

양파 추출물에서의 글루타티온 전달효소 활성 저해제에 관한 연구

†이 광 수 · 박 경 숙
장안대학교 식품영양과

A Study of Glutathione S-transferase Inhibitors obtained from *Allium cepa* var. *cepa* Extract

†Kwang-Soo Lee and Kyung-Sook Park

Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Whasung 445-756, Korea

Abstract

In this study, an ethanol extract being obtained from *Allium cepa* var. *cepa* examines the inhibitory effects on the glutathione S-transferase and the separation had been done by silica-gel column chromatography using various eluents, such as ethyl acetate, methanol, and 50% methanol. A volume of column fraction was 50 ml and evaporation has been performed by the rotary evaporator under reduced pressure. Each fraction is being examined by thin layer chromatography and the UV spectrum at 365 nm was used to investigate separation patterns of spots on thin layer chromatography. When the eluent was changed, the spot patterns showed another different pattern on thin layer chromatography, so on. Fractions showing similar pattern are combined and eventually, three fractions are obtained. Each fraction is testified to examine the inhibition effects on glutathione S-transferase. All of these showed inhibition effects on glutathione S-transferase. The GC-MS shows that each fraction contains more than 2 compounds.

Key words: *Allium cepa* var. *cepa*, glutathione S-transferase, inhibitory effect, silica-gel column chromatography

서 론

지구상에 존재하는 모든 생물체는 생존을 위해 외부로부터 유입되는 독성 물질에 대해 끊임없이 해독작용을 하고 있다. 즉, 각각의 개체들은 외부에서 유입되는 여러 가지 독성 물질들에 의한 피해를 최소화하기 위해 각자의 체계적인 방어기구를 갖고 있다. 바이러스, 세균, 고분자 유기 화합물의 유입은 주로 면역체계에 의한 방어가 이루어지며, 비교적 저분자의 유기 화합물인 외래성 이물질(xenobiotics)에 대해서는 해독효소에 의해 해독 작용이 이루어진다. 해독효소에 의한 무독화 과정은 반응 형태에 따라 phase I과 phase II 반응의 두 가지로 분류된다. Phase I에 속하는 반응으로는 산화반응, 환원반응 그리고 가수분해 반응 등이 있으며, 유입된 물질에 수산기, 탄산기, 아민기 등과 같은 친전자성 또는 친핵성 작

용기를 발생시키는 반응이다. 반면에 phase II 반응은 포함반응(conjugation)으로 phase I 반응에 의해 생성된 작용기에 글루타티오닐(glutathionyl-), 글루쿠로닐(glucuronyl-), 황(sulfuryl-)기 등을 포함시켜 화합물들의 수용성을 증가시킨 후 요나담즙을 통해 생물체 밖으로 배출시키는 무독화 과정이다(Armstrong RN 1987).

글루타티온 전달효소(Glutathione S-transferase; GSTs, EC 2.5.1.18, GST)는 1961년 동물에서 처음 발견되었으며, 1970년대에 이르러 글루타티온(GSH)과 chloro-S-triazine계 제초제인 atrazine의 포함반응에 의해 GS-atrazine 복합체 형성을 통해 제초제를 무독화 하여 제초제에 대한 농작물의 손상을 방어할 수 있다는 연구결과에서 처음으로 식물 글루타티온 전달효소가 보고되었다(Dixon 등 2002a). 또한 GST의 활성을 나타내는 효소나 유전자 서열이 동물, 식물, 곤충, 선충류, 효

† Corresponding author: Kwang-Soo Lee, Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Whasung 445-756, Korea. Tel: +82-31-299-3068, Fax: +82-31-299-3609, E-mail: lkss2920@jangan.ac.kr

모, 호기성 세균 등에서 발견되었고, 현재는 다양한 종에서 GST 효소들이 보고되었다(Shreehan 등 2001).

