

별 불가사리(*Asterina pectinifera*) 조직별 초산추출물의 생리활성 탐색

고혜진, 조미정¹, 김군도¹, 박남규*

부경대학교 생물공학과, ¹부경대학교 미생물학과

Biological Activities of Acidic Extracts of the Starfish *Asterina pectinifera*

Hye-Jin Go, Mi Jeong Jo¹, Gun-Do Kim¹ and Nam Gyu Park*

Department of Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹Department of Microbiology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

The present study was performed to examine the contraction and relaxation responses of the smooth muscles, and search for antimicrobial and antioxidant activities in the tissues, of the starfish *Asterina pectinifera*. Frozen samples were extracted with distilled water containing 1% acetic acid. Extracts from all tissues showed potent antimicrobial activity against *Escherichia coli* D31. Relatively high levels of antimicrobial activity were also detected in the body extracts. Liver, tube feet, and body extracts caused contraction responses in the dorsal retractor muscles (DRM) of the starfish. In contrast, all tissues examined exhibited contractile activity in the esophagus of squid *Todarodes pacificus*. In addition, liver and gonad extracts caused contraction responses upon application to the intestine of the puffer fish *Takifugu pardalis*. Relaxation effects on the DRM of starfish were identified in most of the extracts, while no relaxant activity was detected in body extracts. Extracts from all tissues examined also exhibited antioxidant activities. The results of this study suggest that starfish are a potential source of novel bioactive compounds.

Key words: Starfish, *Asterina pectinifera*, Antimicrobial activity, Contraction and relaxation responses, Antioxidant activity

서 론

해양 척추동물 및 무척추동물로부터 많은 종류의 항균, 항곰팡이, 신경전달물질, 항산화 물질 등의 생리활성물질이 연구되고 있다(Donia and Hamann, 2003). 해양생물들은 수중에서 생활하기 때문에 육상생물보다 세균에 감염될 가능성이 더 크지만, 이들로부터 자기 자신들을 보호하기 위한 독특한 면역체계를 지니고 있다(Hancock and Diamond, 2000). 척추동물에는 선천면역(innate immunity)과 적응면역(adaptive immunity)이 각각 잘 발달되어 있지만 무척추동물에서는 선천면역이 중요한 역할을 담당하고 있다. 최근, 여러 가지의 선천면역 요소들 중에서 비특이적이고 빠른 반응을 가지는 항균활성 펩타이드에 대한 관심이 증가되고 있다. 현재까지 무척추동물인 해

면(Matsunaga et al, 1985), 담치(Charlet et al., 1996; Mitta et al., 1999; Mitta et al., 2000), 투구게(Miyata et al., 1989), 갯지렁이(Ovchinnikova et al., 2004), 군소(Iijima et al., 2003), 새우(Destoumieux et al., 1997), 성게(Li et al., 2008), 해파리(Ovchinnikova et al., 2006) 등에서 항균 펩타이드에 관한 연구가 보고되었다.

낙지로부터 신경전달물질인 eledosin이 발견된 이후(Erspamer and Anastasi, 1962) 다양한 생물의 조직으로부터 신경성 펩타이드(neuropeptides)가 발견되었다(Krieger, 1986). 신경성 펩타이드는 신호전달물질로 신경계에서 신호전달 및 조절하는 역할을 하며(Elliott and Barchas, 1979; Krieger, 1983), 평활근의 운동조절, 혈관의 수축 및 이완, 통증전달 및 혈압 조절 등의 역할을 담당하고 있다(Zadina et al., 1986). 또한 이들

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0122>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Kor J Fish Aquat Sci 47(2) 122-128, April 2014

Received 14 February 2014; Revised 20 March 2014; Accepted 27 March 2014

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5867 Fax: +82. 51. 629. 5863

E-mail address: ngpark@pknu.ac.kr

신경전달물질들은 두툽상어(Chauvet et al., 1994), 송어(Irwin and Wong, 1995), 오만둥이(Iwakiri et al., 1990), 대구(Jensen and Colon, 1992) 등 다양한 종류의 해양생물들로부터도 발견되었다.

한편, 항산화제는 식품첨가물 뿐만 아니라 노화억제와 질병 치료제로 사용되고 있다(Ames et al., 1993; Rice-Evans and Miller, 1996). 대표적인 항산화제로, tert-butylhydroxytoluene (BHT), tert-butylhydroxyanisole (BHA) 등의 합성 항산화제와 α -tocopherol, vitamin C, carotenoids, flavonoids 등의 천연 항산화제가 있으나, 보다 더 안전하면서 활성이 높은 항산화제를 천연물로부터 탐색하는 연구가 활발하게 진행되고 있다(Kang et al., 2003; Kim et al., 1997; Koshino et al., 1996; Park et al., 1991). 또한 정어리와 조기 껍질 가수분해물(Sampath Kumar NS et al., 2012), 틸라피아의 효소 가수분해물(Fan et al., 2012)로부터 항산화 펩타이드가 정제되었으며, 그 외 항산화 활성을 나타내는 mycosporin-like amino acids (MAAs)가 존재함이 보고되었다(Dunlap and Yamamoto, 1995).

