

제주연안 무척추 동물 다양성 조사연구

주관연구기관	제주대학교
연구책임자	김세재
발행년월	2005-10
주관부처	과학기술부
사업관리기관	한국과학재단
NDSL URL	http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO200900071384
IP/ID	14.49.138.138
이용시간	2017/11/02 17:45:25

저작권 안내

- ① NDSL에서 제공하는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, KISTI는 복제/배포/전송권을 확보하고 있습니다.
- ② NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 상업적 및 기타 영리목적으로 복제/배포/전송할 경우 사전에 KISTI의 허락을 받아야 합니다.
- ③ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 보도, 비평, 교육, 연구 등을 위하여 정당한 범위 안에서 공정한 관행에 합치되게 인용할 수 있습니다.
- ④ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 무단 복제, 전송, 배포 기타 저작권법에 위반되는 방법으로 이용할 경우 저작권법 제136조에 따라 5년 이하의 징역 또는 5천만 원 이하의 벌금에 처해질 수 있습니다.

제 출 문

과학기술부 장관 귀하

본 보고서를 “ 제주해양 생물자원의 정보 및 추출물 은행 구축에 관한 연구”과제 (세부과제 “제주연안 무척추 동물 다양성 조사에 관한 연구”) 의 보고서로 제출합니다.

2005. 10.

주관연구기관명 : 제주대학교

주관연구책임자 : 김 세 재

연 구 원 : 최 광 식

” : 이 영 돈

” : 김 병 직

” : 이 국 경

” : 이 정 훈

” : 김 기 옥

” : 이 남 호

보고서 초록

과제관리번호	M1-0219-13-0002	해당단계 연구기간	2002. 12. 1 - 2005. 6. 30	단계 구분	1단계
연구사업명	중 사업명	바이오연구개발사업			
	세부사업명	유전자원지원활용사업			
연구과제명	중 과 제 명	제주 해양생물자원의 정보 및 추출물 은행 구축			
	세부(단위)과제명	제주연안 무척추동물 다양성 조사연구			
연구책임자	김 세 재	해당단계 참여연구원수	총 : 8 명 내부 : 7 명 외부 : 1 명	해당단계 연구비	정부: 216,500 천원 기업: 150,000 천원 계: 366,500 천원
연구기관명 및 소속부서명	[Redacted]		참여기업명	제주도청	
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위 탁 연 구	연구기관명 : (재)제주하이테크산업진흥원		연구책임자 : 김기욱		
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)				보고서 면수	
<ol style="list-style-type: none"> 1. 해양 무척추동물 종다양성 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 제주연안 총 채집 확인된 무척추동물 : 총 1,013종 - DB 자료 제공 및 60여종의 무척추동물(연체류, 강장동물 및 갑각류) genomic DNA를 추출 보관 2. 어류 종다양성 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 제주연안 어류 분포조사, 표본제작 및 지리정보 구축 - 어류 180종 생물정보 DB 구축 - 어류 50종 생체동결 시료 구축 3. 해양생물 정보 DB 구축 운영 <ul style="list-style-type: none"> - 제주연안 해조류, 무척추동물, 어류의 생물정보 DB 구축 운영 (http://chejubio.cheju.ac.kr) - Background DB 구축 (해조류 20,000종, 연체동물 500종, 어류 150종) - 물질 데이터베이스 5,000종 구축 4. 해조류 추출물 은행 구축 <ul style="list-style-type: none"> - 해조류 150종 추출물 구축 - 생리활성(항산화, 미백, 항암) 물질 탐색 및 후보물질 도출 10건 5. 해양미생물 분리 및 보존 <ul style="list-style-type: none"> - 해양 미생물 36속 54종 191균주 분리 및 보존 - 아열대 해양 세균 191균주에 대한 정보 DB 구축 					
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	무척추동물, 어류, 아열대성 해양 미생물, 해조류 추출물 은행, 해양생물 정보 DB			
	영 어	Invertebrates, Fish, marine microorganism, Algae Extract Bank, Information DB			

요 약 문

I. 제 목

제주 연안 무척추 동물 다양성 조사연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

생물다양성은 자연환경의 보존 및 지속가능한 개발의 원천으로 그 중요성이 더욱 강조되고 있고, 21세기 국가 경쟁력의 척도는 생물자원의 보존과 활용에 있다. 따라서 세계 각국은 생물자원의 다양성 확보 및 이용을 위한 인프라 구축과 보존·활용 연구에 국가 역량을 집중하고 있다. 특히 해양 바이오는 선진국과 기술격차가 적어 집중적 투자와 인프라가 구축될 경우 선도가 가능한 사업이며, 해양 바이오의 장점은 육상에 비해 다른 환경에 적응한 많은 종으로부터 산업화소재를 개발할 수 있는 잠재성이 매우 높다는 것이다. 이에 본 연구는 제주연안에 분포하고 있는 해양생물 종 다양성에 대한 체계적인 기초연구를 통해 제주연안의 해양생물정보 DB를 구축하고, 유용 유전자원을 확보하며 해조류 추출물 은행을 구축 운영함으로써 해양생물자원의 산업적 활용을 촉진하는데 그 목적이 있다.

2. 연구개발의 필요성

생물 산업의 육성에는 생물자원의 체계적인 보존·관리와 활용이 필수적이다. 생물다양성 협약 등 각종 자연환경관련 국제협약이 제정되어 시행 중이며, 유용한 생물자원의 확보를 위한 국가간 경쟁이 치열하게 전개되고 있다. 제주 생물자원들은 외부로 대부분 유출되어 왔으며, 고유 생물자원의 보존, 확보 및 산업적 활용을 위한 체계적인 생물 종 다양성 정보 구축이 되어 있지 못하고 있는 실정이다. 특히, 제주의 해양생물자원에 대한 체계적인 조사연구는 아직도 미약한 실정이며, 해양생물자원의 보존과 확보, 그리고 탐색 기술 개발을 통한 산업화 가능한 생물소재의 개발을 위해서는 많은 연구자들이 활용할 수 있는 제주해양생물자원의 정보 및 추출물 은행 구축사업은 제주 생물 산업 육성과 발전을 위해 절실히 요구되고 있다.

제주 해양생물자원에 대한 체계적인 기초연구는 청정 환경과 생물자원에 의존하는 기존 수산양식업의 고도화에 기여하여 바이오 해양산업의 발

전하는 기반이 된다. 또한, 제주 청정 환경과 생물다양성 정보망의 구축은 생태 자연학습의 소재로 활용되어 관광산업 발전에 간접적으로 기여할 것이다. 본 연구를 통해 국내외 중 다양성 관련 연구기관들과 네트워크를 구축하고, 도내 대학 및 산업지원기관 (TIC, HTS, 생물자원센터 등)과 연계하여 학술적 이용 및 산업적 활용토대를 마련하는 인프라를 구축할 수 있다. 제주 해양생물자원을 활용한 다기능성 생물소재의 확보는 기능성 식품의 개발뿐만 아니라 천연물 신약 산업으로도 그 응용성 매우 커서 경쟁력 있는 제품이 개발되면 경제적 및 산업적인 파급효과가 매우 클 것으로 예상된다.

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

1. 해산 무척추동물 중 다양성 조사 연구

제주연안의 해양생물 자원 중, 해산무척추동물에 관한 집약적 생물정보은행 구축 및 운영을 하였다. 제주도 연안에 분포하는 해양무척추동물 수집을 하였다. 제주연안에 서식하고 있는 300여종 이상의 해산 연체동물에 대한 채집 및 생태사진을 확보하였다. 제주 연안에서 이들 종의 공간적, 시간적 분포에 관한 데이터베이스 구축을 완료하였다. 일부 연체 동물 중 산업적 가치가 높은 종에 대하여 생체 시료를 확보하며 3차년도 연구 기간동안 약 60 종 이상을 확보함으로써 향후 DNA 추출이 가능 하도록 보존하였다. 본 정보은행 구축사업에서 확보된 연체동물의 분포를 단행본으로 출판할 예정이다.

2. 어류의 종 다양성 조사 연구

어류 종 다양성 조사에서는 2차년에 걸쳐 제주 연안에 출현하는 어류를 대상으로 해양생물정보 DB홈페이지 운영을 위해 어류 180종의 생물정보 DB자료를 제공하고, DNA분석용 생체동결 시료를 확보하는 것을 목적으로 실시되었다.

3. 해양생물정보 DB 구축 운영

제주연안 해양생물(해조류, 연체동물, 어류)의 정보 홈페이지를 운영하며 추출물 정보관리를 위한 물질 데이터베이스를 구축한다.

4. 해양식물 추출물 은행 구축 및 유전자원 확보

해양 식물의 추출물을 150종 구축하며, 구축된 추출물을 이용하여 생리활성(항산화, 항염, 미백, 항암) 물질을 탐색하고 구조를 분석한다. 또한 해양미생물을 300여 균주를 확보한다.

IV. 연구개발결과

1. 해산 무척추동물 종다양성 조사

2003년 1월부터 11월까지 북제주군과 남제주군 연안 11개 지점에서 채집된 해산무척추 동물은 해면동물문 7종, 척삭동물 4종, 자포동물문 34종, 연체동물문 77종, 절지동물 (갑각류)문 28종, 극피동물 20종 등, 총 170종의 해산무척추동물을 수집 분류되었다. 채집된 동물은 제주도연안의 해산무척추동물 DB에 각 종의 분류학적 위치, 분포 및 기타 특성에 관한 자료로 제공하였다.

채집된 시료는 총 1,013 종으로, 육상 및 담수산 연체동물은 57 종, 기수 및 해산 연체동물은 956 종이였다. “제주도 연안의 해산무척추동물 DB”에 본 연구에서 채집된 각 종의 분류학적 위치, 분포 및 기타 생태학적 특성이 제공하였다. 현재 채집된 60종의 시료로부터 genomic DNA를 추출하여 -70℃ 에서 보관 중이다.

2. 어류 종다양성 조사

어류 표본은 제주 연안 (주조조간대 웅덩이, 방파제 등)에서 직접 채집하였고, 일부는 제주도내 어시장에서 수집하였다. 수집된 어류는 관련문헌을 참고하여 동정하고, 각 종에 대해 과명, 국명, 학명, 영명, 일명, 제주 지방명, 형태, 생태, 분포, 이용, 문헌, 표본번호 그리고 사진의 총13개 항목에 대한 생물정보를 표본과 현장조사결과, 그리고 관련문헌을 참고하여 작성하였다.

1차년도에는 6목 34과 100종에 대한 어류생물정보를 수집, 제공하여 해양생물정보 DB홈페이지 구축을 위한 기초자료로 사용하였고, 2차년도에는 16목 55과 80종에 대한 어류생물정보를 추가로 제공하였을 뿐만 아니라, DNA분석용 시료로서 8목 28과 50종의 어류 생체동결표본을 확보하였다.

2년에 걸친 연구조사사업을 통해 한국미기록어종 5종 (떡도라치과 *Springerichthys bapturnus*, 망둑어과 *Trimma gramistes*, *Eviota melasma*, 활치과 *Platas orbicularis*, Bythitidae의 *Oligopus robustus*)이 채집되었으며, 2종(*S. bapturnus*와 *E. melasma*)은 전문학술잡지에 게재되었으며, 그 외에도 학술회의 발표 4건의 성과를 거두었다.

3. 해양 미생물 분리 및 보존

아열대 기후의 제주 해안에서 유용한 해양미생물을 분리하기 위해 광지 해수욕장과 삼양 해수욕장 두 곳에서 다양한 해양 시료를 채집하였다. 시료로는 해수욕장 주변의 모래, 퇴적물, 해조류 및 해수 등을 포함하였다. 해양미생물을 선택적으로 분리하는 방법을 모색하기 위해 분리배지로 멸균된 자연 해수 60%를 첨가한 빈 영양 해수배지 (SCA-SW agar)를 선택

분리배지로 이용하였다. 그 결과 337주의 아열대 해양세균을 분리 계대하였고 멸균된 자연해수를 포함한 20% 글리세롤 현탁액에 보존하였다. 분리 보존된 해양 세균들에 대해서는 유용물질 탐색의 일환으로 세포외 다당류 생성능을 조사하였고 형태 및 배양상 특성을 조사하여 분류 및 동정에 기초 자료로 활용하였다. 그 결과 분리균주의 53%가 크림색의 콜로니를 생성하였고 형태적으로는 70%가 막대 모양의 간균이었다. 한편, 분리미생물의 대부분 (79%)은 세포외 다당류 생성능을 보여 주었다. 한편, rep-PCR 기법과 16S rRNA 유전자 염기서열 결정을 통해 속과 종 수준에서 분류 및 동정을 시도하였고 보존된 아열대 해양세균 191 균주에 대한 정보 데이터베이스를 구축하였다. 그 결과 아열대 해양 세균은 방선균 42균주와 일반세균 149균주를 포함하였다. 방선균들은 12 속 16 종을 구성하였고 일반세균은 24속 38종을 포함하였다.

4. 해양생물 정보 DB 구축

제주 해양생물 정보 DB 260종의 자료를 입력하고 생물정보 홈페이지 (<http://chejubio.cheju.ac.kr>)를 운영하고 있다. 또한 5,000여개의 물질 데이터베이스를 운영하고 있으며 자료여부에 따라 선택적 입력이 가능하다.

5. 해조류 추출물 은행 구축 및 생리활성 물질 탐색

1) 해조류 추출물 DB

추출물 은행 구축을 위해서 3차 년도까지 제주도 연안지역을 중심으로 총 153종의 해조류를 채집하였으며, 이들 해양식물 추출물에 대한 정보는 DB은행 구축에 제공되어 있다. 추출물 은행 DB 구축을 위해서 유기용매 추출방법과 열수추출 방법을 활용하여 각각의 추출물 DB을 구축하였으며, 이 중 MeOH 추출물은 다시 순차적으로 용매분획을 통해 추출하였고, 이 용매 분획물에 대한 DB 또한 구축하였다. 153종 중 추출물은 용매별로 총 302종이 확보되었다.

2) 생리활성 물질 탐색

해양식물 추출물로부터 항산화활성, 항염활성, 미백활성 및 항암활성에 대한 생리활성 후보군을 탐색하였다.

(1) 항산화활성

DPPH 방법을 이용하여 1차적으로 해조류 48종에 대한 메탄올 추출물을 농도 별에 따른 항산화 활성을 검색하였다. 100 $\mu\text{g/ml}$ 이하의 농도에서 IC₅₀값을 나타내는 추출물은 5종 이었다. 또한 해조류 메탄올 추출물 48종에 대한 xanthine oxidase의 활성억제를 검색한 결과 5종의 추출물에서 높은 억제 활성을 나타냈다. 그리고 각 메탄올 추출물에 대한 Superoxide scavenging activity를 분석한 결과, 약 50여종의 추출물 중 약 15 여종이 높은 활성을 나타내었다. 또한 마우스 간균질화물에 대한 지질과산화물생성

저해활성 결과는 약 50여종의 추출물 중 약 6 여종이 강한 과산화지질생성 저해 활성을 보였다.

(2) 항염활성

또한 해양식물 추출에 대한 항염활성은 Raw 264.7 세포주를 이용하여 NO 형성 억제 효과를 보이는지를 분석하였다. 약 50여종의 추출을 분석한 결과, 바닷말, 모자반 등 15여 종 등에서 IC₅₀ 값이 500 mg/ml 보다 낮게 나타났다.

(3) 항암활성

40여종의 해조류 추출물들을 100 µg/ml의 농도로 혈액암세포에 처리시 높은 세포증식 억제효과를 보인 시료로는 T0-23, T0-48, T0-64, T2-98, T7-16, T8-3, T8-124 등으로 약 7여종이 HL-60 및 KG-1 세포 모두에서 약 50% 이상의 강한 세포성장 억제 활성을 나타내었다.

(4) 미백활성

해양식물 추출물 70여종 중 미백 활성 효과를 분석하기 위해 *in vitro*에서 Mushroom tyrosinase 저해활성에 대해 분석하였다. 약 10 여종에서 20-50% 정도의 tyrosinase 활성을 저해하는 미백 활성 후보군을 탐색하였다. 이 10 여종은 현재 미백활성을 갖는다고 보고된 Arbutin과 유사한 정도로 억제하는 것으로 보인다.

3) 활성물질 분리 및 화학구조 규명

추출물 은행에 구축된 DB중 활성이 높은 해조류를 대상으로 화학구조를 규명해 본 결과, 항산화 및 미백효과에 활성을 나타내는 T0-69와 T2-57에 대하여 분리를 시행하였으며, 그중 T0-69의 단일물질은 NMR 분석결과 항산화 활성을 보이는 탄닌 계열의 화합물로 사료된다. 또한, 미백활성과 관련된 추출물인 T2-57은 분리가 진행중에 있으며 NMR data 결과 linoleic acid와 유사한 구조를 갖는 화합물이라고 판단된다.

V. 연구개발결과의 활용계획

1. 추가연구의 필요성

1) 해양생물 종 다양성 조사 및 생물정보 DB 구축 운영

지난 3년간의 연구기간에서 해조류(3년), 연체동물(3년), 어류(2년), 해양미생물(1년)에 대한 종다양성 조사를 수행하면서 참여 연구원들은 많은 분류학적 노하우를 축적하게 되었다. 체계적인 기초분류학적 연구가 뒷받침되지 못한다면, 해양생물 자원의 산업적 활용체계 구축도 불가능하기 때문에 앞으로도 해양 생물의 종다양성을 조사하는 적합한 분류군 학자를 영입하여 해양생물에 대한 분류생태학적 연구가 지속적으로 진행되어야 하고 이를 통해 제주 해양생물정보 DB를 지속적으로 확장해야 한다고 사료된다.

2) 해조류 추출물 은행 및 생리활성 물질 탐색

해조류를 포함하여 해양생물자원의 산업적 활용 체계를 구축하기 위해서 추출물 은행과 유용유전자원의 확보·보존은 매우 중요한 인프라이다. 해양생물을 활용하여 연구하는 연구자에게 생물정보 및 시료를 분양하는 것은 생물자원이 산업적 활용을 촉진할 뿐만 아니라 생물 종 보호와 환경 보존에 매우 유익할 것으로 사료된다.

2. 타 연구에의 응용 및 기업화 추진방안

해양환경보존 차원의 종합적인 정보제공 및 고유 및 희귀종에 대한 유전자원량 증가에 관한 기술이 부가적으로 제공될 수 있으며, 산업적 고부가 해양 동물의 특정 물질 추출 및 활용으로 연계 산업과의 공동연구를 도출할 수 있다. 해양생물 추출물 은행운영에 따른 생물자원을 새로운 생물소재로 개발함으로써 산업화 촉진과 지역경제 활성화에 도움이 될 것으로 사료된다.

S U M M A R Y

I. Title

Construction of Bioinformatic DB and Extract Bank of
Marine Bioresources in Jeju Coast

(A research on diversity of invertebrates in the Jeju coast)

II. The purpose and necessity of the research

Biodiversity is more emphasized on the importance as the conservation of natural environment and a source of continuous development. The index of national competitive power is the conservation and utilization of bio-resources. Therefore, all countries of the world focused on construction of infrastructure for study of utilization and conservation of bio-resource diversity. Particularly, marine-bio is a precedable work if there is accomplished an intensive investment and infrastructure construction, since a gap is little between advanced countries. The merit of marine-bio has very high potentiality to develop of the industrial material than terrestrial organisms, in that it is different to adaptation on environment. Accordingly, this research was performed to construct the DB on the information of marine-bioresources, such as algae, invertebrates, fishes through the systematic basic study on the diversity in the Jeju coast, and as well as to promote the their industrial utilization in bioindustry through construction of algae extract bank.

III. Research content and scope

1. Investigation on the marine invertebrate diversities

Establishment and management of bio-information bank of marine invertebrates occurring Jeju Island are performed. Marine invertebrates around Jeju Island are collected. Ecological pictures of more than 300

marine invertebrates species around Jeju Island are collected. Data base on spatial and temporal distribution of marine invertebrates of Jeju Island are completed. In the 3rd year of research, approximately 60 species of potentially important samples were collected and they were preserved to extract DNAs.

