

HepG2 인간 세포주, *Lumbricus rubellus* 및 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용한 내분비교란물질의 독성평가

손호용* · 김흥주 · 금은주 · 조민섭¹ · 이종복¹ · 김종식² · 권기석¹

안동대학교 식품영양학과, ¹안동대학교 생명자원과학부, ²안동대학교 생명과학과

Received June 14, 2006 / Accepted August 7, 2006

Toxicity Evaluation of Endocrine Disrupting Chemicals Using Human HepG2 Cell Line, *Lumbricus rubellus* and *Saccharomyces cerevisiae*. Ho-Yong Sohn*, Hong-Ju Kim, Eun-Joo Kum, Min-Seop Cho¹, Jung-Bok Lee¹, Jong-Sik Kim² and Gi-Seok Kwon¹. Dept. of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea, ¹The School of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea, ²Dept. of Biological Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea – Toxicity evaluation systems for various chemicals and their metabolites have been developed during last decades. In this study, the acute toxicity of endocrine disrupting chemicals, such as endosulfan, bisphenol A, vinclozolin, and 3,5-dichloroaniline, was evaluated using HepG2 cell line, *Lumbricus rubellus* and *Saccharomyces cerevisiae*, respectively. The extents of toxicity of the chemicals in different bioassay systems varied substantially, such as endosulfan>3,5-dichloroaniline> bisphenol A in HepG2 cell line system, endosulfan>bisphenol A>3,5-dichloro aniline in *L. rubellus* system, and 3,5-dichloroaniline>endosulfan>bisphenol A in *S. cerevisiae* system. Meanwhile, no cytotoxicity was observed by treatment of vinclozolin in the evaluation systems. Our results suggest that earthworm and yeast are useful to evaluate acute toxicity of endocrine disrupting chemicals, and direct comparison of toxicity data from different bioassay systems is unattainable. Based on our results, we propose that the bioassay system with earthworm or yeast, a rapid, simple and economic system, could be applied as pre-test for the toxicity evaluation using human cell line or animals.

Key words – Endocrine disrupting chemicals, HepG2 cell line, *Lumbricus rubellus*, *Saccharomyces cerevisiae*, toxicity evaluation

현대사회의 산업화와 정밀 화학산업의 발달에 따라, 다양한 기능을 가진 수많은 화학물질들이 지속적으로 개발, 생산되고 있으며, 이러한 화학물질의 대표적인 예로 농약, 플라스틱 화합물, 살균제 등을 들 수 있다. 특히, 현대농업은 공간 집약적 밀식농업으로 정밀화학 제품에 크게 의존하여 다양한 농약, 살충제, 살균제 등이 사용되고 있어, 저농약, 유기농법의 개발에 생산자 및 소비자의 관심이 집중되고 있다. 일반적으로 사용된 농약, 살충제, 살균제의 대부분은 공기 중으로 증발하거나, 토양에 흡수되며, 또는 수계로 유입되어 환경을 오염시키게 된다[13,15,23]. 따라서 유해 화합물에 직접 접촉되지 않는 상태에서도, 이러한 오염물질들은 자연계에서의 난분해성 및 생체내 지방질 조직과의 친화성으로 인해 생체내에 잔류, 축적하게 되며, 생물농축(biomagnification) 과정을 통해 인체에까지 이행하게 된다[19].

인체에 이행된 물질들 중에는 그 구조가 내분비계 호르몬과 유사하여, 호르몬 수용체에 대해 결합 가능한 물질들이 있으며, 이러한 물질(내분비계 교란물질: endocrine disrupting chemicals)들의 호르몬 수용체에 대한 비정상적 결합은

생체 내 작용에 대한 교란 작용을 나타내어[8,24], 호르몬 이상 작용 및 성의 교란을 유도할 수 있다[3,14-17,20]. 또한 이러한 내분비계 교란물질들은, 세포내 DNA 및 단백질의 파괴, 산화적 스트레스 유발 등의 다양한 기작에 의한 세포독성[4,26,27]을 나타내기도 하는데, 내분비계 장애보다 빠르고 심각한 급성독성을 나타낸다. 따라서 일상생활 중에 널리 사용되며, 환경 중에 잔류하고 있는 내분비계 교란물질에 대한 세포독성 및 급성독성 평가의 필요성은 점차 증대되고 있다.