글루타티온 전달효소의 주요 기능은 알킬, 할로젠화 아릴, 에폭사이드, 에터 등과 같은 친전자성 화합물과 글루타티온(GSH)과의 포합반응을 촉매하는 것으로(Johansson & Mannervik 2002) 외래성 이물질들에 대한 해독작용을 주 기능으로 하는 다기능 단백질로서 각종 질병과 밀접한 관련이 있고, 각종 화합물과 비공유 결합하여 세포내 저장(retention) 및 수송에 관여하는 결합 단백질로서의 기능을 갖는다. 또한 mercapturic acid의 생합성 과정에서 처음 단계에도 관여하는 것으로 알려져 있다(Habig 등 1974; Mannervik B 1985a; 1985b).

글루타티온 전달효소의 분자량은 약 50 kDa로 25~27 kDa인 2개의 서브유닛(subunits)으로 구성된 동중이량체(homodimer) 및 이종이량체(heterodimer)의 수용성 단백질이다. 각 서브유닛은 두 개의 도메인으로 구성되어 있고, 친전자성 중심을 갖고 있는 기질과 삼중펩티드인 글루타티온(Glutathione; GSH, γ -Glu-Cys-Gly)의 포합반응을 촉매하는 것으로 밝혀졌다(Moons A 2003). 첫 번째 도메인은 글루타티온(GSH) 결합 부위(G-site)로 N-말단에 위치하며, 1~80까지의 잔기로 이루어져 있고, α/β -구조로 측면에 3개의 α -helix와 4개의 β -sheet로 구성되어 있다. 첫 번째 도메인에 속하는 친수성을 지닌 글루타티온 결합부위는 활성 중심 잔기로 높은 특이성을 가지는데, 포유동물의 경우엔 티로신(tyrosine) 잔기, 식물은 세린(serine) 잔기가 활성 중심 잔기 역할을 하는 것으로 보고되었다(Dixon 등 2002b). 두 번째 도메인은 소수성 기질결합 부위(H-site)로 연결자(linker) 서열의 C-말단에 존재하며, 약 87~210까지의 잔기로 이루어져 있다.

항암제 내성(anti-cancer drug resistance)을 설명하기 위해 제안된 하나의 mechanism은 정상세포에 비해서 내성세포에서 GST 분자종들의 발현이 증가하는 것이다. Batist 등(1987)은 adriamycin-resistant human breast cancer cell line(AdrMCF-7)의 발생과정에서 내성세포에서는 일반세포에 비해서 GST 활성이 45배 증가되었고, 이 증가된 활성 중 90% 이상이 일반세포에서는 정상적으로 발견되지 않는 Pi GST 분자종이라고 보고하였다. 또한 Fahl 등(1993)은 배양시킨 mammalian cell에서 GST 분자종들을 발현시켰더니 항암제인 chlorambutil, melphalan, cisplatin에 의한 내성이 크게 강화되었다고 보고하였다. 이러한 결과들은 mammalian cell에서 특정 GST 분자종들의 과다한 발현은 암 화학요법에서 사용되고 있는 alkylating agents에 의한 생물학적 내성을 유발시킬 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 특정 GST 저해는 항암제, 특히 알킬화제의 효율을 높이는 방안으로 기대할 수 있다.

본 연구는 양파(*Allium cepa* var. *cepa*) 추출물에서 GST의 활성을 저해하는 물질을 확인한 후에 분리를 함으로써 향후

이들 GST 저해제의 구조를 규명하고, 이를 치료 전략에 활용할 수 있는 유용한 자료를 제공하려고 한다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 연구에 사용한 양파는 국내 양산에서 생산된 것을 재래 시장에서 구입하여 껍질부분을 제거한 후에 건조하기 쉽게 잘라서 음지에서 건조하여 추출하는데 사용하였다.

2. 시약

글루타티온 전달 효소의 기질로 사용된 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB), 1,2-dichloro-4-nitrobenzene(DCNB), ethacrynic acid(ETA), cumene hydroperoxide(CP), 4-nitrophenethyl bromide(4-NPB), glutathione 저해제로 사용된 S-hexyl-GSH, hematin은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. Potassium phosphate(monobasic), potassium phosphate(dibasic)은 Kanto Chemical Co.(Tokyo, Japan) 제품을, sodium chloride는 Duksan Pure Chemical Co.(Gyeonggi, Korea) 제품을, potassium chloride는 Daejung(Incheon, Korea) 제품을 사용하였다. 그 외 buffer를 만들기 위해 사용된 시약들은 일급 및 특급 시약을 사용하였다.