2. Investigation on the fish diversities

To provide raw data for establishing a database on marine animals of Jeju coastal area, Korea, a total of 180 fish species were collected from coastal waters of the island and examined their taxonomic characteristics, and 50 freezing fish specimens for DNA analysis were also collected.

3. Construction and operation of marine bioinformatic DB

The bioinformation on marine organisms (algae, mollusk, and fish), which were inhabited in Jeju coast, is providing through homepage (<http://chejubio.cheju.ac.kr>).

4. Construction of algae extract

The crude extracts of 150 algae species (300 strains) were collected and screened for some kinds of bioactivities.

IV. Results

1. Marine invertebrate diversities

Sampling were performed from Jan. 2003 to Nov. 2003 around Jeju Island where were 11 places. Invertebrate were collected total 170 species: 7 Porifera, 4 Chordata, 34 Cnidaria, 77 Mollusca, 28 Arthropoda and 20 Echinodermata. Data including taxonomy, distribution and other facts will be provided to the marine invertebrate database. A total of 1013 species include 57 species of land and freshwater species and 956 species of brackish and marine shellfish species. Data including taxonomy, distribution and ecological characteristics will be provided to the marine invertebrate database. Genomic DNAs were extracted from 60 species and preserved in -70°C .

2. Fish diversities

Fishes were collected from tide pools, breakwaters around Jeju Island with

hand nets or angling, and some specimens were from local fish markets of the island. Fishes collected were identified with reference to related books or taxonomical papers, and 13 items, including family name, Korean name, English name, Japanese name, Jeju local name, morphological feature, ecological feature, distribution, utilization, reference, registered specimen number, digital image of fresh condition of fish, for each species based on field examination, specimen observation, and referring to literatures were provided. Biological information of 100 fish species from 34 families in 6 orders was provided in the first year, and those of 80 fish species from 55 families in 16 orders were added next year. Additionally, 50 fish species from 28 families in 8 orders were collected from the coastal waters of Jeju Island, and stored at -70°C for DNA analysis.

3. Isolation and conservation of marine microorganisms

For screening invaluable marine bacteria of Jeju coast with subtropical climate, the selective strategy for the isolation of marine bacteria was applied to various marine samples, namely sand, seaweeds, sediments and seawater collected around Kawkji and Samyang beaches using oligotrophic medium (SCA-SW) supplemented with 60% of natural seawater. A total of 337 strains were isolated and maintained as 20% glycerol suspension with 60% natural seawater. The strains were subjected to cultural and morphological characterization for the purpose of checking the purity and to screening for the production of exopolysaccharide. As a result, 53% of the isolates produced cream-colored colonies, while 70% of them showed rod-shaped morphology. On the other hand, most of them (79%) revealed the ability of producing exopolysaccharide. The rep-PCR DNA fingerprinting and 16S rRNA gene sequencing were performed for the provisional classification and identification of subtropical marine bacteria at the levels of genus and species. The isolates were composed of 42 actinomycete strains and 149 bacterial strains with coccus or rod-shaped morphology. Marine actinomycetes were distributed in 12 genera and 16 species, whereas marine bacteria were found in 24 genera and 38 species.

4. Construction of DB on bioinformation of marine organisms

The information data of 260 species of Jeju marine organisms are

inputted, and the homepage(<http://chejubio.cheju.ac.kr>) of bio-information is running. Besides, the DB of 5,000 substances is running and is possible to input selectively according whether or not exist the data.

5. Construction of algae extracts and screening for their bioactivities

Total 153 algae for construction of extract bank is collected, and screened their bioactivities. MeOH extracts is subsequently extracted through the solvent fraction, and the DB of total 302 fractions is constructed. The candidate species that having the antioxidant, anti-inflammatory, anti-whitening, and anticancer activities are selected. First of all, 48 MeOH extracts are screened using DPPH method in a dose dependent manner. The extracts with having IC₅₀ value in the concentration of below 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ were 5 species. The other 5 MeOH extracts also showed the highly inhibitory activity in assay of xanthine oxidase activity. And then the screening of superoxide scavenging activity was detected the high activity in 15 species out of all MeOH extracts. Besides, 6 MeOH extracts showed the strong inhibitory activity in lipid peroxidation assay. The anti-inflammatory activity on algae extracts analyzed the inhibitory effect of NO synthesis in Raw 264.7 cell. Approximately 15 species including *Dictyota* and *Sargassum* species showed low IC₅₀ value than 500 mg/ml concentration in analysis of 50 extracts. Seven extracts out of 40 algae extracts showed the inhibitory effect of cell growth in cancer cell. These extracts have all strong inhibition of cell growth in HL-60 and KG-1 cell lines. To screen the anti-whitening activity, 70 algae extracts were analyzed the inhibitory activity of mushroom tyrosinase in vitro. Approximately 10 candidates having from 20 to 50% inhibitory activity were detected. These extracts have similar activity with arbutin, known as anti-whitening compound.

C O N T E N T S

Chapter 1. Overview of the research	20
1. Purpose of research	20
2. The necessity of research	21
3. Research scopes	23
Chapter 2. The domestic and international situation of technological development	24
1. The situation of research development	24
Chapter 3. Research contents and results	28
1. Research contents	28
2. Results	37
1) Diversity of marine invertebrates	37
2) Diversity of fish	40
3) Isolation and conservation of marine bacteria	41
4) Construction of marine organism DB	42
5) Construction of algae extract bank and screening of physiological activity	47
Chapter 4. Achievement and contribution on related field	67
Chapter 5. Utilization plan of the research	69
Chapter 6. International technology information collected in process of research	70
Chapter 7. References	73

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	20
제 1 절 연구개발의 목적	20
제 2 절 연구개발의 필요성	21
제 3 절 연구개발의 범위	23
제 2 장 국내외 기술개발 현황	24
제 1 절 연구개발 현황	24
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	28
제 1 절 연구개발 수행 내용	28
제 2 절 연구 결과	37
1 연체 동물 종 다양성 조사	37
2 어류 종 다양성 조사	40
3 해양 미생물 분리 및 보존	41
4 해양생물정보 DB 구축	42
5 해조류 추출물 은행 구축 및 생리활성 물질 탐색	47
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	67
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	69
제 1 절 추가 연구의 필요성	69
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	70
제 7 장 참고문헌	73

그림 목차

Figure 1. The main homepage of marine organism DB. -----	43
Figure 2. The picture of homepage of marine organism DB (algae, fish, and mollusk) -----	44
Figure 3. The search pictures of marine organism DB. -----	45
Figure 4. The picture view of marine organism DB. -----	46
Figure 5. Single peak chromatogram of T0-69 extract using the recycle system. -----	51
Figure 6. $^1\text{H-NMR}$ data of T0-69 fraction. -----	54
Figure 7. $^{13}\text{C-NMR}$ data of T0-69 fraction. -----	55
Figure 8. $^1\text{H-NMR}$ data of T2-57 fraction. -----	55
Figure 9. Algae extracts having inhibitory effect of tyrosinase activity. -----	66

표 목차

Table 1. The collection region	39
Table 2. The lists of the algae extract DB	47
Table 3. The lists of MeOH extracts DB	51
Table 4. The lists of EtOH extracts DB	52
Table 5. The lists of Hot-water extract DB	52
Table 6. The lists of MeOH fraction DB	53
Table 7. DPPH radical scavenging activity of methanol extract from various seaweeds	56
Table 8. Xanthine oxidase inhibitory activity of methanol extract from various seaweeds	58
Table 9. Superoxide scavenging activity of methanol extract from various seaweeds.	60
Table 10. Inhibitory activities on lipid peroxidation	61
Table 11. The inhibitory effect of NO synthesis in macrophage cells	62
Table 12. The inhibitory effect of cell growth in human leukemia cells	64
Table 13. The developmental trends of marine bioindustry between major countries	72

부 록

부록 1. 제주연안에 분포하는 연체동물 목록	79
부록 2. 어류생물정보 목록(180종)과 생체동결 표본	154
부록 3. 분리 보존된 해양미생물 목록	165

제 1장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 목적

생물다양성은 인류의 건강, 복지, 식량 등 미래의 삶을 결정하는 근원으로서 자연 환경의 보존 및 지속가능한 개발의 원천으로 그 중요성이 더욱 강조되고 있다. 21세기 국가 경쟁력의 척도는 생물자원의 보존과 활용에 좌우되고 있고, 세계 각국은 생물자원의 다양성 확보 및 이용을 위한 인프라 구축과 보존·활용 연구에 국가 역량을 집중하고 있다. 우리나라 유전자원은행에서 보유하고 있는 유전자원은 1,165작목, 1,777종 148,977점으로 미국 (437천점), 중국 (358천점), 러시아 (349천점), 일본 (208천점), 인도 (181천점)에 이어 양적으로는 세계 6위 수준이다. 그러나 자원 부국과는 달리 대부분 자원이 식량작물로 구성되어 있고, 유전적 다양성의 척도가 되는 종수 (미국 11,681천종, 러시아 2,529천종)는 빈약한 편이다 (조은기, 2003).

생명공학이 창출하는 부가가치는 국제경제에서 차지하는 비중이 엄청난 속도로 증가하고 있다. 특히 유전자원을 이용한 생명공학기술의 부가가치 창출 및 보호문제와 관련하여 국제적으로 이해당사자인 선진국과 개발도상국간에는 많은 논란이 벌어지고 있다. 그 논란의 핵심적 원인은 생명공학의 재료가 되는 각종 유전자원이 남부의 열대와 아열대지역의 개발도상국에 대부분이 분포하고 있는 반면, 그 유전자원을 재료로 활용하여 생명공학을 개발할 수 있는 발전된 과학기술은 지구의 북반구에 위치하고 있는 선진국이 대부분을 차지하고 있기 때문이다. 한 예로, 유전자원의 이용개발을 위하여 미국의 국립암센터 (National Cancer Institute : NCI)는 1955년 자연산 제품의 수집에 대한 연구를 시작하였고, 인류공동유산이론 (principle of common heritage of man-kind)이란 슬로건 하에 전세계의 열대지역과 아열대지역에서 생물자원수집활동을 집중하였다. 하지만, 자원보유국인 개발도상국들은 그들의 생물유전자원에 잠재적 가치를 더욱 인식하게 되었고, 1992년 생물다양성협약 (Convention on Biological Diversity : CBD)을 통해 유전자원의 주권을 확립하였다 (오윤석, 2003). 이처럼 국가간 유전자원에 대한 경쟁은 고부가가치 창출의 증대와 함께 국가간 전략산업 및 집중 투자산업으로 발전하고 있다. 우리나라에서도 유전자원에 대한 중요성을 인지하여 생명공학연구원 등의 연구소 및 여러 대학에서 육상식물에 대한 생물자원의 확보, 추출물 은행 DB 구축, 육상자원에 대해 많은 연구들이 수행되고 있다. 이러한 유전자원을 활용하는 기술은 선진국과 격차가 적어 집중적 투자와 인프라가 구축될 경우 선도가 가능한 사업으로 발전하게 될 것이다.

제주연안은 쿠로시오 난류에서 분리된 대마난류와, 황해난류, 겨울철에 황해와 동지나해 북부해역에서 생성된 황해냉수괴가 교차하는 지역이다 (Kondo, 1985). 제주연안의 수온은 연중 13~26℃의 범위를 보이며 연평균 수온은 약 18℃으로 (NORI, 2004) 연산호와 같은 아열대성 해양생물이 문섬을 비롯한 주변 지역에 분포

한다. 이러한 해양학적 특성은 제주도를 우리나라에서 가장 종 다양성이 높은 지역으로 만들어 내고 있다. 이러한 제주연안의 해양생물은 다양한 종이 미래의 신약개발 또는 경제적 가치가 높은 천연화학물질을 포함하고 있는 것으로 알려져 있다. 해양 생물은 육상 생물과는 서식환경이 아주 다르다. 체표면의 대부분이 직접 해수와 접하여, 온도 변화가 육상과 비교하여 적고, 압력이 낮아, 해양 생물의 대사계 또는 생체 방어계에서 생산하는 2차 대사 물질은 독특한 생리 활성을 나타내는 것이 많은 것으로 보고 되고 있다 (Konig et al., 1994; Scheuer, P., 1987-1992) 이러한 해양환경조건에서도 우리나라의 유전자원 구축은 육상생물의 유전자원에 비해 해양생물에 대한 유전자원의 확보와 연구는 미흡한 실정이다. 그러므로 좋은 지리적 위치와 환경을 갖고 있는 제주지역의 풍부한 해양생물에 대한 유전자원 보존 및 추출물 은행사업이 세계의 선진국과의 경쟁력을 나란히 하기 위하여 좀 더 체계적이며 지속적인 전략과 투자가 이루어져야 할 것이다.

이에 본 연구는 제주연안에 분포하고 있는 해양생물 종다양성에 대한 체계적인 기초연구를 통해 제주연안의 해양생물정보 DB를 구축하고, 유용 유전자원을 확보하고, 해조류 추출물 은행을 구축·운영함으로써 해양생물자원의 산업적 활용을 촉진하는데 그 목적이 있다.

제 2절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

제주도는 다양한 생물자원을 바탕으로 생물산업을 국제자유도시개발과 연계한 미래지식산업으로 육성하기 위하여 제주대학교의 생명과학기술혁신센터 설립을 지원하고 있으며, 제주 바이오사이언스파크 조성사업을 추진하고 있다. 또한 제주도는 다양한 생물자원, 청정이미지, 독특한 전통문화 등을 활용한 산업 분야를 집중 육성하는 정책을 펴고 있으며, 국제자유도시 첨단과학단지 조성과 연계하여 1차와 3차산업의 연계성을 강화하는 축매산업으로 BT 산업을 전략적으로 육성하고 있다. 현재 생물다양성에 대한 중요성이 두각되면서, 전세계적으로 생물다양성 협약 등 각종 자연환경관련 국제협약이 제정되어 시행 중이며, 유용한 생물자원의 확보를 위한 국가간 경쟁은 더욱 치열하게 전개되고 있다. 따라서, 제주도에서는 생물산업의 육성에 있어서 생물자원의 체계적인 보존·관리와 활용을 위해 아열대권 생물자원의 보존 및 활용 연구 거점기관으로서 제주생물종다양성연구소를 설립 중에 있다. 그러나 아직도 고유 생물자원의 보존·확보 및 산업적 활용을 위한 체계적인 생물 종 다양성 정보 구축이 되어 있지 못하고 있는 실정으로 인하여 제주 생물자원들은 계속하여 외부로 유출되고 있다. 이렇듯 많은 육상식물과 미생물자원들은 외부로 유출되어 연구되고 있는 실정이지만, 생물자원은 여타 자원과는 달리 현지에서 동정, 분류, 그리고 현지보존연구가 필요하다. 특히, 제주의 해양생물자원

에 대한 체계적인 조사연구는 아직도 미약한 실정이다 이러한 해양생물들은 때때로, 멸종위기의 종이거나 이들의 상태가 전혀 알려져 있지 않아 개발 목적을 위한 남획이나 무분별한 채취가 이루어질 경우 생태계에 심각한 영향을 미칠 수 있다. 외국의 경우 해양생물을 이용한 산업적 목적의 천연물 추출 등을 시도할 경우 사전에 대상생물에 대한 충분한 기초연구를 수행하여 생태계 및 환경에 미치는 영향이 최소화 될 수 있도록 하고 있다. 이렇듯 해양생물자원의 보존과 확보, 그리고 탐색 기술 개발을 통한 산업화 가능한 생물소재의 개발을 위해서는 많은 연구자들이 활용할 수 있는 제주해양생물자원에 대한 정보 및 추출물 은행 구축이 이루어져야만 하고, 이러한 사업은 제주 생물산업 육성·발전을 위해 절실히 요구되어지고 있다.

2. 경제·산업적 측면

제주도의 경제적으로 비중이 큰 1차 산업과 3차 산업의 경쟁력은 기술개발보다는 제주의 청정이미지에 의존하고 있는 실정이다. 제주생물자원 정보은행 구축사업은 청정환경과 생물자원에 의존하는 1차 산업인 농업, 축산업, 수산양식업 등의 기존산업을 고도화하여 바이오 농업과 바이오 해양생물산업으로 발전하는 기반이 될 것으로 보이며, 제주의 청정환경과 생물다양성 정보망의 구축은 제주 관광산업에 소재로 활용되어 자연학습과 더불어 제주를 홍보하는 효과를 갖고 있어 관광산업 발전에 간접적인 기여가 기대되고 있다. 또한, 제주생물자원의 정보은행과 추출물 은행 사업은 제주의 친환경적 생물산업 육성에 필요한 외부 연구개발 기업유치에 유인책이 될 수 있다. 이러한 제주 생물자원을 활용한 다기능성 생물소재의 확보는 기능성 식품의 개발뿐만 아니라 천연물 신약 산업으로도 그 응용성이 매우 커서 경쟁력 있는 제품이 개발되면 경제적 및 산업적인 파급효과가 매우 클 것으로 예상되고 있다. 이러한 결과로, 생물다양성의 산업자원으로서 대량 확보를 위해 자연자원의 채취에서 재배 또는 양식 방법의 채취로 전환되고 있으며, 생물자원의 대량배양을 위한 생명공학 기술의 발전에도 큰 영향력을 미치고 있다. 생물자원을 이용하는 생물산업의 규모는 점차적으로 증가하여 세계적으로 1992년의 100억불 수준에서 2005년에는 3,050억불로 증가할 것으로 예상하고 있다. 이와 더불어 우리나라 생물산업의 규모는 1993년의 1,683억원에서 2005년에는 14조원에 이를 것으로 예상하고 있다. 이러한 생물다양성과 생명공학 기술의 접목으로 인한 경제적 및 산업적 파급 효과는 고부가가치산업으로 발전하게 될 것이며, 생물다양성의 산업적 이용에 있어서 유전공학을 포함한 생명공학의 발전은 생물다양성의 산업적 응용폭을 넓혀주는 기본 요소가 될것이다. 이에 제주도의 풍부한 유전자원의 활용을 위해 국내외 종다양성 관련 연구기관들과 네트워크를 구축하고, 도내 대학 및 산업지원기관 (TIC, HIDI, 종다양성연구소 등)과 연계된 공동개발은 제주도의 경제에 큰 시너지 효과를 창출할 것으로 여겨지며, 해양 동,식물 자원으로부터 추출물을 구축하여 학술적 이용 및 산업적 활용의 토대를 마련함으로써 제주도 BT산업 육성에도 크게 기여할 것으로 여겨진다.

3. 사회·문화적 측면

생물다양성의 문화적 그리고 사회적 가치는 그 사회의 전통문화에 따른 생물다양성의 직접적 이용과 밀접하게 연계되어 있으며, 생물다양성은 한 사회의 문화적 특성을 결정해 주는 기초가 되고 있다. 생물다양성의 이용이 실질적 응용을 비롯해서 아주 기초적인 의미도 지니고 있는 것은 전통문화와 조화된 기초 생물학적 연구와 우리 자신의 유전 현상이나 생물진화 현상을 이해하는 기초가 되는 과학적인 가치이기 때문이다. 또한 생물다양성의 존재는 생태계의 안정성 유지에 필요하다는 것을 이해하는데 중요한 요소이기도하다. 이렇듯 제주도의 풍부한 해양유전자원정보의 구축은 생물 종 다양성의 보존과 생물자원이 중요성을 인식시키고 인간사회의 변화의 욕구와 환경에 부응하고, 환경보호 시각을 재정립하는데 기여하고, 다양한 생물자원 정보의 효율적 전달, 정보의 원활한 유통 및 산/학/연에 필요한 생물자원 추출물 제공 서비스, 국가생물자원정보네트워크, 지역자원산업화의 촉진에 기여할 것이다. 제주 생물자원의 잠재적 개발가치와 친환경 생물산업의 발전은 제주도의 이미지 향상과 고부가가치 창출이라는 조화된 산업발전의 기반을 마련할 것이며, 제주 생물정보은행 구축과 향토 문화를 연계하여 전통 산업발전에도 기여 할 수 있을 것이라 판단된다.

