2006-1-97

Korean Journal of Malacology, Vol. 22(1): 83-91, June 30, 2006

남극삿갓조개 (*Nacella concinna*) 장의 중금속 축적에 관한 연구

이용석, 조용훈[1], 한연수[1], 고원규, 안인영[2], 정계헌[3]

인제대학교 의과대학 기생충학교실 및 백인제기념연구소 말라리아연구부, [1]전남대학교 농업생명과학대학 농생물학과, [2]한국해양연구원 극지연구본부, [3]순천향대학교 자연과학대학 생물학과

Bioaccumulation of Heavy Metals in Intestine of *Nacella concinna*

Yong-Seok Lee, Yong-Hun Jo[1], Yeon-Soo Han[1], Weon-Gyu Kho, In-Young Ahn[2] and Kye-Heon Jeong[3]

Department of Parasitology, Inje University College of Medicine and Department of Malariology, PICR, Gaegum-dong, Busanjin-gu Busan 614-735, Korea

[1]College of Agriculture and Life Science, Chonnam National University, 300 Yongbong-Dong, Puk-Gu, Gwangju 500-757, Korea

[2]Polar Sciences Laboratory, Korea Ocean Research and Development Institute, Ansan, 425-170, Korea

[3]Department of Biology, College of Natural Sciences, Soonchunhyang University, Asan, Chungnam, 336-745, Korea

ABSTRACT

Immunohistochemical and ultrastuructural experiments were conducted to find out heavy metal accumulation in the intestine of an Antarctic gastropod *Nacella concinna*. According to the immunohistochemical experiment the apical cytoplasm of the intestinal epithelium showed positive reactions to anti-MT (metallothionein), indicating the presence of MT, a metal-binding protein involved in metal detoxifying process. In the transmission electron microscopic observations, the epithelial cells of the intestine exposed to Cd for over three hours showed irregular nuclear membranes, secretory granules, and probable metal granules. According to the SEM-EDS experiments on the intestine, concentration of Pb in the apical epithelium was in inverse proportion to that in the intestinal lumen. After exposing to Cd for over three days, S was rapidly reduced. Ca and Zn were rapidly increased after exposure to Cd. These elements are supposed to be concerned with the MT-reaction in the intestine. Taken together, these data suggest that *N. concinna* could be used as a potential biomarker species.

Keywords: *Nacella concinna*, Heavy metals, Metallothionein, SEM-EDS, Biomarker.

Received November 7, 2005; Accepted May 27, 2006
Corresponding author: Jeong, Kye-Heon
Tel: +82 (41) 530-1249 e-mail: jngkh@sch.ac.kr
1225-3480/22108
C The Malacological Society of Korea

서 론

남극은 원시적인 자연환경을 보존하고 있는 몇 안 되는 장소 중 하나이다. 이는 하나의 거대한 자연과학의 실험장이자 인류의 마지막 자원의 보고이다. 최근 남극에서의 연구 활동, 기지 운영 및 관광 등의 활동이 증대되고 있으며, 이에 따른 환경 및 생태적 파괴가 이루어지고 있는 가운데 인간이 환경에 미치는 영향을 감지하고 평가 및 보존에 대한 일련의 활동이 필요시 되고 있다. 남극조약 환경보호의정서 (Protocol on Environmental Protection to the Antarctic Treaty) 가 1998년 1월 14일 발효됨에 따라 남극조약 협의 당사국 (ATCP; Antarctic Treaty Consultative Parties) 에 포함되어 있는 우리나라는 의정서에 명시되어 있는 일련의 기지 운영 및 기타 인간 활동에 의한 환경변화의 모니터링을 의무적으

로 수행하게 되었다 (Ensminger *et al.*, 1999).

남극의 육상 환경은 연평균 온도 -23℃이며, 풍속이 가장 빠른 곳은 연평균 초속 22.2 m로서 생물이 서식하기에는 그리 적합하지 않다. 하지만, 저서환경은 육지 환경과는 다르게 일정한 온도와 염분을 유지하고 있는 매우 안정된 환경을 갖춤으로서 높은 종 다양성을 유지하고 있으며, 풍부한 생물량을 보유하고 있다 (Ahn, 1994). 비록 남극의 해양환경이 지구상에서 가장 원시적인 환경을 유지하고 있지만, 높은 농도의 영양분을 가진 깊은 바다 속 물이 용승한 결과 표층해수의 카드뮴 (Cd) 농도가 비약적으로 증대되고 있는 것으로 알려져 있다 (Honda *et al.*, 1987). 해수중의 카드뮴은 친화력이 높은 인산염과 식물성 플랑크톤에 일차적으로 흡수된 후 먹이 그물을 통해서 초식동물 그리고 상위영양단계에 있는 동물들에 농축되어지는 것으로 생각되어지고 있으며, 현재에 들어서는 다양한 남극해양생물들이 높은 농도의 카드뮴을 체내에 축적하고 있는 것으로 알려져 있다 (Ahn *et al.*, 2001; Moreno *et al.*, 1997).

