

양식산 황복에서 tetrodotoxin 유사 독소의 미량 존재 가능성 제시

김도영* · 김주완** · 박기석 · 강희웅*** · 전중균**** · 정준기***** · 최상훈 · 최민순 · 박관하†

군산대학교 해양과학대학 수산생명의학과, *한국생명공학연구원 바이오평가센터
국도해양부 목포지방해양항만청 완도사무소, *국립수산과학원 서해수산연구소
****강릉대학교 생명과학대학 해양생명공학부, *****부경대학교 수산과학대학 수산생명의학과

Possible existence of tetrodotoxin-like toxins in cultured river puffer fish, *Takifugu obscurus*

Do-Young Kim*, Ju-Wan Kim**, Ki-Seok Park, Hee-Woong Kang***, Joong-Kyun Jeon****, Joon-Ki Chung*****, Sang-Hoon Choi, Min-Soon Choi and Kwan Ha Park†

Department of Aquatic Life Medicine, College of Ocean Science and Technology, Kunsan National University, Korea
*Bio-Evaluation Center, KIRBB, Ochangeup, Cheongwongun, Korea
**Wando Maritime Office, Mokpo Regional Maritime Affairs and Port Office, MLTMA, Wando-Gun, Cheonam, Korea
***West Sea Fisheries Research and Development Institute, NFRDI, Incheon, Korea
****Division of Marine Bioscience and Technology, College of Life Sciences, Kangnung National University, Kangnung, Korea
*****Department of Aquatic Life Medicine, College of Fisheries Sciences, Pukyung National University, Busan, Korea

It was examined whether the common belief that "cultured puffer fishes do not contain tetrodotoxin (TTX)", the major lethal substance that accidentally causes death in consumers of those fishes, is true in river puffer fish *Takifugu obscurus*. In mouse bioassay, lethal levels of toxins were detected in the ranks: gonad>liver>intestine>muscle>skin in wild puffer fish. In contrast, no mortality occurred in the mouse bioassay on cultured fish. However, there were sleepiness, sluggish behavior, and hind limb paralysis with the tissue extracts of cultured fish suggesting the presence of TTX or other similarly acting toxins. An attempt to confirm the presence of TTX in cultured fish with high performance liquid chromatography (HPLC) was not very successful. The results suggest possible existence of TTX toxins or similarly acting toxins.

Key words: Tetrodotoxin (TTX), Bioassay, Wild puffer fish, Cultured puffer fish

황복(*Takifugu obscurus*)은 복어목 참복과 (Tetraodontidae)에 속하는 어류로 성어가 되면 전장이 30cm쯤까지 성장한다. 황해와 동지나해에 흐르는 대륙의 큰 강에 서식하고 있고, 중국의 전당강, 양자강, 황하 및 요하 등에 산재하고 한국에서는 낙동강, 금강, 한강, 대동강 및 압록강 등 큰 강의 하류에 서식하였으나 현재에는 강들의 수질 악화로 개체수가 많이 감소하였다.

흔히 자연산 황복은 다른 복어류 처럼 신경마비를 유발하는 천연 맹독소를 함유하고 있어 부적당한 요리를 식용으로 이용하는 경우 치사사고가 가끔 발생되고 있다(안 등, 1999). 이런 독소에 대하여 1909년 田原이 tetrodotoxin(TTX)으로 명명하였으며, 이 독소는 물과 유기 용매(벤젠, 알콜)등에는 녹지 않고, 산(초산, 염산)등에 잘 녹는다(수산식품분석지침서, 1998).

†Corresponding Author : Kwan Ha Park, Tel : 063-469-1885
Fax : 063-463-9493, E-mail : khpark@kunsan.ac.kr

TTX는 복어류 체내에서 자체 합성하는 것이 아니라, 미생물이 합성한 것을 섭이를 통해, 복어체내에 저장된다고 하는 것이 일반적인 이론이다. 신경에 자극이 가해지면 축색막의 Na⁺의 투과성이 급격히 증가하면서 탈분극(depolarization)이 일어나는데 TTX는 Na⁺의 투과를 선택적으로 봉쇄하여 신경활동 전위를 차단함으로써 말초기관 마비, 호흡마비, 혈압하강, 구토 등의 증상을 보이며 적절한 조치가 이루어지지 않으면 사망에도 이르게 한다(김경환, 2003). 복어의 함유된 독소의 양은 어종별로 다른 뿐 아니라 동일 어종이라도 서식환경에 의해서도 차이를 보인다(Tani, 1945; 김경찬 등, 1995; 김동수 등, 1995)

