

곡류 및 두류 에탄올 추출물의 *in vitro* 발암 억제 효과 비교

최영희 · 강미영 · 남석현*

경북대학교 사범대학 가정교육과, *아주대학교 자연과학대학 자연과학부

Inhibitory Effect of Various Cereal and Bean Extracts on Carcinogenicity *in vitro*

Yeong Hee Choi, Mi Young Kang and Seok Hyun Nam*

Department of Home Economics, Teachers college, Kyungpook National University

*Division of Natural Science, College of Natural Science, Ajou University

Abstracts

To investigate the anticarcinogenic activity of 70% ethanol extracts from various cereals *in vitro*, antimutagenic activity, inhibitory effect of DNA strand scission and tumor promotion were examined. The antimutagenic activity of the beans such as black bean and small red bean was generally higher than that of cereals examined. However inhibitory activity of 70% ethanolic extracts against DNA strand scission induced by mitomycin C showed that millet, job's tear, black bean and soy bean among cereals and beans tested in this study inhibited effectively the DNA strand scission. Antioxidative activity of some cereal extracts determined by using linoleic acid model system showed that Job's tear, millet and black bean were higher antioxidative activity than other cereals and beans. Conventional short-term antipromoter assay system using activation of Epstein Barr virus (EBV) clearly demonstrated that sorghum, buckwheat, black bean and small red bean have inhibitory effects on promotion in cellular carcinogenesis.

Key words: anticarcinogenic activity, cereals and beans

서 론

최근 건강에 대한 관심이 높아지면서 일상적으로 섭취하는 식품에 함유되어 있는 생리활성 물질의 생체조절기능에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며⁽¹⁻¹¹⁾, 특히 식물성 식품에 함유되어 있는 비타민 A, C, E 및 phenolic compound들의 항암 효과가 널리 인정되고 있다⁽¹²⁻¹⁸⁾. 발암의 여러 가지 요인중 30% 이상이 식품섭취와 관련이 있어^(19,20), 지속적이고 반복적으로 섭취하는 식품의 선택이 암의 예방 및 치료효과에 중요한 역할을 수행하리라 예상할 수 있다. 우리들의 식생활에서 주식으로 이용되는 쌀을 포함한 잡곡류는 주성분이 전분이므로 생리조절기능에 효과가 있는 성분들에 대한 연구는 미비한 실정이다. 그러나 미량이지만 여러 가지 phenolic compound, lignin, flavonoid, phytic acid 등이 함유되어 있으며^(21,22) 다량섭취가 가능

하다는 점을 감안 한다면 이들에 대한 항암효과가 기대되는 식품들이다.

이에 본 연구는 한국인이 상용하는 9종류의 쌀 및 잡곡류의 에탄올추출물을 시료로 하여 이들의 항변이 활성, 항산화 활성, DNA 손상억제효과 및 발암 promotion 억제효과들을 검토함으로써 발암억제효과를 비교하고자 한다.

재료 및 방법

공시시료 및 시약

실험에 사용된 쌀은 충청벼로서 백미와 현미의 상태로 농촌진흥청 작물시험장에서 제공받아 사용하였다. 수수, 조, 울무, 보리, 흰콩, 검정콩, 팥은 시중농협에서 구입하여 사용하였다.

시료는 food mixer (대원 food mixer, DWN-501)로 건식제분하여 20 mesh를 통과시킨 분말을 추출용 시료로 이용하였다. 각 시료의 에탄올 추출물은 분말시료 중량의 5배량의 70% 에탄올로 80°C에서 3시간씩

Corresponding author: Yeong Hee Choi, Department of Home Economics, Teachers college, Kyungpook National University, 1370, Sankyuk-dong, Tague 702-701, Korea

2회 환류추출하였다. 추출액은 여과후 rotary evaporator (EYELA Co., Japan)을 이용하여 감압 농축하였으며 dimethyl sulfoxide에 100 mg/mL 농도로 용해하여 -20 °C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

Mitomycin C, ONPG (*o*-nitrophenyl- β -galactopyranoside), PNPP (*p*-nitrophenyl phosphate disodium), Tris [hydroxymethyl]amino-methan, SDS (sodium dodecyl sulfate), DMSO (dimethyl sulfoxide), sodium borohydrate, CuCl₂ 및 TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)는 Sigma의 제품을 사용하였고 Φ X174RF DNA는 Gibco-BRL로부터 구입하였다. Epstein-Barr virus (EBV) early antigen에 대한 monoclonal antibody는 Novocastra Laboratories의 제품을 사용하였으며 western blot용 ECL kit는 Amersham에서 구입하여 사용하였다. 그 밖의 시약은 특급 시약을 사용하였다.

