

방사선과 염화수은의 일시 및 반복 복합 처리된 효모세포의 산화적 스트레스 적응과 형태 변화

김수현·김진규*

한국원자력연구원 방사선과학연구소

Effect of Ionizing Radiation and Mercury Chloride (II) on Cell Morphology in Yeast Cells Frequently and Temporarily Treated with Both Stressors

Su Hyoun Kim and Jin Kyu Kim*

Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea

Abstract – Metal ions are essential to life. However, some metals such as mercury are harmful, even when present at trace amounts. Toxicity of mercury arises mainly from its oxidizing properties. Ionizing radiation (IR) is an active tool for destruction of cancer cells and diagnosis of diseases, etc. IR induces DNA double strand breaks in the nucleus, In addition, it causes lipid peroxidation, ceramide generation, and protein oxidation in the membrane, cytoplasm and nucleus. Yeasts have been a commonly used material in biological research. In yeasts, the physiological response to changing environmental conditions is controlled by the cell types. Growth rate, mutation and environmental conditions affect cell size and shape distributions. In this work, the effect of IR and mercury chloride (II) on the morphology of yeast cells were investigated. *Saccharomyces cerevisiae* cells were treated with IR, mercury chloride (II) and IR combined with mercury chloride (II). Non-treated cells were used as a control group. Morphological changes were observed by a scanning electron microscope (SEM). The half-lethal condition from the previous experimental results was used to the IR combined with mercury. Yeast cells were exposed to 400 and 800 Gy at dose rates of 400 Gy hr⁻¹ or 800 Gy hr⁻¹, respectively. Yeast cells were treated with 0.05 to 0.15 mM mercury chloride (II). Oxidative stress can damage cellular membranes through a lipidic peroxidation. This effect was detected in this work, after treatment of IR and mercury chloride (II). The cell morphology was modified more at high doses of IR and high concentrations of mercury chloride (II). IR and mercury chloride (II) were of the oxidative stress. Cell morphology was modified differently according to the way of oxidative stress treatment. Moreover, morphological changes in the cell membrane were more observable in the frequently stress treated cells than the temporarily stress treated cells.

Key words : yeast cells, oxidative stress, mercury chloride, ionizing radiation, morphology

* Corresponding author: Jin Kyu Kim, Tel. 063-570-3130,
Fax. 063-570-3139, E-mail. jkkim@kaeri.re.kr

서 론

모든 호기성 생물들은 분자형태의 산소로부터 생성되는 활성산소종(Reactive Oxygen Species, ROS)에 의해 산화적 스트레스를 받는다. ROS는 높은 활성을 지니고 있어 DNA, 지질, 단백질과 같은 세포구성 물질에 손상을 일으킨다. 따라서, 생물체의 세포들은 활성산소종으로부터 세포 구성물질을 방어할 수 있는 기작을 발전시켜왔다. 활성산소종은 많은 세포의 연속적인 대사과정에 의해 내적으로 생성되며, 이온화 방사선, 중금속의 노출 등에 의하여 환경에 나타나는 산화환원과정에서 생성된 화학적 산물의 세포노출에 의한 형태로도 생성될 수 있다(Jamieson 1998).

수은 화합물은 무기수은, 메틸수은, 염화수은 등 화학적 분류에 따라 다양한 생물반응을 일으키기 때문에 다각적 측면에서의 연구가 이루어지고 있으며, 주로 신경, 신장 및 간 손상을 일으킨다는 연구결과가 보고되었다(Goyer *et al.* 1991; Emanuelli *et al.* 1996). 세포수준에서의 유기수은은 세포막 물질 수송계에서 active transport system을 통해서 유입되는 것으로 알려져 있으며, 수은에 의한 신장 독성은 항산화와 관련 GSH와 Gpx 활성을 변화시켜 산화적 손상을 준다는 연구결과가 MDCK (Madin-Darby canine kidney) cell을 이용한 실험에서 밝혀졌다(Youm *et al.* 2000; Aleo *et al.* 2002). 수은과 카드뮴에 의해 생성된 활성산소종은 지질 인산화, DNA 손상, 단백질 구성성분인 sulfhydryl의 감소와 칼슘 항상성의 변화를 초래하고, DNA 수복과정의 억제와 세포독성이 나타나지 않는 농도에서도 직접적인 DNA 손상을 나타냄으로써 유전독성을 유발하는 것으로 보고되었다(Stoys and Bagchi 1995; Migliore *et al.* 1999).

