

# 바지락의 생체지표 유전자 발현과 갯벌어장 퇴적물 건강도 평가

최윤석, 김맹진

국립수산과학원 동해수산연구소

## Assessment for the Health level of the Tidal flat using Biomarker genes of Manila clam, *Ruditapes philippinarum*

Yoon Seok Choi and Maeng Jin Kim

East Sea Fisheries Research Institute, NIFS, Gangneung, 25435, Korea

### ABSTRACT

In order to assess the health level of tidal flat, we investigated heavy metals of surface sediments and the biomarker genes of *Ruditapes philippinarum* samples in the west coast of Korea. Manila clams were collected from 8 sites of western coast and analyzed the total RNA of these meat part with RT-qPCR method. We have examined the geochemical characteristics of surface sediments and the concentration of inorganic elements of manila clam with XRF. It is possible for the health level of inhabit organisms using analysis of expression of biomarker genes such as heat shock protein 70 (Hsp70), heat shock protein 90 (Hsp90), glutathione S-transferases (GST) and thioredoxin (TRX). That is related to stress, immune and antioxidant related genes. Results showed that the expression of biomarker genes were changed in the 8 sites and were relevant with the heavy metal concentration of sediments, respectively. We suggested that biomarker genes were played an important role for the health level assessment of tidal flats.

**Key words:** Biomaker genes, Heavy metals, Inorganic elements, Geochemical characteristics, Manila clam, Ef (Enrichment factor)

### 서 론

갯벌의 어장환경은 오염물질의 유입으로 인하여 패류생산의 생산성 하락 및 생물의 군집 변화 등이 나타나고 있다. 갯벌 어장환경을 관리하기 위해 생물의 서식방법 및 이화학적 분석을 통한 조사 및 오염물질의 분석과 처리방안을 시행하고 있다. 이러한 갯벌환경의 체계적이고 과학적인 관리를 위하여 자연 생태계 환경 모니터링의 조사방법으로 분자생물학적인 연구방법을 도입한 생체지표유전자 (biomarker gene) 분석이 이용

되고 있다 (Choi *et al.*, 2018).

생체지표유전자를 이용한 분석은 생물 체내에 환경에서 오는 물질 등으로 인한 스트레스가 기인되어 이러한 스트레스에 대한 해소 기작에서 응용된다. 생물은 스트레스에 대항하여 항상성을 유지하기 위하여 세포 수준에서 스트레스를 완화하여 조절할 수 있는 기작이 작용하는데, 이 부분에 관여하는 유전자를 분석하면 생물개체의 스트레스에 따른 건강 정도를 평가할 수 있다.

해양생물에서 스트레스에 대항하여 항상성에 관여하는 유전자들은 열충격단백질 (heat shock protein), 산화스트레스 (oxidative stress) 및 면역 (immune) 관련 유전자들이 대표적이다.

열충격 단백질 Hsp (heat shock protein) 는 외부온도 변화에 따른 세포를 보호하려는 단백질로 알려져 있으며, 온도, 저산소, 중금속 (heavy metal), 내분비계장애물질 (endocrine disrupting chemicals, EDCs), 및 세균 등 외부 환경요인의 영향에 따라 Hsp 유전자 발현에 관한 연구가 보고되어 있다 (Rhee *et al.*, 2009; Colinet *et al.*, 2010; Xu

Received: September 13, 2023; Revised: September 19, 2023;  
Accepted: September 25, 2023

Corresponding author: Maeng Jin Kim

Tel: +82 (33) 660-8522, e-mail: kimmj0106@korea.kr  
1225-3480/24845

This is an Open Access Article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.

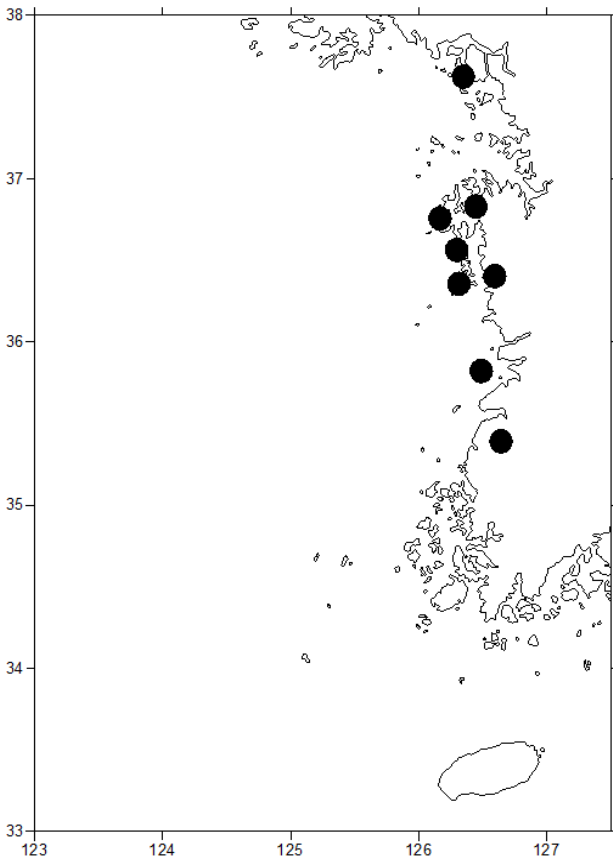


Fig. 1. A map of survey area in the west coast of Korea.

and Qin, 2012; You *et al.*, 2013).