변이원 억제효과 및 항산화 활성의 측정

화학적 변이원 mitomycin C에 대한 에탄올 추출물의 변이원성 억제 효과는 *E. coli* PQ 37 균주를 이용한 SOS chromotest로서 측정하였으며^(23,24) 항산화 활성은 linoleic acid model system을 이용하여 측정하였다⁽²⁵⁾. 각 시료가 보이는 항산화 활성은 시료를 첨가하지 않은 반응액의 지질과산화물을 500 nm의 흡광도에서 측정하여 흡광도가 0.3에 도달하는 일수를 대조군으로 하여 이것에 대한 상대적인 수치로서 결정하였다.

DNA 손상의 측정

DNA strand scission의 억제효과는 mitomycin C에 의하여 double strand super coil DNA의 한쪽 strand에 nicking 발생이 시료의 첨가에 의하여 억제되는 정도를 측정하였다⁽²⁶⁾.

즉 0.2 μ g의 Φ X174RF DNA를 100 mM의 mitomycin C와 0.5 mM의 sodium borohydrate 및 0.1 mM의 CuCl₂ 첨가 조건하에서 10 mg/mL의 시료를 첨가한 다음 37°C 1시간동안 반응 후 반응정지액(50% glycerol, 0.1 M EDTA, 0.1% bromophenol blue)을 첨가하여 TAE (40 mM Trisacetate-1 mM EDTA)buffer로 완충시킨 1% agarose gel에서 전기영동을 수행하였다. 전기영동이 끝난 gel을 ethidium bromide로 염색한 다음 UV transilluminator로 super coiled DNA (RF I)와 nicking이 발생한 open circled DNA (RF II)을 확인하였다.

발암 promoter 활성에 대한 억제효과의 측정^(27,28)

Epstein barr virus에 의하여 tranformation된 marmot B lymphoblast cell line인 B-95-8 cell을 10%의 우태아

혈청(Gibco-BRL)이 포함된 RPMI1640배지(Gibco-BRL)에서 37°C, 5%의 CO₂의 조건에서 배양하였다. 시료에 의한 발암 promoter의 억제효과는 Ito 등⁽²⁷⁾이 개발한 방법을 약간 변형하여 수행하였다. 2 \times 10⁶의 세포를 60 ng의 TPA와 400 μ g의 쌀겨추출분획과 함께 36시간 배양한 다음 RIPA buffer (50 mM Tris pH 7.2, 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% Sodium deoxychorate, 0.1% SDS, 1% Trasyol, 1 mM DTT, 2 mM PMSF)에 세포를 용해시켜 세포의 총단백질 분획을 제조하였다. Bradford법⁽²⁹⁾으로 정량한 세포단백질 중 10 μ g을 SDS-PAGE로 분획한 후 TPA에 의하여 유도된 EBV early diffusible antigen의 발현이 억제되는 정도를 western blot으로 측정하였다. Western blot의 면역반응에 있어서 EBV early diffuse antigen에 대한 단클론항체를 일차항체로 그리고 peroxidase가 결합된 항마우스 IgG 항체를 이차항체로 사용하였으며 모든 반응은 Amersham사가 제시한 ECL western blot 설명서에 의거하여 수행하였다. 항원의 발현정도는 X-ray film에 감광된 antigen band로서 확인하였다.

