

독성 *Alexandrium tamarense*의 EST 분석 및 삭시톡신 생합성 유전자의 확인

장만¹, 이주연¹, 정영재², 이건섭³, 김동균⁴, 이택견^{3*}
¹한국해양과학기술원 해양생태계연구부, ²신경대학교 생명공학과
³한국해양과학기술원 남해특성연구부, ⁴신라대학교 생명공학과

Expressed Sequence Tag Analysis of Toxic *Alexandrium tamarense* and Identification of Saxitoxin Biosynthetic Genes

Man Chang¹, Juyun Lee¹, Youngjae Chung², Gunsup Lee³, Dongguin Kim⁴
and Taek-Kyun Lee^{3*}

¹Marine Ecosystem Research Division, Korea Institute of Ocean Science and Technology

²Department of Life Science and Biotechnology, Shin Gyeong University

³South Sea Environment Research Division, Korea Institute of Ocean Science and Technology

⁴Department of Biological Science, Silla University

요약 *A. tamarense*로부터 ESTs library를 제작하였다. 이들의 염기서열을 분석하여 STX 생합성 관련 유전자를 클로닝하였다. 연구결과 827 클론의 염기서열이 분석되었고, 564개의 EST가 GenBank에서의 Blast search를 사용하여 기능에 따라 분류되었다. EST에서의 주요 유전자는 cellular organization, cell metabolism, energy, cell cycle과 DNA processing, cellular transport와 transport, cell rescue, defense, death와 aging 및 transcription 등으로 분석되었다. 특히 S-adenosylmethionine synthetase와 H2A histone family 유전자의 발현이 독성 *A. tamarense*에서 증가하였다. 이러한 결과는 두 개의 유전자가 *A. tamarense*에서의 삭시톡신 생합성을 검출하기 위한 좋은 바이오마커가 될 수 있음을 보여준다.

Abstract Expressed sequence tag (EST) library was constructed from *A. tamarense*. Base sequences of EST clones were analyzed and saxitoxin biosynthesis-related genes were cloned. Sequences of 827 clones were analyzed and 564 EST were functionally clustered using Blast searches against GenBank. Main genes in the EST had functions on cellular organization, cell metabolism, energy, cell cycle and DNA processing, cellular transport and transport, cell rescue, defense, death and aging, and transcription. Moreover, expression of S-adenosylmethionine synthetase and H2A histone family genes were increased in the toxic *A. tamarense*. These results show that two genes could be a good biomarkers for the detection of saxitoxin biosynthesis in the *A. tamarense*.

Key Words : *Alexandrium tamarense*, Biomarker, Biosynthetic genes, ESTs, Saxitoxin

1. 서론

해양미세조류는 전세계적으로 연안지역에서 적조 등과 같은 유해조류대발생(harmful algal bloom, HAB)을 유발한다[1]. 적조유발 외에도 일부 와편모조류는 독성물질

을 생산하여 먹이사슬의 상위단계 생물에 독성을 유발한다[2]. 와편모조류에 의해 합성되는 독성물질 중 하나의 그룹은 마비성패독증(paralytic shellfish poisoning, PSP)을 일으킨다. 이 그룹에 포함된 독성물질 중의 하나는 saxitoxin(STX)이며[2,3], STX는 와편모조류 외에 일부

본 논문은 해양수산부(PM57270) 및 한국해양과학기술원(PO00110)의 연구과제로 수행되었음.

*Corresponding Author : Taek-Kyun Lee(KIOST)

Tel: +82-55-639-8630 email: tklee@kiost.ac

Received March 19, 2013

Revised (1st May 6, 2013, 2nd May 8, 2013)

Accepted July 11, 2013

박테리아[4,5]와 남조류[6,7]에서도 생합성되는 것으로 알려져 있다. 그러나 STX의 생물학적 기능에 대해서는 아직까지도 잘 이해되지 않고 있으며, 특히 와편모조류의 STX 생합성과정의 조절에 관련해서는 거의 알려져 있지 않다[8].

