

항균성 펩타이드인 Mastoparan B의 살조효과

서정길, 김찬희, 배윤정, 문호성, 김근용* · 박희연** · 윤호동** · 김창훈* ·
변대석 · 홍용기 · 박남규†

부경대학교 식품생명공학부, *부경대학교 양식학과, **국립수산과학원 생명공학연구원

The Algicidal Effect of Antimicrobial Peptide, Mastoparan B

Jung-Kil Seo, Chan-Hee Kim, Yun Jung Bae, Ho Sung Moon, Keun-Yong Kim*,
Hee Yun Park**, Ho Dong Yoon**, Chang Hoon Kim*, Dae-Seok Byun,
Yong-Ki Hong and Nam Gyu Park†

Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

*Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

†Biotechnology Research Center, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-900, Korea

Mastoparan B (MPB), an antimicrobial cationic peptide isolated from the venom of the hornet *Vespa basalis*, is a basic amphipathic α -helical peptide composed of fourteen amino acid residues. In this study, we have investigated the algicidal effect of MPB against harmful algae blooms (HABs) causative *Alexandrium tamarense*, *Chattonella marina*, *Cochlodinium polykrikoides* and *Gymnodinium catenatum*. The algicidal effect of MPB showed in the concentration of 31.3 $\mu\text{g/ml}$ to 500 $\mu\text{g/ml}$ against 4 HAB species and observed cell lysis or cell ecdysis by microscopy. MPB reacted more sensitive to *C. marina* and *C. polykrikoides* than *A. tamarense* and *G. catenatum*. The algicidal study of MPB against HABs will provides much insight into development of new algicidal substances.

Key words : Mastoparan B, Antimicrobial peptide, HABs, Algicidal effect

한국 연안에 출현하는 적조 생물은 34종이 보고되고 있다 (Park, 1991). 1980년대까지는 *Chaetoceros*, *Skeletonema*, *Thalassiosira* 및 *Nitzschia* 속 등의 규조류가 주요 원인 생물이었으나 1981년부터는 *Alexandrium*, *Cochlodinium*, *Gymnodinium* 및 *Heterosigma* 속 등의 편모조류가 주요 적조 원인생물로 나타나고 있다 (김 등, 1996). 그러나 최근에는 이러한 편모조류에 의한 단독형 적조가 자주 발생하고 있다 (Han et al., 1993).

또한 식물플랑크톤은 수중의 용존 산소를 고갈시켜 다른 생물의 생존을 저해하게 되며, 여러 가지 유기물 및 독성분을 분비함으로써 여러 어

패류를 폐사시키거나 독화시켜 연안 천해양식에 큰 피해를 초래하고 있다 (Hallegraeff, 1993).

현재까지 적조 생물의 구제 및 제거법으로는 화학 약품 살포법 (Steidinger, 1983; Ryu et al., 1998; Koji et al., 1998), 황토 및 고분자 응집제 이용법 (Na et al., 1996; Choi et al., 1998) 등의 물리적, 화학적 방법이 연구되어왔고, 해양세균 및 바이러스의 살조 효과를 이용한 생물학적 방제에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다 (Ishio et al., 1989; Sakata et al., 1991; Fukami et al., 1992; Imai et al., 1993; Yoshinaga 1998; Park et al., 1998). 또한 최근에는 단백질 합성저해제, 세균의 세포벽 저해제 및 세포막에 작용을 하는 항

†Corresponding author : Nam Gyu Park, Tel : 051-620-6187,
Fax : 051-628-7430, E-mail : ngpark@pknu.ac.kr

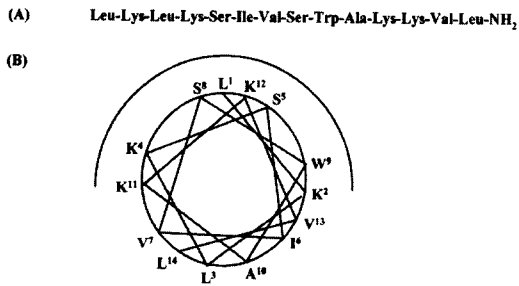


Fig. 1. Amino acid sequence (A) and helical wheel diagram of mastoparan B (MPB) (B).

