

紫外線(UVB)에 의한 染色體異常과 Tannic acid의 防禦效果

김정현* · 맹승희** · 임철홍** · 안령미*

*동덕여자대학교 보건관리학과, **산업보건연구원 독성연구실
(1996. 2. 17 접수)

Suppressing Effects of Tannic Acid on UVB induced Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Lung Cells

Jung Hyeon Kim*, Seung Hee Maeng*, Cheol Hong Lim** and Ryoung Me Ahn*

*College of Natural Science, Dongduk Women's University, **Toxicology Laboratory, Industrial Health Research Institute

ABSTRACT : We observed the frequency of chromosome aberrations induced by UVB irradiations, and the suppressing effect of tannic acid on chromosome aberrations induced by UVB irradiations in CHL cells, which is a phenolic compound, a hydrolysate of tannin and a components of green tea. UVB doses used for the frequency of chromosome aberrations were from 0.2 to 1.6 KJ/m² and tannic acid concentrations were from 1.16 µg/ml to 37.50 µg/ml. For the observation of suppressing effect of tannic acid on UVB-induced chromosome aberrations, UVB dose was 1.6 KJ/m² and tannic acid concentrations were 1.0, 2.0, 4.0 µg/ml. In our study, tannic acid was treated for 24 hours in CHL cells after UVB irradiation without S9 mix or for 6 hours with S9 mix. From this study, we obtained the following results : (1) The frequency of chromosome aberrations UVB induced were dose-dependently increased. (2) The tannic acid did not induce chromosome aberrations in cultured Chinese hamster cells. (3) UVB-induced chromosome aberrations were suppressed by tannic acid at every concentration from 1.0 µg/ml to 4.0 µg/ml with or without metabolic activation. These results suggest that the tannic acid acts as an inhibitor to UVB-induced clastogenicity of the cultured cell.

Keywords : UVB, Tannic acid, chromosome aberrations, CHL

서 론

CFC (chlorofluorocarbons)에 의한 오존층의 파괴와 이로 인한 자외선의 과다한 유입은 지구의 생명체 및 인류의 생존을 위협하고 있다. 그 한 예로 오존 1%가 감소하면 자외선량은 2%가 증가하고 피부암의 발생률은 4-6%가량 높아지게 된다(IPCS, 1979). 자외선은 파장에 의해서 UVA (Ultraviolet-A), UVB (Ultraviolet-B), UVC (Ultraviolet-C)로 구분되는데 파장이 짧을수록 광에너지의 양은 증가한다. 자외선 중 가장 유해한 UVC는 오존층에 의해 거의 흡수되고 UVA와 UVB만이 지표에 도달하게 되며 이 중 UVB가 차지하는 비율은 1-10%에 달한다(IPCS, 1979).

배양세포에서 자외선에 의한 상해는 세포의 성장억제, 콜로니 형성능력의 억제, DNA의 손상등이 있으며 특히 pyrimidine 이량체 및 cyclobutane pyrimidine 이량체의 생성에 의한 DNA 손상은 유전적인 측면에서 매우 중요시 여겨지고 있다. 자외선

에 폭로된 세포들은 광활성을 통하여 pyrimidine 이량체를 생성하는데 손상이 적을 경우 pyrimidine 이량체는 DNA광분해 효소 (photolyase)에 의해서 pyrimidine 단량체로 회복되게 된다. 그러나 손상이 광범위 할 경우에는 세포내에서의 자체적인 회복이 어렵게 된다 (Lehninger *et al.*, 1995). 또한 자외선은 배양세포를 이용한 실험에 있어서 세포내 DNA의 합성을 억제하거나 유전자돌연변이를 유발한다고 보고되어 있다(Parrington, 1972; Sasaki *et al.*, 1988; Shimoi *et al.*, 1989; Keshava *et al.*, 1995).

