

항균성 펩타이드인 Apidaecin Ib의 살조효과

김찬희 · 김은정 · 고혜진 · 김인혜 · 이병우* · 박남규†

부경대학교 식품생명공학부, *부경대학교 신소재공학부

The Algicidal Effect of Antimicrobial Peptide, Apidaecin Ib

Chan-Hee Kim, Eun Jung Kim, Hye-Jin Go, In Hae Kim, Byung Woo Lee* and Nam Gyu Park†

Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Division of Materials Science and Engineering, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

Apidaecin Ib, an antimicrobial peptide isolated from lymph fluid of the honeybee (*Apis mellifera*), is a basic non-helical peptide composed of eighteen amino acid residues. In this study, we have investigated the algicidal effect of Apidaecin Ib against harmful algae blooms (HABs) causative *Alexandrium tamarense*, *Chattonella marina*, *Cochlodinium polykrioides* and *Gymnodinium catenatum*. The algicidal effect of Apidaecin Ib showed in the concentration of 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ against 4 HAB species and observed cell lysis or cell ecdysis by microscopy. Apidaecin Ib reacted more sensitive to *C. marina* than *A. tamarense*, *C. polykrioides* and *G. catenatum*. The algicidal study of Apidaecin Ib against HABs will provides much insight into development of new algicidal substances.

Key words : Apidaecin Ib, Antimicrobial peptide, HABs, Algicidal effect

1980년대까지 한국 연안에 자주 발생하는 적조 생물의 경우 *Chaetoceros*, *Skeletonema*, *Thalassiosira* 및 *Nitzschia* 속 등의 규조류가 주요 원인 생물이었으나 그 이후부터는 *Alexandrium*, *Cochlodinium*, *Gymnodinium* 및 *Heterosigma* 속 등의 편모조류가 주요 적조 원인생물로 나타나고 있다 (김 등, 1996). 이들은 수중의 용존 산소를 고갈시켜 다른 생물의 생존을 저해하게 되며, 여러 가지 유기물 및 독성분을 분비함으로써 여러 어패류를 폐사시키거나 독화시켜 연안 천해양식에 큰 피해를 초래하고 있다 (Hallegraeff, 1993).

적조생물에 의한 이러한 피해를 극소화하기 위해 황토 및 화학약품 등을 이용한 화학적, 물리적 방법이 연구되고 있다 (Steidinger, 1983; Na et al., 1996; Ryu et al., 1998; Koji et al., 1998; Choi

et al., 1998). 또한 단백질 합성 저해제, 세균의 세포벽 저해제 및 세포막에 작용하는 항생제들, tetracycline, chloramphenicol, dihydrostreptomycin, neomycin, ampicillin, penicillin G 및 polymyxin B 을 사용하여 적조생물의 생존에 대한 연구도 보고되었다 (Seo et al., 1998).

최근 Seo et al (2003)은 대만의 땅벌 독에서 정제된 항균성 펩타이드, Mastoparan B (MPB)를 사용하여 *Alexandrium tamarense*를 포함한 4종의 적조생물에 대해 살조 효과를 조사하였다. 그 결과 MPB는 4종의 적조생물에 대해 31.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 부터 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 세포의 lysis 또는 ecdysis를 일으켰다. 한편 tetracycline을 포함한 비펩타이드성 항생제들은 세포의 lysis 또는 ecdysis를 일으키기 위해 MPB보다 높은 농도를 필요로 하였다.

†Corresponding author : Nam Gyu Park, Tel : 051-620-6187,
Fax : 051-628-7430, E-mail : ngpark@pknu.ac.kr

최근 꿀벌 (*Apis mellifera*)의 lymph로부터 18개의 아미노산으로 구성된 non-helical 구조를 취하는 항균성 펩타이드, Apidaecin Ib가 정제되었으며, 일차구조는 다음과 같다: GNNRPVYIPQPRPPHRL (Casteels *et al.*, 1989). Apidaecin Ib는 병원균에 대해 bacteriolytic보다는 bacteriostatic한 작용메카니즘을 지닌다고 알려져 있다. 현재 항균활성 펩타이드를 사용하여 적조생물의 살조효과에 대한 연구는 α -helix 구조를 취하는 MPB에 제한되어 있다. 따라서 본 연구에서는 MPB와 비교하기 위해서 non-helical구조를 취하는 Apidaecin Ib를 사용하여 적조 생물에 대한 살조효과 및 구조-활성간의 상호작용을 MPB와 비교·조사하였다.