전 세계적으로 연안환경에서의 중금속 오염을 모니터링 하는 데에는 Mussel Watch Program을 중심으로 담치류 (mussel) 와 굴 (oyster) 등이 지표종 (indicator species) 으로 널리 사용되어 왔다 (O'Connor *et al.*, 1994). 그러나 남극에는 이 두 종이 서식하고 있지 않으며, 현재까지의 연구에 따르면 남극큰띠조개 (*Latenula elliptica*) 와 남극가리비 (*Adamussium colbecki*) 가 담치류에 상응하는 유용한 생물지표종으로 사용될 수 있다고 알려져 있다 (Ahn *et al.*, 1996 ; Nigro *et al.*, 1992). 이에 남극 세종기지 에서는 이미 남극큰띠조개를 이용하여 조하대의 환경모니터링을 한 바 있다. 하지만, 조간대의 경우에는 환경오염에 가장 심각하게 노출되어 있음에도 불구하고, 적절한 모니터링이 이루어지지 않고 있어 이에 대한 대책이 시급한 실정이다. 남극의 조간대는 빙하에 의한 물리적 충격, 동계기간 중의 해수의 결빙 등으로 일부 생물을 제외하고는 생물상이 매우 빈약하고, 유일한 연체동물로 삿갓조개가 널리 분포하고 있다. 이러한 연구의 일환으로 Najle *et al.* (2000) 은 원시복족류의 일종인 남극삿갓조개 (*Nacella concinna*) 를 가지고 카드뮴에 노출시킨 후 소화선을 관찰하여 어떠한 변화가 있는지 살펴본 바 있으며, Ahn *et al.* (2002) 은 같은 종에서 성별 및 부위에 따른 중금속 농축 방식의 기초실험을 수행 한 바 있다. Ahn *et al.* (1996) 에 의하면 남극삿갓조개가 중금속을 잘 농축하는 특성을 가지고 있으며, 해양환경 모니터링에 지표종으로 이용 가능함을 이미 발표 한 바 있다.

본 연구에서는 남극지역에서 유용한 생물지표종으로 예상되어지는 남극삿갓조개를 대상으로 카드뮴에 노출시킨 후 장 (intestine) 에서의 미세구조 변화를 살펴보았으며, 세포내 중금속을 포함한 원소조성을 알아보기 위해 SEM-EDS (scanning electron microscope-energy dispersive spectroscopy) 를 이용하여 중금속의 분포를 관찰함으로써 중금속의 축적 및 해독기작에 대한 기초자료를 얻고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 실험재료

재료로 사용된 남극삿갓조개는 연체동물문 (Mollusca), 복족강 (Gastropoda), 전새아강 (Prosobranchia), 원시복족목 (Archeogastropoda), 삿갓조개과 (Patellidae) 에 속하는 남극대륙 주변 해역에 널리 분포하는 종으로서 조간대와 조하대의 바위에 부착하여 규조류나 미세조류 등을 먹고 살며, 채집이 쉽고 널리 분포하는 장점 때문에 형태학적 또는 생태학적 연구가 많이 이루어 진 종이다 (Brethes *et al.*, 1994). 본 실험에 사용된 시료는 우리나라 남극기지인 세종기지의 앞 Marine Cove 근방에서 채집하였다.

카드뮴 노출실험을 위해 $CdCl_2$를 50 ppb로 맞춘 여과된 해수를 담은 수조에 살아있는 상태의 남극삿갓조개를 넣고 1일, 3일, 6일, 11일 동안 노출시켰다. 노출실험이 끝난 시료와 노출실험을 하지 않은 정상시료들은 0.1 M cacodylate 완충액 (pH 7.2) 으로 제조한 Karnovsky 고정액에 넣은 후 미세구조를 보존하기 위하여 4℃를 유지하며 운반하였다.

2. SEM-EDS를 이용한 원소분석

SEM-EDS 표본을 만들기 위하여 일반적인 SEM 표본 제작과정을 시행하였다. 운반되어진 시료를 고정액을 만들 때 사용되었던 것과 같은 조성의 0.1 M 인산완충액 (pH 7.4) 및 0.1 M cacodylate 완충액 (pH 7.4) 에서 24시간 동안 수세한 후 적당한 크기로 세절하였다. 그 후 60%, 70%, 80%, 90%, 100%의 순서로 에탄올을 사용하여 탈수한 후 IAA (isoamyl acetate) 과 에탄올의 비율 1:2, 1:1, 2:1 100% IAA 의 순서로 치환작업을 거친 다음 critical point dryer 에서 완전히 건조시켰다. 완전히 건조 되어진 표본은 spy ion sputter를 이용하여 200 nm 두께로 gold coating 한 후 EDS (Kevex) 가 장착된 H-2500C (Hitachi) 으로 관찰하였다. EDS 측정시 조사대상 원소의 종류는 Al, Si, Cl, Ca, Cr, Fe, Cu, Zn, Cd, Hg, Pb 11 개 원소였다.

3. 면역조직학적 연구

실험재료는 고정액을 만들 때 사용되었던 것과 같은 조성의 0.1 M 인산완충액 (pH 7.4) 에서 24시간 동안 washing 한 후 적당한 크기로 세절 한 후 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 2 회의 순서로 alcohol을 사용하여 탈수한 후 xylene