STX 생합성 관련 유전자 연구는 와편모조류와 cyanobacteria 등에서 연구되었는데, *A. fundyense*에서 초기 G1 phase에 toxin 생합성에 관련될 것으로 추정되는 유전자가 발견되었고, 이 시기에 발현된 유전자들로는 S-adenosylhomocysteine hydrolase, methionine aminopeptidase, histone-like protein 등이 중요한 것으로 보고되었다[8]. *Gonyaulax polyedra*의 STX 합성 관련 연구 결과에 의하면 luciferin binding protein (LBP)이 cell cycle을 조절하여 G1 phase에서의 STX 생합성을 영향을 미친다[9,10]. Peridinin chlorophyll a binding proteins과 chlorophyll a to c binding proteins도 STX 생합성에 관련된 유전자로 알려져 있다[11,12]. 또한 cell cycle을 조절하는 단백질로 알려진 CDC2 kinase는 *Gambierdocus toxicus*에서 연구되었으며, STX 생합성과 관련되었을 것으로 예상된 바 있다[13,14]. 그러나 아직까지도 해양미세조류에서의 STX의 생합성과정은 완벽하게 이해되지 않고 있고, 특히 STX 생합성 미세조류를 검출할 수 있는 바이오마커 개발 연구는 미진하다.

STX 생합성 관련 유전자 발현 분석과 같은 분자생물학적 연구는 *Alexandrium* 종의 생리적 기작과 대발생을 이해하는데 중요하다. cDNA library로부터 expressed sequence tags(ESTs)의 제작은 발현된 유전자를 탐색하고 분리하기 위한 좋은 접근방법이다[15]. 이 기술은 빠르고, 경제적이며, 주어진 생물의 유전자 발현을 확실하게 탐색할 수 있는 기술이다. 그러나 *A. tamarense*로부터 ESTs를 제작하고, 이를 통하여 STX 생합성 관련 유전자를 탐색하고자 하는 연구는 아직까지 보고되지 않고 있다.

이 연구에서는 대표적인 STX 합성 미세조류인 *A. tamarense*로부터 RNA를 추출하고, 이를 이용하여 EST library를 구축하였다. EST clone의 염기서열 분석을 통하여 클론된 유전자의 특성을 파악한 후, STX 생합성 관련 유전자를 분리하였다. 분리된 유전자는 발현분석을 통하여 STX 생합성을 진단할 수 있는 바이오마커로 개발하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 세포 배양

순수분리된 무독성 *A. tamarense*를 250 mL 플라스크

를 이용하여, 100 mL의 f2/Si 배지(Table 1)에 접종하고, 20°C 배양기에서 배양하였다. 광조건은 150 μM photon $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 cool-white fluorescence lamp를 이용하여, 14시간의 광주기와 10시간의 암주기를 daily cycle로 주었다.

[Table 1] Composition of culture media.

f/2 medium	
Component	(per liter)
NaNO ₃	880 μm
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	36 μm
Vitamin B12	0.3 μg
Biotin	1.0 mg
Thiamine	0.1 μg
Metal mixed sol.	1.0 mg
DW	193 ml
Tris	0.55 g
Soil extract	5.0 ml
Sea water	800 ml
pH	7.4

2.2. EST library 제작

지수성장기(10^7 cells/mL)에 도달한 *A. tamarense*를 4,400×g로 5분 동안 4°C에서 원심분리하여 세포를 모았다. 액체질소내에서 막자사발을 이용하여 미세조류 세포를 파쇄한 후, 5 mL의 Trizol reagent(Molecular Research Center Inc.)를 첨가하여 total RNA를 추출하였다. Spectrophotometer를 이용하여 A₂₆₀의 값을 측정하여 정량한 후, -70°C에 보관하였다. 1 mg의 total RNA를 polyA Tract mRNA isolation kit(Promega Co.)을 이용하여 mRNA를 분리하였다. 분리된 mRNA 수용성 층을 멸균된 튜브로 옮긴 후, 다음 실험에 사용되거나, 지속적인 실험을 위하여 -80°C deep freezer에 보관하였다.

