

감마선조사 생약재(어성초, 구기자)의 안전성에 관한 유전독성학적 평가

조성기·유영범·오 현·곽연길·변명우
한국원자력연구소 방사선식품·생명공학기술개발팀

Genotoxicological Safety of the Two Gamma-Irradiated Herbs : *Houttuynia cordata* Thunberg and *Lycium chinense* Miller

Sung-Kee Jo, Young-Beob Yu, Heon Oh, Youn-Gil Kwak and Myung-Woo Byun

Team for Radiation Food Technology and Bioscience
Korea Atomic Energy Research Institute

Abstract

These experiments were performed to investigate the safety of two herbs—*Houttuynia cordata* Thunberg and *Lycium chinense* Miller—irradiated with gamma-rays in respect of genotoxicity. Water extracts from the 10 kGy gamma-irradiated herbs were examined in two short-term in vitro tests : (1) *Salmonella typhimurium* reversion assay (Ames test) in strain TA 98 and TA 100 and (2) Micronucleus test on cultured Chinese hamster ovary (CHO) cells. No mutagenicity was detected in the two assays with or without metabolic activation. From these results, the safety of the herbs irradiated with gamma-rays at practical doses could be revealed in further tests of genotoxicity in vivo, chronic and reproductive toxicity.

Key words : Herb, Ames test, micronucleus test, CHO cells

서 론

농수산물의 저장 및 유통 과정의 위해성을 억제하기 위한 수단으로 방사선 조사기법이 연구되어 왔다. 이 기술의 효율성으로 인해 현재 37개국에서 방사선 조사 식품이 허가되었고, 이중 25개국에서 상업적으로 실용화되고 있다(1). 국내에서도 상업적 방사선 조사 시설 1기가 1987년 6월부터 가동되고 있으며, 현재까지 13 개 식품 품목 군에 대한 방사선 조사가 보건복지부로부터 허가되었다(2). 그러나 방사선 조사 식품에 대한 소비자 수용성은 많은 과제를 안고 있

으며, 조사식품 안전성에 대한 과학적 인식의 전달이 당면한 과제이기도 하다.

방사선 조사 식품의 안전성에 관해서는 1980년 국제기구인 조사식품공동전문위원회(FAO/IAEA/WHO Expert Committee on the Wholesomeness of Irradiated Foods, JECFI)가 종합평가로서 “평균 10 kGy 이하로 조사된 모든 식품은 독성학적으로 안전하며, 영양학적으로도 문제가 되지 않는다”고 결론을 지었다(3). 또 한편, 1992년 5월 WHO에서는 국제소비자연맹(IOCU)의 대표단과 식품조사를 반대하는 식품과학 및 식품화학 전공 교수들의 참석 하에 회의를 개최한 결과, 조사 식품의 안전성 및 영양적 적합성을 재확인하면서 식품을 제조관리수칙에 따라 방사선을 조사할 경우 인간의 건강을 해롭게 하는 어떠한 성분변화나 이물질이 생성되지 않으며, 소비자들에게 미생물학적 위험성을 증가시키지 않는다고 발표하였다(4).

Corresponding author : Sung-Kee Jo, Team for Radiation Food Technology and Bioscience, Korea Atomic Energy Research Institute, Yusung P.O. Box 105, Taejeon, 305-600, Korea
E-mail : skjo@nanum.kaeri.re.kr

따라서, 저자들은 생약재의 위생화를 위한 감마선 조사기술의 이용 가능성을 검토하기 위해 이미 미생물학적, 이화학적 안전성을 확인하였고, 본 연구는 오염유기체 완전 구제 선량인 10 kGy의 감마선으로 조사된 생약재의 유전독성학적 안전성을 평가하고자, 1 차적으로 *Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이 시험과 배양된 Chinese hamster ovary(CHO) 세포를 이용한 소핵시험을 시행하였다.

