

Chlamydomonas sp. 유래 mycosporine-like amino acid 혼합물의 항주름 활성

서승석¹, 서효현², 이정훈², 황진익¹, 박미례¹, 모상현², 이택건^{1*}
¹한국해양과학기술원 남해특성연구부, ²바이오에프디엔씨 항노화연구소

Anti-corrugation activity of micosporine-like amino acid mixtures from *Chlamydomonas* sp.

Sung-Suk Suh¹, Hyo Hyun Seo², Jeong Hun Lee², Jinik Hwang¹, Mirye Park¹, Sang
Hyun Moh², Taek-Kyun Lee^{1*}

¹South Sea Environment Research Department, Korea Institute of Ocean Science & Technology
²Anti-aging Research Institute of BIO-FD&C Co.,Ltd

요약 미세조류 유래 mycosporine-like amino acids (MAAs) 혼합물의 항주름활성을 분석하기 위하여 type I procollagen, elastin 및 involucrin 유전자 발현분석을 실시하였다. *Chlamydomonas* sp.를 80% 에탄올로 추출하고, 킬럼을 통해 분획물을 정제하고, HPLC 분석을 통해 asterina 330+palythine (A+P) 및 shinorine+palythine (S+P) 혼합물을 정제하였다. MTT assay 결과 A+P 및 S+P는 0.1 mg/mL까지 세포독성을 나타내지 않았다. UV에 노출된 섬유아세포에 대한 MAAs 혼합물의 영향을 분석하였을 때, 0.05 mg/mL A+P 및 0.01 mg/mL S+P 농도에서 각각 2.7 및 3.6 배 PCOLCE mRNAs 발현이 증가하였다. Elastin 유전자는 0.01 mg/mL의 A+P 및 S+P를 처리하였을 때 각각 5.59배 및 3.1배 발현이 증가하였다. 특히 0.01 mg/mL의 A+P 및 S+P 농도에서 involucrin mRNAs 발현이 UV 처리된 대조구와 비교하였을 때 5배 및 2.5배 감소하였다. 결론적으로 *Chlamydomonas* sp. 유래 MAAs 혼합물은 주름개선용 기능성 화장품 개발을 위한 소재로서의 가능성이 충분한 것으로 판단되었다.

Abstract To examine the effects of a mycosporine-like amino acids (MAAs) mixture from microalgae, *Chlamydomonas* sp, on the anti-wrinkle activities, the expression levels of genes that are associated with skin aging, including type I procollagen, elastin and involucrin, were analyzed. Asterina 330+palythine (A+P) and shinorine+palythine (S+P) mixtures were purified from *Chlamydomonas* sp using the following steps: 80% methanolic extraction, column purification, and HPLC analysis. As a result of the MTT assay, A+P and S+P did not induce cellular cytotoxicity with up to 0.1 mg/mL of both MAAs. In addition, the treatment of UV-exposed fibroblasts with A+P (0.05 mg/mL) and S+P (0.01 mg/mL) increased the levels of the PCOLCE mRNAs by 2.7 and 3.6 fold compared to the control group, respectively, The levels of elastin gene expression were elevated 5.59 and 3.1 fold in the A+P and S+P treated (0.01 mg/mL) cells, respectively. In particular, at a concentration of 0.01 mg /mL, the A+P and S+P expression levels of Involucrin mRNAs were increased 3.5 and 2.5 fold in the UV-exposed cells compared to the control, respectively. In conclusion, the MAAs derived from *Chlamydomonas* sp can be utilized as functional cosmetic materials with anti-wrinkle effects on the skin.

Key Words : Anti-corrugation, Elasin, Involucrin, Mycosporine-like amino acids, PCOLCE

본 논문은 해양수산부 연구과제(PM57880) 연구과제로 수행되었음.

