

랫드 간 Epoxide Hydrolase와 Glutathione S-Transferase 유전자 발현에 미치는 Progesterone의 효과

덕성여자대학교 약학대학·약학연구소

조 주 연·김 상 건

= Abstract =

Progesterone Effects on Microsomal Epoxide Hydrolase and Glutathione S-transferase mRNA Levels in Rats

Joo Youn Cho and Sang Geon Kim

*College of Pharmacy · Research Institute of Pharmaceutical Sciences
Duk Sung Women's University, Seoul 132-714, Korea*

Previous studies have shown that glucocorticoid suppresses microsomal epoxide hydrolase(EH) gene expression and that EH expression is altered during pregnancy. The effects of progesterone on the expression of rat EH and certain glutathione S-transferase(GST) genes were examined in this study. Northern RNA blot analysis revealed that progesterone was effective in increasing hepatic EH mRNA levels at 12 h to 48 h after treatment with a maximal 9-fold increase being noted at 12 h time point. Nonetheless, multiple daily treatment with progesterone rather caused minimal relative increases in EH mRNA levels. GST Ya and Yb1/2 mRNA levels were also transiently elevated at 12 h after progesterone treatment, followed by gradual decreases from the maximal increases at day 1, 2 and 5 post-treatment. These changes in EH and GST mRNA levels were noted only at a relatively high dose of progesterone. Furthermore, immunoblot analyses showed that rats treated with progesterone for 5 days failed to show EH or GST induction, indicating that progesterone-induced alterations in EH and GST mRNA levels do not reflect bona fide induction of the detoxifying enzymes. Concomitant progesterone treatment of rats with the known EH inducers including ketoconazole and clotrimazole failed to additively nor antagonistically alter EH mRNA levels. In contrast, dexamethasone substantially reduced ketoconazole- or clotrimazole-inducible EH expression. These results showed that progesterone stimulates the EH, GST Ya and Yb1/2 gene expression at early times followed by marked reduction in the RNA levels from the maximum after multiple treatment and that the changes in mRNA do not necessarily reflect induction of the proteins.

Key Words: Progesterone, Microsomal epoxide hydrolase, Glutathione S-transferase, Enzyme induction

서 론

Microsomal epoxide hydrolase(EH)는 간조직을 비롯하여 체내의 여러 조직에 존재하는 해독 약물대사 효소로서 xenobiotics가 cytochrome P450에 의하여 대사된 후 생성된 arene, alkene oxides를 수화시켜 trans-dihydrodiols을 형성시킨다(Lu and Miwa, 1980; Seidegard and DePierre, 1983). 약물의 epoxide 대사중간체는 RNA, DNA, protein과 지질 등의 macromolecule과 공유결합을 하므로써 화학적 독성 및 발암의 원인이 될 수 있다(Lu and Miwa, 1980; Seidegard and DePierre, 1983). 이러한 epoxide 대사중간체의 해독화과정에 EH와 GST 등의 효소가 관여한다. 본 연구실에서는 간조직중의 약물 대사효소중 epoxide hydrolase의 유전자 발현이 임신말기에 변화하는 것을 관찰하여 보고한 바 있다(Kim, 1995).

EH는 다양한 구조의 화합물에 의하여 유도발현되며 질소와 유황을 함유하는 heterocyclic 화합물 및 치료제로 이용되는 azole계 항진균제 등이 EH를 유도하는 화합물의 예이다(Kim, 1992). 또한 steroid 구조를 갖는 testosterone은 castrated male rat 및 female rat에서 EH 활성도를 증가시킨다는 보고도 있다(Delinger등, 1989). 한편 glucocorticoid인 dexamethasone은 EH 유전자의 전사활성화를 억제하여 EH mRNA와 단백질발현을 현저히 감소시킨다(Simmons등, 1987).

Progesterone는 성 hormone의 일종으로써 다양한 생리작용을 갖는다. Nuclear steroid receptor의 superfamily 중에서 progesterone receptor는 target gene의 5'-flanking region에 존재하는 cis-acting DNA element와 상호작용함으로써 steroid-dependent gene expression을 조절한다. Phenobarbital에 의한 P450C6 mRNA의 유도증가는 antiprogesterin hormone인 RU486에 의하여 차단된다. 따라서 P450C6 등 일부 P450의 유도발현 과정에 steroid receptor가 관련될 가능성이 있