재료 및 방법

재료

시험대상 생약재는 어성초(*Houttuynia cordata* Thumb.), 구기자(*Lycium chinense* Miller) 이었으며, 경동시장에서 한국산으로 구입하였다.

감마선 조사

생약재의 방사선 조사는 한국원자력연구소에 소재하는 감마선 조사시설(선원: Co-60, 10만 Ci)을 이용하여 실온에서 시간당 2 kGy의 선량율로 10 kGy의 총흡수선량을 얻도록 하였다. 이때 흡수선량을 확인하기 위하여 free radical dosimeter와 ceric cerous dosimeter를 이용하였다.

감마선 조사 및 비조사 생약재 40 g에 10배 양의 증류수를 가하여 약탕기에 넣고 2시간 30분씩 2회 끓인 액을 감압농축한 후 동결건조하여 시료로 사용하였다.

*Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이 시험

시험을 위한 배지, 시약 및 S9 mix의 조제와 시험방법은 Marton & Ames의 방법(5,6)에 따랐다. S9 분획(7,8)은 Pheno-barbital 과 5,6-benzoflavone으로 유도한 Sprague-Dawley rat(CRU; 7 week-old, male)의 간으로부터 분리한 것으로 일본 Oriental Yeast Co, LTD.에서 구입(protein content : 23.6 mg/ml S9)하였으며, 4% S9 mix를 제조하여 사용하였다.

시험에 사용한 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100은 Ames 교수 연구실로부터 분양 받았다. 각 균주는 histidine 요구성, deep rough(rfa) 특성, UV에 대한 민감도(uvrB 돌연변이), R-factor에 의한 ampicillin 또는 tetracycline 내성 등의 유전형질을 확인한 후 시험에 사용하였다.

대사 활성화시키지 않는 경우의 시험은 standard plate incorporation test로, 대사 활성화시키는 경우에는 pouring하기 전에 30분간 예비 배양하는 preincubation

test로 시행하였다. 시험관에 인산완충용액 0.5ml (대사 활성화시키는 경우에는 S9 mix 0.5ml), 시료용액 0.1ml 과 oxid nutrient broth에서 12시간 배양시킨 균 배양액 0.1ml을 넣어 가볍게 vortex하였다. 대사 활성화시키지 않는 경우에는 바로 (대사 활성화시키는 경우에는 30분간 37 °C에서 예비 배양한 다음) histidine/biotin이 첨가된 top agar(45 °C)를 2ml 가하고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate 상에 부어 평판고화시켰다. 37 °C에서 48 시간 배양한 후 revertant colony를 계수하였다. 돌연변이 유발성의 판정은 원저의 제시에 따라 복귀변이 집락수가 용매대조군의 2배 이상이면서 용량의존성을 갖는 경우를 양성으로 하였다.

포유류 배양세포를 이용한 소핵시험

시험에 사용된 Chinese hamster ovary (CHO) 세포는 서울대학교 보건대학원 정해원 교수로부터 분양 받았다. 배지는 10% fetal bovine serum, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 5×10⁻⁵ 2-mercaptoethanol 및 20 mM HEPES buffer를 첨가시킨 McCoy's 5A 배지를 사용하였으며, 모두 GIBCO BRL, Inc.(U.S.A.)에서 구입하였다. 배양은 포화 상대습도 조건하에서 5% CO₂를 공급하는 37 °C의 CO₂ Incubator에서 수행하였다.