재료 및 방법

미세조류의 채집 및 종류

적조 편모조류 4종 (*Alexandrium tamarense*, *Chattonella marina*, *Cochlodinium polykrikoides*, *Gymnodinium catenatum*)을 살조효과 측정에 사용하였다. *C. polykrikoides*는 2001년 하계에 부산 남천동 앞바다에서 일어난 적조 생물을 채집하여 부경대학교 양식학과 양식환경학 연구실에서 분류하여 활성을 측정하였으며, *A. tamarense*, *C. marina*와 *G. catenatum*는 SWM II 배지에서 배양되었던 strain을 이용하여 측정하였다.

항균활성 펩타이드의 합성 및 정제

항균활성 펩타이드인 Apidaecin Ib는 Fmoc-Leu-Wang resin을 사용하여 Fmoc-법으로 합성하였다 (Park *et al.*, 1997).

리포솜 (liposome)의 제조

Apidaecin Ib의 막과의 상호작용을 확인하기 위해서 DPPC 또는 DPPC-DPPG (3:1)와 같은 Small unilamellar vesicles (SUVs)를 제조하였다

(Park *et al.*, 1997). 20 mg의 DPPC 또는 DPPC-DPPG (3:1)를 conical glass tube에 넣고 chloroform에 녹인 후, 질소가스를 주입하면서 인지질이 conical glass tube에 골고루 잘 발리면서 얇은 필름을 형성하도록 하여, 감압하에서 일정시간 동안 방치시켰다. 건조된 지질필름 (lipid film)에 100 mM NaCl을 포함하는 5 mM의 TES buffer (pH 7.4)를 3 mL 넣고 Ultrasonic disrupter (Kaijo Denki, model FA-4280)를 이용하여 30 분간 혼합을 하였다. 리포솜 용액을 메스플라스크에 옮겨 100 mM NaCl을 포함하는 5 mM의 TES buffer (pH 7.4)를 첨가한 후, 총 volume이 25 mL이 되도록 하였다.

Circular dichroism (CD) 스펙트럼의 측정

5 mM TES buffer (pH 7.4), 50 % TFE, 1.0 mM DPPC 및 1.0 mM DPPC-DPPG (3:1) 리포솜을 포함하는 5 mM TES buffer (pH 7.4)에 Apidaecin Ib를 녹였으며 CD 측정에 사용한 Apidaecin Ib의 최종농도는 모든 조건 하에서 50 μ M이 되도록 하였으며, 최종 volume을 200 μ L로 조정하였다. 2차 구조를 확인하기 위해서 1 mm path-length를 가진 quart cell을 사용하여 spectropolarimeter (JASCO, model J-600)로 CD 스펙트럼을 측정하였다. 한편 리포솜 자체에 의한 CD 스펙트럼의 영향을 제거하기 위해서 리포솜에 펩타이드를 투여했을 때의 CD 스펙트럼에서 리포솜만의 스펙트럼을 상쇄시킨 다음, 각각의 CD 스펙트럼을 얻었다. 스펙트럼은 200 nm에서 250 nm에 걸쳐 25 °C에서 4번씩 반복해서 측정하였으며, 모든 CD 스펙트럼은 몰타원율 (molar ellipticity)로서 표현하였다.

살조효과의 측정

SWM II 배지 및 자연해수 상태에 접종되어 있는 *A. tamarense* (4430 cells/mL), *C. polykrikoides* (4570 cells/mL), *C. marina* (6530 cells/mL)와 *G. catenatum* (5950 cells/mL)의 배양액 90 μ L를 96 well plate (Corning, Cat. No.

