

각 부위별 활나물(*Crotalaria sessiflora* L.) 에탄올 추출물의 항산화효과

강명화* · 최창숙 · 김장수¹ · 정혜경 · 민관식² · 박춘근³ · 박희운³

호서대학교 식품영양학과, ¹호서대학교 벤처전문대학원,

²한경대학교 생물정보통신대학원, ³작물시험장

Antioxidative Activities of Ethanol Extract Prepared from Leaves, Seed, Branch and Aerial Part of *Crotalaria sessiflora* L.

Myung Hwa Kang*, Chang Suk Choi, Zang Soo Kim¹, Hae Kyung Chung, Kwan Sik Min², Chun Geon Park³ and Hee Woon Park³

Department of Food Science & Nutrition, Hoseo University

¹Graduate School of Venture, Hoseo University

²Graduate School of Bio. & Information Technology, HanKyong National University

³National Crop Experiment Station, RDA

Antioxidative activities of ethanol extracts of seed, branch, leaves, and aerial part of *Crotalaria sessiflora* L. were compared using *in vitro* experimental model. Solid contents of each extracts were 12.68, 16.28, 13.04, and 18.59 g/100 mL, and phenolic acid contents were 0.082±0.003, 0.099±0.010, 0.071±0.002, and 0.094±0.011 mg/mL in branch, aerial part, seed, and leaves, respectively. Extracts prepared from leaves showed highest electron-donating ability toward DPPH. SOD-like activities were 78.95, 70.85, 74.65, and 87.49% in aerial part, branch, seed, and leaves respectively. Extracts prepared from leaves showed 59.39% inhibitory effect on peroxidation of egg yolk lecithin.

Key words: antioxidative activity, *Crotalaria sessiflora* L., free radical, phenolic acids

서 론

최근 노화 및 암 발병의 주된 원인의 하나로 자유기(free radical)의 역할이 크게 주목을 받고 있다. 자유기들은 생체 내에서 슈퍼옥사이드(O₂⁻), 과산화수소(H₂O₂), 수산화기(·OH) 및 일중항산소(O₂⁻)와 같은 활성 산소종의 산화적 대사산물로 생성되고 있는데 이들이 생체 내에서 단백질, 생체막, DNA 등에 작용하여 생체 막 지질의 산화를 유발시켜 과산화지질을 생성하고 DNA의 산화적 손상으로 암을 비롯하여 다양한 성인병 발병에 관여하고 있는 것으로 알려져 있다⁽¹⁾. 자유기에 의한 지방질 산화 및 DNA의 손상을 억제시키는 방법으로 항산화제의 첨가가 효과가 있는 것으로 증명되면서 다수의 연구가 천연 또는 합성 항산화제를 개발하는데 집중되어 왔다. 현재 전세계적으로 합성 항산화제인 BHA(butylated hydroxyanisole)와 BHT(butylated hydroxytoluene)가 각종 식품에 첨가되어 사용되고 있으나 장기 식용에 따른 부작용

으로 변이성 및 독성이 지적되어 안전하고 효력이 강한 항산화제를 찾으려는 연구가 천연물을 중심으로 활발하게 이루어지고 있다⁽²⁻⁴⁾. 특히 식물체에서 항산화 효과를 나타내는 물질은 잎, 꽃, 열매, 줄기 및 뿌리 등 모든 부분에 존재하는데 이들 성분들이 주로 페놀성 화합물인 것으로 알려져 있다⁽⁵⁻⁷⁾.