약물대사효소계 phase II로 알려진 GST (glutathione S-transferase) 는 모든 생물체의 효소군에 포함되어 있으며, 수생 환경의 산화스트레스 조건의 변화에 대한 바이오마커로 사용된다 (Liu *et al.*, 2015). 또한 외인성생물화합물 (xenobiotics), 중금속, 병원체 (pathogen) 등에 의해 생성된 산화스트레스 (oxidative stress) 의 독소 배출 작용에 관여하여 반응성이 적은 물질로 분해시키는 것으로 알려져 있다 (Smith *et al.*, 2004; Hayes *et al.*, 2005; Han *et al.*, 2013; Eroglu *et al.*, 2015).

TRX (thioredoxin) 은 생물체의 환경과 상호작용하는 능력, 항상성 유지 및 유전자 발현에 관여하는 단백질로서 활성 산소종 (reactive oxygen species, ROS) 의 활성조절 효소로 작용하는 것으로 알려져 있다 (Liyanage *et al.*, 2018). 또한 성장조절, 전사인자, 단백질 접힘 및 라디칼 제거에 관련되어 있다 (Umasythan *et al.*, 2012).

본 연구의 목적은 갯벌어장의 환경에 의해 발생 가능한 바지락 (*R. philippinarum*) 의 생체 내 스트레스 수준 (stress level) 을 측정하고, 표층 퇴적물의 지역별, 계절별 특성 및 중

금속의 농도분포를 조사하여 갯벌어장의 퇴적물에 대한 건강도를 평가하고자 하였다. 바지락의 건강도 평가에 사용한 생체지표 유전자로는 면역 및 항산화 조절 기작과 스트레스 완화에 관여하는 유전자인 heat shock protein 70 (hsp70), heat shock protein 90 (hsp90), glutathione S-transferase (GST), thioredoxin (TRX) 이었으며, 보정에 필요한 house keeping 유전자  $\beta$ -actin 등을 이용하여 갯벌 어장환경 건강도를 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 채취 지역

바지락 및 퇴적물 시료채취 지역은 서해연안 바지락이 서식하는 지점으로 퇴적물의 시료를 채취할 수 있는 조건대의 해역으로 2020년 3월부터 4월까지 서해안 갯벌어장 8개 정점 (St. 1. Pado-ri, St. 2. Sinsido, St. 3. Hajeon, St. 4. Baekmi-ri, St. 5. Joongwang-ri, St. 6. Jugyo, St. 7. Wonchong, St. 8. Hwangdo) 에서 (Fig. 1). 노출 시간 등을 고려하여 조사지점으로 선정하였다.

### 2. 퇴적물 및 바지락 시료 분석

#### 1) 표층 퇴적물 분석

##### (1) 표층 퇴적물 시료 분석

바지락이 서식하는 갯벌어장 표층 퇴적물을 채집하여 입도 (Mean grain size), 유기물 함량 (Ignition Loss), 함수율 (Water Contents), 화학적산소요구량 (COD) 및 산취발성화합물 (AVS) 을 분석하였다. 퇴적물의 입도분석은 퇴적물 시료 중 일부를 삼각플라스크에 분취하여 10%의 과산화수소수 ( $H_2O_2$ ) 와 0.1 N의 염산 (HCl) 을 넣어 유기물과 탄산염을 완전히 제거하였다. 그리고 표준체를 이용한 체질방법과 입도 분석기를 사용하여 분석하였고 입도분석 결과는 (Folk, 1968; McBride, 1971) 방법으로 분류하였다.

그리고 표층 퇴적물의 유기물은 화학적산소요구량 (COD), 함수율 (Water Content), 강열감량 (IL), 산취발성산화물 (AVS) 을 해양환경공정시험기준 (해양수산부, 2020) 으로 분석하였다.

##### (2) 표층 퇴적물 중금속 및 무기원소 분석

표층 퇴적물 시료는 채집하여 폴리에틸렌 병에 시료를 옮긴 후 급속 냉동하여 보관하였다. 그리고 중금속 및 무기원소 분석은 채집하여 급속냉동한 시료를 동결건조하여 막사사발을 사용하여 분쇄하였고, X-선 형광분석기 (XRF : Rigaku, Model : Supermini) 로 무기원소를정량하였다. 중금속의 분석은 동결 건조된 시료를 산 분해한 후 유도결합질량분석기

(inductively coupled plasma mass; ICP-MS, Model: Elan 9000, Perkin Elmer Co.)로 분석하였다.