최근, 불가사리 추출물을 이용하여 유용한 생리활성에 대한 탐색에 관한 연구가 이루어지고 있다. 아무르 불가사리(*Asterias amurensis*)로부터 피부주름 억제활성(Kwon et al., 2007) 및 별 불가사리 추출물로부터 면역세포 활성화 효과(Chae et al., 2007) 등이 확인되었다. 그러나 불가사리의 생리활성에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 별 불가사리(*Asterina pectinifera*) 추출물의 항균, 평활근 수축과 이완작용 및 항산화 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

시료

실험에 사용한 별 불가사리(*Asterina pectinifera*, 직경 6-7 cm)는 부산 기장해변에서 채취하여 살아있는 상태에서 10마리를 해부하여 몸체 껍질(body), 간(liver), 생식선(gonad), 근육(muscle), 위를 포함한 소화관(gut) 및 관족(tubefeet) 조직을 분리하였다. 각 조직들은 액체 질소로 급속 냉동시켜 사용 직전까지 -70°C에 보관하였다

일반시약

Tryptic soy broth (TSB), yeast extract, tryptone (Pancreatic digest of casein), agarose (Low EEO), acetylcholine chloride, carbachol 및 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 Sigma 사 (St. Louis, USA)에서 구입하였다.

추출물의 조제

별 불가사리(*Asterina pectinifera*) 조직은 1% 초산과 1:3 (V/V) 으로 혼합하여 끓인 후, 블랜더로 균질화하여 4°C에서 30분 동안 15,000×g로 원심 분리하였다. 상층액은 각각 모아

두고, 각 조직 침전물은 위와 동일한 과정을 2회 반복하여 첫 번째 상층액과 함께 동결 건조하였다.

생리활성 탐색

항균 활성

각각의 조직에 대한 추출물의 항균활성은 ultra radial diffusion assay (URDA)법으로 항균활성을 측정하였다(Lehrer et al., 1991). 실험에 사용한 균주는 North Carolina State University의 Edward J. Noga 교수로부터 분양 받은 그람음성균인 *E. coli* D31을 사용하였다. 추출물은 5 μ L를 주입하였으며 37°C 배양기에서 배양 후, clear zone의 유무 및 clear zone diameter (mm)를 확인하여 활성의 세기를 측정하였다.

별 불가사리 dorsal retractor muscle (DRM)에서의 수축 및 이완 활성 측정

별 불가사리의 eye spot을 제거한 후 배면과 복면을 분리하여 5개 팔을 따라 중앙을 가로지르는 DRM을 mess로 분리하여 20 mm정도의 단편으로 만들었다. 준비된 각 단편들은 반응조의 지지대에 고정시키고, 위쪽은 isometric transducer (NECSanei, Tokyo, Japan)에 연결하여 resting tension이 1.0 g이 되도록 90분간 평형화 시켰다. 수축활성을 측정하기 위해, 별 불가사리 DRM 조직의 tension이 1.0 g이 유지되면 acetylcholine (ACh) 10^{-4} M 을 투여하여 활성화시켰다. 불가사리 조직 추출물들은 추출물의 총 부피의 1/10을 사용하여 인공해수에 녹인 후 반응조에 투여하여 활성을 확인하였다. 수축활성은 ACh에 대한 장관의 수축반응을 100%로 하고, 추출물에 대한 장관의 반응 정도는 ACh반응의 크기와 비교하여 나타내었다.

한편 각 조직 추출물의 이완활성을 측정하기 위해서, 조직의 tension이 1.0 g이 유지되면 10^{-4} M ACh을 투여하여 활성화 시켰고, 15분 후 10^{-4} M ACh을 투여하여 근육을 수축시킨 후, 조직 추출물을 반응조에 투여하여 이완활성을 확인하였다. 이완활성은 10^{-4} M Ach의 최대수축작용을 100%로 하여 상대적 이완 %로서 나타냈다. 모든 과정은 55 mM Mg^{2+} 인공해수에서 행하였으며, ASW의 조성은 다음과 같다: $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 55 mM, NaCl 445 mM, KCl 10 mM, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 10 mM, Glucose 10 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 7.8).