활나물은 두과식물로 예로부터 종양, 식도암, 직장암, 폐암, 위암 및 만성기관지염에 이르기까지 각종 질환들을 치료하거나 해독제로 민간요법에서 널리 이용되어 왔다. 활나물(*Crotalaria sessiflora* L.)은 일년생 초본으로 높이 20~70 cm 이고, 표면을 제외한 전체에 긴 갈색 털이 나 있고 황무지의 잡초밭에서 자생하며 전국에 널리 분포되어있다⁽⁸⁾. Shin 등⁽⁸⁾은 활나물 추출물에 대한 세포독성 및 항암작용에 관한 연구에서 hexane 추출물이 세포독성이 적으면서 항암 활성이 강한 것으로 보고하였다. 최근 활나물 중 monocrotaline이라는 특정성분이 항암효과를 나타내는 것으로 알려지면서, monocrotaline 성분의 항암효과에 대한 연구가 시작되었으나 초기 단계에 불과하다⁽⁹⁾. 활나물에는 monocrotaline이 전초에 0.02%, 종자에 0.4%가 함유되어 있고 또다른 alkaloids 계통의 물질이 함유되어 있어 이들 성분들에 의해 다양한 생리 활성 효과가 나타난다고 한다⁽¹⁰⁾. 그러나 활나물은 종자발아

*Corresponding author : Myung-Hwa Kang, Dept. of Food Science & Nutrition, Hoseo University, Asan 336-795, Korea
Tel: 82-41-540-5973
Fax: 82-41-548-0670
E-Mail: mhkang@office.hoseo.ac.kr

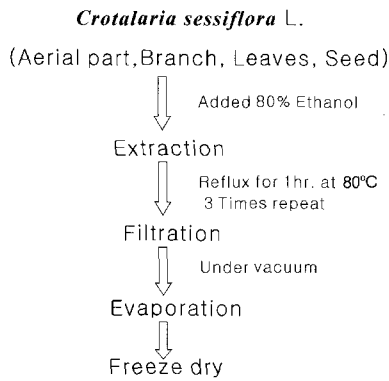


Fig. 1. Procedure of *Crotalaria sessiflora* L. (Aerial part, Branch, Leaves, Seed) extraction.

율이 매우 부진하고 타 작물의 발아를 억제하는 것으로 알려져 자원화 하기에 상당한 어려움이 있었으나 최근 활나물 종자의 휴면 타파를 위해 저온 처리 방법, 저온 대체 효과가 있는 것으로 알려진 gibberellin(GA3)이 종자의 수분 상태를 조절하는 KNO₃와 경실종자의 종실연화 처리가 휴면을 타파하여 발아율을 높이는 방법이 개발되어 활나물의 대량 증식이 가능하게 되었다⁽¹⁰⁾.

따라서 본 연구에서는 활나물의 항산화 효과 및 생리활성 효과를 탐색하기 위한 기초 연구로서 활나물을 부위별로 에탄올 추출한 추출물의 항산화 효과를 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출방법

본 시험에 사용한 공시재료는 작물시험장 약용작물시험 포장에서 재배된 활나물을 세척하여 그늘에서 자연 건조시킨 후 지상부(aerial part), 종자(seed), 가지(branch) 및 잎(leaves)으로 분류한 후 80% Ethanol을 시료 증량의 약 22배 첨가하여 80°C의 환류관이 부착된 맨틀에서 1시간씩 3회 반복 추출하였다. 추출물을 여과지에 거른 후 rotary evaporator로 감압농축하여 에탄올을 완전히 제거시킨 후 동결건조기를 이용하여 건조시킨 각 추출물의 수율을 계산하였다. 건조된 시료는 -20°C의 냉동고에 보관하면서 시료로 사용하였다.

페놀성 화합물 정량

AOAC의 Folin-Denis법을 일부 변형하여 비색정량 하였다. 건조 시료 일정량을 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹이고 일정 농도로 희석하여 각종 분석에 이용하였다. 시료 0.2 mL에 Na₂CO₃를 2.0 mL 가하고 2분간 실온에 방치한 후 50% Folin-Denis 시약을 0.2 mL 가하고 혼합하여 실온에서 30분 정지한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Chlorogenic acid의 농도를 달리하여 조제한 후 표준 곡선을 작성하고 모든 처리는 3회 반복하여 측정하였다.

DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성

각 시료의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 전자 공여능(electron donating ability)을 측정하였다. 각 시료는

DMSO에 1 mg/mL의 농도로 되도록 녹여 사용하였다. 각 추출물 0.5 mL에 DPPH 시약 3 mL를 가하고 잘 섞은 후 실온에서 30분 정지 후 517 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 대조군으로는 시료 대신 DMSO를 넣어 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer 3 mL와 0.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하여 25°C에서 10분간 방치 한 후 1 N-HCl로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{SOD-liked activity}(\%) =$$

$$100 - [(\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{시료무첨가구의 흡광도}) * 100]$$

지방산패

일정량의 egg yolk lecithin을 chloroform에 녹인 후 질소 가스로 용매를 완전히 날리고 일정한 농도의 추출물, 2 mM FeSO₄, 2 mM ascorbic acid를 첨가하여 잘 섞은 후 37°C에서 30분간 incubation 한 후 과산화 지질 생성량을 2-thiobarbituric acid reactive-substance(TBARS)법에 의하여 측정하였다. 각 추출물의 항산화 효과는 시료대신 DMSO를 첨가하여(Control) 비교하였고 계산은 다음과 같이 하였다.

$$\text{Relative antioxidative effect(RAE) TBARS}(\%) =$$

$$(A - B) / A * 100$$

A: 시료 무첨가군의 흡광도

B: 시료 첨가군의 흡광도

통계처리

본 연구의 결과는 평균으로 나타내었고 실험군간의 비교분석은 SAS system을 이용하여 ANOVA 분석 후 $\alpha = 0.05$ 에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성 검증을 하였다.

결과 및 고찰

수율

활나물의 각 부위별 추출물을 동결 건조한 건조물의 고형분 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 각 부위별 추출물의 고형분 함량은 가지 12.68%, 지상부 16.28%, 종자 13.04% 그리고 잎이 18.59%로 잎의 추출수율이 가장 높은 것으로 나타났다. 추출물의 색깔은 가지와 종자는 연한 녹색이고 지상부 및 잎은 진한 녹색이었다.

페놀성 화합물

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포하며, 특히 2차 대사

Table 1. Solid contents of extracts prepared from *Crotalaria sessiflora* L.

Samples	Color	Solid contents (%)
Branch	Green	12.68
Aerial part	Deep green	16.28
Seed	Green	13.04
Leaves	Deep green	18.59

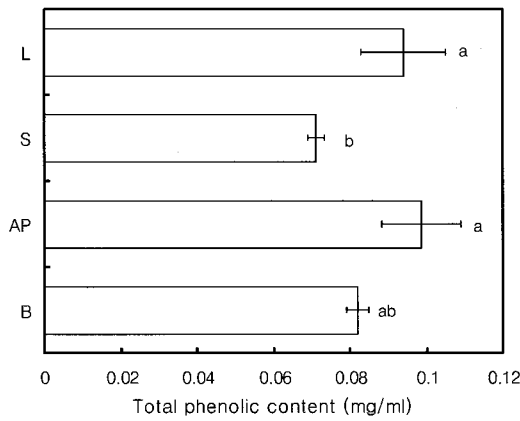


Fig. 2. Total phenolic acids contents in extracts from different sections of *Crotalaria sessiflora* L. by Folin-Denis methods. B: Branch of *Crotalaria sessiflora* L., S: Seed of *Crotalaria sessiflora* L., L: Leaves of *Crotalaria sessiflora* L., AP: Aerial part of *Crotalaria sessiflora* L.