Tannic acid는 tannin의 가수분해물이며 phenolic compound로서 식물과 녹차 및 식물들의 나무껍질 또는 잎이나 뿌리에 존재한다. 또한 차나 커피, 그리고 와인등의 음료에서도 발견된다. tannic acid의 효과로는 DNA손상억제, 발암물질인 TPA (12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate) 활성억제, 항산화효과, 항암효과, free radical scavenger작용, NCF (neutrophil chemotactic factor) 분비, 과산화지질 억제 등이 있는 것으로 알려져

있으며, 이 중 항암효과는 특히 유방암과 광에 의한 피부암에 더욱 효과적이며, TPA와 흡연으로 인해 유도된 DNA의 손상을 유의성 있게 억제한다고 보고되고 있다 (Major *et al.*, 1996). 이러한 tannic acid의 효과 중에서도 free radical scavenger작용은 자외선에 의해서 발생하는 pyrimidine 이량체의 free radical을 제거하는 역할을 하며 최근의 연구에서 tannic acid는 박테리아나 배양세포에서 절단-회복 과정의 촉진에 의해 항변이유발성을 나타내는 것으로 알려졌다 (Shimoi *et al.*, 1985). 이외에도 tannic acid는 박테리아나 포유동물 배양세포에 돌연변이를 유발하는 것으로 알려진 nitropyrenes에 의한 생식독성 및 세포독성, 자매염색분체교환 등을 억제하는 효과가 있는 것으로 보고되어 있다 (Major *et al.*, 1996).

본 연구에서는 지구 표면에 도달하는 자외선 중에서 파장이 짧아 피해가 더 크다고 생각되는 UVB파에 대한 유전독성을 CHL세포를 이용한 염색체 이상 시험을 이용하여 관찰하고 항산화작용과 항변이작용이 뛰어나다고 알려진 tannic acid의 자외선 (UVB)에 대한 방어효과를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

가. 세포 및 배양액

본 연구에서 사용한 세포는 Chinese hamster lung (CHL) 세포로서 산업보건연구원 산업독성연구실에서 분양받아 10%의 fetal bovine serum (FBS) 및 100 I.U./ml의 penicillin과 100 µg/ml의 streptomycin을 포함한 Eagle's Minimum Essential Medium (MEM) 배지에서 단층 배양하여 사용하였으며 5%의 농도로 CO₂가 공급되는 37°C의 배양기에서 배양하여 사용하였다.

나. 사용물질

본 연구에서 사용한 tannic acid(C₁₄H₁₀O₆H₂O, MW=358.0)는 Yakuri Pure Chemical Co., Japan에서 구매하여 사용하였다. colcemid, FBS 및 MEM 배지는 Gibco BRL에서 구매하여 사용하였다. 그 외의 시약은 Sigma 제의 것을 구매하여 사용하였다. 대사활성물질로 사용한 S9은 Kikoman사(Japan)에서 구입하여 사용하였으며 S9 mix 조제시에는 20 mM HEPES, 50 mM MgCl₂, 330 mM KCl, 50 mM Glucose-6-phosphate, 40 mM NADP를 사용하였다.

2. 방법

가. 자외선에 의한 염색체 이상

자외선 (UVB)에 의한 염색체 이상 유발을 관찰하기 위해서 배양중인 CHL 세포에 직접 자외선을 조사한 후 그 영향을 관찰하였다. 세포에의 자외선 조사는 미국의 Spectronics Corporation사의 312 nm파장의 자외선등 (ENB 260C)을 사용하였

으며 자외선량은 프랑스 Vilber Lourmat사의 Radiometer (6501-54, VLX-3W) 를 사용하여 측정하였다. 자외선 조사는 무균적인 상태에서 세포의 배지를 모두 제거한 후 실시하였으며 이때 자외선량은 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 KJ/m²로 하였다.

나. Tannic acid에 의한 염색체 이상

세포에 대한 tannic acid의 영향을 보기 위하여 tannic acid를 1.16, 2.34, 4.68, 9.37, 18.75, 37.50 µg/ml까지의 농도로 사용하였으며 투여용액은 1.60 mg/ml 용액을 만들어 탈이온수로 단계별로 희석하여 사용하였다.

자외선에 대한 tannic acid의 방어효과를 알아보기 위한 실험에서는 세포독성이 나타나지 않는 농도인 1.0 µg/ml에서 4.0 µg/ml까지의 농도로 효과를 관찰하였다.