*Corresponding Author : Taek-Kyun Lee(Korea Institute Ocean Science & Technology)

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

Received July 14, 2014

Revised August 6, 2014

Accepted August 7, 2014

1. 서론

피부노화의 가장 대표적인 증상은 주름이다[1]. 주름을 생성하게 하는 피부노화는 내적 및 외적요인을 원인으로 설명되고 있다. 내적요인으로는 주로 개인의 유전적 배경에 의해 나타나지만[2], 라디칼 생성, 염증, 스트레스, 돌연변이 및 세포대사의 불균형 등이 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[3]. 공해, 질병, 흡연 및 자외선 등은 피부노화를 유도하는 외적요인이며[4], 특히 장기적인 자외선 노출로 인한 피부노화는 광노화로 불리기도 한다[5]. 피부가 자외선에 지속적으로 노출되면 세포외기질을 생산하는 섬유아세포의 활성이 저하되고, 콜라겐 생합성이 감소하고, 변형된 엘라스틴이 증가하게 된다. 또한 세포외기질을 분해하는 matrix metallo-proteinases (MMPs)의 증가로 콜라겐의 분해가 증가하게 되고, 활성산소 등 해로운 성분이 쉽게 진피에 영향을 미치게 되어 주름이 생성되는 것으로 알려져 있다[3-5].

미세조류를 비롯한 남조류, 균류 및 해조류 등 광합성 생물은 단기적 및 장기적으로 자외선에 노출되는 환경에서 서식하기 때문에 자외선에 의한 세포 및 조직의 손상을 극복할 수 있는 다양한 기작을 진화시켜 왔다[6]. 자외선에 의해 유도되는 DNA 손상의 회복, 해독효소, 카로티노이드 축적, 라디칼 소거자, 항산화제 및 자외선 흡수/차단 화합물의 합성 등을 통하여 자외선에 의한 손상을 감소시킨다[7-9]. 자외선 흡수/차단 화합물 중 MAAs는 자외선 광차단 기능이 알려지면서 주목을 받고 있다. MAAs는 남조류, 균류, 미세조류 및 해조류 등 대부분의 광합성 식물에서 합성되는 자외선 흡수물질이다[8-10]. 약 20여종의 MAAs가 존재하는 것으로 알려져 있으며, 최대흡수파장은 310-360 nm이다[11], MAAs는 *in vivo*에서 UV에 의해 유도되는 피부손상을 막는 기능[12]을 가지고 있기 때문에 피부관리와 화장품 소재로 사용된다[13].

동식물에서 얻은 추출물 또는 화합물의 항피부노화 활성에 대한 많은 연구가 보고되고 있다[14-16]. 추출물의 항 피부노화 활성분석을 위하여 다양한 연구방법이 적용되고 있는데, 특히 Procollagen C proteinase enhancer (PCOLCE), elastin 및 involucrin 유전자 발현 분석은 다양한 추출물 또는 화합물의 항피부노화 활성 분석에 적용되고 있다[17-20]. 본 연구에서는 미세조류 (*Chlamydomonas* sp.)로부터 mycosporine-like amino

acids (MAAs) 혼합물을 추출하고, MAAs 혼합물의 세포독성 분석을 위하여 MTT assay를 수행하였다. 또한 MAAs 혼합물의 type I procollagen, elastin 및 involucrin 유전자 발현에 대한 영향을 분석하여 새로운 항주름 화장품 첨가제로써 MAAs의 활용가능성을 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 *Chlamydomonas* sp. 추출물 제조

20 mL의 80% 메탄올 용액에 동결건조된 *Chlamydomonas* sp. 분말 100 g을 넣은 후, 항온수조(45°C)에서 3 hr 동안 유효성분을 추출하였다. 추출물은 Whatman (No.2) 여과지로 여과하여 상등액과 잔여 *Chlamydomonas* sp. 고형물을 분리시켰다. 분리된 잔여 고형물로부터 상기의 추출 및 여과를 2회 더 반복하여 추출하였다. 분리된 상등액을 모두 모은 후 vacuum evaporator로 농축하고 건조시켜서 고형화된 *Chlamydomonas* sp. 추출물을 얻었다.