생체들을 사용하여 적조생물의 생존에 대한 연구도 보고되었지만 (Seo *et al.*, 1998) 항균성 펩타이드의 살조효과에 대한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 포유류의 적혈구 막, 세균 막, 곰팡이 막과 같은 여러 가지 천연 생물막과의 작용기작이 잘 알려져 있는 항균성 펩타이드인 mastoparan B (MPB) (Ho and Hwang, 1991)를 이용하여 살조 효과를 측정하였다. 대만의 땅벌 독에서 분리되어진 MPB는 α -helix 구조를 취하면서 양친매성을 나타내는 14 개의 아미노산으로 구성된 항균성 펩타이드로서 (Fig. 1) 정전기적 상호작용으로 세균의 막은 물론이고 포유류의 적혈구 막에 결합하여 pore를 형성함으로써 용균 및 용혈활성을 나타낸다고 알려져 있다 (Park *et al.*, 1997). 따라서 적조 생물막과 항균성 펩타이드와의 구조 활성간의 상호작용을 연구함으로써 살조 기작을 밝히고자 한다.

재료 및 방법

미세조류의 채집 및 종류

적조 원인 종인 편모조류 4종 (*Alexandrium tamarense*, *Chattonella marina*, *Cochlodinium polykrikoides*, *Gymnodinium catenatum*)을 살조활성 측정에 사용하였다. *C. polykrikoides*는 2001년 하계에 부산 남천동 앞바다에서 일어난 적조생물을 채집하여 부경대학교 양식학과 양식환

경학 연구실에서 분류하여 활성을 측정하였으며 *A. tamarense*, *C. marina*와 *G. catenatum*는 SWM II 배지에서 배양되었던 strain을 이용하여 측정하였다.

항균활성 펩타이드의 합성 및 정제

항균활성 펩타이드인 MPB는 Fmoc-Arg(Pmc)-PEG resin을 사용하여 Fmoc-법으로 합성하였다 (Park *et al.*, 1997).

리포솜 (liposome)의 제조

MPB의 막과의 상호작용을 확인하기 위해서 DPPC 또는 DPPC-DPPG (3:1)와 같은 Small unilamellar vesicles (SUVs)를 제조하였다 (Park *et al.*, 1997). 20 mg의 DPPC 또는 DPPC-DPPG (3:1)를 conical glass tube에 넣고 chloroform에 녹인 후, 질소가스를 주입하면서 인지질이 conical glass tube에 골고루 잘 발리면서 얇은 필름을 형성하도록 하여, 감압하에서 일정시간 동안 방치시켰다. 건조된 지질필름 (lipid film)에 100 mM NaCl을 포함하는 5 mM의 TES buffer (pH 7.4)를 3 ml 넣고 Ultrasonic disrupter (Kaijo Denki, model FA-4280)를 이용하여 30 분간 혼합을 하였다. 리포솜 용액을 메스플라스크에 옮겨 100 mM NaCl을 포함하는 5 mM의 TES buffer (pH 7.4)를 첨가한 후, 총 volume이 25 ml이 되도록 하였다.

Circular dichroism (CD) 스펙트럼의 측정

5 mM TES buffer (pH 7.4), 50 % TFE, 1.0 mM DPPC 및 1.0 mM DPPC-DPPG (3:1) 리포솜을 포함하는 5 mM TES buffer (pH 7.4)에 MPB를 녹였으며 CD 측정에 사용한 MPB의 최종농도는 모든 조건 하에서 50 μ M이 되도록 하였으며, 최종 volume을 200 μ l로 조정하였다. 2차 구조를 확인하기 위해서 1 mm pathlength를 가진 quart cell을 사용하여 spectropolarimeter (JASCO, model J-600)로 CD 스펙트럼을 측정하였다. 한편 리포솜

자체에 의한 CD 스펙트럼의 영향을 제거하기 위해서 리포솜에 펩타이드를 투여했을 때의 CD 스펙트럼에서 리포솜만의 스펙트럼을 상쇄시킨 다음, 각각의 CD 스펙트럼을 얻었다. 스펙트럼은 200 nm에서 250 nm에 걸쳐 25 °C에서 4번씩 반복해서 측정하였으며, 모든 CD 스펙트럼은 몰타원율 (molar ellipticity)로서 표현하였다.