오징어 소화관에서의 수축활성

오징어를 반으로 갈라 뇌 아래에서부터 간의 뒤로 이어지는 소화관의 중앙부분을 약 7 cm를 떼어내어 지방 등을 제거한 후, 소화관의 길이가 약 1.0 cm 단편으로 만들어 활성 측정에 사용하였다. 모든 과정은 buffer에서 행하였으며, buffer의 조성은 다음과 같다: NaCl 466 mM, $MgCl_2$ 54 mM, $CaCl_2$ 11 mM, KCl 10 mM, $NaHCO_3$ 3 mM, Na-HEPES 10 mM. 준비된 식도의 아래쪽은 2 mL의 반응조에 고정시키고 위쪽은 physiography system (NECSanei, Tokyo, Japan)의 isometric

transducer에 연결하여 1.5 g의 장력을 준 뒤, 15분 간격으로 완충용액을 교체하면서 60분간 평형화하였다. 수축활성 측정은 실온에서 반응조 내에 공기를 주입시켜 주면서 안정화시킨 후 10^{-5} M carbachol (Carb)을 15분 간격으로 3회 투여하여 조직을 활성화 시켰다. 각 추출물은 총 부피의 1/10을 사용하여 반응조에 주입한 후 수축활성을 측정하여 physiography상에 기록하였다.

졸복 장관 평활근에 대한 수축 활성

졸복 장관표본을 만들기 위해 먼저 중추신경을 절단하여 복부를 절개한 후, 항문으로부터 1 cm 정도 위쪽 부분의 장관을 약 2.0 - 3.0 cm 길이로 적출하였다. 모세혈관 및 지방 등을 제거한 후, 장관의 길이가 약 1.0 cm가 되도록 단편을 만들었다. 이 과정은 buffer상에서 행하였으며, buffer의 조성은 다음과 같다: NaCl 165 mM, KCl 3 mM, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.25 mM, $NaHCO_3$ 2 mM, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1.5 mM, Glucose 10 mM (pH 7.4). 준비된 장관표본은 2 mL의 반응조에 고정시키고 위쪽은 physiography system의 isometric transducer에 연결하여 1.5 g의 장력을 준 뒤, 15분 간격으로 완충용액을 교체하면서 60분간 평형화 시켰다. 수축활성 측정은 실온에서 반응조에 공기를 주입시켜 주면서 안정화시킨 후 10^{-7} M ACh을 15분 간격으로 3회 투여하여 조직을 활성화하였다. 각 추출물은 총 부피의 1/10을 사용하여 반응조에 투여하였다. 시료들은 주입한 후 수축활성을 측정하여 physiography상에 기록하였다. 수축활성은 10^{-7} M ACh에 의해 유도된 근육의 수축반응을 100%로 하고, 각 추출물에 대한 장관의 반응 정도는 ACh반응의 크기와 비교하여 나타내었다.

항산화 활성의 측정

DPPH는 methanol에 녹여 1.5×10^{-4} M이 되도록 준비하였으며, 각각의 추출물들은 3 mg을 취하여 0.01% 초산용액 1 mL에 녹인 후, 그 중 1/50씩을 사용하여 활성을 측정하였다. 1 mL DPPH solution과 추출물을 UV cuvette에서 혼합하여 즉시 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군(control)으로 1 mL DPPH 용액에 4 mL methanol을 혼합한 것을 사용하였다. DPPH radical 소거능(%)은 다음식으로 계산하였다.

$$\text{DPPH radical 소거능(\%)} = \frac{[(\text{O.D. of Control} - \text{O.D. of Sample}) / \text{O.D. of Control}] \times 100}{}$$

통계처리

모든 실험은 3회 반복한 평균치로 나타내었으며, 유의성 검증은 GraphPad Prism 5.0 for Window를 사용하여 ANOVA test로 검증한 후, $P < 0.05$ 수준에서 Dunnett's multiple comparison test로 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

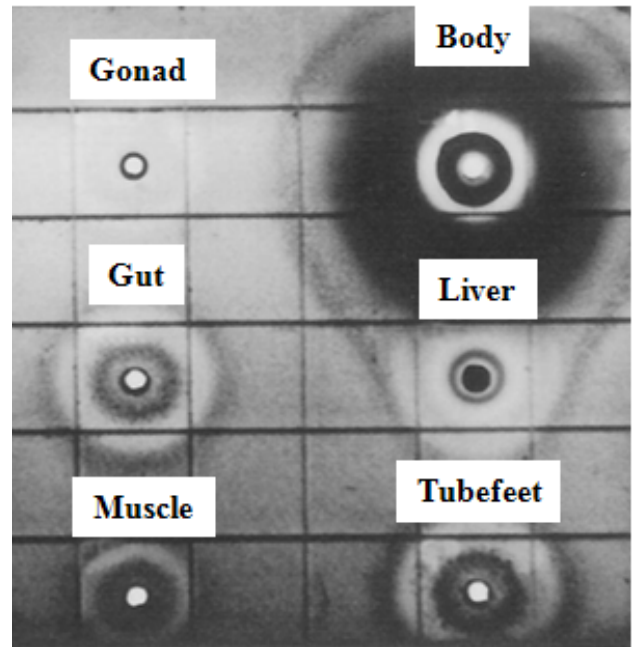


Fig. 1. Antimicrobial activity of various tissues' extracts of the starfish *Asterina pectinifera* against *E. coli* D31.

