

## 수영의 항돌연변이 활성 및 세포독성

이남재 · 이경희 · 이동웅<sup>1\*</sup> · 박상신<sup>1</sup> · 한영환<sup>2</sup> · 유시용<sup>3</sup>

부산대학교 약학대학, <sup>1</sup>동국대학교 생화학과, <sup>2</sup>동국대학교 생물학과, <sup>3</sup>한국화학연구원

### Antimutagenic Activity and Cytotoxicity of the Whole Plant of *Rumex acetosa*

Nam-Jae Lee, Kyung-Hee Lee, Dong-Ung Lee<sup>1\*</sup>, Sang-Shin Park<sup>1</sup>,  
Yeong-Hwan Han<sup>2</sup> and Shi-Yong Ryu<sup>3</sup>

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, <sup>1</sup>Department of Biochemistry and  
<sup>2</sup>Department of Biology, Dongguk University, Kyongju 780-714,  
<sup>3</sup>Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-606, Korea

**Abstract** – The extract and fractions of *Rumex acetosa* (Polygonaceae), a Korean medicinal plant, were examined for their cytotoxicities against five cultured human tumor cell lines, i.e. A549 (non-small cell lung), SK-OV-3 (ovary), SK-MEL-2 (melanoma), XF498 (central nerve system) and HCY15 (colon), using the SRB (sulforhodamine-B) method *in vitro* and antimutagenic activities by Ames test with *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 and SOS chromotest with *E. coli* PQ37. Among the tested samples, the methylene chloride fraction strongly inhibited the proliferation of each examined tumor cell line with IC<sub>50</sub> values ranged from 13.2 to 18.7 µg/ml and showed potent antimutagenic activities with 96.1% and 96.7% at the concentration of 1 mg/plate against the mutagens, NPD and sodium azide, respectively. Its antigenotoxic activity was also very effective at the final concentration of 10 µg/reaction tube against the mutagens, MNNG and NQO by SOS chromotest.

**Key words** – *Rumex acetosa* L., Polygonaceae, cytotoxicity, antimutagenic activity

수영(*Rumex acetosa* L.)은 우리나라 각지의 산야에 나는 마디풀과(Polygonaceae)에 속하는 다년생 자웅이주(雌雄異株) 초본(dioecious plant)으로서 성엽색체가 암컷은 XX, 수컷은 XY1Y2이다.<sup>1)</sup> 길이는 30-80 cm 정도 되며, 땅속줄기는 약간 크고 줄기에 능선이 있다. 근생엽은 밀생, 경생엽은 호생, 잎자루는 긴 창 모양이고, 길이가 5-10 cm 정도로 생겼는데 위쪽으로 갈수록 짧아진다. 암수딴그루 식물로 원추화서에서 윤생, 연녹색 또는 녹자색을 띤다. 수꽃은 꽃받침 6장, 수술이 6개이며 암꽃은 꽃받침이 6장, 암술대가 3갈래이고 열매는 수과, 세모진 타원형으로 흑갈색 또는 황백이며 3개의 능선이 있고 날개 모양이다. 개화기는 5-6월

까지이고 결실기는 8-9월이다.

수영의 뿌리를 酸模(*Rumicis Rhizoma*)라 하여 한방에서는 황달, 완하, 피부병약으로 사용하였으며<sup>2)</sup> 대황의 대용약으로서 고미건위, 복통, 변비등에도 유효한 것으로 알려져 있다.<sup>3)</sup> 酸模의 약리활성에 관한 연구로는 polysaccharide 성분의 sarcoma-180에 대한 항암효과,<sup>4)</sup> 추출물의 항산화 효과<sup>5)</sup> 등이 보고되어 있을 뿐, 민간에서 다양한 증상이나 질환에 사용되어 온 점에 비하면 약리작용에 관한 연구는 매우 미흡한 편이다.

