

## 해양 유독생물의 독성 검사와 보건환경 모니터링을 위한 조직센서의 활용

†천 병 수 · <sup>1</sup>유 종 수 · <sup>2</sup>유 진 형 · 渡辺俊生  
동경수산대학 식품생산학과 응용미생물학연구실 · <sup>1</sup>포항산업과학연구원 환경에너지연구센터 ·  
<sup>2</sup>동경수산대학 자원육성학과 수족양식학연구실  
(접수 : 1998. 6. 18., 게재승인 : 1999. 2. 16.)

## Practical Use of Tissue Biosensor for Safety Test of Marine Organism and Monitoring of Public Health and Environment

Byeungsoo Cheun†, Jong Su Yoo<sup>1</sup>, Jin Hyoung Yoo<sup>2</sup>, and Etuo Watanabe  
Lab. of Applied Microbiology, Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries,  
Tokyo 108-0075, Japan  
<sup>1</sup>Environmental Conservation Research team, Research Institute of Industrial Science and Technology,  
Kwangyang 545-090, Korean  
<sup>2</sup>Lab of Fish Culture, Department of Aquatic Bioscience, Tokyo University of Fisheries, Tokyo 108-0075, Japan  
(Received : 1998. 6. 18., Accepted : 1999. 2. 6.)

It confirmed the facilitated diffusion of Na<sup>+</sup> of frog bladder membrane which is a tissue membrane. The mechanism was explained in Na<sup>+</sup> channel model and it referred to the Na<sup>+</sup> channel obstruction ingredient which was contained in the reference to the Na<sup>+</sup> channel obstruction ingredient and so on, e.g., seaweed, shellfish, pufferfish, phytoplankton and chinese drug. Also, it introduces the result which studied from the barrier point of the application of the tissue biosensor to the trade friction on Korea or Japan pufferfish and the marine environment in the one with high dependance. It was possible for the poison quantity of small amount pufferfish toxin (TTX), paralytic shellfish poisoning (PSP) to be measured and also to measure poison quantity in the cultivation poisonous toxin phytoplankton individual. In future, as for this tissue biosensor, it expects that it is possible to contribute widely until environment watch and also monitoring to the scene.

Key Words : tissue biosensor, pufferfish toxin (TTX), paralytic shellfish poisoning (PSP)

### 서 론

급세기에 들어서, 급속한 산업화에 따른 도시의 인구 집중, 임해공업단지의 조성 그리고 인간 활동에 의한 연안의 부영양화 등은 세계 각국의 해양 환경을 점차 악화시키고 있다. 뿐만 아니라, 인구 집중과 신물질 개발 등에 따른 환경 오염의 가중은 보건환경 및 식품 위생에도 많은 문제를 야기시키고 있다. 특히 복어독 및 유독플랑크톤에 의한 폐독 문제는 인간의 생명에 직접적인 피해를 줄 뿐 아니라 이에 따른 경제적 손실로 말미암아 우리의 관심을 받기에 충분하다. 이런 문제들과 함께, 유독 해양생물에 의한 직접적인 피해 및 이들 물질의 활용이 우리의 관심을 받고 있다. 현재 해양생물에 의해 생산되는 독성 물질은

tetrodotoxin (TTX), saxitoxin (STX), gonyatotoxin (GTX), okadaic acid, ciguatera toxin 등이 있으며, 이들이 식중독을 일으키거나 어패류의 사망을 일으키는 원인 물질로 작용하고 있다 (1-3).

유독 플랑크톤에 대한 폐독 문제는 연안생물환경에 영향을 미칠 뿐 아니라 인간 생명에도 위협을 가하고 있다. 이들 플랑크톤에 의한 마비성 폐독 (paralytic shellfish poison, PSP) 사고는 세계적 여러 지역에서 발생하고 있으며, 그 역사 또한 길다. 1689년 프랑스에서 홍합을 먹고 주민이 사망한 사고 이후, 미국의 대서양 연안, 캐나다 및 유럽 지역 뿐 아니라 최근에는 아시아 연안에서도 많은 보고가 있다(5, 6). 일본의 경우, 1948년에서 1979년 사이에 110명이 중독되어 3명이 사망한 보고가 있고 (4), 한국에도 그 피해가 보고 되고 있다(8). 이런 폐독 성분 때문에 *Crassostrea giga*, *Patinopecten yessoensis* 등은 국제적으로 수출·입이 규제되고 있는 실정이다(9) 이러한 문제의 심각성으로, 국제유해조류 (Harmful algae) 심포지움이 2년 마다 개최되고 있으며, 1997년에는 스페인 Vigo에서 제 8회 대회가 있었다. 이와 같이 유해플랑크톤에 관한 연구는 이미 세계적인

† Corresponding Author : Environmental Conservation Research team, Research Institute of Industrial Science and Technology, Kwangyang 545-090, Korean  
Tel & Fax : 0667-790-8756 / 792-0768  
e-mail : jsyoo@nist.re.kr

관심과 연구 과제로 부상되었다.

복어는 사람의 미각을 돋구는 식품이지만, 그 TTX 와 같은 독성분은 인간의 생명을 위협하는 맹독성물질로 잘 알려져 있다. 이들 복어독에 의한 식중독 사고는 빈번히 발생하고 있는데, 일본의 경우 1958년 복어 식중독 사고 (발생건수, 187건; 환자, 289명; 사상자, 176명)가 최고치에 이른 이후, 수·출입에 따른 여러 가지 규제 조치가 시행되고 있다(10). 이런 복어독 사고는 동북 아시아를 중심으로 자주 보고되고 있는 실정이다. 또한 한국산 *Takifugu vermicularis*에 의한 식중독 사고 이후(1994년) 수입이 금지되어 국내의 수산물 무역에도 피해를 주고 있는 실정이다.

