J. Korean Fish. Soc. 34(6), 632~637 한수지, 34(6), 632~637, 2001

우렁쉥이 껍질성분 및 색소를 이용한 양식소재 개발*
2. 우렁쉥이 껍질 중 부분정제한 황산다당의 화학적 특성

홍병일+ · 정병천* · 정우진 · 육지희 · 최병대** · 이강호*
천안외국어대학 식품유통과, *부경대학교 식품공학과, **경상대학교 해양생물이용학부/해양산업연구소

Utilization of Pigments and Tunic Components of Ascidian as an Improved Feed Aids for Aquaculture
2. Chemical Properties of Sulfated Polysaccharides in Ascidian (*Halocynthia roretzi*) Tunic

Byeong-Il HONG+, Byung-Chun JUNG*, Woo-Jin JUNG, Ji-Hee RUCK, Byeong-Dae CHOI and Kang-Ho LEE***

Department of Food Marketing, Chonan College of Foreign Studies, Chonan 330-180, Korea
**Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea*
***Division of Marine Bioscience/Institute of Marine Industry, Gyeongsang Natinoal University, Tongyeong 650-160, Korea*

Components of polysaccharides isolated from ascidian tunic were measuerd by gel filtration, electrophoresis and chemical analyses. The sulfated polysaccharides consisted in sulfate, protein, uronic acid and amino sugars. Hexosamines were composed of arabinose, xylose, glucose, galactose, glucuronic acid, N-acetylgalactosamine and N-acetylglucosamine by gas chromatography analysis. The galactose was predominant hexose after autoclave and nutrase digestion followed by DEAE-cellulose ion exchange chromatography and gel-permeation chromatography on Sephadex G-100 and G-25. FT-IR spectra of isolated polysaccharides from ascidian tunic and standard chondroitin sulfates have similar functional groups of the type of vibration and frequency. Molecular weight of isolated polysaccharides by autoclave represented more than 40 kDa by polyacrylamide gel electrophoresis. But the neutrase treatment group divided into three band. The highest molecular band group was shown more than 100 kDa, and the two low molecular band group were shown about 22 kDa and 5 kDa, respectively, compare to standard materials.

Key words: Ascidian tunic, Sulfated polysaccharides, Chemical properties, Ascidian, Tunic

서 론

황산다당은 자연계에 널리 분포하고 있으며 그 형태도 매우 다양한 것으로 알려져 있다. 특히 해조류에는 carrageenan이나 fucoidan의 형태로 존재하여 galactose나 fucose가 황산이온을 함유하는 구조로 되어 있다 (Larsen et al., 1970). 척추동물에 있어서는 눈의 초자체나 관절을 구성하는 성분으로 serine이나 threonine과 같은 아미노산과 glucose, galactose 등이 결합된 구조를 가지며 sulfated glycosaminoglycans 형태로 존재한다. Nakazawa et al. (1974)은 해조 열수 추출물에서 항종양활성 황산다당 성분을 찾아내었고, Li and Lian (1988)은 해삼 (*Stichopus japonicus*)에서 혈소판 응집에 주요인이 되는 산성 점액성 다당류 (acidic mucopolysaccharide)를 추출하였으며, Okutani (1977)는 오징어 갑골에서 당단백질을 분리하여 sarcoma-180에 대한 항암활성을 조사하여 항암성을 밝혔다. 그 외 황산다당은 항혈액응고, 항돌연변이 효과, 연골세포와 활막세포 (synoviocyte)의 신진대사 자극효과 등 여러 가지 생리활성을 나타내므로 해양생물로부터 황산다당을 검색하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.

최근의 당질공학 연구분야는 N-연결형 당쇄를 흉내낸 N-당쇄 펩타이드의 화학합성과 N-연결형 당쇄의 생합성이나 세포간의 인식접착을 방해하는 올리고 당쇄를 화학적으로 만들어 의약으로서 가능성을 타진하는 연구, 류마티스나 자가면역에서 IgG의 galactose가 제거된 (agalactosylated) 형태는 결합 렉틴과의 결합을 유도하여 병을 계속 진행시키므로 이를 억제하기 위한 연구 등 당쇄의 생리활성에 관한 연구로 그 범위를 넓혀가고 있다 (Helenius and Aebi, 2001; Rudd et al., 2001).

우렁쉥이 (*Halocynthia roretzi*)의 껍질은 자신을 외부로부터 보호한다는 점에서 패류의 패각 기능과 유사하다고 할 수 있으나, 패각과는 다소 차이가 있다. 우렁쉥이 껍질에는 혈관이 분포되어 있고 혈관이 없는 종 (種)이라도 껍질을 통해 혈액이 이동하게 되며, 또한 살아 있는 세포가 존재하여 외부의 자극에 대해 반응이나 껍질의 성장 등에 관여하고 있다 (中内, 1977). Pavao et al. (1989)에 의하면 많은 종류의 멍게류 외피 내에 여러 종류의 황산다당이 존재하며 종에 따라 그 함량 및 화학적 특성에 차이가 난다고 하여 멍게류를 이용한 황산다당 연구에 관심을 갖게 되었다.