2.2 *Chlamydomonas* sp. 추출 분획물 제조

고형화된 *Chlamydomonas* sp. 추출물을 100 mL의 증류수에 용해시키고, membrane filter (pore size, 0.45 µm, Gelman, USA)로 여과하여 불순물이 제거된 추출물 수용액을 제조하였다. 추출물 수용액은 Prep LC system (Koto, Japan)을 이용하여 물-50% 메탄올 농도 구배로 전개시킨(5 mL/min) 후, UV detector 및 RI detector를 사용하여 280-400 nm의 자외선 파장을 흡수하는 *Chlamydomonas* sp. 추출 분획물을 획득하였다.

2.3 *Chlamydomonas* sp. 정제 분획물 제조

Chlamydomonas sp. 추출 분획물을 UG120 guard column (Shiseido, Japan)으로 보호된 hydrophobic interaction column (Capcellpak C18 UG120 semi-preparative column; Shiseido, Japan)에 0.2 %(v/v) 아세트산 수용액을 10 mL/min의 속도로 전개하여 정제 추출물-1을 정제하였다. 또한 추출분획물을 size exclusive column (Ohpak 2002; Shiseido, Japan)을 통하여 증류수를 2.5 mL/min의 속도로 전개하여 정제추출물-2를 얻었다. 각 추출물은 vacuum evaporator를 이용하

여 농축하고, 진공건조시켜 고형화된 2종의 추출물을 획득하였다. 최종적으로 얻어진 2종의 추출물은 HPLC를 이용하여 mycosporine-like amino acids 조성을 분석하였다[21].

2.4 섬유아세포 배양 및 세포독성 분석

인간 섬유아세포(fibroblast 세포)는 American Type Culture Collection (ATCC)로부터 분양받았다. Fibroblast 세포 배양을 위해서 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), 10% Fatal bovine serum (FBS) 및 1% Antibiotic-Antimycotic (GIBCO, Cat No. 15240-062)가 혼합된 배지에서 배양하였다. 배양액은 2-3일마다 교환해 주었으며, 배양접시(100 mm/60.1 cm²)를 이용하여 5% CO₂ 배양기(37°C)에서 배양하였다.

세포독성 시험[21]을 위하여 fibroblast 세포를 1x10⁴ cells/mL 농도로 24-well plate에 넣고 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양된 fibroblast 세포에서 배양매지를 제거하고, phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 후, FBS가 포함되지 않은 신선한 세포배양배지로 교체하였다. MAAs 혼합물을 농도별로 시료에 처리하고 24시간 추가 배양하였다. 배양이 끝난 세포에 5 mg/mL의 MTT (3-(4,5-dimethyl- thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma) 용액을 첨가하였다. 배양기에서 3시간 배양한 후 형성된 fomazan을 500 μL의 DMSO로 녹이고, 96 well plate로 옮긴 후 595 nm에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다. 세포독성은 대조군과 비교하여 흡광도의 백분율로 나타내었다.

2.5 항주름 활성

항주름 활성은 UV (7.5 J/m²)에 노출된 fibroblast 세포의 type I procollagen, elastin 및 involucrin 유전자의 발현에 대한 MAAs의 영향을 qRT-PCR 법을 이용하여 분석하였다. Fibroblast 세포를 96 well plate에 1x10⁴ cells/well 되도록 분주한 후 confluence가 80% 이상 도달할 때까지 배양하였다. 배지를 제거한 다음 50 mJ의 UV를 조사하여 염증을 유도하였다. FBS free DMEM 배지로 교환 후 MAAs 혼합물을 처리하였다. 24시간 추가 배양한 후 type I procollagen, elastin 및 involucrin 유전자의 발현을 UV 처리구와 UV+MAAs 처리구로 나누어 분석하였다.