제 3 절 연구개발의 범위

1. 무척추동물 종다양성 조사 연구
 - 제주연안의 무척추동물에 조사, 지리정보 (GIS) 구축
 - 무척추동물 생물종 정보 DB구축자료 제공
 - 무척추동물 생체 동결시료 확보(50종)
 - 무척추동물 분류 전문가와의 공동연구
2. 어류의 종다양성 조사 연구
 - 제주도 연안에 출현하는 어종의 종다양성 탐색
 - 어류생물종 정보 DB구축자료 제공
 - 생체 동결표본 확보 (50종)
3. 해양생물정보 DB 구축 운영
 - 제주연안 해양생물(해조류, 연체동물, 어류) 정보 홈페이지 운영
 - 추출물 정보관리를 위한 물질데이터베이스의 구축
4. 해양식물 추출물 은행 구축 및 유전자원 확보
 - 해양 식물 추출물 150종 구축
 - 생리활성(항산화, 항염, 미백, 항암) 물질 탐색 및 구조 분석
 - 해양미생물 337 균주 확보

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절 연구개발 현황

1. 국내 연구동향

우리나라의 생명공학육성은 '82년 과학기술부에서 생명공학을 핵심전략기술로 선정하여 특정연구개발사업으로 지원을 시작으로, '83년 정부의 생명공학육성·지원을 위한 법적기반을 마련하였고, 85년 동법을 기반으로 한국과학기술연구원 부설로 한국생명공학연구원을 설립하여 생명공학의 본격적 육성·지원을 시작하였다. 이와 관련하여 최근 생명공학육성과 맞물려 종다양성에 대한 해양유전자원의 관심이 고조되면서 국외에서는 이미 생물종 정보를 수집하고, 웹상에서 공유할 수 있도록 정보를 공개하고 있다.

국내의 생물다양성 지원사업은 정부의 각 부처(과학기술부, 농림부, 교육인적 자원부, 보건 복지부, 공공기술연구회)하에서 조사사업, 편람사업, 연구사업, 발간사업으로 나누어 추진하고 있으며, 2003년도 중앙부처의 국가연구개발 바이오 투자는 5,393억원에 달하나 해양수산부의 바이오 예산은 71억원으로 전체의 1.3%에 불과한 실정이며, 2002년 대비 증가율은 20.3%로 보건복지부와 농림부 다음으로 높은 증가율을 보이고 있지만, 인프라나 연구개발 투자액은 미흡한 상태이다. 현재 해양수산부에서 추진 중인 대표적인 해양바이오 사업으로는 '해양생물로부터 유용신물질 연구개발', '특정수산 기술연구개발'과 인프라 구축사업인 '해양생명공학기술개발 및 산업화'를 들 수 있고, '해양생물로부터 유용 신물질 연구개발'은 첨단해양과학기술개발의 일환으로 1999년부터 산학연의 협동연구 형태로 추진되고 있다. 사업 내용은 동식물, 미생물의 유전체 종합 정보 DB 구축 및 공공활용, 유전체 연구기관간의 네트워크 구축 및 기술 인력교류, 유용 유전자 발굴 및 분석용 핵심기반 기술 개발지원, 유전체 분야 대외 협력 및 공공연구지원, 생물자원정보 네트워크 구축, 국내에서 연구 생산되는 생물자원 정보 DB 및 통합 시스템 구축 등의 있다.

특히, 어류의 경우 가까운 일본에서는 동경과학박물관, 홋카이도대학, 고치대학, 카나가와 자연사박물관 등에서는 자국내 어류에 대한 DB를 구축하여 웹상에서 공개하고 있다. 이들 기관에서는 각 어류 종에 대한 사진과 필드정보 뿐만 아니라 모식표본, 일반표본에 대한 정보까지 제공하고 있는 실정이다. 미국 (USNM)이나 호주 (AMS), 영국 (BMNH), 프랑스 (NMNH), 네덜란드 (RMNH) 등에서는 이미 오래 전부터 표본에 대한 중요성을 인식하고, 자국의 귀중한 자연재산으로 등록하여 영구 보존할수 있는 시스템을 마련하여 자국내 생물자원 교육자원 뿐만 아니라 연구자원으로서도 유용하게 활용하고 있다. 무분별한 연안개발과 연안 및 해양오염으로 연안 어족자원이 감소되고 있는 최근의 실정에서 한국산 어류의 절반 이상이 출현

하는 제주연안의 어류를 파악하고, 자원확보 및 자원증대를 위해 각 어종의 생물종 정보를 제공하는 것은 국가적인 차원에서 매우 중요한 일이다. 그리고, 미생물인 경우도 국내의 선도기술개발과제 등을 통해서 미생물탐색에 대한 연구가 일부 진행되어 왔으며 미생물의 분류동정을 위한 최신의 분석기술을 확보하였다. 그러나 선진국의 경우처럼 장기적이고 체계적인 미생물 다양성 탐색연구는 미비한 실정이며, 메타게놈 스크리닝과 같은 최신의 미생물다양성 활용 기술에 대한 연구개발 투자 및 전문가의 양성 또한 부족한 실정이다. 국내 미생물 유전체 연구에 있어서도 1997년 국제공동연구로 수행된 고초균 유전체 프로젝트에 참가한 이후 현재까지 3종의 유전체 염기서열이 완전 해독되었다고 발표되었으며, 현재 약 8종에 대한 염기서열 분석연구가 진행 중에 있다. 우리나라의 경우 미생물 다양성 확보를 위한 기반기술을 확보하였으며, 다양한 자연환경으로부터 신규 유용 미생물자원을 탐색, 개발할 수 있는 핵심 기술로 연결시킬 수 있는 잠재력을 보유하고 있을 뿐만 아니라 기능 유전체 기능분석과 대사공학을 위한 분자 유전학적 조작기술 분야에서는 선진국에 비해 인적 자원 면에서는 큰 강점을 지니고 있으며, 발효 미생물 분야로부터 성장한 국내 미생물 산업은 유전체 연구 결과를 상용화할 수 있는 기반도 구축되어 있다.

주요성과로는 산림생태계의 생물다양성 조사, 훼손된 생태계의 생물다양성 평가 및 복원기법 개발, 동식물, 미생물 유전자원 수집, 분류, 보전, 산림생태계의 건전한 균형 유지기술 개발, 생물다양성 보전 및 지속 가능한 이용을 위한 생태적 관리기술 개발 등의 성과가 보고되었다. 또한, 해양수산부는 2004년부터는 마린바이오 21 사업으로 3개의 연구단이 구성되어 연구개발 사업이 본격적으로 수행하고 있다. 그러나, 제주도의 경우는 체계적인 생물정보를 제공하는 기관이 없고, 해양생물자원에 대한 정보은행과 추출물은 은행은 전무한 실정에 있다.

2. 국외연구동향

미국 (USNM)이나 호주 (AMS), 영국 (BMNH), 프랑스 (NMNH), 네덜란드 (RMNH) 등에서는 이미 오래 전부터 표본에 대한 중요성을 인식하고, 자국의 귀중한 자연재산으로 등록하여 영구 보존할 수 있는 시스템을 마련하여 자국내 생물자원 교육자원 뿐만 아니라 연구자원으로서도 유용하게 활용하고 있다.

미국은 생명공학산업분야에 있어 세계 최고의 경쟁력을 보유하고 있으나, 이와 같은 기술 우위를 지속적으로 유지하기 위해 연방정부의 생명공학 육성프로그램 "Biotechnology for the 21st Century"을 통해 집중 육성하고 있다. 이렇듯 미국은 일찍이 NIH (국립보건원)산하에 NCBI에서는 인간 유전체 연구를 비롯한 동식물 유전자은행 및 정보, 유전자 지도, 문헌정보 등을 제공하고 있고, 생물다양성 보존을 위한 Frozen Zoo사업을 추진하고 있다. 뿐만 아니라, 미국 과학재단 (National Science Foundation, NSF)에서 1999년 한 해 동안 1,200만달러의 연구비를 해양생명공학에 투자했으며, 미국해양대기관리처 (National Oceanic and Atmospheric

Administration, NOAA)는 1,000만달러, 미국해군연구소 (Office of Naval Research, ONR)는 560만 달러를 해양관련 연구에 투자 하고 있다.

일본은 정부주도로 해양바이오 선도국으로 급부상한 국가 중의 하나이다. 정부와 24개 민간기업 공동 출자로 만든 해양 생명공학 연구소 (Marine Biotechnology Institute, MBI)에서 복합생물계 연구사업 등 해양생물 자원이용 기술개발 연구에 16억엔을 투자하였다. 또한, 해양과학 기술센터 (JAMSTEC)에서는 심해 미생물 프론티어 연구를 수행 중 (투자 실적 500억엔/10년)에 있다. 이러한 투자의 결과로, 일본은 생물다양성과 관련하여 아시아의 주도권 장악 및 유지를 하고 있으며 약 2000여종의 library를 구축 하고 있을 뿐만 아니라 post genome 연구에 박차를 가하고 있다. 주요 연구 기관 및 연구내용을 보면, DDBJ, 국립유전학 연구소, 국립감염병 연구소 등에서 유전자 DB 구축, 생물 유전자원 정보은행, 세포은행, Bio-resource network를 운영하고 있다.

유럽은 EU중심의 공동개발을 진행 중인데 ECMB (European Center for Marine Biotechnology)를 2002년에 설치하였고, 외국 전문가의 ECMB에서의 현지 실험실 설치 지원 등 전세계 연구그룹과의 네트워크를 활성화하고 있는 상황이다. 프랑스, 독일, 영국 등은 Ocean Drilling Project, Inter-Ridge Program 및 여러 EU 공동협력 프로그램 (European AMORES, Marflux/ATJ Project)을 통해 심해 및 열수환경 연구 수행 및 극한 미생물의 유전자 분석 등 미국, 일본수준의 요소기술을 확보하였으며 Extremophile as Cell Factories Program 등 심해자원 확보를 위한 다수의 프로그램을 시행중에 있다. 독일은 또한 우수연구센터의 하나로 해면연구에 대해 지원하며 전세계적으로 분소 설립 및 유사분야 연구자와의 네트워크를 구축하고 있다.

이러한 자원의 확보의 활용을 위해 범세계적으로 존재하는 생물다양성 정보 DB를 network화하여 방대한 양의 정보를 관리, 공유, 검색하고 이용함으로써 경제, 환경, 사회적 편익증대를 도모하기 위한 국제기구인 GBIF (국제생물다양성 정보기구)가 창설되었으며, 이러한 선진국들간의 치열한 경쟁으로 인해 생기는 마찰에 대한 이해 및 협력을 위해 생물다양성 협약 (Convention on Biological Diversity)의 이행과 정보망 시스템구축을 위한 국제기구 CHM이 설립되었다 (조은기, 2003).

3. 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치

제주 생물자원에 대한 연구는 많은 생물학자들에 관심대상이었지만, 이러한 연구의 대부분은 매우 제한되고 부분적인 연구로 진행되어 왔다. 세계적인 지구환경 변화에 따른 생태계 변화가 한라산과 해양에서 점진적으로 이루어지는 실정이고, 따라서 제주 생물 종 다양성에 대한 연구가 시급한 과제로 대두되고 있지만 전문 인력과 재정적인 결핍으로 체계적인 연구가 수행되고 있지 못하고 있는 형편이다. 그 동안 분산되어 부분적으로 진행되는 연구는 효율성과 이용성이 저하되는 요인으로 지적되는데, 제주도 생물자원의 정보를 종합적으로 관리하고, 희귀종을 보존하여 유용자원을 활용 및 생물정보를 제공하는 지역거점 구축이 필요한 실정에 놓여있

다. 본 사업은 종 다양성을 연구하는 분류학자의 양성과 제주 해양생물산업 육성을 위한 전문 연구 인력양성에도 크게 기여하게 될 것이다. 우리나라 연안해에 분포하는 해조류의 절반이상이 출현하는 것으로 알려진 제주도는 다양한 해양생물의 서식 환경을 갖추고 있을 뿐만 아니라, 인간의 간섭을 비교적 덜 받은 자연적인 해양환경을 유지하고 있어 해양바이오의 모체로서 생물 종다양성 정보의 제공은 관련분야의 기초 및 응용연구 활성화에 크게 기여할 것으로 사료된다. 전 세계적으로 해조류의 신 물질을 이용한 기능성 식품, 의약품, 향장품 등의 개발에 관심이 집중되고 있으며 늦은 감이 있지만 제주도에 생물 종다양성 연구소가 설립 예정이어서 제주도 해조류의 종 다양성 연구를 더욱 고무시키고 있으며, 국가적 차원에서 생물 종 다양성 정보 전담기구 육성이 표면화되고 있다.

제 3장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 연구 개발 수행 내용

1. 연체동물 종 다양성 조사

가. 2003년 조사지역 및 방법

(1) 조사지역

(가) 북제주군 연안 - 추자도, 삼양, 김녕, 종달리, 대정연안

(나) 남제주군 연안 - 서귀포연안 (문섬/숲섬/범섬), 오조리, 표선리 연안

(2) 조사방법

(가) 조간대: 간조시 조간대의 암반지역, 해조류덩굴 등을 조사하여 채집하였으며, 디지털 카메라 (Nikon Coolpix 5700) 를 이용하여 현장생물을 촬영하였다.

(나) 조하대: SCUBA다이빙을 이용한 현장 채집 및 수중비디오와 디지털 카메라로 현장생물 촬영을 하였다.

(다) 채집된 해양생물은 종 수준까지 분류하였으며, 전문가들의 자문을 통하여 종명을 확인하였다.

나. 2004년 조사지역 및 방법

(1) 시료 채집

시료 채집은 제주전역의 총 48개 정점에서 이루어 졌다 (Table 1). 조간대 상부로부터 조간대 하부에 걸쳐 간조 시 바위틈, 조수 웅덩이 모래사장 등에서 시료가 채집되었으며, 조하대에 서식하는 연체동물은 SCUBA 다이빙을 이용하여 채집되었다. 채집 시 시료의 사진 촬영을 병행하였다.

(2) 사진 촬영 및 보관

채집된 시료는 Olympus (C5060) digital 카메라를 이용하여 외부형태를 촬영하였으며, 미소패의 경우에는 입체현미경 (Olympus SZ61)을 이용하여 6.7-45X 배율 하에서 촬영 하였다. 한편, 육질부는 DNA 추출을 위하여 냉동보관 (-70℃)하거나 70% 알코올에 고정 하였고 패각은 건조 후 종별로 분류하여 보관 하였다.

(3) DNA 추출을 위한 시료의 보관 및 추출 방법

DNA 추출에 사용된 시료는 채집 후 냉동실에서 -70 ℃에 보관하거나 70% 알콜

에 넣어 보관하였으며, DNeasy[®] Tissue Kit (QIAGEN)를 사용하여 다음과 같은 방법으로 genomic DNA를 추출 하였다.

- (가) 시료의 연체부를 약 25 mg - 50 mg을 적출하여 잘게 자른 후, 1.5 ml microtube에 넣고 180 μ l의 ATL buffer를 첨가하였다.
- (나) 20 μ l의 proteinase K를 (가)에 넣은 후 조직이 완전히 용해 될 때까지 55 $^{\circ}$ C의 항온수조에서 약 30분 간격으로 교반하였다.
- (다) 조직이 용해되면 200 μ l의 AL buffer를 첨가하고 70 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 10 분간 반응을 시켰다.
- (라) 200 μ l의 에탄올 (96-100%)을 넣고 섞었다.
- (마) 2 ml의 collection tube에 (라)의 용액을 피펫을 사용하여 옮긴 후 8000 rpm으로 1 분간 원심분리 하여 DNA를 spin column에 부착 시켰다.
- (바) Spin column을 새로운 2 ml의 collection tube에 넣은 후 AW1 용액 500 μ l을 넣고 1분간 8000 rpm으로 원심분리하여 1차 세척 하였다.
- (사) 2 ml collection tube를 새것으로 교체하고 AW2 용액 500 μ l을 넣어 3분간 14,000 rpm으로 원심분리하여 2차 세척하였다.
- (아) 새로운 1.5 ml micro-tube에 spin column을 장착하고 AE buffer를 200 μ l 넣은 후 상온에서 1분간 반응 시켰으며, 6000 rpm에서 1분간 원심분리 하여 DNA를 추출하였다.
- (자) 추출된 DNA의 농도는 분광흡광도계를 사용하여 260 nm에서 측정하였다.

2. 어류 종 다양성 조사

가. 연구수행 방법

제주 연안의 조수웅덩이, 방파제 등에서 손그물, 낚시, 어망 등을 이용하여 어류를 직접 채집하였고, 동시에 제주도내 소재 어시장 조사와 어선동승 조사도 실시하였다. 채집된 어류는 활어 또는 냉장상태로 제주대학교 해양과환경연구소로 운반하여, 신선한 상태에서 사진을 촬영하고, 10% 포르말린 용액에 고정하였다. 모든 표본은 본 연구소 어류표본 (MRIC: Marine and Environmental Research Institute, Cheju National University, Korea)으로 등록하고, 70% 알코올 용액에 보존하였다. 어류의 동정은 주로 윤 (2002), 최 등 (2002), 김 등 (2005) 및 Nakabo (2002) 등 관련 문헌을 참고하였다.

해양생물정보 DB홈페이지 운영을 위해 기초자료는 각 종에 대해 목명, 과명, 학명, 영명, 일명, 제주지방명, 형태, 생태, 분포, 이용, 문헌, 표본번호, 사진의 총 13개 항목에 대한 어류생물정보를 표본조사, 현장조사, 관련문헌 등을 참고로 수집, 작성하였다.

DNA분석용 생체동결 시료는 제주 연안 및 어시장에서 채집하였다. 활어 또는 냉장 상태로 본 연구소로 운반하여 관련문헌을 종을 동정한 후 -70°C 로 동결 보존시켰다.

3. 해양 미생물 분리 및 보존

가. 연구수행 방법

(1) 해양 시료의 채집

해양세균의 분리 및 보존을 위해 아열대 기후의 제주 연안 일대 해수욕장 주변의 다양한 해양 시료를 채집하였다. 시료로는 각지 해수욕장과 삼양 해수욕장 주변의 모래, 퇴적물, 작은 동물의 사체, 해조류 및 해수 등을 포함하였다.

(2) 해양 세균의 분리 및 보존

해양시료 1g을 멸균된 해수 20 ml에 현탁하여 잘 섞은 후 실온에 30분간 방치하였다. 시료들은 무균상태의 동일 해수로 연속 희석시킨 후 빈 영양 해수 배지 (SCA-SW agar; Soluble starch 1%, casein 0.03%, KNO_3 0.2%, NaCl 0.2%, CaCO_3 0.002%, agar 1.8%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.005%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001%, natural sea water 60%, distilled water 40%)에 도말하여 25°C 에서 7~14일간 배양하였다. 잘 분리된 콜로니들은 영양 해수 배지 (YE-SW agar; Yeast extract 0.4%, malt extract 1.0%, dextrose 0.4%, agar 1.8%, natural sea water 60%, distilled water 40%)에 옮긴 후 2~3차례 연속적으로 계대하였다. 순수배양체는 균된 해수 60% (v/v)를 함유한 20%

(v/v) 글리세롤에 현탁하여 -20°C 와 -84°C 에 보존하였다.

(3) 세포외다당류 (exopolysaccharide, EPS) 생성능 조사

해양세균의 EPS 생산능은 매질염색법을 이용하여 조사되었다. 슬라이드 글라스의 한쪽 끝에 nigrosin 용액과 균체 현탁액을 각각 한 방울씩 떨어뜨려 섞은 후 얇게 도말하여 실온에서 건조시켰다. 슬라이드는 알콜로 2분간 고정하여 말린 후 crystal violet로 2분간 추가 염색하였다. 증류수로 세척하여 말린 슬라이드는 광학현미경으로 관찰하였다.