이러한 해양생물 기원에 의한 독은 환경 및 식품위생학적으로 그 위험성이 더 해지고 있으므로, 보다 정확하고 신속한 독량의 측정이 절실히 요구되고 있다 또한 복어는 어종, 어체의 부위 및 서식 지역에 따라 독성이 달라진다는 보고가 있다(11) 현재 이러한 어패류 독성의 검출과 측정에는 마우스 측정법, HPLC 측정법 등이 일반적으로 사용되고 있으며, 면역 반응과 신경아세포를 이용한 방법도 사용되고 있다.

마우스 측정법은 독의 양은 측정이 가능하지만, TTX, STX, GTX 등과 같이 독성분은 분리할 수 없다. 이때 사용 단위로는 MU를 사용하는데, 시료 1ml를 체중 20g의 마우스 복강 내에 시료를 주입시켜, 30분 안에 사망하는 시간의 측정치를 1MU로 한다(32). HPLC 측정법은 표준물질 등의 비교로 TTX, STX, GTX 등과 같은 독의 구성 성분을 분석할 수 있는 장점이 있다. 측정시 필요한 시료는 마우스 측정법보다 적은 양으로 측정이 가능하지만 (< 1/5), 시료 정제시 작은 오차가 있을 경우, 비슷한 피크가 출현할 가능성이 있어, 목적인 물질 이외의 것을 나타낼 위험성이 있다(1). 마우스 신경아세포를 이용한 측정법은 TTX가  $\text{Na}^+$  채널에 특이적으로 작용하는 성질을 이용하였다 원리는 이 세포가 Uarvine 존재 하에서 Veratridine의 작용에 의해  $\text{Na}^+$ 의 유입을 촉진시켜서 세포가 확장되어 죽게 되는 것이다. TTX는 이 과정을 차단하는 작용을 하므로, 그 농도에 비례하여 생존 세포가 증가하게 된다 미토콘드리아 내의 탈수소 효소활성을 지표로 세포의 생사 판별에 의해 TTX량을 구할 수 있다(12). 이 방법의 검출 한계는 pg 수준으로 다른 측정법보다 정밀하지만, 세포의 배양과 생사의 판별 등의 번잡한 조작이 필요하고 뿐만 아니라 세포는 측정 할 때 마다 살아 있는 마우스로부터 얻어야 하는 어려움이 있다. 하지만, 동시에 여러 시료를 분석할 경우, 마우스 측정법보다 마우스의 사용 횟수가 적은 장점이 있다.

한편 최근에 생체막을 이용한 고감도의 조직센서 (tissue biosensor)가 Cheun 등(1996)에 의해 개발되었다. 그 원리는 TTX와 paralytic shellfish toxin이  $\text{Na}^+$  채널을 차단하고,  $\text{Na}^+$ 의 유입을 억제시키는 작용을 이용한 것으로,  $\text{Na}^+$  채널의 차단도를 전기 신호로서 전위차로 측정할 수 있다 또한 이 센서는 연속 측정이 가능하고, 검출 한계가 fg 수준으로 매우 낮은 농도의  $\text{Na}^+$  채널의 차단 물질도 검출이 가능한 장점이 있다. 그러나 이 센서는 구성 성분에 관계 없이  $\text{Na}^+$  채널 차단 물질은 모두 감지된다는 결점이 있다. 이것은 바이오센서의 일종으로 센서 검출부에는 생체막조직 (개구리 방광막)을 사용한 관례로 조직센서(tissue biosensor)라고도 불리워 진다 최근 이 조직센서를 이용하여 다양한 연구가 진행되고 있다는데, 예를 들면 항박

약 재료 및 해조류 내의  $\text{Na}^+$  채널을 차단하는 생리활성물질의 측정 (16), 복어독, 패류 등의 수산물에 대한 독성 측정, 유독물 랑크톤에 의해 야기된 해수의 독화 여부, HPLC로 측정할 수 없는 수준의 독화 어패류의 독량 측정, *Alexandrium tamarense*의 PSP 독성을 개체수준까지 측정하기에 이르게 되었다(7, 14-16)

현재 조직센서는 해양의 보건환경 모니터링, 의학계의 생리활성도 연구, 막의 이온 채널 연구, 이패류의 독화 과정 추적, 배복어 수출·입을 위한 안정성 검사 등에도 활용되고 있다. 따라서 본 연구는 최근 다양한 분야로 활용이 확대되고 있는 조직센서의 작용 원리와 현재까지 연구된 결과 등을 소개하고, 이를 계기로 조직센서의 활용이 국내의 여러 연구분야에 응용되기를 기대한다.

## 조직 센서의 원리 및 계측 방법

### 조직 센서의 원리

생체막 (biomembrane)에는 다수의  $\text{Na}^+$  채널이 존재하고 있으며(17), 이  $\text{Na}^+$  채널은 TTX, STX, GTX 등에 의해 외부로부터  $\text{Na}^+$  이온의 유출·입을 조절한다(7) 이런 원리에 따라 Cheun 등(13)은 개구리 방광막을 사용한  $\text{Na}^+$  전극으로부터 TTX 연속 계측용 조직센서를 개발하였다(Figure 1). 이 센서는  $\text{Na}^+$  전극의 반응면 접촉부를 평면으로 특수 제작한 전극을 사용하여, 개구리 방광막(이하 생체막이라 함)을 부착시켜 막면