과 에탄올의 비율 1:2, 1:1, 2:1 100% xylene의 순서로 투명화 작업을 거친 다음 액화된 파라핀과 xylene의 비율 1:1, 2:1, 100% 파라핀의 순서를 거쳐 파라핀에 포매하여 블록을 제작한 후 상온에서 1일 방치 후 절편제작에 용이하도록 냉동고로 옮겼다. 완전히 굳은 블록은 회전식절편기 (rotary microtome) 를 사용 6 μm 두께의 절편으로 만들고 슬라이드 가열기를 이용 슬라이드글라스에 정착시켰다. 이렇게 제작되어진 시료는 metallothionein을 localization 하기 위한 면역조직화학실험을 위해 탈파라핀 작업을 수행 하였다. 탈파라핀이 끝난 조직은 hydrogen peroxide로 처리한 후 비특이적인 면역반응을 제거하기 위해 15 mM sodium azide와 blocking protein이 들어있는 PBS 용액으로 처리한 후 monoclonal mouse metallothionein antibody (DAKO, Code No. M0639) 를 primary antibody (anti-MT) 로 사용하여 10분간 반응시킨 후 secondary antibody에서 10분간 link 시키는 반응을 실온에서 실시하였다. 그 후 streptoavidin peroxide 과 substrate-chromogen solution 에 각각 10분간 반응시킨 후 3차 증류수로 조심스럽게 헹구어낸 후 헤마톡실린 (hematoxylin) 으로 counter staining 하여 광학현미경 (Nikon, Optiphot-II) 으로 관찰하였다. 이러한 면역조직화학적 실험의 과정은 DAKO's LSAB (Labelled Streptavidin Biotin) kit를 사용하여 실시하였다.

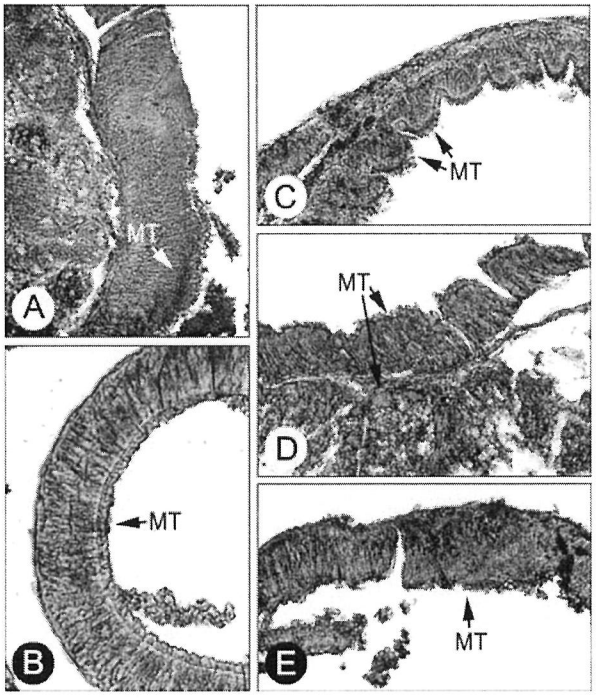

Fig. 1. Light micrographs of immuno-reactivity against monoclonal mouse MT antibody in the epithelial cells of the *Nacella concinna* intestine. **A**: 0-day, **B**: 1-day, **C**: 3-day, **D**: 6-day, and **E**: 11-day exposure to Cd.

4. TEM을 이용한 미세구조 관찰

미세구조 관찰을 위하여 전자현미경용 초박절편을 제작하였다. 운반되어진 시료는 광학현미경용 표본에서와 마찬가지로 고정액을 만들 때 사용되었던 것과 같은 조성의 0.1 M 인산완충용액 (pH 7.4) 및 0.1 M cacodylate 완충용액 (pH 7.4) 에서 6시간 동안 수세하여 1% 사산화오스뮴산 (OsO_4) 에서 2시간 동안 후고정 하였다. 그 후 다시 동일한 완충액으로 5분씩 3 회 수세 한 후 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% (2회) 의 순서로 에탄올을 사용하여 탈수하였다. 탈수가 끝난 시료는 아세톤 치환과정을 거친 후 spurr media를 사용하여 포매 한 후 37℃에서 12시간, 45℃에서 12시간 60℃에서 48시간 동안 열중합 하여 초박절편용 블록을 제작하였다. 제작된 블록은 초박절편기 (ultramicrotome) 와 다이아몬드 나이프 (diatom) 를 이용하여 70-80 nm의 두께의 초박절편을 만든 다음 200 mesh 구리 그리드에 얹은 후 uranyl acetate에서 20분, lead citrate에서 5분간 이중 염색하여 JEM-1010 투과전자현미경 (transmission electron microscope) 을 이용하여 관찰하였다.

결 과

1. 면역조직화학

남극삿갓조개의 장상피는 일반적인 연체동물의 장상피와 마찬가지로 원주세포들로 이루어져 있었으며 10 μm 정도의 길이의 섬모가 발달한 모습을 관찰 할 수 있었다. 세포의 크기는 거의 일률적으로 30 μm 정도 이었고, 상피세포의 기저부 아래에는 소성 결합조직 존재하고 있었으며, 중금속에 의해 유도된 MT (methalothionein) 단백질이 면역조직화학적인 방법에 의해 붉은 색으로 표지되었다. 중금속의 노출시간이 길어질수록 조직의 전형적인 형태가 사라지고 최외곽 상피층이 분리되는 현상이 관찰되었으며 노출되지 않은 조직에 비해 전반적으로 더 넓은 지역에서 강하게 반응을 보였다 (Fig. 1).