결과 및 고찰

에탄올추출물의 변이원 억제활성

E. coli PQ 37균주를 이용하여 변이원성을 측정하는 SOS chromotest에 의해서 에탄올추출물의 변이원성 억제활성을 측정하였다. Table 1에 나타내는 바와같이 70% ethanol 추출물의 mg당 항변이원성은 두류가 화곡류에 비해 mg당 항변이 활성이 높은 경향을 보였다. 특히 짧은 백미에 비해 4배이상의 변이원성 억제 효과를 보였으며 검정콩과 흰콩은 2배 이상의 효과를 보였다. 이들 두류는 화곡류에 비해 전분의 함량이 낮

Table 1. The inhibitory effects of 70% ethanol extract from some cereals and beans on mutagenicity induced by mitomycin C

Sample	Yield ¹⁾	Inhibition units (IU)	
		Unit/mg	Total activity (units)
White rice	320	0.16	51.2
Brown rice	472	0.30	141.6
Barley	730	0.27	194.2
Sorghum	1360	0.23	312.8
Job's tear	3880	0.13	519.9
Buckwheat	580	0.23	136.9
Millet	720	0.63	455.0
Small red bean	660	0.80	1334.6
Black bean	2130	0.46	988.3
Soy bean	1510	0.40	610.0

¹⁾mg per 20 g dry weight.

고 여러 가지 flavonoid 물질들이 존재하며 또한 phytic acid 등의 물질이 많이 함유되어 있으므로 나타나는 결과로 생각된다. 백미에 비해 현미의 단위중량당 활성이 2배 정도 높았으며 회수량을 감안한 총활성량도 3배정도 높았다. 그러나 건강식품으로 널리 알려진 율무에서는 변이원성 억제활성이 기대 만큼 크지는 않았다.

에탄올추출물의 DNA 손상억제 효과

본 실험에서 변이원으로 사용한 Mitomycin C는 세포의 DNA에 strand cross link를 형성할 수 있다는 점이 알려져 있고, 또한 Mitomycin C의 quinon 부위는 공기나 기타의 화학적 환원에 의해서 superoxide anion이나 hydrogen peroxide를 형성하게하여 strand scission에 의한 DNA 손상을 유도하는 것으로 알려져 있다^(30,31). 그러므로 본 연구에서는 Mitomycin C가 유도한 DNA의 손상을 억제시킬 수 있는 물질이 쌀 및 잡곡류 에탄올추출물에 포함되어 있는가를 검정하였다. 즉, dsDNA phase인 Φ X174의 double strand super coil DNA (RF I)가 변이원 물질인 mitomycin C의 strand scission에 의해서 double strand open circle DNA (RF II)로 전환되는 현상이 곡류추출물에 의해 저해되는 정도를 비교하였다(Fig 1-A, 1-B). Fig 1-A 및 1-B의 lane 1은 Φ X174 DNA에 mitomycin C 처리를 하지 않은 negative control로서 RF I DNA와 RF II DNA의 위치를 나타내고 있으며, lane 2는 Φ X174 DNA에 CuCl₂와 sodium borohydrate가 함유된 조건에서 mitomycin C 처리를 하여 1시간동안 DNA의 nicking을 유도한 positive control이다. Lane 2에서 알 수 있듯이 RF I DNA가 Mitomycin C 처리에 의해 완전히 손상되어 전부 RF II DNA로 전환된것을 알 수 있다. 곡류중 현미는 백미에 비해 RF I DNA의 손상정도가 낮았으며 조와 율무도 DNA의 손상을 억제하는 효과를 보였다. 반면, 수수와 보리는 RF I DNA가 거의 손상되어 RF II DNA로 이행된 것으로 보아 DNA의 손상을 억제하는 효과가 보이지 않았다. Fig 1-B에서 알 수 있듯이 두류중 흰콩과 검정콩은 DNA의 손상을 억제하는 효과가 뚜렷하였으며 팥의 효과도 미미하나마 확인 할수 있었다. 곡류추출물중 검정콩, 흰콩, 현미의 추출물에는 세포내에서 흔히 발생하는 free radical에 의한 DNA 손상을 저해시킬 수 있는 물질이 존재하고 있으며, 그 저해효과는 검정콩 > 흰콩 > 현미 > 율무 > 조의 순이었다.

