

## 불가사리(*Asterias amurensis*) 콜라겐 유래 저분자 펩타이드의 피부주름 억제활성

권민철 · 김철희 · 김효성 · Abdul Qadir Syed · 황보영<sup>2</sup> · 이현용<sup>1,\*</sup>

강원대학교 BT특성화학부대학, <sup>1</sup>강원대학교 생명공학연구소, <sup>2</sup>SKY007

### Anti-wrinkle Activity of Low Molecular Weight Peptides Derived from the Collagen Isolated from *Asterias amurensis*

Min Chul Kwon, Cheol Hee Kim, Hyo Sung Kim, Abdul Qadir Syed, Bo Yong Hwang<sup>2</sup>, and Hyeon Yong Lee<sup>1,\*</sup>

College of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

<sup>1</sup>Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

<sup>2</sup>SKY007, Daejeon-dong, Kangneung-si, Kangwon-do 210-340, Korea

**Abstract** This study was carried out to investigate the anti-wrinkle effects of peptides derived from collagens isolated from *Asterias amurensis*, which was collected in the East Sea. The molecular weights of the peptides were between 10-50 kDa, as determined through sephadex G-75 gel. The cytotoxicities against CCD-986sk cells and HEL-299 cells were measured using the MTT assay. The cytotoxicity of all the fractions(F1: Fraction No. 4-13, 116 kDa; F2: Fraction No. 25-30, 100 kDa; F3: Fraction No. 45-55, 58 kDa; F4: Fraction No. 59-63, 43 kDa; F5: Fraction No. 79-90, 24 kDa) was less than 25%, by the addition of 1.0 mg/mL. These peptides did not show any adverse effects on human skin cells. In the presence of F1 at 1.0 mg/mL, matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) expression of UVA-induced human normal fibroblasts was reduced to 34.8%. Overall, the results seem to suggest that peptides of approximately 20 kDa have superior anti-wrinkle effects.

**Key words:** *Asterias amurensis*, low molecular weight peptide, anti-wrinkle activity

## 서 론

불가사리는 극피동물 문에 속하는 해양 저서생물을 총칭한다. 전 세계에 1,700여 종이 보고되고 있으며 우리나라 근해에도 200여 종이 서식하고 있다. 일반적으로 불가사리는 대표종인 아무르 불가사리(*Asterias amurensis*)를 뜻하며 전복, 바지락, 피조개, 가리비 등 패류를 그 먹이로 하고 있어 패류 양식 산업에 큰 피해를 주고 있다. 대부분 5개의 팔을 가지고 있으며, 이 팔은 재생력이 강하여 잘라도 다시 자라곤 한다(1). 이와 같은 대량번식이 가능한 생명력을 통하여 불가사리에 의한 해양생태계가 파괴될 위험에 처해있다. 따라서 이러한 문제점을 해결하기 위하여 어민들은 많은 양의 불가사리를 포획하고 있으며, 포획된 불가사리 대부분이 폐기되고 일부 소량이 비료로 이용되고 있는 실정이다. 따라서 대부분 폐기되고 있는 불가사리를 이용하여 산업적으로 유용하게 사용하기 위한 노력이 요구되는 바이다.

우리나라의 어촌에서는 불가사리를 말려 쌓아 두었다가 비료로 이용해왔다. 이러한 점에 착안하여, 불가사리의 비료 효과들과 과학적으로 입증하기 위하여 토마토 등 6개 작물을 대상으로 수

확량, 수확물의 영양성분을 조사하였고(2), 불가사리로부터 생리활성물질의 정제와 탐색을 위한 연구가 시도되고 있다(3).

한편 불가사리의 체벽은 약 10%의 단백질이 함유되어 있으며 그중 약 60%는 콜라겐이다. 특히, 불가사리는 조직재생력이 있어 축산 동물로부터 추출한 콜라겐과는 다른 생물학적 특성을 지닐 것으로 예상되어 의약품 등 산업용 소재로 유용하게 사용할 수 있는 것으로 사료된다.

콜라겐의 주된 기능은 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포 접착의 지탱, 세포분화와 분화의 유도 등이 알려져 있다(4). 또한 연령 및 자외선 조사에 의한 광노화에 의해 감소하며, 이는 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있다고 알려져 있다(5).