(4) 해양 세균의 형태 및 배양상 특성

균체 현탁액을 영양 해수 고체배지 (YE-SW agar)에 접종하여 30°C 에서 3일간 배양 후 잘 분리된 콜로니의 색깔을 관찰하였다. 형태는 증류수에 현탁시킨 균체를 이용하여 광학현미경과 위상차현미경으로 관찰되었다.

(5) 해양세균의 DNA 추출

영양 해수 고체배지에서 자란 소량의 균체를 50mM EDTA 240 ul 과 lysozyme 60 ul에 현탁하여 세포벽을 용해시켰다. DNA는 Genomic DNA Purification Kit (Promega)를 이용하여 정제하였다.

(6) rep-PCR 분석

해양세균의 DNA 지문은 Box A1R primer를 가지고 rep-PCR을 수행하여 얻어졌다 (Dombek et al., 2000). PCR 혼합물에는 genomic DNA 50 ng, dNTP mix 0.3 mM, BOX A1R primer 25 pmole, DyNzyme 2.5 U와 1x DyNAzyme buffer가 포함되었다. PCR 증폭은 Rademaker et al. (1998)에 의해 기술된 방법을 이용하여 수행되었다. 아가로스 겔을 이용하여 8°C 에서 70V, 18시간동안 전기영동한 겔은 EtBr 용액으로 10분간 염색한 후 디지털 카메라로 촬영하여 겔 이미지를 얻었다. 겔 이미지들은 BioNumerics (ver 3.0; Applied Maths, Belgium) 프로그램을 이용하여 표준화한 후 데이터베이스에 옮겨 군집분석을 통해 비교하였다. 유사도 계수는 Pearson correlation coefficient를 이용하였고 수상도는 비가중 평균결합방식 (UPGMA)을 이용하여 구성되었다.

(7) 해양세균의 16S rDNA 염기서열 결정

해양세균 16S rRNA 유전자 (16S rDNA)는 Lane (1999)에 의해 기술된 프라이머를 이용하여 증폭되었다. 16S rRNA 유전자의 염기서열은 PCR 산물은 정제한 후 ABI Prism BigDye Terminator cycle Sequencing kit와 automatic DNA sequencer (모델 3730xl)를 이용하여 결정되었다.

(8) 해양세균의 동정

결정된 염기서열은 NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 프로그램을 이용하여 GenBank 뉴클레오티드 데이터베이스와 비교되었다. 데이터베이스의 염기서열과의 유사도가 99% 이상인 해양세균 분리주는 기존 종으로, 96~99%의 유사도를 갖는 분리주는 미지의 종으로, 그리고 96%이하의 유사도를 보이는 분리주는 미지의 속에 소속되는 분리주로 동정하였다.

4. 해양생물정보 DB 구축

가. 연구수행 방법

Background database의 구축을 위해 종 분류명 등의 기초정보 데이터베이스 구축 하였으며, 추출물 정보입력 및 추출물 정보관리를 위한 물질 데이터베이스의 구축, 분류 연구팀이 제공한 해조류, 연체동물, 어류의 생물 정보 입력, background database를 이용한 데이터 입력기능을 추가 하였다.

5. 해조류 추출물 은행 구축 및 생리활성 물질 탐색

가. 연구수행 방법

(1) 해조류 채집

해조류 채집은 제주도 연안지역을 중심으로 시기별 관계없이 한달에 한번 이상 채집을 실시하였고, 채집 장소는 제주도 동쪽 지역은 성산, 김녕, 행원 지역을 위주로, 서쪽지역은 하귀, 고내, 한수, 귀덕 지역을 중심으로 채집하였다. 분류, 동정은 해조류 도감 및 해조류 분류학자의 도움을 받아 동정하였다. 채집된 해조류는 흐르는 수돗물에서 수세하여 염분을 충분히 제거한 후, 음지에서 자연건조를 하거나 동결건조하였다. 건조된 해조류는 분쇄하여 추출 할 때 까지 -20℃에 보관하였다.

(2) 시료의 추출

해조류 추출물을 제조하기 위하여 해조류를 건조 후 마쇄기로 갈아 미세말로 하여 각각의 미세말 시료를 70% 에탄올 및 80% 메탄올로 1주일 간 실온에서 침적시킨 후 여과기로 잔사를 제거한 여액을 회수하여 감압농축 및 진공건조 후 동결 건조기를 사용하여 잔여 수분을 제거하여 분말을 얻어 사용하였다. 열수추출물은 100℃에서 2시간 이상 진탕한 후 여과기로 잔사를 제거한 여액을 회수하여 감압농축 및 진공건조 후 동결 건조기를 사용하여 잔여 수분을 제거하여 분말을 얻어 사용하

였다. 농축된 해조류 추출액은 20 ml vial에 분주하여 추출물 DB 구축을 위해 -20℃에 보관하였다.

(3) 화학구조규명

(가) Thin layer chromatography (TLC)

각 용매 분획에서 얻어진 추출물에서 적절한 용매의 선정을 위한 방법으로 TLC를 수행하였다. TLC 판은 순상 silica gel F₂₅₄(Merck)와 역상 silica gel RP-18 F_{254S}을 사용하여 전개하였고, 발색 시약으로는 10% H₂SO₄와 DPPH 용매를 이용하여 발색하였다.

(나) Column chromatography

용매분획에서 활성 물질 분리는 open column chromatography에 의해 수행하였다. 충전제는 Merck 제품인 순상 silica gel (0.063-0.200mm)과 역상 silica gel (40-63um) 그리고 Amersham Biosciences 제품인 Sephdex LH-20을 사용하였고, 이동상은 TLC에 의해 결정된 용매조건에 의해 chromatography를 실시하였다.

(다) Prep-Liquid Chromatography

Open column chromatography를 이용하여 분리된 fractions은 Prep-LC(Jai-LC 9104)를 이용하여 분리하였고, 이때 사용되는 컬럼으로는 JAIGEL-GS310 (크기별 배제) 컬럼과 JAIGEL-ODS-RP (ODS) 컬럼을 사용하여 분리하였다. 이때 사용된 이동상은 TLC를 이용하여 결정하였고 이를 HPLC (Waters, Alliance HT system, PDA detector)에 적용시켜 분리도와 흡광도를 확인하였다.

(라) FT-NMR Spectrometer

분리가 단계별로 진행 중인 fractions과 단일물질로 분리되어진 화합물은 Jeol사의 FR-NMR spectrometer(1H-400MHz/13C-100MHz)를 이용하여 물질의 분자구조를 규명하였다.

(4) 항산화활성 검색

(가) DPPH radical 소거활성에 의한 항산화활성 검색

전자공여능 (electron donating ability) 측정은 Blois 방법 (Blois et al, 1958)에 의한 DPPH free radical 소거법에 따라 측정하였다. 메탄올에 녹인 시료의 각각의 농도를 96well plate에 100 µl씩 분주하고 0.4 mM DPPH용액을 동량 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Okawa et al, 2001; Santosh et al, 2002; Suja et al, 2003). 대조군으로는 butylated hydroxy anisole

(BHA), trolox를 사용하였다. DPPH radical 소거활성은 아래의 식으로부터 산출하였고, 각 시료는 3회 반복하여 실험을 실시하여 평균값을 구하였다.

$$\text{DPPH radical 소거활성(\%)} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})/A_{\text{control}} \times 100$$

A_{sample} = 시료를 첨가한 반응액의 흡광도

A_{control} = 시료대신 메탄올을 첨가한 반응액의 흡광도

(나) Xanthine oxidase 억제 및 Superoxide 소거 활성 검색

Xanthine/xanthine oxidase에 의한 uric acid 생성은 290 nm에서 증가된 흡광도에 의해 측정하였고 superoxide의 양은 nitroblue tetrazolium (NBT) 환원방법 (Cheng et al, 1998)에 의해 측정하였다. 반응액은 각 시료의 여러 농도와 0.5 mM xanthine와 1mM EDTA를 200mM phosphate buffer (pH 7.5) 100 μ l에서 준비하였고 50 mU/ml xanthine oxidase를 첨가하여 uric acid의 생성을 유도하였다. Superoxide 소거활성은 위 반응액에 0.5 mM NBT를 첨가하여 반응 시켰다. Xanthine oxidase 억제 및 superoxide 소거 활성은 각각 생성된 uric acid와 superoxide의 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도 (IC_{50})로 표시하였다.

(다) 과산화지질생성 저해 활성

과산화지질생성 저해 활성을 rat liver homogenate에서 thiobarbituric acid (TBA : Basaga et al, 1997; Geetha et al, 2004) 방법에 의해 측정하였다. 반응액은 DMSO에 녹인 시료 10 μ l, 50 mM sodium phosphate buffer 740 μ l, rat liver homogenate 50 μ l (10 mg protein/ml)에 과산화지질생성 유발물질로 0.1 mM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 와 1 mM ascorbic acid를 200 μ l 첨가하여 준비하였다. 이 반응액을 37°C에서 30분간 반응시킨 후 20% trichloroacetic acid (TCA) 250 μ l와 1% TBA 250 μ l를 첨가하여 반응을 중지시키고 95°C에서 10분간 가열하였다. 혼합액을 10000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 과산화지질생성 저해 활성은 다음과 같이 산출하였고 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도 (IC_{50})로 표시하였으며, 각 시료는 3회 반복하여 실험을 실시하여 평균값을 구하였다.

$$\text{과산화지질생성 저해 활성(\%)} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})/ (A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}) \times 100$$

A_{sample} = 시료를 첨가한 반응액의 흡광도

A_{control} = 시료대신 DMSO를 첨가한 반응액의 흡광도

A_{blank} = 시료와 과산화지질생성 유발물질을 첨가하지 않은 반응액의 흡광도

(5) 항염활성 검색

(가) 세포 배양 및 시약

Murine macrophage cell line 인 RAW 264.7 세포는 100 units/ml penicillin-streptomycin 과 10% fetal bovine serum (FBS)이 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였으며, 계대 배양은 3일에 한번씩 시행하였다. Lipopolysaccharide는 sigma로부터 구입하여 사용하였다.

(나) NO assay

RAW264.7 세포를 DMEM 배지를 이용하여 1×10^5 cells/ml로 조절한 후 96well plate에 접종하고, 시험물질을 함유한 새로운 배지에 1시간 후 LPS (100 ng/ml)를 처리하여 24시간 배양하였다. 생성된 NO의 양은 Griess 시약을 이용하여 세포배양액 중에 존재하는 NO₂⁻의 형태로 측정하였다 (Hevel et al, 1997). 세포배양 상등액 100 μ l와 Griess 시약 [1% (w/v) sulfanilamide, 0.1% (w/v) naphylethylenediamine in 2.5% (v/v) phosphoric acid] 100 μ l를 혼합하여 96 well plates에서 10분 동안 반응시킨 후 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준농도 곡선은 sodium nitrite (NaNO₂)를 serial dilution하여 얻었다.

(6) 항암활성 검색

(가) 세포배양

급성 전골수성 백혈병 환자에서 유래한 HL-60 와 KG-1 세포주를 한국 세포주 은행 (KCLB)으로부터 분양 받아 100 units/ml의 penicillin-streptomycin (GIBCO)과 10%의 fetal bovine serum (FBS, GIBCO)가 함유된 RPMI 1640 배지 (GIBCO)를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였으며, 계대 배양은 3~4일에 한번씩 시행하였다.

(나) 세포의 대사활성 측정

해조류 추출물이 혈액암 세포주에 대한 세포증식억제 정도를 MTT assay 방법을 통해 알아보았다. 세포 (2.0×10^5 /ml)를 96 well plate의 각 well에 넣고, 시료를 100 μ g/ml 농도로 첨가하였다. 이를 4일간 배양한 다음, 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma) 100 μ g을 첨가하고 4시간 동안 더 배양하였다. Plate를 1,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 조심스럽게 배지를 제거한 다음, dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma) 150 μ l 를 가하여 MTT의 환원에 의해 생성된 formazan 침전물을 용해시킨 후 microplate reader (BIO-TEK INSTRUMENTS, INC)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료군에 대한 평균 흡광도

값을 구하였으며, 대조군의 흡광도 값과 비교하여 성장억제정도를 조사하였다.

(7) 미백활성 검색

(가) Mushroom tyrosinase 저해활성 측정

티로시나제 저해활성 측정은 티로시나제의 작용결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법 (Pomerantz et al. 1966)에 의해 측정하였다. 기질로서 1.5 mM L-tyrosine 5 uL, 25 mM L-DOPA 40uL, 67mM sodium phosphate buffer(pH 6.8) 80uL 및 시료용액 40 uL의 혼합액에 Mushroom tyrosinase (sigma cat No. T7755) 80 µl (60unit)를 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm의 흡광도로 측정하여 다음 식에 의해 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율 (\%)} = [1 - (S_{\text{ABS}} - B_{\text{ABS}}) / C_{\text{ABS}}] \times 100$$

※S_{ABS} : 시료 및 기질 그리고 효소가 모두 들어간 상태에서 측정한 흡광도

B_{ABS} : 효소 대신 buffer가 들어간 상태에서 측정한 흡광도

C_{ABS} : 시료 대신 buffer가 들어간 상태에서 측정한 흡광도

제 2절 연구 결과

1. 연체 동물 종 다양성 조사

가. 2003년 조사결과

- (1) 2003년 1월부터 11월 까지 북제주군과 남제주군 연안 11개 지점에서 채집된 해산무척추 동물은 해면동물문 7종, 척색동물 4종, 자포동물문 34종, 연체동물문 77종, 절지동물 (갑각류)문 28종, 극피동물 20종 등, 총 170종의 해산무척추동물을 수집하고 분류하였다.
- (2) 채집된 동물은 제주도연안의 해산무척추동물 DB에 각 종의 분류학적 위치, 분포 및 기타 특성에 관한 자료로 제공하였다.
- (3) 제주연안의 조하대 및 조간대에 가장 풍부하게 분포하는 분류군은 연체동물로 2003년 연구에 있어서도 77종으로 가장 풍부하게 나타났다. 특히 서귀포연안 숲섬, 문섬 및 범섬 일대에 분포하는 연산호 군락에는 연산호에 공생/기생하는 다양한 복족류가 분포하고 있었으나, 아직 분류학적으로 기재가 이루어지지 않은 종 및 다수의 한국 미기록 종이 분포하고 있는 것으로 파악되고 있다. 이들 복족류 중 나새류는 향 후 해양천연물 연구에 있어 유용한 자원으로 활용될 것으로 사료되고 있다. 한편 숲섬 및 문섬 수심 3-5 m 지역에는 고착성 이매패류가 풍부히 분포하고 있으며, 이들 중 일부 굴 류는 국내 미기록 또는 아직 분류학적 위치가 밝혀지지 않은 종 들이 있는 것으로 파악되었다. 본 연구 기간 중 태생굴 (*Ostrea circumpicta*)의 산란 생태를 조직학 적으로 관찰할 수 있었으며, 그 결과 태생굴은 다른 굴과 달리 유생을 체내에 보육하는 종으로 밝혀졌다. 서귀포연안에 분포하는 태생굴의 번식생태학적 특성은 논문 형태로 “Journal of Shellfish Research (SCI)”에 발표하였다. (Journal of Shellfish Research vol. 23, No. 2, 411-415, 2004)

나. 2004년 조사결과

- (1) 채집된 시료는 총 1013 종으로, 육상 및 담수산 연체동물은 57 종, 기수 및 해산 연체동물은 956 종이었으며 세분화하면 아래와 같았다.
 - (가) 복족류: 811종 (육상 및 담수산 복족류: 54 종 포함)
 - (나) 이매패류: 224종
 - (다) 두족강 : 16종
 - (라) 다관강: 11종
 - (마) 굴족강: 8종
- (2) “제주도 연안의 해산무척추동물 DB”에 본 연구에서 채집된 300 종의 사진과분류학적 위치, 분포 및 기타 생태학적 특성을 제공하였다.

(3) 채집된 60종의 시료로부터 genomic DNA를 추출하여 -70°C 에서 보관 중이다.

Table 1. The collection region

No.	NAME	TYPE
1	이호 해변	M
2	용담	M
3	제주시 (Park)	L
4	제주시 (JNU)	L
5	삼양 해변	M
6	함덕 해변	M
7	김녕 해변	M
8	세화 해변	M
9	종달리	M
10	우도(하고수동 해변)	M
11	우도(산호사 해변)	M
12	우도(구물래)	M
13	성산에서 동쪽 2km	M
14	오조리	M
15	성산에서 서쪽 2km	M
16	신양 해변	M
17	표선 해변	M
18	남원	M, L
19	위미	M
20	보목	M, L
21	쇼섬	M
22	정방폭포	M, L, FW
23	서귀포 서쪽 5km	M
24	문섬	M
25	새섬	M, L
26	서귀포	L
27	서귀포 (선반내, 강)	FW
28	외돌개	M, L
29	법환	M, L
30	법환 서쪽 내	FW
31	수군도	M, FW
32	강정	M
33	대포	M
34	중문 해변	M, L, FW
35	중문서쪽해변(1/2km)	M, L
36	대평	M
37	안덕마을	L, FW
38	화순 해변	M
39	산방산	L
40	용머리 해변	M
41	사계리	M
42	마라도	M
43	하모 해변	M
44	용낙	M
45	신창	M
46	금능 해변	M
47	협재 해변	M
48	곽지 해변	M

2. 어류 종 다양성 조사

가. 연구수행 결과

(1) 1차년도 조사결과

1차년도 조사결과 제주 연안 및 제주도내 소재 어시장에서 수집된 표본은 총 6목 34과 100종 (한국미기록종 3과 4종 제외)이었다. 그 중 농어목 Perciformes의 망둑어과 Gobiidae가 18종, 쏨뱅이목 Scorpaeniformes 양볼락과 Scorpaenidae가 12종, 농어목의 놀래기과 Labridae가 11종으로 이들 3개과가 절반 이상을 차지하였다. 그 외에도 농어목 바리과 Serranidae 7종, 청베도라치과 Blenniidae와 자리돔과 Pomacentridae가 각각 5종씩 채집되었고, 농어목 동갈돔과 Apogonidae, 장갱이과 Stichaeidae, 촉수과 Mullidae의 3개과에서 각각 3종씩 채집되었다. 다음으로는 홍메치목 Aulopiformes 매통이과 Synodontidae, 쏨배이목 성대과 Triglidae, 농어목 빨돔과 Priacanthidae, 양동미리과 Pinguipedidae, 다동가리과 Cheiodactylidae, 황줄갑징이과 Kyphosidae, 옥돔과 Malacanthidae, 복어목 Tetraodontiformes 귀치과 Monacanthidae의 8개과에서 각각 2종씩 출현하였고, 농어목 비늘베도라치과 Labrisomidae 포함한 17개과에서 각각 1종씩 채집되었다.

이상 제주 연안에서 수집된 어류 100종을 대상으로, 각 종에 대하여 목명, 과명, 학명, 영명, 일명, 제주지방명, 형태, 생태, 분포, 이용, 문헌, 표본번호, 사진의 총 13개 항목에 대한 어류생물정보를 표본조사, 현장조사, 관련문헌 등을 참고로 수집, 작성하여 해양생물정보 DB홈페이지 운영을 위한 기초 자료를 제공하였다.

(2) 2차년도 조사결과

2차년도 조사결과 제주연안 및 어시장에서 추가로 수집된 어류 표본은 총 16목 55과 80종이었고, 8목 28과 50종에 대한 DNA분석용 어류 생체동결시료를 확보하였다.

