent” 또는 “gender-independent”한 isoform들의 기능에 관한 유용한 연구가 이루어질 수 있으리라 기대된다.

본 연구 결과를 요약하면, 양식장환경에서 종묘생산 및 사육된 시베리안 철갑상어를 대상으로 생식소의 발달을 조사한 결과, 생식소의 외관상 분석에 성 구분은 최소 부화 8개월 이후에 가능하며, 생식소의 발달은 암컷보다 수컷이 선행하였다. 수컷의 경우 부화 12개월부터 정소의 손쉬운 판정이 가능한 반면, 암컷의 경우 난소의 육안 판별을 위해서는 1년~1년 6개월의 사육기간이 필요하였다. Year-class 별 vitellogenin 유전자 발현 변화를 조사한 결과 간 조직에서 암수 모두 왕성한 vitellogenin 유전자 발현을 보였고, 난소 및 정소의 발달과 성숙 정도와 밀접한 상관관계를 나타내었다. 생식소 발

달이 진행됨에 따라 암수 모두에서 vitellogenin 유전자 발현이 증가되었으나 최종 성숙단계에 이른 암컷 및 수컷 시베리안 철갑상어 개체들에서는 매우 낮은 발현율을 보였다. 이상의 결과는 앞으로 전암컷 생산을 위한 성전환 조작 및 성 성숙 제어를 위한 연구에 유용한 기초 자료를 제공한다고 기대된다.



국문 요약

양식산 시베리안 철갑상어(Siberian sturgeon; *Acipenser baerii*) 전암컷 품종의 육종을 위한 연구의 일환으로 국내 양식장에서 종묘 생산 및 사육된 계통들을 대상으로 year-class 별 생식소의 발달과 vitellogenin 유전자의 발현 양상을 분석하였다. 생식소의 발달의 경우, 외관상 분석에 생식소의 구분은 최소 부화 8개월 이후에 가능하며, 정소의 발달이 난소의 발달보다 선행되는 것으로 나타났다. 수컷의 경우 부화 12개월부터 정소의 손쉬운 판정이 가능한 반면, 암컷의 경우 난소의 육안 판별을 위해서는 1년~1년 6개월의 사육기간이 필요하였다. 실시간 정량발현 PCR 분석을 이용하여 간 조직 내 vitellogenin 유전자 발현 변화를 조사한 결과, 암수 모두 왕성한 vitellogenin 유전자의 전사 발현을 보였고, 난소 및 정소의 성숙 정도와 밀접한 상관관계를 보였다. 생식소 발달이 진행됨에 따라 암수 모두에서 vitellogenin 유전자 발현이 증가되었으나 종묘생산에 이용 가능한 최종 성숙단계에 이른 암컷 및 수컷 시베리안 철갑상어 개체들에서는 매우 낮은 vitellogenin 발현을 보였다.

감사의 글

먼저 부족한 저에게 만학의 기회를 열어 주시고 아낌없는 격려와 조언으로 이끌어주신 김동수 교수님께 진심을 담아 감사의 절을 올립니다. 그리고 제가 학위를 이수할 수 있도록 처음부터 끝까지 용기와 격려를 아끼지 않고, 때로는 같이 밤을 세워가며 실험하고 논문 작성에 아낌없는 도움을 주신 남윤권 교수님과 조영선 박사님께 더없는 감사를 드립니다. 또한 바쁘신 와중에도 부족한 저를 위해 항상 격려와 조언을 아끼지 않으신 노충환 박사님께 깊은 감사를 드립니다. 지난 20여년간 한결같이 제게 충고와 격려를 해주신 육종방의 영원한 대장 방인철 교수님과 선배님이자 형님이신 김종현 박사님께도 감사의 마음을 전합니다. 제가 학위 과정을 무사히 마칠 수 있도록 많은 도움을 주신 연구실 후배님들께도 감사드립니다. 바쁜 와중에도 불평 없이 저의 빈자리를 잘 메워 주신 우리 디노빌 농장 가족 여러분께 진심으로 감사드립니다. 무엇보다 지난 10여년간 한결같이 제 옆자리를 지켜준 사랑하는 제 아내 정소라 여사에게 고개 숙여 감사드리고 본 석사 학위 논문을 모자란 자식을 위해 항상 기도하시고 희생하시는 제가 가장 존경하고 사랑하는 부모님과 고정선환 교수님께 바칩니다.