시험방법은 CHO 세포 8×10⁴개를 Flaskette (19.8×51.8 mm, Nunc)에 파종하여 2일간 배양한 후, 시험물질을 첨가하고 24시간 후에 세포표본을 만들었다. Fenech and Morley의 cytokinesis-block (CB) method(9)에 따라 cytochalasin B(Cyt-B; 3 µg/ml, Aldrich)를 시험물질과 함께 첨가하였다. 배양액을 suction out 시킨 다음, 75 mM KCl 용액 2 ml을 가하여 5분간 방치한 다음, 고정액(methanol : acetic acid, 3:1)으로 3회 고정시킨 후 공기건조법으로 세포표본을 만들었다. 3% Giemsa 염색액(pH 6.5)으로 15분간 염색하여 광학현미경으로 600배에서 관찰하였다. Cyt-B는 DMSO에 2 mg/ml로 녹여 -70 °C에 보관하고, 사용하기 직전에 녹여 Hanks' balanced salt solution으로 희석하여 사용하였다. 대사활성 존재하의 시험은 같은 방법으로 세포를 배양한 후, 시험물질과 S9 mix(배지의 20% 비율)를 첨가하여 6시간동안 배양한 다음, 신선한 배지로 교환하고 Cyt-B를 첨가하여 18시간 더 배양한 후 세포표본을 만들었다.

시험물질의 첨가는 최고농도에서 배양용량의 1/10 이하가 되게 하였다. 음성 대조군으로는 희석액인 시료용매를, 양성 대조군으로는 직접 법에서는 증류수에 녹인 mytomycin C(Sigma)를 0.1 µg/ml로, 대사활성

화법에서는 DMSO에 녹인 benzo(a) pyrene(Sigma)을 0.02 mg/ml로 첨가하였다.

Micronuclei (MN)의 판독은 Almásy 등(10)의 기준에 따른다. 1,000개의 binucleated CB세포들 중 MN을 갖는 세포를 계수하였다.

결과 및 고찰

돌연변이원성 검증

시험대상은 오염유기체 완전 구제 선량인 10 kGy의 감마선으로 조사된 어청초 및 구기자의 물추출물이었다. 대상물질이 천연생약재임을 고려하여 50%의 균주생장억제를 나타내는 농도를 최고농도로 하여, *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100의 복귀돌연변이 집락수를 조사한 결과를 Table 1,2에 나타내었다.

Table 1. Revertant colonies in the *salmonella typhimurium* reversion assay with water extract of γ -irradiated *Houttuynia cordata* Thunberg.

Test Material	Irradiation ^a	S9 Mix	Dose (ug/plate)	Number of revertant colonies(his ^r) per plate	
				TA 98	TA 100
H ₂ O	-	-	-	29 44 38 (37)	178 144 175 (166)
<i>Houttuynia cordata</i>	-	-	5000	41 42 (43)	185 179 (182)
	-	-	1650	32 26 (29)	156 174 (165)
	-	-	550	37 38 (38)	143 153 (149)
	-	-	180	27 36 (32)	162 138 (150)
	-	-	61	40 41 (41)	164 166 (165)
	-	-	5000	34 47 (39)	190 173 (182)
	+	-	1650	37 37 (37)	165 157 (161)
	+	-	550	30 37 (34)	152 149 (151)
	+	-	180	29 44 (37)	162 141 (152)
	+	-	61	28 31 (30)	152 170 (161)
NPD	-	-	20	2021 1968 (1995)	
Na-Azide	-	-	1.5	1121 1269 (1195)	
H ₂ O	-	+	-	66 52 46 (55)	232 222 235 (230)
<i>Houttuynia cordata</i>	-	+	5000	53 53 (53)	236 237 (237)
	-	+	1650	54 65 (60)	240 223 (232)
	-	+	550	50 50 (50)	232 226 (229)
	-	+	180	44 46 (45)	242 238 (240)
	-	+	61	55 59 (57)	237 208 (223)
	+	+	5000	67 54 (61)	242 238 (240)
	+	+	1650	47 62 (55)	217 242 (230)
	+	+	550	44 42 (43)	215 221 (218)
	+	-	180	54 49 (52)	226 246 (236)
	+	+	61	53 49 (51)	222 216 (219)
2-AF	-	+	10	792 732 (762)	2442 2203 (2324)

^aIrradiation(10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the herbs before extraction
NPD(4-nitro-o-phenylenediamine), Na-Azide(sodium azide) and 2AF(2-aminofluorene) were used as positive controls for the corresponding strains