5 μg 의 mRNA를 lambda phage cDNA library 제작(Zap cDNA cloning kit, Stratagene Co.)에 사용하였다. 1st cDNA는 75 unit의 Strata Script reverse transcriptase와 2.8 μg 의 linker primer를 사용하여 합성하였다. 2nd cDNA는 99 unit의 DNA polymerase I과 3 unit의 RNase H를 사용하여 합성하였다. 5 unit의 Pfu DNA polymerase를 사용하여 blunt termini를 형성시켰다. 전기영동에 의해서 500 bp보다 큰 cDNA fragment들을 겔로부터 회수한 뒤 Uni-ZAP XR vector를 이용하여 ligation 반응을 수행하였다. Recombinant plasmid들은 *E. coli*에 형질전환하였고, ampicilin이 첨가된 LB agar plate상에 도말하였다.

2.2 EST library 염기서열 분석

확보된 EST library clone을 확인하기 위해서 대량의

plasmid mini-prep system을 이용하여 high-throughput screening을 실시하였다. 이를 위해서 Core-One Plasmid HTS Prep Kit(PHTS-30; for 96 well format, Corebio)을 이용하였다. 96 well plate format으로 9개의 plate에 construction된 EST clone 3 µL를 1 mL Hogness Freezing Medium(Table 2)이 담긴 96 well deep well plate에 접종하였다. Breathing paper로 덮고, 18시간 동안 37°C 혼탕 배양기에서 250 rpm으로 배양하였다. 723개의 cultured EST clone은 Union 32R plus centrifuge(Hanil Co.)를 이용하여 plate 상태로 3,000 rpm, 4°C에서 원심분리하여 *E. coli* 세포만을 수집하였다.

[Table 2] Hogness Freezing Medium

Nutrients	Final concentration
K ₂ HPO ₄	36 mM
KH ₂ PO ₄	13.2 mM
MgSO ₄	0.4 mM
Na ₃ -citrate	1.7 mM
(NH ₄) ₂ SO ₄	6.8 mM
Glycerol	4.4%

회수된 세포에 냉장 보관중인 cell resuspension buffer 100 µL를 첨가하고, 혼탕배양기에서 250 rpm으로 5분간 현탁시켰다. 상온 보관된 120 µL의 cell lysis buffer를 첨가한 뒤, 다시 1분간 250 rpm 으로 혼탕배양기에 현탁 후 2분간 상온에 방치하였다. Cell lysis buffer에 의해서 용융된 세포 용액에 150 µL의 DNA binding buffer를 첨가하고, 250 rpm 속도로 2분간 혼탕배양기에 현탁 후 deep well plate를 3,000 rpm 4°C에서 20분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액을 binding plate에 200 µL씩 옮겨 분주한 뒤 상층액이 plate 하단의 filter에 잘 흡수되도록 5분간 방치시켰다.

진공장치를 이용하여 2분간 용액을 필터하고, 95% 에탄올을 200 µL씩 첨가하여 2회 세척하였다. 세척 후 1분간 방치하고, plate를 진공장치에서 분리하여 종이타월 위에 두고, 세척액의 습기를 제거하였다. Alignment frame 위에 plate를 두고 2,000 rpm 4°C로 5분간 원심분리하여 세척액을 완전히 제거하였다. 96 well round plate 위에 alignment frame을 놓고, binding plate를 맨 위에 위치시킨 후 3차 증류수를 70 µL 첨가하여 5-10분간 방치시켰다. 2,000 rpm 4°C에서 10분간 원심분리하여 DNA를 회수하였다. 회수된 DNA가 담긴 plate를 55°C 건조기에 두어 완전 건조시켰다. 건조된 DNA를 40 µL의 멸균수를 첨가하여 녹였다. 회수된 plasmid DNA를 전기영동을 통하여 확인하였다.

선발된 827개 클론들은 각 유전자의 5'-말단 부위의 염기서열을 분석하였으며, 각 염기서열의 Data Base 조회결과(NCBI Blast program)에 따라 유전자를 동정하였다.