방사선은 오늘날 치료 및 진단, 식품의 멸균, 계축 등 다양한 방면에 이용되고 있다. 산화적 스트레스 유발원의 하나로 방사선에 과다 피폭 시 세포괴사 및 유전자의 특이적 발현을 일으킨다. 또한, 핵의 DNA double strand breaks가 일어나고 이로 인하여 세포막, 세포질, 핵에서 지질 인산화, ceramide generation, 단백질 산화가 야기된다(Keifer 1989). 이온화 방사선같이 산화적 손상을 일으키는 물리적 요인으로 DNA 손상을 일으키는 물질의 세포노출 시 유전 안정성을 유지하기 위해 DNA 손상 회복, cell cycle arrest, 전사적 반응, 세포 죽음 등 복잡한 반응이 일어난다(Keifer 1989).

*Saccharomyces cerevisiae*는 고등동물 세포에서 나타나는 생물학적 반응을 규명하기 위한 이상적 연구재료로서, 포유류 세포에 있는 많은 질병 유전자 및 이온화 방

사선 손상 수복과 관련된 유전자들은 효모 연구를 통해 밝혀졌다. 인간과 효모 게놈서열을 밝혀냄으로써 효모를 이용하여 인간유전자의 기능을 밝힐 수 있게 된 것이다. 효모의 DNA 손상회복과 checkpoint 유전자들은 이온화 방사선에 대한 내성반응을 나타낸다. 배수체에서 감마선에 민감하게 3,670 non-essential 유전자의 손실, 107개 유전자의 전좌 등 변이를 일으키며, 복제, 재결합, checkpoint 기능에 영향을 미친다. 암세포에 있는 17개 유전자를 포함하여, 사람의 유전자와 50% 이상의 상동성을 갖는 새롭게 확인된 유전자들은 방사선에 의한 손상에 내성을 띠는 것으로 알려졌다(Bennett *et al.* 2001). 선행 연구에서 수은을 처리한 효모가 adaptive response를 보였으며, 반수체의 경우 방사선 조사 후에 수복기능을 나타내지만 배수체의 경우 cell cycle arrest 반응을 보이는 등 민감하게 반응하는 것이 밝혀졌다. 이처럼 산화적 스트레스에 관한 연구는 국내외에서 많이 이루어지고 있으나 현재의 연구수준은 각각의 산화적 스트레스에 대한 연구로서 그 산화적 스트레스를 감소시키거나, 극복할 수 있는 방법을 찾는 연구가 대부분이다. 반면, 산화적 스트레스는 생활공간에서 손쉽게 접하며 그에 따라 복합적인 영향을 받게 됨에도 불구하고 복합적인 산화적 스트레스에 대한 연구가 상대적으로 적게 이루어지고 있다. 본 연구에서는 이러한 복합적 스트레스에 의한 세포의 형태적 영향을 살펴보았다. 또한, 실생활에서 산화적 스트레스에 노출되어 있는 경우 스트레스에 대한 반응은 일시적인 스트레스를 받은 경우와는 다를 것으로 판단된다. 따라서 단독 혹은 복합 처리된 스트레스에 적응한 세포에서의 스트레스에 대한 반응을 형태적인 변화로 확인해 보았다. 이를 통해 산화적 스트레스의 지속적 처리가 생체에 미치는 영향을 알아보고, 나아가 분자유전학적 분석의 토대를 마련할 계기를 마련하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 배양

Saccharomyces cerevisiae W303-1A strain MATa {leu2-3, 112 trp1-1 can1-100 ura3-1 ade2-1 his3-11,15}은 1% Yeast extract (Difco), 2% Dextrose, 2% Bacto Peptone (Difco)로 조성된 YPD 배지에서 30°C, 60시간 조건으로 배양한다.

2. 염화수은과 이온화 방사선 처리

YPD 액체배지에 Colony를 접종하여 배양한 배양액의 일정량을 염화수은(HgCl₂)을 포함하지 않는 액체배지와

염화수은이 0.1 mM에서 0.9 mM 농도범위로 첨가된 액체 배지에 옮겨 적정시간까지 배양한다. 이렇게 배양된 세포배양액에 이온화 방사선을 처리한다. 이온화 방사선은 한국원자력연구원 방사선과학연구소 내에 있는 조사시설, ^{60}Co γ -irradiator (MDS Nordion, Canada)을 이용하였다. 효모에 주로 적용하는 방사선량인 700 Gy, 800 Gy 범위를 기준으로 각기 다른 선량율에 따라 최종흡수선량의 범위를 100, 400, 800, 1,200 Gy로 나누어 조사하였다. 염화수은과 이온화 방사선을 복합 처리한 경우, 염화수은을 포함한 액체배지에서 배양한 효모 배양액에 방사선을 조사한 후 동일한 농도의 염화수은을 포함한 고체 배지에 희석, 도말한 후 60시간 배양한다. 염화수은만 처리한 경우, 염화수은을 포함한 액체배지의 효모배양액을 염화수은을 포함한 고체배지에 희석, 도말한다. 이온화 방사선만을 처리한 경우, YPD 액체배지의 효모배양액을 YPD 고체배지에 희석, 도말한다.