2.6 RNA Isolation 및 qRT-PCR

RNA 분리와 cDNA 합성은 FastLane Cell one-step buffer set (QIAGEN 216213)의 사용매뉴얼에 따라 실시하였다. 항주름과 관련한 type I procollagen, elastin 및 involucrin 유전자를 분석하기 위하여 합성된 cDNA를 주형으로 사용하였다. 2X QuantiTect SYBR Green RT-PCR Master mix의 매뉴얼에 따라 Rotor Gene Q Real-time PCR machine (Qiagen)으로 수행하였다. 실험에 사용한 primers는 Qiagen사의 QuantiTect® primer assays (18S rRNA QT00199367, β-actin QT01680476, PCOLCE: QT01005725; Elastin: QT00034594; Involucrin: QT00082586)를 사용하였다. 발현율은 18S rRNA 및 β-actin로 표준화하였다. PCR 증폭 반응은 total 20 μL로 10X reaction buffer 2 μL, 2.5 mM dNTPs 2 μL, Taq DNA polymerase 0.5 μL, cDNA 5 μL, SYBR 1 μL를 혼합하여 반응을 수행하였다. 반응 조건은 94°C에서 15초, 55°C에서 30초 그리고 72°C에서 30초씩 각각 40 사이클을 실시하였다.

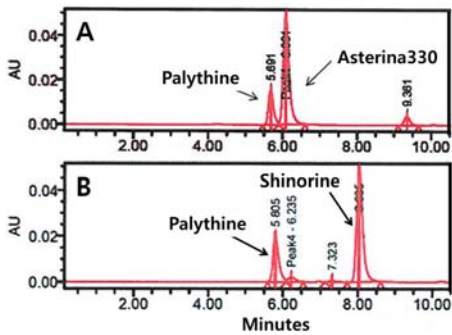
2.7 통계분석

통계분석은 SPSS 통계 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 데이터의 normality와 균질성은 ANOVA로 확인하였고, 실험구 간의 차이는 one-way ANOVA와 Duncan's multiple range test로 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 정제추출물의 MAAs 함량 분석

Chlamydomonas sp. 정제추출물 1 및 2의 MAAs 함량을 HPLC 흡광도를 이용하여 분석하였다. 정제추출물-1의 주요 MAAs 성분은 palythine과 asterina 330으로 나타났으며, 각각 5.691 분과 6.09분에 검출되었다[Fig. 1A]. Palythine과 asterina 330은 함유율이 각각 15.7% 및 58.1%로 분석되었다. 정제추출물-2의 주요 MAAs 성분은 palythine과 shinorine으로 나타났으며, 각각 5.805 분과 8.035분에 검출되었다[Fig. 1B]. Palythine과 shinorine은 함유율이 각각 20.8% 및 57.3%로 분석되었다.



[Fig. 1] HPLC chromatogram of purified asterina 330+palythine (A) and shinorine+palythine (B) mixture from *Chlamydomonas* sp.

3.2 MAAs 혼합물의 세포독성

Chlamydomonas sp. 유래 asterina 330+palythine 혼합물(A+P) 및 shinorine+palythine 혼합물(S+P)의 세포독성을 MTT assay를 통하여 분석하였다. MTT assay는 미토콘드리아에 존재하는 dehydrogenase에 의해 MTT로부터 형성된 MTT-formazan의 양을 측정하는 세포독성 분석 기법이다[22]. 배양된 HaCat 세포에 MAAs 혼합물을 각각 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 및 1.0 mg/mL 농도로 처리하였을 때 A+P 및 S+P 모두 0.1%까지 90% 이상의 cell viability를 보여 세포독성이 없는 것으로 확인되었다[Table 1]. 따라서 항주름활성 분석시 0.1 mg/mL 농도 이하에서 처리하고, 활성을 분석하였다.

[Table 1] Cytotoxicity assay of A+P and S+P mixtures

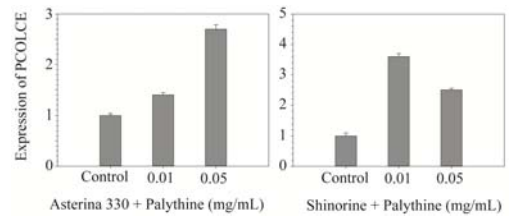
MAAs (mg/ml)	Cell viability (% of control)	
	Asterina 330 + Palythine	Shinorine + Palythine
Control	100	100
0.01	90.63±3.2	95.37±5.2
0.05	94.45±4.3	89.78±3.9
0.1	92.21±3.6	93.65±4.8
0.5	66.04±4.5	57.46±8.5
1	53.69±7.1	54.22±6.9