3. 실험 기기

추출 시료와 silica-gel column chromatography 분획의 동결 건조는 냉동 건조기(Martin Christ Alpha type, Germany)를 사용하였고, 조직 파쇄기(Ultra-Turrax T25, Germany), 초음파 파쇄기(Sonics and Materials VC-375, USA), 전기 영동기(Mighty Small SE250, Hoefer, USA)와 ELISA reader(Spectra Max 340, USA), incubator(Boekel incubator shaker II, Model 136400) 및 UV/Visible Spectrometer(Varian Cary 3E, Australia)를 이용하였다. PCR은 Thermo(Waltham, USA)사의 PCR Sprint를 이용하였고, DNA용 전기영동 장치는 Cosmo Bio co., Ltd.(Tokyo, Japan)의 Mupid-21을 사용하였다. 균을 다루기 위한 무균 작업대는 비전 Bio tech.(Inchon, Korea)사의 Clean bench를 이용하였다. 균 배양을 위해 Vision Scientific(Gyeonggi, Korea)사의 Shaking incubator를 이용하였고, 균체를 집균하기 위한 원심분리기는 한일사의 HMVC-250 IV와 Micro-17R(Seoul, Korea)을 이용하였다. 균체를 분쇄하기 위한 초음파 파쇄기(sonicator)는 Sonics & Materials사의 VCX 400(Danbury, USA)를 사용하였고, Vortex Mixer는 Thermolyne(Iowa, USA)사의 Type 37600 Mixer를 이용하였다. pH meter기는 Istek(Seoul, Korea)의 p25를 사용하였고, 기질과의 특성조사를 위해서 Hitachi사(Tokyo, Japan) U-2000 UV/VIS Spectrophotometer를 사용하였다.

4. 실험 방법

1) 양파의 추출 및 분리

음지에서 건조시킨 양파 추출물 400 g을 2 l 비이커에 넣고, 70% 에탄올 800 ml로 실온에서 24시간 침적하여 추출한 후에 여과하였다. 여과 후 남은 잔여물은 동일한 방법으로 2회 더 실시하였고, 여과액들은 합하였다. 이 여과액의 pH를 측정하였고, 이후에 rotary evaporator에서 감압 농축하여 여과액 1,000 ml당 30±5 g의 점성이 있는 gel을 얻었다. 점성의 gel 15.0 g을 100 ml 증류수에 용해시킨 후 0.1 N NaOH로 적정하여 pH 7.9가 되도록 하였다. 적정된 용액은 rotary evaporator에서 감압 하에 농축하였고, 최소량의 메탄올에 용해시켜 GST 활성저해 실험 및 silica-gel column chromatography에 사용하였다. Ethyl acetate, 메탄올 및 50% 메탄올이 silica-gel column chromatography의 용출액으로 사용하였고, 각각의 분획은 감압-농축한 다음에 GST 효소 활성 저해 실험을 하였다. Silica-gel column chromatography에서 용출 용액을 달리하면서 GST 활성저해제를 분리한 과정은 다음과 같다. 먼저 ethyl acetate에 현탁된 silica-gel을 컬럼(지름: 5.8 cm, 높이: 75 cm)에 30 cm 높이로 충전시켰고, sea sand로 표면을 덮은 다음 메탄올에 용해시킨 적정용액 10 ml를 loading 하였다. 그리고 ethyl acetate로 용출하였다. 분획은 50 ml/frac. 단위로 분취하였고, 각각의 분취들은 TLC(전개용매: ethyl acetate)에서 전개한 후 365 nm에서 chromatogram 분리를 확인하였다. Chromatogram 분리가 같은 분획들은 모아서 rotary evaporator에서 감압 농축한 후 GST 활성저해 실험을 하였다(분획 A). 분리되는 chromatogram의 변화가 나타나면 용매를 메탄올로 바꾸어서 용출을 하였고, 위와 같은 방법으로 분리되는 chromatogram을 TLC(전개 용매: ethyl acetate:methanol = 8:2)에서 확인하였으며, 농축한 다음에 GST 활성저해 실험을 하였다(분획 B). 마지막으로 50% 메탄올로 용출하였고, chromatogram 분리는 TLC(전개용매: ethyl acetate:methano = 1:9)에서 확인하였으며, 농축한 후에 GST 활성저해 실험을 하였다(분획 C).