3. 스트레스에 대한 적응 세포

이온화 방사선과 염화수은의 단독, 복합 처리를 일정 시간 간격을 두고 반복적으로 시행하였다. 본 연구에서는 10회 이상 산화적 스트레스를 반복적으로 처리한 세포를 이용하였다.

4. 효모의 생존율 평가

CFU (Colony Forming Unit) 방법으로 산화적 스트레스 처리한 효모를 포함한 YPD 배지를 적정 비율로 희석하여, 일정량을 새로운 YPD 배지에 도말한 후 30°C에서 60시간 동안 배양한 효모의 집락을 계수하였다. 총 3회 이상 반복실험의 평균값을 이용하여 생존율을 결정하였다.

5. 효모의 형태적 변화 분석

주사전자현미경을 이용하여 생물시료를 관찰할 경우 고정, 탈수, 건조, 코팅단계의 전처리 과정이 필요하다 (Bonin *et al.* 1999; Salmon *et al.* 2003; Sunner *et al.* 2003). Glutaraldehyde 2% 용액과 phosphate buffer를 이용하여 고정시키고, 50%, 70%, 80%, 90%, 100% 에탄올 탈수과정을 거친 후 상온에서 건조시킨다. 건조된 시료를 Cressington Sputter coater (Cressington Scientific Instruments Ltd. England. UK)을 이용하여 40 mA, 60 sec 조건으로 금박으로 코팅한 다음 방사선과학연구소가 보유하고 있는 주사전자현미경 (Scanning electron microscope, JEOL JSM-6390)을 이용하여 효모의 형태를 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 산화적 스트레스의 단독 처리 및 복합 처리에 따른 생존율 변화

방사선만을 조사한 실험군에서는 방사선의 최종 흡수선량이 높을수록 세포의 생존율이 감소하였으며 조사선량율이 높을수록 세포의 생존율이 감소하였다. 즉, 동일한 흡수선량을 짧은 시간에 받을수록 세포가 받는 영향력이 클 수 있었다. 염화수은만을 처리한 실험군의 경우, 0.4 mM 이상의 농도에서는 거의 모든 세포가 사멸한 반면, 0.15~0.2 mM의 저농도 범위에서 세포의 생존율이 일시적으로 증가하는 경향을 보였으며, 점차 염화수은의 농도에 비례하여 세포의 생존율이 낮아졌다. 자궁경부암 세포를 이용한 연구보고 (Woo *et al.* 2006)에 따르면 DNA 손상 평가 시 단독 노출군과 복합 노출군 비교결과 복합 노출군에서의 DNA 손상이 단독 노출군에 비해 컸다. 또한 방사선 처리 후 수은을 처리한 경우 DNA 손상도가 높아 복합처리에 의한 손상의 상승효과가 확인되었다. 사람 림프구를 대상으로 이온화 방사선과 수은을 동시 노출시켰을 때 DNA 손상에 관한 연구가 보고 (Panek *et al.* 2001)되었으며, 수은 이외의 물질 중 살충제와 이온화 방사선을 복합적으로 노출시켜 이에 따른 상승작용을 규명한 연구결과도 보고된 바 있다 (김 2001). 염화수은과 방사선을 복합 처리한 세포의 생존율은 수은 농도가 높고, 최종 흡수선량이 높을수록 감소하였다 (Fig. 1). 두 가지 스트레스가 복합 처리된 세포의 생존율이 단독 처리된 세포에서보다 현저히 감소하였으

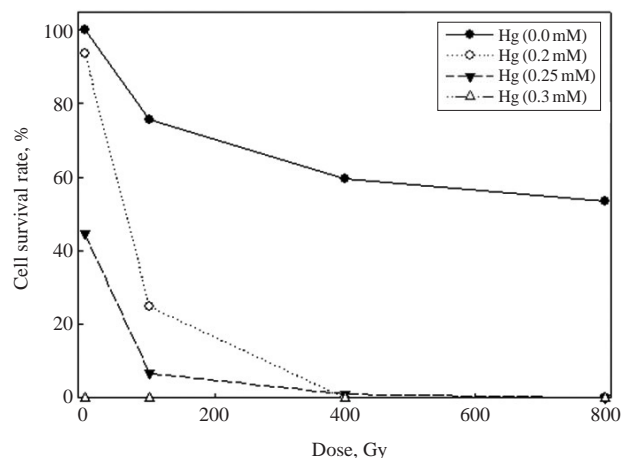


Fig. 1. Cell viability of *Saccharomyces cerevisiae* after the combined treatment of mercury chloride (II) and ionizing radiation at 400 Gy hr⁻¹.