2. 투과전자현미경을 이용한 미세구조 관찰

남극삿갓조개의 장을 투과전자현미경으로 관찰한 결과 원주세포로 이루어진 세포의 유리면에는 섬모가 관찰될 뿐 미세융모 등은 관찰되어지지 않았다. 세포내 많은 분비과립이 존재하고 있었으며, 잘 발달되어진 조면소포체와 골지체를 가지고 있었다. 원주형의 핵의 내부는 대부분이 진정염색질로 이루어져 있었으며, 세포질은 전반적으로 전자밀도가 높은 편 이었으며,

상당수의 미토콘드리아도 관찰되었다 (Fig. 2). 카드뮴 노출 실험결과 금속성 물질이 전반적으로 퍼져있었으며, 일부는 과립의 형태로 금속성 물질을 포함하고 있었다. 또한 3일간 노출한 시료에서는 조면소포체들이 동심원상으로 배열되어 있는 구조인 whorl 구조도 일부 발견되었다. 6일간 노출한 시료의 경우에는 중금속 노출 시 전형적으로 알려진 핵막의 일부가 팽창하여 부풀어 오르는 현상을 관찰 할 수 있었다. 또한 11일간 노출시킨 경우에는 앞서 관찰되어진 핵막의 팽창현상 및 핵 내 봉입체를 발견 할 수 있었다 (Fig. 3).

3. 주사전자현미경 및 SEM-EDS 관찰

남극삿갓조개의 장을 주사전자현미경으로 조직의 상단부 표면을 관찰한 결과 매우 많은 섬모를 관찰할 수 있었다. 섬모의 길이는 약 6-10 μm 정도였다. 하지만, 중금속 노출 시간에

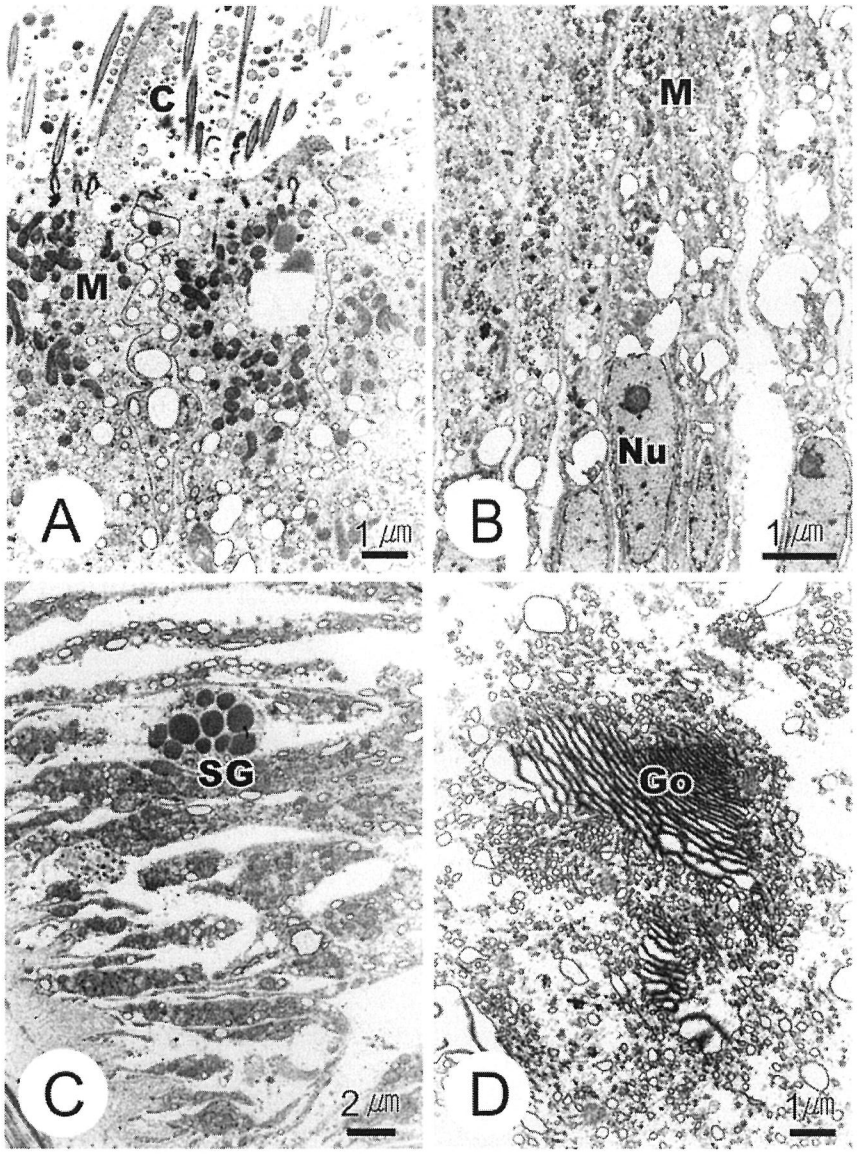

Fig. 2. The transmission electron micrographs of the intestine cells in *Nacella concinna*. **A**: The micrograph shows well developed mitochondria (M) and cilia (C). **B**: Columnar cells are predominant in the intestine of *N. concinna*. **C**: Secretory granules. **D**: A cell from the intestine shows well developed Golgi body (Go).

따른 조직구조의 변화 양상을 파악하기는 어려웠다 (Fig. 4). 남극삿갓조개의 장의 SEM-EDS를 이용한 중금속 추적결과 원주세포들이 존재하는 조직의 바깥층과 내강을 비교한 결과 납 (Pb) 과 서로 반비례 관계의 양상을 보였다. 카드뮴 노출 결과 황 (S) 은 급격하게 줄어들었으며, 대신 칼슘 (Ca) 과 아연 (Zn) 이 상대적으로 매우 증가하는 양상을 볼 수 있었다 (Table 1).