다. Progesterone은 주로 간에서 대사되어 pregnanediol-20-glucuronide을 형성한다. Taurocholate등 bile acid의 수송에서 EH가 생리적인 역할을 갖을 가능성이 있고, 경구피임제로 사용되는 progesterone의 응용성에 비추어 본 연구에서는 progesterone이 phase II 약물대사효소인 EH와 GSTs의 발현에 관여할 가능성을 실험적으로 관찰하고자 하였다. 더욱이 progesterone은 생리적으로는 임신중에 고농도로 분비되는 hormone이고, 약리적으로는 경구용 피임약으로 이용되는 물질이므로 본 연구에서는 이 약물이 간조직중의 epoxide hydrolase 및 glutathione S-transferase 유전자 subunits Ya, Yb1, Yb2, Yc등의 발현에 미치는 효과를 관찰하여 대사와 관련된 약리작용의 일부를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1) 실험 재료

(1) 시약 및 재료: [α -³²P]dATP(3000 Ci/mmol)와 [γ -³²P]ATP(3000 Ci/mmol)은 Amersham(Arlington Heights, IL, U.S.A.)에서 구입하였다. Progesterone은 TCI(Tokyo, Japan)에서 구입하였다. Biotinylated goat anti-rabbit IgG, streptavidin-conjugated horseradish peroxidase 및 random prime labeling and 5'-end labeling kits는 BRL(Gaithersburg, MD, U.S.A.)에서 구입하였다.

(2) 실험동물 및 실험군: 웅성 Sprague-Dawley 랫드(150~220 g)를 실험에 이용하였으며, 사육실은 평균 온도 22°C, 습도 50%로 유지하고 물과 사료(삼양사료, 서울, 한국)는 무제한 공급하였다. 랫드(150~220 g)에 progesterone을 10~80 mg/kg b.w.의 용량으로 corn oil에 현탁시켜 복강주사하였다. 경시적 효과를 관찰하기 위하여 progesterone을 80 mg/kg b.w.의 용량으로 1회 투여한 후 12시간~5일에 mRNA 양을 측정하였다. 단백질 발현의 변화를 관찰한 실험에서는 동일용량을 5일간 매일 투여하였다. 동물을 처사시키기전 16

시간가량 절식하였다. 군당 2마리씩 합쳐서 사용하였고 2회 반복실험하였다.

2) 실험 방법

(1) Total RNA의 분리: Total RNA는 thiocyanate-phenol-chloroform 추출법에 따라 분리하였다(Puissant and Houdebine, 1990). RNA의 정량은 260nm에서 흡광도의 변화로 측정하였고 1 O.D. = 40 μ g/ml로 환산하여 정량하였으며 A_{260}/A_{280} 비율은 1.5 이상이었다.

(2) Northern blot 분석: Total RNA를 분리하여 sample dilution buffer(50% formamide, 2.2M formaldehyde in 1×MOPS)에 넣어 희석한 후 2.2M formaldehyde/1% agarose gel을 이용하여 MOPS buffer를 running buffer로 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 후 gel에 존재하는 RNA를 모세관 확산에 의하여 nitrocellulose(NC)지에 전이시켰다. mEH 및 GST Ya, Yb1, Yb2, Yc1, Yc2 cDNA를 [α - 32 P] dATP로 random prime labelling하여 probe로 사용하였다. 50% deionized formamide, 5x Denhardt's solution(0.1% Ficoll, 0.1% polyvinylpyrrolidone, 0.1% bovine serum albumin), 0.5% SDS, 0.5 mg/ml ssDNA, 5x SSPE(1×SSPE: 0.15M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, 1 mM Na₂EDTA, pH 7.4)를 함유한 hybridization buffer에 nitrocellulose paper를 넣고 42°C에서 2~6시간 prehybridization한 후 probe를 넣고 동일조건에서 18시간 동안 incubation하였다. 2×SSC / 0.1% SDS 및 0.1 × SSC/0.1% SDS로 상온에서 15분간 각 2회씩 세척하고 0.1× SSC / 0.1% SDS로 55°C에서 1시간 동안 세척하였다. 각 lane에 들어있는 mRNA의 양을 확인하기 위하여 32 P-end labeled poly(dT)₁₆로 hybridization 하였다.

(3) Autoradiography & Scanning Densitometry: Hybridization이 끝난 nitrocellulose 지를 Kodak X-Omat AR film에 -70°C에서 피폭시킨 후 현상하였다. 현상된 film은 Biomed Soft Laser Scanning Densitometry를 이용하여

scanning하였다.