에탄올추출물의 항산화 활성

쌀 및 잡곡류 에탄올 추출물의 DNA 손상에 대한 억

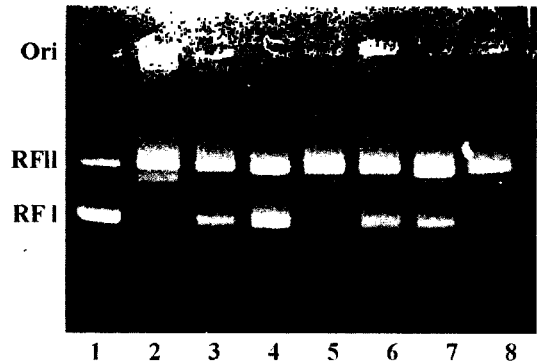


Fig. 1-A. Agarose gel electrophoregram of Φ X174 DNA for examining strand scission induced by addition of the cereal extracts. lane 1, negative control; lane 2, positive control; lane 3, white rice; lane 4, brown rice; lane 5, sorghum; lane 6, millet; lane 7, job's tear; lane 8, barley.

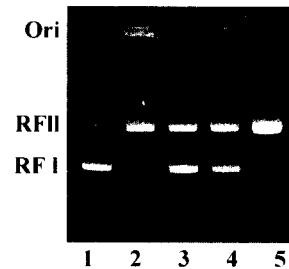


Fig. 1-B. Agarose gel electrophoregram of Φ X174 DNA for examining strand scission induced by addition of the bean extracts. lane 1, negative control; lane 2, positive control; lane 3, soy bean; lane 4, black bean; lane 5, small red bean.

제 효과가 관찰되었으므로(Fig. 1-A, 1-B) 이러한 효과가 이들 시료의 항산화 활성과는 어떠한 연관이 있는가에 대해서 검토하고자 linoleic acid model system을 이용하여 항산화 활성을 측정하였다(Fig. 2). 화곡류중 율무와 조의 추출물이 항산화효과가 컸으며, 두류중 검정콩의 항산화 효과가 큰 것이 관찰되었다. 이들의 항산화효과는 율무 > 검정콩 > 조 > 흰콩 > 보리 > 현미의 순이었으며 이러한 항산화효과와 DNA 손상억제의 효과의 경향은 다소 일치하지 않은 경향을 보였다. 이것은 linoleic acid의 자동산화반응을 지표로 한 항산화 활성의 측정이 미세한 항산화 작용을 측정하는데는 부적합하다는 것을 보여주는 결과일 가능성이 높으므로 향후 활성산소의 소거경향을 직접 측정할 수 있는 실험방법의 개발과 도입이 필요함을 시사하고 있다.

에탄올추출물의 발암 promotion 억제효과

발암 promotion 과정은 잠재적 종양세포에서 종양

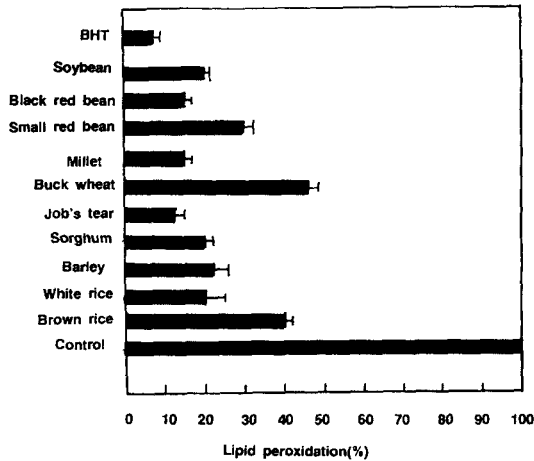


Fig. 2. Antioxidative activities of crude 70% ethanol extract from the cereal extracts in linoleic acid system. The activity was determined by the thiocyanate method. The values are reported as mean \pm SD (n=3). A control without an added sample or BHT (200 μ g) represents 100% lipid peroxidation.