고 찰

대부분의 동물들의 경우, 중금속이 체내에 유입되면 외부 이

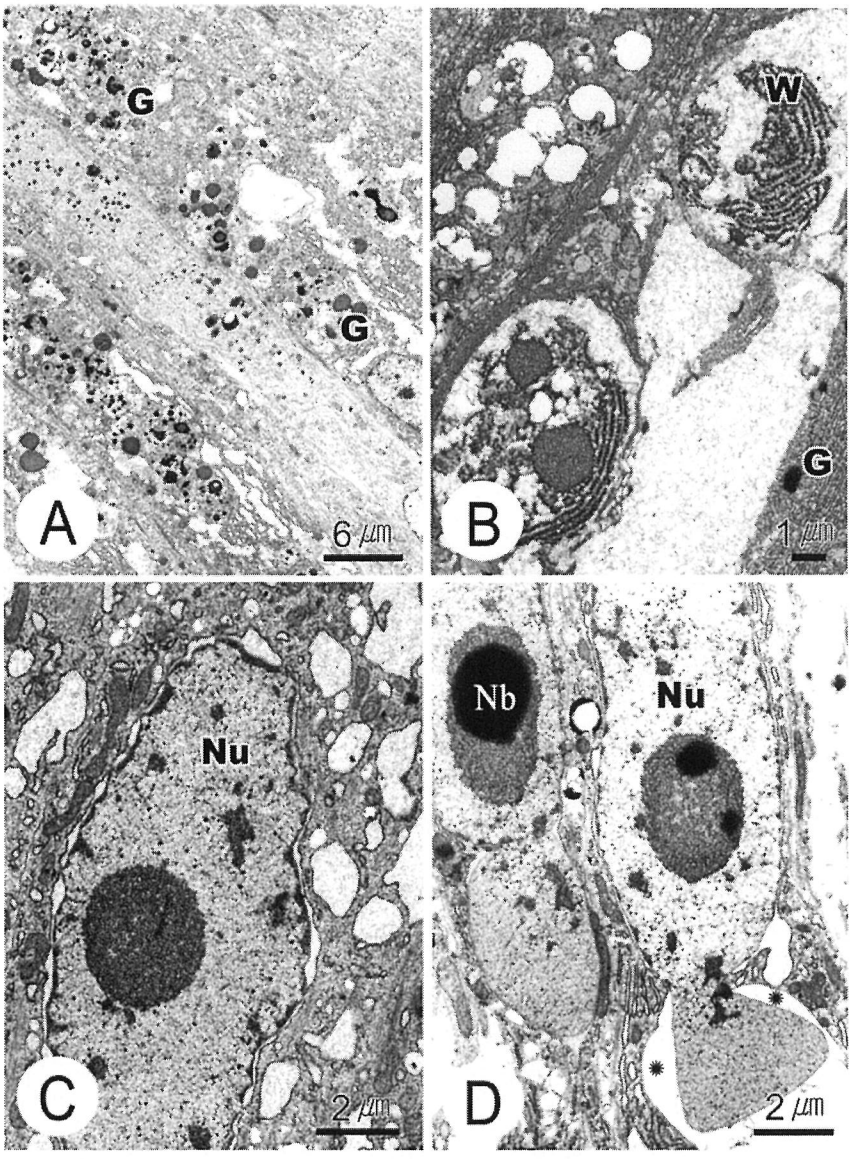

Fig. 3. Transmission electron micrographs of the intestine by the period of exposure to Cadmium (Cd).
A: Cell of intestine exposed to Cd for one day. We can see the dispersed cadmium particles and granules. **B**: A cell from the intestine exposed to Cd for three days. Well developed rER forming a whorl (W) include many mitochondria (M) within it. **C**: A cell from the intestine exposed to Cd for six days. **D**: A cell from the intestine exposed to Cd for 11 days shows nuclear body in nucleus.

Table 1. Percentage variation of each element in the inside and outside of the intestine by time courses (day)

location	element	percentage of element				
		control	1 day	3 days	6 days	11 days
inside (lumen)	S	50.93	13.85	11.43	28.43	24.31
	Ca	4.66	9.61	9.74	10.73	2.61
	Cr	2.21	0.33	0.65	0.00	0.84
	Fe	5.77	0.83	0.87	0.34	0.57
	Cu	11.54	2.42	2.46	2.13	2.40
	Zn	5.96	59.97	68.55	52.35	62.95
	Cd	7.85	1.23	0.00	1.42	1.12
	Pb	11.08	11.76	6.30	4.60	5.20
	Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
outside	S	60.79	15.98	22.18	25.82	17.29
	Ca	5.01	13.95	8.99	7.81	5.88
	Cr	1.89	0.53	0.49	0.52	0.74
	Fe	5.36	0.82	0.58	0.59	1.24
	Cu	7.80	2.12	1.93	2.67	4.03
	Zn	5.56	60.95	56.79	52.40	60.93
	Cd	2.99	2.19	0.88	1.42	2.43
	Pb	10.60	3.46	8.16	8.77	7.46
	Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

물질에 대한 반응으로서 미세구조의 변화가 일어나며, 생리적인 변화도 일어나는 것으로 알려져 있다. 생리적인 변화 중 가장 뚜렷한 변화는 금속 결합 단백질 (metal binding protein)인 metallothionein (MT) 의 증가이다 (Geret and Cosson, 2002; Prasad, 1992). 이러한 MT는 생물학적으로 매우 많은 역할을 수행하는 단백질로서 아직도 그 주 기능에 대해서는 알려져 있지 않다. 하지만, 본 연구에서 주목할 만한 기능은 중금속에 대한 해독 (detoxification) 기능을 지니고 있다는 점이다.