2.3 STX 관련 유전자의 분리

827개의 *E. coli* 클론을 각각 plasmid miniprep하여, 일정한량(2-3 µg)을 slot을 이용, nytran membrane에 blotting한 후 *A. tamarensis* toxic strain과 non-toxic strain에서 분리한 total RNA를 이용하여 dot-blot hybridization을 수행하였다. 전체 ESTs에 대한 toxic strain과 non-toxic strain으로부터의 mRNA를 이용한 reverse northern dot blotting에 의해서 발현량이 증가되거나 감소된 클론을 선별하였다. 전체 827개의 clone 중 발현량의 증감 차이를 보인 35개의 clone을 1차 선별하고, 선별된 35개의 clone을 재확인한 결과 10개의 clone에서 현격한 증감이 구분되었고, 그 중 EST library data를 분석하여 2개의 STX의 생합성 혹은 STX의 분비와 관련된 유전자를 분리하였다.

2.4 STX 관련 유전자의 발현 분석

이전 실험에서 확인된 2개의 유전자에 대한 toxin 생성조건에 따른 시간적 발현변화를 real time PCR 방법을 이용하여 확인하였다. Real time PCR의 수행을 위해서 미세조류 배양 동안 시간별로 total RNA sampling을 실시하였다. 확보된 각각의 total RNA를 이용하여 1st strand cDNA를 만들고, internal control로 18s rRNA 유전자(primer 염기서열, forward 5'-TTGATCCTGC CAGTAGTCATATGC-3' 및 reverse 5'-CCTTGT ACGACTTCTCCTTCTC-3') 및 STX에 관련된 2개의 유전자(SAM synthetase primer의 염기서열, forward 5'-ATTAGGTGACACTATAGAA-3' 및 reverse 5'-TAATA -CGACTCACTATAGGG-3'; H2A histon family primer의 염기서열, forward 5'-CTGAGCAAGGCGTTCAATTC-3' 및 reverse 5'-TACAGATMGGCCCTGTGARC-3')에 대해 고안된 primer를 이용하여 real time PCR을 수행하였다. 형광을 검출하기 위해서 SYBR green I을 사용하였으며, thermal cycler는 RotorGene thermal cycler (RG3000, Corbett Research Co.)를 이용하였으며, Corbett Research Company에서 추천하는 조건에 맞게 PCR 반응을 실시하였다.

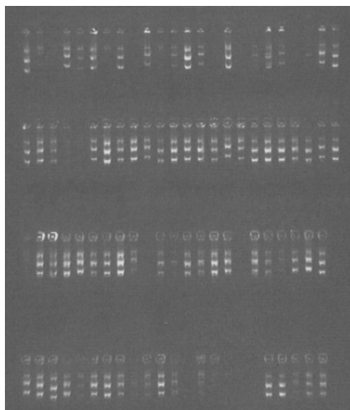
3. 결과 및 고찰

3.1 STX 생합성 관련 유전자의 선별

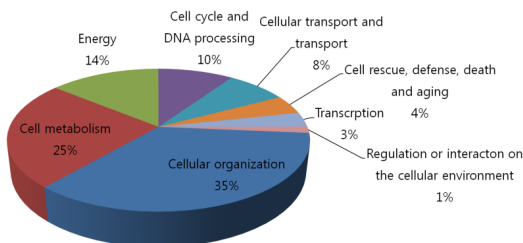
STX을 생성하는 *A. tamarensis*로부터 추출한 mRNA의

poly-adenylated fraction을 사용하여 2×10^5 pfu/ml clones의 cDNA library를 제작하였다. 확보된 827개의 EST library clone을 확인하기 위하여 대량의 plasmid mini-prep system을 이용하여 high-throughput screening을 실시하였다. Core-One Plasmid HTS Prep Kit을 이용하여 확인한 결과 총 827개의 clone중 786개의 clone에 insert가 정확히 삽입된 것으로 확인되었으며 [Fig. 1], 나머지 41개의 clone에 대해서는 재확인을 통해서 클로닝이 제대로 된 것을 확인하였다. 각 클론들의 분석을 위해서 염기서열 분석을 실시하였다.