2) 바지락 시료 분석

(1) 바지락 시료 전처리 및 Total RNA 추출

2020년 3월부터 4월까지 서해안 갯벌어장 8개 정점 (St. 1 파도리, St. 2 신시도, St. 3 하전, St. 4 백미리, St. 5 중왕리, St 6. 주교리, St 7. 원청리, St. 8 황도) 에서 바지락을 채집 하였으며 저온 상태로 유지한 후 급속냉동하여 보관하였다.

전체 리보핵산 (total RNA) 추출은 바지락 시료 실험구 (정점 당 10개체를 사용하였다. 식염수로 세척 및 멸균된 필터페이퍼를 식염수를 제거한 후 육질부위는 RNAiso Plus (TaKaRa Co. Shiga, Japan) 시약 용액을 사용하여 정점 당 10개체씩 1개의 실험구로 정점 당 총 5개의 실험구를 만들었다. 바지락 조직들은 액체질소로 침지하고 막자사발을 이용해 마쇄시켰다. 마쇄된 조직은 RNAiso plus 용액 (1 mL/100 mg) 과 혼합하여 tube에 넣고 실온에서 5분간 방치하였다. 이 용액에 Chloroform 0.2 mL를 첨가한 후 실온에서 2분간 방치하였으며, 원심분리하여 상등액을 새로운 tube에 옮겨 담고 isopropyl alcohol 1.0 mL를 넣어 10분간 실온에서 방치하였다. 이 용액을 다시 원심분리하여 펠렛을 생성시킨 후, 상등액을 제거하고 75 % 에탄올로 세척한 후 DEPC-DW로 녹여 추출하였다.

추출한 total RNA는 분광광도계 (NanoVue, GE Healthcare, Boston, MA, USA) 를 이용하여 정성 및 정량하였고, RNA quality는 260/280 ratio 1.8 이상을 확인하였으며, 역전사반응 (Reverse Transcription: RT) 전까지 초저온 냉동고 (- 80℃) 에 보관하였다.

(2) 역전사반응-실시간중합효소연쇄반응 (RT-qPCR)

cDNA합성을 위한 역전사 반응 (Reverse Transcription, RT) 은 iScript cDNA synthesis kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 를 사용하였다. Total RNA 1 μg, iScript 5X Master mix 4 μL, iScript reverse transcriptase 1 μL 및 DEPC-DW를 넣어 최종 반응용액 20 μL을 맞춘 후, 42℃에서 1시간 반응하여 cDNA를 합성하였다. 그리고 실시간 중합효소연쇄반응 (qPCR) 은 iQ SYBR Green Supermix kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 를 이용하여 수행하였다. cDNA 1 μL, primer 각각 1 μL, iQ SYBR Green Supermix (2X) 10 μL 및 DEPC-DW를 넣어 최종 반응용액 20 μL 되게 맞춘 후, real-time PCR machine (CFX96, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 를 사용하여 증폭하였다.

PCR 반응을 위한 유전자 프라이머의 염기서열 및 annealing temperature은 (Table. 1.) 과 같으며 유전자 증폭을 위한 반응 조건은 95℃에서 5분 1회, 95℃에서 30초, 각 유전자 annealing temperature에서 30초, 72℃에서 30초를 35회 반복하였으며, 마지막으로 72℃에서 10분간 1회 반응하였다. Melting curve의 분석은 0.5℃ 간격으로 50℃에서부터 95℃까지 상승시켰다가, 이후 30℃에서 5분간 유지하였다. 상대적인 유전자 발현량의 결정은 2-ΔΔCt 방법 (comparative Ct method) 을 이용하여 유전자의 발현량을 분석하였다. 내재표준 유전자로는 house keeping 유전자인 β-actin (ACTB) 을 사용하여 발현량을 표준화 (normalization) 하였다. 실시간 중합효소연쇄반응은 정점 당 5개의 실험구를 대상으로 3회 반복 실험하였다.

(3) 통계학적 분석

대조군에 의한 실험군과의 유의성 검정은 Student's t-test

Table 1. RT-qPCR을 위한 프라이머 염기서열

Gene	Primer	Sequence	Tm (°C)
Hsp90	F	5'-TGGCAGCAAAGAAACATCTG	53
	R	5'-GGGATGTGTTGTTGGCTCTT	
Hsp70	F	5'-TGAAAGACAATAAACGTGCTG	60
	R	5'-AATTTCAATGCTGGCTTGTGT	
GST	F	5'-CTGTGGTTGACTTCCCAATGT	60
	R	5'-CTGCGTAGCAATGTCCTTCTTG	
TRX	F	5'-GGACGTTGATGATGTTTCGGAGGT	58
	R	5'-TTTCCAGTTCATCAGCATCAGC	
β-actin	F	5'-ATCCAGGCTGTCCTGTCCT	53
	R	5'-GAGGAAGTGCCTAACCTTCAT	

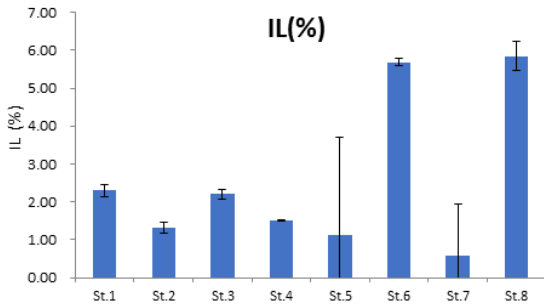


Fig. 2. Surveying sites of IL.