25860-96)에 접종하고, 각 농도의 펩타이드 용액 10 μL 을 첨가하여 최종농도가 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 가 되도록 조정하여, 20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 18 시간 동안 배양 한 후, 도립현미경하에서 세포의 형태를 관찰하였다. 그리고 각 농도의 펩타이드 용액 대신에 SWM II 배지 및 자연해수를 well에 첨가한 것을 negative control로 하였다.

항균 및 항곰팡이 활성 측정

세균에 대한 Apidaecin 1b의 최소저해농도 (MIC)는 Trypticase Soy broth (TSB) medium을 이용한 liquid growth inhibition assay법으로 측정하였다 (Park *et al.*, 1997).

Gram-positive bacteria로는 *Bacillus subtilis* PM 125와 *Micrococcus luteus* KCTC 1050을, gram-negative bacteria로서는 *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 2204와 *Escherichia coli* 1184를 사용하였다. 또한 어병세균으로는 Edward tarda NUF 251를 사용하였으며, 활성측정법은 다음과 같다. 어병세균은 25 $^{\circ}\text{C}$, 나머지 각각의 균들은 37 $^{\circ}\text{C}$ 로 TSB 배지에서 mid-logarithmic phase (630 nm = 0.4, 5×10^7 cell/mL)까지 배양하였다. 96-well plates에 배양한 각각의 균액 100 μL (A630 nm = 0.040)와 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 부터 3.13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 연속 희석한 각각의 펩타이드 용액 100 μL 를 넣은 후, 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 18 시간 동안 배양하였다. Microplate autoreader E1309 (Bio-tek Instruments)를 이용하여 630 nm에서 탁도를 측정한 후, 균의 성장이 억제된 최소의 농도를 시험균에 대한 최소저해농도로 정의하였다.

Apidaecin 1b의 항곰팡이 활성은 *Candida albicans* KCTC 1940과 *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 1199를 사용하여 liquid growth inhibition assay법으로 측정하였다. 시험균주에 대한 최소저해농도 (MIC)의 결정은 potato dextrose broth (PDB) medium에서 25 $^{\circ}\text{C}$ 로 48 시간동안 배양하여 최종농도가 10^4 spores/mL가 되도록 조정하였다 (Park *et al.*, 1997). 이들 현탁액에 포함된 포자액 100 μL 를 취하여 96-well plate에 첨가하고

100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 부터 3.13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 연속 희석한 각각의 펩타이드 용액 100 μL 를 넣은 후, 빛의 영향을 받지 않는 상태로 25 $^{\circ}\text{C}$ 에서 48 시간동안 배양하였다. 630 nm에서 탁도를 측정하고, 곰팡이의 성장이 억제된 최소의 농도를 곰팡이에 대한 최소저해농도로 정의하였다.

용혈활성 측정

Apidaecin 1b의 용혈활성을 측정하기 위해 사람과 쥐 그리고 멍장어 (*Eptatretus burgeri*)의 적혈구를 사용하였다. 신선한 적혈구들은 각각 원심분리를 통하여 혈청 (serum)과 연막 (buffy coat)을 제거하였고, 이들과 분리된 혈구들은 150 mM의 NaCl을 포함하는 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)로 세정하였다. 계속해서 원심분리를 하여 상층액은 버리고, 침전된 혈구들을 취하여 10 mM Tris-HCl (pH 7.4) buffer로 3%의 혼합 용액이 되도록 조정하였다. 3%의 혈구용액 1.9 mL에 각각 다른 농도의 펩타이드용액 0.1 mL를 첨가하여 최종 volume이 2 mL이 되도록 하였다. 적혈구와 펩타이드가 혼합된 용액을 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 90 분간 배양시킨 후, 3000 x g로 5 분 동안 원심분리하여, 상층액을 취해서 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. 펩타이드 용액이 들어가지 않은 것을 0%의 용혈활성 (A)으로 하고, 1% Triton X-100을 넣었을 때 542 nm에서의 흡광도를 100%의 용혈활성 (B)으로 정의하여, 각각 서로 다른 농도의 펩타이드를 첨가하였을 때 나타나는 상대적인 흡광도의 세기 (C)를 %로 나타내었다.

$$\text{Hemolysis (\%)} = (C - A / B - A) \times 100$$

결 과

CD spectra 연구

Apidaecin 1b의 2차구조를 연구하기 위해 TES buffer (pH 7.4), 50% TFE, DPPC 및 DPPC-DPPG (3:1)의 liposome 존재하에서 CD 스펙트

Fig. 1. CD spectra of Apidaecin Ib in 10 mM TES buffer (■), DPPC (●), DPPC-DPPG (3:1) liposome (▲) and 50 % TFE (○) at 25°C. Peptide and lipid concentration were 50 μM and 1 mM, respectively.