따라서 본 연구에서는 최근 그 효용성이 증가하고 있는 황산다

+Corresponding author: hbi9301@chollian.net
본 논문은 1995년도 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업 (현장애로) 지원에 의한 연구결과의 일부임.

당의 고도이용의 일환으로 전보 (Lee et al., 1998a)에 이어 우렁쉥이 껍질에서 분리한 황산다당의 화학적 특징을 밝혀 그 응용 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 우렁쉥이 껍질과 황산다당은 전보 (Lee et al., 1998a)와 같은 방법으로 처리하여 분리하였다.

황산기, 황산콘드로이틴, Uronic acid 및 조성당 분석

황산기의 함량은 Dodgson and Price (1962)의 방법에 따라 측정하였고, 콘드로이틴의 함량은 비색정량법 (Yabe et al., 1987)으로 측정하였고, uronic acid 함량은 Knutson and Jeanes (1968)의 방법에 따라 분석하였고, 조성당의 분석은 Chaplin (1982)의 방법에 따라 전보 (Lee et al., 1998b)와 같이 분석하였다.

전기영동 및 FT-IR 분석

황산다당의 전기영동은 Albano and Paulo (1983)의 방법을 토대로 하여 polyacrylamide gel 전기영동을 행하였다. 즉 약 100 μg의 시료를 6~10%의 polyacrylamide gel 농도로 하여 900 mM Tris/900 mM boric acid/24 mM EDTA (pH 8.3) buffer 로 100 V, 약 30분 정도 영동시켰다. 영동 후 0.1% alcian blue 8GX/acetic acid로 염색후 1% actic acid로 탈색하였으며, 사용된 표준품은 dextran sulfate (M.W.: 500,000과 10,000), chondroitin A (M.W.: 47,000) chondroitin B (M.W.: 20,000)이었다. Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FT-IR: Bruker사, IFS66)은 시료의 황산기 결합 위치 및 주요 반응기의 특성을 조사하기 위하여, KBr pellet 형태로 시료를 조제하여 분석하였다.

결과 및 고찰

황산다당류의 부분정제 및 화학성분

Autoclave와 neutrase로 처리하여 추출한 황산다당은 구성하는 조성당 (Table 1)이나 FT-IR spectrum (Fig. 1) 결과가 유사하고, 특히 autoclave 처리는 대량처리가 가능하며, 처리시간이 짧은 장점 때문에 이후의 시료는 autoclave 처리한 시료를 정제하였다. Autoclave 처리에 의해 얻어진 조다당을 DEAE-cellulose ion exchange chromatography로 분획한 결과는 Fig. 2와 같다. 0~1.5 M로 NaCl의 농도를 직선적으로 구배시켜 470 nm에서 전당을, 280 nm에서 단백질 존재획분을 측정하였는데, 전당 측정에서 당이 존재하는 획분만을 모았다. 전당획분을 모아 투석 및 알코올침전을 통해 조다당을 침전시킨 다음, 동결건조를 하였다. 한편, DEAE-cellulose 이온 교환 처리로 얻어진 전당획분 (F_4)을 Sephadex G-100으로 gel filtration하여 여기서 얻어진 전당획분 (F_2)을 다시 Sephadex G-25로 gel 여과하여 부분정제한 시료를 얻었다 (Fig. 2). Sephadex G-100 gel 여과에서 두 개의 전당획분을 얻어, 이를 F_1, F_2로 하