(4) Microsome과 cytosol 분획의 분리: 적출한 간조직을 분쇄한 후 100,000 g에서 90분간 초원심분리하여 침전물인 hepatic microsome 분획과 cytosol 분획을 분리하였으며, microsome 분획은 50mM Tris-Ac buffer(50mM Tris-Ac, 20% glycerol, 1mM EDTA, pH 7.4 with Tris base)에 분산시킨 후 사용하기 전까지 -70°C에 보관하였다.

(5) 면역화학적 분석: Laemmli 방법(Laemmli, 1970)에 따라 Mighty Small II SE 250장치를 사용하여 sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE) 하였다. Microsome 단백질은 7.5% gel에서 분획화하였다. 전기영동할 sample은 sample dilution buffer(0.5M Tris (pH 6.8) 1.0 ml, glycerol 0.8 ml, 10% SDS 1.6 ml, 0.05% bromophenol blue 0.2 ml와 이차증류수 4.0 ml을 포함하고 사용하기전 β -mercaptoethanol 0.4 ml을 가한 용액)를 가해 희석한 후 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 gel은 190 mAmps에서 1시간 동안 nitrocellulose지에 25 mM Tris, 192 mM glycine, 20% v/v methanol(pH 8.3)을 함유하는 transfer buffer를 이용하여 전이시켰다. 전이된 NC지는 rabbit anti-rat EH IgG, biotinylated goat anti-rabbit IgG를 반응시킨 후 streptavidin-horseradish peroxidase, 4-chloro-1-naphthol, hydrogen peroxide에 의하여 발색시켰다(Kim 1992, Kim and Kim 1992).

실험 결과

Progesterone을 80 mg/kg(i.p.)의 용량으로 rat에 투여한 후 간조직중의 EH mRNA의 경시적인 변화를 Northern blot 분석으로 관찰하였다. EH mRNA는 약물을 투여한 후 12시간에 대조군에 비하여 약 9배의 증가를 나타냈으며, 투여후 24시간에는 약 5배로 12시간에 비하여 낮아졌다(Fig. 1). 48시간 후에는 2배의 증가를 나타내어 증가폭이 감소하였으며 5일 후에는 거의 비처치군의 수

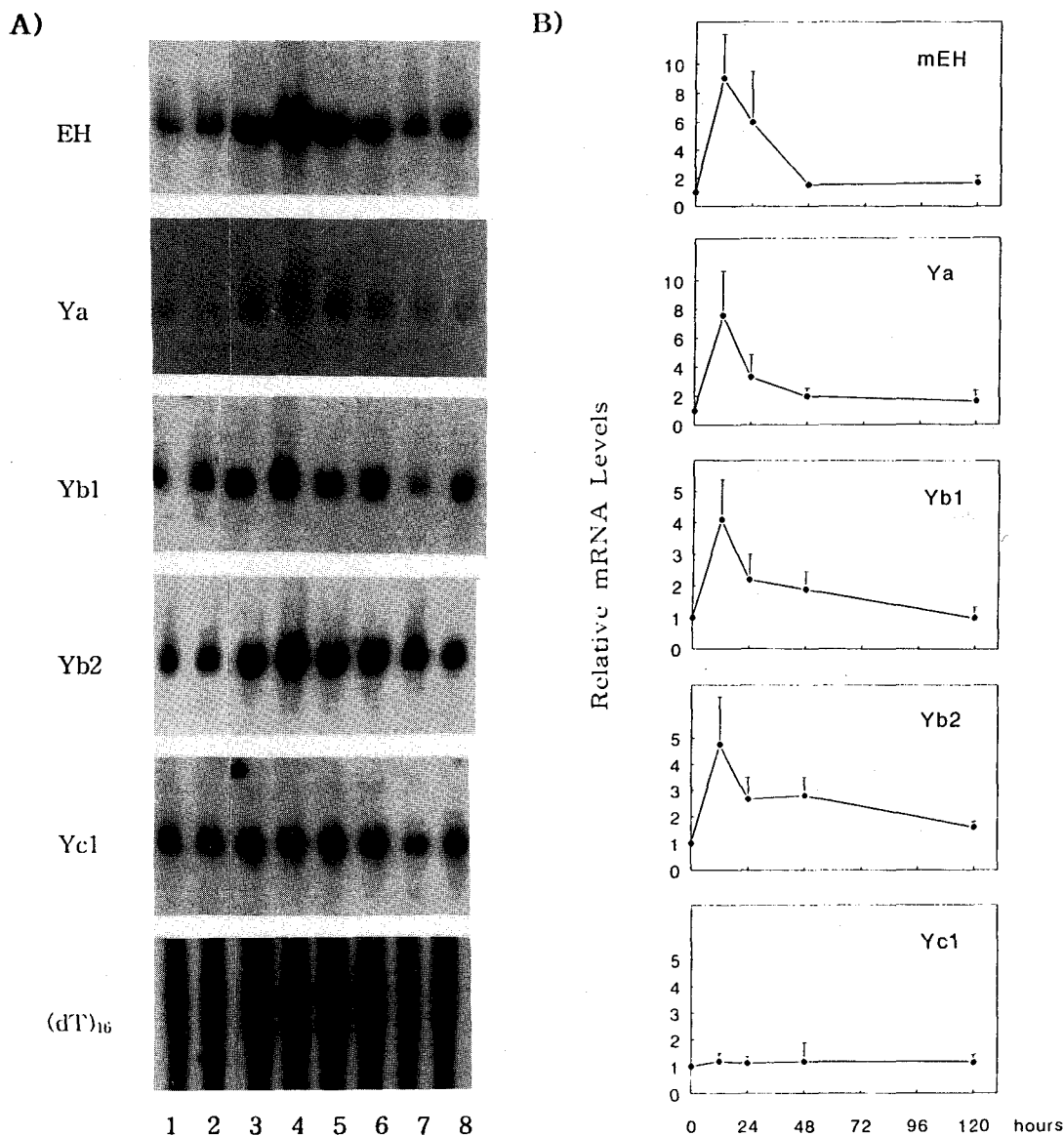
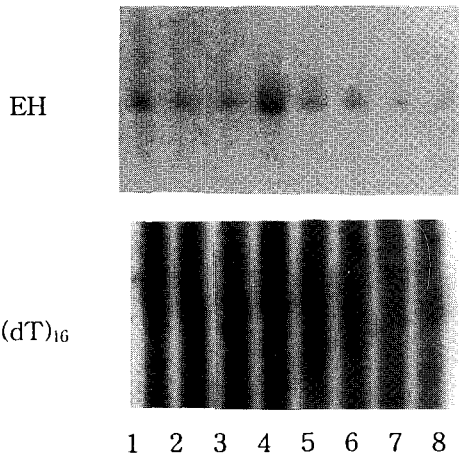