2) Rice glutathione S-transferase의 발현 및 정제

Human glutathione S-transferase의 발현 및 정제는 Bae IW (2005)에 의한 pET-OsGSTF3/BL21(DE3) 대량 발현 방법을 사용하였다. 먼저 pET-OsGSTF3/BL21(DE3)를 대량 발현하기 위해 30 µg/ml의 kanamycin이 포함된 1 l LB 배지에 2~3시간 동안 37°C에서 배양하였다. UV로 OD₆₀₀(optical density) 값을 측정하여 0.3~0.4에 이르면, 발현유도제인 IPTG를 최종 농도가 0.4 mM 되도록 첨가한 뒤, 각 효소의 최대 효율을 나타내는 시간까지 배양하여 대량 발현을 유도하였다. 대량

발현된 배양액은 냉동원심분리기를 이용하여 4°C, 10,000 g, 10분간 집균한 뒤 -20°C에서 냉동 보관하였다. 대량 발현된 OsGSTF3 균체는 20 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 5 ml로 균일화시킨 뒤, 초음파 파쇄기를 이용하여 4°C, 30~40 watts, amplitude 8%(보통의 *E. coli* 균 파괴 조건) 조건으로 10분간 세포막을 파괴하였다. 이때의 과정은 열이 많이 발생하므로 얼음 위에서 실시하였다. 균 파쇄 후 10,000 g, 4°C로 20 분간 원심 분리하여 단백질과 다른 세포 불순물들을 분리하였다. 여기서 얻은 상정액을 앞에서 사용한 20 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)로 평형화 시킨 GSH- Sepharose 또는 S-hexyl GSH- agarose 친화 컬럼 크로마토그래피에 1 ml/min의 속도로 흘려주며 흡착시켰다. 이 때 크로마토그래피에 수율을 높이기 위해 흡착시킨 후의 여액을 수집하여 2~3번 흘려주었다. 컬럼 내의 불필요한 단백질을 제거하기 위해 50 mM potassium chloride를 포함하고 있는 20 mM potassium phosphate(pH 7.0) 용액을 100 ml 정도 흘려준 뒤, OD₂₈₀을 측정하여 더 이상의 불순물을 포함하지 않음을 확인하였다. 10 mM GSH를 포함하고 있는 50 mM Tris-Cl(pH 8.0)을 이용해 크로마토그래피에 붙어있던 효소를 1 ml/min의 속도로 용출하였고, 얻어진 분획은 GST의 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)와 글루타티온(GSH)으로 GST 활성 및 OD₂₈₀을 측정하여 높은 흡광도와 활성을 보이는 분획만 모아 20 mM potassium phosphate(pH 7.0)로 8시간씩 3번 투석하였다. 정제된 효소의 순수도는 SDS-PAGE를 통해 확인하였으며, 모든 실험은 효소의 변성을 고려해 4°C에서 진행하였다.

3) 단백질의 정량과 효소의 활성도 측정

Rice glutathione S-transferase의 단백질 정량은 Bradford 방법에 따라 측정하였으며, 595 nm에서 bovine serum albumin을 표준단백질로 사용하여 표준 곡선을 작성한 뒤, 단백질 농도를 측정하는데 이용하였다. Bio-Rad사의 단백질 정량 시약과 정제된 OsGSTF3를 상온에서 10 분간 반응시킨 후 595 nm에서 흡광도를 측정하여 단백질의 농도를 결정하였다.