전체 염기서열의 분석결과를 Genebank의 Blast program을 통해 조사한 결과, 대부분의 유전자들이 특정 생물체의 유전자와 homology를 갖는 putative clone으로 확인되었으며, 이를 통해 확보된 EST들의 functional clustering을 실시한 결과 전체 827 clone중 564개의 EST에 대한 기능 분류가 가능하였다. 대부분 cellular organization(30.54%), cell metabolism(21.34%), energy(12.13%), cell cycle과 DNA processing(8.37%), cellular transport와 transport(6.69%), cell rescue, defense, death와 aging(3.77%), transcription(2.93%) 및 cellular environment에 대한 regulation 또는 interaction(1.26%) 등이 주요한 부분을 차지하였다 [Fig. 2].



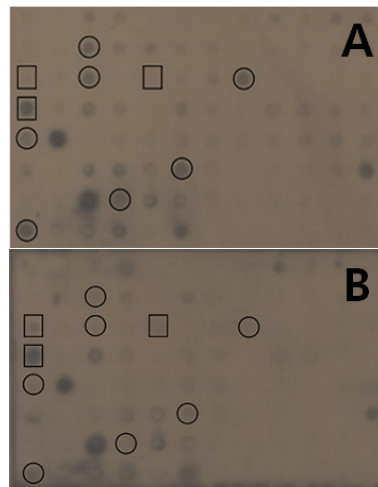
[Fig. 1] Plasmid mini-preparation of EST library



[Fig. 2] Functional clustering of *A. tamarense* ESTs

3.2 EST library로부터 STX 관련 유전자 분리

Toxic strain과 non-toxic strain의 mRNA를 이용하여 reverse northern을 수행한 후 발현량이 증가되거나, 감소된 클론을 재확인한 결과 10개의 clone에서 현격한 증감이 확인되었다[Fig. 3]. 이 결과를 EST library data와 비교 분석한 결과 총 3개의 유전자가 STX의 생합성 혹은 STX의 분비와 관련되어 발현이 증가하는 유전자로 추측되었다. 3개의 선별된 클론 중 1개의 새로운 유전자가 data base에 그 정보가 전혀 존재하지 않았으며, STX을 분비하는 *A. tamarense* strain에서 특이적으로 발현량이 증가되는 유전자인 것으로 추측되었다. 염기서열 분석 결과 선별된 3개의 유전자는 S-adenosylmethionine synthetase(SAM-S, 376번 clone), H2A histone family(H2A, 661번 clone) 및 hypothetical protein(423번 clone) 유전자로 확인되었다.



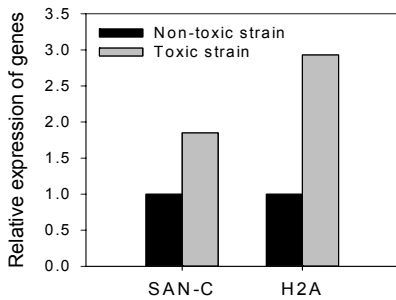
[Fig. 3] Dot blotting of ESTs between toxic and non-toxic strain of *A. tamarense*. A, non-toxic strain; B, toxic strain. Closed box (□), increase of expression (3); Closed circle (○), decrease of expression (7)

3.3 STX 관련 유전자의 발현 분석

Real time PCR에 의한 유전자의 발현 변화 분석을 위해서 세 개의 putative partial clone 중 기능이 확인된 SAM-S와 H2A 유전자를 선별하여 적합한 primer를 디자인하였다. Primer는 150 bp size의 product를 증폭할 수 있게 고안되었으며, 정확한 정량적 분석을 위해서 18S rRNA의 partial cDNA sequence를 이용하여 상대적인 정량을 PCR 과정을 수행하였다. Real time PCR 분석에 의한 유전자 발현의 상대적인 증가는 non-toxic strain보다

toxic strain에서 전체적으로 발현량이 증가하는 양상을 보였는데, SAM-S 유전자는 약 2배 정도 증가하였으며, H2A는 3배 정도 증가하였다[Fig. 4].