Fig. 1. Effects of progesterone on hepatic EH, GST Ya, Yb1, Yb2, Yc1, and Yc2 mRNA levels. Panel A) Northern blot analyses of total hepatic RNA obtained after progesterone treatment. Lane 1 is control (i. e. untreated rats). Lane 2 and lane 3 represent hepatic mRNA levels in rats treated with progesterone at 24 h after a single dose of 10 or 80 mg/kg, respectively. Lanes 4 through 7 represent mRNA levels at 12 h, 24 h, 48 h or 120 h (5 days) after treatment with a single dose of progesterone (80 mg/kg). Lane 8 represent hepatic mRNA level in rats daily treated with progesterone at the same dose for 5 days. Each lane contained 20 μ g of hepatic total RNA. The blots were first hybridized to a 32 P-labeled cDNA specific for each gene. Amount of RNA loaded in each lane was assessed by rehybridization of the stripped membranes with 32 P-labeled poly(dT)₁₆. Panel B) Relative changes in mRNA levels of EH, GST Ya, Yb1, Yb2, Yc1 and Yc2, as determined by scanning densitometry ($m \pm S. D.$, $N=3$).

A)



B)

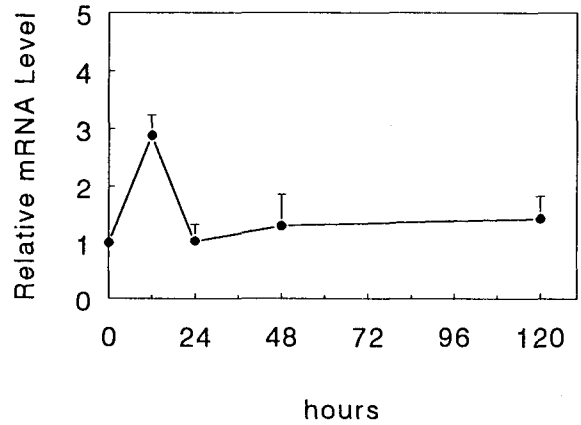


Fig. 2. Effects of progesterone on renal EH mRNA levels. Panel A) Northern blot analyses of total RNA produced after progesterone treatment. Lane 1 is control (i.e. untreated rats). Lane 2 and lane 3 represent renal mRNA levels of rats treated with progesterone at 24 h after a single dose of 10 or 80 mg/kg, respectively. Lanes 4 through 7 represent mRNA levels at 12 h, 24 h, 48 h or 120 h (5 days) after treatment with a single dose of progesterone (80 mg/kg). Lane 8 represent renal mRNA level of rats treated daily with progesterone at the same dose for 5 days. Each lane contained 20 μ g of renal total RNA. The blots were first hybridized to a 32 P-labeled cDNA specific for each gene. Amount of RNA loaded in each lane was assessed by rehybridization of the stripped membranes with 32 P-labeled poly (dT)₁₆. Panel B) Relative changes in mRNA levels of EH ($m \pm S.D.$, $N=3$).