그러나 불가사리의 경우 사포닌, tetrodotoxin 등 다양한 생물독을 함유하고 있어 인체 안전성을 확보하기 위한 기술개발이 필요하며, 콜라겐 추출방법에 있어서도 기존의 산 또는 알칼리 추출방법으로 콜라겐을 추출할 경우 체벽에 존재하는 골편(탄산칼슘)이 용해되어 혼입됨으로써 콜라겐의 순도를 저하시키는 문제가 발생할 수 있다(6). 따라서 불가사리로부터 콜라겐을 산업적으로 생산하기 위해서는 특유의 콜라겐 추출방법이 개발되어야 한다.

초음파 추출의 병행 방법은 추출공정의 효율을 높이고, 열처리가 제한된 시료의 추출에 초음파를 이용하는 것이 효과가 있다고 보고된 바 있다. 특히 초음파 에너지를 추출에 이용하면 초음파 진동을 통한 공동현상(cavitation)에 의해 매우 큰 에너지를 발생하게 된다. 또한 높은 국부온도로 인하여 주위에 위치하는 반응물 입자들의 운동에너지를 크게 하기 때문에 반응에 필요한 충

\*Corresponding author: Hyeon Yong Lee, College of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Tel: +82-33-250-6455

Fax: +82-33-256-4819

E-mail: hyeonl@kangwon.ac.kr

Received June 21, 2007; accepted October 23, 2007

분한 에너지를 얻게 되고, 초음파 에너지의 충격 효과로는 높은 압력을 유도하여 혼합효과를 높여주게 된다(7).

따라서 본 연구는 이러한 이점을 가진 초음파 병행 추출을 이용하여 불가사리로부터 처음으로 콜라겐 유래 활성 펩타이드를 정제하고 동시에 분자량별로 얻어진 분획물들의 피부부름 억제 활성을 탐색하여 산업적 가치를 부여하고 더 나아가 본 연구자료들이 항장소재와 관련된 분야에 활용을 위해서 본 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 시료의 조제

본 실험에 사용한 불가사리는 우리나라 해안에서 가장 대표적 종인 *A. amurensis*로써 2006년 10월경 강릉시 연안에서 채취하여 수세 후 내피부위가 드러나도록 잘라 동결 건조하여 보관하며 사용하였다.

시료를 5 cm 크기로 나눠 내피부위가 잘 드러나도록 자른 불가사리를 다시 찬물로 침수시켜 부피 대비 3%의 과산화수소와 0.1 N 수산화나트륨 용액에 중량 대비 20%의 시료를 넣고 12시간씩 진탕한 후 비콜라겐 물질제거 과정을 3번 반복한 후 상층액을 모두 버리고 다시 증류수에 중량대비 0.5%의 구연산과 비타민 C를 가용화 하여 변성점 이하인 23°C에서 콜라겐만 붙어있는 골편을 얻었다(8). 얻은 골편을 초음파 추출기(Asia industry, Incheon, Korea)를 이용하여 콜라겐 변성점 이하의 온도에서 40, 60, 130 kHz의 초음파로 1시간 동안 추출하였다. 이때 초음파 추출 시 발생하는 열로 인해 온도가 20°C 이상 넘는 것을 방지하기 위하여 실시간으로 온도를 확인하였고, 온도 상승 시 얼음을 사용하여 온도를 유지하였다.

골편에 붙어있는 콜라겐의 저분자 펩타이드화를 위하여 collagenase(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 중량대비 0.5% 첨가하여 상온에서 1시간 가수분해하여 펩타이드 용액을 얻어 감압 농축 후, 동결 건조(Cleanvac8, Biotron, Bucheon, Korea; -70°C, 0.1 torr)하여 불가사리 유래 펩타이드 분말을 제조하였다.

### 세포 및 시약

Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)를 위해 사용된 MMP-1에 대한 1차 항체와 alkaline phosphatase가 결합된 2차 항체는 Sigma사(Sigma Co.)로부터 구입하여 사용하였다. Human dermal fibroblasts(HDFs)는 CCD-986sk(KCLB No. 21947)으로 한국세포주은행(KCLB)로부터 동결 상태로 구입하였다. 구입한 HDFs를 DMEM 배지에 10% fetal bovine serum(FBS; Hyclone, Texas, USA), 1% penicillin-streptomycin (Sigma Co.)을 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건 하에서 배양하여 사용하였다.