수영의 성분으로는 앞에서 vitexin과 quercitrin,<sup>6)</sup> 뿌리에서 chrysophanol을 비롯한 7종의 anthraquinone 및 그 배당체,<sup>7)</sup> 지상부에서 orientin을 비롯한 8종의 flavonoid 및 그 배당체<sup>8)</sup>가 보고되어 있으며 이외에도 몇 종류의 anthrone 및 anthraquinone류가 알려져 있다

\*교신저자 : Fax : 054-742-9833

. 저자들은 천연물로부터 항암 및 항돌연변이 활성 성분을 탐색하기 위한 연구<sup>9-12)</sup>의 일환으로 수영 전초의 조추출물 및 성분 분획을 제조하여 이들의 세포독성을 5종의 인체 암세포를 대상으로 *in vitro*에서 검색하였으며 또한 Ames test와 SOS chromotest를 실시하여 항돌연변이 활성을 측정하였다.

## 재료 및 방법

**식물재료** - 실험에 사용한 수영(*Rumex acetosa* L.)은 울산 인근에서 채집하였으며 동국대학교 한의과대학 분초학교실에서 감별하였다. 채집한 식물 전초를 음건한 다음, 분쇄하여 분말로 만들어 사용하였다.

**기기 및 시약** - 돌연변이원인 NPD(4-nitro-*o*-phenylenediamine), sodium azide, MNNG(1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine)와 NQO(4-nitroquinoline-1-oxide)는 Sigma-Aldrich Co.에서 구입하여 사용하였다. 배지 가운데 nutrient agar, tryptone, yeast extract는 Difco사 제품을 사용하였다. 발색시약인 ONPG(*o*-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside)와 PNPP(*p*-nitrophenyl phosphate), alkaline phosphatase 반응정지시약인 tris buffer(Trizma), 그외 ampicillin, SDS,  $\beta$ -mercaptoethanol 등은 Sigma-Aldrich Co.에서 구입하였으며, 기타 시약과 용매는 모두 국산 특급을 사용하였다. 흡광도는 Ultrospec 2000 Spectrophotometer(Amersham Pharmacia Biotech, U.S.A.)를 사용하여 420 nm와 660 nm에서 측정하였다.

**추출물 및 성분분획의 제조** - 수영분말 600 g에 80% MeOH 3 l를 넣고 수욕상에서 2시간 동안 추출하고 여과하였다. 여액을 증류하여 methanol을 제거한 후, 조추출물을 얻고 이 추출물에 증류수를 적당량 첨가하여 *n*-hexane, methylene chloride, ethyl acetate, *n*-butanol 순으로 계통분획화하여 각각의 분획을 제조하였다. 수득량은 메탄올 추출물 75.8 g, *n*-hexane 분획 6.4 g, methylene chloride 분획 15.2 g, ethylacetate 분획 12.5 g, butanol 분획 7.2 g이었다.

**세포독성 평가** - 인체기원 암세포주는 NCI(미국 국립암연구소)로부터 분양받아 계대배양하여 사용하였으며 암세포 증식저해효과는 NCI 및 기타 여러 검정기관에서 약물의 일차적 항암효과의 측정방법으로 가장 널리 사용하는 SRB(sulforhodamine B)법<sup>13)</sup>으로 측정하였다. 사용한 암세포주는 A549(non-small cell lung), SK-OV-3(ovary), SK-MEL-2(melanoma), XF498

(central nerve system), HCY15(colon)이다.