살조 효과의 측정

SWM II 배지 및 자연해수 상태에 접종되어 있는 *A. tamarensis* (4430 cells/ml), *C. polykrikoides* (4570 cells/ml), *C. marina* (6530 cells/ml)와 *G. catenatum* (5950 cells/ml)의 배양액 90 μ l를 96 well plate (Corning, Cat. No. 25860-96)에 접종하고, 각 농도의 펩타이드 용액 10 μ l을 첨가하여 최종농도가 31.3 μ g/ml에서 500 μ g/ml가 되도록 조정하여, 20 °C에서 18시간 동안 배양 한 후, 도립현미경하에서 세포의 형태를 관찰하였다. 그리고 각 농도의 펩타이드 용액 대신에 SWM II 배지 및 자연해수를 well에 첨가한 것을 negative control로 하였다.

항균 및 항곰팡이 활성 측정

세균에 대한 MPB의 최소저해농도 (MIC)는 Trypticase Soy broth (TSB) medium을 이용한 liquid growth inhibition assay법으로 측정 하였다 (Park et al., 1997).

Gram-positive bacteria로는 *Bacillus subtilis* PM 125와 *Micrococcus luteus* KCTC 1050을 사용하였고, gram-negative bacteria로서는 *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 2204와 *Escherichia coli* 1184를 사용하였으며, 활성측정법은 다음과 같다; 각각의 균들은 37 °C로 TSB 배지에서 mid-logarithmic phase ($630 \text{ nm} = 0.4, 5 \times 10^7 \text{ cell/ml}$)까지 배양하였다. 96-well plates에 배양한 각각의 균액 100 μ l ($A_{630 \text{ nm}} = 0.040$)와 100 μ g/ml부터 3.13 μ g/ml까지 연속 희석한 각각의 펩타이드 용액 100 μ l를 넣은 후, 37 °C에서 18시간 동안 배양하였다.

Microplate autoreader E1309 (Bio-tek Instruments)를 이용하여 630 nm에서 탁도를 측정한 후, 균의 성장이 억제된 최소의 농도를 시험균에 대한 최소저해농도로 정의하였다.

MPB의 항곰팡이 활성은 *Candida albicans* KCTC 1940과 *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 1199를 사용하여 liquid growth inhibition assay법으로 측정하였다. 시험균주에 대한 최소저해농도 (MIC)의 결정은 potato dextrose broth (PDB) medium에서 25 °C로 48 시간동안 배양하여 최종농도가 10^4 spores/ml 가 되도록 조정하였다 (Park et al., 1997). 이들 현탁액에 포함된 포자액 100 μ l를 취하여 96-well plate에 첨가하고 100 μ g/ml부터 3.13 μ g/ml까지 연속 희석한 각각의 펩타이드 용액 100 μ l를 넣은 후, 빛의 영향을 받지 않는 상태로 25 °C에서 48 시간동안 배양하였다. 630 nm에서 탁도를 측정하고, 곰팡이의 성장이 억제된 최소의 농도를 곰팡이에 대한 최소저해농도로 정의하였다.

용혈활성 측정

MPB의 용혈활성을 측정하기 위해 사람과 쥐 그리고 먹장어 (*Eptatretus burgeri*)의 적혈구를 사용하였다. 신선한 적혈구들은 각각 원심분리를 통하여 혈청 (serum)과 연막 (buffy coat)을 제거하였고, 이들과 분리된 혈구들은 150 mM의 NaCl을 포함하는 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)로 세정하였다. 계속해서 원심분리를 하여 상층액은 버리고, 침전된 혈구들을 취하여 10 mM Tris-HCl (pH 7.4) buffer로 3%의 혼합용액이 되도록 조정하였다. 3%의 혈구용액 1.9 ml에 각각 다른 농도의 펩타이드용액 0.1 ml를 첨가하여 최종 volume이 2 ml이 되도록 하였다. 적혈구와 펩타이드가 혼합된 용액을 37 °C에서 90 분간 배양시킨 후, 3000 X g로 5분 동안 원심분리하여, 상층액을 취해서 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. 펩타이드 용액이 들어가지 않은 것을 0%의 용혈활성 (A)으로 하고, 1% Triton X-100을 넣었을 때 542 nm에서의 흡광도를 100%의 용