산물로 다양한 구조와 생리활성을 나타낸다. 특히 이 페놀성 화합물들은 생체 내에서 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려지면서 천연물로부터 항산화 물질을 추출하려는 연구가 다양한 각도에서 이루어지고 있다. 본 연구에서는 식물체에 다량 함유되어 있는 chlorogenic acid를 표준 곡선으로 하여 활나물의 지상부, 가지, 잎 및 종자를 에탄올로 추출한 각 추출물의 총페놀함량을 측정하였다(Fig. 2). 총 페놀함량은 가지 0.082 ± 0.003 mg/mL, 지상부 0.099 ± 0.010 mg/mL, 종자 0.071 ± 0.002 mg/mL 및 잎이 0.094 ± 0.011 mg/mL로 나타나 지상부의 총 페놀 함량이 높게 나타났다. 추출수율이 높은 잎과 지상부의 에탄올 추출물에서 총페놀함량이 유의적으로 높은 것으로 나타났다. Kim 등⁽⁶⁾의 연구결과 홍화 부위별 메탄올 추출물의 총 페놀함량 측정 결과 꽃잎 8.05%, 씨 12.34%, 홍화순 5.10%으로 씨의 총 페놀함량이 높은 것으로 나타났으나, 활나물 지상부가 9.9%로 홍화 보다는 낮은 수준이었다. 또 다른 연구결과 국내산 식용 식품중 총 페놀함량 분석 결과 참깨 0.27%, 들깨 0.83%, 도토리 0.23%, 살구씨 0.12%, 아몬드 0.12%, 호박씨 2.06%를 함유하고 있었고⁽¹¹⁾, 선인장 씨에서 1.47%⁽¹²⁾, 부추를 60°C로 추출한 추출물에서 5.51%⁽¹³⁾하여 활나물 종자의 총 페놀 함량 7.1%와 비교해 기름을 다량 함유한 지용성 종자의 추출물의 페놀함량 보다 높았다.

전자공여능(electron donating ability)

전자공여능은 지질 과산화 반응의 연쇄반응에 관여하는 산화성 free radical에 전자를 제공하여 연쇄반응을 정지시킨다. 산화성 free radical은 인체 내에서 지질, 단백질 등과 결합하여 각종 질병 및 노화를 일으키는 척도가 되므로 free radical을 제거할 수 있는 항산화제를 식물에서 찾으려는 연구가 이루어지고 있다. 특히 DPPH법은 항산화 물질의 전자 공여능으로 인해 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 정도를 나타내는 지표로 항산화능을 나타내는 척도가 된다고 알려져 있다. 활나물 부위별 추출물의 항산화 작용을 DPPH 법에 의해 측정한 결과 Fig. 3

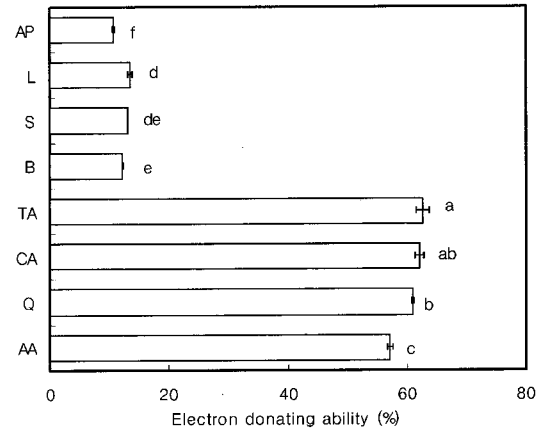


Fig. 3. Antioxidative activities of each extracts prepared from different sections of *Crotalaria sessiflora* L. by DPPH methods. AA: Ascorbic acid, Q: Quercetin, CA: Chlorogenic acid, TA: Tannic acid, B: Branch of *Crotalaria sessiflora* L., S: Seed of *Crotalaria sessiflora* L., L: Leaves of *Crotalaria sessiflora* L., AP: Aerial part of *Crotalaria sessiflora* L.