현재까지 개발된 독성평가 시스템은 동물시험 및 인간세포주를 이용하는 방법[4,20,24] 물벼룩, 어류, 꿀벌 등을 이용한 급성, 아급성, 만성 및 번식 독성 등을 평가하는 방법이 확립되어 있으며, 최근에는 지렁이를 이용한 독성평가가 유럽, 미국, 일본을 위시해 국내에서도 실용화되어 있다[1,2,6,7,10,21,25]. 또한 수많은 화합물에 대한 경제적이면서 손쉬운 독성평가 시스템으로 미세조류 및 효모, 세균 등의 미생물을 이용한 독성평가 시스템도 꾸준히 개발되어 왔다[8,25,26]. 그러나 다양한 시스템에서의 이용세포, 생명체의 종류에 따른 독성평가 방법의 차이 및 대상물질의 작용기전 특성이 다르므로, 현재까지 일괄적인 독성평가 방법은 확립되어 있지 않은 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 국내에서 다량 사용되고 있는 살충

*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5491, Fax : +82-54-823-1625

E-mail : hysohn@andong.ac.kr

제, 살균제, 플라스틱 가스제 등의 내분비계 장애활성을 나타내는 물질을 대상으로, 인간세포주, 지렁이 및 효모 시스템에서의 세포독성을 각각 측정하여 일괄 독성평가가 가능한지, 또한 경제적이면서 효율적인 독성평가 방법의 개발이 가능한지를 검토하였다. 실험에 사용한 내분비계 교란물질로는 채소나 과일, 목화 등의 재배시 광범위 살충제로 널리 사용되는 있는 유기염소계 살충제 endosulfan (CAS No. 115-29-7; 6,7,8,9, 10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,3,4-benzodioxathiepin -3-oxide)[17,28], 플라스틱 가스제 및 에폭시 수지의 단량체로 사용되고 있는 bisphenol A [CAS No. 80-05-7; 2,2-(4,4-dihydroxydiphenyl)propane] [11, 29,32], 광범위 dicarboximide계 살균제인 vinclozolin [CAS No. 50471-44-8; (R,S)-3-(3,5-dichlorophenyl)-5-methyl-5-vinyl-1,3-oxazolidin-2,4-dione] 및 vinclozolin의 분해산물인 3,5-dichloroaniline[30]을 선정하여 각각의 독성평가 시스템에서 세포 독성 및 성장억제 효과를 측정하였으며, 그 결과를 바탕으로 다양한 생물독성 평가 시스템을 조합한 효율적인 평가방법을 제안하였다. 본 연구결과, 다양한 독성 의심물질 및 이들의 대사산물의 일차적 독성평가에는 빠르고 경제적인 지렁이, 또는 효모 독성평가 시스템을 사용하고, 이후 독성이 인정되는 경우 인간세포주 및 동물시험에 의한 독성평가의 검증이 필요함을 나타내고 있다.

재료 및 방법

시약

Endosulfan, bisphenol A, vinclozolin 및 3,5-dichloroaniline은 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI, USA)사에서 구입하여 사용하였다. 인간 세포주에 대한 독성 평가시에는 dimethylsulfoxide (DMSO)를, 효모에 대한 생육억제 평가에는 ethanol을, 지렁이에 대한 독성평가에는 methanol을 각 화합물에 대한 용매로 사용하였다. MTT reagent는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, DMEM 및 세포배양용 시약들은 Gibco BRL (Gaitheburg, MD, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

인간 세포주, 지렁이, 효모 및 배지

독성평가를 위한 인간세포주는 HepG2 간암 세포주를 사용하였으며, 10% fetal bovine serum이 포함된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다[26]. 지렁이는 판매되는 *Lumbricus rubellus* 종으로 300~600 mg 중량의 환대가 형성된 성체를 구입하여, 22°C 생장기 (LS-103-2, Lab-Tech Korea, Korea)에서 2~3일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다[25]. 효모는 *S. cerevisiae* IFO 0233 균주를 YPD (yeast extract 0.5%, peptone 0.5%, dextrose 1%) 배지에서 계대하여 사용하였다.

인간세포주를 이용한 내분비교란물질의 독성평가

인간 간암 세포주 HepG2 세포를 96 well microplates의 well당 1×10^5 cell/ml 되도록 첨가한 후, 다양한 농도의 endosulfan, bisphenol A, vinclozolin 및 3,5-dichloroaniline을 처리하였다. 48시간 배양 후, MTT 용액을 가하여 4시간 더 배양하였다. 세포 독성은 540 nm에서 spectrophotometer (Asys Hitec, Expert96, Asys Co., Austria)를 이용한 흡광도를 측정하여, 처리농도에 따른 생존율로 나타내었다[26]. 실험 결과는 3 반복 실험값의 평균치로 나타내었다.