실험방법은 다음과 같다. 계대중의 암세포들을 trypsin-CDTA 용액으로 처리하여 용기 부착면으로부터 분리시키고, 96-well flat bottom microplate(Falcon)에 각 well 당 세포수가 각각  $5 \times 10^3$ (A549, HCT15),  $1 \times 10^4$ (SK-MEL-2, XF498),  $2 \times 10^4$ (SK-OV-3)이 되도록 희석하여 분주한다. 이들을 CO<sub>2</sub> incubator 속에서 24시간 배양하여 cell이 well의 바닥면에 부착(anchor)되도록 한 후, aspirator로 media를 제거하고 media에 녹여둔 검체를 농도별로 각각의 well 속에 넣어주고 48시간동안 계속 배양한다. 배양을 마친 후, 각 well속의 media를 aspiration으로 제거하고 10% trichloroacetic acid (TCA)용액을 각 well당 10  $\mu$ l씩 가하고 1시간동안 상온에서 방치하여 세포들을 고정시킨 다음, 물로 5-6회 세척하여 과잉의 TCA용액을 완전제거하고 건조시킨다. 각 well당 100  $\mu$ l 씩의 SRB 염색용액(0.4% sulforhodamine in 1% acetic acid)을 가하여 30분간 염색하고 과잉의 염색액은 1% acetic acid로 5-6회 반복 세척하여 제거한 후, 상온에서 건조시킨다. 각 well당 100  $\mu$ l 씩의 10 mM Tris base(unbuffered) 용액을 가한 후, titer plate shaker로 10분간 진탕하여 cell에 염색된 염색액을 용출시키고 microplate reader를 이용하여 520 nm의 흡광도를 측정, 암세포증식율(% cell growth, 항암활성의 역)을 산출한다. 각각의 농도에서 측정된 검체군의 암세포증식율을 바탕으로 하여 LOTUS program의 data regression을 사용하여 검체가 해당 암세포의 성장을 50% 저해하는 농도(IC<sub>50</sub>)를 계산하고 이 값을 기준으로 하여 각 검체의 항암효과의 potency를 상호비교하는 지표로 삼는다.

**항돌연변이 활성측정용 균주배양** - Ames test에 사용한 살모넬라 균주는 생명공학연구소의 유전자 은행에서 분양 받아 계대배양하여 사용하였으며, SOS chromotest에 사용한 *E. coli* PQ37은 실험실에 보관중인 균을 계대배양하여 사용하였다. 세균 배양배지는 Liria Bertani 배지(LB배지: tryptone 10 g, yeast extract 5 g, NaCl 10 g, 증류수 1.0 l, pH 7.0)를 사용하였다.

**시료의 돌연변이원성 유무 조사** - Negative control로 용매인 DMSO를 사용하였고, positive control로 NPD와 sodium azide를 사용하였다. Negative control, positive control, positive control+추출물(2 mg/plate)을 각각 Ames test 방법에 따라 돌연변이성을 측정하였다.

**Ames test** - 실험에 사용된 균주는 TA100과 TA98로서 모두 *Salmonella typhimurium*에서 유래한 histi-

dine 요구성 돌연변이체(His<sup>-</sup>)이며, 실험전에 균들은 정기적으로 histidine 요구성 deep rough character, UV 감수성 및 R factor 존재 등의 genotypes을 확인한 후, 시험 균주로 사용하였다. 항돌연변이 실험을 위한 배지 및 필요한 시약의 조제는 Ames의 방법<sup>14)</sup>에 따라 행하였다. 즉 하룻밤 배양된 균주 0.1 ml(1~2×10<sup>9</sup> cells/ml), mutagen 0.1 ml(NPD 10 µg/plate, NaN<sub>3</sub> 1 µg/plate), sodium phosphate buffer 0.5 ml와 fraction 10 mg/ml 농도의 시료 0.1 ml씩(1 mg/plate)을 시험관에 첨가한 후, 가볍게 vortex하고 37°C에서 20분간 예비 배양하였다. 45°C에 보관 중이던 top agar 2 ml씩을 각각 tube에 붓고 3초간 vortex한 후 minimal glucose agar plate에 도말한 다음, 37°C에서 48시간 배양하고 revertant 수를 계수하였다. 복귀돌연변이 생성단위(revertant colony forming unit(CFU)/plate)의 저해율은 다음의 식에 의해 계산하였다.