준으로 돌아왔다(Fig. 1). 이러한 결과는 progesterone에 의하여 EH mRNA 발현양이 초기단계에 급속하게 변화함을 보여준다. Progesterone을 1일 용량 80 mg/kg으로 5일간 반복 투여한 후에는 대조군에 비하여 약 2배의 증가만을 나타내 현저한 증가를 지속적으로 유지하지 못하였다(Fig. 1). 이상의 결과는 progesterone의 투여에 의하여 간조직중의 EH mRNA 양이 일시적으로 증가되나, 이러한 EH mRNA 양적인 증가가 반복적인 약물투여에 의하여 유지되지 못함을 보여준다. 약물의 투여용량을 10 mg/kg으로 낮추었을 때에는 약물 투여후 24시간에 변화를 인정할 수 없었다. 따라서 progesterone에 의한 EH mRNA의 증가는 고용량의 약물을 투여한 후에만 관찰할 수 있는 현상이었다.

Progesterone에 의한 EH mRNA의 양적인 변화가 GST 주요 subunit의 발현변화를 수반하는지

를 검정하기 위하여 GST Ya의 mRNA를 정량하였을 때 12시간에 7배로 증가되었고 이러한 증가가 1일, 2일, 5일에는 각각 대조군에 비하여 3, 2, 1배의 수준을 나타내었다(Fig. 1). GST Yb1과 Yb2 mRNA의 발현에서도 유사한 변화를 관찰할 수 있었다. GST Ya, Yb1/2와는 달리 progesterone투여 후에 GST Yc1 mRNA에서는 발현의 변화를 인정할 수 없었다(Fig. 1). 이같은 결과는 EH, GST Ya, Yb1/2 mRNA 발현이 progesterone에 의하여 초기단계에 급격히 변화함을 보여준다. 이러한 mRNA의 양적인 변화는 mRNA transcriptional rate의 증가 또는 mRNA stabilization에 의하여 발생할 수 있다. 이러한 EH 또는 GST mRNA의 일시적인 변화가 이들 단백질의 변화를 수반하는지를 관찰하기 위하여 progesterone을 80 mg/kg의 1일 용량으로 5일간 투여한 후 간 조직에서 EH, GST Ya, Yb1, Yb2, Yc에