라를 측정하였다 (Fig. 1). TES buffer 용매하에서 Apidaecin Ib는 205 nm에서 negative band를 나타내었는데, 이러한 특징은 Apidaecin Ib가 불규칙한 구조를 형성한다는 것을 의미한다. 50 % TFE 및 산성지질인 DPPC-DPPG (3:1)의 liposome 존재하에서 Apidaecin Ib는 TES buffer에서의 구조와 유사한 형태를 나타냈으며, 이들 용매는 구조변화에 별다른 영향을 미치지 않았다. 한편, 중성지질인 DPPC liposome의 존재하에서는 TES buffer에서 관찰된 것 보다 다소 negative band가 감소되었는데, 이러한 특징은 중성지질의 hydrophobic core 부분과 Apidaecin Ib의 소수성 아미노산간의 상호작용에 의한 결과인 것 같다.

Apidaecin Ib의 살조효과

Apidaecin Ib의 살조효과를 알아보기 위해서 4종류의 편모조류인 *A. tamarense*, *C. marina*, *C. polykrikoides* 및 *G. catenatum*를 사용하였다 (Table 1).

*C. marina*는 12.5 μg/mL의 Apidaecin Ib를 처리하여 18 시간 배양하였을 때 ecdysis가 관찰되었지만, 50 μg/mL에서는 100 % lysis를 일으켰다. *C. polykrikoides*은 50 μg/mL에서 90 %의 lysis 또는 ecdysis를 일으켰으며, *G. catenatum*에 대해서는 50 μg/mL에서 50 % lysis 또는 ecdysis가 관찰되었다. 한편 *A. tamarense*의 경우 50 μg/mL에서 lysis는 관찰되지 않았지만 10 % 정도가 ecdysis를 나타내었다.

Apidaecin Ib에 의한 적조 생물의 형태적 변화

Apidaecin Ib의 50 μg/mL의 농도에서 18 시간 배양후 *A. tamarense*, *C. marina*, *C. polykrikoides* 및 *G. catenatum*의 4종의 편모조류들의 형태 변화를 광학현미경으로 관찰하였다 (Fig. 2). Apidaecin Ib를 처리하지 않은 대조군 (Fig. 2 upper)은 정상적인 세포형태를 유지하고 있지만, 항균 펩타이드를 처리한 4 종류의 적조 생물들은 고유의 형태가 상실되거나 현저하게 바뀌었으며, 세포막이 파열되어 내용물이 밖으로 유출되었다 (Fig. 2 lower).

Table 1. Algicidal activities of the 4 HABs by Apidaecin Ib treatment during 18 hour

HAB	Apidaecin Ib concentration (μg/mL)			
	6.25	12.5	25	50
<i>Alexandrium tamarense</i>	-	-	*E	E
<i>Chattonella marina</i>	-	E	**L	L
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	-	-	E	L or E
<i>Gymnodinium catenatum</i>	-	-	E	L or E

* E; ecdysis, ** L; lysis.

Fig. 2. Microscopical observation on the algicidal process of Apidaecin Ib (50 $\mu\text{g/mL}$) against 4 HABs after 18 hour. Controls (upper) and cell lysis (lower) or cell ecdysis (lower) of A, *Alexandrium tamarense*; B, *Chattonella marina*; C, *Cochlodinium polykrikoides*; D, *Gymnodinium catenatum*.