Saito *et al.*(1984)은 양식산과 자연산 자주복의 TTX함량에 대한 비교 연구를 통해 양식된 자주복의 독성이 매우 약함(<10MU/g)을 확인하였으며 TTX는 복어의 난소 및 간장에서 높은 농도로 검출됨을 보고하였다. 복어독 중독사고는 자연산 복어를 먹은 사람에게서만 보고되어 왔으며, 양식한 복섬(*Fugu niphobles*)이나 양식산 자주복에서는 TTX가 검출되지 않는다는 보고(Matsui *et al.*, 1982; Saito *et al.*, 1984) 이래 양식산에서는 TTX가 존재하지 않는다고 일반적으로 믿고 있다. 전 등(1995)이 한국산 자연산 황복(*Takifugu obscurus*)의 장기별 독소의 함유량을 분석한 결과 정소, 내장, 담낭과 비장은 강독, 근육과 껍질은 약독, 혈액은 무독함을 관찰하였으며 이 독소는 모두 자연산 복어에 한정되어 나타남을 보고하였다.

한편 이런 연구들은 사람을 치사시킬 수 있는 위험한 수준의 독소를 함유하고 있는가 아닌가만을 판정하기 위해 만들어진 공정시험법 따라 시험(수산식품품질검사원, 1998; 衛生試驗法, 1995) 한 후 동물이 치사하는 경우에만 TTX 양성이라고 정의하고 있다. 따라서, 치사에 이르지 못하는 미량을 함유하는 경우에는 인체에 전혀 위험하지 않기 때문에 전혀 함유되지 않은 것과 동등하게 취급하지만 실제로 농도가 영(zero)이

라는 의미는 아니다. 자연산 복어는 환경중의 다양한 TTX생산 미생물을 섭이함으로써 TTX가 축적(Yasumoto *et al.*, 1986; Noguchi *et al.*, 1989)된다고 믿고 있지만 복어를 양식하는 사육수에서 이런 미생물들이 전혀 존재하지 않는다고 보기는 어려울 것이다.

본 연구에서는 유사한 크기의 자연산 및 양식산 황복에서 TTX의 함유량에 차이가 있는지를 시료의 추출액을 최대한 농축한 후 mouse를 이용한 bioassay법으로 이 의문을 규명하고자 시도하였다.

재료 및 방법

표준물질

TTX(순도 >95.0%)의 분석을 위한 표준물질은 Alomone Labs (Jerusalem, Israel)에서 구입한 것을 비교용으로 사용하였다. 시험에 사용한 다른 시약은 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입한 reagent grade의 것을 사용하였다.

황복시료

황복의 TTX의 독성 분석을 위한 시료는 자연산 황복(체장: 22.15±4.39 cm, 체중: 299.45±96.85 g) 9 마리를 인천 강화도부근에서 2003년 1년간 수회에 걸쳐 채집하였고 양식산 황복(체장: 21.73±3.58 cm, 체중: 304.29±116.18 g)은 시중에서 유통중인 황복 9 마리를 동시기에 구입하여 냉동상태로 실험실로 운반해 deep freezer에 -70℃에서 보관하고 실험시에 녹여서 사용하였다.

Bioassay용 mouse

Mouse(ICR계, 웅성, 다물사이언스, 대전)에서 specific pathogen-free상태인 것을 구입하여 실험실에서 순치시킨 후 생후 4주령(19-21 g)이 되었을 때 사용하였다.

Mouse를 이용한 TTX의 정량(bioassay)

TTX를 추출하기 위해 황복의 조직(근육, 간,

생식소, 장, 피부)을 미리 세절하고 homogenizer로 충분히 마쇄하였다. 시료 10 g을 환류냉각관이 부착된 200 ml 환저플라스틱에 취하여 2% 초산성메탄올 50 ml을 넣고 환류냉각관을 연결하여 70~75°C에서 10분간 가온하였다. 가온 후 시료액을 동양여과지 No. 5A로 여과하고 감압 농축한 뒤, 증류수를 넣고 분액깔대기로 옮긴 다음 에틸에테르로 2회 탈지하였다. 수욕중에서 넣고 에테르를 감압제거하고 증류수를 넣어 20 ml로 정용하였다(이때 1 ml는 시료 0.5 g에 상당).