### 단백질 측정

초음파 처리 시 펩타이드화 효율을 알아보기 위하여 단백질 정량을 실시하였다. 이는 BCA kit(Pierce Co., Rockford, IL, USA)를 이용하여 측정하였으며 bovine serum albumin(Sigma Co.)을 사용한 표준 곡선에 의하여 환산하였다.

### 불가사리 펩타이드의 분자량 검정 및 분리

펩타이드의 분자량은 강원대학교 공동실험실습관의 MALDI-TOF-Mass spectrometer(Voyager-DE™ PRP, PerSeptives Biosystems, Framingham, MA, USA)를 이용하였으며 peptide 분석 시 주로 사용되는  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid( $\alpha$ -CHCA) matrix

와 sinapinic acid matrix를 이용하였다.

불가사리에서 분리된 펩타이드를 겔 여과를 이용하여 분자량별로 자동분주기로 받아낸 후 UV-spectrophotometer(UVİKON 922, Kontron Co, Korea)로 측정하였다. 이 때 Sephadex G-75 column을 사용하였고 유속은 0.5 mL/min, 흡광도는 280 nm, solvent는 20 mM phosphate buffer를 사용하였다.

### 세포 독성 측정

세포 독성은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT; Sigma Co., M-2128) 시약을 이용하여 세포 생존율을 측정하는 Mosmann 방법(9)을 변형하여 실시하였다. 세포는 CCD-986sk와 인간 정상 폐세포인 HEL-299(KCLB No. 10137)를 사용하였다. 각 세포를  $2 \times 10^4$  cells/well 농도로 96-well plate에 접종한 후 각 well에 시료를 투여하여 CO<sub>2</sub> 배양기에서 24 시간 배양하였다. MTT 용액(5  $\mu$ g/mL)을 첨가하고 4 시간 후 원심분리하여 상등액을 제거하고 10  $\mu$ L acid-iso-propanol(0.04 N HCl in isopropanol)를 첨가한 후 푸른색의 formazan이 용출되도록 하여 microplate reader로 565 nm에서 흡광도를 측정하였다.

형태학적 관찰은 섬유아세포인 CCD-986sk에 대한 직접적 영향을 알아보고 선행된 세포독성 실험의 결과를 뒷받침하기 위하여 시료처리 후 광학현미경(C-mount, Olympus Co., Tokyo, Japan)을 이용하여 총 30일간의 형태학적 관찰을 실행하였다(10). 섬유아세포를 75 T flask에 working volume을 30 mL으로 통일하여 DMEM(FBS 5%) 배지로 CO<sub>2</sub> incubator에서 37°C, 48시간 배양한 후 시료를 0.2 mg/mL로 처리하여 총 30일간 morphological test를 하였다. 4일 간격으로 신선한 배지를 교환했으며 10일과 15일, 20일, 25일, 30일에 시료를 검경하여 비교하였다. FBS와 DMEM의 양과 종류는 동일하여 오차가 없도록 하였다.

### UVA 처리를 이용한 주름 발현 저해 측정

CCD-986sk를  $1.5 \times 10^5$  cells/mL의 농도로 35 mm dish에 약 80%의 confluency에 도달할 때까지 배양하였다. UV 조사 전에 배지를 제거한 후 PBS(phosphate buffered saline)로 세척하여 배지 내 serum 성분을 제거한 다음, LUX meter(DM-28, Takemura, Japan)을 이용하여 6.3 J/cm<sup>2</sup>으로 맞추어 조사하였다. UVA 조사 후 배양 배지는 FBS를 첨가하지 않은 DMEM 배지에 분자량별로 모아진 분획물을 1 mg/mL의 농도로 투여하여 24시간 동안 배양하였다.