지렁이를 이용한 내분비교란물질의 급성 독성평가

순화된 지렁이는 0.6%의 설탕을 함유한 0.2% skim milk 용액에 1시간 침지한 후, 1차 증류수를 이용하여 skim milk 및 기타 분비물을 제거하고, 12-well microplate well당 1 g씩 되도록 2 마리를 첨가하였다. Microplate에는 well당 3 ml 증류수를 가하고, 다양한 농도의 endosulfan, bisphenol A, vinclozolin 및 3,5-dichloroaniline을 배탈액에 녹여 첨가하였다. 이후 22°C 생장기에서 24 시간 동안 처리하면서 지렁이의 사멸, 황색 분비물의 증대 및 외형적 변화를 관찰하였으며, 최종적으로 처리액의 흡광도를 420 nm에서 측정(U-3010 spectrophotometer, Hitachi Co., Japan)하여 독성을 평가하였다[25]. 모든 실험은 3회 이상 반복하였다.

효모를 이용한 내분비교란물질의 생육저해 독성평가

*S. cerevisiae*를 YPD 배지를 이용하여 30°C에서 하룻밤 전 배양 한 후, 새로운 배지로 1×10^6 cell/ml 농도로 접종하였다. 이후 다양한 농도의 endosulfan, bisphenol A, vinclozolin 및 3,5-dichloroaniline을 에탄올에 녹여 첨가하고, 시간별로 600 nm에서의 흡광도를 측정하여 생육저해를 평가하였다[26]. 실험 결과는 3반복 실험값의 평균치로 나타내었다.

결과 및 고찰

현재 광범위하게 사용되면서, 환경에 잔류하는 내분비계 교란물질 endosulfan, bisphenol A, vinclozolin 및 3,5-dichloroaniline을 대상으로 HepG2 인간 간암 세포주에 대한 독성평가를 실시하였다. 이들 화합물의 각각의 구조는 Fig. 1에 나타내었다. 내분비 교란물질에 대한 호르몬 대사장애 효과에 대해서는 많은 연구가 이루어져 있지만, 현재까지 이들을 대상으로 한 세포독성 평가는 상대적으로 미비한 실정이다. Endosulfan의 IC₅₀ 경우, MCF-7 세포에서 4~10 mg/[I][5], 인간 T-cell에서 10~20 mg/[I][12], HeLa 자궁암세포에서 35 mg/ml[26], Chinese hamster ovarian cell line CHO-K1에서 103 ppm[4] 등이 보고되어 있으며, Greenman 등[9]은 인간 내장세포의 경우 20 mg/l 처리시 세포독성은 나타나지 않고 오히려 성장이 촉진된다고 보고하였다. Bisphenol A의 IC₅₀

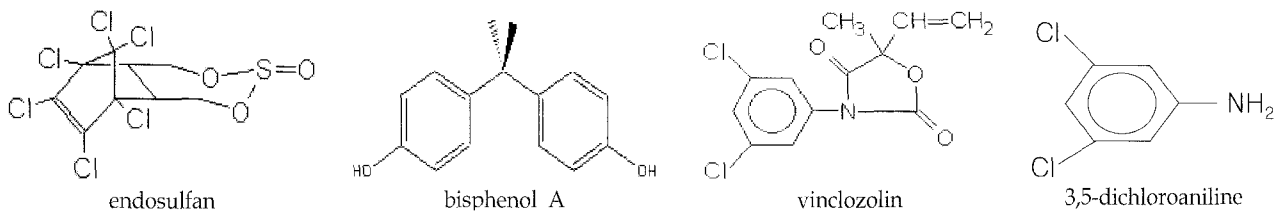


Fig. 1. The structure of endocrine disrupting chemicals used in this study.