별 불가사리 추출물들의 항균 활성

별 불가사리의 각 조직으로부터 추출한 추출물들의 항균활성을 조사하기 위해 그람음성균인 *E. coli* D31에 대해 항균활성을 측정하였다(Fig. 1). 별 불가사리의 껍질부분은 38 ± 2 mm의 항균활성을, 관족은 18 ± 2 mm, 생식선은 15 ± 1 mm, 소화관은 14 ± 1 mm, 근육은 13 ± 2 mm, 간은 19 ± 3 mm의 항균활성을 나타내었다(positive control: Piscidine 13.8 ± 1). 특히 껍질부분은 다른 조직들에 비해 약 2-3배 높은 활성을 나타내었다. 아가미를 포함하고 있는 껍질부분은 해양에 존재하고 있는 미생물 및 오염물질들과 일차적으로 직접 접촉하는 기관이다(Seo et al., 2005; Seo et al., 2013). 따라서 아가미에 해당하는 조직을 포함한 껍질부분이 다른 조직들에 비해 높은 활성을 나타낸 이유는 아마도 항균성 단백질 및 펩타이드를 비롯한 다양한 종류의 물질들이 아가미에 많이 존재하여 선천성 면역반응에 관여하여 기인한 결과 인 것 같다. 한편, 관족 또한 비교적 높은 항균활성을 나타내었다. 관족은 불가사리의 움직임 조절하고 먹이를 잡는 역할을 담당하고 있으며, 껍질부분과 마찬가지로 외부 미생물에 대해 일차적으로 접촉하는 부위이다. 이러한 역할을 수행할 때 관족 끝에서 점액질이 분비된다고 알려져 있다(Edward et al., 2004). 따라서 관족 역시 미생물에 대한 자신의 생체방어에 관련된 물질을 포함하고 있기 때문에 높은 활성을 나타낸다고 생각된다. 또한 척추동물의 간 및 불가사리의 생식선에서 항균성 단백질 및 펩타이드가 발견되었는데(Christina et al., 2001; Martinage et al., 1983), 불가사리의 간,