며 이는 복합 처리된 스트레스의 상승효과가 나타남을 의미한다.

2. 산화적 스트레스에 적응한 세포선별

지금까지의 연구들이 세포에 강도가 낮은 스트레스 처리한 다음 높은 강도의 스트레스를 처리하였을 때의 내성 반응을 나타내는지를 알아보려고 한 것이었다면 본 연구는 지속적인 스트레스에 적응한 개체를 이용한 실험이라는 점에서 차별성을 갖는다. 지속적인 단독 및 복합 처리된 스트레스에 따른 세포의 생존율과 일시적 처리에 따른 세포의 생존율을 비교하여 스트레스에 적응한 세포로 분류하였다. 산화적 스트레스의 일시적 처리군의 생존율과 지속적인 처리군의 생존율을 방사선의

조사선량과 염화수은 처리농도에 따라 비교하였다(Figs. 2, 3). 염화수은의 농도가 0.2mM 이상의 범위에서 3회 이상 복합스트레스를 처리하였을 때 세포가 더 이상 생존하지 않아 저농도 범위인 0.05 mM, 0.1 mM, 0.15 mM에서 염화수은과 이온화 방사선을 단독, 복합적으로 10회 처리한 세포를 이용하여 생존율을 측정하였다. 염화수은 처리에 의한 세포의 생존율을 볼 때, 일시적으로 스트레스를 처리한 군에서의 세포의 생존율과 10회 스트레스 반복처리 군에서의 세포 생존율은 0.05 mM에서 일시적 스트레스 처리군의 생존율이 높았으나 0.15 mM 농도 범위에서는 반복적 스트레스 처리 군에서의 생존율이 높게 나타났다(Figs. 2, 3). 이온화 방사선을 단독 처리한 군에서의 세포 생존율을 비교해 보면 400 Gy hr⁻¹, 800 Gy hr⁻¹ 등 선량률에 상관없이 대체적으로 일시적 스트레스 처리군과 반복적 스트레스 처리군의 세포 생존율이 비슷한 경향을 보였다. 이어 복합적인 스트레스를 처리하였을 때, 일시적인 스트레스를 처리한 세포의 생존율이 반복적 스트레스 처리군의 세포 생존율과 비슷한 양상을 보였으며 심지어 반복적 스트레스 처리군에서의 세포 생존율이 높게 나타났다. 즉, 반복적인 스트레스 처리에 의해서 세포의 생존에 큰 영향을 주지 않았으며 심지어 이러한 반복적 스트레스 처리한 군에서의 세포 생존율이 일시적인 스트레스를 처리한 군에서보다 높게 나타남으로

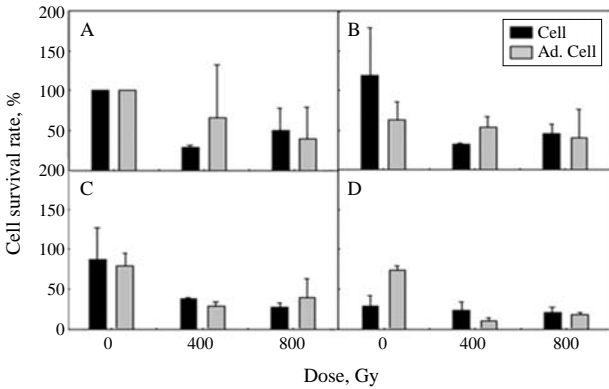


Fig. 2. Cell viability of adaptational cells after irradiation at 400 Gy hr⁻¹ dose rate. A. 0.0 mM mercury chloride (II)-treated; B. 0.05 mM mercury chloride (II)-treated; C. 0.1 mM mercury chloride (II)-treated; D. 0.15 mM mercury chloride (II)-treated. Ad cell stands for adaptational cells.