어류생물정보 제공을 위한 어류표본 중 가장 많은 종수가 포함된 분류군은 쏨뱅이목의 양볼락과로 총 6종이 채집되었고, 다음으로는 농어목 전갱이과 Carangidae와 민어과 Sciaenidae가 각각 4종, 농어목의 바리과, 도미과 Sparidae, 하스돔과 Haemulidae, 그리고 가자미목 Pleuronectiformes 가자미과 Pleuronectidae의 4개과에서 각각 3종씩 채집되었다. 다음으로는 달고기목 Zeiformes 달고기과 Zeidae, 쏨뱅이목 독중개과 Cottidae, 농어목 실꼬리돔과 Nemipteridae, 통구멍과 Uranoscorpidae, 고등어과 Scombridae, 가자미목의 넙치과 Paralichthyidae의 6개과에서 각각 2종씩 채집되었고, 떡장어목 Myxiniformes 피장어과 Myxinidae를 포함한 42개과에서 각각 1종씩 채집되었다.

생체동결표본은 떡장어목의 피장어과 (1종), 팽이상어목의 팽이상어과 (1), 바다빙어목의 바다빙어과 (1), 쏨뱅이목의 양볼락과 (5), 성대과 (1), 농어목의 반딧불게르치과 (1), 바리과 (1), 동갈돔과 (1), 전갱이과 (1), 승어과 (1), 옥돔과 (2), 민어과 (1),

도미과 (2), 동갈돔과 (1), 다동가리과 (1), 자리돔과 (2), 놀래기과 (6), 황줄깜정이고 (2), 알롱잉어과 (1), 떡도라치과 (1), 장갱이과 (1), 망둑어과 (9), 양동미리과 (2), 고등어과 (1), 납작돔과(1), 가자미목의 넓치과 (1), 복어목의 참복과(1), 쥐치과 (2)의 총 50종의 생체동결 표본을 확보하였고, DNA분석을 위해 제주대학교 해양과환경연구소 냉동고에 동결보존하였다.

이상 제주 연안에서 추가로 수집된 어류 80종을 대상으로, 1차년도와 동일하게 각 종에 대하여 목명, 과명, 학명, 영명, 일명, 제주지방명, 형태, 생태, 분포, 이용, 문헌, 표본번호, 사진의 총 13개 항목에 대한 어류생물정보를 표본조사, 현장조사, 관련문헌 등을 참고로 수집, 작성하여 해양생물정보 DB홈페이지 운영을 위한 기초자료를 제공하였고, 50종의 어류 생체동결시료는 DNA분석을 위해 제주대학교 해양과환경연구소에 동결 보존하였다.

이상과 같이 2차년에 걸쳐 어류 종다양성 조사에는 제주연안에 출현하는 어류를 대상으로 총 18목 84과 180종을 대상으로 13개 항목에 대해 해양생물정보 DB홈페이지 운영을 위한 기초자료를 제공하였고, DNA분석을 위한 어류 생체동결시료 50종을 확보하였다.

3. 해양 미생물 분리 및 보존

가. 연구 수행 결과

아열대 기후 특성을 가진 환경에서 유용한 해양미생물을 분리하기 위해 제주도 광지 해수욕장 부근에서 10개의 해양시료와 삼양 해수욕장 주변에서 4개의 해양시료를 채집하였다. 시료로는 해수욕장 주변의 모래, 퇴적물, 해조류 및 해수 등을 포함하였다. 멸균된 자연 해수 60%가 첨가된 빈영양 해수배지 (SCA-SW agar)를 분리배지로 이용하여 해양세균을 분리한 결과 광지 시료에서 262주와 삼양시료에서 75주를 포함한 337주의 아열대 해양세균을 분리하여 멸균된 자연해수를 포함한 20% 글리세롤 현탁액에 보존하였다. 분리균주들의 형태 및 배양상 특성 분포를 관찰한 결과 크림색 계열의 색소를 띤 콜로니와 노란색 계열의 콜로니를 형성하는 비율이 각각 60%와 30%를 차지한 반면 붉은색과 기타 색의 콜로니를 형성하는 해양세균은 상대적으로 낮은 비율을 차지하였다. 한편, 형태적으로는 분리된 해양세균의 70%가 간상균이었다. 균사형태의 성장 특성을 보인 방선균은 18주로 대부분 *Streptomyces* 와 *Nocardia* 속의 특성을 보여 주었다. 분리미생물중 79%는 세포외 다당류 생성능을 보여 주어 유용물질 탐색 가능성을 보여 주었다. 한편, rep-PCR 기법과 16S rRNA 유전자 염기서열 결정을 통해 속과 종 수준에서 분류 및 동정을 시도하였고 보존된 아열대 해양세균 191 균주에 대한 정보 데이터베이스를 구축하였다. 그 결과 아열대 해양 세균은 방선균 42균주와 일반세균 149균주를 포함하였다. 방선균들은 12 속 16 종을 구성하였고 일반세균은 24속 38종이 분포되었다.

4. 해양생물정보 DB 구축

가. 연구수행 결과

(1) 연구결과

- 제주 해양생물 정보 DB 260종 자료 입력 및 생물정보 홈페이지 운영(해조류 20,000종, 연체동물 500종, 어류 1500종)
- 자료여부에 따라 선택적 입력 가능
- 물질데이터베이스 운영 : 5,000종 (물질명, 동의어, CAS No. 구조식 등)
 - 해양생물 데이터베이스 홈페이지 (<http://chejubio.cheju.ac.kr>)
 - Taxonomy Manager : 분류명 관리프로그램
데이터베이스 서버 : MS-SQL
개발언어 : 델파이
 - GBIF 데이터베이스 provider(<http://chejubio.cheju.ac.kr:83/>):

아래 화면 (Figure 1)은 본 사업이 추진하고 있는 해조류, 어류, 연체류 데이터베이스 홈페이지의 메인화면으로 각 데이터베이스의 문명(phylum)을 초기화면에 열거하여 바로 문명별로 조회할 수 있도록 하였으며, 각각의 대표적인 2-3종을 문명 옆에 열거하여 분류명이 생소함을 줄이고자 하였다.

The screenshot shows the main homepage of the marine organism database. At the top, there is a navigation bar with the logo 'JEJUBIO INFORMATICS' and several menu items: '소개 Introduction', '게시판 board', '육지자생식물 plant DB', '해조류 algae DB', '어류 fish DB', and '연체류 mollusca DB'. Below the navigation bar, there is a search bar with a dropdown menu set to '해조류' and a search button. The main content area is divided into four sections, each with a representative image and a list of phyla:

- 육지자생식물 (Plant DB)**: Includes 陸上植物, 植物, and 菌類.
- 해조류 (Algae DB)**: Includes Chlorophyta (녹조식물문) 청각 갈파 옥덩굴 ..., Incertaesedis (갈조식물문) 모자반 가시배대 ..., Phaeophyta, and Rhodophyta (홍조식물문) 제주새발 산물 ...
- 어류 (Fish DB)**: Includes 조기강 (Actinopterygii), 두갈강 (Cephalaspidomorphi), 연골어강 (Chondrichthyes), 판새마강 (Elasmobranchii), and 막장어강 (Myxini).
- 연체류 (Mollusca DB)**: Includes Aplacophora (무판강), Bivalvia (이매패강), Cephalopoda (두족강), Gastropoda (복족강), Polyplacophora (다판강), and Scaphopoda (굴족강).

On the left side, there are sections for '공지사항 NOTICE', '최근 업데이트 LAST UPDATE', and 'Quick Link' with various institutional links.

Figure 1. The main homepage of marine organism DB.

아래 화면 (Figure 2 ~ 4)은 해조류 분류의 첫 화면으로 국내 346종이 문별로 입력된 수를, 오른쪽에는 국문 분류명을 보여주고 있다. 화면 오른쪽의 제주: 국내: 전체를 클릭하여 제주 또는 세계 전체에 분포하는 해조류를 조회할 수 있도록 하였으며 검색창에서는 해조류의 종명 및 속명을 직접 검색할 수 있도록 하였다.

JEJUBIO INFORMATICS

소개 Introduction | 게시판 board | 육지자생식물 plant DB | **해조류 algae DB** | 어류 fish DB | 연체류 mollusca DB

Home > algae DB

데이터 목록 DATABASE LIST

- Plant DB 육지자생식물
 - 물질목록
 - 식물목록
 - 활성목록
- Algae DB해조류
 - Chlorophyta
 - Incertae sedis
 - Phaeophyta
 - Rhodophyta
- Fish DB어류
 - 조기강
 - 두갈강
 - 연골어강
 - 판새어강
 - 맥장어강
- Mollusca DB연체류
 - Aplacophora
 - Bivalvia
 - Cephalopoda
 - Gastropoda
 - Polyplacophora

Quick Link 링크

-----Quick_link-----

SEARCH 상세 검색

해조류

검색

Algae DB 해조류 제주:국내:전체

현재 846개의 데이터가 입력되어 있습니다.

Phylum	우리말(문)
Chlorophyta (122)	녹조식물 문 (綠藻植物門)
Incertae sedis (199)	갈조식물 문 (褐藻植物門)
Phaeophyta (1)	
Rhodophyta (524)	홍조식물 문 (紅藻植物門)

COPYRIGHT 2005. JEJUBIO informatics. ALL RIGHTS RESERVED. ADMINISTRATOR | CONTACT US | SITEMAP

JEJUBIO INFORMATICS

소개 Introduction | 게시판 board | 육지자생식물 plant DB | 해조류 algae DB | **어류 fish DB** | 연체류 mollusca DB

Home > fish DB

데이터 목록 DATABASE LIST

- Plant DB육지자생식물
 - 물질목록
 - 식물목록
 - 활성목록
- Algae DB해조류
 - Chlorophyta
 - Incertae sedis
 - Phaeophyta
 - Rhodophyta
- Fish DB어류**
 - 조기강
 - 두갈강
 - 연골어강
 - 판새어강
 - 맥장어강
- Mollusca DB연체류
 - Aplacophora
 - Bivalvia
 - Cephalopoda
 - Gastropoda
 - Polyplacophora

Quick Link 링크

-----Quick_link-----

SEARCH 상세 검색

어류

검색

Fish DB 어류

현재 813개의 데이터가 입력되어 있습니다.

Phylum	우리말(문)
Chordata (813)	척삭동물문

COPYRIGHT 2005. JEJUBIO informatics. ALL RIGHTS RESERVED. ADMINISTRATOR | CONTACT US | SITEMAP

JEJUBIO INFORMATICS

소개 Introduction | 게시판 board | 육지자생식물 plant DB | 해조류 algae DB | 어류 fish DB | **연체류 mollusca DB**

Home > mollusca DB

데이터 목록 DATABASE LIST

- Plant DB육지자생식물
 - 물질목록
 - 식물목록
 - 활성목록
- Algae DB해조류
 - Chlorophyta
 - Incertae sedis
 - Phaeophyta
 - Rhodophyta
- Fish DB어류
 - 조기강
 - 두갈강
 - 연골어강
 - 판새어강
 - 맥장어강
- Mollusca DB연체류**
 - Aplacophora
 - Bivalvia
 - Cephalopoda
 - Gastropoda
 - Polyplacophora

Quick Link 링크

-----Quick_link-----

SEARCH 상세 검색

연체류

검색

Mollusca DB 연체류

현재 1483개의 데이터가 입력되어 있습니다.

Class	우리말(문)
Annelida (2)	
Aplacophora (1)	무판강
Bivalvia (475)	이판강
Cephalopoda (27)	두족강
Crustacea (1)	
Echinidea (1)	
Gastropoda (1140)	복족강
Octocorallia(alcyonaria) (2)	
Polyplacophora (18)	다판강
Scaphopoda (14)	굴족강
Stelleridea (2)	

COPYRIGHT 2005. JEJUBIO informatics. ALL RIGHTS RESERVED. ADMINISTRATOR | CONTACT US | SITEMAP

Figure 2. The picture of homepage of marine organism DB (algae, fish, and mollusk)

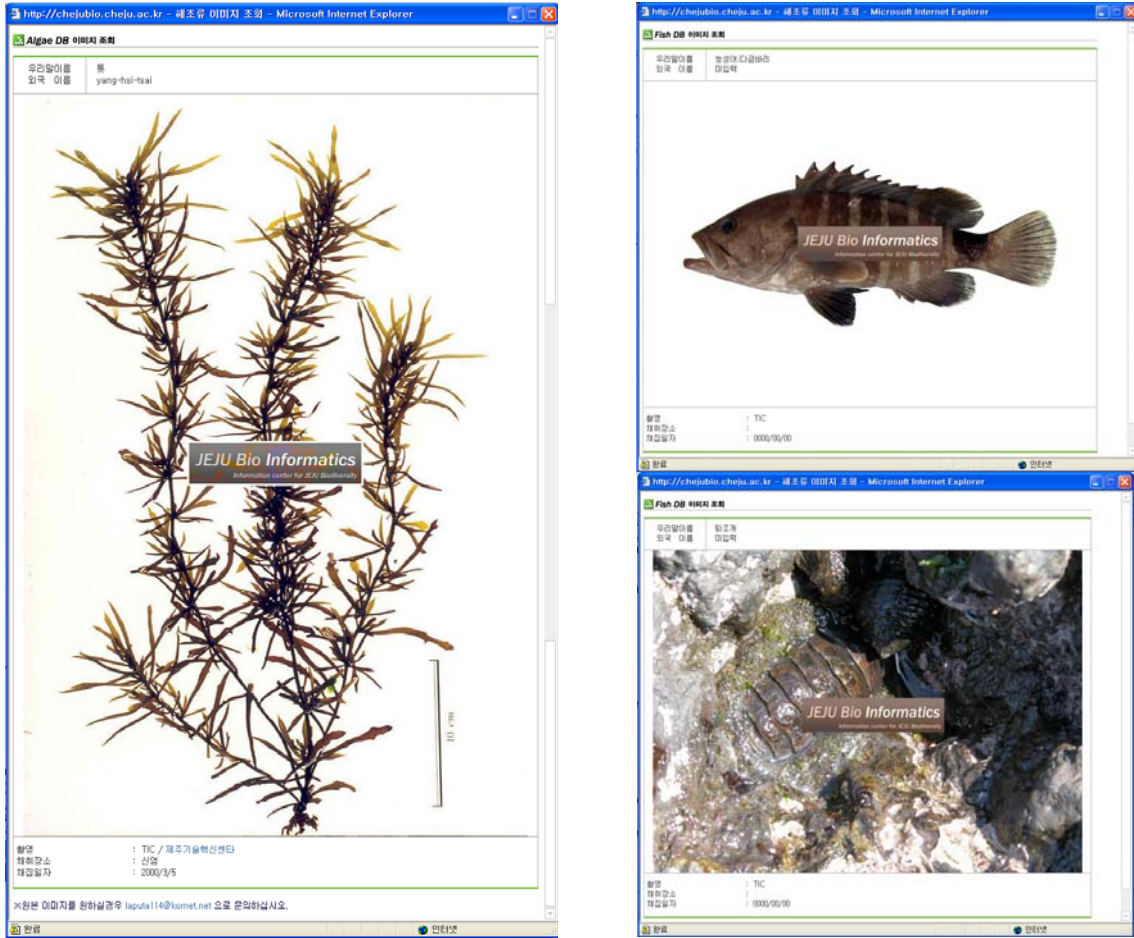


Figure 4. The picture view of marine organism DB

5. 해조류 추출물 은행 구축 및 생리활성 물질 탐색

가. 연구 수행 결과

(1) 해양식물 추출물 확보

(가) 조간대에서 채집된 해조류 DATA BASE

해조류 DB를 구축하기 위해 제주도 연안지역 중심으로 한달에 한번 이상 채집을 실시하였다. 채집장소는 제주도 동쪽 지역은 성산, 김녕, 행원 지역을 위주로 채집하였고, 서쪽지역은 하귀, 고내, 한수, 귀덕 지역을 중심으로 채집하였다. 지금까지 채집된 해조류는 미동정 11종을 포함한 총 153종이며, 채집된 해조류는 Table 2 에 나타내었다. 또한, 현재 이들 해양식물 추출물에 대한 정보는 DB은행 구축에 제공 되어있다.

Table 2. The lists of the algae extract DB

No.	학 명	한 국 명	기 타
1	<i>Portieria hornemanni</i>	가는잎송진내	
2	<i>Dictyopteris prolifera</i>	가시뼈대그물말	
3	<i>Pachydictyon coriaceum</i>	가죽그물바탕말	
4	<i>Meristotheca papulosa</i>	갈래곰보	
5	<i>Ecklonia cava</i>	감태	
6	<i>Hypnea japonica</i>	갈고리가시우무	
7	<i>Cladophora wrightiana</i>	갈색대마디말	
8	<i>Chondria crassicaulis</i>	개서실	
9	<i>Pterocladia capillacea</i>	개우무	
10	<i>Chondrophycus intermedia</i>	검은서실	
11	<i>Scytosiphon lomentaria</i>	고리매	
12	<i>Sargassum horneri</i>	팽생이모자반	
13	<i>Sargassum siliquastrum</i>	파배기모자반	
14	<i>Gracilaria verrucosa</i>	꼬시래기	
15	<i>Colpomenia bullosa</i>	긴불레기말	
16	<i>Hydroclathrus clathratus</i>	그물바구니	
17	<i>Jania arborescens</i>	나무꼴애기산호말	
18	<i>Codium latum</i>	넓청각	
19	<i>Chrysomenia wrightii</i>	누른끈적이	
20	<i>Jania adhaerens</i>	덩이애기산호말	
21	<i>Codium arabicum</i>	떡청각	
22	<i>Chondracanthus tenellus</i>	돌가사리	
23	<i>Marginisporum crassissimum</i>	둘레게발혹	
24	<i>Lomentaria catenata</i>	마디잘록이	
25	<i>Martensia Jejuensis</i>	제주비단망사	

26	<i>Codium cylindricum</i>	말청각
27	<i>Polysiphonia morrowii</i>	모로우붉은실
28	<i>Codium contractum</i>	몽우리 청각
29	<i>Grateloupia sparsa</i>	명주도박
30	<i>Sargassum niyabei</i>	미아베모자반
31	<i>Undaria pinnatifida</i>	미역
32	<i>Petalonia binghamiae</i>	미역쇠
33	<i>Tricleocarpa cylindrica</i>	민가락말
34	<i>Myelophycus simplex</i>	바위수염
35	<i>Callophyllis japonica</i>	벚붉은잎
36	<i>Padina arborescens</i>	부챗말
37	<i>Gloiopeltis furcata</i>	불등풀가사리
38	<i>Prionitis cornea</i>	불레기말
39	<i>Sargassum Segaminum</i>	붉은까막살
40	<i>Martensia denticulata</i>	비단망사
41	<i>Cladophora sakaii</i>	사카이대마디말
42	<i>Sargassum patens</i>	쌍발이모자반
43	<i>Acanthopeltis japonica</i>	새발
44	<i>Sargassum pallidum</i>	알송이모자반
45	<i>Myagropsis yendoi</i>	애기의톨개모자반
46	<i>Halymenia dilatata</i>	얼룩도박
47	<i>Sargassum Yendoi</i>	엔도오모자반
48	<i>Laurencia okamurae</i>	오카무라서실
49	<i>Myagropsis myagroides</i>	외톨개모자반
50	<i>Sargassum yezoense</i>	왜모자반
51	<i>Gelidium amansii</i>	우뭇가사리
52	<i>Gracilaria textorii</i>	잎꼬시래기
53	<i>Corallina pilulifera</i>	작은구슬산호말
54	<i>Sargassum hemiphyllum</i>	짜잎모자반
55	<i>Chondrus crispus</i>	주름진두발
56	<i>Grateloupia filicina</i>	지누아리
57	<i>Sargassum thunbergii</i>	지층이
58	<i>Chondrus ocellatus</i>	진두발
59	<i>Hypnea charoides</i>	참가시우무
60	<i>Carpopeltis affinis</i>	참까막살
61	<i>Grateloupia elliptica</i>	참도박
62	<i>Plocamium telfairiae</i>	참곱슬이
63	<i>Gloiopeltis tenax</i>	참풀가사리
64	<i>Champia parvula</i>	참사슬풀
65	<i>Sargassum coreanum</i>	큰잎모자반
66	<i>Hizikia fusiformis</i>	톳
67	<i>Sinkoraena lancifolia</i>	털도박
68	<i>Monostroma nitidum</i>	파래
69	<i>Ishige odamurae</i>	패
70	<i>Chondrophycus undulatus</i>	흑서실