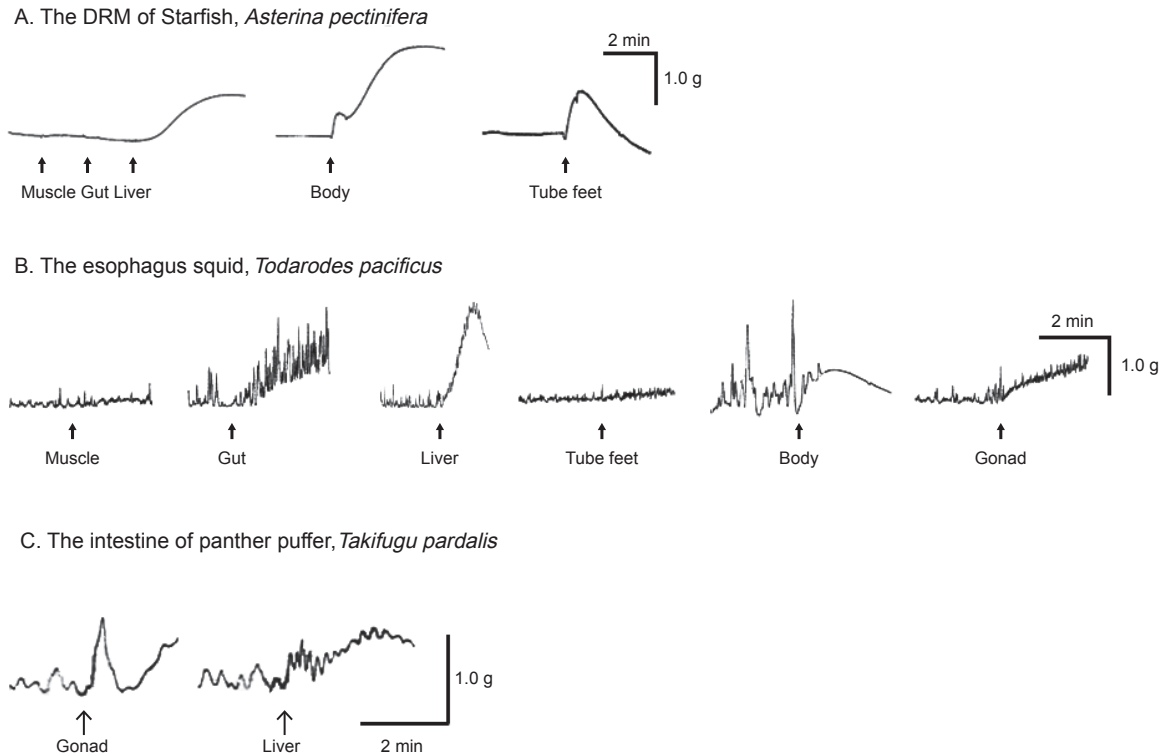


Fig. 2. The contractile activity of various tissues' extracts of the starfish *Asterina pectinifera* on the smooth muscle of other organisms. A; DRM of the starfish *Asterina pectinifera*, B; Esophagus of the squid *Todarodes pacificus*, C; Intestine of the panther puffer *Takifugu pardalis*. The extracts were applied at the time indicated by arrows.

생식선 조직에서도 비교적 높은 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 불가사리에도 척추동물에서 발견된 물질과 유사하거나 구조가 다른 물질이 존재할 수도 있다는 것을 나타낸다. 불가사리로부터 새로운 항균성 물질이 정제된다면 해양 생태계에 영향을 주고 있는 불가사리로부터 고부가가치 기능성 물질로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

별 불가사리 DRM, 오징어 식도 및 줄복의 장관 평활근에 대한 수축 활성

별 불가사리 조직 추출물들의 근육 수축작용을 조사하기 위해서 별 불가사리 DRM을 사용하였으며, 10^{-4} M ACh에 의해 유도된 근육의 수축반응을 100%로 하고, 추출물에 대한 장관의 반응 정도는 ACh 반응의 크기와 비교하여 나타내었다. Table 1은 별 불가사리 DRM에 대한 조직 추출물의 근 수축 반응을 나타낸다. 간, 관족, 꺾질 추출물들은 DRM에 대해 수축반응을 나타냈다. 특히, 꺾질추출물의 경우, 100%의 강한 수축력을 보였으며, 간 추출물은 약 80%의 수축반응을 나타냈다. 한편, 관족 추출물은 수축활성을 나타내다가 동시에 이완활성을 보였다. 그러나 근육과 장관 추출물들은 수축반응을 보이지 않았다.

오징어에 식도에 대한 각 추출물의 근 수축활성은 Fig. 2B 과

Table 1에 나타낸 바와 같이 10^{-5} M Carb에 의해 유도된 근육의 수축반응을 100%로 하고, 각 추출물에 대한 장관의 반응 정도는 Carb 반응의 크기와 비교하여 나타내었다. 별 불가사리 간 (164.3%) 및 장관(103.6%) 추출물들은 매우 높은 수축반응을 나타냈으며, 생식선(71.4%) 추출물 또한 비교적 높은 반응을

Table 1. The contractile activity of various tissues' extracts of the starfish *Asterina pectinifera* on the smooth muscle of the other organisms (n=3)

Sample	Contractile activity (%)		
	DRM (<i>A. pectinifera</i>)	Esophagus (<i>T. pacificus</i>)	Intestine (<i>T. pardalis</i>)
Muscle	0	9.29±4	N.T.
Gut	0	103.6±1	N.T.
Gonad	N.T. ¹	71.4±3	52.3±2
Liver	77.8±4	164.3±2	36.4±1
Tube Feet	22.2±3	14.3±5	N.T.
Body	100±1	42.1±2	N.T.

¹N.T.; not tested.

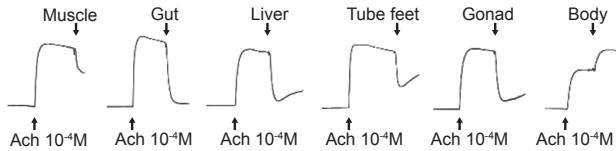


Fig. 3. The relaxant activity of various tissues' extracts of starfish *Asterina pectinifera* on the starfish *Asterina pectinifera* DRM. The extracts were applied at the time indicated by arrows.

나타내었다. 껍질과 관족 및 근육은 수축활성을 나타내었지만 다른 조직들에 비해서는 낮은 반응을 나타내었다. 특히, 껍질 추출물은 오징어 식도 평활근에 대해 수축활성의 톤은 증가시켰지만, 자율운동의 상동성 수축(phasic contraction)은 나타나지 않는 활성을 보였다(Fig. 2A, Table 1). 한편, 줄복의 장관에 대해 생식선 추출물은 줄복 장관의 자율운동의 진폭(amplitude)를 저하시키는 반면 높이(tone)의 증가를 유도하였으며, 간 추출물은 진폭과 높이의 증가를 관찰할 수 있었다(Fig. 2C).