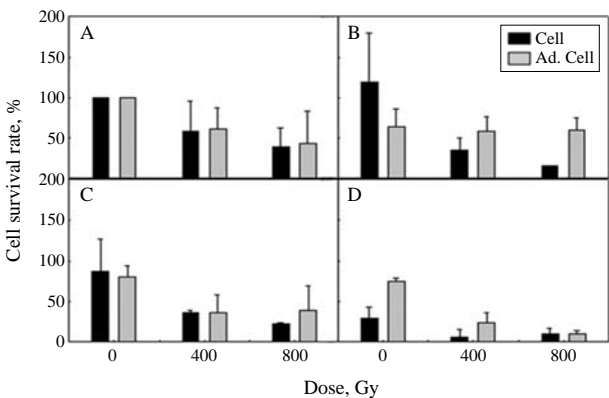


Fig. 3. Cell viability of adaptational cells after irradiation at 800 Gy hr⁻¹ dose rate. A. 0.0 mM mercury chloride (II)-treated; B. 0.05 mM mercury chloride (II)-treated; C. 0.1 mM mercury chloride (II)-treated; D. 0.15 mM mercury chloride (II)-treated. Ad cell stands for adaptational cells.

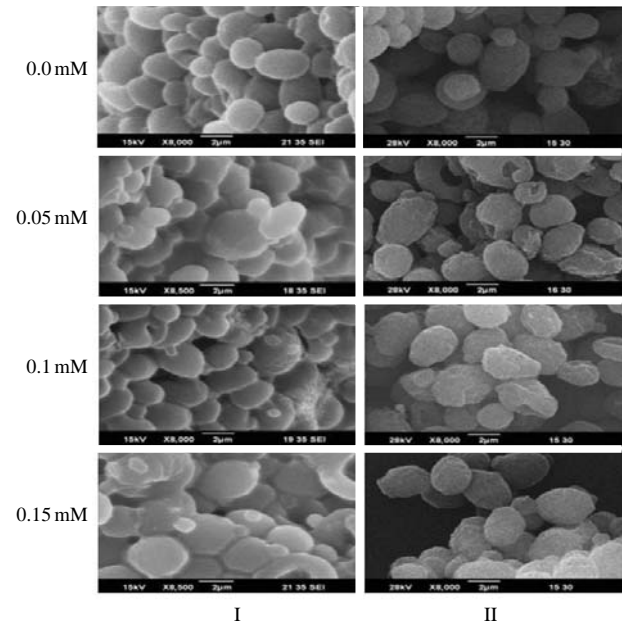


Fig. 4. Morphology of yeast cells after treatment with mercury chloride (II). Lane I is of the temporarily stress-treated cells; Lane II is of the frequently stress-treated cells. For the frequently stress-treated cells, treatment was performed ten times.

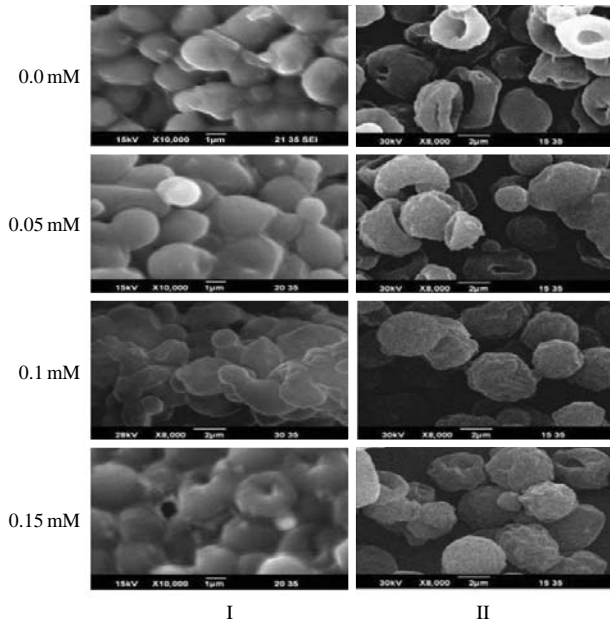


Fig. 5. Morphology of *Saccharomyces cerevisiae* after combined treatment with mercury chloride(II) and 400 Gy of ionizing radiation at 400 Gy hr⁻¹. Lane I is of the temporarily stress-treated cells; Lane II is of the frequently stress-treated cells. For the frequently stress-treated cells, treatment was performed ten times.