경우에는, 마우스 Neuro2a 및 GC1 세포주에서 35~50 mg/l 가 보고되어 있으며[22], vinclozolin의 경우 hepatoma 세포에서 115 mg/ml의 농도에서 독성이 확인되었다[31]. 본 실험에서의 세포독성은 endosulfan, 3,5-dichloroaniline, bisphenol A의 순으로 나타났으며, vinclozolin의 경우 250 mg/l 농도까지 독성이 나타나지 않았다(Table 1). 플라스틱 가소제인 bisphenol A와 살충제 endosulfan이 모두 산화적 스트레스를 나타내나[26,27], IC₅₀가 각각 69 및 20 mg/l임을 고려할 때 bisphenol A의 생체내 반응성 및 산화스트레스 유발능이 endosulfan보다 미약함을 알 수 있었다. 또한 vinclozolin은 세포독성이 나타나지 않은 반면, vinclozolin의 분해 산물인 3,5-dichloroaniline에서는 22 mg/l의 IC₅₀를 나타내어 강한 독성을 확인하였다. 한편 endosulfan의 경우, 인간 세포주 중 HeLa 자궁암세포보다는 HepG2 간암세포에서, HepG2 간암세포보다는 HCT-116 대장암세포에서 더욱 독성에 민감하게 반응하므로[결과 미제시] 사용 세포주에 따른 독성평가도 필요하리라 판단된다. 이러한 결과는, 독성 의심 화합물의 경우 그 화합물뿐만 아니라, 화합물의 대사물질까지 독성평가가 동시에 이루어져야 함을 제시하고 있으며, 실제 수많은 화합물뿐만 아니라 다양한 대사산물까지 인간 세포주, 또는 동물시험을 통해 독성을 평가하는 것은 시간적, 경제적 측면에서 불가능하므로, 보다 빠르며, 효율적인 독성 평가시스템이 요구됨을 알 수 있다.

한편, 본 연구진에서 확립한 12-well microplate를 이용한 신속한 지렁이 독성평가[25] 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 지렁이를 이용한 신속독성 측정법은, 전처리된 지렁이를 다양한 농도의 독성물질이 포함된 microplate에 침지시켜 접촉하게 하여, 별도의 사육 과정 없이 24시간 이내에 독성 물질의 위해성을 빠르고 간편하게 파악하며, 처리액의 흡광도를 420 nm에서 측정하여 치사량 이하의 농도에서도 독성정도를 정

Table 1. The IC₅₀ values of endosulfan, bisphenol A, vinclozolin and 3,5-dichloroaniline as endocrine disrupting chemicals in human HepG2 cell line.

	Endosulfan	Bisphenol A	Vinclozolin	3,5-Dichloroaniline
IC ₅₀ (mg/l)	20	69	> 250	22

Cell viability was measured by the MTT method and the data are presented as the mean values of triplicates.