불가사리 DRM에 대한 각 추출물의 이완활성은 Fig. 3과 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 나타난 바와 같이 근육 추출물은 41.4%의 이완활성을 나타내었으며, 소화관은 92.1%, 생식선은 76.8%, 간은 78.9%, 관족의 경우는 62.5%의 이완 활성을 보였다. 반면, 껍질 추출물의 경우, 다른 조직 추출물과는 달리 ACh에 의해 나타난 근 수축에 대한 이완활성을 나타내지 않고 더 강력한 수축 활성을 나타내었다(Fig. 3).

근육에 대해 수축, 이완 활성을 지닌 신경성 펩타이드에 대한 연구로 극피동물인 해삼(*Stichopus japonicus*)의 longitudinal muscle과 body wall로부터 자신의 평활근에 대해 수축활성을 나타내는 펩타이드가 발견되었고, 또한 장관으로부터 이완활성을 유발하는 2종류의 물질이 발견되었으며(Iwakoshi et al., 1995), 평활근 이완활성을 나타내는 물질(*Holothuria glaber-rima*) 이 보고되었다(Diaz-Miranda et al., 1995). 극피동물인 해삼 이외에 북대서양에 서식하는 불가사리인 *Asterias rubens*와 *Asterias forbesi*의 radial nerve cords로부터 FMRFamide 관련 peptide인 S1과 S2가 정제되었는데(Elphick et al., 1991), 이들은 불가사리 cardiac stomach에 대하여 이완활성을 나타냈다(Elphick and Melarange, 2001). 그러나 현재까지 별 불가사

Table 2. Relaxant activity of various tissues' extracts on the starfish *Asterina pectinifera* DRM (n=3)

Sample	Relaxant activity (%)
Muscle	41.4±8
Gut	92.1±3
Gonad	76.8±2
Liver	78.9±4
Tube Feet	62.5±5
Body	0

Table 3. *In vitro* DPPH radical scavenging activities of various tissues' extracts of the starfish *Asterina pectinifera* (n=3)

Sample	Radical Scavenging Effect (RSE, %)
Muscle	27.2±5
Gut	95.8±2
Gonad	100.0±1
Liver	97.3±2
Tube Feet	67.3±3
Body	100.0±1

리 추출물들을 사용하여 신경성 전달물질에 대한 연구는 그다지 많이 되어 있지 않은 실정이다. 따라서 이러한 결과는 다양한 불가사리 조직 내에 생체에 관여하는 신경성 조절물질이 존재한다는 것을 나타내고 있기 때문에 이들 조직으로부터 아직까지 발견되지 않은 새로운 물질들을 발견하기 위한 중요한 재료로 활용할 수 있음을 제시한다.

항산화 활성

불가사리 조직 추출물들의 항산화 활성을 알아보기 위해서 DPPH를 사용하여 DPPH radical 소거능을 조사하였다. 항산화 활성 측정에 대한 대조구로 Vitamin C를 0.8, 4, 20, 100 및 500 µg/mL 사용하였으며, DPPH radical 소거능은 각각 13, 19, 60, 88 및 90%를 나타냈다(data not shown).

Table 3은 별 불가사리 조직들의 추출물에 대한 DPPH radical 소거능을 지표로 한 항산화 활성을 나타낸 것이다. 별 불가사리의 경우 소화관은 95.8±2%, 생식선은 100±1%, 간은 97.3±2%, 관족은 67.3±3%의 활성을 나타내었으며, 껍질의 경우, 100±1%의 반응을 나타내었다. 그러나, 근육의 경우는 다른 조직들에 비교적 약한 27.2% 정도의 항산화 효과를 나타내었다. 최근, 아무르 불가사리(*Asterias amurensis*)로부터 피부주름 억제활성(Kwon MC et al., 2007), 별 불가사리 추출물로부터 면역세포 활성화 효과(Kim IH et al., 2001) 등이 확인되었다. 따라서, 불가사리의 다양한 조직들이 항산화 활성을 가지는 물질의 개발에 있어 큰 잠재력을 가지는 연구 대상이 될 수 있음을 시사해준다.