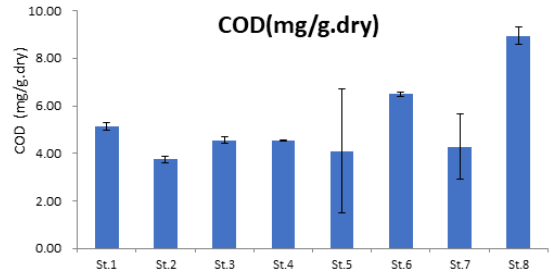


Fig. 3. Surveying sites of COD.

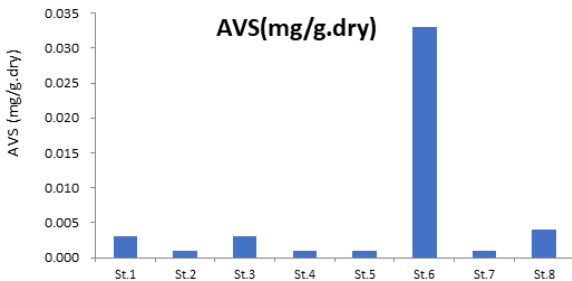


Fig. 4. Surveying sites of AVS.

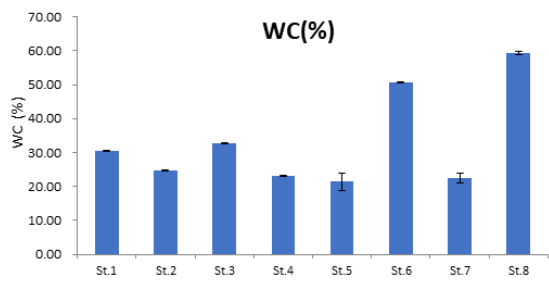


Fig. 5. Surveying sites of WC

로 비교하였으며, 유의적 차이 ( $p < 0.01$ ) 로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 표층 퇴적물의 지화학적 환경요인 및 입도조성

#### 1) 지화학적 환경요인 및 입도조성

서해연안의 조사지역의 갯벌어장은 천해의 바지락 양식장 형성이 되는 지역이며, 바지락은 조간대에서 서식환경조건의 변화, 특히 퇴적물 입도에 많은 영향을 받는 생물이다.

표층 퇴적물은 갯벌어장 조사정점에서 표층 2 cm 이내로 채취하였으며, 입도, 화학적산소요구량, 산취발성황화물, 강열

감량은 해양환경공정시험기준 (2020, 국토해양부) 에 따라 분석하였다. 갯벌어장의 지역별 퇴적물 화학적산소요구량 (COD) 값의 변화 양상은 3.75-8.95 mg/g dry wt. (평균 2.57 mg/g) 으로 조사되었고 (Choi *et al.*, 2019) 특히 조사 정점 (St. 8). 황도지역에서 8.95 mg/g으로 가장 높은 농도를 보였다 (Fig. 3).

바지락 성장과 폐사에 영향을 미치는 퇴적물의 산취발성황화물 (AVS) 값은 조사지역에서 전체적으로 0.001-0.033 mg/g (평균 0.006 mg/g) 수준이었으며 St. 6 (주교) 의 갯벌에서 가장 농도가 높은 값을 보였다 (Fig. 4).

Table 2. The mean grain size(Mz) of surface sediments in the surveying sites

St.	Textures(%)				Sediment type (Folk, 1968)	Statistical parameters			
	Gravel	Sand	Silt	Clay		Mean ( $\phi$ )	Sort ( $\phi$ )	Skew	Kurt
St. 1	1.83	44.18	23.23	30.76	(g)sM	5.58	3.27	0.21	0.61
St. 2	0.00	87.86	5.27	6.87	mS	3.45	1.30	0.30	4.02
St. 3	0.00	92.98	2.60	4.42	S	2.94	1.12	0.45	1.97
St. 4	0.00	72.09	8.45	19.46	cS	4.69	3.12	0.60	0.91
St. 5	0.46	16.13	50.54	32.87	(g) sM	6.57	2.69	0.16	1.04
St. 6	0.00	3.56	49.59	46.85	M	7.78	1.63	-0.11	0.84
St. 7	0.00	4.29	54.08	41.63	M	7.57	1.80	-0.08	0.93
St. 8	5.46	65.94	11.63	16.97	gmS	2.52	3.90	0.78	0.70

(St. 1, Pado-ri, St. 2, Sinsido, St. 3 Hajeon, St. 4, Baekmi-ri, St. 5, Joongwang-ri, St. 6, Jugyo, St. 7, Wonchong, St. 8, Hwangdo).