Inhibition ratio(%)=[1-(CFU<sub>sm</sub>-CFU<sub>p</sub>)/(CFU<sub>m</sub>-CFU<sub>p</sub>)]×100(CFU<sub>sm</sub>: 돌연변이원과 sample이 함께 들어간 plate의 복귀 돌연변이 수, CFU<sub>m</sub>: 돌연변이원만 들어간 plate의 복귀 돌연변이 수, CFU<sub>p</sub>: 자연돌연변이시킨 plate의 자연돌연변이 수)

**SOS chromotest** - SOS chromotest는 Quillardet 등의 방법<sup>15)</sup>을 변형하여 수행하였다. 배양된 0.5 ml의 *E. coli* PQ37을 50 ml의 L medium에 접종하여 37°C에서 12시간 배양 후, 0.5 ml의 배양액을 취해 50 ml의 L medium에 재접종하여 4시간 동안 진탕배양하였다(O.D=0.4~0.8). 이 배양액 600 µl, 돌연변이원 20 µl, 각 시료 10 µl을 시험관에 넣어 37°C에서 2시간동안 SOS반응을 유도하였다. β-Galactosidase 활성은 1.8 ml의 B buffer(조성: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 5.5 g, KCl 0.75 g, MgSO<sub>4</sub> 0.25 g, SDS 1.0 g, β-mercaptoethanol 2.7 ml, 증류수 1,000 ml, pH 7.0)를 넣어 37°C에서 5분간 shaking incubation하여 온도를 균일화시킨 다음, 0.4 ml의 ONPG 용액(ONPG 4.0 mg in phosphate buffer 1 ml, pH 7.0)을 첨가하여 37°C에서 10분간 발색반응을 시키고 1.4 ml의 1.0 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 420 nm에서의 흡광도를 측정하였다. Alkaline-phosphatase 활성은 B buffer 대신 P buffer(조성: Tris-base 121 g, SDS 1.0 g, 증류수 1,000 ml, pH 8.8)을, ONPG 용액 대신에 PNPP를 사용하여 발색반응을 시켰고, 효소반응의 정지를 위하여 0.7 ml의 2.5M HCl을 첨가하고 5분간 정지시킨 후, 0.7 ml의 2.0M Tris-HCl buffer를 첨가하였다. 각 효소의 활성

은 「1000×A<sub>420</sub>/t」의 식을 사용하여 측정하였다. A<sub>420</sub>은 420 nm에서의 흡광도를, t는 반응시간(분)을 나타낸다. Induction factor(IF)는 다음 식<sup>16)</sup>으로 계산하였다. IF= R(x)/R(0). R은 β-galactosidase 활성을 alkaline phosphatase 활성으로 나누었을때의 효소활성비율이며 R(x)는 시료추정시의 효소활성비율을, R(0)는 자연돌연변이(DMSO) 추정시의 효소활성비율을 나타낸다.

## 결과 및 고찰

**세포독성** - 수영 추출물 및 각 성분분획의 세포독성을 5종의 인체 암세포를 대상으로 조사한 결과를 Table I에 나타내었다. 전체 시료가운데 염화메틸렌분획이 모든 암세포에 대하여 가장 강한 항암효과를 보여주었는데, 50 mg/ml이하의 농도에서 암세포 성장을 완전히 저지하였다. 이 분획은 IC<sub>50</sub> 값이 모든 암세포에 대해 19 µg/ml이하이며, 특히 폐암과 난소암 세포주에 강한 세포독성을 나타내었다. 따라서 이 분획에는 항암효과가 강한 활성 성분이 함유되어 있을 것으로 예상된다. 아울러 분획중에서 butanol분획이 가장 세포독성이 약하여 saponin성분은 항암활성이 상대적으로 약할 것으로 추정된다.