Zeta 타입을 제외한 모든 타입의 GST에 공통적인 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB)를 포함하여 모두 6가지의 기질을 사용하였다. 포함 반응에 대한 초기 속도 측정에는 1,2-dichloro-4-nitrobenzene(DCNB)를 사용하였다. 측정 방법은 적정 용매와 기질, 글루타티온(GSH) 효소를 혼합한 뒤, 340 nm에서 UV/VIS spectrophotometer를 이용해서 1분 동안의 흡광도 변화를 측정하였다. 효소 활성 단위는 1분당 1 µmol의 생성물 형성을 촉매하는 효소의 양으로 정의하였다. 기질에 대한 활성도 측정 방법은 Table 1에 나타내었다. 그리고 효소

Table 1. Reaction condition on GST activity

Substrate	Buffer (500 μl)	pH	GSH ^a (mM)	Substrate ^a (mM)	ϵ^b ($\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)
CDNB (340 nm)	200 mM KPB ^c	6.5	50	50	9.6

^a GSH and substrate concentration refer to final concentration.

^b ϵ -molecular coefficient.

^c KPB refers to potassium phosphate buffer.

의 최적 pH와 최적 온도는 각각 9.0과 55°C인 것으로 나타났고(Cho & Kong 2005), GST 효소 활성 저해와 관련한 실험 조건은 Cho HY(2007)가 밝힌 기질 농도의 영향, pH 영향, 온도의 영향 등을 참조하였다.

결과 및 고찰

1. 양파의 추출 및 활성 측정

400 g의 건조된 양파를 상온에서 70% 에탄올로 침적시켜 추출하였고, 감압하에 농축하여 얻은 젤리상의 추출물 15.0 g을 100 ml 메탄올에 용해시켜 TLC(전개용매: ethyl acetate)에서 chromatogram 분리를 확인하였다. 또한, 젤리상의 추출물 15.0 g을 100 ml 증류수에 용해시킨 용액의 pH는 5.34로 나타났고, 이를 0.1 N NaOH로 적정하여 pH가 7.9가 되도록 한 후에 TLC(전개용매: ethyl acetate)에서 chromatogram 분리를 확인하여 적정 전과 후를 비교하였다. TLC상에서 적정 후의 시료가 spot 이동과 chromatogram 분리가 적정 전보다 더 좋게 나타나서, 이를 rotary evaporator에서 감압하에 농축한 다음 100 ml 메탄올에 다시 용해시켜 silica-gel column chromatography에서 분리를 시도하였다. 적정한 시료의 glutathione S-transferase에 대한 활성 저해 실험을 한 결과는 Fig. 2에 나타내었고, GST 활성 저해에 유의성이 있음($p < 0.05$)을 확인하였다. 그리고 0.1 N NaOH로 적정한 시료를 감압하에 농축한 후에 이를 다시 용해시키는 용매로 사용한 메탄올의 Glutathione S-transferase에 대한 활성 저해 실험은 Fig. 1에서 나타내었고, GST의 활성 저해에 유의성이 없음을 확인하였다.

적정된 추출물을 메탄올에 용해된 것을 silica-gel column chromatography에서 ethyl acetate로 용출한 분획(분획 A)의 GST 활성 저해 실험 결과는 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 GST 활성 저해에 유의성이 있는($p < 0.05$) 것으로 나타났다.

메탄올로 용출하여 얻은 분획(분획 B)의 GST 활성 저해 실험 결과는 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 GST 활성 저해에 유의성이 있는($p < 0.05$) 것으로 나타났다.

50% 메탄올로 용출하여 얻은 분획(분획 C)의 GST 활성 저해에 대한 실험 결과는 Fig. 5에 나타내었고, GST의 활성 저해에 유의성이 있는 것($p < 0.05$)으로 나타났다.