혈활성 (B)으로 정의하여, 각각 서로 다른 농도의 펩타이드를 첨가하였을 때 나타나는 상대적인 흡광도의 세기 (C)를 %로 나타내었다.

$$\text{Hemolysis (\%)} = (C - A / B - A) \times 100$$

결 과

CD spectra 연구

MPB는 buffer 존재하에서 불규칙적인 구조를 취하였지만 중성 (DPPC) 및 산성 (DPPC-DPPG, 3:1) liposome의 존재하에서는 208 nm와 222 nm에서 최대의 음의 타원율을 갖는 전형적인 α -helix 구조의 형태를 취하였다. 그리고 α -helix 유도 용매인 50 % TFE 용액의 존재하에서는 더욱 명확한 α -helix 구조를 취하였다 (Fig. 2).

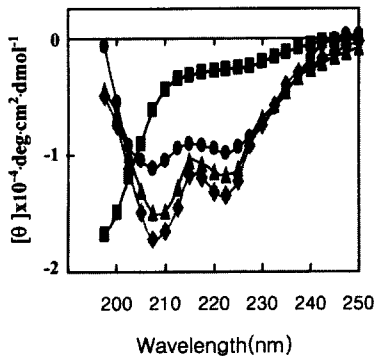


Fig. 2. CD spectra of MPB in 10 mM TES buffer (■), DPPC (●), DPPC-DPPG (3:1) liposome (▲) and 50 % TFE (◆) at 25 °C. Peptide and lipid concentration were 50 mM and 1 mM, respectively.

MPB의 살조 효과

MPB의 살조 효과를 알아보기 위해서 4종류의 편모조류인 *A. tamarensis*, *C. marina*, *C. polykrikoides* 및 *G. catenatum*를 사용하였다 (Table 1).

*C. marina*는 31.3 $\mu\text{g/ml}$ 의 MPB를 처리하여 18 시간 배양하였을 때 100 % lysis를 일으켰다. *C. polykrikoides*에 대해서는 31.3 $\mu\text{g/ml}$ 의 MPB를 처리하여 *C. marina*와 동일한 조건으로 배양한 결과 100 %의 lysis 또는 ecdysis를 일으켰으며, *G. catenatum*에 대해서는 250 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도의 MPB를 처리하여 18 시간 배양 후에 100 % lysis 또는 ecdysis가 관찰되었다. 그러나 *A. tamarensis*의 경우 62.5 $\mu\text{g/ml}$ 에서 ecdysis를 나타내었기 때문에 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 고농도를 처리하였지만 lysis 현상은 관찰되지 않았다.

MPB에 의한 적조 생물의 형태적 변화

MPB의 31.3 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 18 시간 배양 후 *A. tamarensis*, *C. marina*, *C. polykrikoides* 및 *G. catenatum*의 4종의 편모조류들의 형태 변화를 광학현미경으로 관찰하였다 (Fig. 3). *A. tamarensis*의 경우, MPB를 처리하지 않은 대조군 (Fig. 3A upper)과 비교시 특별한 형태적 변화가 관찰되지 않았다. (Fig. 3A lower). 그러나 *A. tamarensis*를 제외한 나머지 세 종류의 적조 생물 (*C. marina*, *C. polykrikoides* 및 *G. catenatum*)들은 적조생물 고유의 형태가 상실되어 형태가

Table 1. Algicidal activities of MPB against the 4 HABs by treatment during 18 hour

HAB	MPB concentration ($\mu\text{g/ml}$)				
	31.3	62.5	125	250	500
<i>Alexandrium tamarensis</i>	-	*E	E	E	E
<i>Chattonella marina</i>	**L	L	L	L	L
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	L or E	L	L	L	L
<i>Gymnodinium catenatum</i>	E	E	E	L or E	L

*E; ecdysis, **L; lysis.