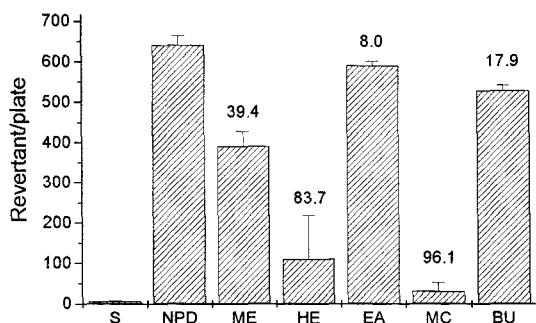
**시료의 돌연변이원성** - 추출물 및 분획의 항돌연변이 효과를 측정하기 전에 치료자체가 시험균주에 대해 돌연변이 유발성이 있는지를 먼저 확인하기 위하여 2 종류의 돌연변이원과 시료의 혼합물을 각각 Ames test로 시험해 보았다. 그 결과, 시료 자체는 이들 돌연변이원 보다 plate당 revertant colony수가 낮아 돌연변이 원성이 없는 것으로 판명되었다.

**Ames test에 의한 항돌연변이 효과** - 세균의 변이주가 DNA 손상물질(genotoxin)에 대한 항돌연변이 활성 검색시험에 이용될 수 있음이 알려진 이후,<sup>16)</sup> Ames 등<sup>14)</sup>은 *Salmonella* 변이주를 이용한 항돌연변이 활성 검색법을 확립하였다. 암을 유발하는 발암원(carcinogen)의 90% 이상이 돌연변이원(mutagen)으로 알려져 있으므로 돌연변이의 억제효과는 발암억제와 밀접한 상관관계가 있는 것이다. 수영전초의 메탄올 추출물 및 성분 분획의 돌연변이 억제효과를 *Salmonella* TA98 균주와 TA100 균주를 사용하여 Ames test해 본 결과는 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다. TA98 균주는 histidine 합성 효소에 관한 유전자에서 염기대치환경 돌연변이를 일으키는 균으로 돌연변이원으로 NPD를 사용하였으며

**Table I.** Inhibition of tumor cell proliferation by total extract and fractions

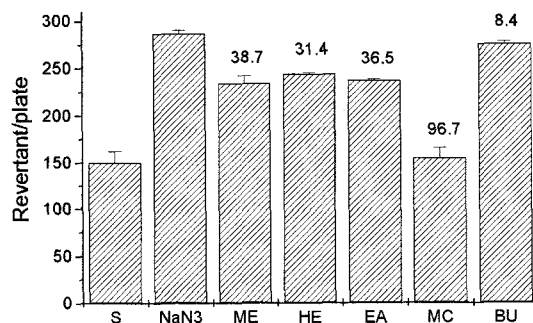
	IC <sub>50</sub> (μg/ml)				
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
total extract	>200	>200	>200	>200	>200
MC fraction	13.17	13.46	18.73	18.35	17.62
EA fraction	36.51	35.49	35.11	43.64	40.16
HE fraction	29.14	24.66	34.28	47.07	38.15
BU fraction	184.62	86.22	143.90	193.67	140.03
cis-platin	1.4	0.9	0.8	0.9	2.2

MC: methylene chloride, EA: ethylacetate, HE: hexane, BU: butanol



**Fig. 1.** Inhibitory effects of methanol extract and fractions from *Rumex acetosa* on the mutagenicity induced by NPD in *Salmonella typhimurium* TA98. S: spontaneous, NPD: 4-nitro-*o*-phenylenediamine, ME: methanol extract, HE: hexane fraction, EA: ethylacetate fraction, MC: methylene chloride fraction, BU: butanol fraction. Values mean the percent inhibition ratio calculated as described in the Experimental method.