3.3 Procollagen, elastin 및 involucrin 유전자 발현

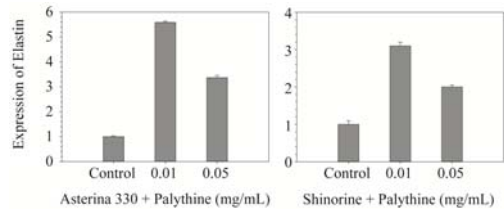
미세조류 유래 MAAs인 A+P 및 S+P의 피부세포에서의 콜라겐 생성에 대한 영향을 확인하기 위하여 PCOLCE, elastin 및 involucrin 유전자의 발현을 분석하였다. 각 유전자의 발현정도는 UV만을 조사한 시료에 대한 상대적인 발현량으로 표시하였다. UV만을 처리한 대

조군과 비교하여 0.01% 및 0.05%의 A+P를 처리하였을 때 PCOLCE 유전자 발현은 각각 약 1.4배 및 2.7배 증가하였으며, 0.01%의 S+P를 처리하였을 때 약 3.6배의 유전자 발현이 증가되었다[Fig. 2].

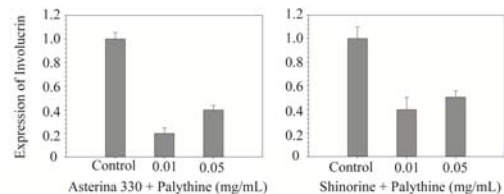
Elastin 유전자는 대조군과 비교하여 0.01% 및 0.05%의 A+P 처리시 각각 약 5.59배 및 3.37배 유전자 발현이 증가하였으며, 동량의 S+P를 처리하였을 때 각각 약 3.1배 및 2.0배 유전자 발현이 증가하였다[Fig. 3]. Involucrin 유전자 발현은 0.01% A+P 및 S+P를 처리하였을 때 각각 5배 및 2.5배 감소하였다[Fig. 4]. 본 연구결과는 *Chlamydomonas* sp. 유래 MAAs인 A+P 및 S+P 추출물이 인간섬유아세포의 콜라겐합성에 긍정적인 영향을 주고 있으며, 항주름 화장품의 첨가물로 활용가능함을 보여준다.



[Fig. 2] The expression levels of PCOLCE mRNAs in response to different concentrations of A+P and S+P mixtures under UV radiation.



[Fig. 3] The expression levels of Elastin mRNAs in response to different concentrations of A+P and S+P mixtures under UV radiation.



[Fig. 4] The expression levels of Involucrin mRNAs in response to different concentrations of A+P and S+P mixtures under UV radiation.

4. 결론

최근 주목을 받고 있는 미세조류 유래 mycosporine-like amino acids (MAAs)의 항주름효과를 분석하였다. 동결건조된 *Chlamydomonas* sp. 분말을 80% 메탄올 용액, Prep LC system, size exclusive column 및 hydrophobic interaction column을 순차적으로 적용하여 MAAs를 추출하였고, HPLC를 이용하여 추출물이 asterina 330+palythine 혼합물(A+P) 및 shinorine+palythine 혼합물(S+P)로 구성되어 있음을 확인하였다. 추출된 A+P 및 S+P는 0.1% 처리까지 세포독성을 보이지 않았다. A+P 및 S+P의 인간섬유아세포에서의 콜라겐 합성에 대한 영향을 분석하기 위하여 PCOLCE, elastin 및 involucrin 유전자의 발현을 분석하였다. A+P 및 S+P는 각각 PCOLCE 및 elastin 유전자의 발현을 증가시켰으며, involucrin 유전자의 발현은 감소시켰다. 본 연구의 결과는 *Chlamydomonas* sp. 유래 A+P 및 S+P 혼합물이 주름개선용 화장품의 첨가제로써 활용 가능함을 보여준다.

References

[1] S. H. Park, K. H. Lee, C. S. Han, K. H. Kim, Y. H. Kim. "Inhibitory Effects of *Carex humilis* Extract on Elastase Activity and Matrix Metalloproteinase-1 Expression", *J Soc Cosmet Scientists Korea*, 36(2), 129-136, 2010.