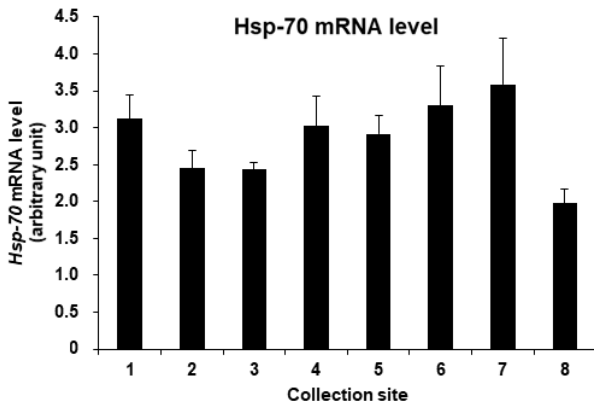


Fig. 6. Expression of Hsp70 mRNA in manila clam (*R. philippinarum*) by RT-qPCR.

실시간-역전사중합효소연쇄반응 (RT-qPCR) 분석방법을 이용하여 서해안 갯벌 8개 정점에 서식하는 바지락을 대상으로 Hsp-70, Hsp-90, Glutathione S-transferase (GST) 및 Thioredoxin (TRX) 유전자 발현을 분석하였다. (Fig. 6-9).

연구 결과 Hsp70, Hsp90, GST 및 TRX 유전자들은 8개 정점에서 퇴적물의 화학적요인과 중금속의 농도에 따라 발현되는 양상이 다른 것으로 나타났다 (Zhan *et al.*, 2021). 이 결과는 각 유전자에 특이적으로 반응하는 물질이 존재하는 것으로 생각된다. 따라서 이화학적 분석 결과에 근거하여 분석에 적합한 유전자를 선택할 수 있다고 생각한다.

갯벌어장 바지락 서식지역은 천해의 조건으로 조간대는 환경조건인 수온과 갯벌 노출시간의 변화가 매우 심한 지역이며 (Choi *et al.*, 2014 and Choi *et al.*, 2019), 바지락의 분포는

Table 4. The content of heavy metals of surface sediments at study area.

St.	Heavy metals of surface sediments (mg/kg d.w.)									
	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn	T-Hg
St.1. Pado-ri	8.60	0.01	1.78	9.30	1.86	4922.40	134.27	26.16	13.81	0.002
St.2. Sinsido	6.29	0.03	7.18	35.56	6.08	19178.97	245.59	27.31	54.22	0.025
St.3 Hajeon	3.54	0.02	3.14	22.96	4.61	6504.64	177.69	12.65	25.07	0.005
St.4. Baekmi-ri	4.47	0.02	2.36	8.90	2.82	6448.61	384.41	26.76	26.75	0.012
St.5. Joongwang-ri	6.14	0.03	5.11	29.67	5.25	17517.49	297.71	25.49	56.57	0.006
St.6. Jugyo	4.79	0.04	6.57	39.17	6.71	18021.95	352.13	23.42	68.92	0.008
St.7. Wonchong	3.48	0.00	2.36	10.98	2.19	5901.92	112.13	13.41	17.33	0.002
St.8. Hwangdo	5.43	0.04	8.17	53.32	10.89	22084.29	536.63	23.16	72.03	0.011

2) 입도조성

갯벌어장 조사지역의 퇴적물의 입도 조사결과를 보면 대부분 사니질로 구성되어 있으며 평균 입도는 조사지역에서 (2.52-7.78) 의 분포 값을 나타내었고 분급도는 (1.12-3.90) 으로 분급이 매우 불량한 상태로 나타났다 (Kim *et al.*, 2005) (Table 2).

(1) 표층 퇴적물의 무기원소 및 중금속 함유량

조사지역 퇴적물의 무기원소는 퇴적물 시료를 동결 건조하여 X-ray 형광분광분석기 (Super mini, Rigaku) 를 사용하여 측정하였고, 중금속은 ICP-MS를 사용하여 분석하였다.

조사지역의 퇴적물 무기원소 함유량은 비슷한 원소 함유량을 나타내었으며 (Table 3), 서해안 지역의 일반적인 농도와 유사성을 나타내었다 (Choi *et al.*, 2014, Song *et al.* 2011 and Lim *et al.*, 2007).