각 시험에서 음성대조군의 복귀변이 집락수는 문헌치(5, 6, 11)의 범위 이내이었고, 양성대조 화합물에 의해 복귀변이 집락수가 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여 졌음을 알 수 있었다. 대사활성화를 시키지 않은 경우와 시킨 경우 모두에서 감마선조사 생약추출물에 의한 각 균주의 복귀돌연변이 집락수의 증가를 인정할 수 없었다. 또한, 각 용량에서 비조사군과 감마선조사군의 집락수도 차이가 없었다. 따라서, 감마선조사 생약추출물이 직접변이원이거나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이 결과는 하 등(11)이 방사선 조사 백삼분말을 시험한 결과와 일치하였다.

Table 2. Revertant colonies in the *Salmonella typhimurium* reversion assay with water extract of γ -irradiated *Lycium chinense* Miller.

Test Material	Irradiation ^a	S9 Mix	Dose (ug/plate)	Number of revertant colonies(his ^r) per plate	
				TA 98	TA 100
H ₂ O	-	-	-	22 25 23 (23)	150 178 155 (161)
<i>Lycium chinense</i>	-	-	5000	24 27 (26)	157 177 (167)
	-	-	1650	21 20 (21)	168 157 (163)
	-	-	550	20 26 (23)	147 152 (150)
	-	-	180	14 20 (17)	149 140 (145)
	-	-	61	18 16 (17)	128 135 (132)
	+	-	5000	29 27 (28)	193 168 (181)
	+	-	1650	21 18 (20)	160 163 (162)
	+	-	550	24 19 (22)	124 160 (142)
	+	-	180	22 22 (22)	141 160 (151)
	+	-	61	18 17 (18)	130 143 (137)
NPD	-	-	20	2021 1968 (1995)	
Na-Azide	-	-	1.5	1121 1269 (1195)	
H ₂ O	-	+	-	38 35 47 (40)	162 151 147 (153)
<i>Lycium chinense</i>	-	+	5000	47 42 (45)	181 173 (177)
	-	+	1650	44 38 (41)	158 151 (155)
	-	+	550	43 42 (43)	155 145 (150)
	-	+	180	37 34 (36)	151 146 (149)
	-	+	61	41 41 (41)	143 142 (143)
	+	+	5000	46 45 (46)	180 169 (175)
	+	+	1650	43 34 (39)	162 166 (164)
	+	+	550	37 43 (40)	160 155 (158)
	+	+	180	43 40 (42)	134 143 (139)
	+	+	61	49 43 (46)	135 140 (138)
2-AF	-	+	10	792 732 (762)	2442 2203 (2324)

^aIrradiation(10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the herbs before extraction
NPD(4-nitro-o-phenylenediamine), Na-Azide(sodium azide) and 2AF(2-aminofluorene) were used as positive controls for the corresponding strains

소핵 유발성 검증

CHO 세포 배양에서 50%의 세포 증식억제를 보인

Table 3. Frequency of Micronuclei(MN) in cytokinesis-blocked CHO cells following treatment with water extract of γ -irradiated *Houttuynia cordata* Thunberg

Material	IR ^a	S9	Conc. (ug/ml)	Cells without MN	Frequency of the cells with MN				No. of MN	MN/1000 cells ^b (Mean \pm S.D.)
					1	2	3	4		
H ₂ O	-	-		2937	60	3	0	0	66	22.0 \pm 5.7
<i>Houttuynia cordata</i>	-	-	1000	2919	74	6	1	0	89	29.7 \pm 3.1
	-	-	300	2921	69	10	0	0	89	29.6 \pm 2.1
	-	-	100	2929	58	11	2	0	87	29.0 \pm 9.2
	+	-	1000	2930	65	5	2	0	81	27.0 \pm 11.5
	+	-	300	2917	78	4	1	0	89	29.7 \pm 2.3
	+	-	100	2920	64	16	0	0	106	32.0 \pm 9.5
	+	+	1000	2919	72	9	0	0	90	30.0 \pm 5.0
	+	+	300	2921	69	10	0	0	89	29.6 \pm 2.1
+	+	100	2934	60	6	0	0	72	24.0 \pm 3.6	
B(a)P	-	+	20	2648	311	35	5	1	400	133.3 \pm 21.4