세포화를 유도하여 암으로 발전시키는 과정으로서, 이 과정에 필수적으로 작용하는 인자를 promoter라 한다. 이 물질은 그 자신은 발암성이 없으나, 작용이 세포막상의 receptor를 매개로 하여 잠재적 종양세포의 유전정보 발현이나 분화에 관련되어 있다는 점에서 initiator와는 그성질이 다르다⁽³²⁾. 발암 promotion 단계의 저해는 암예방에 있어 매우 중요하다. 곡류 추출물의 발암 promotion 억제 효과를 검토하기 위하여 단기 검출법인 Epstein-Barr Virus (EBV) 활성화 시험법⁽²⁸⁾을 적용하였다. 발암 promoter로서는 TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)를 사용하였으며, 사람에게 주로 감염 잠복하는 herpesvirus의 일종인 Epstein Barr Virus (EBV) genome을 보유한 B 림프구 세포를 발암 promoter와 함께 배양하면 EBV가 활성화되어 조기항원(EA; early antigene)이 유도된다. 이러한 조기항원 유도능과 발암 promotion 활성화간에는 상관관계가 있으며, 조기항원 유도 억제물질의 대부분이 *in vivo* 실험에서 promotion 억제물질이 된다고 알려져 있다⁽²⁸⁾. 본 실험에서는 유도된 조기항원을 western blotting에 의해서 검출하였으며, 에탄올 추출시료의 조기항원 검출 억제효과에 대한 비교를 Fig. 3-A, 3-B에 나타내었다.

Fig. 3-A의 lane 1은 negative control로서 TPA를 처리하지 않은 Epstein Barr virus 감염세포인 B-598이고, lane 2는 positive control로서 B-598에 promoter 물질인 TPA를 첨가하여 조기항원을 유도시킨 것이고, 3번에서 7번 lane은 곡류추출물을 첨가하여 조기항원

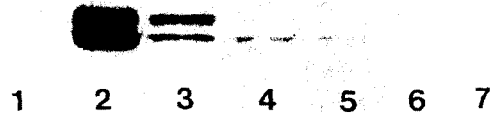


Fig. 3-A. Western blotting analysis for examining inhibitory effects of the cereals extracts on EBV early antigen expression induced by TPA. lane 1, negative control; lane 2, positive control; lane 3, white rice; lane 4, brown rice; lane 5, barley; lane 6, sorghum; lane 7, buckwheat.

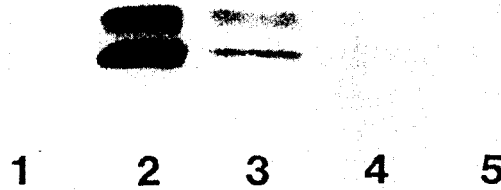


Fig. 3-B. Western blotting analysis for examining inhibitory effects of the beans extracts on EBV early antigen expression induced by TPA. lane 1, negative control; lane 2, positive control; lane 3, soy bean; lane 4, black bean; lane 5, small red bean.

의 발현정도가 억제되는 정도를 측정하였다. 4번 lane의 현미는 3번 lane 백미에 비해 발현정도가 낮아 promotion 억제효과가 관찰되었으며 수수와 메밀의 band는 거의 나타나지 않아 조기항원 억제효과가 화곡류중 가장 강함을 알 수 있었다. Fig. 3-B는 두류의 조기항원 발현억제를 관찰한 결과이다. lane 4, 5의 검정콩과 팥은 band가 거의 나타나지 않아 강한 억제효과를 보유함을 나타내었다.

요 약

곡류 및 두류에탄올 추출물의 발암억제효과를 검토하기 위하여 10종의 곡류를 선정해서 70% 에탄올 추출물을 얻은 다음 항변이활성, 항산화활성, DNA 손상 억제효과 및 발암 promotion 억제효과를 비교하였다.