Apidaecin Ib의 항균활성

Table 2는 Apidaecin Ib의 항균 및 항곰팡이 활성을 나타내었다. Apidaecin Ib는 어병세균인 *Edward tarda* NUF251에 대해서는 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 에

서 강한 항균반응을 나타내었다. 그러나 gram-positive bacteria인 *B. subtilis* PM125과 *M. luteus* KCTC 1050, gram-negative bacteria인 *P. aeruginosa* KCTC 2204와 *E. coli* 1184에 대해 >50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 항균반응을 나타내었다. 마찬가지로 곰팡이인 *C. albicans* KCTC 1940과 *S. cerevisiae* KCTC 1199에 대해서도 모두 >50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 항균활성을 나타내었다.

Apidaecin Ib의 적혈구에 대한 용혈활성

Table 3은 Apidaecin Ib의 농도에 따른 사람의 적혈구, 쥐의 적혈구 및 먹장어의 적혈구에 대한 용혈활성을 나타내었다. Apidaecin Ib는 3.13 $\mu\text{g/mL}$ 에서 3종류의 적혈구에 대해 세포독성이 1% 이하로 낮았을 뿐만 아니라 농도를 50 $\mu\text{g/mL}$ 까지 투여했음에도 불구하고 전체적으로 약 4%의 낮은 용혈활성을 나타내었다.

Table 2. Antimicrobial activities of Apidaecin Ib and Mastoparan B

Organism	Minimum inhibitory concentration($\mu\text{g/mL}$)	
	Apidaecin Ib	Mastoparan B
<i>Bacillus subtilis</i> PM 125	> 50	6.25
<i>Micrococcus luteus</i> KCTC 1050	> 50	3.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 2204	> 50	6.25
<i>Escherichia coli</i> 1184	> 50	12.5
<i>Edward tarda</i> NUF251	6.25	> 100
<i>Candida albicans</i> KCTC 1940	> 50	12.5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCTC 1199	> 50	12.5

Table 3. Hemolytic activities of Apidaecin Ib against human, rat, and hagfish red blood cells

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Hemolytic activity (%)		
	Human RBCs	Rat RBCs	Hagfish RBCs
3.13	0.3	0.1	0.1
6.25	0.4	0.2	0.3
12.5	1.0	0.2	0.5
25	1.0	0.2	2.0
50	1.3	0.3	3.6

고 찰

최근 Seo *et al.* (2003)은 *C. polykrikoides*을 포함한 4종류의 적조생물을 대상으로 항균활성 펩타이드인 Mastoparan B (MPB)를 사용하여 살조 효과에 대한 조사를 하였다. MPB는 특히 31.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 *C. polykrikoides*, *C. marina* 및 *G. catenatum*에 대해 ecdysis 또는 lysis 시켰다. 그러나 *A. tamarense*의 경우 고농도인 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서조차도 lysis는 관찰되지 않았다.

그 외에 Seo *et al.* (1998)의 보고에 의하면 *C. polykrikoides*에 대해 세균의 단백질 합성 저해제들, 세포벽 합성 저해제들 및 polymyxin B는 다음과 같은 반응을 나타내었다. 세균의 단백질 합성 저해제인 tetracycline과 chloramphenicol을 처리하였을 때, *C. polykrikoides*의 50%가 사멸하는 시간 (LT_{50})은 전자의 경우 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 22 시간, 후자의 경우 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 48시간 후 이었다. 그러나 dihydrostreptomycin과 neomycin은 고농도인 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서조차도 반응을 나타내지 않았으며, 세포벽 합성 저해제로 알려진 ampicillin과 penicillin G도 마찬가지로 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 살조 효과를 나타내지 않았다. Polymyxin B는 gram-negative bacteria의 외막에 존재하고 있는 lipopolysaccharide의 성분인 lipid A에 결합하여 세균을 파괴한다고 알려져 있는 항균성 펩타이드이지만, 대부분의 항생제와 마찬가지로 고농도에서 살조효과를 나타내지 않았다.

본 연구에서 사용한 Apidaecin Ib는 *C. marina*와 *C. polykrikoides*에 대해 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 90%의 lysis 또는 ecdysis를 일으켰으며, 이와 같은 현상은 MPB에서도 유사한 농도에서 관찰되었다 (Seo *et al.* 2003). Apidaecin Ib는 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 *G. catenatum* 및 *A. tamarense* 대해 *C. marina*와 *C. polykrikoides*보다 다소 낮은 반응성을 나타내었다. 그러나 *A. tamarense*의 경우, Apidaecin Ib는 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 ecdysis가 관찰되었

지만, MPB는 Apidaecin Ib보다 약 2.5 배 높은 62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 ecdysis를 나타내었다.