[2] N. Puizina-Ivic'. "Skin ageing", *Acta Dermatoven APA*, 17, 47-54, 2008.

[3] T. Peter, "Physiology of the Skin", Allured Publishing Corporation, Pugliese. MD, 1, 61, 2001.

[4] D. R. Keene, L. Y. Sakai, G. P. Lunstrum, N. P. Morris, R. E. Burgeson, "Type VII collagen forms an extended network of anchoring fibrils", *J Cell Biol*, 104, 611-621, 1987.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.104.3.611>

[5] E. Y. Chung, B. H. Kim, M. K. Lee, "Anti-inflammatory effect of the oligomeric stilbene alphaviferin and its mode of the action though inhibition of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase", *Planta Med*, 69(8), 710-714, 2003.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-2003-42787>

[6] S. P. Singh, M. Klisch, R. P. Sinha, D-P. Häder. "Genome mining of mycosporine-like amino acid (MAA)

synthesizing and non synthesizing cyanobacteria: a bioinformatics study". *Genomics*, 95, 120-128, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeno.2009.10.002>

[7] S. Kumari, R. P. Rastogi, K. L. Singh, S. P. Singh, R. P. Sinha. "DNA damage: detection strategies", *EXCLI J*, 7, 44-62, 2008.

[8] E. M. Middleton, A. H. Teramura. "The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage." *Plant Physiol*. 103, 741-752, 1993.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.103.3.741>

[9] S. P. Singh, S. Kumari, R. P. Rastogi, K. L. Singh, R. P. Sinha. "Mycosporine-like amino acids (MAAs): chemical structure, biosynthesis and significance as UV-absorbing/screening compounds", *Ind J Exp Bio*. 46, 7-17, 2008.

[10] C. S. Cockell, J. Knowland. "Ultraviolet radiation screening compounds", *Biol Rev Camb Philos Soc*, 74, 311-345, 1999.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S0006323199005356>

[11] H. Nakamura, J. Kobayashi. Y. Hirata. "Separation of mycosporine like amino acids in marine organisms using reversed-phase high performance liquid chromatography", *J Chromatogr*, 250, 113-118, 1982.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)95219-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(00)95219-1)

[12] F. de la Coba, J. Aguilera, F. L. Figueroa, M. V. de Gálvez, E. Herrera. "Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen", *J Appl Phycol*, 21, 161-169, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-008-9345-1>

[13] E. P. Balskus and C. T. Walsh. "The genetic and molecular basis for sunscreen biosynthesis in cyanobacteria". *Science*. 329, 1653-1656, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1193637>

[14] H. J. Moon, S. R. Lee, S. N. Shim. "Fucoidan Inhibits UVB-Induced MMP-1 Expression in Human Skin Fibroblasts", *Pharmaceut Soc Japan*, 31, 284-289, 2008.

[15] P. K. Vayalil, A. Mitta, Y. Hara, A. Craig. "Green Tea Polyphenols Prevent Ultraviolet Light-Induced Oxidative Damage and Matrix Metalloproteinases Expression in Mouse Skin", *J Invest Dermatol*, 122,1480-1487, 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.0022-202X.2004.22622.x>

[16] Y. Lee, C. O. Hong, M. H. Nam, J. H. Kim. "Antioxidant and Glycation Inhibitory Activities of Gold Kiwifruit, *Actinidia chinensis*", *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 54, 460-467, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3839/jksabc.2011.071>

[17] M. F. Shih, J. Y. Cherng, "Potential protective effect of

fresh grown unicellular green algae component (resilient factor) against PMA- and UVB-induced MMP-1 expression in skin fibroblasts”, *Eur J Dermatol*, 18, 303-307, 2008.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1684/ejd.2008.0393>

- [18] B. M. Steigltz, J. M. Kreider, E. P. Frankenburg, W. N. Pappano, G. G. Hoffman, J. A. Meganck, X. Liang, M. Hook, D. E. Goldstein, D. S. Greenspan. “Procollagen C proteinase enhancer 1 genes are important determinants of the mechanical properties and geometry of bone and the ultrastructure of connective tissues”, *Mol Cell Biol*, 26, 238-249, 2006.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/MCB.26.1.238-249.2006>