STX 생합성의 활성화에는 광량, 온도, 염도 및 영양염과 같은 환경적 요인들이 밀접하게 연관되어 있으나[16], *Alexandrium* 속의 와편모조류에서 STX 합성은 성장단계 [17,18]와 세포분열 주기[19,20]에 따라 변화하게 된다. 따라서 미세조류의 성장과 세포분열과 관련된 유전자의 발현은 STX 생합성을 평가하는 중요한 요인이 될 수 있다. STX 생합성 과정에는 urea cycle과 Krebs cycle의 산물인 citrulline과 aspartate 및 arginine이 참여하고, SAM-S와 S-adenosylhomocysteine hydrolase에 의해 촉매되는 반응으로 현재까지 인식되고 있다. SAM-S는 와편모조류에서 STX 생합성의 마지막 중간산물에 메틸기를 전달해 주기 때문에[21] STX 생합성을 진단하는 좋은 유전자로 판단된다.



[Fig. 4] Expression of STX-related genes.

H2A histon family gene은 DNA 이중나선의 절단을 인지하고, non-homologous end-joining을 이용하여 보수하는데 있어서 중요한 역할을 하는 유전자이다. 이중나선 절단 지역에서 SQ(E/D) 모티프의 serine은 빠르게 인산화되고[22], 인산화 신호는 염색체 주변으로 전달되어 DNA repair 단백질을 소환하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. H2A histon은 DNA를 염색사로 packaging하는데 중요한 역할을 하며, DNA modification과 후생유전학과도 연관관계가 있다[23]. 특히 이 유전자는 cell-cycle 조절과 밀접하게 관련되어 있다[24]. H2A의 발현이 독성 *A. tamarense*에서 발현된 것은 STX 생합성이 cell cycle과 밀접하게 관련되어 있음을 나타낸다.

4. 결론

우리나라 연안에서 적조를 유발하여 어류를 폐사시키

고, 독성물질을 생산, 분비하는 것으로 알려진 *A. tamarense*의 STX 생합성 관련 유전자를 클로닝하고, 이들을 STX 생합성을 진단하기 위한 바이오마커로 활용하고자 하는 연구를 수행하였다. 독성 *A. tamarense*로부터 mRNA를 분리하고, 이로부터 EST library를 제작하였다. EST clones의 염기서열을 분석하여 STX 생합성 관련 유전자를 클로닝하였다. 연구결과 827 클론의 염기서열이 분석되었고, 그 중 564개의 EST가 기능에 따라 분류되었다. 주요 유전자는 cellular organization (30.54%), cell metabolism (21.34%), energy (12.13%), cell cycle과 DNA processing (8.37%), cellular transport와 transport (6.69%), cell rescue, defense, death와 aging (3.77%), transcription (2.93%) 및 cellular environment에 대한 regulation 또는 interaction (1.26%) 등으로 분석되었다. 또한 SAM-S와 H2A 유전자가 클로닝되었고, 이들의 발현을 real-time PCR을 이용하여 분석한 결과, 독성 *A. tamarense*에서 발현이 증가하였다. 특히 H2A의 발현 변화는 STX 생합성과정이 cell-cycle과 밀접하게 관련되어 있다는 것을 나타내며, SAM-S와 H2A는 *A. tamarense*의 STX 생합성을 진단할 수 있는 좋은 바이오마커가 될 수 있음을 의미한다.

References

- [1] D. M. Anderson, "Toxic algal blooms and red tides: a global perspective". Red tides: biology, environmental science, and toxicology. p. 11 - 16. Elsevier Science Publishing. 1989
- [2] Y. Shimizu, "Microalgal metabolites". Chem. Rev. 93, 1685-1698, 1993.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/cr00021a002>
- [3] S. Hall, G. Strichartz, E. Moczydlowski, A. Ravindran, P. B. Reichardt. "The saxitoxins: sources, chemistry and pharmacology". Marine toxins: origin, structure and molecular pharmacology. American Chemical Society, Washington, D.C. p. 29-65, 1990.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/bk-1990-0418>
- [4] M. Kodama, T. Ogata, S. Sato. "Bacterial production of saxitoxin". Agric. Biol. Chem. 52, 1075-1077, 1988.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1271/abb1961.52.1075>
- [5] E. S. Silva, I. Sousa. "Experimental work on the dinoflagellate toxin production". Arq. Inst. Nacion. Saude (Portugal) 6, 381-387, 1981.
- [6] A. P. Negri, G. J. Jones, S. I. Blackburn, Y. Oshima, H. Onodera. "Effect of culture and bloom development