다. 자외선에 대한 Tannic acid의 방어효과

염색체 이상을 시험하기 위해서는 먼저 세포를 2×10⁶개/60 mm 밀도로 배양접시에 심어 37°C, 5%의 CO₂ 배양기에서 3일간 전배양시켰다. 전배양 후 배지를 모두 제거하여 세포에 직접 자외선을 1.6 KJ/m²의 양으로 조사한 후 새로운 배지를 넣고 즉시 tannic acid를 1.0, 2.0, 4.0 µg/ml의 농도로 하여 배지에 넣어주었다. 다시 24시간 추가 배양시킨 후 염색체 표본을 작성하였다. 이를 위해서는 세포수집 2시간 전에 colcemid (2×10⁻⁷M) 를 첨가하였으며 수집한 세포는 원심분리한 후 상층액을 버리고 저장액 (0.075M KCl) 처리를 하여 20분간 37°C 수조에 방치하였다. 이렇게 처리한 표본은 Canoy 고정액 (3:1 methanol:acetic acid)을 이용하여 3차례에 걸쳐 고정된 후 최종 원심분리에서 남아 있는 세포를 슬라이드 위에 떨어뜨리고 실온에서 하루동안 건조시켰다. 건조된 표본을 5% Giemsa 용액으로 염색하여 광학현미경 (Olympus BH-2)으로 1000배의 배율에서 관찰하였다.

대사활성물질인 S9 mix를 처리한 경우에는 S9 mix 자체가 세포독성이 있기 때문에 자외선과 tannic acid처리 후 S9 mix를 넣어주고 6시간 배양시킨 후에 인산완충용액 (pH 7.4) 으로 씻은 후 새 배지를 넣어 준 다음 18시간 추가 배양하였다.

염색체 이상의 관찰은 각 실험군마다 중기의 세포 200개를 임의로 선택하여 관찰하였으며 세포중식억제 관찰은 세포분열지수 (mitotic index) 를 계산하여 관찰하였다. 세포분열지수는 세포 1,000개당 분열하고 있는 세포의 숫자를 세어서 계산하였다.

결과의 통계학적인 분석은 t-test를 사용하여 실시하였다.

결 과

가. 자외선에 의한 세포생존율 및 염색체 이상 빈도

자외선이 배양세포에 미치는 영향을 알아보기 위해 자외선을 조사하지 않은 경우 세포분열지수가 7.67%이었던데 반하여 0.2 KJ/m²일 때는 6.72%, 0.8 KJ/m²일 때는 5.59%, 1.6 KJ/m²일 때

는 3.84%로 각각 대조군에 비하여 12.45%, 27.12%, 49.94%의 세포생존을 감소를 관찰할 수 있었다(Fig. 1).

자외선에 의한 염색체 이상을 관찰한 결과 자외선량이 0.2 KJ/m²일 때 염색체 이상 빈도가 1.0%로 관찰되었으나 0.8 KJ/m²일 때는 14.0%, 1.6 KJ/m²에서는 70.0%로 자외선량의 증가에 따라 염색체 이상의 빈도가 점차 증가하였다(Table 1, Fig. 2).

자외선에 의해 유발된 염색체 이상의 형태는 염색분체형의 교환과 분절이 대부분이었으며 염색체형의 것은 소수 관찰되었다. 또한 자외선량 0.4 KJ/m² 이상에서는 모두 염색체 이상 빈도 10.0% 이상을 나타내어서 강한 양성의 결과를 나타내었다.

나. Tannic acid의 영향

Tannic acid를 1.16 µg/ml에서 37.50 µg/ml까지의 농도로 투여하였을 경우 모든 tannic acid의 농도에서 염색체 이상의 빈

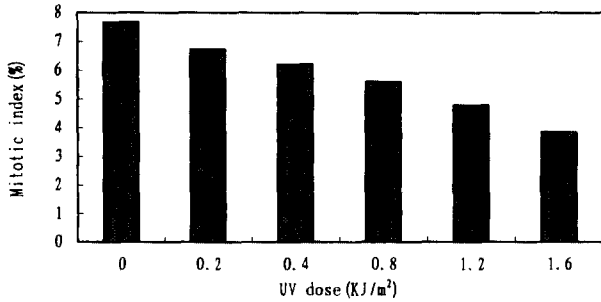


Fig. 1. Mitotic indices in CHL cells exposed with UVB.