71	<i>Helminthocladia australis</i>	큰가지국수나물	
72	<i>Colpomenia peregrina</i>		
73	<i>Laurencia venusta</i>	애기서실	
74	<i>Ahnfeltiopsis flabelliformis</i>	부챗살	
75	<i>Galaxaura spp.</i>	가위손말류	미동정
76	<i>Petrogrossum reogosum</i>		
77	<i>Corallina spp.</i>	산호말류	미동정
78	<i>Chordophycus spp.</i>	서실류	미동정
79		애기불등풀가사리	
80		애기산호말	
81	<i>Aglothamia</i>		
82	<i>Margirisporum crassissimum</i>	석회조류	미동정
83		붉도실	
84	<i>Marteusia spp.</i>	붉은실모로우	
85		개칭각	
86	<i>Nemalion spp.</i>	국수나물과	미동정
87		그물망사	
88	<i>Ishige foliacea</i>	넓패	
89	<i>Sargassum sagamianum</i>	비틀대모자반	
90	<i>Ceramium spp</i>	비단풀류	미동정
91	<i>Ralfsia verrucosa</i>	바위딱지	
92		가위손말	
93	<i>Nemalion vermiculare</i>	국수나물	
94	<i>Amphiroa anceps</i>	넓은게발	
95	<i>Marginisporum aberrans</i>	방향게발혹	
96	<i>Prionitis angusta</i>	붉은뼈까막살	
97		아니야	
98	<i>Dictyopteris undulata</i>	주름뼈대그물말	
99	<i>Sargassum giganteifolium</i>	툽니모자반	
100	<i>Bonnemaisonia hamifera</i>	참갈고리풀	
101	<i>Heterosiphonia japonica</i>	엇가지풀	
102	<i>Delisea Japonica</i>		
103	<i>Rotunda</i>		
104	<i>Scinaia japonica</i>	시나이	
105	<i>Scinaia spp.</i>		미동정
106	<i>Codium coactum</i>	누운칭각	
107	<i>Codium divaricatum</i>		
108		왜흐늘풀	
109	<i>Tricleocarpa cylindrica</i>	대롱갈라가라	
110	<i>Galaxaura falcata</i>	여린가위손말	
111	<i>Peyssonnelia caulifera</i>	바다표고	
112	<i>Sebdenia flabellata</i>		
113	<i>Actinotrichia fragilis</i>	고리방사털	
114	<i>Champia expansa</i>	넓은사슬풀	
115	<i>Plocamium recurvatum</i>		

116	<i>Spatoglossum pacificum</i>	참가시그물바탕말	
117	<i>Laurencia papillosa</i>		
118	<i>Laurencia nipponica</i>	큰서실	
119	<i>Hypnea saidana</i>	덤불가시우무	
120	<i>Caralliae confusum</i>		
121	<i>Dilophus okamurae</i>	개그물바탕말	
122	<i>Acrosorium yendoi</i>	누운분홍잎	
123	<i>Acrosorium spp.</i>	분홍잎류	미동정
124	<i>Lithophyllum okamurae</i>	흑돌잎	
125	<i>Wrangelia argus</i>	털가지풀	
126	<i>Aglaothamnion spp.</i>	외깃풀류	미동정
127	<i>Gelidium spp.</i>	가사리류	미동정
128	<i>Hypnea spp.</i>	가시우무류	미동정
129	<i>Myagropsis spp.</i>		
130	<i>Sargassum confusum</i>	고지기	
131	<i>Padina crassa</i>	분부챗말	
132	<i>Ulva lactuca Linnaeus</i>	갈파래	
133	<i>Blidingia minima</i>	애기파래	
134	<i>Sargassum giganteifolium</i>	큰톱니모자반	
135	<i>Chondrus eltus</i>	넓은진두발	
136	<i>Porphyra tenera</i>	김	
137	<i>Porphyra seriata</i>	속돌김	
138	<i>Lomentaria hakodatensis</i>	애기마디잘록이	
139	<i>Laurencia yendoi</i>	앤도오서실	
140	<i>Prionitis crispata</i>	주름까막살	
141	<i>Porphyra lacerata</i>	갈래잎돌김	
142	<i>Porphyra suborbiculata</i>	등근돌김	
143	<i>Ceramium rubrum</i>	비단풀	
144	<i>Carpopeltis prolifera</i>	부채까막살	
145	<i>Amphiroa pusilla</i>	애기게발	
146	<i>Ecklonia kurome</i>	검등감태	
147	<i>Cladophora japonica</i>	큰대마디말	
148	<i>Leathesia difformis</i>	바위두룩	
149	<i>Acrosorium venulosum</i>	갈고리분홍잎	
150	<i>Acrochaetium scapae</i>	비녀나룻말	
151	<i>Undaria crenata</i>	다실미역	
152	<i>Leathesia globosa</i>	등근바위두룩	
153	<i>Dilophus okamurae</i>	개그물바탕말	

(나) 해조류 추출물 DATA BASE

추출물 은행 DB 구축을 위해서 유기용매(MeOH 및 EtOH)를 이용한 용매추출 방법과 열수추출 방법 등을 활용하여 각각의 추출물 DB를 구축하였으며 (Table 3 ~ 5), 이 중 MeOH 추출물들은 농축 된 메탄올 추출물을 물에 현탁 시킨 후 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올로 순차적으로 추출하여 용매 분획물에 대한 DB를 구축하였다 (Table 6). 현재까지 채집된 해조류 153종 중 추출물은 용매별로 총 302종이 확보되었으며, 각각 MeOH 추출물 116종, EtOH 추출물 45종, 열수추출물 45종을 비롯하여 MeOH 분획 추출물 96종의 추출물이 구축되었다.

Table 3. The lists of MeOH extracts DB

No.	Code	No.	Code	No.	Code
1	T0-2	40	T1-32	79	T2-57
2	T0-4	41	T1-34	80	T2-58
3	T0-5	42	T1-35	81	T2-63
4	T0-11	43	T1-38	82	T2-68
5	T0-12	44	T1-41	83	T2-94
6	T0-13	45	T1-48	84	T2-98
7	T0-14	46	T1-53	85	T2-99
8	T0-18	47	T1-54	86	T2-111
9	T0-21	48	T1-55	87	T2-135
10	T0-22	49	T1-56	88	T5-42
11	T0-25	50	T1-60	89	T6-19
12	T0-28	51	T1-63	90	T6-31
13	T0-29	52	T1-69	91	T6-67
14	T0-39	53	T1-79	92	T6-76
15	T0-40	54	T1-83	93	T6-79
16	T0-42	55	T1-85	94	T6-88
17	T0-44	56	T2-2	95	T7-16
18	T0-46	57	T2-3	96	T7-66
19	T0-48	58	T2-5	97	T8-3
20	T0-51	59	T2-7	98	T8-6
21	T0-52	60	T2-8	99	T8-7
22	T0-54	61	T2-10	100	T8-36
23	T0-57	62	T2-12	101	T8-48
24	T0-61	63	T2-13	102	T8-50
25	T0-64	64	T2-18	103	T8-61
26	T0-65	65	T2-21	104	T8-65
27	T0-66	66	T2-23	105	T8-68
28	T0-69	67	T2-24	106	T10-44
29	T0-70	68	T2-25	107	T11-9
30	T0-71	69	T2-26	108	T11-32
31	T0-75	70	T2-28	109	T11-43
32	T0-78	71	T2-31	110	T12-44
33	T0-81	72	T2-32	111	T12-52

34	T0-87	73	T2-34	112	T12-56
35	T0-89	74	T2-37	113	T12-72
36	T1-11	75	T2-39	114	T14-30
37	T1-24	76	T2-43	115	T14-43
38	T1-28	77	T2-51	116	T14-70
39	T1-29	78	T2-55		

Table 4. The lists of EtOH extracts DB

No.	Code	No.	Code	No.	Code
1	E0-2	16	E0-66	31	E1-63
2	E0-4	17	E0-69	32	E1-79
3	E0-5	18	E0-70	33	E1-83
4	E0-11	19	E0-75	34	E1-85
5	E0-12	20	E1-24	35	E2-3
6	E0-29	21	E1-28	36	E2-7
7	E0-39	22	E1-29	37	E2-8
8	E0-42	23	E1-32	38	E2-10
9	E0-44	24	E1-34	39	E2-13
10	E0-46	25	E1-35	40	E2-21
11	E0-48	26	E1-38	41	E2-31
12	E0-51	27	E1-53	42	E2-37
13	E0-54	28	E1-54	43	E2-43
14	E0-64	29	E1-56	44	E2-55
15	E0-65	30	E1-60	45	E2-58

Table 5. The lists of Hot-water extract DB

No.	Code	No.	Code	No.	Code
1	H0-2	16	H0-66	31	H1-63
2	H0-4	17	H0-69	32	H1-79
3	H0-5	18	H0-70	33	H1-83
4	H0-11	19	H0-75	34	H1-85
5	H0-12	20	H1-24	35	H2-3
6	H0-29	21	H1-28	36	H2-7
7	H0-39	22	H1-29	37	H2-8
8	H0-42	23	H1-32	38	H2-10
9	H0-44	24	H1-34	39	H2-13
10	H0-46	25	H1-35	40	H2-21
11	H0-48	26	H1-38	41	H2-31
12	H0-51	27	H1-53	42	H2-37
13	H0-54	28	H1-54	43	H2-43
14	H0-64	29	H1-56	44	H2-55
15	H0-65	30	H1-60	45	H2-58

Table 6. The lists of MeOH fraction DB

No.	Code	No.	Code	No.	Code
1	T2-8-1	33	T12-52-1	65	T1-69-21
2	T2-8-2	34	T12-52-2	66	T1-69-22
3	T2-8-3	35	T12-52-3	67	T1-69-23
4	T2-8-4	36	T12-52-4	68	T1-69-24
5	T0-12-1	37	T1-56-1	69	T2-70-1
6	T0-12-2	38	T1-56-2	70	T2-70-2
7	T0-12-3	39	T1-56-3	71	T2-70-3
8	T0-12-4	40	T1-56-4	72	T2-70-4
9	T1-24-1	41	T2-57-1	73	T0-71-1
10	T1-24-2	42	T2-57-2	74	T0-71-2
11	T1-24-3	43	T2-57-3	75	T0-71-3
12	T1-24-4	44	T2-57-4	76	T0-71-4
13	T0-32-1	45	T1-60-1	77	T0-75-1
14	T0-32-2	46	T1-60-2	78	T0-75-2
15	T0-32-3	47	T1-60-3	79	T0-75-3
16	T0-32-4	48	T1-60-4	80	T0-75-4
17	T1-34-1	49	T1-63-1	81	T6-76-1
18	T1-34-2	50	T1-63-2	82	T6-76-2
19	T1-34-3	51	T1-63-3	83	T6-76-3
20	T1-34-4	52	T1-63-4	84	T6-76-4
21	T14-43-1	53	T7-66-1	85	T1-79-1
22	T14-43-2	54	T7-66-2	86	T1-79-2
23	T14-43-3	55	T7-66-3	87	T1-79-3
24	T14-43-4	56	T7-66-4	88	T1-79-4
25	T10-44-1	57	T0-68-1	89	T1-85-1
26	T10-44-2	58	T0-68-2	90	T1-85-2
27	T10-44-3	59	T0-68-3	91	T1-85-3
28	T10-44-4	60	T0-68-4	92	T1-85-4
29	T2-51-1	61	T1-69-1	93	T0-89-1
30	T2-51-2	62	T1-69-2	94	T0-89-2
31	T2-51-3	63	T1-69-3	95	T0-89-3
32	T2-51-4	64	T1-69-4	96	T0-89-4

(3) 생리활성 물질 탐색

해양식물 추출물로부터 항산화활성, 항염활성, 미백활성 및 항암활성에 대한 생리활성 후보군을 탐색하였다.

(가) 항산화활성

① DPPH radical scavenging activity

항산화 물질의 가장 특징적인 기작은 유리기와 반응하는 것으로 유리기 소거 작용은 활성라디칼(free radical)에 전자를 공여하여 식물 중의 항산화 효과나 인체에서 노화를 억제하는 척도로 사용된다. DPPH는 안정한 유리기로 cysteine, glutathione과 같은 함유황 아미노산과 ascorbic acid, aromatic amine(p-phenylenediamine, p-aminophenol) 등에 의해 환원되어 탈색되므로 항산화 물질의 항산화능 측정에 많이 이용되고 있다 (Blosis, 1958).

DPPH 방법을 이용하여 1차적으로 해조류 48종에 대한 메탄올 추출물을 농도 별에 따른 항산화 활성을 검색하였다 (Table 7). 100 µg/ml이하의 농도에서 IC₅₀값을 나타내는 추출물은 5종 이었으며 양성대조물질로 사용한 Trolox (IC₅₀: 11.2), BHA (IC₅₀: 6.8)보다 높은 농도에서 활성을 나타내었다. 100 µg/ml의 농도 이하에서 50% 이상 억제하는 메탄올 추출물은 5종 이었으며, 1 mg/ml 이하의 농도에서 IC₅₀ 값은 T0-5 < T0-69 < T6-88 < T12-44 < T8-7 < T8-50 < T1-54 < T5-42 순으로 나타났다. 현재 항산화 활성을 갖는 몇 종의 메탄올 추출물 후보군은 scavenging 활성에 관련된 여러 효소들에 대한 활성 분석과 compound 분리 단계를 진행 중에 있다.

Table 7. DPPH radical scavenging activity of methanol extract from various seaweeds

Sample No.	Code name	IC ₅₀ (mg/ml)	Sample No.	Code name	IC ₅₀ (mg/ml)
1	T0-2	*	37	T0-39	*
2	T8-3	*	38	T0-40	*
3	T0-5	34.7	39	T1-35	*
4	T8-6	*	40	T0-89	133.7
5	T0-10	*	41	T1-38	*
6	T1-11	*	42	T0-37	*
7	T0-12	*	43	T0-38	*
8	T0-13	*	44	T5-42	608.3
9	T0-8	*	45	T8-48	*
10	T0-87	*	46	T14-43	*
11	T0-14	*	47	T1-41	*
12	T8-7	91.9	48	T12-44	87.7
13	T11-9	*	49	T0-80	*

14	T1-56	*	50	T0-49	*
15	T0-1	*	51	T0-51	*
16	T7-16	*	52	T8-50	*
17	T0-75	*	53	T0-52	*
18	T1-85	*	54	T0-81	*
19	T0-4	*	55	T11-43	*
20	T0-17	*	56	T8-48	*
21	T6-88	77.8	57	T6-79	*
22	T0-18	*	58	T0-46	*
23	T0-22	*	59	T0-57	*
24	T0-21	*	60	T0-58	*
25	T0-23	*	61	T1-54	242.3
26	T0-48	*	62	T1-53	*
27	T1-24	*	63	T8-61	*
28	T1-29	*	64	T0-62	*
29	T1-28	*	65	T1-60	*
30	T14-30	*	66	T0-77	*
31	T0-25	*	67	T0-78	*
32	T0-33	*	68	T0-65	632.51
33	T6-31	42.27	69	T7-66	*
34	T11-32	*	70	T8-68	*
35	T1-34	*	71	T0-69	36.9
36	T8-36	*	72	T0-70	*
Ref.1	Trolox	11.2	Ref.1	Trolox	11.2
Ref.2	BHA ^a	6.8	Ref.2	BHA ^a	6.8

* IC50 value > 1000 mg/ml

^a Butylated hydroxy anisole.

② Xanthine oxidase 억제 활성

Xanthine oxidase는 xanthine을 기질로 하여 요산을 생성하는 과정에서 superoxide anion 라디칼을 생성하는 효소이다. Xanthine oxidase의 활성은 바이러스의 감염 및 xenobiotic의 중독에 의한 간 손상시, 그리고 streptozotocin 유발 당뇨병 쥐에서 그 활성이 증가한다 (Cheng, 1998). Xanthine oxidase 저해제인 allopurinol, alloxanthine 등은 통풍, 신장결석, 허혈, 심근증을 일으키는 요산혈증의 치료제로 사용되고 있다. 따라서 해조류 메탄올 추출물 48종에 대한 xanthine oxidase의 활성억제를 검색하였다 (Table 8). Xanthine oxidase 저해제인 Allopurinol 보다 높은 농도에서 활성을 나타내었으며 메탄올 추출물 1 mg/ml 이하의 농도에서 IC₅₀값은 T0-69 < T6-88 < T0-5 < T8-7 < T12-44 순으로 활성을 보였다.

Table 8. Xanthine oxidase inhibitory activity of methanol extract from various seaweeds

Sample No.	Code name	IC ₅₀ (mg/ml)	Sample No.	Code name	IC ₅₀ (mg/ml)
1	T0-2	*	24	T8-50	*
2	T8-3	*	25	T0-82	*
3	T0-5	49.3 ± 4.3	26	T5-42	*
4	T8-6	*	27	T12-44	347.8 ± 10.3
5	T0-10	*	28	T0-80	*
6	T1-11	*	29	T0-49	*
7	T0-12	*	30	T0-51	*
8	T0-8	*	31	T8-50	*
9	T12-14	*	32	T0-52	*
10	T8-7	183.2 ± 13.2	33	T0-81	*
11	T11-9	*	34	T11-43	*
12	T1-56	*	35	T0-57	*
13	T0-17	*	36	T0-58	*
14	T6-88	43.0 ± 5.6	37	T1-54	*
15	T0-22	*	38	T1-53	*
16	T1-29	*	39	T8-61	*
17	T1-28	*	40	T0-62	*
18	T14-30	*	41	T0-77	*
19	T0-25	*	42	T0-66	*
20	T1-34	*	43	T8-68	*
21	T8-36	*	44	T0-69	26.8 ± 1.9
22	T0-39	*	45	T0-70	*
23	T1-35	*			
Ref. 1	Trolox Conc.	126.7 ± 3.3	Ref. 1	Trolox Conc.	126.7 ± 3.3
Ref. 2	Allopurinol Conc.	1.7 ± 0.2	Ref. 2	Allopurinol Conc.	1.7 ± 0.2
Ref. 3	Quercetin	5.6 ± 0.3	Ref. 3	Quercetin	5.6 ± 0.3

* IC₅₀ value > 1000 mg/ml

③ Superoxide scavenging activity

정상적인 oxidative phosphorylation의 과정동안 소모되는 전체 산소의 0.4-4% 정도는 free radical superoxide ($\cdot\text{O}_2^-$)로 전환되며 생성된 $\cdot\text{O}_2^-$ 는 다른 reactive oxygen species (ROS)로 전환되어 직접적 또는 간접적으로 세포손상을 유발하는 것으로 알려져 있다. 정상적으로는 $\cdot\text{O}_2^-$ 는 내인성 항산화 방어기전에 의해 superoxide dismutase (SOD)에 의해 빠르게 과산화수소로 전환된다 (Korycka et al, 1979). 그러나 이 내인성 항산화 방어체계가 세포내 산화-환원 균형을 유지하는데에 문제가 생길 경우 결과적으로 산화스트레스가 일어나게 되며 이 산화스트레스는 직접적으로 세포내 거대분자의 손상을 일으키거나 세포손상을 일으키는데 중요한 역할을 한다.

각 메탄올 추출물에 대한 Superoxide scavenging activity를 분석한 결과 (Table 9), 약 50여종의 추출물 중 약 15 여종이 높은 Superoxide scavenging activity을 나타내었다. 각 추출물에 대한 1 mg/ml에서 IC_{50} 값은 T8-7 < H4 < T0-5 < T12-44 < T0-69 < T6-88 < T8-50 < T1-54 < T5-42 < T0-57 < T0-25 < T1-29 < T1-53 < T14-30 < T11-43 순으로 나타났다.

Table 9. Superoxide scavenging activity of methanol extract from various seaweeds.