과 같다. 각 부위별 추출물의 건조물을 1 mg/mL로 되게 DMSO로 녹여 전자공여능을 측정한 결과 가지 12.29%, 종자 13.18%, 잎 13.76% 및 지상부가 10.82%로 나타났다. 그러나 ascorbic acid 56.82%, quercetin 60.87%, chlorogenic acid 61.63% 및 tannic acid가 61.81%로 나타나 각 부위별 추출물이 ascorbic acid나 quercetin 등에 비해 낮은 것으로 나타났으나 동일한 농도에서 다른 항산화제와 각 추출물의 비교는 각 추출물이 단순 물질이 아닌 조 추출물로 불순물에 의한 결과일 것으로 생각된다. 국내에서 자생하는 86종의 다양한 식물체로부터 얻은 MeOH 추출물을 대상으로 DPPH법을 통해 항산화활성을 측정한 Rim 등⁽¹⁴⁾의 연구에서는 BHA와 α-tocopherol과 같은 기존의 항산화제에 비해 밤껍질의 내피와 느릅나무의 MeOH 추출물의 활성이 높은 것으로 나타나, 활나물 추출물은 DPPH 소거능이 낮은 것으로 나타났다. 대부분의 식물추출물이 DPPH법에 의한 항산화력이 높다는 실험결과와는 다소 상반되는 결과였다.

SOD 유사활성

생체내 항산화 효소중의 하나인 Superoxide dismutase는 세포내 활성산소를 과산화수소로 전화시키는 반응을 촉매하는 효소이며 SOD에 의해 생성된 과산화 수소는 catalase 또는 peroxidase에 의해 물분자와 산소 분자로 전환되는 중요한 효소 중에 하나이다($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). 이러한 SOD와 똑 같지는 않지만 유사활성 측정 방법이 실험실에서 사용되고 있는데 즉 superoxide anion의 활성을 억제시키는 물질 즉 SOD 유사 활성 측정 방법이 널리 이용되고 있어 이를 이용해 측정한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 지상부, 가지, 종자, 잎의 에탄올추출물이 각각 78.95%, 70.85%, 74.63%, 87.49%로 잎 추출물의 활성이 가장 높았으며, 또 다른 항산화제인 quercetin(96.45%)과 비교해서는 낮았지만 tannic acid(61.06%)와 chlorogenic acid(83.52%)에 비교해 유의적으로 높은 superoxide anion 제거능을 나타내었다. 한편 ascorbic acid는 9.60%로 매우 낮게 나타나 superoxide anion 제거능에 항산화 물질간에

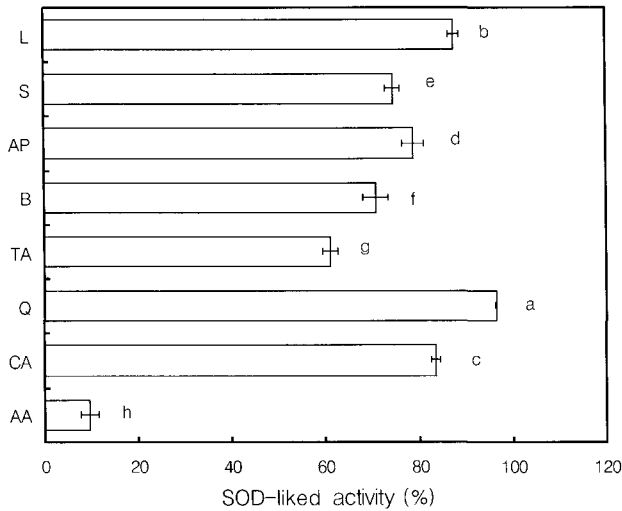


Fig. 4. SOD-like activity of each extracts prepared from different sections of *Crotalaria sessiflora* L.
 AA: Ascorbic acid, Q: Quercetin, CA: Chlorogenic acid, TA: Tannic acid, B: Branch of *Crotalaria sessiflora* L., S: Seed of *Crotalaria sessiflora* L., L: Leaves of *Crotalaria sessiflora* L., AP: Aerial part of *Crotalaria sessiflora* L.

차이를 나타내는 것으로 나타났다. 녹차의 열수추출물이 85.3%로 팽이버섯, 마늘, 하수오, 오미자, 행인, 솔잎 추출물에 비해 높은 것으로 보고한 Kim 등⁽¹⁵⁾ 연구와 비교해 활나물잎의 에탄올추출물이 높은 활성을 보이고 있어 superoxide anion 제거능에서 높은 활성을 지닌 물질로 추천 할 수 있겠다.