- and of sample storage on paralytic shellfish poisons in the cyanobacterium *Anabaena circinalis*". J. Phycol. 33, 26-35, 1997.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.0022-3646.1997.00026.x>
- [7] Y. Shimizu, M. Norte, A. Hori, A. Genenah, M. Kobayashi. "Biosynthesis of saxitoxin analogues: the unexpected pathway". J. Am. Chem. Soc. 106, 6433-6434, 1984.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ja00333a062>
- [8] G. Taroncher-Oldenburg, D. M. Anderson. "Identification and characterization of three differentially expressed genes, encoding S-adenosylhomocysteine hydrolase, methionine aminopeptidase, and a histone-like protein, in the toxic dinoflagellate *Alexandrium fundyense*". Appl Environ Microbiol 66, 2105-2112, 2000.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.66.5.2105-2112.2000>
- [9] S. Machabee, L. Wall, D. Morse. "Expression and genomic organization of a dinoflagellates gene family". Plant Mol. Biol. 25: 23-31, 1994.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00024195>
- [10] M. Mittag, D. H. Lee, J. W. Hastings. "Circadian expression of the luciferin binding protein correlates with the binding of a protein to the 3' untranslated region of its mRNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91, 5257-5261, 1994.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.91.12.5257>
- [11] E. L. Triplett, R. V. M. Jovine, N. S. Govind, S. J. Roman, S. S. Chang, B. B. Prezelin. "Characterization of two full-length cDNA sequences encoding apoproteins of peridinin-chlorophyll a-protein (PCP) complexes". Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 2, 246-254, 1993.
- [12] G. Johnsen, N. B. Nelson, R. V. M. Jovine, B. B. Prezelin. "Chromoprotein and pigment dependent modeling of spectral light absorption in two dinoflagellates". Mar. Ecol. Prog. Ser. 114, 245-258, 1994.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3354/meps114245>
- [13] M. Rodriguez, J. W. Cho, H. W. Sauer, P. J. Rizzo. "Evidence for the presence of CD2-2 like protein kinase in the dinoflagellate *Cayptecodinium cohmi*". J. Eukaryot. Microbiol. 40, 91-96, 1994.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.1993.tb04887.x>
- [14] F. M. Van Dolah, T. A. Leighfield, H. D. Sandel, C. K. Hsu. "Cell division in the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* is phased to the diurnal cycle and accompanied by activation of the cell cycle regulatory protein cdc2 kinase". J. Phycol. 31, 395-400, 1995.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.0022-3646.1995.00395.x>
- [15] P. Uribe, D. Fuentes, J. Valdés, A. Shmaryahu, A. Zú-iga, D. Holmes, P. D. T. Valenzuela. "Preparation and Analysis of an Expressed Sequence Tag Library from the Toxic Dinoflagellate *Alexandrium catenella*". Mar Biotechnol. 10, 692-700, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10126-008-9107-8>
- [16] L. D. Harlow, A. Koutoulis, G. M. Hallegraef. "S-adenosylmethionine synthetase genes from eleven marine dinoflagellates". Phycologia, 46, 46 - 53, 2007.
DOI: <http://dx.doi.org/10.2216/06-28.1>
- [17] P. Marsot. "Variations in volume and nutrient (N and P) content of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in N-limited continuous culture". Oceanologica Acta 20(4), 639-643, 1997.
- [18] J. P. Parkhill, A. D. Cembella, "Effects of salinity, light and inorganic nitrogen on growth and toxigenicity of the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from northeastern Canada". J. Plankton Res., 21, 939-955, 1999.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/21.5.939>
- [19] C. H. Kim, Y. Sako, Y. Ishida, "Comparison of toxin composition between populations of *Alexandrium* spp. from geographically distant areas". Nippon Suisan Gakkaishi, 59, 641 - 646, 1993.
DOI: <http://dx.doi.org/10.2331/suisan.59.641>
- [20] G. Taroncher-Oldenburg, D. M. Kulis, D. M. Anderson, "Toxin variability during the cell cycle of the dinoflagellate *Alexandrium fundyense*". Lumol. Oceanogr. 42(5), 178-188, 1997.
- [21] Y. Shimitz. "Microalgal metabolites: a new perspective. Ann. Rev. Microbiol. 50, 431-465, 1996.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.micro.50.1.431>
- [22] E. P. Rogakou, D. R. Pilch, A. H. Orr, V. S. Ivanova, W. M. Bonner, "DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139". J Biol Chem 273(10), 5858-5868, 1998.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.273.10.5858>
- [23] L. Marino-Ramirez, I. K. Jordan, D. Landsman. "Multiple independent evolutionary solutions to core histone gene regulation". Genome Biol. 7(12), R122, 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/gb-2006-7-12-r122>
- [24] P. B. Talbert, S. Henikoff. "Histone variants—ancient wrap artists of the epigenome". Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 11, 264-275. 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrm2861>