No.	Code	IC ₅₀ (mg/ml)	No.	Code	IC ₅₀ (mg/ml)
1	T0-2	*	24	T8-50	195.8
2	T8-3	*	25	T0-82	*
3	T0-5	67.0	26	T5-42	492.4
4	T8-6	*	27	T12-44	97.5
5	T0-10	*	28	T0-80	*
6	T0-11	*	29	T0-49	*
7	T0-12	*	30	T0-51	*
8	T0-8	*	31	T8-50	*
9	T0-14	*	32	T0-52	*
10	T8-7	30.8	33	T0-81	*
11	T11-9	*	34	T11-43	974.2
12	T1-56	*	35	T0-57	621.3
13	T0-1	*	36	T0-58	*
14	T6-88	153.8	37	T1-54	413.5
15	T0-22	*	38	T1-53	835.8
16	T1-29	732.1	39	T8-61	*
17	T1-28	*	40	T0-62	*
18	T14-30	921.2	41	T0-77	*
19	T0-25	649.1	42	T0-66	*
20	T1-34	*	43	T8-68	*
21	T8-36	*	44	T0-69	104.8
22	T0-39	*	45	T0-70	*
23	T1-35	*			
Ref. 1	Trolox	48.5	Ref. 1	Trolox	48.5
Ref. 2	Conc.		Ref. 2	Conc.	
	Allopurinol	1.0		Allopurinol	1.0
Ref. 3	Conc.		Ref. 3	Conc.	
	Quercetin	1.5			1.5

* IC₅₀ value > 1000 mg/ml

④ 지질과산화물생성 저해 활성 검색

체내에서 지질과산화물은 세포막에 넓게 분포되어 있는 불포화지방산의 산화로부터 생성되며, 이 과산화물은 자동산화기전을 촉진하여 반응성이 큰 많은 자유 라디칼을 생성하는 데 영향을 미친다. 그러므로 지질과산화물생성 억제 활성은 free radical 소거효과와 구별되는 중요한 의미를 지닌다 (Basaga et al, 1997, Geetha et al, 2004). 마우스 간균질화물에 대한 지질과산화물생성 저해활성 결과를 (Table 10)에 나타내었다. 약 50여종의 추출물 중 약 6 여종이 강한 과산화지질생성 저해 활성을 보였으며, 그 가장 높게 나타난 T0-54의 IC₅₀ 값은 142.8 µg/ml으로 나타났다.

Table 10. Inhibitory activities on lipid peroxidation

NO.	Code	IC ₅₀ (µg/ml)	NO.	Code	IC ₅₀ (µg/ml)
1	T0-2	*	24	T1-89	696.7
2	T8-3	*	25	T0-82	
3	T0-5	177.3	26	T0-42	*
4	T8-6	*	27	T12-44	916.6
5	T0-10	*	28	T0-80	*
6	T0-11		29	T0-49	*
7	T0-12		30	T0-51	*
8	T0-8	*	31	T8-50	*
9	T0-14	*	32	T0-52	*
10	T8-7	222.3	33	T0-81	*
11	T11-9	*	34	T11-43	*
12	T1-56	*	35	T0-57	*
13	T0-17	*	36	T0-58	*
14	T6-88	*	37	T0-54	142.8
15	T0-22		38	T1-53	*
16	T0-29	*	39	T8-61	*
17	T0-28	*	40	T0-62	*
18	T14-30	*	41	T0-77	*
19	T0-25	*	42	T0-66	*
20	T1-34	*	43	T8-68	*
21	T8-36	*	44	T1-69	784.7
22	T0-39	*	45	T0-70	*
23	T1-35				
Ref. 1	Trolox	*	Ref. 1	Trolox	*
Ref. 2	BHA	*	Ref. 2	BHA	*
Ref. 3	Conc. (mM) Quercetin	*	Ref. 3	Conc. (mM) Quercetin	*

* IC₅₀ value > 1000 mg/ml

(나) 항염활성

Nitric oxide (NO)는 NO synthase (NOS)에 의해 L-arginine으로부터 생성되는 무기 유리체로 면역반응, 세포독성, 신경전달계 및 혈관이완 등 여러 가지 생물학적인 과정에 관여하는 것으로 알려져 있으며 농도에 따라 세포 기능유지에 중요한 작용을 하기도 하고 세포독성을 일으키기도 한다 (Moncada et al, 1991: C. Nathan et al, 1994: Jaffrey et al, 1995). NO를 생산하는 NOS는 세포내에 존재하여 calcium이나 calmodulin에 의존적인 형태인 constitutive NOS (cNOS)와 calcium에 비의존적으로 대식세포나 혈관내피세포가 활성화되거나 lipopolysaccharide (LPS)와 같은 세균의 내독소나 여러 가지 cytokine에 의해 유도되는 형태인 inducible NOS (iNOS)의 형태가 있다(Liu et al, 1995: Galea et al, 1992: Rockey et al, 1998: Nunokawa et al, 1993: Lyons et al, 1992: Geller et al, 1993). 따라서 해양식물 추출에 대한 항염활성은 Raw 264.7 세포주를 이용하여 NO 형성 억제 효과를 보이는지를 분석하였다 (Table 11). 약 50여종의 추출을 분석한 결과, 바탕말, 모자반 등 15여 종 등에서 IC₅₀ 값 이 500 mg/ml 보다 낮게 나왔으며, 이중 가장 높게 나타난 항염활성을 갖는 후보군(T8-48)의 경우 IC₅₀ 값 이 25.74 mg/ml 로 나타났다.

Table 11. The inhibitory effect of NO synthesis in macrophage cells

NO.	Code	IC ₅₀ (μ g/ml)	NO.	Code	IC ₅₀ (μ g/ml)
1	T0-87	208.5	25	T0-82	*
2	T0-1	632.7	26	T8-48	25.74
3	T7-16	520.18	27	T14-43	468
4	T0-75	*	28	T1-41	451.7
5	T0-15	506.39	29	T0-80	207.2
6	T1-85	*	30	T0-49	915.5
7	T0-4	*	31	T8-50	796.7
8	T0-18	*	32	T0-52	616.3
9	T0-22	*	33	T0-81	*
10	T0-21	246	34	T1-48	320.4
11	T0-23	360.9	35	T1-79	*
12	T0-48	37.6	36	T0-46	*
13	T1-24	732.2	37	T0-57	*
14	T1-28	301.9	38	T8-61	569.8
15	T0-33	*	39	T0-62	163.9
16	T6-31	753.1	40	T1-60	569.4
17	T11-32	506.5	41	T0-77	104.2
18	T1-34	*	42	T0-78	212.8
19	T8-36	261	43	T0-65	*
20	T0-39	*	44	T0-66	*

21	T0-40	498.9	45	T6-67	135.5
22	T1-35	268.4	46	T8-68	*
23	T1-38	*	47	T0-69	353.3
24	T0-37	*	48	T0-70	*
Ref. 1	Trolox	*	Ref. 1	Trolox	*
Ref. 2	BHA	*	Ref. 2	BHA	*
Ref. 3	Conc. (mM) Quercetin	*	Ref. 3	Conc. (mM) Quercetin	*

* IC₅₀ value > 1000 mg/ml

(다) 혈액암 세포주에서의 항암활성 측정

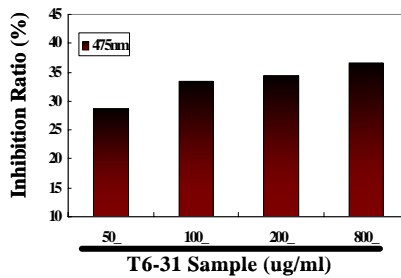
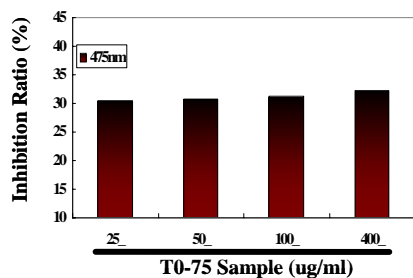
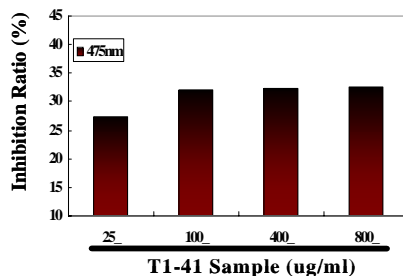
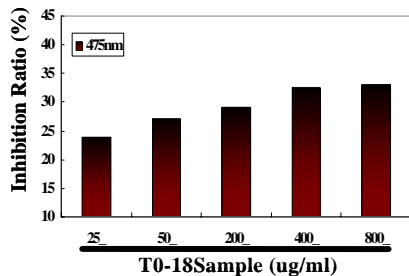
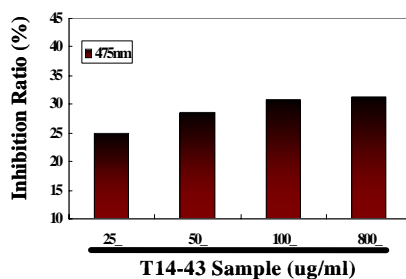
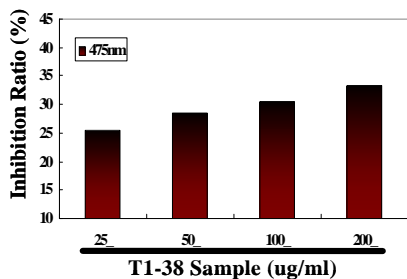
해조류 추출물의 HL-60 및 KG-1 세포의 성장에 대한 효과는 tetrazolium salt의 하나인 MTT를 사용하여 MTT의 환원에 의해 생성되는 formazan의 흡광도로 측정하였다 (Lau et al, 2004). 40여종의 해조류 추출물들을 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 혈액암 세포에 처리시 높은 세포증식 억제효과를 보인 시료로는 T0-23, T0-48, T0-64, T2-98, T7-16, T8-3, T8-124 등으로 약 7여종이 HL-60 및 KG-1 세포 모두에서 약 50% 이상의 강한 세포성장억제 활성을 나타내었다. 이중 가장 활성이 높게 나타난 해조류 추출물로는 갈조류인 T8-3로서 HL-60 세포에서 약 85.9%, KG-1 세포에서 약 87.7%의 세포성장억제율을 보였다 (Table 12).

Table 12. The inhibitory effect of cell growth in human leukemia cells

No.	Code	Inhibition(%)		No.	Code	Inhibition(%)	
		HL-60	KG-1			HL-60	KG-1
1	T0-2	46.1	-	21	T1-35	1.1	5.9
2	T0-8	44.8	35.0	22	T1-37	4.6	-
3	T0-10	4.7	2.9	23	T1-52	27.3	13.3
4	T0-12	25.6	10.1	24	T1-53	23.0	17.3
5	T0-14	1.2	4.2	25	T1-60	0.6	23.6
6	T0-23	87.7	27.2	26	T1-69	29.6	11.8
7	T0-27	9.4	11.2	27	T2-96	1.1	15.3
8	T0-39	20.7	6.6	28	T2-98	71.0	70.0
9	T0-48	85.8	58.3	29	T2-101	11.6	30.3
10	T0-49	8.6	9.0	30	T2-114	7.4	19.2
11	T0-57	2.9	14.8	31	T2-122	-	47.0
12	T0-61	26.9	1.4	32	T6-19	3.2	10.9
13	T0-62	11.0	2.1	33	T6-66	2.2	1.7
14	T0-64	67.5	50.0	34	T7-16	65.9	40.6
15	T0-65	0.8	15.4	35	T8-3	85.9	87.7
16	T0-74	5.3	9.0	36	T8-6	23.7	2.8
17	T1-11	43.7	42.0	37	T8-7	3.0	-
18	T1-24	12.9	21.0	38	T8-36	18.9	2.9
19	T1-32	39.6	10.5	39	T8-124	74.0	85.9
20	T1-34	15.8	13.8	40	T11-9	18.6	6.0

(라) 미백활성

해양식물 추출물 70여종 중 미백 활성 효과를 분석하기 위해 *in vitro*에서 Mushroom tyrosinase 저해활성에 대해 분석하였다. 약 10 여종에서 20-50% 정도의 tyrosinase 활성을 저해하는 미백 활성 후보군을 탐색하였다 (Figure 9). 이 10 여종은 현재 미백활성을 갖는다고 보고된 Arbutin과 유사한 정도로 억제하는 것으로 보인다. 현재 추출물 10종에 대해서는 chromatography를 통한 분리 단계를 진행하고 있으며, 또한 melanin 생합성 경로에 관련된 유전자들인 tyrosinase, TRP-1, TRP-2의 발현 억제에 대한 실험을 수행하고 있다 (Kobayashi et al, 1998; Kuzumaki et al, 1993; Petit et al, 2003).



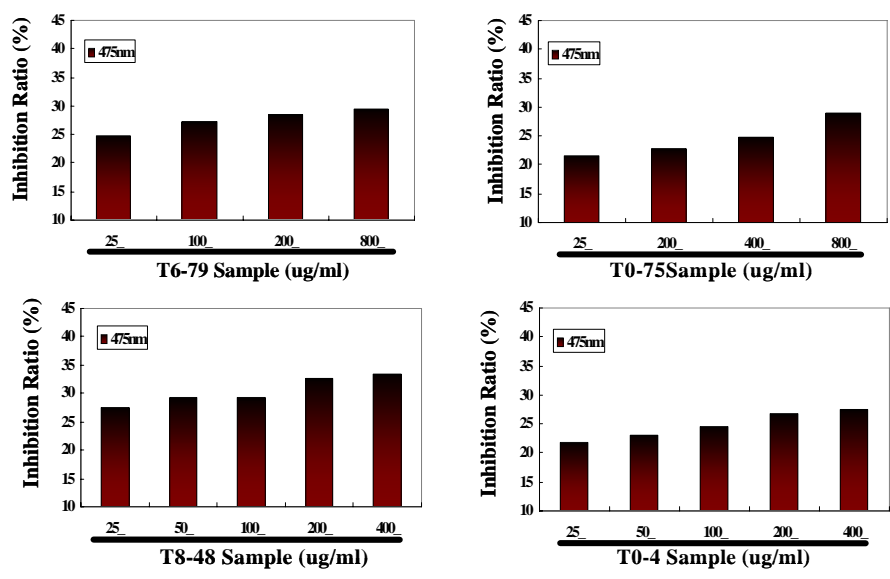


Figure 9. Algae extracts having inhibitory effect of tyrosinase activity.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

각 연도별 연구개발목표의 달성도는 계획대비 실적으로 평가하도록 되었으며 년도별 목표달성도는 다음과 같다.

○ 1차년도 연구개발 목표의 달성도 및 관련분야 기술발전예의 기여도

- 해양무척추 동물 중 다양성 조사 (150종 이상) : 제주도 북부 전 해안 및 조간대를 조사하여 해면동물 7종, 척색동물 4종, 자포동물 34종, 연체동물 77종, 절지동물 28종, 극피동물 20종 등 총 170종에 대한 자료를 확보 (125% 목표 달성)
- 해조류 80종, 해양무척추동물 150종 생물정보 DB 구축 홈페이지 시험운영 : 생물정보 DB (230종) 구축하여 홈페이지 시험 운영함 (100% 목표 달성)
- 해조류 60종 추출물 은행 구축 : 해조류 메탄올 추출물 60종 확보 (100% 목표 달성)

○ 2차년도 연구개발 목표의 달성도 및 관련분야 기술발전예의 기여도

- 연체동물 중 다양성 조사 (80종 이상) : 제주도 남부 전해안 조간대에 분포하고 있는 연체동물을 대상으로 이들의 분포 및 종 다양도에 대한 기초조사 연구를 통해 생물정보 DB (80종) 자료 제작 (100% 목표 달성)
- 어류의 종 다양성 조사 (100종 이상) : 제주 북부연안 조간대 및 천해역 (수심 15m전후)에 서식하는 정착성 어종 중심으로 탐색 조사하여 어류생물정보 DB 구축 자료 (100종) 제작 (100% 목표 달성)
- 유용 해양미생물 분리 및 보존 (500균주) : 제주도 일부 해수욕장에서 채집한 해양 시료에서 총 337주의 해양 미생물 확보 (과도한 목표설정으로 67%의 목표를 달성하는데 그쳤지만, 참여 연구원인 이순동 박사는 본 과제에서 획득한 노하우를 바탕으로 2005년 부터 미생물프론티어에 사업에 참여하고 있음) : 본 과제에서는 평가위원들이 의견에 따라 1년간 연구 수행 후 중단함
- 해양생물정보 DB 구축 운영 : 제주 해양생물 정보 DB 260종 자료 입력 및 생물정보 홈페이지 운영 (100% 목표 달성)
- 해양생물 추출물 은행구축 (위탁과제로 수행) ; 해양식물추출물 시료 60종 확보토록 계획하였지만 조하대의 시료 채집이 어려움으로 40종을 확보에 그침 (80% 목표 달성)

○ 3차년도 연구개발 목표의 달성도 및 관련분야 기술발전예의 기여도

- 연체동물 중 다양성 조사 : 목표치에 100% 달성
- 어류 종 다양성 조사 : 목표치에 100% 달성
- 해양생물 정보 DB 구축 운영 : 계획대로 연구가 진행되어 100% 목표를 달성
- 해양생물 추출물 은행 구축 및 생리활성 물질 탐색 : 계획대로 연구가 진행되

어 100% 목표를 달성하였고 도표로 나타내면 다음과 같음.

(계획대비 달성도)

번호	세부연구목표	달성내용	달성도(%)
1	해양무척추동물 종다양성 조사 (2차년도부터 연체동물 중심으로 연구 수행)	- 제주연안에서 채집 확인된 연체 동물은 총 1,013 종으로, 육상 및 담수산 연체동물은 57 종, 기수 및 해산 연체동물은 956 종 조 사 ①복족류 (Gastropoda): 811종 ② 이매패류 (Bivalvia): 224종 ③ 두족강 (Cephalopoda): 16종 ④ 다판강 (Polyplacophora): 11종 ⑤ 굴족강 (Scaphopoda): 8종 - DB 자료 제공 - 무척추동물 (연체류, 강장동물 및 갑 각류) 60여 종으로 부터 genomic DNA를 추출 보관	100
2	어류종 다양성 조사 (2차년도부터 추가된 내용)	- 제주연안 어류 분포 조사, 표본제작, 지리정보 구축 - 어류 180종 생물정보 DB 제작 - 어류 50종 생체동결 시료 확보	100
3	해양생물 정보 DB 구축 운영	- 제주연안 해조류, 연체동물, 어류의 생물 정보 DB 구축 운영 (http://chejubio.ac.kr) - Background DB 구축 (해조류 20,000종, 연체동물 500 종, 어류 150종) - 물질데이터베이스 5,000종 구축	100
4	해조류 추출물 은행 구축 (2차년도는 위탁과제로 수행되었고 3차년도부터 세부과제로 통합됨)	- 해조류 150종 추출물 구축 및 생리활성 (항산화, 미백, 항암) 물질 탐색 및 후보물질 도출 10건	100
5	해양미생물 분리보존 (2차년도에만 수행됨)	- 해양미생물 36속 54종 191균주 분리·보존	100

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1절 추가연구의 필요성

1. 해양생물 종 다양성 조사 및 생물정보 DB 구축 운영

제주연안은 쿠로시오 난류와 황해냉피수가 교차되는 지역으로 아열대 해양의 북방한계 지역이란 지리적 특성으로 해양생물종이 매우 다양하게 분포하고 있다. 지난 3년간의 연구기간에서 해조류 (3년), 연체동물 (3년), 어류 (2년), 해양미생물 (1년)에 대한 종다양성 조사를 수행하면서 참여 연구원들은 많은 분류학적 노하우를 축적하게 되었다. 그러나 이공계 기피현상 등 지방대학의 여건상 다양한 분류군을 체계적으로 연구할 분류학 전공자가 양성되지 못하고 있는 실정이므로 체계적인 기초분류학적 연구가 뒷받침되지 못한다면, 해양생물 자원의 산업적 활용체계 구축도 불가능하기 때문에 앞으로도 해양 생물의 종다양성을 조사하는 적합한 분류군 학자를 영입하여 해양생물에 대한 분류생태학적 연구가 지속적으로 진행되어야 하고 이를 통해 제주 해양생물정보 DB를 지속적으로 확장해야 한다고 사료된다.