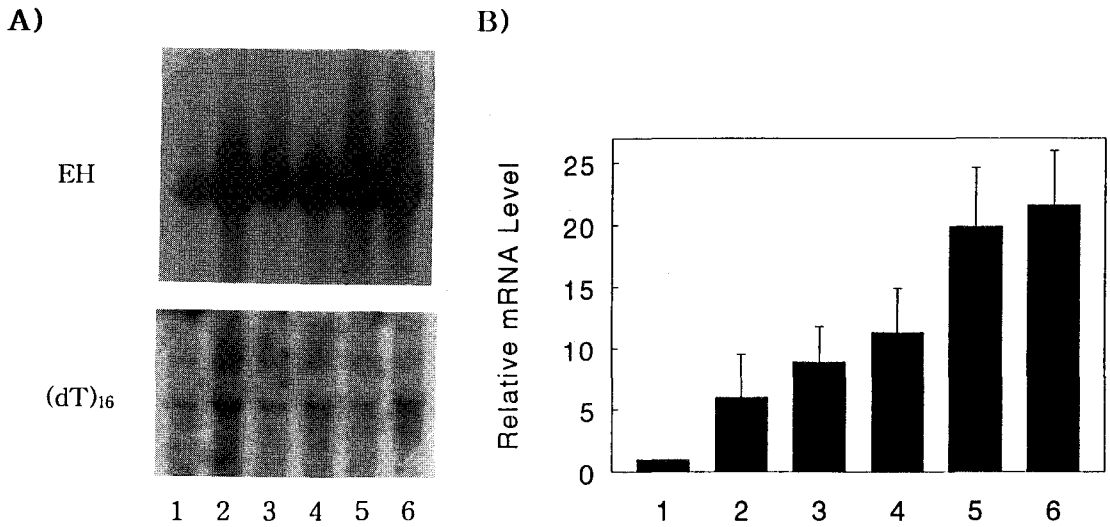


Fig. 3. Effects of progesterone on expression of EH mRNA in rats treated with either ketoconazole or clotrimazole. Panel A) Northern blot analysis for EH mRNA in total RNA fractions. Twenty μg of hepatic total RNA isolated from untreated rat (1) or rats treated with (2) progesterone, (3) ketoconazole, (4) ketoconazole + progesterone, (5) clotrimazole, (6) clotrimazole + progesterone at 24 h (progesterone; 80 mg/kg; ketoconazole, 100 mg/kg; clotrimazole; 100 mg/kg b.w.) was probed with a labeled EH cDNA. The blots were then stripped and rehybridized with labeled poly(dT)₁₆. Panel B) Relative changes in EH mRNA levels ($m \pm \text{S.D.}$, $N=3$).

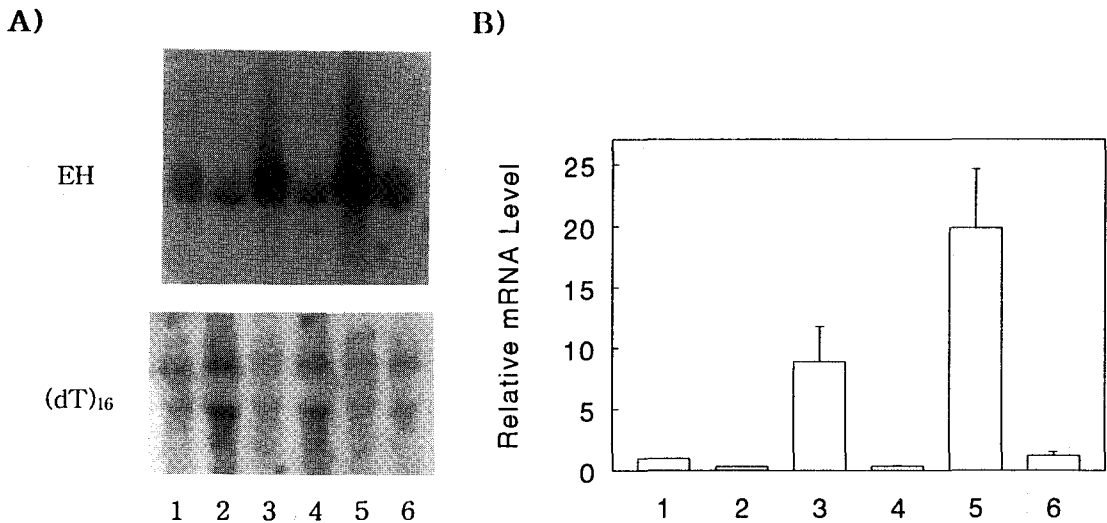


Fig. 4. Effects of dexamethasone (DX) on EH mRNA expression. Panel A) Northern blot analysis for EH mRNA in total RNA fractions. Twenty μg of hepatic total RNA isolated from untreated rat (1) or rats treated with (2) DX, (3) Keto, (4) Keto + DX, (5) Clo, (6) Clo + DX at 24 h (DX; 80 mg/kg, Keto; 100 mg/kg, Clo; 100 mg/kg b.w.) was probed with a ³²P-labeled 1.3 kb EH cDNA. Panel B) Relative changes in EH mRNA levels ($m \pm \text{S.D.}$, $N=3$).

대한 Western blot 분석을 실시하였다. mRNA의 변화와는 달리 약물에 의하여 이들 단백질의 발현 변화를 인정할 수 없었다(data not shown).

Progesterone에 의한 EH mRNA의 변화가 간 조직뿐만 아니라 신장조직에서도 발생하는지 관찰하였을 때 투여 후 12시간에 3배의 EH mRNA의 증가를 확인할 수 있었다(Fig. 2). EH mRNA의 신장중의 발현이 간장에서의 변화에 비하여 약하였으므로 다른 시점에서는 변화를 관찰할 수 없었다.