참고문헌

- Babin PJ, Gibbons GF. The evolution of plasma cholesterol: direct utility or a “spandrel” of hepatic lipid metabolism? Prog Lipid Res 2008;48:73-91.
- Bidwell CA, Carlson DM. Characterization of vitellogenin from white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. J Mol Evol 1995;41:104-12.
- Byrne BM, Gruber M, Ab G. The evolution of egg yolk proteins. Prog. Biophys Molec Biol 1989;53:33-69.
- Chapman FA, Park C. Comparison of sutures used for wound closure in sturgeon following a gonad biopsy. N Am J Aquacult 2005;67:98-101.
- Finn RN, Kolarevic J, Kongshaug H, Nilsen F. Evolution and differential expression of a vertebrate vitellogenin gene cluster. BMC Evol Biol 2009;9:2.
- Finn RN, Kristoffersen BA. Vertebrate vitellogenin gene duplication in relation to the “3R Hypothesis”: correlation to the pelagic egg and the oceanic radiation of teleosts. PLoS ONE 2007;2:e169.
- Garcia J, Munro ES, Monte MM, Fourrier MC, Whitelaw J, Smail DA,

- Ellis AE. Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) serum vitellogenin neutralises infectivity of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV). *Fish Shellfish Immunol* 2010;29:293-7.
- Karpinsky MG. Review: The Caspian sea benthos: unique fauna and community formed under strong grazing pressure. *Mar Pollut Bull* 2010;61:156-61.
- Keyvanshokoo S, Kalbassi MR, Hosseinkhani S, Vaziri B. Comparative proteomics analysis of male and female Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) gonads. *Anim Reprod Sci* 2009;111:361-8.
- Keyvanshokoo S, Vaziri B. Proteome analysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) ova. *Anim Reprod Sci* 2008;109:287-97.
- Kim DS, Nam YK, Noh JK, Park CH, Chapman FA. Karyotype of North American shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* with the highest chromosome number in the Acipenseriformes. *Ichthyol Res* 2004;52:94-7.
- Kim KY, Lee SY, Song HY, Park C, Nam YK. Complete mitogenome of the Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseriformes; Acipenseridae). *J Fish Sci Tech* 2009;12:35-43.
- Kristoffersen BA, Nerland A, Nilsen F, Kolarevic J, Finn RN. Genomic

- and proteomic analyses reveal non-neofunctionalized vitellogenins in a basal clupeocephalan, the Atlantic herring, and point to the origin of maturational yolk proteolysis in marine teleosts. *Mol Biol Evol* 2009;26:1029–44.
- Liu QH, Zhang SC, Li ZJ, Gao CR. Characterization of a pattern recognition molecule vitellogenin from carp (*Cyprinus carpio*). *Immunobiology* 2009;214:257–67.
- Meyer A, Van de Peer Y. From 2R to 3R: evidence for a fish-specific genome duplication (FSGD). *BioEssays* 2005;27:937–45.
- Pan ML, Bell WJ, Teller WH. Vitellogenic blood protein synthesis by insect fat body. *Science* 1969;165:393–4.
- Piulacks MD, Guidugli KR, Cruz J, Simoes ZIP, Belles X. The vitellogenin of the honeybee *Apis mellifera*: structural analysis of the cDNA and expression study. *Insect Biochem Mol Biol* 2003;33:459–65.
- Polzonetti-Magni AM, Mosconi G, Soverchia L, Kikuyama S, Carnevali O. Multihormonal control of vitellogenesis in lower vertebrates. *Intl Rev Cytol* 2004;239:1–46.
- Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the

- comparative CT method. Nat Protoc 2008;3:1101-8.
- Schneider WI. Vitellogenin receptors: oocyte-specific members of the low-density lipoprotein receptor supergene family. Intl Rev Cytol 1996;166:103-37.
- Seong KB, Baik KK, LEE JH. The internal transplantation of turgeon I. The early growth of siberian sturgeon, *Acipenser baeri*. Bull Natl Fish Res Dev Inst Korea 1999;57-72.
- Shi XD, Zhang SC, Pang QX. Vitellogenin is a novel player in defense reactions. Fish Shellfish Immunol 2006;20:769-72.
- Webb MA, Doroshov SI. Importance of environmental endocrinology in fisheries management and aquaculture of sturgeons. Gen Comp Endocrinol 2011;170:313-21.
- Zhang S, Wang S, Li H, Li L. Vitellogenin, a multivalent sensor and an antimicrobial effector Intl J of Biochem & Cell Biol 2011;43:303-5.
- Zhang SC, Sun YN, Pang QX, Shi XD. Hemagglutinating and antibacterial activities of vitellogenin. Fish Shellfish Immunol 2005;19:93-5.