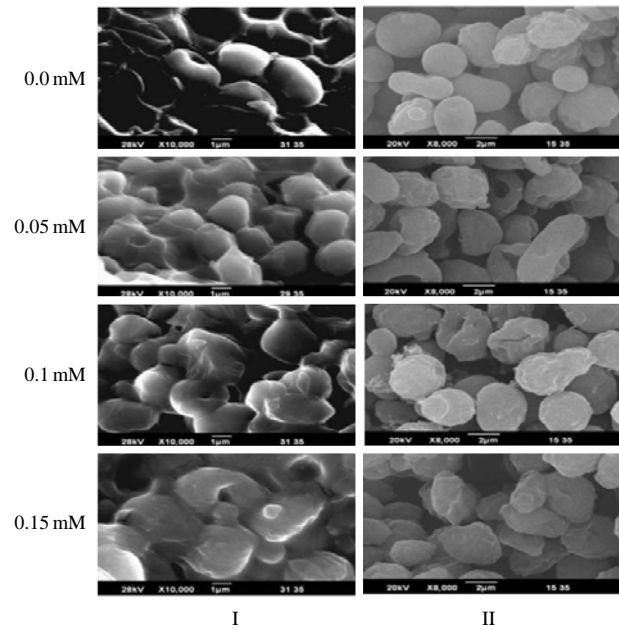


Fig. 7. Morphology of *Saccharomyces cerevisiae* after combined treatment with mercury chloride(II) and 400 Gy of ionizing radiation at 800 Gy hr⁻¹. Lane I is of the temporarily stress-treated cells; Lane II is of the frequently stress-treated cells. For the frequently stress-treated cells, treatment was performed ten times.

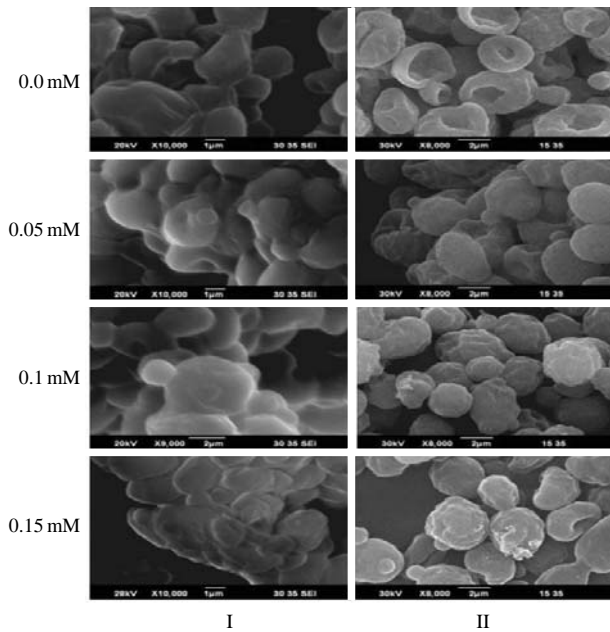


Fig. 6. Morphology of *Saccharomyces cerevisiae* after combined treatment with mercury chloride(II) and 800 Gy of ionizing radiation at 400 Gy hr⁻¹. Lane I is of the temporarily stress-treated cells; Lane II is of the frequently stress-treated cells. For the frequently stress-treated cells, treatment was performed ten times.

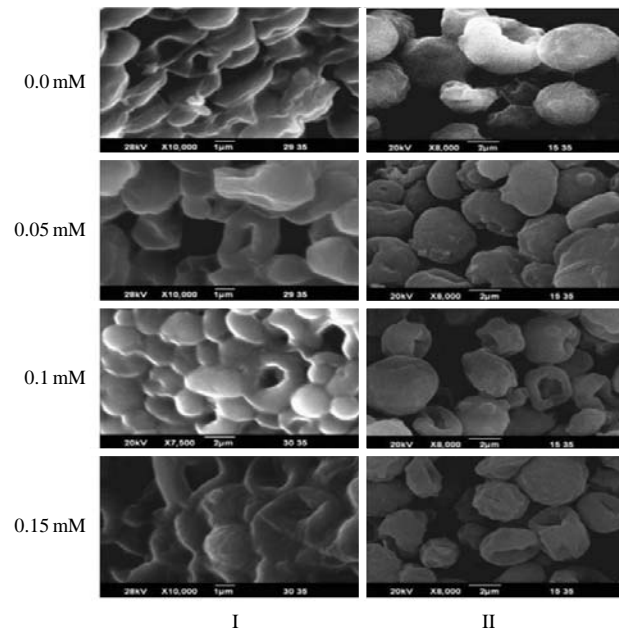


Fig. 8. Morphology of *Saccharomyces cerevisiae* after combined treatment with mercury chloride(II) and 800 Gy of ionizing radiation at 800 Gy hr⁻¹. Lane I is of the temporarily stress-treated cells; Lane II is of the frequently stress-treated cells. For the frequently stress-treated cells, treatment was performed ten times.

인하여 스트레스에 적응한 세포군 분류가 가능했다.