바지락 및 생체지표유전자를 이용한 갯벌 건강도 비교 평가

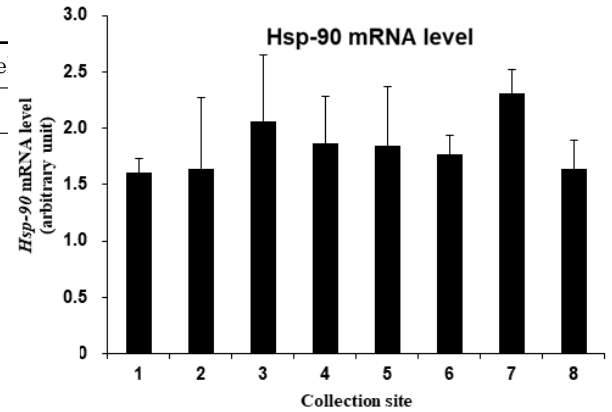
퇴적물의 입도조성 및 퇴적물의 유기물 농도 등에 따라 많은 영향을 받는 것으로 보고되어 있다 (Kim *et al.*, 2005). 이러한 환경조건과 생체지표 유전자의 발현에서 Hsp-70은 열에 의한 영향으로 유전자 발현이 된다 (Rhee *et al.*, 2009). 조사 지역 St. 7, St. 6 및 St. 4에서 상대적으로 높은 값으로 나타났고, 이 지역의 갯벌에서 조간대의 노출시간에 의하여 영향을 받는 것으로 해석된다.

그리고 갯벌의 노출시간과 퇴적물의 입도 조성의 차이는 퇴적물의 산소 교환, 공극수의 염분 및 pH 안정도 등에 영향을 줌으로써 결과적으로 서식생물의 섭식활동 등 생물의 행동과 생존을 제한하는 것으로 알려져 있다. 퇴적물의 유기물 함유량을 간접적으로 표현할 수 있는 강열감량 (IL) 과 화학적산소요구량 (COD) 농도가 높게 나타난 St .8 지점에서 Hsp70, Hsp90, GST 및 TRX 유전자 발현이 상대적으로 낮은 것으로 나타났다.

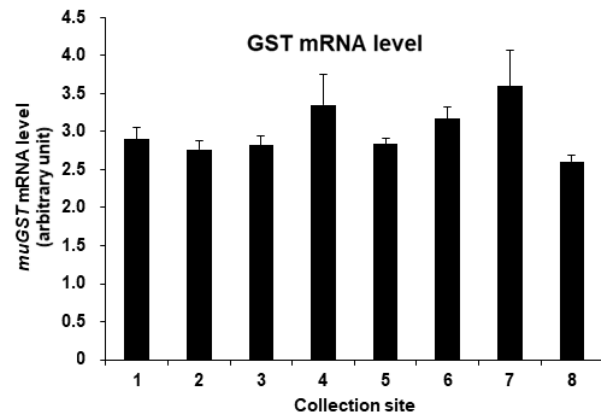
퇴적물에 있는 유기물은 바지락의 섭식에 영향을 주는 영양적인 요인으로 작용할 수 있으며, 오염된 유기물질의 영향이 유전

**Table 3.** The content of inorganic elements of surface sediments

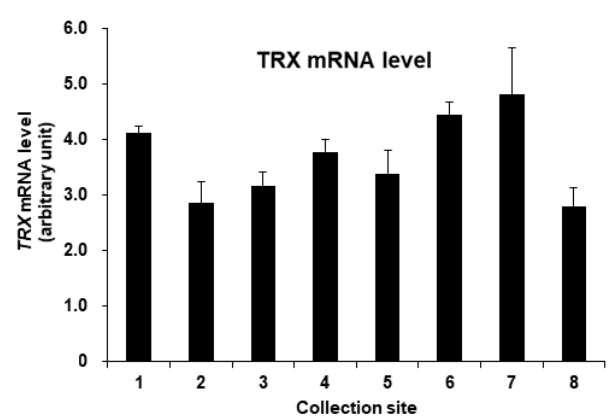
St.	Inorganic e			
	Na	Mg	Al	Si
St.1. Pado-ri	0.0002	0.0002	8.84	27.5
St.2. Sinsido	0.0009	0.0074	1.65	6.9
St.3. Hajeon	0.0015	0.0002	4.61	10.9
St.4. Baekmi-ri	0.0014	0.0002	11.9	19.3
St.5. Joongwang-ri	0.0002	0.0002	15.4	32.1
St.6. Jugyo	0.0002	0.0002	4.23	17.7
St.7. Wonchong	0.0002	0.0002	4.61	10.9
St.8. Hwangdo	0.0002	0.0002	14.3	27.2



**Fig. 7.** Expression of Hsp90 mRNA in manila clam (*R. philippinarum*) by RT-qPCR. 0.0002, 2.91, 27.40, 9.52, 28.1, 0.0002, 0.0002, 23.1, 5.67, 0.0002



**Fig. 8.** Expression of GST mRNA in manila clam (*R. philippinarum*) by RT-qPCR.



**Fig. 9.** Expression of TRX mRNA in manila clam (*R. philippinarum*) by RT-qPCR.

자 발현에 관여할 수 있을 것으로 생각된다 (Kim *et al.*, 2005).