CD spectra의 결과에 의하면 Apidaecin Ib는 TES buffer, 50% TFE 및 산성지질인 DPPC-DPPG (3:1)의 liposome 존재하에서 불규칙구조를 나타냈지만, 중성지질인 DPPC liposome의 존재하에서는 다른 용매들에서 관찰된 것보다 다소 negative band가 감소되었다 (Fig. 1). 이전의 연구 (Seo *et al.*, 2003)에서 MPB는 중성지질막보다 산성지질막에서 더 많이 α -helix 구조를 형성함을 보고하였으며, 이러한 결과는 MPB가 α -helix 구조를 취함에 있어 산성지질막에 존재하는 negative charge간의 정전기적 상호작용이 유리함을 보고하였다. 그러나 Apidaecin Ib의 경우에는 MPB와는 다르게 인공막에서 불규칙구조를 형성할 때 중성지질막의 hydrophobic core 부분과 소수성 상호작용을 하는 것이 산성지질막에 존재하는 negative charge간의 정전기적 상호작용보다 더 유리하게 작용한다는 것을 의미한다.

Apidaecin Ib와 생체막과의 상호작용을 조사하기 위해서 항균활성 및 용혈활성을 조사한 결과, Apidaecin Ib는 어병세균인 *Edward tarda* NUF251에 대해서는 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 강한 항균 반응을 나타내었지만 gram-positive bacteria, gram-negative bacteria 및 곰팡이에 대하여 >50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 반응을 나타내었다. 한편, Apidaecin Ib는 사람, 쥐, 떡장어의 적혈구에 대해서 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서도 거의 용혈활성을 나타내지 않았다.

Apidaecin Ib의 살조효과 (Table 1)와 항균활성 (Table 2)의 관계를 종합적으로 살펴보면, Apidaecin Ib가 항균 및 항곰팡이 활성을 나타내기 위해서는 >50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 양을 필요로 하였지만 *C. marina*를 lysis 시키기 위해서는 항균 활성에 필요한 양보다 2배 낮은 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도를 필요로 하였다. 이전의 연구에 의하면 해양 세균의 막에서의 주된 phospholipid는 phosphatidylethanolamine이지만, 미세조류 세포막의 주된 phospholipid는 phosphatidylglyceride

(Goutx *et al.*, 2000)로 보고되었다. 그러므로, 이러한 활성세기의 차이는 세균과 미세조류의 세포막 구성성분의 차이에 의해서 기인된 것으로 사료된다.

Apidaecin Ib는 적조생물을 사멸시키는 시간 뿐만 아니라 사용 농도면에 있어서 이전의 연구 (Seo *et al.*, 1998)에서 보고된 항생제들 보다 우수한 활성을 나타내었다. 또한 이전의 연구 (Seo *et al.*, 2003)에서 보고된 MPB와 비교 하였을 때, 적조생물의 사멸시간 및 사용 농도면에서 유사한 활성을 나타내었다. 따라서 항균성 펩타이드인 Apidaecin Ib도 MPB와 함께 살조 효과를 연구하는데 있어서 표준물질로 사용 가능할 뿐만 아니라 이러한 결과들은 유해성 적조의 원인 생물인 *C. polykrikoides*을 포함한 다른 편모조류들의 효과적인 살조 물질을 개발하기 위한 기초 자료로 활용 가능하리라 생각된다. 또한 본 연구는 해양 구조물들을 부식시키는 조류, 갑각류 및 연체동물의 유생들과 같은 해양 유기체 퇴적물들의 방제를 위해 항균성 펩타이드를 적용해볼 수 있으리라 생각된다.