도는 5% 미만으로 나타나 염색체 이상의 결과가 음성이었음을 알 수 있었다(Table 2).

세포분열지수 관찰결과에서는 tannic acid의 농도가 증가할수록 약간의 세포분열지수 감소를 관찰할 수 있었으나 통계적으로 유의한 차이는 없어 실험한 농도 범위에서는 세포독성이 관찰되지 않았다(Table 2).

다. 자외선에 대한 Tannic acid의 방어효과

Tannic acid가 자외선에 의한 세포독성에 대한 방어효과를 관찰한 결과 혼합한 tannic acid의 농도가 증가할수록 세포분열지수가 상승함을 관찰하였다. 즉 자외선에 의한 세포독성에

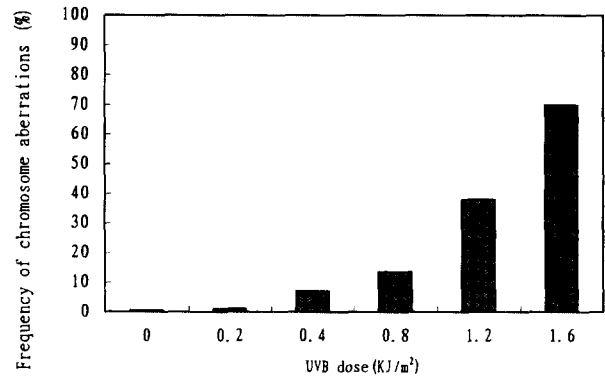


Fig. 2. Frequency of chromosome aberrations exposed with UVB in CHL cells.

Table 1. Frequency of chromosome aberrations induced by UVB

UVB (KJ/m ²)	% of aberrant cell	gap	chromatid type			chromosome type		
			exchange	deletion	Total	exchange	deletion	Total
0	4.5	4.0	-	0.5	0.5	-	-	-
0.2	6.5	5.5	0.5	0.5	1.0	-	-	-
0.4	13.5*	6.5	4.0	3.0	7.0	-	-	-
0.8	24.5*	10.5	8.5	5.5	14.0	-	-	-
1.2	51.0**	13.0	24.5	12.0	36.5	0.5	1.0	1.5
1.6	93.0**	23.0	42.5	25.5	68.0	1.0	1.0	2.0

*p<0.05, **p<0.01

Table 2. Frequency of chromosome aberrations and mitotic indices induced by tannic acid

Tannic acid concentrations (µg/ml)	% of aberrant cell	gap	chromatid type			chromosome type			mitotic index
			exchange	deletion	Total	exchange	deletion	Total	
0	1.5	1.0	-	0.5	0.5	-	-	-	5.39
1.16	0.5	-	-	0.5	0.5	-	-	-	5.20
2.34	0.5	-	-	0.5	0.5	-	-	-	4.92
4.68	1.5	0.5	-	1.0	1.0	-	-	-	4.72
9.37	1.0	0.5	-	0.5	0.5	-	-	-	4.30
18.75	1.0	0.5	-	0.5	0.5	-	-	-	3.69
37.50	3.0	2.0	0.5	0.5	1.0	-	-	-	3.24

Table 3. The effect of tannic acid on UVB-induced chromosome aberrations with or without S9 mix