한편 표층 퇴적물의 환경요인중에서 평균입도의 증가와 화학적산소요구량 (COD) 의 농도가 증가한 St. 7에서 Hsp70, Hsp90, GST 및 TRX 유전자 발현을 보면 4가지 항목 모두 높은 값을 나타냈다. 또한 산취발성황화물 (AVS) 농도가 가장 높은 St. 6에서 Hsp70 및 TRX의 발현이 상대적으로 높게 나타났으며, 퇴적물의 중금속 Cd, Co, Cu의 농도가 다른 조사지역에 비해 높은 농도를 나타내었다 (Eroglu *et al.*, 2015 and Yon *et al.*, 2013). 이 결과는 유전자 발현에 영향을 줄 수 있는 중금속의 작용으로 인한 것으로, 금속의 산화에 의한 TRX의 발현성이 높아지는 것으로 해석할 수 있다(Rhee *et al.*, 2009).

그러므로 바지락의 서식지 퇴적물에 대한 바지락의 유전자 발현에 대한 결과는 Hsp70, Hsp90, GST 및 TRX 유전자를 사용한 갯벌의 건강을 평가하기 위한 생체지표유전자로서의

역할을 수행함을 시사한다.

본 연구결과 갯벌어장 정점 8지점에 서식하는 바지락의 유전자 발현은 조사지역 퇴적물의 화학적 요인 및 중금속의 농도에 영향을 받는 발현 양상을 나타내었다 (Stefinia *et al.*, 2018). 스트레스, 항산화 (antioxidant) 및 면역 관련 유전자의 발현이 높게 나타난 지역은 서식 개체가 퇴적물의 환경요인에 의해 스트레스를 받고 있다는 것을 의미한다 (Zhang *et al.*, 2012).

각각의 지표유전자들은 환경요인에 따른 발현정도가 매우 다르게 나타나는 특성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 조사지역 정점에서 환경스트레스 물질 유입 및 축적 등 이화학적 인 자료의 연구 결과와 특이적인 지표유전자의 발현과의 상관관계를 해석하면, 지표유전자의 발현 분석을 통해 오염물질, 환경요인 유입 정도를 파악할 수 있으리라 생각된다 (Choi *et al.*, 2018).

## 요 약

갯벌어장 조사지역의 퇴적물의 입도 조사결과를 보면 대부분 사니질로 구성되어 있으며 평균 입도는 조사지역에서 (2.52-7.78  $\phi$ ) 의 분포 값을 나타내었고, 분급은 불량하여 바지락의 양식과 분포에 좋은 지역이다.

온도의 영향을 받는 Hsp70의 발현정도는 조사지역 St. 7, St. 6 및 St. 4에서 상대적으로 높은 값을 나타내어 조사지역의 조간대 노출시간 차이에 의한 영향으로 해석된다.

갯벌어장 퇴적물의 강열감량과 화학적산소요구량의 농도에 변화에 따른 유전자 발현은 St. 8 지점에서 Hsp70, Hsp90, GST 및 TRX 유전자 발현이 상대적으로 낮은 것으로 나타났다.

평균입도의 증가와 화학적산소요구량 (COD) 의 농도가 증가한 St. 7에서 Hsp70, Hsp90, GST 및 TRX 유전자 발현을 보면 4가지 항목 모두 높은 값을 나타냈다.

산취발성황화물 (AVS) 농도가 가장 높은 St. 6에서 Hsp70 및 TRX의 발현이 상대적으로 높게 나타났으며, 퇴적물의 중금속 Cd, Co, Cu의 농도가 다른 조사지역에 비해 높은 농도를 나타냈다.

## 사 사

본 연구는 2023년도 국립수산과학원 수산시험연구사업 (R2023008) 의 지원으로 수행된 연구임.