MT는 싸이토카인 (cytokine), 성장인자, 환경스트레스 및 금속이온 등의 인자들에 의해 세포내에서 합성이 유도되어지는 것으로 잘 알려져 있다 (Jayasurya *et al.*, 2000; Kurasaki *et al.*, 2000; Nguyen *et al.*, 2000; Hidalgo and Carrasco, 1998). MT 유전자의 이러한 특성 때문에 최근 환경오염에 대한 생물학적 감시망 구축에 매우 좋은 표적물질로 여겨지고 있으며 (Viarengo *et al.*, 1999), 이를 면역조직화학적연구를 통해 조직에 어떻게 분포하는가를 알아보는 연구들이 많이 수행되고 있다 (Ioachim *et al.*, 2000; Tomita and Matsubara, 2000). 또한 면역세포화학적 방법을 통해 세포수준에서도 그 분포를 알아보고자 하는 연구도 수행되어지고 있다 (Zhou and Kang, 2000). MT가 존재할 때 카드뮴에 노출되면 hydroxyl radical이 증가한다는 보고가 있으며 (O'Brien and Salacinski, 1998), 카드뮴을 포함한 다른 중금속에 노출되면 ROS (reactive oxygen species) 의 수준이 올라가는데 이는 매우 독성이 강하며 이를 중화하는 기작의 일환으로 glutathione, glyoxalase, SOD (superoxide dismutase) 등이 생성되어지는 것으로 알려져 있다 (Matozzo *et al.*, 2001).

최근에는 남극큰띠조개 (*Laternula elliptica*) 를 대상으로 하여 카드뮴에 노출시킨 후 면역조직화학법을 이용하여 조사한 결과 아가미 (gill), 소화선 (digestive gland) 및 신장 (kidney) 에서 MT의 양이 현저히 증가하는 점을 이용하여 생물지표로 사용할 수 있다는 연구가 수행되어진 바 있다 (Lee *et al.*, 2002; Ahn *et al.*, 2001). 본 연구 결과에서 남극삿갓조개의 장상피세포는 전자밀도가 높은 과립들을 많이 포함하고 있었는데 이는 MT의 분포와 상당한 관련이 있는 것으로 생각되어진다. 이러한 과립들은 이전 연구에 따르면 고둥 (winkle), 전복 (abalone), 가리비 (scallop) 등에서도 찾아볼 수 있었다 (Hyne *et al.*, 1992; Nigro *et al.*, 1992; Marigomez *et al.*, 1990). 특히 총알고둥 (*Littorina littorea*) 에서 관찰되어진 과립은 미세구조적으로 살펴볼 때 본 연구에서 관찰되어진 과립들과 농축되어지는 형태가 매우 유사하였다 (Nott *et al.*, 1993).

조직 및 세포에서 중금속이 축적되는 위치를 밝히는 실험은 최근 들어 직접, 간접적으로 많이 수행되어지고 있는데, 본 연구에서 사용되어진 장비인 EDS는 EDX (energy dispersive X-ray) 라고도 불리는 장비로서 일반적으로 SEM (scanning electron microscope) 및 TEM (transmission electron

