

인삼엑스가 방사선조임흰생쥐간세포에서 아포토시스관련유전자들의 전사수준에 미치는 영향

차경일, 박형범

여러 나라들에서 동물배양세포에 방사선을 쬔여 세포에서 일어나는 아포토시스를 관찰하기 위한 연구결과들을 많이 발표[2-5]하였다. 우리 나라에서도 사립체에 의하여 조절되는 아포토시스관련유전자들에 대한 기초연구가 진행되었고 고려약물의 효과를 분자수준에서 관찰하기 위한 실험들도 진행되었다.[1]

방사선피해에 효과있는 고려약물들을 처리하여 방사선에 의하여 유도되는 아포토시스과정이 억제되는가를 분자수준에서 밝히는것은 매우 중요한 의의를 가진다.

따라서 우리는 인삼엑스가 방사선조임흰생쥐간세포에서 아포토시스관련유전자들인 *gapdh*, *bcl-2*, *bax*의 전사수준에 미치는 영향을 RT-PCR법으로 밝히기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

실험재료, 시약 및 기구 새끼를 낳은지 2~3달된 잡종흰생쥐, M-MuLV역전사효소(《Takara》), TaqDNA폴리메라제(《Takara》), Trizol시약(《Invitrogen》), DNA분자량표식자(DL 2000), 인삼엑스, $^{60}\text{Co}-\gamma$ 선조임장치를 리용하였다.

실험방법 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 방사선조임장치 《АГАТ-1》로 조임거리는 75cm, 조임면적은 14cm×16cm로, 선량률은 0.5Gy/min으로 하고 한 조임통안에 흰생쥐 7마리씩 넣어 실험목적에 따라 시간을 조절하면서 총선량이 4Gy되게 전선조임하였다.

총RNA분리, PCR반응은 선행방법[1-3]에 기초하여 진행하였다.

gapdh(증폭산물의 크기 700bp)의 프라이머는 다음과 같다.

상류프라이머 5'-GGGTGATGCTGGTGCTGAGTATGT-3'

하류프라이머 5'-AAGAATGGGTGTTGCTGTTGAAGTC-3'

bcl-2(증폭산물의 크기 447bp)의 프라이머는 다음과 같다.

상류프라이머 5'-AACACCAGAATCAAGTGTTTCG-3'

하류프라이머 5'-TCAGGTGGACCACAGGTGGC-3'

bax(증폭산물의 크기 468bp)의 프라이머는 다음과 같다.

상류프라이머 5'-AGGGTTTCATCCAGGATCGAGC-3'

하류프라이머 5'-AGGCGGTGAGGACTCCAGCC-3'

3개 유전자의 PCR반응조건: 94℃ 2min→94℃ 30s, 58℃ 30s, 72℃ 1min, 28회전→72℃ 연장 10min→4℃ 50min으로 하였다.

결과 및 논의

방사선조임한 흰생쥐의 간과 비장관찰 시험구별로 흰생쥐 5마리에 각각 인삼엑스를 1.0g/kg씩 먹이고 4Gy의 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 선을 쪼여 20일이 지난 다음 간과 비장을 떼내어 질량을 측정하고 간질량지수와 비장질량지수를 계산하였다.(표 1)

표 1. 방사선조임한 흰생쥐간질량지수와 비장질량지수변화

구분	몸질량/g	간질량/g	비장질량/g	간질량지수	비장질량지수
대조구	23.3±1.95	1.20±0.11	0.17±0.03	51.5	55.7
시험구 1	19.6±0.99	0.88±0.09	0.11±0.02	50.5	56.1
시험구 2	22.1±1.86	1.21±0.12	0.16±0.03	54.7	54.2

구별실험동물수는 각각 5마리

표 1에서 보는것처럼 4Gy의 방사선을 쪼였을 때 대조구와 시험구 1, 2에서 간질량지수와 비장질량지수의 차이가 인정되지 않았다.

방사선조임한 흰생쥐간조직의 GOT, GPT효소활성변화 시험구별로 흰생쥐 7마리에 인삼엑스를 0.5, 1.0, 1.5g/kg씩 먹이고 4Gy의 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 선을 쪼여 20일이 지난 다음 간세포에서 GOT, GPT효소활성변화를 보았다.(표 2)

표 2. 방사선조임한 흰생쥐간조직에서 GOT, GPT효소활성의 변화

구분	용량 /(g·kg ⁻¹)	GOT	GPT
정상구	—	65.2±3.3	26.9±1.3
대조구	—	126.9±6.30	66.5±3.3
시험구 1	0.5	74.9**±3.7	40.3*±2.2
시험구 2	1.0	65.0**±3.3	33.2**±1.6
시험구 3	1.5	58.8**±2.9	27.8**±1.4

* $p<0.05$, ** $p<0.01$

표 2에서 보는바와 같이 인삼엑스를 먹였을 때 모든 시험구들의 GOT, GPT효소활성이 대조구와 뚜렷하게 차이났는데 특히 1.5g/kg의 용량을 적 용한 시험구 3에서 그 차이가 제일 컸다.