Treatment	S9	% of aberrant cell	gap	chromatid type			chromosome type		
				exchange	deletion	Total	exchange	deletion	Total
UVB+D.W.	-	99.0	29.5	42.0	25.5	67.5	-	2.0	2.0
UVB+Tannic (1 $\mu\text{g/ml}$)	-	68.5	19.5	34.5	14.0	48.5	-	0.5	0.5
UVB+Tannic (2 $\mu\text{g/ml}$)	-	59.0*	15.5	31.0	12.5	43.5	-	-	-
UVB+Tannic (4 $\mu\text{g/ml}$)	-	53.0	16.5	27.0	9.5	36.5	-	-	-
UVB+D.W.	+	111.0	19.0	52.5	35.5	88.0	0.5	3.5	4.0
UVB+Tannic (1 $\mu\text{g/ml}$)	+	98.5	27.5	47.5	23.5	71.0	-	-	-
UVB+Tannic (2 $\mu\text{g/ml}$)	+	70.0*	17.0	35.5	15.5	51.0	0.5	1.5	2.0
UVB+Tannic (4 $\mu\text{g/ml}$)	+	69.5	18.5	33.0	16.5	49.5	0.5	1.0	1.5

D.W.: 3rd Distilled water, * $p < 0.05$; Dose of UVB, 1.6 KJ/m^2

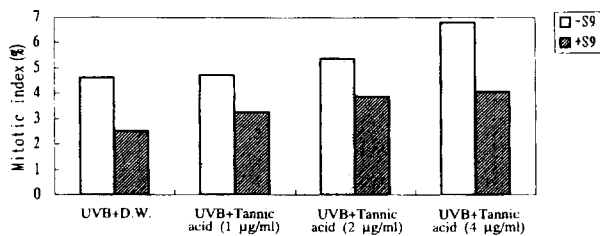


Fig. 3. The effect of tannic acid on mitotic indices in CHL cells exposed with UVB with or without S9 mix (UVB dose, 1.6 KJ/m^2).

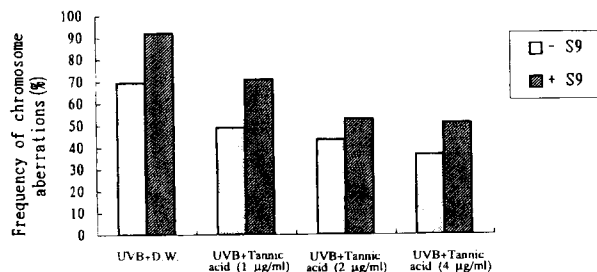


Fig. 4. The effect of tannic acid on chromosome aberrations in CHL cells exposed with or without S9 mix (UVB dose, 1.6 KJ/m^2).

대해 tannic acid의 방어효과가 나타났으며 S9 mix 첨가시에도 결과는 같은 양상을 나타내었다(Fig. 3).

자외선량을 1.6 KJ/m^2 로 일정하게 조사하고 tannic acid의 농도를 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 에서 4.0 $\mu\text{g/ml}$ 까지로 하여 tannic acid의 자외선에 대한 방어효과를 관찰한 결과 자외선만을 단독으로 조사한 경우 염색체 이상 빈도가 69.5%인데 비하여 tannic acid의 농도가 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 일 때는 염색체 이상 빈도가 49.0%로 약 30.0%정도 감소하였으며 2.0 $\mu\text{g/ml}$ 일 경우에는 43.5%로 약 37.0%, 4.0 $\mu\text{g/ml}$ 일 경우 36.5%로 약 47.5%의 염색체 이상이 감소하였다. 또한 S9 mix를 첨가하여 준 경우에 있어서도 tannic acid의 농도가 증가할수록 염색체 이상 빈도 감소가 관

찰되었다(Table 3, Fig. 4). 이때 tannic acid의 방어효과는 대사활성화의 여부에 따라 차이가 없었지만 UVB만을 단독으로 조사한 결과와 S9 mix를 넣어 주었을 때의 염색체 이상 빈도에 있어 대사활성화한 경우 빈도가 30.0% 정도 높았던 것을 볼 때 자외선의 일부는 대사활성화에 의해 변이원성이 촉진됨을 알 수 있었다.