3. 산화적 스트레스 처리에 따른 세포의 형태적 변화

산화적 스트레스의 처리에 따라 세포가 받는 영향은 DNA 손상, Cell Cycle arrest, 단백질 산화, 지질 인산화 등 세포막과 관계된 물질의 변화가 일어나는 것으로 알려져 있다(Onken and Liefke 1989; Coelho *et al.* 2004). 특히, 산화적 스트레스에 의해 세포막의 손상이 두드러질 것으로 예상되는 가운데 스트레스 적응 세포군으로 선별된 세포를 수집하여 세포의 형태적인 변화를 살펴보았다(Figs. 4~8). 먼저, 일시적 스트레스를 처리한 세포의 형태를 살펴보았다. 수은을 처리하였을 때 세포막의 형태적 변화를 살펴볼 수 있었으며 수은 농도가 높아질수록 세포막 형태의 변화는 컸다(Fig. 4. Lane I). 수은은 DNA 수복과정이 진행되는 동안에 필수적인 금속이온들과 함께 보조인자로서 경쟁적으로 작용한다(Hartwing, 1995). 수은의 독성을 감소, 방어하는 기작으로 수은을 액포에 저장하여 배출하는 시스템이 알려져 있다(Guel-dry *et al.* 2003).

이온화 방사선만을 처리한 세포의 형태적 변화를 살펴보면 수은만 처리한 군과는 달리 변화가 세포막에 국한되지 않고 세포 자체의 형태가 찌그러지는 현상을 보였다. 이 또한 세포에 가해진 스트레스의 세기에 따라 형태의 변화가 크를 관찰하였다(Figs. 5~8. Lane I). 염화수은과 이온화 방사선을 복합적으로 처리하였을 때 세포는 염화수은을 처리하였을 때 나타난 세포막의 손상의 형태와 이온화 방사선을 처리하였을 때 나타난 세포 자체의 형태적 변화가 동시에 나타났으며 세포가 받는 스트레스의 강도에 따라 세포의 형태적 변화 양상이 크를 알 수 있었고(Figs. 5~8. Lane I) 복합적 스트레스에 의해 세포가 받는 형태적 변화 양상 또한 단독 스트레스 처리에 의한 세포의 형태적 변화 양상에 대한 상승작용이 나타남을 알 수 있었다. 일시적 스트레스 처리군의 형태적 변화와 비교하였을 때, 반복적인 스트레스로 인해 적응한 세포에 나타난 형태적 변화는 일시적 스트레스 처리군의 세포의 변화보다 크를 알 수 있었다(Figs. 4~8. Lane II). 적응 세포는 확연하게 일시적 스트레스 처리군의 세포와 구분되어 형태적 변화가 크에도 불구하고 세포의 생존을 일시적 스트레스 처리군의 세포처럼 유지함을 알 수 있었다.

결 론

세포 생존율의 변화를 살펴볼 때 두 가지 산화적 스

트레스를 복합 처리한 세포 생존율의 감소양상이 단독 처리한 세포 생존율과 비교하여 더 큰 것을 알 수 있었다. 이는 산화적 스트레스의 복합작용에 의해 세포가 받는 스트레스 효과의 상승작용을 의미한다. 이는 선 수행된 산화적 스트레스의 복합처리에 의한 상승효과(Kim *et al.* 2001; Panek *et al.* 2001; Woo *et al.* 2006)를 밝힌 연구들의 결과와 일치한다.

일상생활에 있어 손쉽게 노출될 수 있고 복합적으로 작용하여 영향을 미치는 산화적 스트레스를 반복적으로 처리함으로써 산화적 스트레스에 적응한 세포군을 이용하여 스트레스 적응세포를 만들었다. 산화적 스트레스의 종류에 따라 세포가 받는 형태적 변화는 달랐으며, 단독 스트레스를 처리하였을 때 나타나는 세포의 형태적 변화는 복합적인 스트레스 처리 시 단독 스트레스 처리 시 나타나는 형태적 변화가 혼합되어 나타났다. 또한, 일시적인 스트레스를 처리한 세포군보다 반복적인 스트레스 처리로 인하여 적응한 세포군에서 산화적 스트레스에 의한 세포의 형태적 손상이 현저히 컸으며, 스트레스의 강도에 비례하는 경향을 보였다. 세포는 스트레스에 적응하며 생존하기 위해 노력하는데 이러한 세포 항상성을 유지하기 위한 DNA 수복과정은 DNA 구조적인 변화 혹은 수복에 관여하는 단백질들의 변성에 기인하여 저해가 이뤄지며, 스트레스 처리에 따라 세포막에 있는 단백질, 지질, DNA의 손상에 의해 세포의 형태적 변화가 야기된 것으로 사료된다.