사 사

이 논문은 2007년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업 연구임(No. KRF-2007-521-F00042)

References

Ames BN, Shigenaga MK and Hagen TM. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl

- Acad Sci USA 90, 7915-7922.
- Charlet M, Chernysh S, Philippe H, Hetru C, Hoffmann JA and Bulet P. 1996. Innate immunity. Isolation of several, cysteine-rich antimicrobial peptides from the blood of a mollusk, *Mytilus edulis*. J Biol Chem 271, 21808-21813.
- Chauvet J, Rouille Y, Chauveau C, Chauvet MT and Acher R. 1994. Special asvatocin and phasvatocin, two new oxytocin-like peptides in the spotted dogfish (*Scyliorhinus caniculus*). Proc Natl Acad Sci USA 91, 11266-11270.
- Chea SY, Kim MJ, Kim DS, Park JE, Jo SK and Yee ST. 2007. Effect of *Asterina pectinifera* extracts on the activation of immune cells. J Korean Soc Food Sci Nutr 36, 269-275.
- Destoumieux D, Bulet P, Loew D, Van DA, Rodriguez J and Bachere E. 1997. Penaeidins, a new family of antimicrobial peptides isolated from the shrimp *Penaeus Vannamei* (Decapoda). J Biol Chem 272, 28398-28406.
- Diaz-Miranda L, Blanco RE and Garcia-Ararras JE. 1995. Localization of the heptapeptide GFSKLYFamide in the sea cucumber *Holothuria glaberrima* (Echinodermata): a light and electron microscopic study. J Comp Neurol 352, 626-640.
- Donia M and Hamann MT. 2003. Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. Lancet Infect Dis 3, 338-348.
- Dunlap WC and Yamamoto Y. 1995. Small-molecule antioxidants in marine organisms: antioxidant activity of mycosporine-glycine. Comp Biochem Physiol B 112, 105-114.
- Edward ER, Richard SF and Robert DB. 2004. Invertebrate Zoology 7th edition. Thomson Learning, CA, U.S.A., 876-896.
- Elliott GR and Barchas JD. 1979. Neuroregulators: neurotransmitters and neuromodulators. Behav Brain Sci 2, 423-424.
- Elphick MR and Melarange R. 2001. Neural control of muscle relaxation in echinoderms. J Exp Biol 204, 875-885.
- Elphick MR, Price DA, Lee TD and Thorndyke MC. 1991. The SALMFamides: a new family of neuropeptides in the starfish *Asterias rubens*. J Exp Biol 198, 2519-2525.
- Erspamer V and Anastasi A. 1962. Structure and pharmacological actions of eledoisin, the active endecapeptide of the posterior salivary glands of *Eledone*. Experientia 18, 58-59.
- Fan J, He J, Zhuang Y and Sun L. 2012. Purification and Identification of Antioxidant Peptides from Enzymatic Hydrolysates of *Tilapia (Oreochromis niloticus)* Frame Protein. Molecules 17, 12836-12850. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules171112836>.
- Hancock REW and Diamond G. 2000. The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. Trends Microbiol 8, 402-410.
- Iijima N, Tanimoto N, Emoto Y, Morita Y, Uematsu K, Murakami T and Nakai T. 2003. Purification and characterization of three isoforms of chrysopsin, a novel antimicrobial peptide in the gills of the red sea bream, *Chrysophrys major*. Eur J Biochem 270, 675-686.
- Irwin DM and Wong J. 1995. Trout and chicken proglucagon: alternative splicing generates mRNA transcripts encoding glucagon-like peptide. Mol Endocrinol 9, 267-277.
- Iwakiri M, Sugiyama A, Ikeda T, Muneoka Y and Kubota I. 1990. A novel oxytocin-like peptide isolated from the neural complexes of tunicate, *Styela plicata*. Zool Sci 7, 1035-1041.
- Iwakoshi E, Ohtani M, Takahashi T, Muneoka Y, Ikeda T, Fujita T, Minakata H and Nomoto K. 1995. Comparative aspects of structure and action of bioactive peptides isolated from the sea cucumber *Stichopus japonicus*. In: peptide Chemistry. Ohno M. ed. Protein Research Foundation, Osaka, Japan, 261-264.
- Jensen J and Colon JM. 1992. Substance-P-related and neurokinin-A related peptides from the brain of the cod and trout. Eur J Biochem 206, 659-664.
- Kang DG, Yun CK and Lee HS. 2003. Screening and comparison of antioxidant activity of solvent extracts of herbal medicines used in Korea. J Ethnopharm 87, 231-236.
- Kim WG, Kim JP, Koshino H, Shin-Ya K, Seto H and Yoo ID. 1997. Benzastatin E, F, and G: new indoline alkaloids with neuronal cell protectin activity from *Streptomyces nitrosporensis*. Tetrahedron 53, 4309-4316.
- Koshino H, Lee IK, Kim JP, Kim WG, Uzawa J and Yoo ID. 1996. Agrocybenine, novel class alkaloid from the Korean mushroom *Agrocybe cylindracea*. Tetrahedron Letters 37, 4549-4550.
- Krieger DT. 1983. Brain peptides: what, where, and why? Science 222, 975-985.
- Krieger DT. 1986. An overview of neuropeptides. In: Neuropeptides in Neurologic and Psychiatric Disease. Martin JB and Barchas JD eds. Raven Press, New York, U.S.A., 1-33.
- Kwon MC, Kim CH, Kim HS, Hwang BY and Lee HY. 2007. Anti-wrinkle Activity of Low Molecular Weight Peptides Derived from the Collagen Isolated from *Asterias amurensis*. Korean J Food Sci Technol 3, 625-629.
- Lehrer RI, Rosenman M, Harwig SSL, Jackson R and Eisenhour P. 1991. Ultrasensitive assay for endogenous antimicrobial polypeptides. J Immunol Methods 137, 167-173.
- Li C, Haug T, Styrvold OB, Jørgensen TØ and Stensvåg K. 2008. Strongylocins, novel antimicrobial peptides from the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. Dev Comp Immunol 32, 1430-1440. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dci.2008.06.013>.
- Matsunaga S, Fusetani N and Konosu S. 1985. Bioactive marine metabolites, IV. Isolation and the amino acid composition of discodermin A, an antimicrobial peptide, from the marine sponge *Discodermia kiiensis*. J Nat Prod 48, 236-241.
- Martinage A, Belaiche D, Dupressois T and Sautiere P. 1983. Primary Structure of Histone H2A from Gonads of the Starfish *Asterias rubens*. Eur J Biochem 130, 465-472.
- Mitta G, Hubert F, Dyrzynda EA, Boudry P and Roch P. 2000.