UVA 조사에 의해 유도되는 MMP-1 발현량 측정은 Dunsmore 등(11)이 사용한 방법을 실시하였다. UVA를 조사 후 시료를 처리하여 24시간 배양한 배지를 96 well plate에 분주하여 4°C에서 24시간 동안 coating하였다. TBS(phosphate buffered saline + 0.05% Tween 20)로 3회 세척하고 3% PBS로 37°C에서 1시간 동안 blocking 한 후, 1차 항체(monoclonal anti-MMP-1)를 blocking buffer로 1:3,000으로 희석하여 처리하고 37°C에서 90분간 반응시켰다. PBS로 세척한 다음 2차 항체(alkaline phosphatase conjugated goat anti-mouse IgG)를 blocking buffer에 1:3,000으로 희석하여 처리하고, 37°C에서 90분간 반응시킨 후 PBS로 세척한 다음 alkaline phosphatase 기질용액(1 mg/mL, p-nitrophenyl phosphate in diethanolamine buffer)을 첨가하여 실온에서 30분간 반응시켰다. 3 N NaOH로 반응을 완전히 중지시킨 후 microplate reader를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 통계

SPSS package program(Ver. 12.0)의 paired t-test로 검정하여 나타내었다.

**Table 1. Extraction yield of peptides from the collagen isolated from *Asterias amurensis* according to ultrasonification**

Sample	Ultrasonification (kHz)	Quantity of yield (mg/mL)	Yield (% w/v)
<i>A. amurensis</i>	0	4.10	26.10
	40	6.11	38.89
	60	5.10	32.44
	130	4.63	29.42

**결과 및 고찰**

**초음파 처리에 따른 펩타이드화 효율**

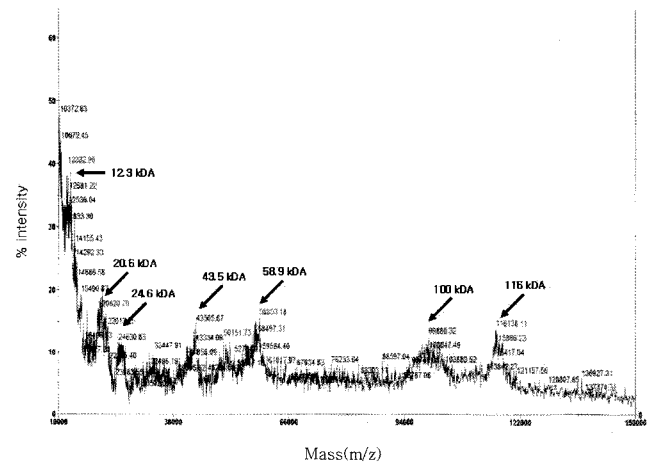
불가사리 골편의 콜라겐으로부터 활성 펩타이드를 분리하기 위하여 초음파 비처리군과 40, 60, 130 kHz별로 초음파를 처리하여 조직을 단편화시킨 후 collagenase를 처리한 결과를 Table 1에 나타내었다.

초음파를 처리하지 않았을 때 26.10%, 40 kHz의 초음파를 처리했을 때 최대 수율이 38.89%를 나타내었고 60 kHz일 때 32.44%, 130 kHz일 때 29.42%를 나타내었다. 초음파 비처리군과 비교하여 수율이 3-12% 정도가 증가하여 초음파 처리의 효소 작용에 긍정적 영향을 보여주었다. 이는 초음파 진동에 의한 공동현상(cavitation)에 의한 것으로 초음파로 인한 분자의 진동 에너지가 발생하여 콜라겐 조직에 연질화 효과를 준 것으로 사료된다. 국부에너지 차에 의한 반응물입자들의 운동에너지의 차이가 이질화된 공간을 만들어내고 이에 효소가 쉽게 침투하여 효소반응에 필요한 물리적 최적조건을 형성하며 국부압력차에 의한 효과로 볼 수 있다는 기존의 연구와 일치하는 결과이다(7).

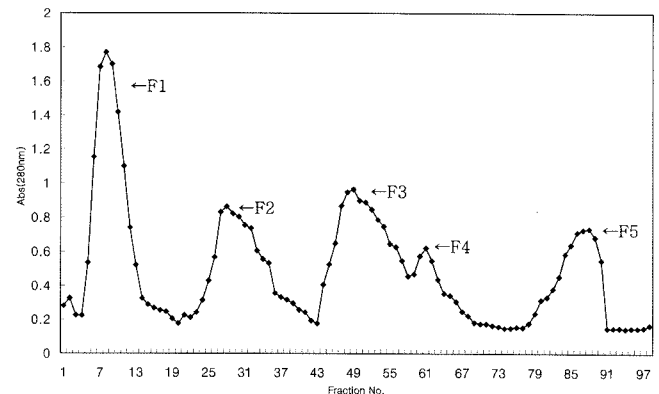
**분자량 검정 및 분리**

불가사리의 골편에 존재하는 콜라겐을 초음파와 collagenase로 가수분해하여 제조한 가수분해물 중 가장 높은 수율을 보인 40 kHz 초음파 병행 추출제 조 펩타이드의 분자량을 MALDI-TOF-MS로 측정된 결과 12.3, 20.6, 24.6, 43.5, 58.9, 100, 116 kDa 부근에서 총 7곳에서 특정 intensity를 보였다. 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