^aIrradiation(10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the herbs before extraction

^bNumber of MN/1000 binucleated cells in the triplicate experiments in which 1,000 cells were scored
MMC(Mitomycin C) and B(a)P(benzo(a)pyrene) were used as positive controls

Table 4. Frequency of Micronuclei(MN) in cytokinesis-blocked CHO cells following treatment with water extract of γ -irradiated *Lycium chinense* Miller

Material	IR ^a	S9	Conc. (ug/ml)	Cells without MN	Frequency of the cells with MN				No of MN	MN/1000 cells ^b (Mean \pm S.D.)
					1	2	3	4		
H ₂ O	-	-		2925	68	5	2	0	84	28.0 \pm 4.4
<i>Lycium chinense</i>	-	-	3000	2933	64	3	0	0	70	23.3 \pm 2.1
	-	-	1000	2911	84	5	0	0	94	31.3 \pm 5.9
	-	-	300	2939	51	9	1	0	71	24.0 \pm 3.6
	+	-	3000	2919	73	8	0	0	89	29.7 \pm 1.5
	+	-	1000	2932	66	1	1	0	71	23.7 \pm 2.9
	+	-	300	2932	58	9	0	0	76	25.3 \pm 3.2
	+	+	3000	2932	237	38	5	0	328	115.3 \pm 19.6
	+	+	1000	2939	60	1	0	0	62	20.7 \pm 3.2
<i>Lycium Chinense</i>	-	+	3000	2924	72	4	0	0	80	26.7 \pm 3.1
	-	+	1000	2950	41	8	1	0	60	20.0 \pm 5.3
	-	+	300	2934	60	6	0	0	72	23.5 \pm 5.8
	+	+	3000	2930	67	2	1	0	74	24.7 \pm 1.5
	+	+	1000	2944	46	8	2	0	68	22.7 \pm 5.5
	+	+	300	2934	60	4	2	0	74	24.6 \pm 2.3
B(a)P	-	+	20	2653	304	37	6	0	396	132.0 \pm 19.4

^aIrradiation(10 kGy of Co-60 gamma-ray) was treated to the herbs before extraction

^bNumber of MN/1000 binucleated cells in the triplicate experiments in which 1,000 cells were scored
MMC(Mitomycin C) and B(a)P(benzo(a)pyrene) were used as positive controls

농도를 최고농도로 하여, binucleated cells 중에 형성된 소핵을 조사한 결과를 Table 3,4에 나타내었다. 음성대조군의 경우 1,000개의 binucleated cells 중에 형성된 소핵은 22~28개 즉, 2.2~2.8%로서 문헌치(12-14)의 수준이었고, 양성대조 화합물에 의해 소핵수가 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여졌음을 알 수 있었다. 대사 활성화시키지 않은 경우와 시킨 경우 모두에서 감마선 조사 생약재의 추출물에 의한 소핵 수의 증가를 인정할 수 없었으며, 각 용량 단계에서 모두 3% 이하의 소핵 빈도를 보여 음성으로 판정되었다. 즉, 감마선조사 생약재의 추출물이 직접변이원이나 간접변이원으로서 세포 핵분열 중에 이상을 유발하지 않음을 알 수 있었다. 이 결과는 하 등(12)이 방사선조사 백삼분말의 유전독성학적 안전성 평가의 일환으로 염색체 이상 유발성을 시험한 결과와 유사하였다.