방사선조임한 흰생쥐간세포에서 *gapdh*, *bcl-2*, *bax*의 전사수준분석 트리졸(Trizol)법으로 대조구, 시험구동물들의 간에서 총 RNA를 분리하고 이것을 주형으로 하여 *gapdh*유전자에 대한 RT-PCR를 진행한 결과는 그림 1과 같다.

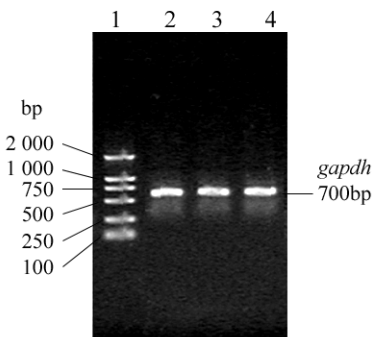


그림 1. *gapdh*에 대한 PCR전기영동상

1-분자량표식자, 2-정상구, 3-방사선조임구, 4-방사선조임 + 인삼엑스먹인 구; 1.5% 아가로스겔

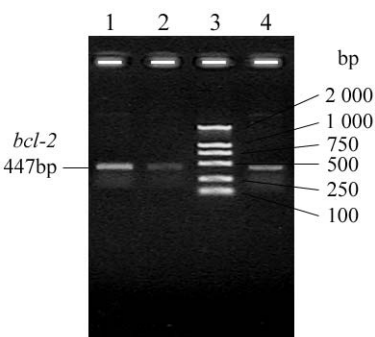


그림 2. *bcl-2*의 PCR전기영동상

1-정상구, 2-방사선조임구, 3-분자량표식자, 4-방사선조임 + 인삼엑스먹인 구; 1.5% 아가로스겔

그림 1에서 보는바와 같이 RT-PCR를 진행하고 전기영동한 3개의 PCR산물의 농도가 균일하게 나타났다. 이로부터 주형DNA의량을 정상구에서는 1μL, 방사선조임구에서는 0.8 μL, 방사선을 쪼이고 인삼엑스를 먹인 시험구에서는 1.3μL로 하였다.

다음으로 *bcl-2*에 대한 증폭을 진행한 결과는 그림 2와 같다.

그림 2에서 보는바와 같이 1번 증폭산물이 제일 많은것으로 나타났고 다음으로 4,

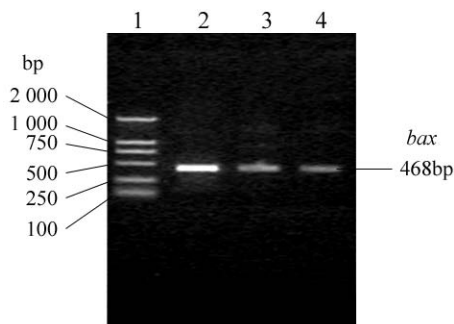


그림 3. *bax*의 PCR전기영동상
1-분자량표식자, 2-방사선조임구,
3-정상구, 4-방사선조임+인삼엑스
먹인 구; 1.5% 아가로스겔

2번의 순서로 증폭산물의 양이 적어졌다. 이로부터 방사선을 쬔었을 때 *bcl-2*의 전사수준이 낮아지며 인삼엑스를 먹었을 때 전사수준이 높아졌다는것을 알 수 있다.

다음 방사선을 쬔인 흰생쥐에서 *bax*에 대한 전사수준을 보았다.(그림 3)

그림 3에서 보면 2번 PCR증폭산물의 띠가 제일 진하고 3, 4번 띠의 색도는 거의 같다고 볼수 있다.

이로부터 방사선을 쬔이면 아포토시스가 촉진되어 *bax*의 전사수준이 높아지며 인삼엑스를 먹이면 아포토시스가 억제되어 *bax*의 전사수준이 낮아진다는것을 알수 있다.

맺 는 말

인삼엑스를 먹인 방사선조임흰생쥐의 간질량지수와 비장질량지수는 대조구와 큰 차이가 없었으며 인삼엑스의 양이 늘어남에 따라 간세포가 보호되었다.

또한 인삼엑스를 먹인 흰생쥐에서 방사선을 쬔 때 아포토시스가 억제되었다.

참 고 문 헌

- [1] 박성희 등; 전국과학토론회논문집(생명과학), 김일성종합대학출판사, 109~110, 주체100(2011).
- [2] K. Kirschner et al.; DNA Repair, 6, 3, 304, 2007.
- [3] S. A. Baierlein; Strahlenther Onkol., 182, 8, 467, 2006.
- [4] S. Lim et al.; Radiat. Res., 165, 4, 430, 2006.
- [5] Y. C. Yeh et al.; British Journal of Pharmacology, 156, 48, 2009.

주체104(2015)년 6월 5일 원고접수

Effect of *Panax ginseng* Extract on Transcription Level of Apoptosis-Related Genes in Radiation-Induced Mouse Liver Cells

Cha Kyong Il, Pak Hyong Bom

There were no significant differences in weight indices of liver and spleen of mouse when exposed to radiation after *Panax ginseng* extract was fed and the liver cells were protected as the amount of *Panax ginseng* extract increased. Also, apoptosis which is facilitated by radiation exposure is inhibited by *Panax ginseng* extract feeding.

Key words: mouse, radiation, *Panax ginseng*