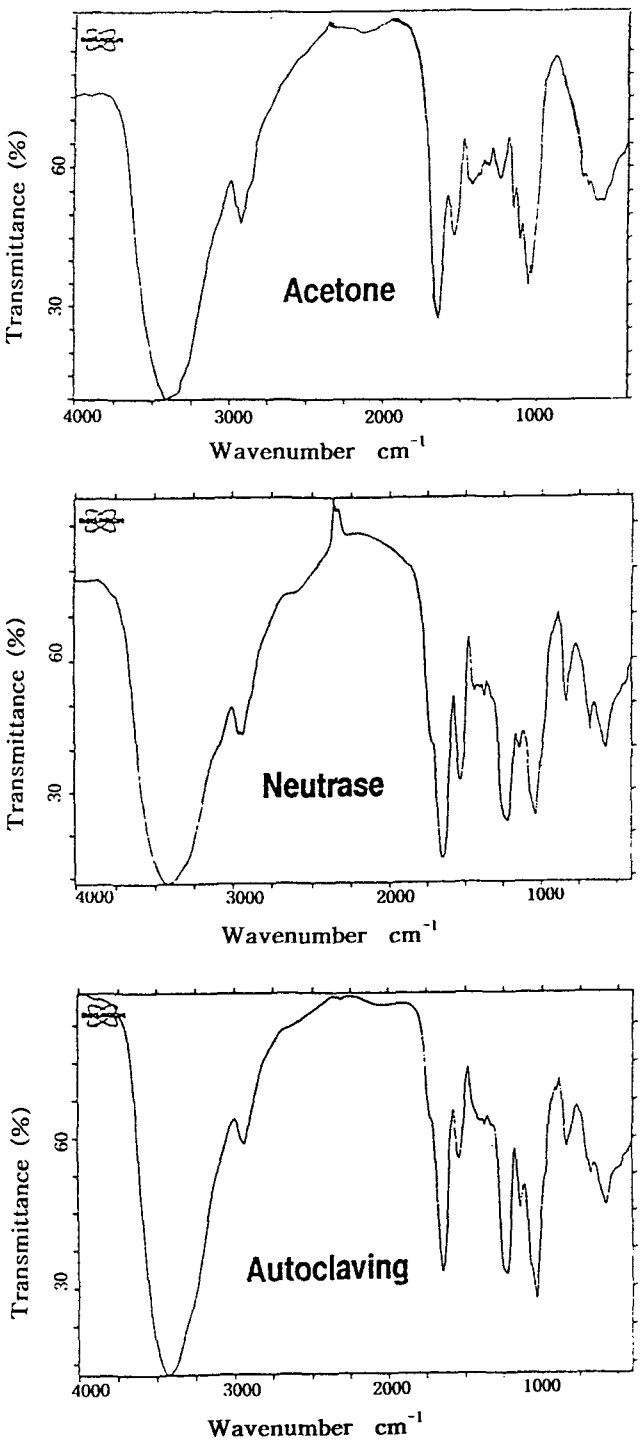

Fig. 1. FT-IR spectrums of acetone treated, neutrase digestibles and water soluble polysaccharides obtained by autoclaving from ascidian tunics.

였는데 이들의 수율은 각각 11.4%와 20.0%였다. Sephadex G-100의 F_2 획분을 다시 Sephadex G-25로 gel 여과한 결과 두 개의 전당 획분을 얻었으나, 1개의 획분은 당의 존재 반응이 약하여 반응이 큰 획분만을 모아서 알코올침전, 동결건조 하였다. Neutrase