E. coli PQ 37 균주를 이용한 SOS chromotest에 의해서 항변이활성을 검색한 결과 화곡류에 비해 두류의 활성이 높은 경향을 보였으며, 특히 검정콩과 팥의 항변이활성이 높았다. 변이원 물질로 사용되는 mitomycin C는 DNA의 strand scission 현상을 유발함으로써 DNA의 손상을 초래하게 되므로, 이의 처리를 통하

여 쌀겨 및 곡류 추출물이 DNA의 손상을 억제하는 정도를 측정하였다. 곡류중 조와 울무의 70% 에탄올 추출물의 DNA 손상억제 효과가 큰 것으로 관찰되었으며 두류중에는 검정콩과 흰콩의 70% 에탄올 추출물에서 강한 DNA 손상억제효과를 관찰하였다. 곡류 및 두류 에탄올추출물의 DNA 손상억제효과가 확인되었으므로 이들의 효과를 검증하기 위하여 Linoleic acid model system을 이용한 항산화 활성을 측정하였다. DNA 손상억제효과와 유사하게 두류의 항산화 효과가 컸으며 울무 > 검정콩 > 조 > 흰콩 > 보리 > 현미의 순이었다. Epstein-Barr Virus (EBV)활성화 시험법을 적용하여 곡류 및 두류 에탄올추출물의 발암 promotion 억제 효과를 측정한 결과, 수수와 메밀의 발암 promotion 억제 효과가 관찰되었고 두류중 검정콩과 팥에 있어서 강한 억제효과가 관찰되었다.

문 헌

- Kim, J.O., Kim, Y.S., Lee, J.H., Kim, M.N., Rhee, S.H., Moon, S.H. and Park, K.Y.: Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from Mugwort. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**(3), 308-313 (1992)
- Tsuneo, K., Masayuki, K., Katsuhiko, A. and Shuhach, K.: Adsorption of pyrolysate mutagen by vegetable fibers. *Mutation Res.*, **141**, 149-152 (1984)
- Txsuneo, K., Kazuyoshi, M. and Tadashi, I.: Antimutagenic action of vegetable factors on the mutagenic principle of tryptothan pyrolysate. *Mutation Res.*, **53**, 351-353 (1978)
- Ebata, J., Kawai, K. and Furukawa, H.: Inhibitory effects of dietary leafy vegetables on mutagens and active oxygens. In: Bronzetti, G *et al* edit, Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanism III, Plenum press, New York, p.99-102 (1993)
- Lee, K.L., Rhee, S.H., Park, K.Y. and Kim, J.O.: Antimutagenic compound identified from perilla leaf (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 302-307 (1992)
- Lawson, T., Nunnally, J., Walker, B., Bresnik, E., Wheeler, D. and Wheeler, M.: Isolation of compounds with antimutagenic activity from Savory Chieften Cabbage. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 1363-1367 (1989)
- Ryu, B.H., Kim, D.S. and Sin, D.B.: Antitumor activity of sea weed toward sarcoma-180 (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**(5), 595-599 (1989)
- Samejima, K., Kanazawa, K. and Nanno, G.: Luteoline: a strong antimutagen against dietary carcinogen, Trp-P-2 in peppermint, sage and thyme. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 410-414 (1995)
- Osawa, T.: Phenolic antioxidants in dietary plants as antimutagen. In: Huang, M.T., Ho, C.T. and Lee, C.Y. editors, Phenolic compound in food and their effects on health II. Antioxidants and cancer prevention. ACS. symposium series. 507, American Chemical Society, Washington D. C., p.135-149 (1992)
- Chan, R.I.M., Rosin, H.F. and Powrie, W.D.: Antimutagenic activity of browning reaction products. *Cancer Lett.*, **15**, 27-33 (1979)
- Kong, Z.L., Mitsuiki, M., Murakami, H. and Omura, H.: Desmutagenicity of furan compounds toward some mutagens. *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2073-2079 (1989)
- Ramel, C., Alekperov, U.K., Ames, B.N., Kada, T. and Wattenberg, L.W.: Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis. *Mutation Res.*, **168**, 47-65 (1986)
- Zhang, Y., Talalay, P., Cho, C.G. and Posner, G.H.: A major inducer of anticarcinogenic protective enzyme from broccoli. *Pro. Natl. Acad. Sci., U.A.S.* **89**, 2399-2403 (1992)
- Kahn, S.G., Katiyar, S.K., Agarwal, R. and Mukhta, H.: Enhancement of antioxidant and phase II enzyme by oral feeding green tea polyphenols in drinking water to SHK-1 hairless mice; possible role in cancer chemoprevention. *Cancer Res.*, **52**, 4050-4052 (1992)
- Mergens, W., Kamm, J.J., Newmark, H.L., Fiddler, W. and Pensabene, J.: In Environmental aspects of N-nitroso compounds: α -tocopherol; uses in preventing nitrosamin formation. Walker, E.A., Casegnaro, M., Grieciute, L., and Lyle, R.E., Ed, No16 IARC Publication, Lyon, France (1978)
- Namiki, M., Udaka, S., Osawa, T., Tsuji, K. and Kada, T.: Formation of ascorbic acid-nitrite reaction: effects of reaction conditions on biological activities. *Mutation Res.*, **73**, 21-28 (1980)
- Cook, M. G. and McNamara, P.: Effect of dietary vitamin E on dimethylhydrazine-induced colonic tumors in mice. *Cancer Res.*, **40**, 1329-1331 (1980)
- Wattenberg, L.W., Coccia, J.B. and Lan, L.K.T.: Inhibitory effects of phenolic compounds on benzo[a]pyren-induced neoplasia. *Cancer Res.*, **40**, 2820-2823 (1980)
- Ryu, B.H.: Eating habits preventing against cancer (in Korean). *Korean J. Food & Nutrition*, **40**, 213-229 (1991)
- Ryu, T.H.: Food, nutrition and cancer (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutrition*, **14**(3), 305-313 (1985)
- Osawa, T., Ide, A., Jeng, D.S. and Namiki, M.: Inhibition of lipid peroxidation by ellagic acid, *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 808-812 (1987)
- Newmark, H.L.: A hypothesis for dietary components as blocking agents of chemical carcinogenesis: plant phenolics and pyrrole pigments. *Nutr. Cancer*, **6**, 58-70 (1984)
- Kang, M.Y., Choi, Y.H. and Nam, S.H.: Screening of antimutagenic activities from cereals and beans including rice (in Korean). *Agricultural Chem. Biotechnol.*, **39**, 419-423 (1996)
- Kang, M.Y., Choi, Y.H. and Nam, S.H.: Inhibitory mechanism of colored rice bran extract against mutagenicity induced by chemical mutagen mitomycin C (in Korean). *Agricultural Chemistry Biotechnology*, **39**, 424-429 (1996)
- Yen, G.C. and Chen, H.Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 27-32 (1995)
- Satoshi, N., Shoji, F., Kunisuke, T., Kazumitsu, U. and Tohru, K.: Induction of strand breakage in $\Phi \times 174$ RF