2. 해조류 추출물 은행 및 생리활성 물질 탐색

해조류를 포함하여 해양생물자원의 산업적 활용 체계를 구축하기 위해서 추출물 은행과 유용유전자원의 확보·보존은 매우 중요한 인프라이다. 따라서 해양환경보존 차원의 종합적인 정보제공 및 공유, 그리고 희귀종에 대한 자원량 증가에 관한 양식 생산 기술 개발이 부가적으로 제공될 수 있으며 해양 동·식물의 특정 물질 추출 및 활용으로 연계 산업과의 공동연구를 도출할 수 있다. 앞으로 해양생물을 활용하여 연구하는 연구자에게 생물정보 및 시료를 분양하는 것은 생물자원이 산업적 활용을 촉진하여 지역 경제를 활성화할 뿐만 아니라, 다양한 정책 자료로 활용할 수 있다. 또한, 많은 사람들에 의한 무모한 생물자원의 채취를 방지함으로써 생물종 보호와 환경보존에 매우 유익할 것으로 사료된다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

해양생물을 이용한 바이오산업, 즉 해양바이오란 해양생물이나 그들의 구성성분, 시스템, 공정, 기능 등을 연구하여 궁극적으로 인간복지를 위한 상품과 서비스를 제공하는 산업 혹은 학문을 총칭하여 말한다. 이를 위해서는 해양생물보전 및 이용기술, 해양생물기능 조절기술 등 다양한 기초기술이 개발되어야 하며, 생물학, 해양학, 수산학의 전통적 학문에 바탕을 두고 첨단분야인 분자생물학, 면역학, 생화학, 생물공학 등의 다학제 간의 공동 연구를 통해 첨단지식을 탐구하여야 하며, 유전체학 (genomics), 단백질체학 (proteomics), 대사체학 (metabolomics), 생물정보학 (bioinformatics) 등 다양한 최신기법이 활용되어야 한다.

해양생물을 활용한 바이오산업의 발전을 통해 우리는 국지적인 오염 혹은 지구 규모의 환경문제 해결, 해양생물자원의 생산증대를 통한 식량문제 해결, 해양 신물질을 이용한 질병치료, 해양생체에너지 발굴 등을 통하여 삶의 질을 높일 수 있다. 해양생물자원을 활용한 산업은 이제 성장 초기단계로 진입하고 있는 실정으로 현재까지 많은 기술이 상용화되고 있지는 않다. 그러나 일부 실제적인 개발 예로서 선행 투자국인 선진국은 60, 70년대부터 연구를 시작하여 최근 상품화된 대표적인 의약품, 농약으로는 먼저 유방암, 난소암에 효과가 있는 Didemnin B, 백혈병에 효과가 있는 Ara-C와 같은 항암제가 8종, 항생제로는 istamycin, aplasmomycin 등과 같은 6종이 알려져 있다. 그 외에 manoalide와 같은 소염제, cytokinins와 같은 제조제 외 2종의 살충제가 해양미생물, 동식물로부터 개발되었다. 신기능 소재로는 수술용 접착제, 기능성 고분자물질, 색소, 오손방지제 등이 상품화되어 있고, 또한 심해미생물로부터 찾은 고열, 고압과 같은 극한조건에서도 작용하는 신기능 효소, 고분자물질 등이 산업화되어 우리 생활에 유용한 기능성 소재로 사용되고 있다.

먼저 주요 국가별 마린바이오산업 개발동향을 살펴보면 Table 13과 같으며 그 세부현황은 다음과 같다.

미국

해양바이오투 21세기 4대 생명공학분야 중 중요한 한 분야로 선정하였고 NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration)에서는 Sea Grant College Program 및 Marine Biotechnology Program 등에 70년대 초반이후 50 억불 이상을 투자하였다.

일본

일본은 전통적으로 해양생물을 이용한 바이오분야에 저력이 있는 국가로 최근 전통적인 해양바이오산업 기반에 첨단기술이 접목된 해양바이오기술개발을 꾸준히 추진하고 있으며 특히 일본해양과학기술센터 (JAMSTEC), 해양생명공학연구소 (MBI) 중심으로 단기간의 집중적 연구개발 투자로 현재 마린바이오의 선도국가로 급부상

하고 있다. 해양생명공학연구소는 연간 30억엔 규모의 해양생물 자원이용 기술개발 연구를 수행하고 있으며, 일본해양과학기술센터에서는 심해미생물 프론티어사업을 수행 중이며 투자실적은 10년간 500억엔을 상회하고 있다.

중국

중국의 국가 해양생물을 활용한 바이오사업 중 대표적인 것으로 해양생명공학 863프로그램을 들 수 있다. 이 프로그램은 1996년부터 2005년까지 수행하며 예산은 1단계 기간인 1996-2000년 동안 97,500,000RMB (중국화폐단위)를 투자하였고, 2단계 기간인 2001-2005년 동안은 200,000,000RMB를 투자하고 있다. 세계 최다의 인구 국가인 중국은 자국민을 위한 안정적인 먹거리를 확보하는데 프로그램의 목적을 두고 있는데, 주요 연구분야는 육종공학, 질병제어, 생산 및 배양시설 개발, 해양의약품 및 생물제품, 유전체학 및 기능 유전체학, 내염성식물 개발이다. 그 중 의약품 및 생물제품 개발 결과를 간략히 소개하면 다음과 같다. 현재 310종의 해양 동식물, 6,000종의 해양미생물을 확보하였고, 480종의 유용물질을 분리하여 이로부터 145종의 신규화합물 및 24종의 새로운 구조물질을 보고하고 있다. 이 중 100종 이상이 유용한 항생, 항암작용 생리활성물질이며 이 중 11건에 대한 특허출원이 진행되고 있으며, 7건이 전임상단계, 4건이 임상 II상 중이다. 해양 동식물, 미생물로부터 항암제, 심혈관계 질환 치료제, 항바이러스제, 면역결핍증 치료제, 신경계질환 치료제 등이다. 상용화 목적으로 진행하는 것 중 괄목할 만한 것은 phakellistatin 13, stelletin A, B를 들 수 있고 그 외에도 해양 조류로부터 발견한 에이즈 치료제에 대한 기대가 큰 것으로 알려져 있다. 한편 이와 같은 의약품 및 신소재 개발을 위하여 극한미생물의 DNA 라이브러리 구축 및 유전자 크로닝, 해양생물로부터 의약품 물질과관련된 cDNA 라이브러리 구축을 진행하고 있다. 해양생물로부터 건강보조식품, 농업용, 산업용, 인체 건강용 생화학제품으로 200여종을 상용화하여 동양의 학 중주국으로서의 저력을 과시하고 있다.

유럽 및 기타국가

유럽연합체 (EU)의 여러 국가 들이 각각 다양한 해양 생물을 활용한 바이오기술 개발을 추진하면서도 EU는 많은 국가들이 참여하는 「Extremophile as Cell Factories Program」 등의 사업을 통해 극한 해양자원확보 및 이용을 위한 프로그램을 공동으로 추진하고 있다. 또한 기타 국가 중 호주의 경우에는 해양 생물을 이용한 바이오기술 개발은 AIMS, CSIRO 와 같은 국가연구기관 주도로 진행되고 있으며 천연의 풍부한 해양생물자원을 바탕으로 지속적인 수행을 추진하고 있다.

국의 해양바이오 산업화를 위한 개발 동향 및 그 현황은 아래와 같다.

Table 13. The developmental trends of marine bioindustry between major countries

국 가	주요 동향
미 국	케네디 정부(1966년)부터 해양개발 10개년 계획 등을 통하여 추진
	해양생명공학을 국가주요 4대 BT과제 (농업, 환경, 생산공정, 해양생명공학)중 하나로 선정하여 집중 지원
	National Sea Grant College Program (NOAA)
	1998년 NSF에서, 1,200만불을 투자하여 설립한 하와이대학 내 MarBEC은 해양미생물로부터 유용물질을 상용화 추진
	Venture Business Co., California Biotech. (수산업), Sea Pham. Inc. (신의약품), Hawaii Biotech. Group Inc. (항암, 항바이러스성 물질) 등 100여개의 해양바이오 벤처기업이 활동
	해양생물유래 물질로부터 200여건의 신약특허 보유
일 본	해양생명공학연구소 (MBI, Marine Biotechnology Institute) - 복합생물계 등 활발한 해양생물 자원이용 기술개발 (연구비 15.8억엔)
	일본해양과학기술센터 (JAMSTEC) - 심해미생물 프론티어 연구 (500억엔/10년간 이미 투자)
중 국	제 8, 9차 5개년 계획 기간 (1991-2001) - 해양생물에서의 신물질 개발, 양식기술 개발, 해양생태환경 보호기술, 유해 적조발생 방지, 연근해 해양생태계 역학 및 생물자원의 지속적 이용
	해양발전 863프로그램 및 해양생명공학 819계획 - 해양동식물의 양식, 육족기술, 내염성 식물개발, 의료용 생체물질 및 생물과정 상품화 등 기술개발
유 럽	EC : 유럽 해양바이오산업 활성화 계획에 대한 보고서 작성
	프랑스 : 특히 프랑스해양연구소 (IFREMER)를 중심으로 심해 저서생태계의 구조와 기능 및 심해 열수 생태계 미생물의 분리 배양을 통한 다당류, 효소, 생리활성 물질 등의 탐색과 이용에 투자 집중
호 주	CSIRO, AIMS, New South Wales Univ. 등 연구기관 - 자국 및 아세안 국가 연안의 해양생물로부터 함암제 등 신의약품과 신기능성 유용소재 생산

제 7 장 참고문헌

- Abalde, S.L., Fuentes, J. and González-Fernández Á., 2003. Identification of *Mytilus galloprovincialis* larvae from the Galician rías by mouse monoclonal antibodies. *Aquaculture*, 219, 545-559.
- Basaga, H., Poli, G., Tekkaya, C. and Aras, I., 1997. Free radical scavenging and antioxidative properties of 'silibin' complexes on microsomal lipid peroxidation. *Cell Biochem Funct.* 15(1), 27-33.
- Blosis, M.S., 1958. Antioxidant determination by the use a stable free radical. *Nature*, 26, 1199-1200.
- Capon, R.J., 2001. Marine bioprospecting—trawling for treasure and pleasure. *European J. Organic Chemistry*, 4, 633-645.
- Cerrano, C., Arillo, A., Azzini, F., Calcinai, B., Castellano, L., Muti, C., Valisano, L. Zega, G. and Bavestrello, G., 2005. Gorgonian population recovery after a mass mortality event. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst*, 15, 147-157.
- Chabanet, P., Ralambondrainy, H., Amanieu, M., Faure, G., and Galzin, R., 1997. Relationships between coral reef substrata and fish. *Coral Reefs*, 16, 93-102.
- Cheng, Z. J., S. C. Kuo, S. C. Chan, F. N. Ko. and C. M. Teng., 1998. Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1392, 291-299.
- Culloty, S.C., Cronin, M.A. and Mulcahy, M.F., 2004. Potential resistance of a number of populations of the oyster *Ostrea edulis* to the parasite *Bonamia ostreae*. *Aquaculture*, 237, 41-58.
- Galea, E., Feinstein, D.L. and Reis, D.J., 1992. Induction of calcium-independent nitric oxide synthase activity in primary rat glial cultures. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89, 10945-10949.

- Geetha R.K. and Vasudevan D.M., 2004. Inhibition of lipid peroxidation by botanical extracts of *Ocimum sanctum*: in vivo and in vitro studies. *Life Sci*, 76(1), 21-28.
- Geller, D.A., Lowenstein, C.J., Shapiro, R.A., Nussler, A.K., Kisilvio, M., Wang, S.C., Nakayama, D.K., Simmons, R.L., Snyder, S.H. and Billiar, T.R., 1993. Molecular cloning and expression of inducible nitric oxide synthase from human hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90, 3491-3495.
- Gul, W. and Hamann, M.T., in press. Indole alkaloid marine natural products: An established source of cancer drug leads with considerable promise for the control of parasitic, neurological and other diseases. *Life Sciences*.
- Hevel, J.M. and Marletta, M.A. 1997. Nitric-oxide synthase assays. *Methods in Enzymology*, 233, 250-258.
- Hong, J.S. 2000. Biodiversity of Macrofauna on Macrotidal Flats, Inchon, Korea. YongNam University, Marine Research Institute International Symposium Vol. 1. 47-58.
- Jaffrey, S.R. and Snyder, S.H. 1995. Nitric oxide: A neural messenger. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 11, 417-440.
- Kim, I.S. and Lee, W.O., 1994. Fish Fauna from Cheju Island, Korea. *Rec. Korean Fish Fauna*, 1, 1-51.
- Kobayashi, T., Imokawa, G., Bennett, D. C., Hearing, V. J. 1998. Tyrosinase stabilization by Tyrp1 (the brown locus protein). *J. Biol. Chem.* 273(48), 31801-31805
- Korycka-Dahl M., Richardson T. and Hicks C.L., 1979. Superoxide dismutase activity in bovine milk serum. *J. Food Prot.* 42, 867-871.
- Kuzumaki, T., Matsuda, A., Wakamatsu, K., Ito, S. and Ishikawa, K., 1993. Eumelanin biosynthesis is regulated by coordinate expression of tyrosinase and tyrosinase-related protein-1 gene. *Exp cell res.* 207(1), 33-40

- Kobayashi, J., Murayama, T., Ishibashi, M., Kosuge, S., Takamatsu, M., Ohizumi, Y., Kobayashi, H., Ohta, T., Nozoe, S., and Sasaki, T., 1990. Hyrtiosins A and B, new indole alkaloids from the Okinawan marine sponge *Hyrtios erecta*. *Tetrahedron*. 46, 7699-7702.
- Kondo, M., 1985. Oceanic investigations of fishing grounds in the East China Sea and Yellow Sea-I. Characteristics of the mean temperature salinity distribution measured at 50m and near the bottom. *Bull. Seikai Reg. Lab.* 62, 19-66.
- Konig, G.M., Wright, A.D., Sticher, O., Angerhofer, C.K., Pezzuto, J.M., 1994. Biological activities of selected marine natural products. *Planta Medica*, 60, 532-537.
- Lau, C.B., Ho, C.Y., Kim, C.F., Leung, K.N., Fung, K.P., Tse, T.F., Chan, H.H., Chow, M.S., 2004. Cytotoxic activities of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract on human leukemia and lymphoma cells by induction of apoptosis. *Life Sci.* 75(7), 797-808.
- Liu R.H. and Hotchkiss, J.H., 1995. Potential genotoxicity of chronically elevated nitric oxide: A review. *Mutat Res.* 339, 73-89.
- Lyons, C.R., Orloff, G.J. and Cunningham, J.M. 1992. Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from a murine macrophage cell line. *J Biol Chem.* 267, 6370-6374.
- Moncada, S., Palmer, R.M. and Higgs, E.A. 1991. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 43, 109-142.
- Nakabo, T. ed. 1995. Fishes of Japan with pictorial keys to the species. Tokai Univ. Press, Tokyo, pp. xxxiv+ 1479pp. (in Japanese)
- Nathan, C. and Xie, Q.W. 1994. Nitric oxide synthases: Roles, tolls and controls. *Cell.* 78, 915-918.
- Nunokawa, Y., Ishida, N. and Tanaka, S. 1993. Cloning of inducible nitric oxide

- synthase in rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 191, 89-94.
- Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T. and Ono, M. 2001, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol Pharm Bull.* 24(10), 1202-1205.
- Okutani, T. 2000. Marine Mollusks in Japan. Tokai University Press.
- Pelletier, S.W. 1986. Alkaloids. *Chemical and biological perspectives.* 4, 275-330.
- Petit, L. and Piérard, G.E. 2003. Skin-lightening products revisited. *International journal of cosmetic science.* 25, 169-181.
- Pomerantz, S. H. 1966. The tyrosine hydroxylase activity of mammalian tyrosinase. *J. Biol. Chem.* 241(1), 161-168
- Ragone Calvo, L.M., Calvo, G.W. and Bureson, E.M. 2003. Dual disease resistance in a selectively bred eastern oyster, *Crassostrea virginica*, strain tested in Chesapeake Bay. *Aquaculture*, 220, 69-87.
- Riegl, B. and Piller, W.E. 2000. Mapping of benthic habitats in northern Safaga Bay (Red Sea, Egypt): a tool for proactive management. Aquatic Conservation: *Marine And Freshwater Ecosystem.* 10, 127-140.
- Rockey, D.C. Chung, J.J. McKee, C.M. and Noble, P.W. 1998. Stimulation of inducible nitric oxide synthase in rat liver by hyaluronan fragments. *Hepatology*, 27, 86-92.
- Santosh, K.S., Priyadarsini, K.I. and Sainis, K.B. 2002, Free radical scavenging activity of vanillin and o-vanillin using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. *Redox Rep.* 7(1), 35-40.
- Suja, K.P., Jayalekshmy, A. and Arumughan, C. 2003, Free radical scavenging behavior of antioxidant compounds of sesame (*sesamum indicum* L.) in DPPH system. *J Agric Food Chem.* 52(4), 912-5.
- Zuschin, M., Hohenegger, J., Steininger, F.F. 2001. Molluscan assemblages on coral reefs and associated hard substrata in the northern Red Sea. *Coral Reefs.*

20, 107-116.

강재훈, 방익찬, 장경일. 1999. 황해와 동중국해 표층수온의 계절변화. 제주대 해양 연구논문집. 23, 1-18.

권오길, 박신만, 이준상. 1993. 원색패류도감. 아카데미서적

권오길, 민덕기, 이종락, 이준상, 제종길, 최병래. 2000. 신원색패류도감. 아카데미서적.

김익수, 박종영. 2002. 한국의 민물고기. 교학사, 서울, pp. 465

김익수 · 최윤 · 이충렬 · 이용주 · 김병직 · 김지현. 2005. 한국어류대도감. 교학사, 서울, pp. 615

송준임. 2000. 한국의 동물 자포동물/산호충강. 생명공학연구소

이준백, 좌종헌, 강동우, 고유봉, 오봉철. 2000. 제주도 문섬 산호서식지 주변의 생물 생태학적 특성:II. 식물플랑크톤의 군집동태와 1차생산력. Algae Vol. 15(1), 37-47.

장성근, 서경훈. 1999, 팔방산호충류에서 분리한 해양 sterol 화합물의 혈소판 응집 억제작용, KRF 연구결과논문, p, 11-26, p. 1-63.

제종길, 최광식, 이영돈, 고동범, 김병일. 2002. 우리바다 해양생물. 다른세상, 서울, pp. 391

제주도민속자연사박물관. 1994. 제주도 담수어류. 제주도민속자연사박물관, 대영인쇄사, pp. 173

조은기, 세계 주요국의 식물유전자원관리현황, 농업생명공학연구원, 2003.

최윤 · 김지현 · 박종영. 2002. 한국의 바닷물고기. 교학사, 서울. pp. 1-645.

윤창호. 2002. 한국어류검색도감. 아카데미서적, 서울, pp. 747

최광식, 제종길, 이정재. 2000. 제주도 주변해역에 서식하는 유용 이매패류에 관한

보고. 한국수중과학회. 제2권: 1호.

<http://chejubio.cheju.ac.kr>

National Oceanic & Atmospheric Administration : <http://www.noaa.gov>

Japan Marine Science and Technology Center : <http://www.jamstec.go.jp>

IFREMER : <http://www.ifremer.fr/francais>

Marine and Atmospheric Research : <http://www.cmar.csiro.au>

Australian Institute of Marine Science : <http://www.aims.gov.au/>

National Oceanographic Research Institute. <http://www.nori.go.kr/>