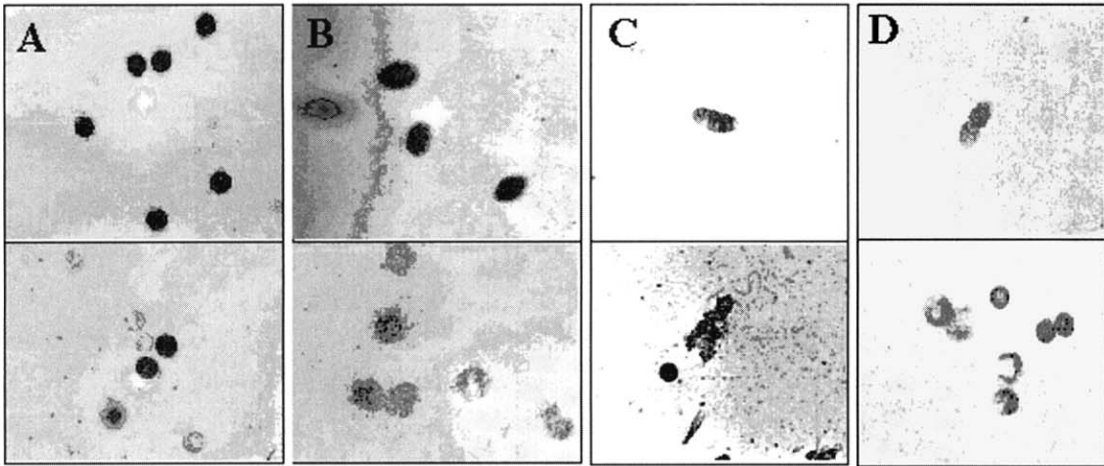


Fig. 3. Microscopical observation on the algicidal process of MPB (31.3 $\mu\text{g/ml}$) against 4 HABs after 18 hour. Controls (upper) and cell lysis (lower) or cell ecdysis (lower) of A, *Alexandrium tamarense*; B, *Chattonella marina*; C, *Cochlodinium polykrikoides*; D, *Gymnodinium catenatum*.

바뀌거나 세포막이 파열되어 내용물이 밖으로 유출되었다 (Fig. 3의 B - D).

MPB의 항균활성

Table 2는 MPB의 항균 및 항곰팡이 활성을 나타내었다. MPB는 gram-positive bacteria인 *M. luteus* KCTC 1050과 *B. subtilis* PM125에 대해서는 각각 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 과 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 강한 활성을 나타내었고, gram-negative bacteria인 *P. aeruginosa* KCTC 2204와 *E. coli* 1184에 대해서도 각각 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 와 12.25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 항균반응을 나타내었다. 한편 곰팡이인 *C. albicans* KCTC 1940과

S. cerevisiae KCTC 1199에 대해서는 모두 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 에서 항균활성을 나타내었다.

MPB의 적혈구에 대한 용혈활성

Table 3은 MPB의 농도에 따른 사람의 적혈구, 쥐의 적혈구 및 멧장어의 적혈구에 대한 용혈활성을 나타내었다. MPB는 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 에서 3종류의 적혈구에 대해 5% 이하의 낮은 용혈활성을 나타내었지만 농도가 증가함에 따라 용혈활성도 증대되었다. 그리고 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 MPB는 사람의 적혈구에서 78%, 쥐의 적혈구에서 90%, 멧장어의 적혈구에서 50%의 용혈활성을

Table 2. Antimicrobial activities of MPB

Organism	Minimum inhibitory concentration($\mu\text{g/ml}$)
<i>Bacillus subtilis</i> PM 125	6.25
<i>Micrococcus leteus</i> KCTC 1050	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 2204	6.25
<i>Escherichia coli</i> 1184	12.5
<i>Candida albicans</i> KCTC 1940	12.5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCTC 1199	12.5