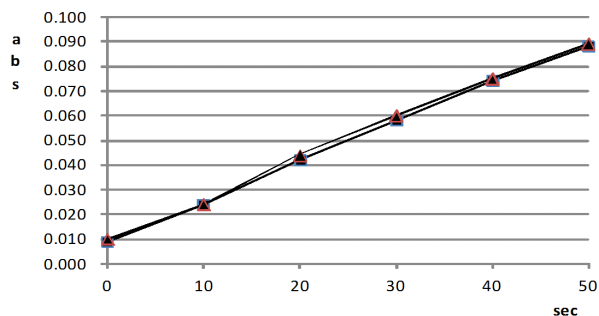


Fig. 1. Inhibitory activity of methanol on the glutathione S-transferase. The *Allium cepa* var. *cepa* conditions as follow: -■-, control + enzyme; -▲-, control + enzyme + MeOH

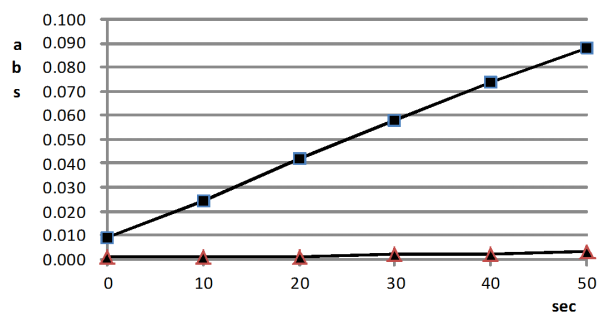


Fig. 2. Inhibitory activity of ethanol extract obtained from *Allium cepa* var. *cepa* on the glutathione S-transferase. The *Allium cepa* var. *cepa* conditions as follow: -■-, control + enzyme; -▲-, control + enzyme + *Allium cepa* var. *cepa* extract neutralized with 0.1 N NaOH

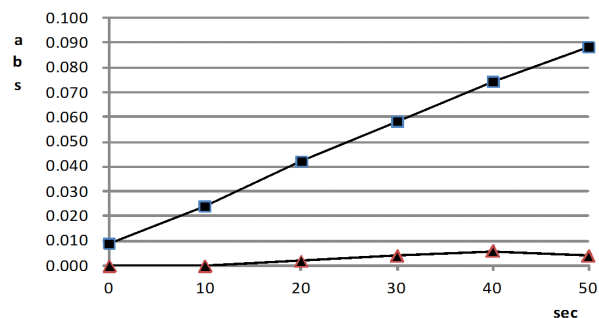


Fig. 3. Inhibitory activity of ethyl acetate fraction (fraction A) on the glutathione S-transferase. The *Allium cepa* var. *cepa* conditions as follow: -■-, control + enzyme; -▲-, control + enzyme + ethyl acetate fraction

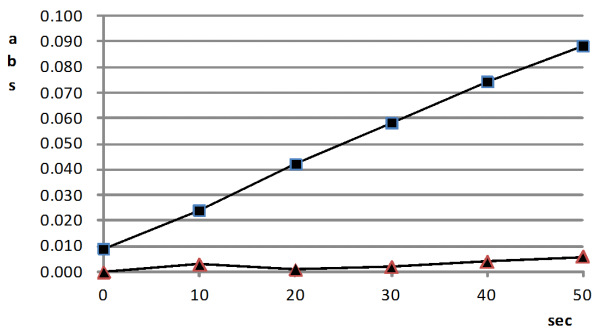


Fig. 4. Inhibitory activity of ethyl methyl alcohol fraction (fraction B) on the glutathione S-transferase. The *Allium cepa* var. *cepa* conditions as follow: -■-, control + enzyme; -▲-, control + enzyme + methyl alcohol fraction