10 kDa 이하의 분자량을 검출하는  $\alpha$ -CHCA matrix를 이용한 결과에서는 특정 피크가 나타나지 않았으며 위의 결과는 모두 sinapinic acid를 이용한 것으로써 기존의 10 kDa 이하의 분자량을 보이는 일반적인 펩타이드의 분자량보다 높은 수치이다. 콜라겐은 단백질임에도 불구하고 단백질 가수분해 효소인 pepsin 등의 작용을 받기 힘들며 산·알카리 등의 처리를 이용한 후에 tyrosinase 등으로 처리한 가수분해물은 10 kDa 이하의 분자량을 보였는데(12), 본 실험결과와는 상이하게 나타났다. 이는 콜라겐의 변성을 최대한 방지하고 항장활성을 유지한 펩타이드로 생각할 수 있다. 이후 이 peptides를 분리하기 위하여 컬럼을 통한 분리공정을 실시하였다. Sephadex G-75에 의한 분자량별 fraction 검출 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 총 100개까지 모은 fraction 중에서 4-13(F1), 25-30(F2), 45-55(F3), 59-63(F4), 79-90 (F5) fraction 부근에서 특정 피크를 나타내었다. 이는 분자량별 역상으로 분획되는 컬럼의 특성상 F1부터 F5까지 각각 분자량의 116, 100, 58, 43, 24 kDa 부근의 peptide로 간주할 수 있다. 100번째 fraction 이후에 용출된 12 kDa의 peptide는 서로 응집하여 분자량이 배가 되는 것으로 생각되어지며, 24 kDa의 분자량을 갖는 peptide와 동일한 것으로 파악할 수 있다.



**Fig. 1. Mass measurement of peptides from the collagen isolated from *Asterias amurensis* by MALDI-TOF mass spectrometry. MALDI-TOF-MS conditions were stated below (acquisition mass range: 10,000-200,000 kDa, Number of laser shots: 100/spectrum, Laser in intensity: 2,155, Laser Rep Rate: 20 Hz, Low mass gate: 4,500 kDa).**



**Fig. 2. Sephadex G-75 gel-chromatography of peptides isolated from *Asterias amurensis*. a) F1: Fraction No. 4-13, 116 kDa, b) F2: Fraction No. 25-30, 100 kDa, c) F3: Fraction No.4 5-55, 58 kDa, d) F4: Fraction No. 59-63, 43 kDa, e) F5: Fraction No. 79-90, 24 kDa.**

**세포 독성 측정 및 형태학적 관찰**

시료를 0.1 mg/mL에서 1.0 mg/mL까지 다양한 농도로 처리하고, 48시간 동안 배양한 후 MTT 방법으로 세포의 생존율을 관찰하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 최고농도인 1.0 mg/mL의 농도에서 F5의 경우 fibroblast에 대하여 26.70%로 가장 높은 세포독성을 보였으며 인간 정상 폐세포인 HEL-299 cell에 대하여는 최대 농도인 1.0 mg/mL에서 24.32%를 보였다. 반면 F2의 경우 fibroblast와 HEL-299 cell에서 각각 12.50%, 11.04%로 가장 낮은 세포독성을 나타내었다. 또한 세포의 형태학적 변화를 30일 동안 관찰한 결과 Fig. 4에 나타난 바와 같이 분자량별 peptides를 최고농도 1.0 mg/mL로 처리한 결과 세포수준에서 효소처리에 의한 peptides는 형태학적 독성을 나타내지 않는 것으로 해석할 수 있으며 기존의 실크펩타이드의 RAW 264.7 macrophage의 nitric oxide의 생성 촉진에 관한 연구에서 효소 가수분해물 peptides는 면역 활성 조절에도 효과가 있으며 생체와의 접촉 시 부작용이 적다는 연구를 뒷받침하는 결과이다(13). 형태학적 결과는 총 4번의 계대 이후 관찰된 것이다. 일반적으로 물질이 세포에 부정적 영향을 미칠 경우 형태학적 변화가 수반되는 특징을 가지나