Mouse에서의 독량평가는 수산식품분석지침서(국립수산물품질검사원, 1998)에 따라 수행하였다. 즉, 우선 예비시험에서는 조독원액(crude extract)에 증류수를 사용하여 10, 100, 1,000, 10,000배까지 희석하여 이 용액 1 ml씩을 2마리 mouse의 복강 내에 주사하여 증상, 사망여부를 관찰한 후 5분간에 사망한 희석독액에 대하여 다시 공비 1, 2, 4배로 단계 희석한 뒤, 각 희석액을 1 ml씩을 2마리 mouse의 복복질 내에 주사하고 10분 정도에서 사망하는 피검액에 대하여 다시 3~5마리의 mouse에 1 ml씩 주사하여 독량을 주어진 표에 의하여 계산하였으며 1 MU를 0.22 µg으로 하여 계산하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서 자연산 황복에 존재하는 TTX가 양식산 황복에서도 존재하는가에 대한 해답을 얻을 목적으로 bioassay 방법으로 분석을 수행하였다. 본 연구의 결과로 bioassay를 통해 자연산에서는 예상대로 상당한 수준의 독성이 여러 장기에서 발견되었다(Table 1). 즉, 현재 국내 및 일본에서 인체에 무해한 수준의 TTX양을 10 MU/g tissue로 설정(수산식품분석지침서, 1998; 衛生試驗法·註解, 1995)하고 있으며 이 기준에 의하면 총 45개의 장기별 시료 중 9개에서 간장 또는 생식소의 TTX 수준이 이 기준을 상회하는 것으로 보인다.

한국산 황복의 독성을 연구한 전 등(1995)의

bioassay를 이용한 연구 결과에서는 근육의 평균 독력은 5 ± 3 MU/g, 간장은 181 ± 58 MU/g, 생식소는 숫컷이 71 ± 35 MU/g, 암컷이 268 ± 67 MU/g, 장에서는 64 ± 13 MU/g 그리고 피부는 20 ± 4 MU/g인 것으로 보고하고 있다. 본 연구에서는 자연산 황복의 근육이 3.39 ± 1.91 MU/g(평균 \pm 표준편차)이었으며 간장 30.9 ± 28.8 MU/g, 생식소는 47.45 ± 65.49 MU/g이었다. 장과 피부의 경우에는 각각 3.51 ± 1.39 MU/g과 1.84 ± 0.53 MU/g으로 전의 연구에서 보다는 대체적으로 낮은 독력이 관찰되었다. 그러나 TTX의 축적량은 계절, 수온 등 다양한 서식환경에 의한 영향을 받을 것이지만 두 연구에서의 시료 채취시기가 크게 다르지 않으며 결과에 근본적인 차이가 있다고 보기도 어려울 것이다.

한편 양식산 황복의 경우에는 bioassay에서, 독력이 매우 약해서 사망하는 동물이 출현하지는 않았지만 추출액의 복강 투여 후 많은 개체에서 줄거나 자극을 주어도 거의 움직임이 없는 증상이 관찰되었다(Table 2). 일부의 시료에서는 TTX 또는 유사 물질(예, paralytic shellfish poisons)의 전형적인 독성작용기전에 해당하는 신경계의 마비로 판단되는 후지 마비증세를 일으키는 것이 발견되었다. 양식산에서의 이 결과가, 공정법에 따라 복어의 독력을 측정하는 방법 및 기준(수산식품분석지침서, 1998)에 의하면 분명히 안전하다고 인정되는 수준이며, 또한 동물에서 나타나는 미약한 증상으로 미루어 낮은 수준이기는 하나 TTX 또는 다른 유사작용 물질을 함유하고 있을 것으로 강한 의구심을 갖게 한다.

Bioassay의 결과 양식산에도 TTX가 미량이기 는 하나 존재할 것으로 추정되어 자연산 황복과 양식산 황복의 조독원액을 정제하여 HPLC를 이용한 기기적인 분석을 시도하였다. 그러나 자연산의 경우에는 bioassay의 결과에서 예상되는 TTX의 양의 17-36%에 상당하는 TTX의 양을 독력이 아주 강한 시료들에서만 확인할 수 있었으며, 독력이 약한 일부의 시료와 양식산에서는 TTX로 의심되는 지문 peak(정량한계 이하)를

관찰하거나 또는 검출에 실패하여서 결과에는 삽입하지 않았다.