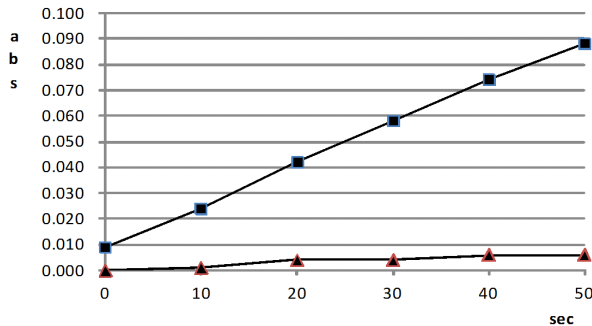


Fig. 5. Inhibitory activity of ethyl 50% methyl alcohol fraction (fraction C) on the glutathione S-transferase. The *Allium cepa* var. *cepa* conditions as follow: -■-, control + enzyme; -▲-, control + enzyme + 50% methyl alcohol fraction

결 론

70% 에탄올로 양파를 추출한 다음 감압하에 농축하였고, 농축된 양파 추출물을 증류수에 재 용해시킨 용액의 pH는 5.34인 약산성으로 나타났다. 그리고 이 용액을 0.1 N NaOH 로 적정한 다음 TLC(전개용매: ethyl acetate)에서의 분리는 적정 전보다 chromatogram의 이동 및 분리가 뛰어난 것으로 나타났다. Silica-gel column chromatography에서 0.1 N NaOH 적정용액의 분리는 ethyl acetate(분획 A), methanol(분획 B), 50% methanol(분획 C)로 용출하였고, 용출된 각 분획은 감압하에 농축하여 GST 활성 저해 실험을 하였다. 세 부분 모두 GST 활성 저해에 유의성이 있는 것으로 나타났다. 각 분획은 GC-MS spectrometer 분석에서 두 종류 이상이 함유되어 있지만, 구성 물질은 서로 상이함을 보였고, 이들 물질의 분리와 구조 규명이 필요한 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 장안대학교 2013년도 자체연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Armstrong RN. 1987. Glutathione S-transferase: Reaction, mechanism, structure and function. *Chem Res Toxicol* 4:131-140
- Bae IW. 2005. Study on useful compounds having strong inhibition effect toward tyrosinase and glutathione S-transferase activities from natural products. M.S. Thesis, Chang Ang Uni. Korea
- Batist G, Sinha BK, Katki AG. 1987. Differential formation of hydroxyl radicals by adriamycin in sensitive and resistant MCF-7 human breast tumor. *Cells Biochemistry* 26:3776-3780
- Cho HY, Kong KH. 2005. Molecular cloning, expression, and characterization of a phi-type glutathione S-transferase from *Oryza sativa*. *Pestic Biochem Phys* 83:29-36
- Cho HY. 2007. Studies on the biochemical characterization and the application of plant-specific rice glutathione S-transferases. Ph.D. Thesis, Chung Ang Uni. Korea
- Dixon DP, Davis BG, Edwards R. 2002b. Functional divergence in the glutathione S-transferase superfamily in plant. *J Biochem Chem* 277:30895-30869
- Dixon DP, Laphorn A, Edwards R. 2002a. Plant glutathione transferase. *Genome Biol* 3:30004.1-30004.10
- Fahl WE, Schechter RL, Alaoui-Jamali MA. 1993. Expression of a rat glutathione-S-transferase complementary DNA in rat mammary carcinoma cells: Impact upon alkylation-induced toxicity. *Cancer Research* 53:4900
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. 1974. Glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 249:1730-1739
- Johansson AS, Mannervik A. 2002. Active-site governing high steroid isomerase activity in human glutathione transferase A3-3. *J Biol Chem* 277:16648-16654
- Mannervik B. 1985a. The isoenzymes of glutathione S-transferase. *Adv Enzymol Rel Areas Mol Biol* 57:357-417
- Mannervik B. 1985b. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 113:490-495
- Moons A. 2003. OsGSTF3 and OsGSTF4, encoding tau class glutathione S-transferases, are heavy metal- and hypoxic stress-induced and differentially salt stress-responsive in rice roots. *FEBS Lett* 553:427-432

Sheehan AP, Meade G, Foley VM, Dowd CA. 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferase: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J* 360:1-16

접 수 : 2013년 10월 19일
최종수정 : 2013년 11월 11일
채 택 : 2013년 11월 18일