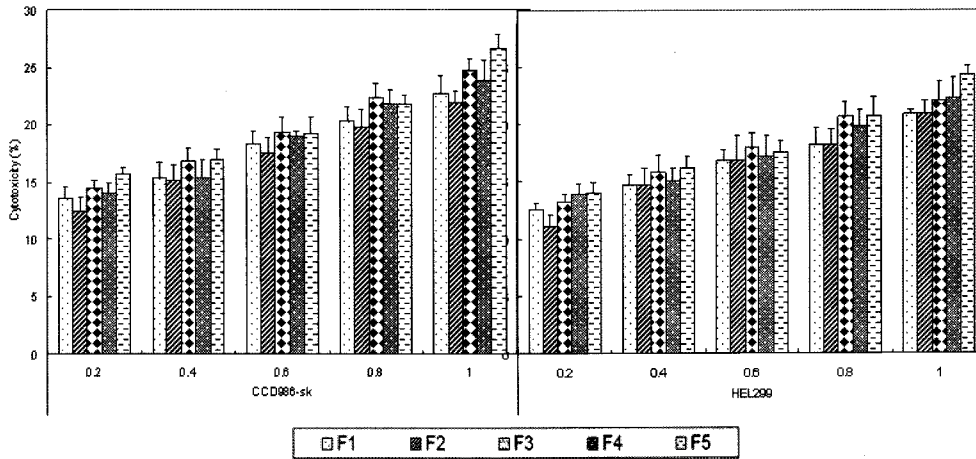


Fig. 3. Effect of peptides from the collagen isolated from *Asterias amurensis* on the cytotoxicity of human dermal fibroblast (CCD-986sk) and HEL299. a) F1: Fraction No. 4-13, 116 kDa, b) F2: Fraction No. 25-30, 100 kDa, c) F3: Fraction No.4 5-55, 58 kDa, d) F4: Fraction No. 59-63, 43 kDa, e) F5: Fraction No. 79-90, 24 kDa.

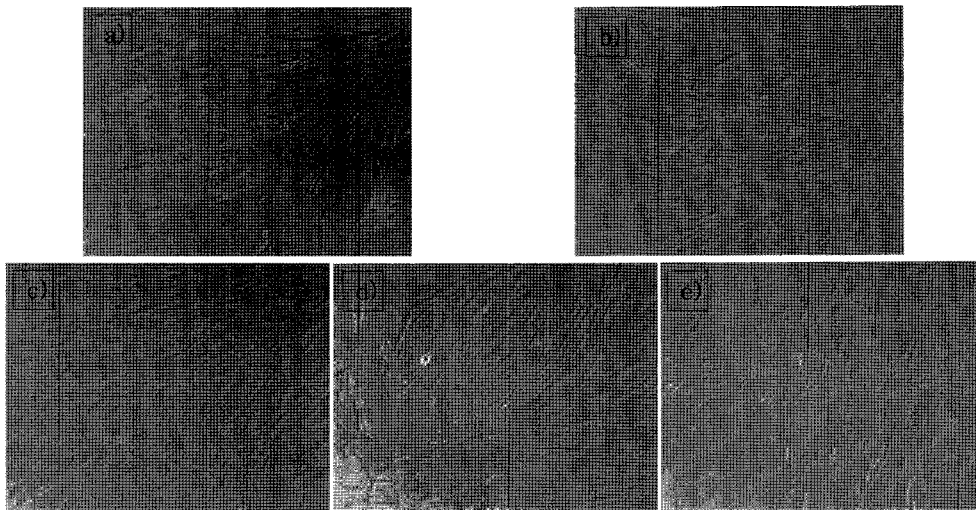


Fig. 4. Comparison of cell morphology in dermal fibroblast cell (CCD-986sk) with peptides (F1-F5) from the collagen isolated from *Asterias amurensis* at the 30th day. a) F1: Fraction No. 4-13, 116 kDa, b) F2: Fraction No. 25-30, 100 kDa, c) F3: Fraction No.4 5-55, 58 kDa, d) F4: Fraction No. 59-63, 43 kDa, e) F5: Fraction No. 79-90, 24 kDa.