본 연구에서 양식산 황복에서 기기분석학적 방법으로 TTX를 분석하는 데 실패한 근본적인 이유는 TTX의 함량이 매우 낮을 뿐 아니라 HPLC의 TTX의 검출능력은 bioassay보다 결코 예민하지가 못하기 때문이다(Nuñez-Vázquez *et al.*, 2000). HPLC를 이용한 분석법에서는 조직중에 방해물질이 다양하게 들어 있기 때문에 시료의 전처리과정 중의 clean-up이 필수적(Nagashima *et al.*, 1999)이며, 그 결과 본 연구에서 TTX의 회수율은 32% 정도로 결코 bioassay보다 예민하지 못하였다.

TTX의 농도가 낮은 경우 HPLC 분석법에서

또 다른 장애요인은 복어조직내에는 독성을 발휘하는 물질로 TTX 만이 존재하는 것이 아니고 다른 근연물질, 4-epiTTX, 4,9-anhydroTTX, 4-cysTTX 등도 공존한다는 점이다. 복어의 종류에 따라서는 TTX 이외에 saxitoxin과 같은 전혀 다른 종류의 독소가 존재하기도 한다(Kungsuwan *et al.*, 1997; Yotsu-Yamashita *et al.*, 2001; Jang *et al.*, 2006). 이 모든 독소들이 bioassay에서는 TTX로 계산되지만 TTX 자체는 전체 독소의 50%이하에 불과하다(Nuñez-Vázquez *et al.*, 2000; Jang *et al.*, 2006).

자연산의 복어에 존재하는 TTX는 *Vibrio* spp.를 포함한 수종의 수생미생물에서 생성되어 먹이연쇄를 통해 복어에 축적된다고 믿어지고 있

Table 1. TTX levels in wild *Takifugu obscurus*

Sample No.	Sex	TTX levels					
		TTX level	Muscle	Liver	Gonad	Intestine	Skin
1	♂	Bioassay (mouse unit/g)	2.12	97.20	1.65	1.22	1.78
		Expected TTX ($\mu\text{g/g}$)	0.47	21.38	0.36	0.27	0.39
2	♂	Bioassay (MU/g)	2.79	124.50	182.0	4.59	1.86
		Expected TTX ($\mu\text{g/g}$)	0.61	27.39	40.0	1.01	0.41
3	♀	Bioassay (MU/g)	2.95	101.60	2.15	3.13	1.57
		Expected TTX ($\mu\text{g/g}$)	0.65	22.35	0.47	0.69	0.34
4	♀	Bioassay (MU/g)	1.26	8.43	0.96	5.0	2.50
		Expected TTX ($\mu\text{g/g}$)	0.28	1.85	0.21	1.10	0.55
5	♀	Bioassay (MU/g)	2.90	94.20	0.89	5.11	2.56
		Expected TTX ($\mu\text{g/g}$)	0.64	20.72	0.20	1.12	0.56
6	♀	Bioassay (MU/g)	1.47	3.86	1.84	2.30	1.15
		Expected TTX ($\mu\text{g/g}$)	0.32	0.85	0.41	0.51	0.25
7	♂	Bioassay (MU/g)	9.73	56.2	207.6	2.71	1.35
		Expected TTX ($\mu\text{g/g}$)	2.14	12.36	45.67	0.60	0.30
8	♀	Bioassay (MU/g)	5.62	77.6	26.55	5.62	2.81
		Expected TTX ($\mu\text{g/g}$)	1.24	17.1	5.84	1.24	0.62
9	♀	Bioassay (MU/g)	1.66	8.43	3.45	1.96	0.98
		Expected TTX ($\mu\text{g/g}$)	0.37	1.86	0.76	0.43	0.22

Expected TTX level was calculated based on the assumption that 1 mouse unit (MU)/g is equivalent to 0.22 $\mu\text{g/g}$ tissue (수산식품분석지침서, 1998).

다(Yasumoto *et al.*, 1986; Noguchi *et al.*, 1989; Ritchie *et al.*, 2000). 따라서 양식한 복어는 미생물을 섭취한 먹이생물에 의존해 사육되지 않기 때문에 TTX이 함유되어 있지 않다고 일반적으로 믿고 있다(Matsui *et al.*, 1982; Saito *et al.*, 1984). 합성사료를 공급하여 양성한 복어에서는 TTX가 농축될 확률이 적지만 양식산이라고 해서 이런 TTX합성 미생물이 완벽하게 제거된 사육수에서 양식할 수는 없을 것이며 따라서 적어도 미량은 양식산 복어의 체내에 저장될 것이다. 따라서 양식산에서는 TTX가 존재하지 않을 것이라는 통념에 대해서는 의문이 제기되고 있다. 즉, Matsumura(1995)는 TTX를 검출하기 위한 방법으로 매우 예민한 분석법인 enzyme im-

munoassay(EIA)를 개발하였고, 이 방법을 사용하여 자주복의 장기별로 TTX를 분석해 보면 양식산의 간장, 피부, 근육, 내장 등에서 모두 TTX를 검출할 수 있었다(Matsumura, 1996).