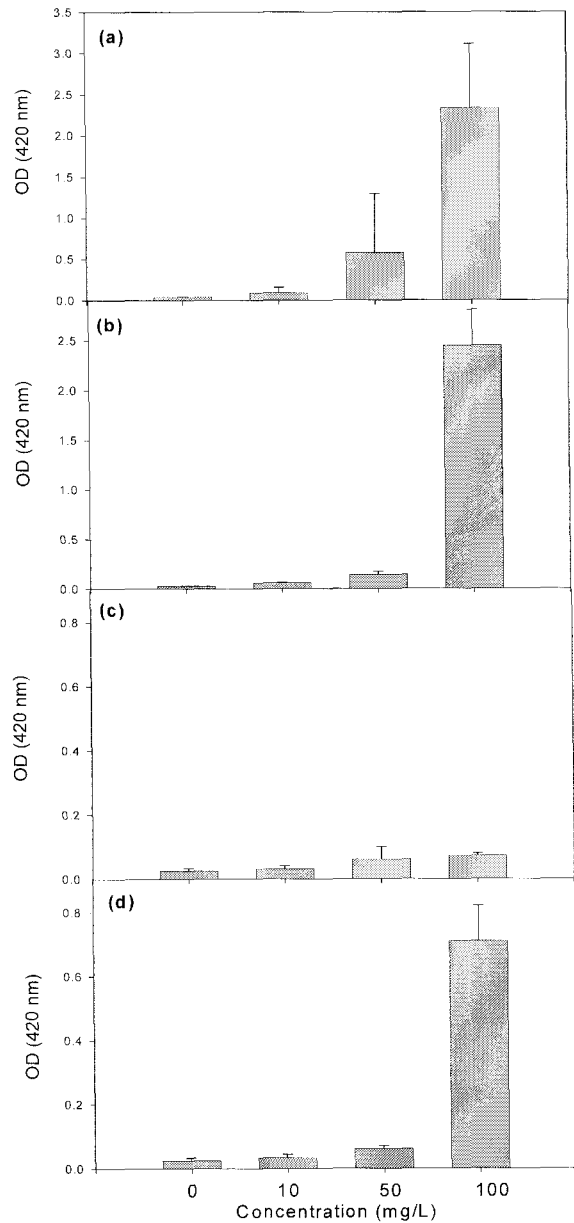


Fig. 2. Toxicity evaluation based on *Lumbricus rubellus* after addition of various concentrations of (a) endosulfan, (b) bisphenol A, (c) vinclozolin, and (d) 3,5-dichloroaniline, respectively. The methanol (0.5%) was used as a control, and the ODs at 420 nm were measured after treatment of chemicals for 24 h. The data are presented as the mean values of triplicates.

량할 수 있는 장점을 가진다. 본 연구에서는 다양한 농도의 endosulfan, bisphenol A, vinclozolin 및 3,5-dichloroaniline 처리에 따른 지렁이의 황색 분비물 흡광도를 측정하여 독성을 평가하였으며, 그 결과 endosulfan의 경우 50 mg/l의 농도에서도 확연한 독성을 나타낸 반면, 다른 물질들은 미약한 독성을 나타내었다. 그러나 100 mg/l의 농도로 처리한 결과, vinclozolin 처리구에서 미약한 독성이 나타난 것을 제외하고 모든 처리구에서 강력한 독성을 확인하였다. 결과적으로 독성의 정도는 endosulfan, bisphenol A, 3,5-dichloroaniline의 순서로 나타나, 인간세포주에서의 독성평가와는 부분적으로 다른 결과를 나타내었다. 그러나 두 시스템 모두에서 endosulfan에서 가장 강력한 세포독성을, vinclozolin에서는 무독성을 확인하여 독성 유무 평가결과는 일치하였다.

효모를 이용한 독성평가는 12시간 배양시의 효모의 세포 성장 억제 효과로 나타내었다(Fig. 3). 먼저 endosulfan의 경우 20 mg/l의 농도에서 세포 성장 억제가 나타나 농도 의존적으로 독성이 증가되었으며(Fig. 3a), bisphenol A의 경우에는 137 mg/l 농도에서부터 세포 성장억제 효과가 인정되었다(Fig. 3b). 한편 vinclozolin의 경우 286 mg/l의 농도에서도 전혀 세포 성장억제가 나타나지 않았으며, 400 mg/l의 농도까지 독성이 인정되지 않았다(Fig. 3c). 3,5-dichloroaniline의 경우에는, 32 mg/l의 농도에서 심각한 세포 성장억제를 나타내었다(Fig. 3d). 즉 효모를 이용한 독성 평가 시스템에서는 3,5-dichloroaniline, endosulfan, bisphenol A의 순서로 독성이 확인되었으며, vinclozolin의 경우에는 독성이 나타나지 않았다. 이러한 결과는, 인간 세포주 및 지렁이 시스템을 이용한 경우와 다소 차이가 나며, 특히 3,5-dichloroaniline의 경우 효모에서의 독성기작과 인간 세포주에서의 독성기작이 다르게 나타남을 추측할 수 있었다. 본 실험결과는 동일한 물질을 서로 다른 생물 독성평가 시스템을 사용하여 평가하는 경우, 독성평가의 오류가 나타날 수 있음을 암시하고 있으며, 서로 다른 생물독성평가 시스템에서 특정 화합물의 독성 유무 판단은 가능하더라도, 독성의 정량 평가 및 독성의 정도를 비교하는 것은 어렵다는 것을 제시하고 있다.

본 연구에서는, 상대적으로 연구가 미비한 내분비교란물질의 급성중독에 따른 세포독성을 평가하였으며, 지렁이 및 단세포 진핵생명체인 효모를 이용하여 간편 신속 독성평가와 인간 세포주 HepG2를 이용하여 세포독성을 측정하였다. 전반적으로 독성유무 평가결과는 동일하였으며, 독성의 정도는 평가시스템마다 약간의 차이가 나타났으나, 지렁이 및 효모 시스템이 급성독성 평가에 이용가능함을 나타내었다. 따라서 수많은 독성 의심물질 및 각 물질의 다양한 대사산물들의 독성평가에는 빠르고 경제적인 지렁이 및 효모 시스템을 사용하여 일차적으로 독성 유무를 평가하고, 독성이 확인된 물질 또는 이들의 대사산물의 경우 최종적으로는 다양한 인간 세포주 및 동물시험에 의한 검증이 필요하다고 판단된

다. 본 실험 결과는, 신속하면서도 경제적인 지렁이 독성평가 시스템 및 효모 성장억제 독성평가 시스템이 내분비 교란물질의 세포독성 평가에도 유용함을 제시하고 있으며, 현재 이를 이용한 다양한 화합물에 대한 독성 정도를 결정하여, 유독물질의 독성순위에 따른 데이터베이스 구축 작업을 진행 중에 있다.