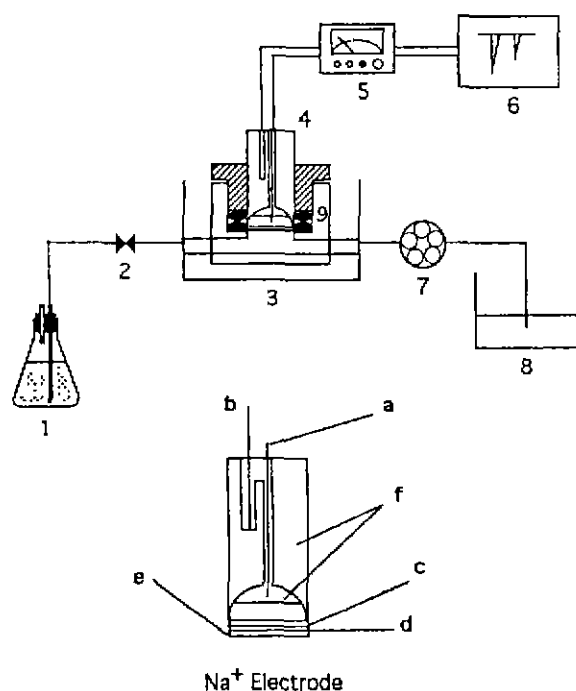


Figure 1. Schematic diagram of the tissue biosensor system for determination of TTX and STX. 1, 8% NaCl (pH 4.8) tank; 2, injection port; 3, thermostatically controlled bath; 4,  $\text{Na}^+$  electrode; 5, electro meter; 6, recorder; 7, peristaltic pump; 8, 10N NaOH reservoir; 9, rubber ring; a, working electrode; b, reference electrode; c, cellulose acetate membrane; d, frog bladder membrane; e, cellulose acetate membrane; f, 1M  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .

이 손상되지 않도록 하였다. 본 센서는 생체막의 손상을 방지하기 위해서 방광막을 투석막으로 샌드위치 상태로 한 후, 생체막의 안쪽면이 밖으로 나오게 하여 전극 선단에 부착시켰다. 이때 막을 평면이 되도록 잘 펴는 것은 막의 투과성을 높이는 중요한 일이다. 이것을 flowcell에 부착시킨 뒤, electrometer에 접속된 recorder의 전기 출력을 기록하고, 그 전위차로서 Na<sup>+</sup> 이온의 투과 속도를 기록하게 된다. 여기에 준비된 시료(TTX, STX PSP)를 주입시키면, Na<sup>+</sup> 채널이 차단되어 Na<sup>+</sup> 이온의 유입이 차단됨으로 출력 전위는 감소하게 된다. 전극의 감소는 Na<sup>+</sup> 이온 차단물질인 TTX, STX, GTX의 양에 비례하기 때문에 출력 전위로부터 이들의 독양을 측정할 수 있다. 이 채널에 결합한 Na<sup>+</sup> 차단물질은 8% NaCl 존재로 쉽게 해리 되어 반복 측측이 가능하다.

**측정 조건과 검출선**

조직센서는 출력을 극대화하기 위해서 센서의 최적 조건을 결정할 필요가 있다. 센서 출력에 영향을 주는 요인은 이송액의 온도, pH, 염분 농도, 유속 및 개구리의 종류 등에 있으며, 개구리 종류에 따른 센서의 최적도는 종 별 차이가 크지 않은 것으로 나타났다(18). 시험에 사용된 개구리의 종류는 *Xenopus laevis*, *Bufojaponicus termunch*, 한국산 *Rena catesbeiana*, 인도네시아산 *Rena catesbeiana*, 일본산 *Rena catesbeiana* 로써 5종류를 비교하였다. 센서로 사용 가능한 생체막의 조건은 대체로 온도 32℃ 이하, pH 5.2 이하, 염분 8 psu, 유속 0.8 ml/min. 정도면 된다. 또한 생체막은 0.003 % NaN<sub>3</sub> 용액을 방부제로 사용할 경우, 5℃에서 7개월간, -30℃에서 80일간 저장이 가능하다 이상의 조건으로 TTX 검출선은 최소 80 fg까지 측측이 가능하며, 분석 소요 시간은 약 3분이다(Figure 2).

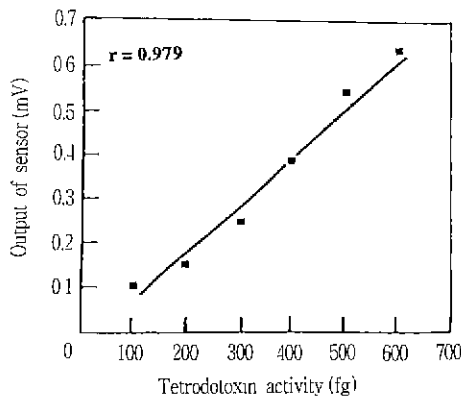


Figure 2. Standard calibration curve for determination of TTX. Experimental conditions. Temperature, 30℃; pH, 4.8; flow rate 0.8 μl/min; sample volume 50 μl.

**Na<sup>+</sup> 이온의 생체막 투과 기작**

조직센서는 생물의 생체막조직(개구리방광막)을 사용하므로 센서의 이송액 (8% NaCl 용액)이 막조직 내의 생물물리학적 기작들에 정상적으로 작동하는지 확실히 표현할 수 없는 관계로, Na<sup>+</sup> 이온의 막 투과 속도를 측정하였다(Figure 3).