소핵은 polychromatic erythrocytes에서 관찰되는 과립 즉 Howell-Jolly body로 혈액학자들에 의해 알려졌으며 염색체 상해와 관련되어 세포핵으로부터 나온 것으로 믿어졌다. 인위적인 소핵유발은 감마선이나 fast neutron으로 조사된 콩의 뿌리 끝에서 관찰되었다. 그후 돌연변이원성 물질을 검색하기 위하여 설치류의 골수에서의 소핵형성 시험이 이용되기 시작하였으며, 최근에는 배양된 동물세포를 이용한 소핵 시험법이 이용되기 시작하였다. 소핵시험은 clastogen 뿐만 아니라 spindle 형성에 영향을 주는 물질도 검색할 수 있는 유전독성의 좋은 지표이며, 돌연변이원성 물질을 쉽고 빨리 검색할 수 있는 방법으로 보고되어 있다(12,14-17).

시료의 유전독성을 판정하기 위한 시험은 세균의 유전자 돌연변이 시험, 포유류 세포의 염색체 이상 시험 등의 시험관내 시험법과 설치류에서의 소핵시험 및 우성치사 시험, 초파리에서의 반성열성치사 시험, 포유류 골수세포의 유전학적 시험 등의 생체 시험법이 있다(18-20). 저자 등은 1차적으로 세균의 유전자 돌연변이 시험들 중 대표적인 *Salmonella typhimurium* 을 이용한 복귀돌연변이 시험과 포유류 배양세포를 이용한 소핵시험을 시행하여, 감마선 조사 생약재의 추출물이 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 유전독성의 평가는 지표가 다른 여러 가지 시험 계에서 얻은 결과로부터 종합적으로 판정되어야 한다고 사료되므로, 생체내 시험이 추가로 시행되어야 할 것으로 생각된다. 나아가서 만성독성 시험 및 생식독성 시험 등이 추가된다면 감마선 조사 생약재의 안전성을 명확히 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

감마선 조사된 생약재의 유전독성학적 안전성을 평가하기 위하여 *Salmonella typhimurium* 균주를 이용한 유전자 복구돌연변이 시험(Ames test)과 배양된 Chinese hamster ovary(CHO) 세포를 이용한 소핵시험을 시행하였다. 시험대상은 오염유기체 완전 구제 선량인 10 kGy의 감마선으로 조사된 어성초, 구기자 추출물이었으며, 시험농도는 대상물질이 생약재임을 고려하여 50%의 균주성장억제를 나타내는 농도를 최고 농도로 하였다. 시험은 대사 활성화시키지 않은 경우와 S9 mix 첨가로 대사 활성화시킨 경우로 나누어 시행하였다. 복구돌연변이 시험 결과 각 시료에 의한 집락수의 증가를 인정할 수 없었으며, 각 용량 단계에서 비조사군과 감마선 조사군간의 차이도 볼 수 없었으므로 음성으로 판정하였다. 소핵시험에서는 cytokinesis-blocked binucleated (CB) cell 내에 생성된 소핵을 계수한 결과 음성 대조군의 경우 소핵수가 22~28개/1,000 CB cells(2.2~2.8%)이었으며, 비조사군과 감마선 조사군의 각 용량단계에서 모두 3%이하의 소핵 빈도를 보였으며 시료 첨가에 의한 소핵빈도의 증가를 인정할 수 없어 음성으로 판정되었다. 따라서 감마선 조사된 각 시료가 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않으며, 세포분열 중에 유전학적으로 독성을 나타내지 않음을 확인할 수 있었다. 이 결과로 보아 생체내 유전독성시험, 만성독성시험 및 생식독성시험 등이 추가된다면 감마선 조사 생약재의 안전성을 명확히 밝힐 수 있을 것으로 사료된다