장 만(Man Chang)

[정회원]



- 1985년 8월 : 서울대학교대학원 해양학과 (이학석사)
- 1990년 8월 : 서울대학교대학원 해양학과 (이학박사)
- 1992년 8월 : State Univ. of New York 연수연구원
- 2008년 1월 ~ 2009년 12월 : 한국 환경생물학회 회장

- 1995년 ~ 현재 : 해양과학기술원 해양생태계연구부 책임연구원

<관심분야>

해양미세조류 생리·생태학, 해양 생태학

이 건 섭(Gunsup Lee)

[정회원]



- 2003년 2월 : 성균관대학교 생명공학과 (이학석사)
- 2010년 2월 : 성균관대학교 생명공학과 (이학박사)
- 2011년 1월 ~ 현재 : 한국 해양연구원 연수연구원

<관심분야>

분자생물학, 해양 독성학

이 주 연(Juyun Lee)

[정회원]



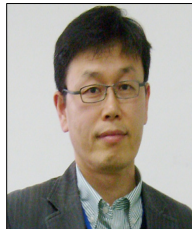
- 2005년 2월 : 한양대학교 환경과학과 (이학석사)
- 2011년 8월 : 한양대학교 생명과학과 (이학박사)
- 2011년 8월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 연수연구원

<관심분야>

해양 생태학, 식물플랑크톤 생리·생태학

김 동 균(Donggiun Kim)

[정회원]



- 1989년 2월 : 성균관대학교 대학원 생물학과 (이학석사)
- 1999년 3월 : 미국오하이오대학교 대학원 생물학과 (식물학박사)
- 2010년 3월 ~ 현재 : 신라대학교 생물과학과 교수

<관심분야>

식물학, 생화학, 분자생물학, 생리학

정 영 재(Youngjae Chung)

[정회원]



- 1988년 2월 : 성균관대학교 대학원 생물학과 (이학석사)
- 1993년 2월 : 성균관대학교 대학원 생물학과 (이학박사)
- 1997년 3월 ~ 2007년 2월 : 서남대학교 생명과학과 교수
- 2007년 3월 ~ 현재 : 신경대학교 생명공학과 교수

<관심분야>

식물형태 및 계통분류학, 식물유전자원학

이 택 건(Taek-Kyun Lee)

[정회원]



- 1991년 2월 : 성균관대학교 생물학 (이학석사)
- 1998년 2월 : 성균관대학교 식물분자생리학 (이학박사)
- 1998년 9월 ~ 2000년 8월 : 한국해양연구원 연수연구원
- 2000년 9월 ~ 현재 : 해양과학기술원 남해특성연구부 책임연구원

<관심분야>

환경분자생리학, 해양환경독성학