생체막의 확산은 촉진 확산을 보이고, 막의 안쪽면(내)이 바깥면(외)보다 빠른 확산 속도를 보였다. 따라서 생체막을 전극 선단에 부착시킬 때, 막의 바깥면을 전극면에 부착시키고, 안쪽면

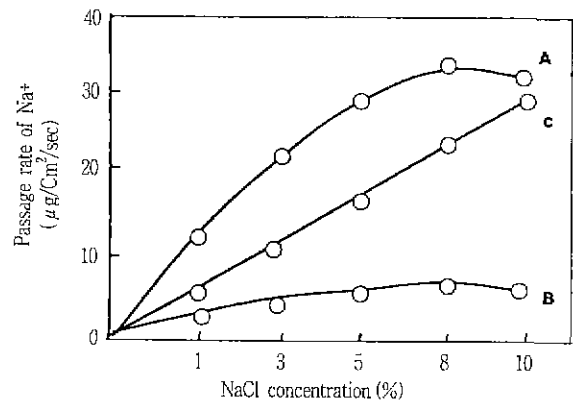


Figure 3 Initial rate of Na<sup>+</sup> transfer across frog bladder membrane. The experimental condition are the same as in Figure 2. A, external surface of frog bladder membrane next to Na<sup>+</sup> electrode; B, internal surface of frog bladder membrane next to Na<sup>+</sup> electrode; C, Na<sup>+</sup> electrode covered with cellulose acetate membrane (no frog bladder membrane).

을 외부 접촉면으로 하는 것이 뚜렷한 Na<sup>+</sup> 이온의 빠른 확산 속도를 보인다. 이런 기작은 생체막 안쪽면에는 Na<sup>+</sup> 채널이 많이 존재하여 Na<sup>+</sup> 이온의 통과에 영향을 미치는 것으로 생각되는 반면, 바깥면에는 Na<sup>+</sup> 채널이 적게 존재하고(1/8 수준). Na<sup>+</sup> 채널 이외의 별도 통로 (e.g., Na<sup>+</sup> pump)가 존재하는 것으로 생각된다(14, 19).

Na<sup>+</sup> 이온의 막투과 기작은 여러 학자들에 의해 그 이동 경로가 모델화 되었지만(19), 현재까지는 오징어 신경세포를 이용한 막사이의 이온차물 전기적으로 감지하여 이 이론을 증명하여 왔다. 그러나 Na<sup>+</sup> 이온이 막을 직접적으로 통과한 양을 통한 이온의 막투과 기작을 증명한 예는 없었다. 본 조직센서는 이런 점을 보완하여 생체막을 이용하여 정팔각형모델 이론을 기준으로 막투과 기작을 최초로 증명하였다(13).

정팔각형모델의 Na<sup>+</sup> 채널 모델을 참고로 전극 선단에서의 Na<sup>+</sup> 이온 이동 경로를 추론해 보았다(19). 실험에 이용한 개구리 방광막은 6층의 세포로 구성된 상피조직이다. 이 이론을 간단히 표현하기 위해, 방광막 내 1층의 세포를 도식화하여 설명하였다(Scheme 1).

즉, Na<sup>+</sup> 채널은 1층의 단백질층으로 구성 되어 있다 세포막을 통한 단백질 A (Structure IV, S4라고도 함)는 양전하 (+)에 가전하고, 외측으로 향한 반사를 받을 때 음전하를 띤 단백질 B (S5, S6)가 세포내로 미끄러져 들어가기 위한 선(rail)의 역할을 하고 있다

세포가 정상 일 때, 세포 내는 양전하 상태로, 단백질 B (S5-6)는 세포 밖에 존재하며, 단백질 A의 세포내 입구에 있는 C 말단은 음전하로 채널 입구를 차단하고 있다 (Scheme 1-1) 전극 선단의 생리적 역할은 방광막의 막공쪽을 외측으로 부착시켜, 8% NaCl 용액을 이송했을 때, 막내외의 전위차가 발생하고, 단백질 B는 선로 역할을 하는 단백질 A에 전달되어 세포 내측으로 이동되며, 이것이 단백질 A의 C 말단을 누르게 된다. 이후 C말단은 Na<sup>+</sup> 이온으로 포위되어 N말단으로부터 멀리 떨어지게 되며, 이럴 때는 뚜껑의 역할을 할 수 없게 된다(Scheme 1-2).

본 조직센서는 살아있는 생체막에서처럼 ATP 등의 에너지



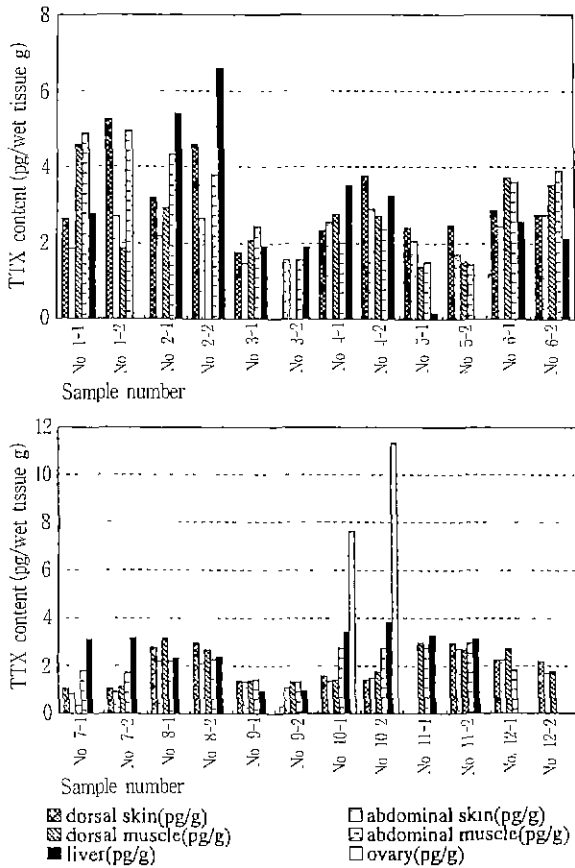


Figure 6 Contents of Na<sup>+</sup> channel blockers in *Takifugu vermicularis* and *Lagocephalus wheeleri*. Na<sup>+</sup> channel blockers were converted into TTX from standard curve. The experimental conditions are the same as in Fig 2. (Sample Nos. 1-11, *Takifugu vermicularis*; sample No 12, *Lagocephalus wheeleri*).