(14), 본 실험에서는 유의적인 차이점이 발견되지 않아 형태학적 이상이 없음을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 세포수준에서 불가사리에서 초음파와 collagenase를 이용하여 추출한 peptides가 전혀 독성을 나타내지 않는 것으로 해석할 수 있다.

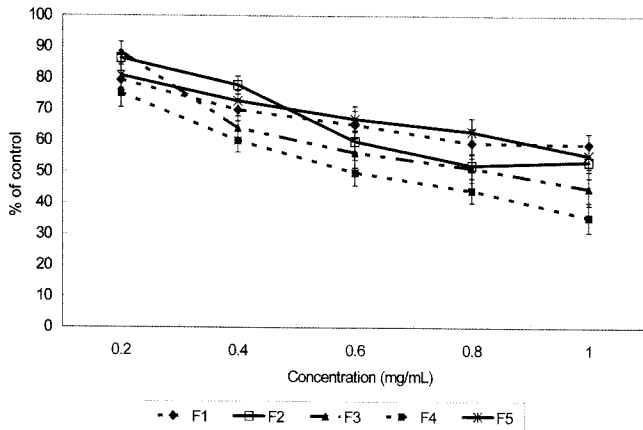
#### UVA 처리를 이용한 주름 발현 저해 효과

피부의 광노화에 의한 피부주름생성에 중요한 역할을 담당하고 있는 MMP-1의 발현은 UVA에 의해 세포에서 JNK/p38 활성화도가 증가하고 전사인자인 AP-1의 활성화도가 증가되는 신호전달 경로를 통해 MMP-1 발현을 증가시켜 피부에서 교원질의 결핍을 초래한다고 알려져 있다(15). 이러한 UVA에 의해 발현이 증가되는 MMP-1에 미치는 불가사리 peptides의 영향을 알아보고자 HDFs에 UVA를 조사하고 시료를 첨가하여 24시간 동안 배양한 후 MMP-1 발현 저해 효과를 ELISA로 측정하여 Fig. 5에 나타내었다. 그 결과 시료를 첨가하는 농도에 의존적으로 MMP-1 발현 저해율이 높아져 최고 농도인 1.0 mg/mL에서 F1부터 F5까지 대조군과 비교하여 각각 40, 46.3, 56.8, 57.9, 62.4%의 저해율을

보였다. 0.2 mg/mL의 농도에서도 대조군 대비 75.8, 78.8, 81.6, 87.2, 89.1%를 보임으로써 확실한 UVA에 대한 효과가 있음을 나타내었다. 이는 외부적 스트레스인 UVA에 의해 발생된 JNK/p38에서 AP-1의 활성화도를 증가시키는 과정을 억제한 것으로 볼 수 있으며 결과적으로 MMP-1의 발현을 효과적으로 조절한 것이라 사료된다. 또한, UVA 광조 시 발생하는 유리 라디칼의 제거도 MMP-1의 발현에 영향을 주었으리라 사료된다. 따라서 각 peptides에 관한 항산화 효과에 관한 연구 검토가 필요하다고 사료된다.

#### 요 약

불가사리 골편의 콜라겐으로부터 활성 펩타이드를 분리하기 위하여 초음파를 처리하여 조직을 단편화 시키고 이후 collagenase를 처리하였다. 초음파를 처리할 경우 40 kHz의 경우 38.89%의 수율을 나타내었다. 이후 펩타이드의 분자량을 측정하여 12, 20.6, 24, 43, 58a, 100, 116 kDa에서 특정 밴드를 보였다. 이후 Sephadex G-75 컬럼을 이용하여 fraction 별로 모아 사용하였다. 세포



**Fig. 5.** Effect of peptides (F1-F5) from the collagen isolated from *Asterias amurensis* on the production of MMP-1 in UVA-irradiated human dermal fibroblast (CCD-986sk). a) F1: Fraction No. 4-13, 116 kDa, b) F2: Fraction No. 25-30, 100 kDa, c) F3: Fraction No. 4 5-55, 58 kDa, d) F4: Fraction No. 59-63, 43 kDa, e) F5: Fraction No. 79-90, 24 kDa.