감사의 글

본 논문은 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행된 연구결과에 일부이며, 그 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Ahmed, M. (1991) *Food irradiation, Up-to-date status*. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, IAEA 6626F, Vienna.
- Byun, M.W., Yook, H.S., Jo, S.K and Chong, Y.J. (1996) Status and prospects of food irradiation technology in Korea. *J. Food Sci. Nutr.*, 1(2), 262-268
- WHO (1981) *Wholesomeness of irradiated food*. Report of a joint FAO/ IAEA/ WHO expert committee on the wholesomeness of irradiated food. *Technical Report Series 659*
- Daferstein, F.K. (1992) *Food irradiation ; The position of the World Health Organization*. 36th General Conference of the International Atomic Energy Agency, Scientific session, Vienna.
- Marton, D.M. and Ames, B.N. (1983) Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.*, 113, 173-215
- Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E. (1975) Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian-microsome* mutagenicity test. *Mutation Res.*, 31, 347-363
- Ashwood-Smith, M.J. (1980) Stability of frozen microsome preparations for use in the Ames *Salmonella* mutagenicity assay. *Mutation Res.*, 69, 199-200
- Hubbard, S.A., Brooks, T.M., Gonzalez, L.P. and Bridges, J.W. (1985) Preparation and characterisation of S9-fractions. In Parry, J.M. and Arlett, C.F. (Eds), *Comparative Genetic Toxicology*. Macmillan, London, p.413
- Fenech, M. and Morley, A.A. (1985), Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Res.*, 147, 29-36
- Almasy, Z., Krepinsky, A.B., Bianco, A. and Koteles, G.J. (1987) The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. A review. *Appl. Radiat. Isot.*, 34, 241-249
- 하광원, 정해관, 오혜영, 허옥순, 손수정, 한의식, 정성철, 최부영, 김영미, 김필선, 문화회 (1994), 방사선조사 인삼의 유전독성에 관한 연구. 한국식품위생·안전성학회지, 9, 67-74
- Lasne, C., Gu, Z.W., Venegas, W. and Chouroulinkov, I. (1984) The in vitro micronucleus assay for detection of cytogenetic effects induced by mutagen-carcinogens: comparison with the in vitro sister-chromatid exchange assay. *Mutation Res.*, 130, 273-282
- Lin, R.H., Wu, L.J., Lee, C.H. and Lin-Shiau, S.Y. (1993) Cytogenetic toxicity of uranyl nitrate in Chinese hamster ovary cells. *Mutation Res.*, 319, 197-203
- Wakata, A. and Sasaki, M.S. (1987) Measurement of micronuclei by cytokinesis-block method in

- cultured Chinese hamster cells : comparison with types and rates of chromosome aberrations. *Mutation Res.*, **190**, 51-57
15. Hubber, R., H. Braselmann and Bauchinger M. (1992) Intra- and inter-individual variation of background and radiation-induced micronucleus frequencies in human lymphocytes, *Int. J. Radiat. Biol.*, **61**, 655-661
 16. Kligerman, A.D., Halperin, E.C. Erexson, G.L. Honore, G. Westvook-collins, B. and Allen, JW (1988) A cytogenetic comparison of the responses of mouse and human peripheral blood lymphocytes to ⁶⁰Co γ radiation, *Radiat. Res.*, **115**, 334-346
 17. Savage, J.R.K. (1989) Acentric chromosomal fragments, and micronuclei . the displacement factor, *Mutation Res.*, **225**, 171-173
 18. Brusick, D. (1994) Genetic Toxicology. In *Principles and Methods of Toxicology (3rd Ed.)*, Hayes, A.W.(Ed.), Raven Press, New York, p.545
 19. Department of Health (1989) Guidelines for the Testing of Chemicals for Mutagenicity. Committee on Mutagenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Report on Health and Social Security No. 35. HMSO, London
 20. Erexson, G.L. and Kligerman, A.D. (1987) A modified mouse peripheral blood lymphocyte culture system for cytogenetic analysis, *Environ. Mol. Mutagen.*, **10**, 377-386
-
- (1999년 12월 28일 접수)