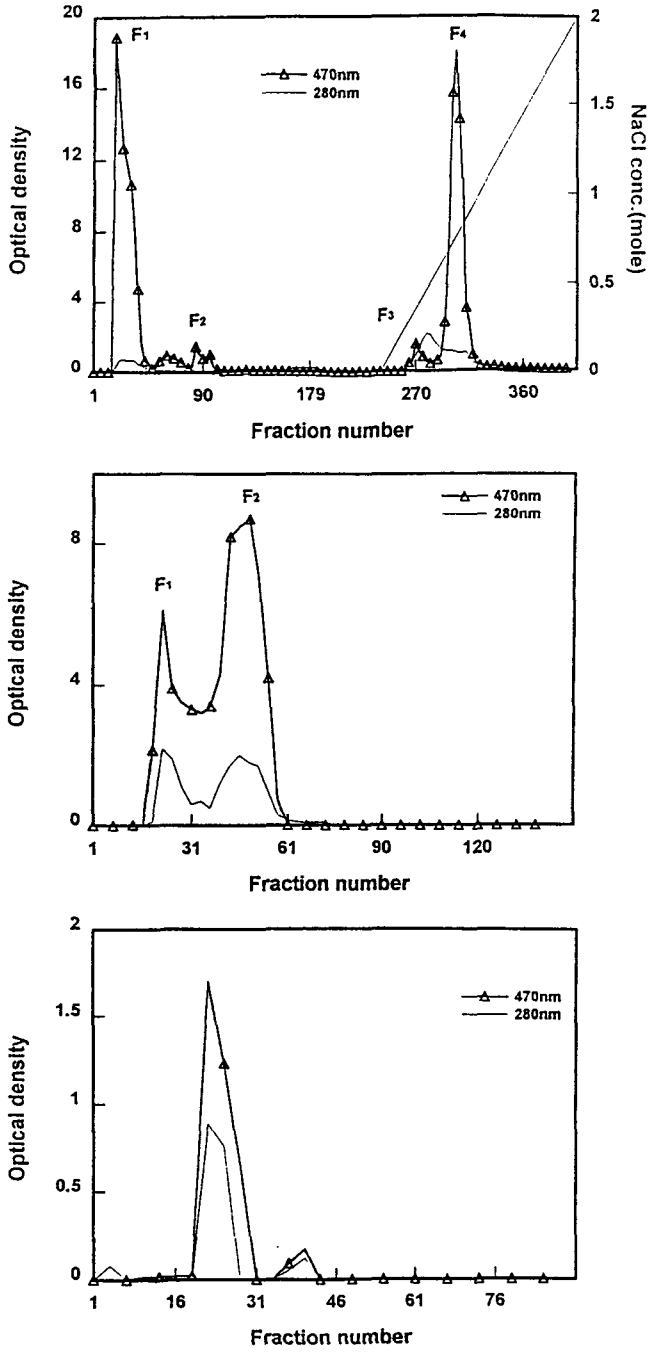

Fig. 2. Chromatograms of sugar positive fraction obtained by gel filtration with Sephadex G-100 and Sephadex G-100-25 after DEAE-Cellulose ion exchange chromatography from water solubles obtained by autoclaving from ascidian tunics.

와 autoclave의 처리에 의해 추출된 조다당과 부분정제한 황산다당의 화학성분 중 황산기, 황산콘드로이틴, uronic acid 및 GLC 분석에 의한 조성당의 함량은 Table 1과 같다. 황산기의 함량은 autoclave 처리구가 2.3%, neutrase 처리구가 3.1%였고, 이온교환 처리한 것이 2.7%, Sephadex G-25로 겔여과 한 것이 2.1% 정도

Table 1. Contents of sulfate, uronic acid, protein and chondroitin sulfate[1] in ascidian tunics, and sugar composition of partially purified sulfated polysaccharides

Items	Auto[2]	Neut[3]	DEAE[4]	Seph[5]
Sulfates (%)	2.3	3.1	2.7	2.1
Uronic acid (%)	5.6	7.8	6.1	3.9
Protein (%)	17.9	19.4	11.2	9.3
Chondroitin sulfate (%)	25.7	23.4	26.7	21.5
Sugar composition in monosaccharides (%)[6]				
Arbinose	0.7	1.2	0.7	–
Xylose	0.4	0.7	0.2	–
Glucose	1.5	1.7	2.1	–
Galactose	62.3	57.8	63.1	71.4
D-glucuronic acid	10.8	17.4	9.8	6.3
N-acetylglucosamine	9.4	5.1	7.6	7.8
N-acetylgalactosamine	14.8	15.8	16.4	14.5

[1] Alcian blue method.
[2] Water solubles prepared at 125℃, 6 hrs (100 g of sample in 1.5 L of water).
[3] Neutrase digestibles from ascidian tunics.
[4] Chromatographied with the DEAE-Cellulose column of water solubles by autoclaving (F_4).
[5] Autoclave+DEAE-Cellulose ion chromatography (F_4)+Sephadex G-100 (F_2)+Sephadex G-25.
[6] Calculated from GC analysis, considering to total amounts under the seven monosaccharides as 100%.

였는데, Albano and Paulo (1983)는 몇몇 미색류 껍질에서 추출한 황산기 함량은 0.75~1.39 mol (sulfate mol/total sugar)였다고 보고하였고, Anno et al. (1974)은 우렁쉥이 껍질의 황산기 함량은 26.5%로 보고하고 있어, 본 실험 결과와는 많은 차이를 보이고 있다. 한편 해조류의 sulfate 다당인 fucoidan의 경우 열수추출한 다시마의 황산기 함량은 53.0%, 톳은 30.0%이라 하였고 (Nishino et al., 1991), 산성조건으로 추출한 톳은 22.7%, 모자반이 17.0%라 하였고 (Nishino and Nagumo, 1987), 국내산 세 종류 해삼은 0.9~1.2%였다고 보고되고 있어 (Ryu et al., 1997), 국내산 우렁쉥이의 껍질의 sulfate 함량은 다시마 등의 해조류 보다는 적은 반면, 극피동물인 해삼보다는 많은 것으로 나타났다. Carbazole assay에 의한 uronic acid의 함량은 autoclave와 neutrase 처리구에서 각각 5.6%와 7.8% 정도 검출되었고, 이온교환 및 겔여과한 시료는 6.1%와 3.9%이었는데, Albano and Paulo (1983)는 몇몇 미색류의 실험에서 uronic acid의 함량은 0.01% 이하였다고 하였고, Anno et al. (1974)은 0.7% 이하였다고 하였다. 황산콘드로이틴의 함량은, 조다당의 경우 20% 이상을 나타내었고, 이온교환한 시료와 gel 여과한 시료는 각각 26.7% 및 21.5% 정도 검출되었으며, 단백질의 경우는 정제한 후 감소하였다. 한편, GLC에 의한 황산다당의 조성당은 5탄당인 arabinose와 xylose가 소량 검출되었고 (0.2~1.2%), 6탄당으로는 glucose와 galactose가 검출되었는데, glucose는 arabinose와 xylose보다는 다소 많았으나, 2.1% 이하였다. 한편, galactose 함량은 전시료에서 특이적으로 50% 이상 검출되었는데 autoclave 처리구는 62.3%를, neutrase 처리구는 57.8%