요 약

꿀벌 (*Apis mellifera*)의 lymph 액으로부터 정제된 항균성 펩타이드인, Apidaecin Ib는 18개의 아미노산 잔기로 구성된 염기성 non-helical 펩타이드이다. 본 연구에서는 우리나라 연안의 적조 (HABs, harmful algal blooms)를 일으키는 4종의 적조생물 (*Alexandrium tamarense*, *Chattonella marina*, *Cochlodinium polykrikoides* 및 *Gymnodinium catenatum*)에 대한 Apidaecin Ib의 살조 효과를 조사하였다. Apidaecin Ib의 4종의 적조생물에 대한 살조효과는 12.5 µg/mL부터 50 µg/mL에서 세포의 lysis 또는 ecdysis와 같은 형태로 현미경으로 관찰할 수 있었다. 또한 Apidaecin Ib는 *C. marina*에 대해서 *A. tamarense*, *C. polykrikoides* 및 *G. catenatum*보다 더욱 강한 살조효과를 나타내었다. 이러한 HABs에 대한 Apidaecin Ib

의 살조효과 연구는 새로운 살조물질을 개발하기 위한 자료가 될 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 2002년도 부경대 교내 연구비 지원 사업에 의해 수행되었으며, 또한 2003년 해양한국발전프로그램 (Korea Sea Grant Program, KSGP)에 의해 일부 지원되었습니다.

참 고 문 헌

- Casteels, P., Ampe, C., Jacobs, F., Vaeck, M. and Tempst, P. : Apidaecins: antibacterial peptides from honeybees. *EMBO J.*, 8(8) : 2387-2391, 1989.
- Choi, H. G., Kim, D. J., Lee, W. C., Yun, S. J., Kim, H. G. and Lee, H. J. : Removal efficiency of *Cochlodinium polykrikoides*, by yellow loess. *J. Korean Fish. Soc.*, 31 : 109-113, 1998.
- Goutx, M., Momziko, A., Striby, L., Andersen, V., Marty, J. C. and Vescovali, I. : High-frequency fluxes of labile compounds in the central ligurian Sea, northwestern Mediterranean. *Dee-Sea Research*, 47 : 533-556, 2000.
- Hallegraeff, G. M. : A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, 32 : 79-99, 1993.
- Koji, K., Yuki, M. and Naganuma, J. : Removal of biofouling and red tide algae by Triosyn. Abstract of 2nd Meeting for Japan Marine Biotechnology : 89, 1998.
- Na, G. H., Choi, W. J. and Chun, Y. Y. : A study on red tide control with loess suspension. *Kor. J. Aquacult.*, 9 : 239-245, 1996.
- Park, N. G., Seo, J-K., Ku, H-J., Kim, S-H., Lee, S., Sugihara, G., Kim, K-H., Park, J-S. and

- Kang, S-W. : Interaction of Mastoparan B and its Ala-substituted analogs with phospholipid bilayers. *Bull. Korean Chem. Soc.* 18(9) : 933-938, 1997.
- Ryu, H. Y., Shim, J. H., Bang, J. D. and Lee, C. : Experimental chemical treatment for the control of dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* in the land-based culture of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Kor. J. Aquacult.*, 11 : 285-294, 1998.
- Seo, J-K., Kim, C-H., Bae, Y. J., Moon, H. S., Kim, K-Y., Park, H. Y., Yoon, H. D., Kim, C. H., Byun, D-S, Hong, Y-H. and Park, N. G. : The algicidal effect of antimicrobial peptide, Mastoparan B. *J. Fish Pathol.*, 16(3) : 193-201, 2003.
- Seo, P-S., Lee, S-J., Kim, Y., Lee, J-H., Kim, H-G. and Lee, J-D. : Axenic culture production and growth of a Dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides*. *J. Korean Fish. Soc.*, 31(1) : 71-76, 1998.
- Steidinger, K. A. : A re-evaluation of toxic dinoflagellate biology and ecology. *Prog. Phycol. Res.*, 2 : 147-188, 1983.
- 김학균, 이삼근, 안경호, 윤성화 : 한국연안의 유독성 *Cochlodinium* 적조 발생과 변천. 제 2회 연구발표 및 귀국보고, 국립수산진흥원 : pp. 23~24. 1996.

Manuscript Received : January 22, 2004

Revision Accepted : April 26, 2004

Responsible Editorial Member : Joon-Ki Chung
(Pukyong Univ.)