- [19] S. Bosset, M. Bonnet-Duguenoy, P. Barre, A. Chalon, K. Lazou, R. Kurfurst, F. Bonte, S. Schnebert, F. Disant, B. Le Varlet, J. F. Nicolas. “Decreased expression of keratinocyte beta1 integrins in chronically sun-exposed skin in vivo”, *Br J Dermatol*. 148, 770-778, 2003.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2133.2003.05159.x>

- [20] R. H. Rice, Q. Qin, A. Pilato, A. L. Rubin, “Keratinocyte differentiation markers: involucrin, transglutaminase, and toxicity”, *J Natl Cancer Inst Monogr*, 13, 87-91, 1992.

- [21] N. K. Peinado, R. T. A. Diaz, F. L. Figueroa, E. W. Helbling. “Ammonium and UV radiation stimulate the accumulation of Mycosporine-like amino acids in *Porphyra columbina* (Rhodophyta) from Patagonia, Argentina”, *J Phycol*, 40, 248-259, 2004.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1529-8817.2004.03013.x>

- [22] A. A. Van de Loosdrecht, E. Nennie, G. J. Ossenkoppele, R. H. Beelen, M. M. Langenhuijsen, “Cell mediated cytotoxicity against U 937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay. A methodological study”, *J Immunol Methods*, 141(1), 15, 1991.

DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(91\)90205-T](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(91)90205-T)

서 승 석(Sung-Suk Suh)

[정회원]



- 2002년 9월 : 서울대학교 생물학과 (이학석사)
- 2012년 3월 : 오하이오 주립대 생화학 (이학박사)
- 2012년 3월 ~ 2013년 8월 : 오하이오 주립대 의과대 (포닥)
- 2013년 8월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 연수연구원

<관심분야>

해양환경독성학, 해양분자생물학

서 효 현(Hyo Hyun Seo)

[정회원]



- 1999년 12월 ~ 2007년 3월 : (주)금호석유화학 금호생명환경과학연구소 선임 연구원
- 2004년 8월 : 광주과학기술원 생명과학과 (이학석사)
- 2007년 6월 ~ 현재 : (주)바이오에프디엔씨 근무

<관심분야>

생명과학

이 정 훈(Jeong Hun Lee)

[정회원]



- 2001년 2월 : 고려대학교 생물학 (이학박사)
- 2005년 11월 ~ 현재 : (주)바이오에프디엔씨 근무

<관심분야>

생명과학

황 진 익(Jinik Hwang)

[정회원]



- 2008년 2월 : 신라대학교 생물학과 (이학학사)
- 2007년 9월 ~ 2011년 2월 : 한국 해양연구원 인턴연구원
- 2011년 3월 ~ 현재 : 한국과학기술연합대학원 대학교 석·박사 통합과정 재학

<관심분야>

해양환경독성학, 해양분자생물학

이 택 건(Taek-Kyun Lee)

[정회원]



- 1991년 2월 : 성균관대학교 생물학 (이학석사)
- 1998년 2월 : 성균관대학교 식물분자생리학 (이학박사)
- 1998년 9월 ~ 2000년 8월 : 한국 해양연구원 연수연구원
- 2000년 9월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 책임연구원

<관심분야>

환경분자생리학, 해양환경독성학

박 미 레(Mirye Park)

[정회원]



- 2010년 2월 : 동아대학교 생명과학 전공 (이학학사)
- 2011년 10월 ~ 2012년 8월 : 한국 해양연구원 남해특성연구부 인턴연구원
- 2012년 9월 ~ 현재 : 한국과학기술연합대학원 대학교 석·박사 통합과정 재학

<관심분야>

해양환경독성학, 해양분자생물학

모 상 현(Sang Hyun Moh)

[정회원]



- 2003년 8월 : 광주과학기술원 생명과학과 (이학석사)
- 2013년 2월 : 성균관대학교 나노과학기술협동학부 (이학박사)
- 2005년 11월 ~ 현재 : (주)바이오에프디엔씨 대표이사

<관심분야>

생명과학, 나노과학