를 차지하였다. 또한, hexosamine으로는 N-acetylglucosamine 및 N-acetylgalactosamine이 검출되었는데, 전반적으로 N-acetylgalactosamine 함량이 15% 내외로 많았고, N-acetylglucosamine은 autoclave 처리구에서 9.4%, neutrase 처리구에서 5.1%가 검출되었으며, uronic acid로는 D-glucuronic acid가 10% 이상 검출되었다. 이와 관련하여 Anno et al. (1974)은 우렁쉥이 껍질에는 glucosamine 함량이 39.5%이었고 galactosamine은 5.7% 함유한다고 보고한 반면, Rodolpho and Paulo (1986)는 흰멍게 (*Styela plicata*) 껍질에서 분리한 황산다당은 세 개의 획분으로 구분되었다고 하였다. 즉, 하나의 고분자 획분과 두 개의 저분자 획분인데, 고분자 획분의 경우는 조성당 분석에서 특이적으로 galactose 함량이 85% 정도로 대다수를 차지하였고, 두개의 저분자 획분에는 galactose와 glucose가 20~57% 정도이었고, hexosamine이 23%와 40%였고 그 중 glucosamine이 약 85%였다고 보고하였다. 이상에서 본 실험결과는 흰멍게의 고분자획분과 유사하게 특이적으로 galactose의 함량이 많았다. 한편, DEAE-cellulose ion exchange chromatography한 활성획분의 조성당은 정제 전과 유사하게 5탄당으로 arabinose와 xylose가 소량 검출되었으며 6탄당으로 glucose와 galactose가 검출되었는데, 정제 전과 마찬가지로 galactose의 함량이 63.1%로 월등히 많았으며, hexosamine 중에는 N-acetylgalactosamine 함량이 16.4%로 많았고, uronic acid로는 D-glucuronic acid가 9.8% 정도 검출되었다. 한편, 이온 교환처리한 시료를 Sephadex G-100으로 처리하여 당의 함량이 많은 F_2 획분을 다시 Sephadex G-25로 gel 여과한 시료의 조성당은 arabinose, xylose 및 glucose는 흔적량 정도였으나, galactose는 71.4%로 대부분을 차지하였고, N-acetylgalactosamine 함량이 14.5% 정도였으며, D-glucuronic acid가 6.3% 정도 검출되었다.

황산다당의 FT-IR 분석 및 전기영동 패턴

탈색한 우렁쉥이 분말 (acetone처리)과 autoclave와 neutrase 처리구의 FT-IR 분석 결과는 Fig. 1과 같다. 세 시료 모두 일반적인 다당류가 갖는 peak가 나타났는데, 즉 3,400 cm^{-1} 부근의 O−H 신축 진동, 2,900 cm^{-1} 부근의 C−H 신축 진동, 1,650 cm^{-1} 부근 C=O 등이다. 그러나, 탈색한 우렁쉥이 분말은 autoclave와 neutrase 처리구에서 나타난 820 cm^{-1} 부근의 C−O−S 신축진동은 보이지 않았고, 1,250~1,000 cm^{-1} 부근의 몇몇 peak가 나타나 차이를 보였다. 이것으로 autoclave와 neutrase로 추출한 다당류에는 황산기가 존재하고 있음을 확인할 수 있었다. 한편, DEAE-cellulose ion exchange chromatography와 Sephadex G-100과 G-25로 부분정제한 FT-IR spetrum과 표준품 chondroitin sulfate A와 B의 FT-IR spetrum은 Fig. 3에 나타내었다. 황산기 중 S=O의 신축진동은 1,240 cm^{-1}에서, C−O−S 신축진동의 경우 axial 향배는 850 cm^{-1} 부근에서, equatorial 향배는 820 cm^{-1} 부근에서 나타나는데 (Fujihara et al., 1984), 황산기가 galactose의 C_2와 C_3의 위치에 결합한다면 equatorial 향배로, C_4 위치의 경우에는 axial 향배로 결합된다. 따라서 부분정제한 다당류의 황산기는 galactose를 기본 구조로 하여 C_3 위치에 결합되어 있다고 생각할 수 있다. 이와 관련하여, Pavao et al. (1989)은 몇 종의 미색류 (*S. plicata, Clavlina* sp.,