고 찰

세포에 대한 자외선의 영향으로는 세포의 성장억제와 콜로니형성능력의 억제, DNA의 손상등이 보고되었는데 (IPCS, 1979) 특히 DNA의 손상은 pyrimidine 이량체와 cyclobutane pyrimidine 이량체(CPD)의 생성에 의하여 이러한 자외선에 의해 생성되는 pyrimidine 이량체와 cyclobutane pyrimidine 이량체에 의한 손상은 그 손상이 경미할 경우 대부분 DNA광분해효소 (photolyase)에 의해서 pyrimidine 단량체로 회복되지만 DNA 손상이 광범위할 경우에는 세포내 회복이 어렵게 되며 이러한 결과로 세포는 DNA합성이 억제되고 염색체 이상과 유전자돌연변이가 발생하게 된다고 보고되어 있다(Brash & Haeseltine., 1982).

Parrington (1972) 은 사람의 섬유모세포를 이용하여 자외선 중 UVC에 의한 염색체 이상 시험을 실시한 결과 자외선 (UVC) 을 342 ergs/mm^2 로 조사하였을 경우 염색체 이상 빈도가 22%로 대조군에 비하여 현저하게 증가하였음을 보고하였다. 또한 세포분열지수는 자외선 (UVC)을 342 ergs/mm^2 로 조사하였을 경우 19%로 대조군의 59.80%에 비하여 급격한 감소를 보였다.

CHO세포를 이용한 Sasaki들 (1988) 의 보고에서도 자외선 (UVC) 을 조사하지 않은 경우 염색체 이상 빈도가 1%로 나타났는데 비해 자외선을 25 J/m^2 의 양으로 조사하였을 경우 64%로 증가하였다. 또한 Shimoi들 (1989)이 CHO세포를 이용하여 실시한 연구에서도 자외선 (UVC)을 20 J/m^2 의 양으로 조사하였을 경우 염색체 이상 빈도가 41%로 자외선을 조사하지 않았을 경우의 2%보다 20배 이상 증가하였다. 이외에도 Kasha-

va들 (1995)은 V79 세포에 UVC과장의 자외선을 조사한 후 염색체 이상 빈도를 관찰하였는데 자외선량이 0일 경우 염색체 이상 빈도는 3%, 자외선량이 $100 \mu\text{J} \times 10^2/\text{cm}^2$ 일 경우에는 22%, $200 \mu\text{J} \times 10^2/\text{cm}^2$ 일 경우에는 37%로 관찰되어 자외선량이 증가할수록 염색체 이상 빈도의 증가를 확실히 알 수 있었다. 또한 세포분열지수에서도 자외선량이 0일 경우에는 9.90%, $100 \mu\text{J} \times 10^2/\text{cm}^2$ 일 경우에는 6.50%, $200 \mu\text{J} \times 10^2/\text{cm}^2$ 일 경우에는 2%로 자외선량의 증가에 따라 세포분열지수가 감소함으로써 세포의 생존률이 낮아지는 것을 알 수 있었다. 그러나 이들 모두의 보고는 모두 UVC에 관한 것으로 지구표면에 도달하는 자외선 중 가장 유해한 UVB에 대한 연구보고는 거의 이루어져 있지 않다.

자외선에 의한 손상의 회복은 광활성화 (photoreactivation) 과정과 절단-회복 (excision-repair) 과정, free radical scavenger를 이용한 free radical의 제거등을 통하여 이루어지며, 이 중 광활성화에 의한 회복은 DNA 광분해효소 (photolyase)에 의해서 pyrimidine 이량체가 pyrimidine 단량체로 회복되고, 절단-회복은 endonuclease에 의해서 이미 형성된 이량체를 절단하여 단량체로 됨으로써 자외선에 의한 손상이 회복된다. 또한 free radical scavenger를 이용한 free radical의 제거는 pyrimidine 이량체의 free radical을 제거함으로써 pyrimidine 이량체를 pyrimidine 단량체로 만들어 자외선에 의한 손상으로 부터 회복된다고 보고되고 있다 (IPCS, 1979).

Tannic acid는 자외선에 의해 생성된 pyrimidine 이량체의 free radical을 제거하는 free radical scavenger작용과 세포 주기 중 G1기에 발생하는 절단-회복 과정의 촉진에 의하여 자외선에 의한 염색체 이상을 억제한다고 보고되었다 (Sasaki *et al.*, 1989).