조개류에 존재하는 마비성 패독 (PSP)의 월변동 측정

마비성패독은 유독플랑크톤의 독성분 (paralytic shellfish poisoning, PSP)이 먹이사슬을 통해 인간의 생명까지 위협하고 있는 심각한 문제 중의 하나로 대두되고 있다 (원인종: *Alexandrium catenella*, *A. tamarese*, *Gymnodinium catenatum*, *Pyrodinium bahamense*). 이 패독에 의한 사고는 세계 여러곳에서 발생하고 있으며(20, 21), 그 빈도가 점차 높아지고 있는 것에 신각성이 더해지고 있다 특히 이들 어패류의 독화는 유독플랑크톤의 대발생이 빈번한 동남아시아의 어패류 양식 지역에서 심하다(5). 국내의 경우, 1986년 4월 감천만 (부산근해)에서 독화된 진주담치 (*Mytilus edulis*)를 먹고, 15명이 식중독을 일으켰고 이 중 2명이 사망하는 사고가 발생하였으며 (8), 그 후 1993년, 진해만에서 조개류가 기준치를 넘는 독량이 검출되어 (80 μg STX eq./100g), 보건복지부에서는 이들의 수확과 판매를 금지시켰었다(22)

Figure 7은 마지막 *Ruditapes philippinarum*을 대량으로 양식하고 있는 일본 치바현 기사라즈에서 매주 채집한 조개의 주기적인 독량의 변동을 측정할 것이다(16) 그 결과 2, 4월중에 독이 측정되지 않은 것을 제외하고는, 8월과 9월에 채집한 개체가 3.5 pg/g으로 최고치를 보였고, 수온이 낮은 1월과 2월에 낮

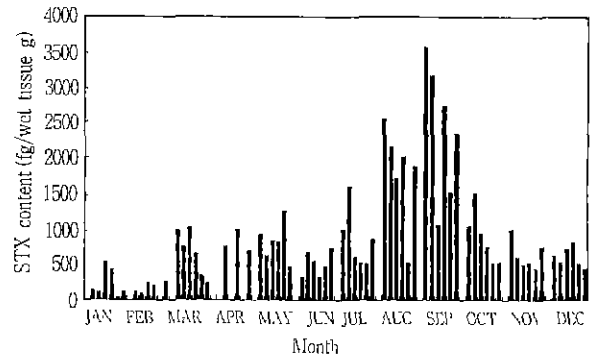


Figure 7. Annual changes of Na<sup>+</sup> channel blockers in short-necked clam. Na<sup>+</sup> channel blockers were converted into TTX from standard curve. The experimental conditions are the same as in Figure 2.

게 나타났다 STX의 월변동이 본 종의 생리적 변화의 원인인지, 아니면 먹이사슬을 통한 2차적인 결과인지는 아직 확실한 결론은 얻기 어렵지만, 이런 수치는 인간에게 피해를 주기보다는 약리학적으로 인체의 생리활성물질로 작용되는 수준으로 생각된다.

GTX 구성 성분별 독성 비교

Figure 8은 HPLC로 GTX를 구성하고 있는 성분(GTX 1, 2, 3, 4)별로 분리한 후, 각 GTX 성분을 센서에 200 fg씩 주입시켜 얻은 결과를 출력 전위차로 표현한 것이다. 이 결과 GTX의 구성 성분에 따라 독력이 차이가 있는 것을 알 수 있었다.

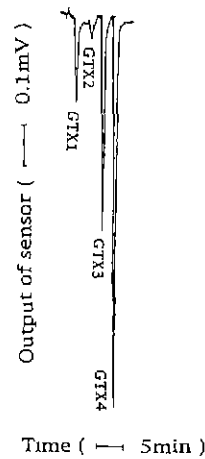


Figure 8. Response curve of gonyautoxin (GTX 1, 2, 3, 4) toxicities in the toxic digestive glands of the scallop determined by the sensor. The experimental conditions are the same as in Fig. 2

자연산 해조류에 존재하는 생리활성물질의 측정과 그 월변동

일본의 치바현 기사라즈에서 2, 4, 6, 8월에 채집한 *Eisenia bicyclis*, *Ecklonia cava*, *Gilidium elegans*, *Hizikia fusiformis*, *Chondrus ocellatus*의 해조류 5종에 대한 생리활성물질 (Na<sup>+</sup> 채널 차단물질) 함유량을 측정하였다(Figure 9). 그 결과 2월에