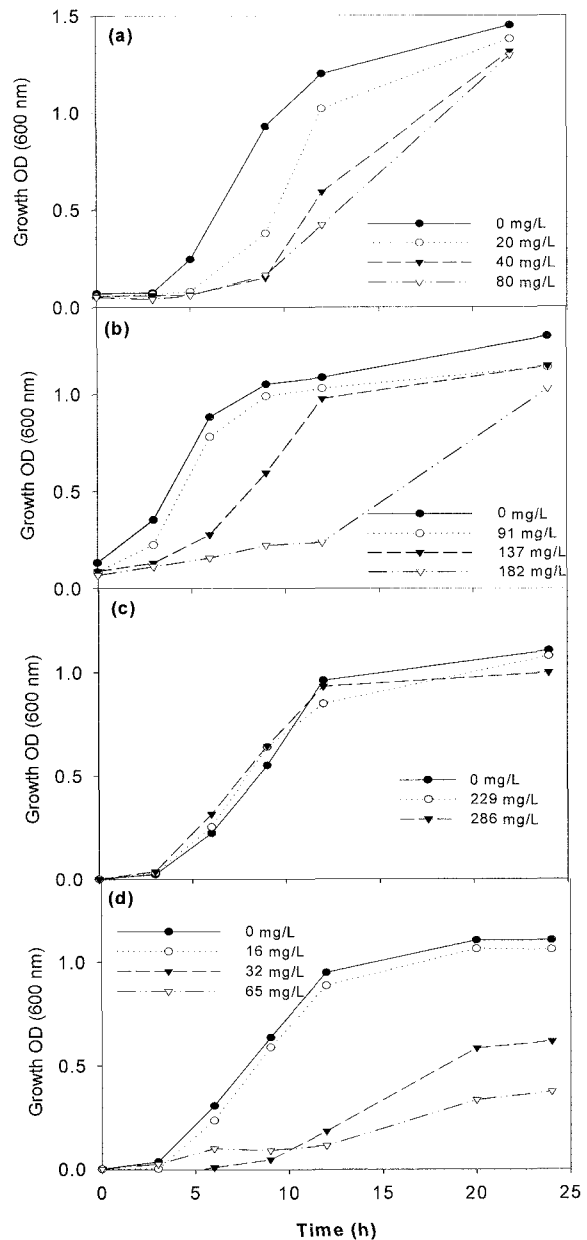


Fig. 3. Toxicity evaluation based on *Saccharomyces cerevisiae* after addition of various concentrations of (a) endosulfan, (b) bisphenol A, (c) vinclozolin, and (d) 3,5-dichloroaniline, respectively. The ethanol (0.5%) was used as a control, and the growth was determined by measuring of ODs at 600 nm after treatment of chemicals. The data are presented as the mean values of triplicates.