## REFERENCES

- Choi, H.C., Choi Y.S., Kang, H.S. and Lee, Y. (2018) Evaluation of Health of Tidal Flat on the West Coast using Biomarker Genes and Marlila Clam (*Ruditapes philippinarum*). *Journal of Marine Life Science*, **3**(2): 59-66.
- Choi, Y.S., Song, J.H., Yoon, S.P., An, K.O. and Park, K.J. (2014) The environmental characteristics and factors in the cultured manila clam (*Ruditapes philippinarum*) at Hwangdo and Jeongsanpo of Taean in the west coast of Korea. *Korean Journal of Malacology*, **30**(2): 117-126.
- Choi, Y.S., Jeon, S.R., Choi, Y.H. and Cho, Y.S. (2019) The environmental characteristics and factors on the cultured clam (*Ruditapes philippinarum*) at Gonso and Geunso bay in the west coast of Korea. *Korean Journal of Malacology*, **35**(1): 33-44.
- Colinet, H., Lee, S.F., Hoffmann, A. (2010) Temporal expression of heat shock genes during cold stress and recovery from chill coma in adult *Drosophila melanogaster*. *FEBS J.*, **277**: 174-185.
- Eroglu, A., Dogan, Z., Kanak, E.Z. Atli, G., Canli, M. (2015) Effects of heavy metals (Cd, Cu, Cr, Pb, Zn) on fish glutathione metabolism. *Environ Sci Pollut Res.*, **22**: 3229-3237.
- Folk, R.L. (1968) Petrology of sedimentary rock, Hemphill Publishing Co., Austin TX, U.S.A., pp. 170.
- Hayes, J.D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R. (2005) Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **45**: 51-88.
- Han, J.H., Won, E.J., Hwang, D.S., Rhee, J.S., Kim, I.C., Lee, J.S. (2013) Effect of copper exposure on GST activity and on the expression of four GSTs under oxidative stress condition in the monogonont rotifer, *Brachionus koreanus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **158**: 91-100.
- Kim, S.K., Lee, M.K., Ahn, J.H., Kang, S.W. and Jeon, S.H. (2005) The effects of mean grain size and organic matter contents in sediments on the nutrients and heavy metals concentrations. *J. Korean Soc. of Environ. Eng.*, **27**(9): 923-931.
- Liyanage, D.S., Omeka, W.K.M., Godahewa, G.I., Lee, J. (2018) Molecular characterization of thioredoxin-like protein 1(TXNL1) from big-belly seahorse *Hippocampus abdominalis* in response to immune stimulation. *Fish Shellfish Immunol.*, **75**: 181-189.
- Liu, H., He, J., Zhao, R., Chi, C., Bao, Y. (2015) A novel biomarker for marine environmental pollution of pi-class glutathione S-transferase from *Mytilus coruscus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **118**: 47-54.
- Lim, D.I., Choi, J.Y., Choi, H.W. and Kim, Y.O. (2007) Natural background level analysis of heavy metal concentration Korean coastal sediments. *Ocean and Polar Research*, **29**(4): 379-389.
- McBride, E. F. (1971) Mathematical Treatment of Size Distribution Data. *In*: Procedure in sedimentary Petrology edited by Carver, R. E., 109-127 pp. Wiley-Interscience.
- Rhee, J.S., Raisuddin, S., Lee, K.W., Seo, J.S., Ki, J.S., Kim, I.C., Park, H.G. and Lee, J.S. (2009) Heat shock protein (Hsp) gene responses of the intertidal copepod *Tigriopus japonicus* to environmental toxicants. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **149**: 104-112.
- Song, Y.H., Choi, M.S. and Ahn, Y.W. (2011) Trace metals in Chun-su Bay sediments. 「The Sea」. *J. Korean. Soc. Ocean.*, **16**(4): 169-179.
- Smith, A.P., De Ridder, B.P., Guo, W.J., Seeley, E.H., Regnier, F.E., Goldsbrough, P.B. (2004) Proteomic analysis of *Arabidopsis glutathione* S-transferases from benoxacor- and copper- treated seedlings. *J. Biol. Chem.*, **279**: 26098-26104.
- Stefania, F., Casattaa, N., Ferrarinb, C., Izzottic, A., Maicub, F., Viganoa, L. (2018) Gene expression and genotoxicity in Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) modulated by sediment contamination and lagoon dynamics in the Po river delta. *Marine Environmental Research*, **142**: 257-274.
- Xu, Q., Qin, Y. (2012) Molecular cloning of heat shock

- protein 60 (PtHSP60) from *Portunus trituberculatus* and its expression response to salinity stress. *Cell Stress Chaperones*, **17**: 589-601.
- Umasuthan, N., Revathy, K.S., Lee, Y.D., Whang, I.S., Lee, J.H. (2012) Mitochondrial thioredoxin-2 from Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) is a potent antioxidant enzyme involved in antibacterial response. *Fish & Shellfish Immunology*, **32**: 513-523.
- You, L, Ning, X, Liu, F, Zhao, J, Wang, Q, Wu, H. (2013) The response profiles of HSPA12A and TCTP from *Mytilus galloprovincialis* to pathogen and cadmium challenge. *Fish Shellfish Immunol.*, **35**: 343-350.
- You, L., Ning, X., Liu, F., Zhao, J., Wang, Q., Wu, H. (2013) The response profiles of HSPA12A and TCTP from *Mytilus galloprovincialis* to pathogen and cadmium challenge. *Fish Shellfish Immunol.*, **35**: 343-350.
- Zhang, L., Qiu, L., Wu, H., Liu, X., You, L., Pei, D., Chen, L., Wang, Q. and Zhao, J. (2012) Expression profiles of seven glutathione S-transferase (GST) genes from *Venerupis philippinarum* exposed to heavy metals and benzo[a]pyrene. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **155**: 517-527.
- Zhan, J., Wang, S., Li F., Ji, C., Wu, H. (2021) Global characterization of dose-dependent effects of cadmium in clam *Ruditapes philippinarum*. *Environmental Pollution*, **273**: 116443.