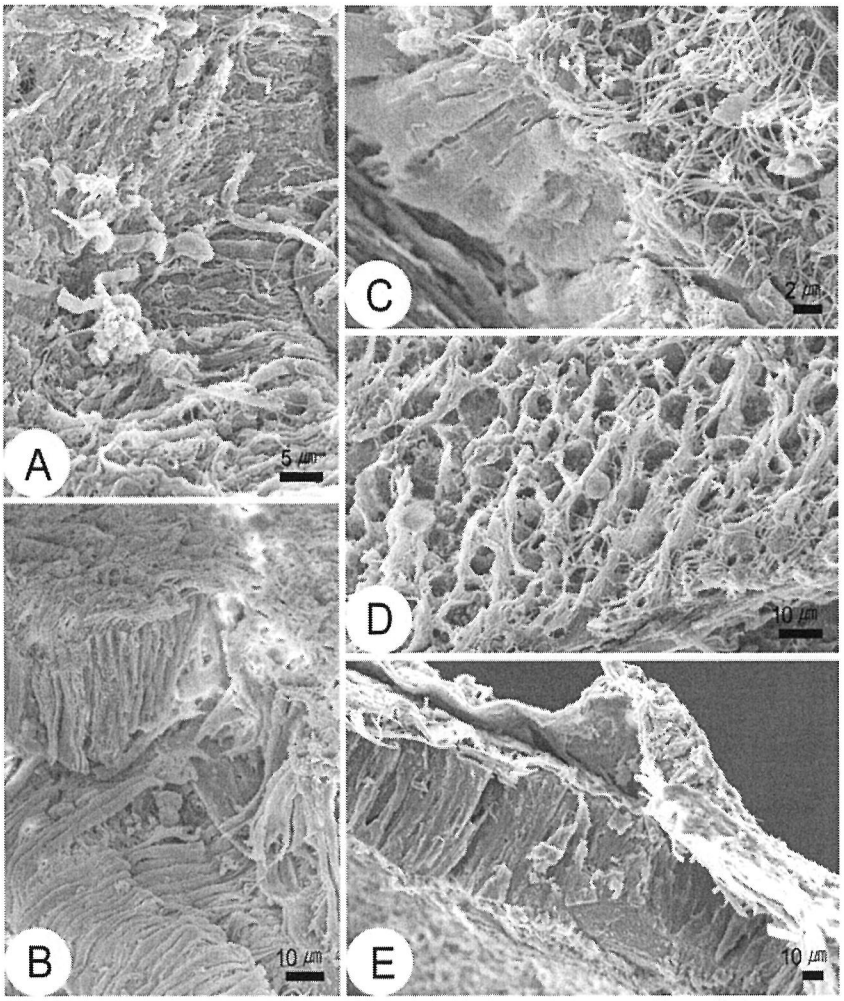

Fig. 4. The scanning electron micrographs of the *Nacella concinna* intestine(A: non treated control) treated for one day (B), three days (C), six days (D), and 11 days (E) with cadmium. Exposure time doesn't matter make difference.

microscope) 에 장착되어 사용되어진다. 또한 조직 또는 세포에서 간접적으로 중금속의 위치를 찾는 방법도 있다. 그중 하나는 이미 언급한 MT의 위치를 파악하여 간접적으로 중금속의 해독기작이 있는 장소를 알아내는 방법이 있으며, 중금속의 유입에 따른 식세포작용 (phagocytosis) 및 유리산소기의 일종인 superoxide 이온을 중화하는 SOD (superoxide dismutase) 증가를 측정하는 방법 등이 이용되고 있다 (Matozzo *et al.*, 2001). 본 연구에서는 직접적인 방법인 SEM-EDS를 사용하여 중금속의 분포를 확인하여 보았다. SEM-EDS를 이용하여 중금속의 분포 양상을 알아보는 방법은 중금속의 절대적인 양을 측정하는 것에는 적합하지 못하지만, 기관의 부위에 따라 중금속의 축적양상을 살펴볼 수 있다는 장점을 살려 좀 더 구체적인 실험 방법을 확립시킨다면 중금속 오염을 모니터링 하기 위한 좋은 도구로 사용될 수 있을 것으로 생각되어진다.

이상과 같이, 본 연구에서는 특수한 생활환경에서 서식하는 남극삿갓조개를 대상으로 하여 카드뮴의 축적에 관한 연구를 수행하였다. 본 연구에서 면역조직화학연구 결과 카드뮴에 의해 유도된 MT의 활성을 확인할 수 있었으며, 카드뮴의 축적현상 및 미세구조의 변화 현상을 투과전자현미경을 통해 확인할 수 있었다. 또한 EDS 분석 결과는 이러한 형태적 변화와 어느 정도 상관성을 지니고 있는 것으로 나타났다.

요 약

본 연구에서는 남극삿갓조개 (*Nacella concinna*) 의 장 (intestine) 의 중금속 농축에 관하여 알아보고자 카드뮴 노출 실험을 실시한 후 중금속에 노출 시 동물체내에서 유도되는 단백질 중의 하나인 metallothionein을 면역조직화학적 방법으로 추적하고 투과전자현미경 (transmission electron microscope) 을 이용하여 세포의 미세구조의 변화를 알아보았다. 더불어 SEM-EDS 장비를 이용한 원소분석을 통해 중금속의 분포를 알아보아 중금속의 축적 및 해독기작에 대한 기초자료를 얻고자 수행되었다. Metallothionein의 분포를 살펴보기 위하여 면역조직화학적 실험이 수행된 바, 중금속이 농축되고 있는 삿갓조개의 장상피세포의 첨단부에 metallothionein이 많이 존재하고 있음을 알 수 있었으며, 미세구조 관찰결과 노출시간이 경과함에 따라 핵막의 팽창, whorl 구조의 출현, 핵내 봉입체를 관찰할 수 있었다. SEM-EDS 관찰결과 카드뮴 노출결과, 황이 급격하게 줄어들었고, 칼슘과 아연이 상대적으로 증가하는 양상을 관찰 할 수 있었다. 이상에서와 같이 Cd 노출의 정도에 따라 비교적 빠른 세포반응을 보이는 남극삿갓조개의 특징은 자연 상태에서 Cd의 노출에 따른 효과적인 생물 지표종으로서 가치가 있는 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구과제는 2002학년도 순천향대학교 학술연구조성비 교내연구과제 및 한국해양연구원 남극기본연구활동지원 사업의 위탁과제 연구비로 수행되었습니다.

REFERENCES

Ahn, I.Y. (1994) Ecology and biology of the Antarctic soft-shelled clam, *Laternula elliptica* (Bivalvia: Laternulidae). *Korean Journal of Malacology* **10**(2): 41-46. [in Korean with English Abstract]

Ahn, I.Y., Kang, J.K. and Kim, K.W. (2001) The effect of body size on metal accumulations in the bivalve *Laternula elliptica*. *Antarctic Science,* **13**: 355-362.

Ahn, I.Y., Kim, K.W. and Choi, H.J. (2002) A baseline study on metal concentrations in the Antarctic limpet *Nacella concinna* (Gastropoda: Patellidae) on King George Island: variations with sex and body parts. *Marine Pollution Bulletin,* **44**: 424-431.

Ahn, I.Y., Lee, S.H., Kim, K.T., Shim, J.H. and Kim, D.Y. (1996) Baseline heavy metal concentrations in the Antarctic clam, *Laterrula elliptica* in Maxwell bay, King George island, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin,* **32**: 592-598.