요 약

다양한 독성물질 및 이들의 대사산물의 효율적인 생물독성 평가시스템이 지속적으로 개발되고 있다. 본 연구에서는 내분비계 교란물질인 endosulfan, bisphenol A, vinclozolin 및 3,5-dichloroaniline을 대상으로 인간 간암세포주, 지렁이, 효모를 이용한 세포독성 및 성장억제 효과를 평가하였다. 인간 간암세포주 독성평가에서는 endosulfan, 3,5-dichloroaniline, bisphenol A의 순으로 독성이 나타났으며, 지렁이 독성평가에서는 endosulfan, bisphenol A, 3,5-dichloroaniline의 순으로 독성이 나타났다. 효모를 이용한 독성평가에서는 3,5-dichloroaniline, endosulfan, bisphenol A의 순으로 독성이 나타나 다른 시스템과는 부분적인 차이가 나타났으며, vinclozolin의 경우 3가지 독성평가 시스템에서 모두 독성이 나타나지 않았다. 이러한 결과는, 동일한 물질을 서로 다른 생물 독성평가 시스템을 사용하여 평가하는 경우, 부분적인 오류가 나타날 수 있음을 암시하고 있으며, 독성 유무 판단은 가능하더라도, 독성 정량평가 및 독성 정도를 비교하는 것은 어렵다는 것을 제시하고 있다. 또한 본 결과는, 다양한 물질 및 이들의 대사산물의 일차적 독성평가에는 지렁이 및 효모시스템이 빠르고 경제적인 암시를 하고 있으며, 독성이 인정될 경우 인간세포주 및 동물시험에 의한 검증이 효율적이라고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 BioGreen21사업(과제번호:200503010344210060200) 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Ahn, K.-S., K.-Y. Lee, H.-J. Kang, S.-K. Park, and G.-H. Kim. 2004. Toxicity of pesticides to minute pirate bug, *Orius strigicollis* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae), a predator of thrips. *Kor. J. Appl. Entomol.* **43**, 257-262.
- An, Y. J. 2005. Assessing soil ecotoxicity of methyl *tert*-butyl ether using earthworm bioassay; closed soil microcosm test for volatile organic compounds. *Environ. Pollut.* **134**, 181-186.
- Awasthi, N., A. K. Singh, R. K. Jain, B. S. Khangarot and A. Kumar. 2003. Degradation and detoxification of endosulfan isomers by a defined co-culture of two *Bacillus* strains. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **62**, 279-283.
- Bayoumi, A. E., A. J. Garcia-Fernandez, C. Ordonez, Y. Perez-Pertejo, J. C. Cubria, R. M. Reguera, R. Balana-Fouce, and D. Ordonez. 2001. Cyclodiene organochlorine insecticide-induced alternations in the sulfur-redox cycle in CHO-K1 cells. *Comp. Biochem. Physiol. Part C.* **130**, 315-323.
- Bonefeld-Jorgensen, E. C., H. T. Grunfeld, and I. M. Giermandsen. 2005. Effect of pesticides on estrogen receptor transactivation in vitro: A comparison of stable transfected MVLN and transient transfected MCF-7 cells. *Mol. Cell Endocrinol.* **244**, 20-30.
- Charrois, J. W., W. B. McGill and K. L. Froese. 2001. Acute ecotoxicity of creosote-contaminated soils to *Eisenia fetida*: a survival-based approach. *Environ. Toxicol. Chem.* **20**, 2594-2603.
- Conder J. M. and R. P. Lanno. 2000. Evaluation of surrogate measures of cadmium, lead, and zinc bioavailability to *Eisenia fetida*. *Chemosphere* **41**, 1659-1668.
- Graumann, K., A. Breithofer, and A. Jungbauer. 1999. Monitoring of estrogen mimics by a recombinant yeast assay: synergy between natural and synthetic compounds?. *Sci. Total Environ.* **225**, 69-79.
- Greenman S.B., M. J. Rutten, W. M. Fowler, L. Scheffler, L. A. Shortridge, B. Brown, B. C. Sheppard, K. E. Deveney, C. W. Deveney, D. D. Trunkey. 1997. Herbicide/pesticide effects on intestinal epithelial growth. *Environ. Res.* **75**, 85-93.
- Jung, H., W. Park, J. Lee, J. W. Yoo, E. Y. Kim and H. J. Chae. 2005. Toxicity test of biodiesel and biodiesel-derived neopentyl polyol ester lubricant oil base using earthworm. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **20**, 84-87.
- Kang, J.-H., Y. Katayama, and F. Kondo. 2006. Biodegradation or metabolism of bisphenol A: From microorganisms to mammals. *Toxicol.* **217**, 81-90.
- Kannan, K., R. F. Holcombe, S. K. Jain, X. Alvarez-Hernandez, R. Chervenak, R. E. Wolf, and J. Glass. 2000. Evidence for the induction of apoptosis by endosulfan in a human T-cell leukemic line. *Mol. Cell Biochem.* **205**, 53-66.
- Kaur, I., R. P. Mathur, S. N. Tandon and P. Dureja. 1998. Persistence of endosulfan (technical) in water and soil. *Environ. Tech.* **19**, 115-119.
- Kullman, S. W. and F. Matsumura. 1996. Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 593-600.
- Kwon, G.-S., H.-Y. Sohn, K.-S. Shin, E. Kim and B.-I. Seo. 2005. Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Klebsiella oxytoca* KE-8. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **67**, 845-850.
- Kwon, G.-S., J.-E. Kim, T.-E. Kim, H.-Y. Sohn, S.-C. Koh, K.-S. Shin and D.-G. Kim. 2002. *Klebsiella pneumoniae* KE-1 degrades endosulfan without formation of the toxic metabolite, endosulfan sulfate. *FEMS Microbiol. Lett.* **215**, 255-259.
- Lee, S.-E., J.-S. Kim, I.-R. Kennedy, J.-W. Park, G.-S. Kwon, S.-C. Koh and J.-E. Kim. 2003. Biotransformation of an organochlorine insecticide, endosulfan, by *Anabaena* species. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 1336-1340.
- Lee, Y.-D., I.-B. Ko, and W.-S. Shin. 2005. Toxicity assess-