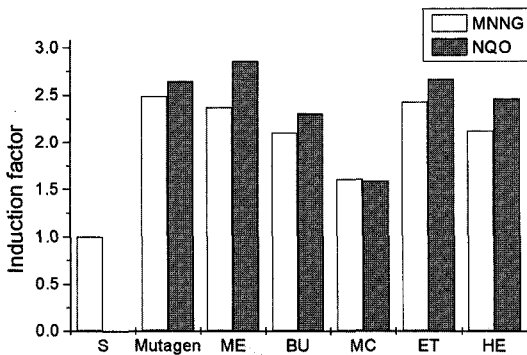
TA100 균주는 frame shift형 돌연변이를 유발하는 균으로 sodium azide를 돌연변이원으로 하였다. 두 돌연변이원 모두 직접적인 돌연변이원이므로 S9 mixture는 첨가하지 않았다. 돌연변이 유발원 NPD에 대해서는 각 시료 1 mg/plate 첨가시 염화메틸렌 분획이 저해율 96.1%로 가장 항돌연변이 활성이 강하였으며 다음으로 핵산 분획은 83.7%로 나타났다(Fig. 1). 에틸아세테이트 분획 및 부탄올 분획은 메탄올 추출물보다도 돌연변이 저해효과가 낮았다. 한편, 다른 돌연변이원인 sodium azide(NaN<sub>3</sub>)에 대해서는 염화메틸렌 분획이 저해율 96.7%의 높은 항돌연변이 활성을 나타낸 데 비해 다른 분획들은 8%-39%로 낮은 활성을 보였다(Fig. 2). 이상의 결과, 염화메틸렌 분획이 두가지 돌연변이원에 대해 모두 강력한 항돌연변이 효과를 나타냄으로써 앞으로 이 분획이 성분분리의 대상으로 삼을 수 있는 유효분획으로 평가된다.



**Fig. 2.** Inhibitory effects of methanol extract and fractions from *Rumex acetosa* on the mutagenicity induced by sodium azide in *Salmonella typhimurium* TA100. S: spontaneous, ME: methanol extract, HE: hexane fraction, EA: ethylacetate fraction, MC: methylene chloride fraction, BU: butanol fraction. Values mean the percent inhibition ratio calculated as described in the Experimental method.

#### SOS chromotest에 의한 항돌연변이 효과 - 추출

물 및 분획의 항돌연변이 효과를 보다 확실하게 하기 위하여 MNNG 및 NQO를 돌연변이원으로 하여 *E. coli* PQ37에 대한 SOS chromotest를 실시하였다. Ames test를 통하여 그 동안 많은 돌연변이물질이 검출되었지만 보다 신속하고 정확한 방법이 1982년 Quillardet 등<sup>15,17-19</sup>에 의해 개발되었다. 이 시험법은 Ames test와는 달리 colony를 형성하는 colony forming assay가 아니고 시료에 혼재되어 있을 수 있는 histidine에 의하여 영향을 받지 않으므로 정확하며, 또한 한가지 변이주(*E. coli* PQ37 등)만으로 여러 가지 돌연변이원에 대한 검색을 할 수 있기 때문에 편리한 장점이 있다. 농도를 10 μg/reaction tube로 했을 때, 염화메틸렌 분획이 MNNG와 NQO의 SOS response를 가장 강하게 억제하여 우수한 항돌연변이 효과를 나타내었으며 다른 분획들은 두가지 돌연변이원에 대한 억제효과가 이보다 약하게 나타났다(Fig. 3). 이상의 결과로 보면 염화



**Fig 3.** Induction factor of SOS chromotest with MeOH extract and fractions from *Rumex acetosa*. S: spontaneous, ME: methanol extract, BU: butanol fraction, MC: methylene chloride fraction, EA: ethylacetate fraction, HE: hexane fraction

메틸렌 분획은 Ames test에서와 마찬가지로 우수한 antigenotoxic activity를 나타내었다.

### 결론

수령전초의 추출물 및 성분분획에 대한 세포독성과 항돌연변이 활성을 검색한 결과, 염화메틸렌 분획이 5종의 인체 암세포에 대해  $IC_{50}=13.2-18.7 \mu\text{g/ml}$ 의 강한 세포독성을 나타내었으며 *Salmonella typhimurium*을 사용한 Ames test에서는 돌연변이원 NPD와 sodium azide에 대해 각각 96.1%와 96.7%의 항돌연변이 활성을 나타내었고 *E. coli* PQ37을 사용한 SOS chromotest에서는 induction factor가 다른 분획에 비해 모두 크게 감소하여 우수한 항돌연변이 효과를 나타내었다. 앞으로 이 분획으로부터 성분분리가 필요한 것으로 사료된다.