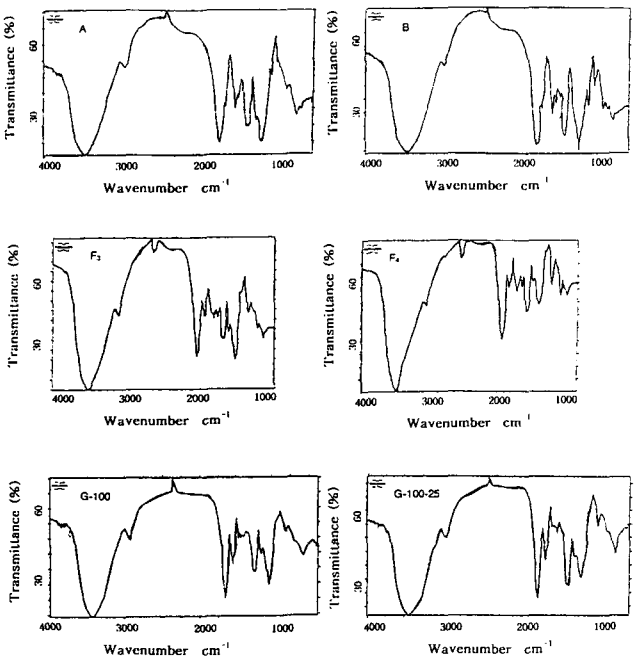

Fig. 3. FT-IR spectra of standard chondroitin sulfate A, B and sugar positive fraction obtained by gel filtration with Sephadex G-100 and Sephadex G-100-25 after DEAE-Cellulose ion exchange chromatography (activity fractions; F_3, F_4) from water soluble polysaccharides obtained by autoclaving from ascidian tunics.

및 *A. nigra*) 껍질에서 황산다당을 분리하여 구조분석을 하였는데, 주요 화합물은 galactose를 기본 구조로하며 제 3번 탄소 (C_3)에 황산기 (SO_3^-)가 결합된 형태로 계속해서 1→4 결합으로 연결된 즉, α-L-galactopyranose residues라고 하였고, 일부 화합물은 C_4 위치에 황산기가 결합되어 있다고 하였다. 또한 Anno et al. (1974)은 우렁쉥이의 황산다당은 chitin과 구조가 같으나 6번 탄소 (C_6)에 황산기가 결합된 형태의 다당류 즉, (1→4)-2-acetamido-2-deoxy-6-*O*-sulfo-β-D-glucopyranan이 주된 구조라고 보고하였다. 한편 표준품인 chondroitin sulfate A 및 C의 spectrum과 비교할 때 주요 반응기에서 유사한 IR 패턴을 나타내고 있으며, chodroitin sulfate A와 더욱 유사한 패턴을 보여주고 있다. 이상에서 부분정제된 황산다당은 황산기를 함유하였으며, 그 밖에 3,400 cm^{-1} 부근의 O−H 신축진동, 2,900 cm^{-1} 부근의 C−H 신축진동, 1,650 cm^{-1} 부근의 C=O 결합의 신축진동 등을 관찰할 수 있었다. Autoclave 처리에 의해 추출된 조다당의 전기영동 패턴 (Fig. 4)은 폭넓은 단일 band를 나타내었으나, neutrase 처리구는 세 개의 band로 구분 되었다. 표준품으로 사용된 dextran sulfate (평균 분자량: 10,000), dermatan sulfate (평균 분자량: 19,000), chondroitin 6-sulfate (평균 분자량: 40,000), dextran sulfate (평균 분자량: 500,000)와 비교해 볼 때 autocalve 처리구의 분자량은 약 40,000 정도로 추정되었으며, neutrase 처리구의 경우 고분자 band는 100,000 이상, 두 개의 저분자 band 중 하나는 약 22,000 정도, 또 하나의 band는 약 5,000 정도인 것으로 추정되었다. 부분정제한 시료의 전기영동상 패턴은 Fig. 4와 같다. Autoclave 처리한 다당류를 DEAE-cellulose ion