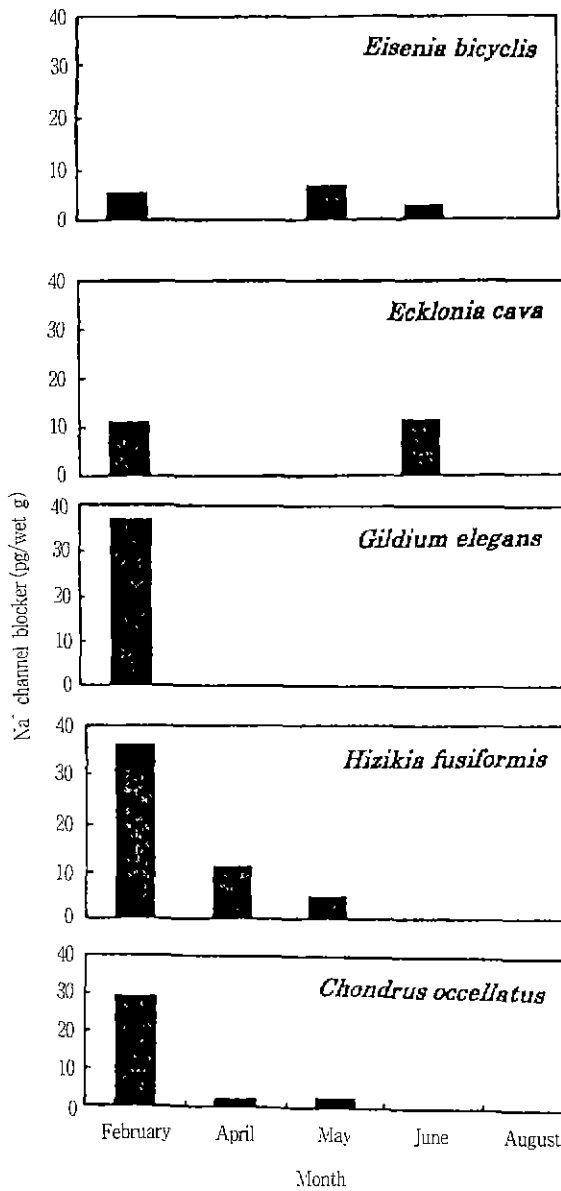


Figure 9. The season change of the Na<sup>+</sup> channel blocker which was contained in the seaweed from Chiba Chikura. The experimental conditions are the same as in Figure 2.

서 8월로 진행되면서 생리활성물질의 함유량이 감소하는 것으로 나타났다. 그러나 이들 해조류가 증분화 당시부터 생리활성물질을 갖고 있는 것인지, 아니면 성장 과정에서 얻어진 결과인지는 확실히 알 수는 없다 만일 이들 생리활성물질이 성장 과정에서 얻어진 것이라면, 유독플랑크톤이 해조류에 어떤 경로에 의해 부착하였고, 이들 부착된 종들에 의해 독성이 측정될 수 있을 것이다(9). 그러나 아직 마비성폐독 성분을 갖는 유독플랑크톤이 생활사 (life history) 중 부착생활을 한다는 보고는 없다 반면 모든 유독플랑크톤이 부착생활을 않는다는 확실한 증거도 없다 김을 포함한 해조류의 결과는 여러 분야에서 관심을 갖고 있는데, 그 활용에 따라 좋은 결과들이 얻어질 것으로 생각된다 (즉, 해조류 양식, 약리 활성물질의 추출, 해양내 생물의 독화 과정 파악 등).

유독플랑크톤 *Alexandrium tamarense*의 개체당 마비성폐독(PSP) 측정

*A. tamarense* (Lebour) Balech는 세계 여러 지역의 연안에 분포하고 있으며, 마비성 폐독을 생산하는 와편모조류 (dinoflagellate)의 일종인 유독플랑크톤이다(21, 23). 본 종은 1986년 감칠만 진주담치 폐독 사고의 주범으로 알려져 있어, 국립수산진흥원을 중심으로 이들에 대한 monitoring이 년중 조사되고 있는 개체군 중의 하나이다. 세계 여러 지역에서 보고되고 있는 폐독 사건은 유독식물플랑크톤 (toxic phytoplankton)의 대발생과 연관이 있는 것으로 알려져 있다(24). 이들 유독식물플랑크톤은 그 종류에 따라, 마비성 폐독 (PSP), 하리성 폐독 (diarrhetic shellfish poisoning, DSP), ASP (amnesic shellfish poisoning), Ciguatera 등을 유발시키며(20, 21), 1,880여 종의 식물플랑크톤 중에서 현재 60-78종이 유독종으로 알려지고 있다(25).

저자 등은 1997년 진해만과 칠천도에서 채집 동정된 *A. tamarense*의 배양주로 개체당 PSP 독량의 변화를 파악하였다. 이들 종은 개체에 따라 독량이 다른 것으로 알려져 있었으나, 한 개체가 갖고 있는 독량을 측정할 방법이 아직까지 없던 관계로 확인된 사실이 아니다. 실험은 이들의 생육지, 온도 조건 및 동일 배양주 (culture clone)내 개체 간의 독성 정도를 조사하였다 (unpublished data, Cheun et al.). 독성 정도는 배양한 온도, 채집된 장소와 시기, 항생제 및 배양주에 따라서도 독화 정도가 다르게 나타났고, 자연 개체군이 배양주보다 독성이 강했다. Figure 10은 동일 장소에서 채집 동정된 *A. tamarense* 배양주 (HYM-9704)로 배양 기간의 차이에 따른 독성의 변화를 본 결과이다 (측정 세포수: 1, 5, 10, 50, 100, 500 및 1,000). 각 배양주 (1, 2개월 배양주; 2, 1개월 배양주; 3, 10일 배양주)는 개체수에 따른 비슷한 독량의 변화 경향을 보였지만, 이들간의 차이는 분명히 인정되었다.

채집 시기별 배양주에 따라 독량의 정도가 다르게 나타났다. 현재 독성 분석에 사용되고 있는 HPLC로는 약 6,000 개체 이상에서 독성을 측정하고, 이를 단위 세포당 독성으로 추정하지만(32), 조직센서를 이용한 결과 개체당 독량을 측정할 수 있었고, 이들간에 뚜렷한 차이를 확인할 수 있었다. 이는 복어독의 실험 결과와 같이, 이들 결과들로 미루어 볼 때, 생물의 독성 정

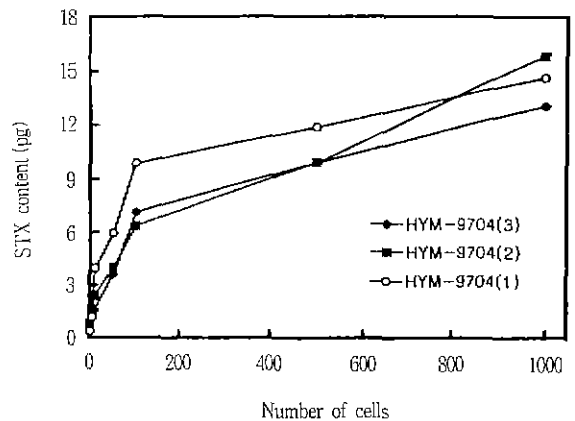


Figure 10. The toxicity change of identical *Alexandrium tamarense* strain HYM-9704 by the change of the time. The experimental conditions are the same as in Figure 2.