Table 3. Hemolytic activities of MPB against human, rat, and hagfish red blood cells

Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Hemolytic activity(%)		
	Human RBCs	Rat RBCs	Hagfish RBCs
3.13	5.5	0.5	3.1
6.25	12	15	10
12.5	30	17	18
25	42	23	26
50	52	58	38
100	78	90	50

나타내었다. MPB는 같은 농도에서 대체적으로 사람 및 쥐의 적혈구 보다 먹장어의 적혈구에 대해서 낮은 용혈활성을 나타내었다.

고 찰

*C. polykrikoides*는 적조를 일으키는 주 원인이며, 최근 10,000 cells/ml 이상의 고밀도로 넓은 해역에서 발생하여 막대한 수산피해를 일으켰다고 보고되었다 (김 등, 1996). Seo *et al.* (1998)은 본 연구에서도 사용된 *C. polykrikoides*에 대해 tetracycline, chloramphenicol, dihydrostreptomycin, neomycin, ampicillin, penicillin G 및 polymyxin B를 사용하여 살조효과를 조사하였다. 일반적으로 세균의 단백질 합성 저해제로 알려져 있는 tetracycline과 chloramphenicol을 처리하였을 때, *C. polykrikoides*의 50%가 사멸하는 시간 (LT₅₀)은 전자의 경우 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 22 시간, 후자의 경우 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 48시간 후에 LT₅₀이었다. 그러나 dihydrostreptomycin과 neomycin은 고농도인 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서조차도 반응을 나타내지 않았으며, 세포벽 합성 저해제로 알려진 ampicillin과 penicillin G도 마찬가지로 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 살조 효과를 나타내지 않았다. Polymyxin B는 gram-negative bacteria의 외막에 존재하고 있는 lipopolysaccharide의 성분인 lipid A에 결합하여 세균을 파괴한다고 알려

져 있는 항균성 펩타이드이지만, 대부분의 항생제와 마찬가지로 고농도에서 살조 효과를 나타내지 않았다.

본 연구에 사용된 항균성 펩타이드인 MPB는 특히 *C. polykrikoides* 및 *C. marina*에 대해 31.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 ecdysis 또는 lysis 시켰다 (Fig. 3의 B and C). CD spectra의 결과에 의하면 MPB는 중성지질막보다 산성지질막 조건하에서 보다 더 많이 α -helix 구조를 형성하였다 (Fig. 2). 이러한 현상은 양친매성 펩타이드인 MPB가 인공막에서 α -helix 구조를 형성할 때 중성지질막과 소수성 상호작용을 하는 것 보다 산성지질막에 존재하는 negative charge간의 정전기적 상호작용이 더 유리하게 작용하는 것을 의미한다.

MPB와 생체막과의 상호작용을 조사하기 위해서 항균활성 및 용혈활성을 조사한 결과, MPB는 세균이나 곰팡이에 대하여 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ~12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 반응을 나타내었다. 그러므로 MPB는 α -helix 구조를 취하여 미생물막에 작용하여 강한 항균활성을 나타낸다고 여겨진다. 또한, MPB는 사람, 쥐, 먹장어의 적혈구에 대해서도 용혈활성을 나타내었는데, 먹장어의 적혈구는 MPB의 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 사람과 쥐의 적혈구 보다는 다소 낮은 용혈을 보였다. 이와 같이 MPB가 원구류보다 포유류의 적혈구막에 더 민감하게 반응하는 것은 아마도 이들 적혈구 막을

구성하는 구성성분의 차이 때문인 것 같다. 이전에 Park *et al.* (1998)의 적혈구 형태학적 변화 연구에 의하면, 사람의 적혈구를 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 MPB로 처리했을 때 정상적인 적혈구 형태를 crenated form (echinocytes)로 변화시켰는데, 아마도 쥐와 먹장어의 적혈구의 경우도 사람의 적혈구와 유사하게 echinocytes 형태로 형태학적 변화가 관찰되리라 예상된다.