양식산 복어에서 TTX의 존재가능성에 대한 또 다른 설명은 TTX가 전부 외래성이 아닐 수도 있다는 점이다. 자주복의 알을 부화단계에서 embryo에 이르는 단계까지 기르면서 관찰하면 세포 내에서 이미 TTX를 합성하는 것이 관찰된다(Matsumura, 1998). 이런 사실은 복어의 TTX는 주로 먹이연쇄를 통해서 축적되어 가지만 일부는 복어의 장기로부터 자체 합성되고 있을 수도 있음을 시사하기 때문이다. 황복에서는 TTX의 생성과 관련하여 어떤 현상이 일어나고 있는

Table 2. Symptoms in mice injected with organ extracts of cultured *Takifugu obscurus*

Sample No.	Sex	Symptoms				
		Muscle	Liver	Gonad	Intestine	Skin
1	♂	Dull behavior	-	-	Dull behavior	Dull behavior
		Gaspings			HLP	Sleepiness
2	♀	Dull behavior	Sleepiness	Dull behavior	Sleepiness	Dull behavior
		Sleepiness		HLP		
3	♂	Dull behavior	Sleepiness	-	Dull behavior	Sleepiness
		Sleepiness	Dull behavior			HLP
4	♀	Dull behavior	Dull behavior	Dull behavior	HLP	-
			Sleepiness	HLP		
5	♂	Dull behavior	Dull behavior	-	Dull behavior	Sleepiness
		Sleepiness	Sleepiness		Sleepiness	
6	♂	Dull behavior	Dull behavior	-		Dull behavior
			Sleepiness			HLP
7	♂	Sleepiness	Dull behavior	-	HLP	-
			Sleepiness			
8	♂	Sleepiness	Dull behavior	-	Dull behavior	-
			Sleepiness			
9	♂	Dull behavior	Dull behavior	-	-	Dull behavior
		Sleepiness	Sleepiness			

All symptoms were examined with 10-fold concentrated extracts of initial solutions.

HLN: hind limb paralysis

지 전혀 알려진 바가 없으나 이런 경우라면 양식산에서 TTX가 검출된다고 하더라도 별로 놀랄 것은 없을 것이다.

이 연구에서는 양식산 황복에서 낮은 농도로 존재하는 것으로 의심되는 TTX를 기기분석학적으로 확인하지는 못하였지만, 적어도 다른 어떤 연구에서도 양식산 황복에서 TTX가 존재할 것인가 아닌가에 대해 다루고 있지 않기 때문에 본 연구의 bioassay에서 발견한 결과는 중요한 의미를 지닌다. 결론적으로 양식산 황복의 각종 조직에는 위험한 수준은 아니지만 TTX가 최소한 존재는 하는 것으로 판단되며, 다른 독소의 존재에 대한 연구도 필요한 것으로 생각된다.

요 약

양식산 복어에서는 tetrodotoxin(TTX)가 존재하지 않는다고 일반적으로 생각되고 있다. 본 연구에서는 실제로 양식산 황복(*Takifugu obscurus*)에는 TTX가 존재하지 않는지 확인하기 위해 생쥐를 이용한 bioassay로 여러 장기를 동시에 분석하였다. 자연산에서는 동물이 치사하는 수준의 독력을 함유한 시료가 있었으며 정소>간장>장>근육>피부의 순으로 독력이 확인되었다. 양식산 시료에서는 TTX의 미량존재로 추정되는 졸림, 행동둔화, 후지마비 등의 증상이 나타났지만 치사동물은 발견되지 않았다. 이 결과는 양식산 황복에서 TTX가 매우 낮은 농도로 존재할 가능성을 제시하지만 기기분석법을 이용한 정확한 정량이 필요하다고 판단된다.

사 사

본 논문은 2009년 군산대학교 수산과학연구소에서 출연한 학술연구비에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

수산식품분석지침서: 국립수산물품질검사원, pp.