Progesterone에 의한 EH 발현변화의 정도를 EH의 화학적유도제인 ketoconazole, clotrimazole에 의한 효과와 비교하였다. Progesterone을 투여한 후 24시간 시점에서 EH 증가와 비교하여 ketoconazole 또는 clotrimazole을 progesterone과 병용하여 투여했을 때 EH mRNA는 상가적으로 증가하지 않았다(Fig. 3). 이와는 달리 대조 약물로 사용한 dexamethasone(80 mg/kg)은 1회 투여에 의해서 constitutive EH mRNA의 양을 약 80% 감소시켰으며 ketoconazole에 의한 EH의 유도는 약 90%, clotrimazole의 유도작용은 80% 감소시켰다(Fig. 4). 따라서 dexamethasone은 constitutive 및 inducible EH mRNA의 발현을 모두 차단하는 효과가 있었다.

고 찰

Epoxide hydrolase와 glutathione S-transferase는 해독 약물대사효소로써 endobiotics 또는 체내에 흡수된 xenobiotics를 대사하는데 관여한다. Epoxide hydrolase는 다양한 구조의 화합물에 의하여 유도발현되며 본 연구실에서는 이 효소의 발현에 미치는 약물에 관한 연구를 수행하여 왔다. 이들 효소를 유도발현하는 화합물로는 다수의 질소와 유황을 함유한 이환형 aliphatic 또는 aromatic 화합물이 발견되었으나, steroid 구조를 갖는 물질에 의한 발현변화와 관련된 보고는 없다. 본 연구실에서 수행한 xenobiotics에 의한 epoxide hydrolase 유도발현연구에 따르면 keto-

conazole, clotrimazole, miconazole, econazole 등의 imidazole계의 화합물이 transcriptional activation에 의하여 EH mRNA의 현저한 증가를 일으키며, 그밖의 N-, S-를 함유하는 다수의 heterocyclic 화합물을 동물에 투여할 때 EH 및 GST 유전자의 차별적인 유도발현이 있는 것을 보고한 바 있다(Kim, 1992; Kim 등, 1994; Kim and Cho, 1996). 본 연구실에서 수행한 다른 연구에서는 EH 및 P450 1A1/2, 2B1/2 등 수종의 cytochrome P450 발현이 임신 중기에는 변화하지 않으나, 출산직전인 임신말기에는 현저히 감소하는 것을 보고한 바 있다(Kim, 1995). 이러한 EH protein의 감소는 mRNA의 감소를 수반하는 현상이었다. 더욱이 EH는 사춘기 이후에 성차별적으로 발현이 변화되어 EH의 발현에는 성호르몬 분비량이 영향을 미칠 가능성이 높다(Kim and Kim, 1992). 임신 및 성장과 관련된 성호르몬중에서 progesterone의 혈중농도가 임신중에 현저히 증가되고 임신중에 epoxide hydrolase의 발현변화가 있는 관찰에 근거하여 본 연구에서는 progesterone이 epoxide hydrolase 및 glutathione S-transferase 유전자 subunits Ya, Yb1, Yb2, Yc 발현변화에 미치는 효과를 관찰하므로써 이들 해독효소발현에 관여하는 분자 기초연구를 확립하고자 하였다.

본 연구결과에 따르면 비교적 고용량의 progesterone을 투여할 때 약물 투여 후 초기 시점에서 현저한 mRNA의 발현변화를 관찰할 수 있었다. 약물에 의한 이러한 mRNA 증가는 전사활성화를 경유하거나 mRNA의 안정화에 기인하는 것으로 추정된다. 기존에 보고되었거나 본 연구실에서 발표한 EH 유도화합물의 작용과는 달리 progesterone에 의한 EH mRNA의 증가는 단백질의 변화를 수반하지 않는 현상으로 나타났다. 따라서 다른 유도제와는 달리 progesterone은 진정한 의미의 EH 효소유도제로 볼 수 없다. EH 단백질 뿐만 아니라 GST Ya, Yb1/2에서도 RNA의 초기 증가는 관찰할 수 있었으나 단백질 수준에서의 변화를 관찰할 수 없어 일시적인 mRNA의 양적인

증가가 단백질의 증가를 수반하지 않는 것은 관찰한 효소간 공통적인 현상으로 사료된다.