독성을 측정하고 시료 처리 후 형태학적 관찰을 동반한 결과 24 kDa의 경우 최고 농도인 1.0 mg/mL에서 26.7%를 나타내었으며 4번의 계대 이후에도 형태학적 변화가 나타나지 않아 독성이 없다고 해석할 수 있다. 이후 UVA처리 후 MMP-1의 발현을 탐색한 결과 116 kDa부터 24 kDa까지 최고농도인 1.0 mg/mL에서 40, 46.3, 56.8, 57.9, 62.4%의 control 대비 저해율을 보였다. 외부적 스트레스인 UVA에 의한 AP-1의 활성도를 증가시키는 과정을 억제하는 것으로 볼 수 있으며 결과적으로 MMP-1의 발현을 효과적으로 조절한 것이라 사료되어 향후 불가사리 콜라겐 유래 펩타이드의 항장소재 활용 가능성이 높다고 할 수 있겠다.

### 감사의 글

본 연구는 해양수산부 수산특정연구개발사업의(과제번호: 20060024) 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과이며, 지원에 감사드립니다.

### 문헌

1. Lee CH, Ryu TK, Chang M, Choi JW. Effect of silver, cadmium, chromium, copper, and zinc on the fertilization of the northern Pacific asteroid, *Asterias amurensis*. B. Environ. Contam. Tox.

73: 613-619 (2004)  
 2. Lee CK, Lee DS, Hwang KC, Song KC, Jang YS. Component and effect of manufactured fertilizer from starfish. Report of National Fisheries Research and Development Institute. 77: 57-74 (1989)  
 3. Kim IH, Seo JK, Kim UJ, Kim CH, Ko HJ, Kim CH, Park NK. Screening and refining of bioactive substance from *Asterina pectinifera*. pp. 215-216. In: Spring symposium of marine society organization. October 19, Kangnung University, Kangnung, Korea. Korea International Economic Association, Daegu, Korea (2001)  
 4. Jerome SP, Gabrielle L, Raul F. Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. J. Invest. Dermatol. 90: 48-54 (1998)  
 5. Jin MH, Jung MH, Lim YH, Lee SH, Kang SJ, Cho WG. Promoting synthesis of collagen from *Angelica dahurica* root. Korean J. Pharmacogn. 35: 315-319 (2004)  
 6. Kishimura H, Hayashi K. Isolation and characteristics of carboxypeptidase B from the pyloric ceca of the starfish *Asterias amurensis*. Comp. Biochem. Physiol. B 133: 183-189 (2002)  
 7. Chung K, Kim WI, Hong IK, Park KA. Ultrasonic energy effects on squalene extraction from amaranth seed. Appl. Chem. 4: 149-152 (2000)  
 8. Benesova T, Ales H, Pilin A, Votruba J, Fliieger M. A modified HPLC method for the determination of aspartic acid racemization in collagen from human dentin and its comparison with GC. J. Sep. Sci. 27: 330-334 (2004)  
 9. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods 65: 55-63(1983)  
 10. Karsen R, Hervik A, Schlichting E. Medical logistics: Principles applied to diagnostics and therapy in women with symptoms and signs of breast cancer. Tidsskr. Norske. Laege. 123: 1687-1690 (2003)  
 11. Dunsmore JD, Savini G, Robertson ID. Studies on pathogenesis, tissue infection, and congenital transmission in cows experimentally infected with *Sarcocystis cruzi* by various routes. Vet. Parasitol. 64: 319-327 (1996)  
 12. Maksimenko AV, Konovalova OI, Petrov AD, Arkhipova OG, Torchilin VP. Comparative study of the properties of preparations of native and modified collagenase. B. Exp. Biol. Med. 105: 342-346 (1988)  
 13. Park YH, Kim MR. A study on the tyrosinase inhibitor from mushroom *Phellinus ribis*. Soonchunhyang J. Nat. Sci. 1: 183-188 (1995)  
 14. Byon JY, Ohira T, Hirono I, Aoki T. Comparative immune responses in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* after vaccination with viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) recombinant glycoprotein and DNA vaccine using a microarray analysis. Vaccine 24: 921-930 (2006)  
 15. Kim JS, Kim JD, Kang MJ, Ahn HY, Kim DJ. Collagen-induced activation of MMPs (membrane-type matrix metalloproteinase and matrix metalloproteinase-2) in ovarian cancer cell lines *in vitro*. Korean Soc. Obstet. Gynecol. 43: 1972-1978 (2000)