- ment of biocide using *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Kor. Soc. Water Quality* **21**, 332-336.
19. Maul, J. D., J. B. Belden, B. A. Schwab, M. R. Whiles, B. Spears, J. L. Farris, and M. J. Lydy. 2006. Bioaccumulation and trophic transfer of polychlorinated biphenyls by aquatic and terrestrial insects to tree swallows (*Tachycineta bicolor*). *Environ. Toxicol. Chem.* **25**, 1017-1025.
 20. Mutou, Y., Y. Ibuki, T. Y. Terao, S. Kojima, and R. Goto. 2006. Chemical changes of chlorinated bisphenol A by ultraviolet irradiation and cytotoxicity of their products on Jurkat cells. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **21**, 283-289.
 21. Na, Y. E., H. S. Bang, K. K. Kang, M. S. Han and Y. J. Ahn. 2005. Assessment of the effects of some insecticides on mortality of earthworm (*Eisenia fetida*). *Korean J. Environ. Agr.* **24**, 289-294.
 22. Ooe, H., T. Taira, S. M. Iguchi-Arigo, H. Ariga. 2005. Induction of reactive oxygen species by bisphenol A and abrogation of bisphenol A-induced cell injury by DJ-1. *Toxicol. Sci.* **88**, 114-126.
 23. Patin S. A. 1982. Pollution and biological resources of the oceans, butter worth. Scientific press, London, pp 80-109.
 24. Sekine, Y., T. Yamamoto, T. Yumioka, S. Imoto, H. Kojima, and T. Matsuda. 2004. Cross-talk between endocrine-disrupting chemicals and cytokine signaling through estrogen receptors. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **315**, 692-698.
 25. Sohn, H.-Y., H.-J. Kim, E.-J. Kum, J.-B. Lee, and G.-S. Kwon. 2006. Simple and rapid evaluation system for endosulfan toxicity and selection of endosulfan detoxifying microorganism based on *Lumbricus rubellus*. *Kor. J. Life Sci.* **16**, 108-113.
 26. Sohn, H.-Y., C.-S. Kwon, G.-S. Kwon, J.-B. Lee and E. Kim. 2004. Induction of oxidative stress by endosulfan and protective effect of lipid-soluble antioxidants against endosulfan-induced oxidative damage. *Toxicol. Lett.* **151**, 357-365.
 27. Sohn, H.-Y., E.-J. Kum, C.-S. Kwon, J.-S. Kim, and G.-S. Kwon. 2006. Involvement of oxidative stress in cytotoxicity of bisphenol A of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Lett.* Submitted.
 28. Sutherland, T. D., I. Horne, R. L. Harcourt, R. J. Russell and J. G. Oakeshott. 2002. Isolation and characterization of a Mycobacterium strain that metabolizes the insecticide endosulfan. *J. Appl. Microbiol.* **93**, 380-389.
 29. Staples, C. A., P. B. Dorn, G. M. Klecka, S. T. O'Block, and L. R. Harris. 1998. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere* **36**, 2149-2173.
 30. Vanni, A., R. Gamberini, A. Calabria, and V. Pellegrino. 2000. Determination of presence of fungicides by their common metabolites, 3,5-DCA, in compost. *Chemosphere* **41**, 453-458.
 31. Wu, X. J., W. Q. Lu, P. H. Roos, and V. Mersch-Sundermann. 2005. Vinclozolin, a widely used fungicide, enhanced BaP-induced micronucleus formation in human derived hepatoma cells by increasing CYP1A1 expression. *Toxicol Lett.* **159**, 83-88.
 32. Zhan, M., X. Yang, Q. Xian, and L. Kong. 2006. Photosensitized degradation of bisphenol A involving reactive oxygen species in the presence of humic substances. *Chemosphere* **63**, 378-386.