342-354, 1998.

김경환: 이우주의약리학강의. 제 5판, 의학문학과, 1997.

김경찬, 박진우, 이명자, 김상록, 김동수, 김현대, 박영호: 시판되고 있는 까칠복(*Fugu stictonotus*)의 독성. Bull. Kor. Fish. Soc., 28:31-34, 1995.

김동수, 김삼록, 이명지, 설명훈, 정동윤, 김현대: 중국으로부터 수입된 삼채복(*Fugu flavidus*)의 독성. J. Kor. Fish. Soc., 28:533-538, 1995.

안석근, 임용수, 김재광, 민순식, 류 일, 양혁준, 박철완, 이 근: 복어 중독의 임상적 고찰. 대한응급의학회지, 10:447-455, 1999.

전중균, 유재명: 한국산 복어의 독성 I: 황복의 부위별 독성. J. Kor. Fish. Soc., 28:137-140, 1995.

衛生試驗法·註解: 日本藥學會編, 山根靖弘 編輯, 金原出版株式會社, 1995

Jang, J. and Yotsu-Yamashita, M.: Distribution of tetrodotoxin, saxitoxin, and their analogs among tissues of the puffer fish *Fugu pardalis*. Toxicon, 48: 980-987, 2006.

Kungsuwan, A., Arakawa. O., Promdet, M. and Onoue, Y.: Occurrence of paralytic shellfish poisons in Thai freshwater puffers. Toxicon, 35:1341-1346, 1997.

Matsui, T., Sato, H., Hamada, S. and Shimizu, C.: Comparison of toxicity of the cultured and wild puffer fish *Fugu niphobles*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 48:253, 1982.

Matsumura, K.: A monoclonal antibody against tetrodotoxin that reacts to the active group for the toxicity. Eur. J. Pharmacol., 293:41-45, 1995.

Matsumura, K.: Tetrodotoxin concentrations in cultured puffer fish, *Fugus rubripes*. J. Agr. Food Chem., 44:1-2, 1996.

Matsumura, K.: Production of tetrodotoxin in puffer

- fish embryo. Environ. Toxicol. Pharmacol., 6:217-219, 1998.
- Nagashima, Y., Hamada, Y., Ushio, H., Nishio, S., Shimakura, K. and Shiomi, K.: Subcellular distribution of tetrodotoxin in puffer fish liver. Toxicon, 37:1833-1837, 1999.
- Noguchi, T., Jeon, J.K., Arakawa, O., Sugita, H., Deguchi, Y., Shida, Y. and Hashimoto, K.: Occurrence of tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin in *Vibrio* sp. isolated from the intestine of a xanthid crab, *Atergatis floridus*. J. Biochem., 99:311-314, 1986.
- Nuñez-Vázquez, E.J., Yotsu-Yamashita, M., Sierra-Beltrán, A.P., Yasumoto, T. and Ochoa, J.L.: Toxicities and distribution of tetrodotoxin in the tissues of puffer fish found in the coast of the Baja California Peninsula, Mexico. Toxicon, 38:729-734, 2000.
- Ritchie, K.B., Nagelkerten, I., James, S. and Smith, G.W.: A tetrodotoxin-producing marine pathogen. Nature, 404:354, 2000.
- Saito, T., Maruyama, J., Kanoh, S., Jeon, J.K., Noguchi, T., Harada, T. and Murata, O.: Toxicity of the cultured Pufferfish *Fugu rubripes* along with their resistibility against tetrodotoxin. Bull. Jpn Soc. Sic. Fish., 50:1573-1575, 1984.
- Tani, I.: Toxicological studies of puffers in Japan. Teikokutosho, Tokyo, pp. 55-57, 1945.
- Yasumoto, T., Yasumura, D., Yotsu, M., Michishita, T., Endo, A. and Kitaoki, Y.: Bacterial production of tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin. Agr. Biol. Chem., 50:793-795, 1986.
- Yotsu-Yamashita, M., Sugimoto, A., Terakawa, T., Shoji, Y., Miyazawa, T. and Yasumoto, T.: Purification, characterization, and cDNA cloning of a novel soluble saxitoxin and tetrodotoxin binding protein from plasma of the puffer fish, *Fugus pardalis*. Eur. J. Biochem., 268:5937-5946, 2001.

Manuscript Received : September 29, 2008

Revision Accepted : April 7, 2009

Responsible Editorial Member : Kim, Jung-Ho
(Kangnung National University)