MPB의 살조효과 (Table 1)와 항균활성 (Table 2)의 관계를 종합적으로 살펴보면, MPB가 항균 활성을 나타내기 위해서는 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 양을 필요로 하였지만 적조생물을 lysis 시키기 위해서는 항균 활성보다 10배 이상 높은 MPB 농도를 필요로 하였다. 이전의 연구에 의하면 해양 세균의 막에서의 주된 phospholipid는 phosphatidylethanolamine 이지만, 미세조류 세포막의 주된 phospholipid는 phosphatidylglyceride (Goutx *et al.*, 2000)로 보고되었다. 그러므로, 이러한 활성세기의 차이는 세균과 미세조류의 세포막 구성성분의 차이에 의해서 기인된 것으로 사료된다. 그러나 MPB는 적조생물을 사멸시키는 시간 뿐만 아니라 사용 농도면에 있어서 이전의 연구 (Seo *et al.*, 1998)에서 보고된 항생제들 보다 매우 우수한 활성을 나타내었다. 이러한 결과들로부터 MPB는 적조 세포의 단백질 합성을 저해하기보다는 세포막에 작용하여 막을 lysis 또는 ecdysis를 유도하는 것 같다고 여겨진다. 따라서 항균성 펩타이드인 MPB도 살조효과를 연구하는데 있어서 표준물질로 사용 가능할 뿐만 아니라 이러한 결과들은 유해성 적조의 원인생물인 *C. polykrikoides*을 포함한 다른 편모조류들의 효과적인 살조 물질을 개발하기 위한 기초자료로 활용 가능하리라 생각된다.

요 약

Mastoparan B (MPB)는 벌독으로부터 정제된 양친매성 α -helical 구조를 취하면서 14개의 아미노산 잔기로 구성된 염기성 항균성 펩타이드로

서 여러가지 생물막과 작용한다. 본 연구에서는 우리 나라 연안의 적조 (HABs, harmful algal blooms)를 일으키는 4종의 적조생물 (*Alexandrium tamarense*, *Chattonella marina*, *Cochlodinium polykrikoides* 및 *Gymnodinium catenatum*)에 대한 MPB의 살조효과를 조사하였다. MPB의 4종의 적조생물에 대한 살조효과는 31.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 세포의 lysis 또는 ecdysis와 같은 형태로 현미경으로 관찰할 수 있었다. 또한 MPB는 *C. marina* 및 *C. polykrikoides*에 대해서 *A. tamarense*와 *G. catenatum*보다 더욱 강한 살조효과를 나타내었다. 이러한 MPB의 HABs에 대한 살조효과연구는 새로운 살조물질을 개발하기 위한 자료가 될 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 2001년도 부경대 연구년 (해외파견 연구) 지원사업에 의해 수행되었으며, 또한 2003년도 Brain Korea 21 사업에 의하여 일부 지원되었음.

참고 문헌

- Choi, H. G., Kim, D. J., Lee, W. C., Yun, S. J., Kim, H. G. and Lee, H. J. : Removal efficiency of *Cochlodinium polykrikoides*, by yellow loess. J. Korean Fish. Soc., 31 : 109-113, 1998.
- Goutx, M., Momziko, A., Striby, L., Andersen, V., Marty, J. C. and Veccovali, I. : High-frequency fluxes of labile compounds in the central ligurian Sea, northwestern Mediterranean. Dee-Sea Research. 47 : 533-556, 2000.
- Fukami, K., Yuzawa, A., Nishijima, T. and Hata, Y. : Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. Nippon Suisan Gakkaishi.

58(6) : 1073-1077, 1992.