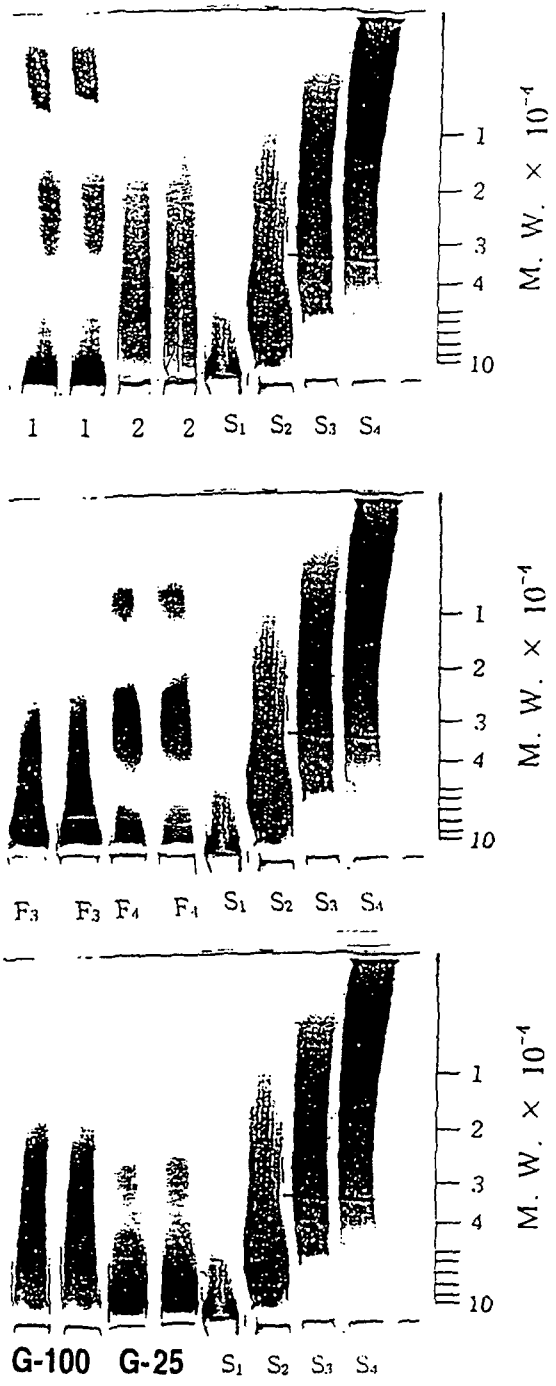

Fig. 4. Polyacrylamide gel eletrophoretograms of neutrase digestibles and of sugar positive fraction obtained by gel filtration Sephadex G-100 and Sephadex G-100-25 after DEAE-Cellulose ion exchange chromatography (activity fractions; F_3, F_4) from water soluble polysaccharides obtained by autoclaving from ascidian tunics. 1, neutrase digestibles; 2, water soluble obtained by autoclaving. The molecular weight (M.W.) makers used dextran sulfate (S_1, M.W.=500,000), chondroitin 6-sulfate (S_2, M.W.=40,000), dermatan sulfate (S_3, M.W.=19,000), dextran sulfate (S_4, M.W.=10,000).

exchange chromatography하여 얻은 두 개의 전당획분 (F_3, F_4)의 전기영동패턴 (Fig. 4)에서 F_3은 40,000 정도의 단일 band를 나타내고 있으나, F_4는 세 개의 band로 구분되었는데, 이것은 정제하기 전의 neutrase 처리구의 양상과 유사하였다. 한편, Sephadex G-100과 G-100-25의 전기영동 패턴 (Fig. 4)은 거의 유사하게 단일 band의 양상이나 G-25 처리구가 다소 좁은 band를 나타내었다. 이와 관련하여 환멍게 껍질을 효소로 추출하여 분리한 다당류의 경우 (Paulo and Arthur, 1987) 100,000 이상의 고분자 band와 20,000과 8,000에 해당하는 두 개의 band로 구분된다는 결과와 Anno et al. (1974)이 우렁쉥이 껍질에서 추출한 다당류에서 세 개의 주요 band를 나타내었다는 보고로 볼 때, 본 실험의 효소 추출다당과 거의 유사한 결과를 나타내었다.

요 약

우렁쉥이 껍질에서 분리한 황산다당을 부분정제하여 몇가지 화학조성과 전기영동을 하였다. 추출된 황산다당의 화학적 조성은 sulfate, uronic acid, protein, chondroitin sulfate, amino sugar, hexosamine 등으로 이루어져 있었다. 전기영동결과 autoclave 처리에 의해 추출된 조다당류는 폭넓은 단일 band를 나타내었으나, neutrase 처리구는 세 개의 band로 구분되었다. Autocalve 처리구의 분자량은 약 40,000 정도로 추정되며, neutrase 처리구의 경우 고분자 band는 100,000 이상, 두 개의 저분자 band 중 하나는 약 22,000 정도, 또 하나의 band는 약 5,000 정도인 것으로 추정되었다. 이온교환수지 및 겔 여과하여 얻은 전당획분의 화학적 조성은 부분정제 전과 거의 유사하였다. Sephadex G-25로 gel 여과한 시료의 조성당은 arabinose, xylose 및 glucose는 흔적량 정도이었으나 galactose는 71.4%로 대부분을 차지하였고, N-acetylgalactosamine 함량이 14.5% 정도이었고, D-glucuronic acid가 6.3% 정도 검출되었다. Sephadex G-100과 G-100-25로 정제한 당의 전기영동 패턴은 거의 유사하게 단일 band의 양상이나 G-25 처리구가 다소 좁은 band를 나타내었다. 부분정제한 황산다당과 표준품인 chondroitin sulfates의 FT-IR spectrometer 분석 결과, 거의 유사한 결과를 나타내었다. 황산기나 에스테르 등 몇몇 중요한 원자단의 신축 진동수가 IR spectrum의 지문영역 (1,500~700 cm^{-1})에서 나타났다. 황산기 중의 S=O 신축진동이 1,240 cm^{-1}에서, C-O-S 신축진동의 경우 수평향배는 820 cm^{-1}에서 나타났다.