- I DNA by amino sugar derivatives. *Agric. Biol. Chem.*, **48**(11), 2865-2867 (1984)
27. Ito, Y., Yanase, S., Fujita, J., Harayama, T., Takashima, M. and Imaraka, H.: A short-term *in vitro* assay for promoter substance using human lymphoblastoid cells latently infected with Epstein-Barr Virus. *Cancer letters*, **13**, 29-37 (1981)
28. Okamoto, H., Yoshida, D. and Mizusaki, S.: Inhibition of 12-O-tetra decanoylphorbol-13-acetate-induced induction in Epstein-Barr Virus early antigen in raji cell. *Cancer letters*. **19**, 47-53 (1983)
29. Bradford, M.M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254 (1976)
30. Tomasz, M., Mercado, C.M., Olson, J and Chatterjee, N.: The mode of interaction of mitomycin C with deoxyribonucleic acid and other polynucleotides, *in vitro*. *Biochemistry*. **13**, 4878-4887 (1974)
31. Ueda, K., Morita, J. and Komano, T.: Action of mitomycin C reduced with sodium borohydride on bacteriophage $\Phi \times 174$ and its single and double stranded DNAs. *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1695-1677 (1982)
32. Watenberg L.W.: Chemoprevention of cancer. *Cancer Res.*, **45**, 1-8 (1985)
-
- (1998년 3월 19일 접수)