지방산 산화에 미치는 영향

Egg yolk lecithin에 FeSO₄와 ascorbic acid를 첨가하면 활성산소종인 hydroxy radical이 생성되어 lecithin을 산화시켜 과산화 지질을 유발하는 것으로 알려져 있다. Lecithin에 활나물 추출물, FeSO₄와 ascorbic acid를 첨가하여 산화를 유도한 후 과산화 지질의 산패 정도를 TBARS로 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. 산화 저해율은 tannic acid가 60.38±1.97%로 가장 높게 나타났고, 잎 59.39±1.79%, 종자 57.82±9.27%, 지상부 56.39±2.45% 및 가지 46.41±2.25%로 잎에서 가장 높았고 가지가 가장 낮게 나타났다. 리놀레산을 기질로 하여 결정자 에탄올 추출물의 항산화성을 50°C에서 20일간 비교한 Ha 등⁽¹⁶⁾의 연구결과에서도 BHA첨가군에 비해 결정자추출물을 첨가함으로써 산화억제 효과가 크게 나타났다고 보고한 바 있다. 페놀성 화합물은 지방산의 산화 초기 생성물인 hydroperoxide와 기타물질과 반응하여 산화를 억제시키는 것으로 보고되어져 있고⁽¹⁷⁾, 또한 페놀성 화합물이 radical 생성 촉진 물질인 metal ion 즉 Fe 및 Cu와 쉽게 결합하여 macrophage나 free cells 상태에서 free radical의 생성을 감소시킨다고 보고하였다⁽¹⁾. 따라서 활나물 추출물에 의한 lecithin의 산화 억제는 추출물 중에 함유되어 있는 페놀성 화합물에 의해 산화를 억제시킨 것으로 생각된다.

요 약

활나물의 항산화 효과를 측정하기 위하여 잎, 종자, 가지

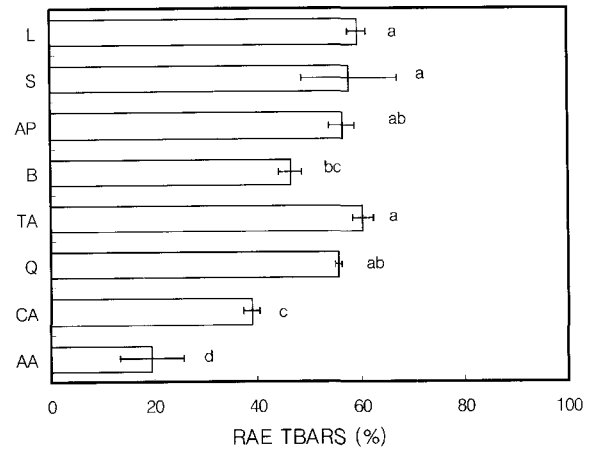


Fig. 5. Relative antioxidative effects of each extracts prepared from *Crotalaria sessiflora* L. on the peroxidation of egg yolk lecithin.
 AA: Ascorbic acid, Q: Quercetin, CA: Chlorogenic acid, TA: Tannic acid, B: Branch of *Crotalaria sessiflora* L., S: Seed of *Crotalaria sessiflora* L., L: Leaves of *Crotalaria sessiflora* L., AP: Aerial part of *Crotalaria sessiflora* L.