- Hallegraeff, G. M. : A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, 32 : 79-99, 1993.
- Han, M. S., Jeon, J. K. and Yoon, Y. H. : Distribution and toxin profiles of *Alexandrium tamarens* (Lebour) Balech (diouglagellate) in the southeastern coastal waters, Korea. *Korean J. Physic.*, 8(1) : 7-13, 1993.
- Ho, C.-L. and Hwang, L.-L. : Structure and biological activities of a new mastoparan isolated from the venom of the hornet *Vespa basalis*. *Biochem. J.* 274 : 453-456, 1991.
- Imai, I., Ishida, Y. and Hata, Y. : Killing of marine phytoplankton by a gliding bacterium *Cytophaga* sp., isolated from the coastal sea of Japan. *Mar. Biol.*, 116 : 527-532, 1993.
- Ishio, S., Mangidan, R. E., Kuwahara, M. and Nakagawa, H. : A bacterium hostile to flagellates: identification of species and characters. In *Red tide-biology, Environmental science and toxicology*, Okaichi, D., M. Anderson and T. Nemoto, eds. Elsevier Sci., N. Y., : 205-208, 1989.
- Koji, K., Yuki, M. and Naganuma, J. : Removal of biofouling and red tide algae by Triosyn. Abstract of 2nd Meeting for Japan Marine Biotechnology. : 89, 1998.
- Na, G. H., Choi, W. J., and Chun, Y. Y. : A study on red tide control with loess suspension. *Kor. J. Aquacult.* 9 : 239-245, 1996.
- Park, N. G., Seo, J.-K., Ku, H.-J., Kim, S.-H., Lee, S., Sugihara, G., Kim, K.-H., Park, J.-S. and Kang, S.-W. : Interaction of mastoparan B and its Ala-substituted analogs with phospholipid bilayers. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 18(9) : 933-938, 1997.
- Park, N. G., Kim, C. H., Chung, J. K., Huh, M.-D., Park, J.-S. and Kang, S.-W. : Morphological changes of biomembranes by amphiphilic basic peptides mastoparan B and 4s. *J. Microbiol.*, 179-183, 1998.
- Park, J. S. : Red tide occurrence and countermeasure in Korea. In *Recent approaches on red tides*, J. S. Park and H. G. Kim, Eds. Department of Oceanography and Marine Resources, National Fisheries Research & Development Agency, Korea, : pp. 1-24. 1991.
- Park, Y. T., Park, J. B., Chung, S. Y., Song, B. C., Lim, W. A., Kim, C. H., and Lee, W. J. : Isolation of marine bacteria killing red tide microalgae-I. Isolation and algicidal properties of *Micrococcus* sp. Lg-I possessing killing activity for harmful dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides*. *J. Korean Fish. Soc.*, 31(5) : 767-773, 1998.
- Ryu, H. Y., Shim, J. H., Bang, J. D. and Lee, C. : Experimental chemical treatment for the control of dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* in the land-based culture of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Kor. J. Aquacult.* 11 : 285-294, 1998.
- Sakata, T., Fujita, Y. and Yasumoto, H. : Plaque formation by algicidal *Saprospira* sp. on a lawn of *Chaetoceros ceratosporum*. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 57 : 1147-1152, 1991.
- Seo, P.-S., Lee, S.-J., Kim, Y., Lee, J.-H., Kim, H.-G. and Lee, J.-D. : Axenic culture production and growth of a Dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides*. *J. Korean Fish. Soc.* 31(1) : 71-76, 1998.
- Steidinger, K. A. : A re-evaluation of toxic dinoflagellate biology and ecology. *Prog. Phycol. Res.* 2 : 147-188, 1983.
- Yoshinaga, I., Kim, M. C., Katanozaka, N., Imai, I., Uchida, A. and Ishida, Y. : Population structure of algicidal marine bacteria targeting

Heterosigma akashiwo (Raphidophyceae) through restriction fragment length polymorphin analysis of the bacterial 16S ribosomal RNA genes, during *H. akashiwo* red tide. Mar. Ecol. Prog. Ser., 170 : 33-44, 1998.

김학균, 이삼근, 안경호, 윤성화 : 한국연안의 유독성 *Cochlodinium* 적조 발생과 변천, 제

2회 연구발표 및 귀국보고, 국립수산진흥원 : pp. 23-24. 1996.

Manuscript Received : August 23, 2003

Revision Accepted : November 27, 2003

Responsible Editorial Member : Sung-Ju Jung
(Yosu Univ.)