종합하면 progesterone에 의한 효과는 다음의 몇가지 관점에서 기존에 보고된 화학적 유도제와는 다른 것으로 생각된다. ① progesterone은 질소나 황을 함유한 기존의 화학적유도제와는 전혀 다른 구조를 갖는 steroid 화합물이다. ② 화학적 유도제는 약물투여 후 12, 24, 48 시간에서 현저한 mRNA의 유도를 일으키며, 더불어 투여한 후 2~3일까지는 mRNA 증가의 plateau를 유지하는데 반하여 progesterone은 투여 후 초기시점(예, 12시간)에만 최고의 증가를 나타내었으며 이러한 변화에 이어 약물의 혈중농도 유지에도 불구하고 급속한 mRNA 감소를 초래하였다. 더욱이 progesterone은 지용성화합물임에도 불구하고 mRNA 변화를 지속적으로 유지하지 못하였다. ③ progesterone의 생리적인 작용이 수 mg/kg의 용량에서 나타나는 것과는 달리 이들 해독효소의 발현변화와 관련된 효과는 상대적으로 고용량에서만 관찰되었다. ④ 이들 해독효소 mRNA의 일시적인 증가는 단백질의 유도증가를 수반하지 않았다. 앞서 연구된 dexamethasone 등의 steroid 화합물에 의한 생리적인 효과와는 달리 progesterone은 일시적이기는 하나 mRNA의 수준을 증가시키는 것으로 나타나 이미 연구된 glucocorticoid 등 steroid 화합물에 의한 효과와는 완전히 다른 결과를 나타냈다.

많은 화학적 유도제의 효과가 모체화합물의 대사과정에서 유래한 oxidative stress인 redox labile species에 의한 효과를 경유하며 EH의 유도가 GST Ya, Yc subunit의 병용유도를 수반한다(Kim and Cho, 1996). 이와는 달리 progesterone에 의한 EH mRNA 증가가 GST Ya, Yb1/2의 mRNA 증가를 수반하였으나, Yc mRNA에서는 변화를 일으키지 않았다. 따라서 기존의 유도제는 대부분 전사단계에서의 활성화를 매개로 mRNA의 증가와 단백질의 유도를 나타내나, progesterone에 의한 mRNA의 일시적인 초기단계의 증가는 전사적인 조절에 의한 가능성이 약하다.

Progesterone에 의한 mRNA 안정화가능성 또는 다른 내인적인 hormone의 분비변화의 간접적인 효과 등의 가능성은 더욱 고찰되어야 할 것이다.

결 론

본 연구는 progesterone이 고용량에서 epoxide hydrolase 및 일부 glutathione S-transferases의 유전자발현을 일시적으로 초기에 증가발현시키고, 이러한 mRNA의 변화가 단백질의 유도발현을 수반하지 않는 것으로 보아 기존에 보고된 다른 화학적 유도제의 효과와는 다른 현상이며, glucocorticoid의 억제적인 유전자 발현효과와도 크게 차이가 있음을 증명한다.

감사의 글

본 연구는 덕성여자대학교 약학연구소 연구비 지원금(1996)으로 수행되었으며 이에 감사를 표합니다.

참 고 문 헌

- Denlinger CL and Vesell ES: *Hormonal regulation of the developmental pattern of epoxide hydrolases. Biochem Pharmacol* 38: 603-610, 1989
- Kim SG: *Expression of rat microsomal epoxide hydrolase during pregnancy. Biochem Pharmacol* 50: 1593-1597, 1995
- Kim SG, Jung KH, Yang WK and Kim ND: *Differential expression of microsomal epoxide hydrolase gene by azole heterocycles in rat. Biochem Pharmacol* 48: 111-120, 1994
- Kim SG and Cho MK: *Expression of glutathione S-transferases Ya, Yb1, Yb2, Yc1, Yc2 and microsomal epoxide hydrolase genes by thiazole, benzothiazole, benzothiadiazole, biochem pharmacol in press, 1996*
- Kim SG and Kim YH: *Gender-related expression of rat microsomal epoxide hydrolase during*

- maturation: Post-transcriptional regulation. Mol Pharmacol 42: 75-81, 1992*
- Kim SG: *Transcriptional regulation of rat microsomal epoxide hydrolase gene by imidazole antimycotic agents. Mol Pharmacol 42: 273-279, 1992*
- Laemmli UK: *Cleavage of structural proteins during assembly of the head of the bacteriophage T4. Nature 227: 680-685, 1970*
- Lu AYH and Miwa GT: *Molecular properties and biological functions of microsomal epoxide hydrolase. Ann Rev Pharmacol Toxicol 20: 513-531, 1980*
- Puissant C and Houdebine LM: *An improvement of the single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Biotechniques 8: 148-149, 1990*
- Seidegard J and DePierre JW: *Microsomal epoxide hydrolase properties, regulation and function. Biochem Biophys Acta 695: 251-270, 1983*
- Simmons DL, McQuiddy P and Kasper CB: *Induction of the hepatic mixed-function oxidase system by synthetic glucocorticoids. J Biol Chem 262: 326-332, 1987*
-