및 지상부를 부위별로 분류하여 에탄올로 추출한 후 동결 건조한 각 추출물의 항산화 효과를 측정하였다. 각 부위별 추출물의 고형분 함량은 가지 12.68 g/100 mL, 지상부 16.28 g/100 mL, 종자 13.04 g/100 mL, 그리고 잎이 18.59 g/100 mL로 잎의 추출수율이 가장 높았다. 총 페놀함량은 가지 0.082±0.003 mg/mL, 지상부 0.099±0.010 mg/mL, 종자 0.071±0.002 mg/mL 그리고 잎이 0.094±0.011 mg/mL로 나타나 지상부의 총 페놀 함량이 높았다. 이들 추출물을 DPPH법으로 free radical 소거능을 측정한 결과 가지 12.29%, 종자 13.18%, 잎 13.76% 및 지상부가 10.82%로 나타났다. SOD 유사활성 측정은 지상부 78.95%, 가지 70.85%, 종자 74.63%, 그리고 잎이 87.49%로 잎 추출물의 활성이 가장 높았다. lecithin 산화 저해율은 잎 59.39±1.79%, 종자 57.82±9.27%, 지상부 56.39±2.45% 및 가지가 46.41±2.25%로 잎에서 가장 높았고 가지가 가장 낮게 나타났다. 이상의 연구결과 활나물 각 부위별 추출물의 항산화 효과 측정 결과 추출 수율이 높았던 잎에서 활성도 높게 나타나 천연 항산화제로 개발 가능성이 시사되었다.

문 헌

- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 186: 1-85 (1990)
- Kasuga, A., Aoyagi, Y. and Sugahara, T. Antioxidants activities of edible plants. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 35: 852-856 (1988)
- Branen, A.L. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 52: 59-62 (1972)
- Cha, Y.J. and Cho, Y.S. Antioxidative activity of extracts from fruit of *Cudrania tricuspidata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 547-551 (2001)
- Park, I.C. Young, H.S. and Choi, J.S. Constituents of *Cudrania tricuspidata* in Korea. *Yakhak Hoeji* 36: 40-45 (1992)

6. Kim, H.J., Jun, B.S., Kim, S.K., Cha, J.Y. and Cho, Y.S. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 1217-1222 (1998)
7. Park, J.C., Chio, J.S. and Choi, J.W. Effects of the fraction from leaves, fruits, stems, and roots of *Cudrania tricuspidata* and flavonoids on lipid peroxidation. Korean J. Pharmacogn. 26: 377-384 (1995)
8. Shin, M.K., Song, H.J., Kang, Y.S., Ryu, H.S., Han, D.S., Kang, K.U. and Back, S.H. Development of anticancer agents from Korean medicinal plants. Part 13. Studies on the cytotoxicity and antitumor activity of *Herba crotalariae sessiflorae*. Korean J. Pharmacogn. 30: 130-136 (1999)
9. Lee, H. and Lin, J.Y. Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine. Mutation Res. 204: 229-234 (1988)
10. Kang, J.H., Kim, Y.J. and Jeon, B.S. Effect of presown cold Stratification, GA₃, KNO₃ and acetone treatment on germination of *Crotalaria sessiflora* L. Korean J. Medicinal Crop Sci. 9: 124-129 (2001)
11. Lee, J.H. and Lee, S.R. Analysis of phenolic substances content in Korean plant foods. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 310-316 (1994)
12. Lee, Y.C., Hwang, K.H., Han, D.H. and Kim, S.D. Compositions of *Optunia ficus-india*. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 847-853 (1997)
13. Cha, Y.J., Kim, S.K., Kim, H.J., Song, J.Y. and Cho, Y.S. Chemical compositions and leek (*Allium tuberosum*) seeds. Korean J. Life Sci. 10: 273-278 (2000)
14. Rim, Y.S., Park, Y.M., Park, M.S., Kim, K.Y., Kim, M.J. and Choi, Y.H. Screening of antioxidants and antimicrobial activity in native plants. Korean J. Medicinal Crop. Sci. 8: 342-350 (2000)
15. Kim, S.M., Cho, Y.S. and Sung, S.K. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 626-632 (2001)
16. Ha, J.U., Ryu, Y.K. and Park, H.J. Nitrite scavenging ability and antioxidative activity of water extract and ethanol extract from *Cassia tora* L. and *Pueraria thunbergiana*. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 21: 1-9 (2001)
17. Ames, B.N., Shiggenaga, M.K. and Hagen, T.M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc. Natl. Acad. Sci. 90: 7915-7922 (1993)

(2002년 8월 19일 접수; 2002년 12월 11일 채택)