### 사사

본 연구는 (주)선양의 연구비 지원에 의한 연구결과물의 일부이며, 이에 감사드립니다.

### 인용문헌

1. Shibata, F., Hizume, M. and Kuroki, Y. (1999) Chromosome painting of Y chromosomes and isolation of a Y chromosome-specific repetitive sequence in the dioecious plant *Rumex acetosa*, *Chromosoma* **108**: 266-270.

2. 한국약용식물학연구회 (2001) 종합약용식물학, 153. 학창사.

3. 江蘇新醫學院編 (1977) 中葯大辭典 下冊, 2533. 上海科學技術出版社, 上海.

4. Hitoshi, I. (1986) Effects of the antitumor agents from various natural sources on drug-metabolizing system, phagocytic activity and complement system in sarcoma 180-bearing mice, *Jap. J. Pharmacol.* **40**: 435-438.

5. Mantle, D., Eddeb, F. and Pickering, A. T. (2000) Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. *J. Ethnopharmacol.* **72**: 47-51.

6. Aritomi, M., Kiyota, I. and Mazaki, T. (1965) Flavonoid constituents in leaves of *Rumex acetosa*. *Chem. Pharm. Bull.* **13**: 1470-1471.

7. Kato, T. and Morita, Y. (1987) Anthraquinone components in *Rumex acetosa* L. *Shoyakugaku Zasshi* **41**: 67-74.

8. Kato, T. and Morita, Y. (1990) C-Glycosylflavones with acetyl substitution from *Rumex acetosa* L. *Chem. Pharm. Bull.* **38**: 2277-2280.

9. Han, Y. H., Ham, J. H., Lee, N. J., Park, C. H. Shin, Y. H. and Lee, D. U. (2000) Antimutagenic Activity of 5 $\alpha$ -Cholest-7-en-3 $\beta$ -ol, a New Component from the Starfish *Asterina pectinifera*. *Biol. Pharm. Bull.* **23**: 1247-1249.

10. Ryu, S. Y., Kim, J. O. and Choi, S. U. (1997) Cytotoxic components of *Artemisia princeps*. *Planta Med.* **63**: 384-385.

11. Kim, Y. K. and Ryu, S. Y. (1999) Cytotoxic components from stem bark of *Magnolia obovata*. *Planta Med.* **65**: 291-292.

12. Ryu, S. Y., Lee, C. O. and Choi, S. U. (1997) In vitro cytotoxicity of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Med.* **63**: 339-342.

13. Skehan, P., Streng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S. and Boyd, M. R. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening *J. Natl. Cancer Inst.* **82**: 1107-1112.

14. Maron, D. M., Ames, B. N. (1983) Revised methods for the salmonella mutagenicity test. *Mutation Res.* **113**: 173-215.

15. Quillardet, P., Bellecombe, C. D. and Hofnung, M. (1985) The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: Validation study with 83 compounds. *Mutation Res.* **147**: 79-95.

16. Hollstein, M. and McCann, J. (1979) Short-term tests for carcinogens and mutagens. *Mutation Res.* **65**: 133-226.

17. Quillardet, P., Huisman, O., D'Ari, R. and Hofnung, M. (1982) SOS chromotest, a direct assay of induction of SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure

- genotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **79**: 5971-5975.
18. Quillardet, P., Huisman, O., D'Ari, R. and Hofnung, M. (1982) The SOS chromotest: a direct assay of the expression of gene *sfiA* as a measure of genotoxicity of chemicals. *Biochimie* **64**: 797-801.
19. Quillardet, P. and Hofnung, M. (1985) The SOS-chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Res.* **147**: 65-78.

(2001년 11월 20일 접수)