참 고 문 헌

Albano, R.M. and A.S.M. Paulo. 1983. Presence of sulfated glycans in ascidian tunic and the body wall of a sea cucumber. Biochim. Biophys. Acta., 760, 192~196.

Anno, K., O. Kimiko and N. Seno. 1974. A chitin sulfate-like polysaccharide from the test of the tunicate *Halocynthia roretzi*. Biochim. Biophys. Acta., 362, 215~219.

Chaplin, M.F. 1982. A rapid and sensitive method for the analysis of carbohydrate components in glycoproteins using gas-liquid chromatography. Anal. Biochem., 123, 336~341.

Dodgson, K.S. and R.G. Price. 1962. A note on the determination of the ester sulphated content of sulphated polysaccharides. Biochem. J., 84, 106~110.

Helenius, A. and M. Aebi. 2001. Interacellular functions of N-linked glycans. Science, 291, 2364~2369.

Knutson, C.A. and A. Jeanes. 1968. A new modification of the carbazole analysis. Anal. Biochem., 24, 470~475.

Fujihara, M., N. Iizima, I. Yamamoto and T, Nagumo. 1984. Purification and chemical and physical characterization of an antitumor polysaccharide from the brown seaweed, *Sargassum fulvellum*. Carbohydrate Res., 125, 97~102.

Larsen, B., A. Haug and T. Painter. 1970. Sulphated polysaccharides in brown algae 3. The native state of fucoidan in *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. Acta, Chemia. Scaninavica, 24, 3339~3342.

Lee, K.H., B.I. Hong, B.D. Choi, S.J. Kang, J.H. Ruck and B.C. Jung. 1998a. Utilization of pigments and tunic components of ascidian as an improved feed aids for aquaculture. 1. Effective extraction methods of crude polysaccharides in ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic. J. Korean Fish. Soc., 31, 423~428 (in Korean).

Lee, K.H., B.D. Choi, B.I. Hong, B.C. Jung, J.H. Ruck and W.J. Jung. 1998b. Functional properties of sulfated polysaccharides in ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic. J. Korean Fish. Soc., 31, 447~451 (in Korean).

Li, J-Z. and E. C-Y. Lian. 1988. Aggregation of human platelets by acidic mucopolysaccharide extracted from *Stichopus japonicus* Selenka. Thrombosis and Haemostasis, 59, p. 4350.

Nakazawa, Y., H. Kuroda, F. Abe, T. Nishino, M. Otsuki and I. Umezaki. 1974. Antitumor effect of water-extracts from marine algae (I). Chemotherapy, 22, p. 1435.

Nishino, T. and T. Nagumo. 1987. Sugar constituents and blood-anti coagulant activities of fucose-containing sulfated polysaccharides in nine brown seaweed species. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 61, 361~367.

Nishino, T., Y. Aizu and T. Nagumo. 1991. The realtion between the molecular weight and the anticoagulant activity of fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. Agric. Biol. Chem., 55, 791~796.

Okutani, K. 1977. A viscous antitumor substance obtained from a marine bacterium No. 9~12. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 43, 323~328 (in Japanese).

Paulo, A.S.M. and S.P. Arthur. 1987. Structural features of sulfated glycans from the tunic of *Styela plicata* (Chordata-Tunicata). Eur. J. Biochem., 100, 431~436.

Pavao, M.S.G., R.M. Albano, A.M. Lawson and P.A.S. Mourao. 1989. Structural heterogeneity among unique sulfated L-galactans from different species of ascidians (Tunicates). J. Biol. Chem., 264, 9972~9979.

Rodolpho, M.A. and A.S.M. Paulo. 1986. Isolation, fractionation, and preliminary characterization of a novel class of sulfated glycans from the tunic of *Styila plicata* (Chordata Tunicata). J. Biol. Chem., 261, 2, 758~765.

Rudd, P.M., T. Elliott, P. Cresswell, I.A. Wilson and R.A. Dwek. 2001. Glycosylation and the immune system. Science, 291, 2370~2376.

Ryu, H.S., J.H. Moon and J.S. Suh. 1997. Chemical compositions of glycoprotein and chondroitin sulfates from sea cucumber (*Stichopus japonicus*). J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr., 26, 72~80 (in Korean).

Yabe, Y., T.H. Ninomiya, T. Kashiwaba, Tatsuno and T. Okada. 1987. Determination of sodium chondroitin sulfate added in foods. J. Food Hygiene, 28, 13~18 (in Japanese).

中内光昭. 1977. ホヤの生物學, 東京大學出版會, 東京. pp. 6~51.

2001년 8월 7일 접수
2001년 11월 17일 수리