게다가 스트레스로 인하여 세포의 형태적 손상이 크에도 불구하고 일시적인 스트레스 처리군의 세포 생존율과 비슷한 경향을 보인 적응 세포는 세포에 가해진 스트레스에 적응하는 기작을 발동시킴으로써 세포의 생존을 유지하고 있으리라 추측된다. 그러므로, 본 연구의 결과는 이러한 스트레스에 적응하는 기작을 규명하는 자료로서의 가치가 있다고 판단된다.

참 고 문 헌

- 김진규. 2001. 환경재해 방지를 위한 생물정보로서의 사람 림프구 DNA 손상에 대한 방사선과 살충제의 상승작용. *환경생물*. 19:19-24.
- Aleo MF, F Morandini, F Bettoni, S Tanganelli, A Vezzola, R Giuliani, N Steimberg, P Apostoli and G Mazzoleni. 2002. Antioxidant potential and gap junction-mediated intercellular communication as early biological markers of mercury chloride toxicity in the MDCK cell line. *Toxicol. in Vitro* 16:457-465.
- Bennett CB, LK Lewis, G Karthikeyan, KS Lobachev, YH Jin,

- JF Sterling, JR Snipe and MA Resnick. 2001. Genes required for ionizing radiation resistance in yeast. *NAT GENET* 29: 426-434
- Bonin S, W Wzorek and L Koper. 2006. Influence of long-time continuous wine fermentation on yeast immobilized on foam glass. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*. 5:25-38.
- Coelho MAZ, I Belo, R Pinheiro, AL Amaral, M Mota, JAP Coutinho and EC Ferreira. 2004. Effect of hyperbaric stress on yeast morphology: study by automated image analysis. *Applied Microbiology and Biotechnology* 66: 318-324.
- Emanelli T, JB Racha, ME Pereira, LO Porciuncula, VM Morsch, AF Martins and DO Souza. 1996. Effect of mercuric chloride intoxication and dimercaprol treatment on delta-aminolevulinic dehydratase from brain, liver and kidney of adult mice. *Pharmacol. Toxicol.* 79:136-143.
- Goyer RA. 1991. Toxic effects of metal. *Casarett Doll's Toxicol.* 4:646-651.
- Guedry O, M Lazard, F Delort, M Dauplais, I Grigoras, S Blanquet and P Plateau. 2003. Ycf1p-dependent Hg (II) detoxification in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur. J. Biochem.* 270: 2486-2496.
- Hartwig A. 1995. Current aspects I metal genotoxicity. *Bio-metals* 8:3-11.
- Jamieson DJ. 1998. Oxidative stress responses of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 14:1511-1527.
- Keifer J. 1989. *Biological Radiation Effects*. Springer Verlag, Berlin. 444pp.
- Migliore L, L Cocchi, C Nesti and E Sabbioni. 1999. Micronuclei assay and FISH analysis in human lymphocytes treated with six metal salts. *Environ. Mol. Mutagen.* 34:279-284.
- Onken U and E Liefke. 1989. Effect of total and partial pressure (oxygen and carbon dioxide) on aerobic microbial processes. pp.137-169. In *Advances In Biochemical Engineering/Biotechnology* (Riechter A ed.). Springer, Berlin Heidelberg New York.
- Panek A, JK Kim and A Cebulska-Wasliewa. 2001. *In Vitro* studies of repair efficiency of DNA damage induced by X-rays in lymphocytes exposed to mercury. 12nd Symposium of Polish Radiation Research Society, Sept. 10-12, 2001, Krakow, Poland.
- Salmon JM, P Vuchot, T Doco and M Moutounet. 2003. Maintenance and protection of yeast morphology by contact with wine polyphenols during simulation of wine aging on Lees. *Food Microbiol. Safety.* 68:1782-1787.
- Stojs SJ and D Bagchi. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic. Biol. Med.* 18:321-336.
- Sunner J, R Avci, L Richards, G Groenewold, J Ingram and M Arthun. 2003. Preservation of yeast cell morphology for scanning electron microscopy using 3.28- μ m IR laser irradiation. *J. Microbiol. Methods* 54:285-287.
- Woo HJ, JH Kim, A Cebulska-Wasilewska and JK Kim. 2006. Evaluation of DNA damage by mercury chloride (II) and ionizing radiation in HeLa cells. *Korean J. Environ. Biol.* 24:46-52.
- Youm JH, DH Koh, JY Kim and NS Kim. 2000. Changes on the methylmercury-induced cytotoxicity by control of cell membrane transport system. *Korean J. Environ. Health. Soc.* 26:88-96.

Manuscript Received: January 12, 2010

Revision Accepted: May 25, 2010

Responsible Editor: Hak Young Lee