1988년 Sasaki들은 CHO세포와 UVC파를 이용하여 tannic acid의 방어효과를 관찰하였는데 그 결과에 의하면 자외선량을 20 J/m^2 로 조사하고 tannic acid의 농도를 $0.33 \mu\text{g/ml}$ 에서 $3.30 \mu\text{g/ml}$ 까지 투여하였을 때 tannic acid의 농도가 증가할수록 염색체 이상 빈도가 감소하였다. 또한 세포의 생존율에 있어서도 tannic acid의 농도가 증가할수록 세포의 생존률이 증가한다고 보고하고 있다. 특히 Sasaki는 염색체 이상 빈도의 감소가 세포주기중 G1기에 tannic acid가 작용함으로써 나타난다고 보고하였다.

또한 Imanishi들 (1991)도 자외선에 의해 발생된 염색체 이상과 그것에 대한 tea tannin components의 영향을 보고하였는데 그는 자외선량을 20 J/m^2 로 조사한 후 대사활성물질인 S9 mix를 첨가하였을 경우에 tea tannin components의 낮은 농도 ($\leq 6.70 \mu\text{g/ml}$)에서 염색체 이상이 억제된다고 하였다. 하지만 대사활성물질의 존재하에서 tea tannin components가 높은 농도 ($20 \mu\text{g/ml}$)로 투여되었을 경우에는 염색체 이상 빈도가 증가하여 대사활성물질인 S9 mix와의 co-mutagenic effect가 관찰된다고 보고하였다. 그리고 이러한 tea tannin components의 염색체 이상 빈도 감소효과는 세포주기 중 G1기에 이루어진

다고 보고하여 위에서의 Sasaki와 같은 의견을 나타내고 있다. 결론적으로 Imanishi의 연구결과에는 tea tannin components가 자체적으로 DNA-절단 회복을 방해하며 co-mutagenic effect로서의 작용을 하지만 대사활성물질의 존재하에서는 DNA-절단 회복 활동을 촉진하며 항변이작용을 한다고 보고하고 있다. 이외에 *Escherichia coli*를 이용한 Shimoi들 (1985)의 보고에서는 tannic acid가 절단-회복 과정을 촉진함으로써 자외선에 의해 발생한 돌연변이에 대해 항변이원성을 가지고 있다고 보고하였다.

지금까지의 연구 보고 및 본 연구 결과를 토대로 볼 때 tannic acid의 자외선에 대한 방어작용은 두가지로 설명할 수 있다. 첫째는 tannic acid가 자외선에 의해 발생된 pyrimidine 이량체의 free radical의 scavenger로 작용함으로써 pyrimidine 이량체의 증가를 억제시키고 그럼으로써 자외선에 의한 DNA 손상을 억제시킨다는 것이다. 둘째는 tannic acid가 세포 주기 중 G1기에 일어나는 DNA-절단 회복 과정을 촉진함으로써 자외선에 의해 발생한 돌연변이에 대하여 항변이작용을 한다는 것이다.

감사의 글

본 연구는 농림수산부 특정연구과제 연구비 지원으로 수행되었음을 밝힙니다.

References

- Athar, M., W.A. Khan, and H. Mukhtar, (1989): Effect of Dietary Tannic Acid on Epidermal, Lung, and Forest-moach Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolism and Tumorigenicity in Sencar Mice, *Cancer Res.*, **49**: 5784-5788.
- Bender M.A, H.G. Griggs, and P.L. Walker, (1973): Mechanisms of chromosomal aberration production 1. Aberration induction by ultraviolet light, *Mutation Res.* **20**: 387-402.
- Brash, D.E. and W.A. Haseltine, (1982): UV-induced mutation hotspots occur at DNA damage hotspots, *Nature* **298**: 189-192.
- Environmental health criteria 14-ultraviolet radiation (1979): World Health Organization.
- Ikushima, T., and S. Wolff, (1974): UV-induced chromatid aberrations in cultured chinese hamster cells after one, two, or three rounds of DNA replication, *Mutation Res.* **22**: 193-201.
- Imanishi, H., Y.F. Sasaki, T. Ohta, M. Watanabe, T. Kato, and Y. Shirasu, (1991): Tea tannin components modify the induction of sister-chromatid exchanges and chromosome aberrations in mutagen-treated cultured mammalian cells and mice, *Mutation Res.* **259**: 79-87.
- Kato, H., (1973): Induction of sister chromatid exchanges by UV light and its inhibition by caffeine, *Exp. Cell Res.* **82**: 383-390.