- Mytilin B and MGD2, two antimicrobial peptides of marine mussels: gene structure and expression analysis. *Dev Comp Immunol* 24, 381-393.
- Mitta G, Hubert F, Noel T and Roch P. 1999. Myticin, a novel cysteine-rich antimicrobial peptide isolated from haemocytes and plasma of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Eur J Biochem* 265, 71-78.
- Miyata T, Tokunaga F, Yoneya T, Yoshikawa K, Iwanaga S, Niwa M, Takao T and Shimonishi Y. 1989. Antimicrobial peptides, isolated from horseshoe crab hemocytes, tachyplesin II, and polyphemusins I and II: chemical structures and biological activity. *J Biochem* 106, 663-668.
- Ovchinnikova TV, Aleshina GM, Balandin SV, Krasnodemb-skaya AD, Markelov ML, Frolova EI, Leonova YF, Tagaev AA, Krasnodembsky EG and Kokryakov VN. 2004. Purification and primary structure of two isoforms of arenicin, a novel antimicrobial peptide from marine polychaeta *Arenicola marina*. *FEBS Lett* 577, 209-214. <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2004.10.012>.
- Ovchinnikova TV, Balandin SV, Aleshina GM, Tagaev AA, Leonova YF, Krasnodembsky ED, Men'shenin AV, Kokryakov VN. 2006. Aurelin, a novel antimicrobial peptide from jellyfish *Aurelia aurita* with structural features of defensins and channel-blocking toxins. *Biochem Biophys Res Commun* 348, 514-523. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.07.078>.
- Park CH, Erika V, Valore, Waring AJ and Ganz T. 2001. Hepcidin, a Urinary Antimicrobial Peptide Synthesized in the Liver. *J Biol Chem* 276, 7806-7810.
- Park JH, Kang KC, Baek SB, Lee YH and Rhee KS. 1991. Separation of antioxidant compounds from edible marine algae. *Korean J Food Sci Technol* 23, 256-261.
- Rice-Evans CA and Miller NJ. 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive compounds of food. *Biochem Soc Trans* 24, 790-795.
- Sampath Kumar NS, Nazeer RA and Jaiganesh R. 2012. Purification and identification of antioxidant peptides from the skin protein hydrolysate of two marine fishes, horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) and croaker (*Otolithes ruber*). *Amino Acids* 42, 1641-1649. <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-011-0858-6>.
- Seo JK, Crawford JM, Stone KL and Noga EJ. 2005. Purification of a novel arthropod defensin from the American oyster, *Crassostrea virginica*. *Biochem Biophys Res Commun* 338, 1998-2004.
- Seo JK, Lee MJ, Go HJ, Kim GD, Jeong HD, Nam BH and Park NG. 2013. Purification and antimicrobial function of ubiquitin isolated from the gill of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Mol Immunol* 53, 88-98. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2012.07.003>.
- Zadina JE, Banks WA and Kastin AJ. 1986. Central nervous system effects of peptides, 1980-1985: a cross-listing of peptides and their central actions from the first six years of the journal peptides. *Peptides* 7, 497-537.