도는 뚜렷한 개체성이 있는 것을 확인한 결과이다.

한편, *A. tamarense*는 내부공생 세균을 갖고 있는 것으로 알려져 있고, 이들 세균 또한 독성이 측정되었다 (26, 27) 따라서 본 종의 독성이 숙주 (*A. tamarense*)인지 공생 세균인지에 대한 확설이 현재 팽팽이 대립되고 있는 상태이다. 우리는 본 조직센서를 활용하기에 따라, *A. tamarense*로 인한 독성의 origin을 추적하는데 역할을 담당하리라 생각한다.

## 토 론

생체 내 이온의 이동 경로인  $\text{Na}^+$  채널은 복어독 (Tetrodotoxin, TTX), 마비성 패독 (paralytic shellfish poisoning, PSP) 등에 의해 그 이동이 저해된다는 것은 널리 알려진 사실이다(19) 이런  $\text{Na}^+$  채널 차단 물질은 생물체내 투입 정도에 따라, 생물에 독성 물질로 작용하기도 하고, 반대로 생리활성물질로 이용되기도 한다(28) 그러나 미량의  $\text{Na}^+$  채널 차단 물질을 측정할 수 있는 계측 기기가 없어서, 이들의 이용에 한계가 있음은 부인할 수 없는 사실이다. 이런 문제 등을 해결하기 위해 Cheun 등 (13)은 개구리 방광막을 이용하여 극 미량의  $\text{Na}^+$  채널 차단 물질을 측정할 수 있는 조직센서를 개발하였으며, 이전 까지 사용되고 있는 어떤 측정 기기보다 우수한 감도를 갖고 있다.

이 조직센서의  $\text{Na}^+$  채널 차단 물질에 대한 측정 한계는 유독 플라크톤의 세포당 PSP 성분을 측정함으로써 확인되었고, 현재 다양한 분야에서 이를 사용하고 있으며, 앞으로 연구 목적에 따라 그 활용 영역이 확대될 것으로 전망되고 있다 먼저 극미량의  $\text{Na}^+$  채널 차단 물질의 측정은 생리활성을 다루는 의학, 약학, 생리학 등의 분야에 보다 진보된 결과를 유도할 수 있으리라 생각한다. 이의 첫단계로 한방약 재료 및 해조류 등에 존재하는 생리활성물질의 정도를 측정하였고(16), 이런 결과를 바탕으로 보다 정밀한 생리 기작을 밝힐 수 있으리라 믿는다. 또한 수산물을 비롯한 식품의 국제간 무역과 유통과정에서 발생할 수 있는 안전성, 특히 식품의 생산단계부터 판매에 이르는 모든 과정을 감시하는 hazard analysis critical control point (HACCP)에도 그 활용성이 보고되고 있다(29). 이런 수산물 유통에 따른 안전성은 일본 수산청에서 많은 관심을 보이고 있다 현재 본 연구실에서는 관련 연구소와 복어의 알에서부터 성장 단계와 부화 정도에 따른 독성의 변화를 추적함으로써 이들의 독성 변화 기작을 밝히는 연구를 진행중에 있다 또한 일본 시모노세키 어업조합과 복어의 독성 감지 문제를 중심으로 연구한 결과, 복어무역의 장벽이 되고 있는 안전성 문제가 해결되어 국내 복어의 일본 수출의 길이 다시 열리게 되었다 한편 어패류를 독화하는 것으로 알려져 있는 유독플라크톤 개체군의 발생과 이들의 모니터링은 적조문제 해결에도 도움이 되리라 생각하며, 더 나아가  $\text{Na}^+$  채널 차단 물질의 발생과 추적을 위한 보건환경 감시 부분에도 그 활용이 기대된다. 이 조직센서의 활용에 대한 이상의 예는 아직 초기 단계에 불과한 것으로, 연구 목적과 활용에 따라 더욱 좋은 결과 들을 얻으리라 확신한다.