Brethes, J.C., Ferreyra, G. and Vega, S. (1994) Distribution, growth and reproduction of the limpet *Nacella* (*Patinigera*) *concinna* (Strebel 1908) in relation to potential food availability, in Esperanza Bay (Antarctic Peninsula). *Polar Biology,* **14**: 161-170.

Ensminger, J.T., McCold, L.N. and Webb, J.W. (1999) PROFILE: Environmental impact assessment under the national environmental policy act and the protocol on environmental protection to the Antarctic treaty. *Environmental Management,* **24**: 13-23.

Geret, F. and Cosson, R.P. 2002. Induction of specific isoforms of metallothionein in mussel tissues after exposure to cadmium or mercury. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology,* **42**: 36-42.

Hidalgo, J. and Carrasco, J. (1998) Regulation of the synthesis of brain metallothioneins. *Neurotoxicology,* **19**: 661-666.

Honda, K., Yamamoto, Y. and Tatsukawa, R. (1987) Distribution of heavy metals in Antarctic marine ecosystem. *Proceedings of NIPR Symposium on Polar Biology,* **1**: 184-197.

Hyne, R.Y., Smith, J.D. and Ellender, E. (1992) Tissue and sub-cellular distribution of Fe, Cu, Zn and ^{210}Po in the abalone *Haliotis rubra*. *Marine Biology,* **112**: 75-80.

Ioachim, E.E., Kitsiou, E., Carassavoglou, C., Stefanaki, S. and Agnantis, N.J. (2000) Immunohistochemical localization of metallothionein in endometrial lesions. *Journal of Pathology,* **191**: 269-273.

Jayasurya, A., Bay, B.H., Yap, W.M. and Tan, N.G. (2000) Correlation of metallothionein expression with apoptosis in nasopharyngeal carcinoma. *British Journal of Cancer,* **82**: 1198-1203.

Kurasaki, M., Okabe, M., Saito, S., Yamanoshita, O., Hosokawa, T. and Saito, T. (2000) Histochemical characterization of silver-induced metallothionein in rat kidney. *Journal of Inorganic Biochemistry,* **78**: 275-281.

Lee, Y.S., Ahn, I.Y., Kim, W.J. and Jeong, K.H. (2002) An immunohistochemical and ultrastructural study of the heavy metals accumulated in the kidney of an Antarctic clam, *Laternula elliptica*. *Korean Journal of Malacology,* **18**: 15-21. [in Korean with English Abstract]

Marigomez, J.A., Cajaraville, M.P. and Angulo, E. (1990) Cellular cadmium distribution in the common winkle, *Littorina littorea* (L.) determined by X-ray microprobe analysis and histochemistry. *Histochemistry,* **94**: 191-199.

Matozzo, V., Ballarin, L., Pampanin, D.M. and Marin, M.G. (2001) Effects of copper and cadmium exposure on functional responses of hemocytes in the clam, *Tapes philippinarum*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology,* **41**: 163-170.

Moreno, J.E.A., Gerpe, M.S., Moreno, V.J. and Vodopivez, C. (1997) Heavy metals in Antarctic organisms. *Polar Biology*, **17**: 131-140.

Najle, R., Elissondo, M., Gentile, S., Gentile, M.,

Vacarezza, G. and Solana, H. (2000) Histopathology of the digestive gland of an Antarctic limpet exposed to cadmium. *Science of the Total Environment*, **247**: 263-268.

Nguyen, A., Jing, Z., Mahoney, P.S., Davis, R., Sikka, S.C., Agrawal, K.C. and Abdel-Mageed, A.B. (2000) *In vivo* gene expression profile analysis of metallothionein in renal cell carcinoma. *Cancer Letter,* **160**: 133-140.

Nigro, M., Orlando, E. and Regoli, F. (1992) Ultrastructural localization of metal binding sites in the kidney of the Antarctic scallop *Adamussium colbecki. Marine Biology,* **113**: 637-643.

Nott, J.A., Beblanno, M.J., Langston, W.J. and Ryan, K.P. (1993) Cadmium in the gastropod *Littorina littorea. Journal of Marine Biology Assessment, U.K.* **73**: 655-665.

O'Brien, P. and Salacinski, H.J. (1998) Evidence that the reactions of cadmium in the presence of metallothionein can produce hydroxyl radicals. *Archives of Toxicology*, **72**: 690-700.

O'Connor, T.P., Cantillo, A.Y. and Lauenstein, G.G. (1994) Monitoring of Temporal trends in chemical contamination by the NOAA National Status and Trends Mussel Watch Project. *In*: Biomonitoring of Costal Waters and Estuaries. (ed. by Kramer K.J.M.) pp. 29-50. CRC Press, Boca Raton

Prasad, A.S. (1992) Role of metallothionein in human health. J*ournal of Laboratory and Clinical Medicine*, **120**: 357-358.

Tomita, T. and Matsubara, O. (2000) Immunocytochemical localization of metallothionein in human pancreatic islets. *Pancreas,* **20**: 21-24.

Viarengo, A., Burlando, B., Dondero, F., Marro, A. and Fabbri, R. (1999) Metallothionein as a tool in biomonitoring programes. *Biomarkers,* **4**: 455-466.

Zhou, Z. and Kang, Y.J. (2000) Immunocytochemical localization of metallothionein and its relation to doxorubicin toxicity in transgenic mouse heart. *American Journal of Pathology*, **156**: 1653-1662.