- Keshava, C., T. Ong, and J. Nath, (1995): Comparative studies on radiation-induced micronuclei and chromosomal aberrations in V79 cells, *Mutation Res.* **328**: 63-71.
- Kuo, M.L., K.C. Lee, and J.K. Lin, (1992): Genotoxicities of nitropyrenes and their 9. modulation by apigenin, tannic acid, ellagic acid and indole-3-carbinol in the Salmonella and CHO systems, *Mutation Res.* **270**: 87-95.
- Kim, J.P., P. D'Arpa, D. Jacobson-Kram, and J.R. Williams, (1985): Ultraviolet-light exposure induces a heritable sensitivity to the induction of SCE by mitomycin-C, *Mutation Res.* **149**: 437-442.
- Lehninger, A.L., D.L. Nelson, M.M. Cox, (1993): Principles of Biochemistry, 2nd edition. Worth Publishers, 832-839.
- Major, J., M.G. Jakab, and A. Tompa, (1996): Genotoxicological Investigation of hospital nurses occupationally exposed to ethylene-oxide. Environmental and Molecular, *Mutagenesis* **27**: 84-92.
- Parrington, J.M., (1972): Ultraviolet-induced chromosome aberrations and mitotic delay in human fibroblast cells, *Cytogenetics* **11**: 117-131.
- Petersen, L.N., T. Stevnsner, and V.A. Bohr, (1995): DNA repair in a UV resistant Chinese hamster ovary cell line, *Carcinogenesis* **16**: 3075-3081.
- Sasaki, Y.F., H. Imanishi, T. Ohta, M. Watanabe, K. Matsumoto, and Y. Shirasu, (1989): Suppressing effect of tannic acid on the frequencies of mutagen-induced sister-chromatid exchanges in mammalian cells, *Mutation Res.* **213**: 195-203.
- Sasaki, Y.F., H. Imanishi, T. Ohta, M. Watanabe, K. Matsumoto, and Y. Shirasu, (1988): Suppressing Effect of Tannic Acid on UV and Chemically Induced chromosome aberrations in cultured mammalian cells, *Agric. Biol. Chem.* **52**: 2423-2428.
- Shimoi, K., Y. Nakamura, T. Noro, I. Tomita, Y.F. Sasaki, H. Imanishi, K. Matsumoto, and Y. Shirasu, (1989): Enhancing effects of cinoxate and methyl sinapate on the frequencies of sister-chromatid exchanges and chromosome aberrations in cultured mammalian cells, *Mutation Res.* **212**: 213-221.
- Shimoi, K., Y. Nakamura, I. Tomita, and T. Kada, (1985): Bio-antimutagenic effects of tannic acid on UV and chemically induced mutagenesis in Escherichia coli B/r, *Mutation Res.* **149**: 17-23.
- Sidjanin, D., D. Grdina, and G.E. Woloschak, (1996): UV-induced changes in cell cycle and gene expression within rabbit lens epithelial cells, *Photochemistry and Photobiology* **63**: 79-85.
- Wang, B., K. Fujita, N. Uchida, H. Mitani, T. Yamada, and A. Shima, (1996): Effect of UVC irradiation on cultured mouse embryonic limb bud cells, *Mutation Res.* **362**: 175-180.
- Yamashita, Y., N. Sumi, S. Arimoto, and H. Hayatsu, (1995): Synergistic action of N-nitrosodialkylamines and near-UV in the induction of chromosome aberrations in Chinese hamster lung fibroblasts in vitro, *Mutation Res.* **348**: 163-168.