## 참 고 문 헌

1. Yasumoto, T., M Nakamura, Y Oshima and J Takahata.

- (1982), Construction of a continuous tetrodotoxin analyzer. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 48, 1481-1483. (in Japanese)
2. Tosteson, T.R. (1992), Proceedings of the third international conference on ciguatera fish poisoning, Puerto Rico, 1990. p 204 Polyscience Publications, Inc
3. Hallegraef, G.M. and D.M. Anderson. (1995), Manual on Harmful Marine Microalgae. IOC Manuals and Guides No. 33. p 551 UNESCO.
4. Oshima, Y., H.T. Singh, Y. Fukuyo and T. Yasumoto. (1982), Identification and toxicity of the resting cysts of *Protogonyaulax* found in Ofunato Bay. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48, 1303-1305.
5. White, A.W., M. Anraku and K.-K. Hooi. (1984), Toxic Red Tides and Shellfish Toxicity in Southeast Asia Proceedings of a consultative meeting held in Singapore. p. 133.
6. Tamiyavanich, S., M. Kodama, and Y. Fukuyo. (1985), The occurrence of paralytic shellfish poisoning in Thailand. In *Toxic Dinoflagellates*, D.M Anderson, A.W. White, and D.G. Baden, eds. pp. 521-524. Elsevier Science Publishing Co, Inc.
7. Cheun, B., H. Endo, T. Hayashi, K. Kim, E. Lee, and E. Watanabe. (1997b), Determination of Paralytic Shellfish Poison by tissue biosensor consisting of a  $\text{Na}^+$  electrode and frog bladder membrane *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 12, 467-471.
8. Chang, D.S., I.S. Shin, J.H. Pyeon and Y.H. Park. (1987), A study on paralytic shellfish poison of sea mussel, *Mytilus edulis*. *Bull. Korean. Fish. Soc.*, 20, 293-299.
9. Shiomi, K. and Y. Nagashima. (1997), Sea Animal of Toxin, p.111, Seisandou, Tokyo. (in Japanese)
10. Watanabe E. (1997), Tissue biosensor for determination of tetrotoxin *Protein, Nucleic Acid and Enzyme*, 42, 2102-2107 (in Japanese)
11. Harata, Y. and T. Abe (1994), Taxonomy and Toxicity of Imported Pufferfishes in Japan. p. 130. Tokyo
12. Kogure, K., M.L. Tamplin, Y. simizu, and R. Colwell (1988). A tissue culture assay for tetrodotoxin, saxitoxin and related toxins. *Toxicon*, 26, 191-197.
13. Cheun, B., H. Endo, T. Hayashi, Y. Nagashima and E. Watanabe. (1996), Development of an ultra high sensitive tissue biosensor for determination of shellfish poisoning, tetrodotoxin *Biosen & Bioelec.*, 11, 1185-1191.
14. Cheun, B., M. Loughran, T. Hayashi, Y. Nagashima, and E. Watanabe (1998a), Use of a channel biosensor for the assay of paralytic shellfish toxins. *Toxicon* (in press).
15. Cheun, B., S. Takagi, M. Loughran, T. Hayashi, and E. Watanabe. (1998b), Determination of Na channel blockers in shellfish and swellfish with a tissue biosensor. *Natural Toxin*, (in press).
16. Cheun, B., J.S. Yoo and E. Watanabe. (1998c). Tissue Biosensor for Determination of  $\text{Na}^+$  Channel Blocker in

- Chinese Drug and Seaweed (*Porphyra yezoensis* Ueda) *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 13, 1-6 (in Korean)
- 17 Updike, S. and I. Treichel. (1979), Antidiuretic hormone specific electrode *Anal. Chem.*, 51, p. 643.
  - 18 Cheun, B., H. Endo, T. Hayashi, K. Kim, and E. Watanabe. (1997a), Effect of storage conditions on the activity of the Na<sup>+</sup> channel existing on the frog bladder membrane. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 63, 616-621.
  - 19 Sato, C., K. Hirota, T. Kimura, O. Hirano, and G. Matsumoto. (1995), Sodium channel functioning based on an octagonal structure model *Protein Nucleic Acid Enzyme*. 40, 370-388. (in Japanese)
  - 20 Shimizu, Y. (1987), Dinoflagellate Toxins, *The Biology of Dinoflagellates* (F.J.R. Taylor, ed.), pp. 282-315, Blackwell, Oxford.
  - 21 Hallegraeff, G.M. (1993), A review of harmful algal blooms and their apparent global increase *Phycologia*. 32, 79-99.
  - 22 Kim, H.G., S.G. Lee, W.A. Lim, J.S. Lee and J.H. Kim. (1996), Environmental physiology of *Alexandrium tamarense* isolated from Chinhae Bay, the south sea of Korea In *Harmful and Toxic Algal bloom*. (T. Yasumoto, Y. Oshima and Y. Fukuyo, eds.), pp. 57-60. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Japan.
  - 23 Anderson, D.M. (1997), Bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species in the northeastern U.S. *Limnol. Oceanogr.* 42, 1009-1022.
  - 24 Sommer, H. (1932), The occurrence of the paralytic shellfish poison in the common sand crab *Science*. 76, 574-575.
  - 25 Sourina, A. (1995), Red tide and toxic marine phytoplankton of the world ocean: an inquiry into biodiversity Harmful Marine Algal Blooms (P. Lassus, G. Arzul, E. Erard, P. Gentien and C. Marcallou, ds), pp. 103-112. Technique et Documentation - Lavoisier, Intercept Ltd
  - 26 Ogata, T., S. Saito and M. Kodama (1989). Paralytic shellfish toxins in bivalves which are not associated with dinoflagellates *Toxicon*, 27, 1241-1244.
  - 27 Kodama, M., T. Ogata, S. Sakamoto, S. Sato, T. Honda and T. Miwatani (1990). Production of paralytic shellfish toxins by a bacterium *Moraxella* sp. isolated from *Protogonyaulax tamarensis* *Toxicon*, 28, 707-714
  - 28 Solomon, H. and H. Snyder. (1990), Brain of Drug, pp. 1-33, Tokyo Kagakutouin.
  - 29 Cheun, B., J.S. Yoo and E. Watanabe. (1998d), Safety of seafood based on using the biosensor and hazard analysis critical control point (HACCP), *Biotechnology News* (in press).
  - 30 Nagashima, Y., T. Maruyama, T. Noguchi, and K. Hashimoto (1987), Analysis of paralytic shellfish poison and tetrodotoxin by ion-pairing high performance liquid chromatography, *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 53, 819-823
  - 31 Bates, H.A., R. Kostriken and H. Rapoport. (1978), The occurrence of saxitoxin and other toxins in various dinoflagellate. *Toxicon*, 16, 595-601
  - 32 Japanese official method. (1990), *Standard methods of analysis for hygienic chemists with commentary*, pp. 417-430, Pharmaceutical Society of Japan.