

감마선에 의한 카사바 (*Manihot esculenta* Crantz) 배양세포의 항산화효소 활성 변화

이행순 · 유순희 · 권석윤 · 김재성¹ · Kwak Sang-soo*

생명공학연구소 식물생화학 Research Unit, ¹한국원자력연구소 동위원소 · 방사선응용연구팀

Gamma Radiation-Induced Changes of Antioxidant Enzymes in Callus Cultures of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

LEE, Haeng Soon · YOU, Soon Hee · KWON, Suk Yoon · KIM, Jae Seung¹ · KWAK, Sang-Soo*

Plant Biochemistry Research Unit, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, P.O. Box 115,
Yusong, Taejeon, 305-606, Korea

¹RI · Radiation Application Research Team, Korea Atomic Energy Research Institute, P.O. Box 105,
Yusong, Taejeon, 305-600, Korea

ABSTRACT The gamma radiation-induced changes of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) in callus cultures of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) selected as a high yield of cell line for SOD were investigated. In normal cultures, the cell growth reached a maximum at 30 days after subculture (DAS), followed by a rapid decrease with further cultures. The SOD and POD specific activities (units/mg protein) showed the highest at the immediately after subculture and subsequently decreased to 20 DAS, and then increased to 30 DAS, whereas the CAT activity showed the lowest at just after subculture, and it continuously increased from 15 DAS to 30 DAS, showing a good correlation with the cell growth. Irradiation of gamma-ray of 50 and 70 Gy on 7 DAS inhibited significantly the cell growth by 50% and 80% at 14 days after treatment (DAT), respectively. In the cells irradiated with 70 Gy, SOD and POD specific activities increased by 4 and 2.5 folds at 14 DAT, respectively, whereas CAT activity was not affected. The results indicate that SOD and POD may be involved in the antioxidative mechanism in relation to oxidative stresses induced by subcultures and by gamma radiation in callus cultures of cassava.

Key words: Oxidative stress, peroxidase, subculture, superoxide dismutase

서 론

식물을 포함한 대부분의 호기성 생물은 병충해와 같은 생물학적 스트레스뿐만 아니라 다양한 종류의 환경스트레스를 받으면 생체내에서 생명의 필수원소인 산소 (O₂)는 super-

oxide anion radical ($\cdot O_2^-$), hydrogen peroxide (H₂O₂), hydroxyl radical (OH \cdot) 등 반응성이 높은 독성의 활성산소종 (reactive oxygen species: ROS)으로 변한다. 이들은 강한 산화력을 가지고 있어 세포막분해, 광합성억제, 단백질분해, DNA합성억제 등 생체내에서 심각한 생리적인 장애를 유발하며 심한 경우는 식물을 죽게 한다 (Alscher and Hess 1993; Scandalios 1993). 생체는 유해한 ROS로부터 자신을 보호하기 위하여 superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) 등의 항산화효소와 ascorbate, α -tocopherol,

*Corresponding author. Tel 042-860-4432
E-mail sskwak@mail.kribb.re.kr

glutathione 등의 저분자 항산화물질을 생산한다 (Alscher and Hess 1993). 이 중 SOD (EC 1.15.1.1)는 $\cdot O_2^-$ 를 제거할 뿐 아니라 가장 독성이 높은 ROS인 $OH\cdot$ 의 발생을 예방하는 작용을 하는 대표적인 항산화효소이다 (Bowler 1994; Bowler et al. 1992). SOD는 세포질과 엽록체에 존재하는 CuZnSOD, 미토콘드리아에 있는 MnSOD, 엽록체에 존재하는 FeSOD가 있다. 최근 오존을 비롯한 환경스트레스에 내성을 갖는 식물체를 개발하기 위하여 SOD를 포함한 항산화효소의 유전자조작에 의한 형질전환식물체 개발이 이루어지고 있다 (Allen 1995; Bowler et al. 1992).

산화적 스트레스를 유발할 수 있는 스트레스원은 생물학적 스트레스, 비생물학적 스트레스 등 매우 다양하다. 지금까지 오존, 화학물질 (제초제 등), 산성비, 자외선 등이 식물 또는 식물세포의 성장과 항산화기구에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구가 있다. 감마선을 포함한 방사선은 생체에 ROS를 과다하게 발생하여 방사선장해를 유발하여 인체에 치명적인 장해를 주고 있음은 잘 알려져 있다 (Kergonou et al. 1987; Hall 1988; Dubner et al. 1995). 특히 감마선은 고에너지를 가지고 있기 때문에 세포내 물분자의 산소-수소결합을 분해하여 $OH\cdot$ 을 생산하는 것으로 알려져 있다 (Babbs et al. 1989). 한편, 방사선은 식물종자의 발아율 증가, 돌연변이체 유도, 멸균 등의 목적으로 이용되고 있으나 방사선이 식물체 또는 식물배양세포의 항산화기구에 미치는 영향에 대한 보고는 거의 없다 (Sah et al. 1996; Yun 1998).

한편, 배양세포는 높은 산화적인 스트레스조건에서 배양되기 때문에 항산화물질의 탐색 및 항산화기구 연구에 좋은 소재가 될 수 있다. 저자들은 이러한 배양세포가 지닌 특성에 착안하여 많은 종류의 식물배양세포주를 대상으로 SOD, POD, CAT 등의 항산화효소 활성을 조사하여 높은 POD와 SOD 활성을 지닌 세포주를 선발하였다 (Kim et al. 1994; Jang et al. 1996; You et al. 1996; 1997). 특히 POD 고생산세포주로 선발된 고구마 세포주는 POD의 대량생산과 POD 유전자의 분리 및 기능해석 연구에 활용되고 있다 (Kwak et al. 1994; 1995; 1996; Huh et al. 1997; 1998; Yun et al. 1998). 또한 SOD 함량이 높은 카사바, 토마토 등의 세포주는 배양세포의 항산화기구 연구 및 유전자의 탐색재료로 이용되고 있다 (You et al. 1997). 본 논문에서는 강력한 산화적 스트레스 원인 감마선이 식물체 항산화방어기구에 미치는 영향에 대한 기초자료를 얻기 위하여 SOD를 고생산하는 카사바 (*Manihot esculenta* Crantz) 배양세포에 감마선을 처리하여 세포생장과 항산화효소 활성에 미치는 영향을 조사하였다.

카사바 (*Manihot esculenta* Crantz) 배양세포주는 SOD 고생산세포주로 선발된 켈러스세포주 (You et al. 1996)를 사용하였다. 배양세포는 1 mg/L 2,4-D가 포함된 MS (Murashige and Skoog 1962)배지를 함유한 페트리디쉬 (87 × 15 mm)에 4주 간격으로 계대배양하면서 25°C 암상태에서 유지하였다. 세포생장에 따른 항산화효소 활성조사 실험에서는 약 0.4 g (생체중) 켈러스 5 덩어리를 페트리디쉬에 치상한 다음, 5일 간격으로 세포를 수거하여 세포생중량과 항산화효소 활성을 측정하고 이를 60°C에서 24시간 건조시킨 후 건조중량을 측정하였다. 감마선처리는 계대배양 후 7일이 경과된 켈러스에 0, 10, 30, 50, 70 Gy의 세기가 되도록 3시간 동안 처리하였으며 이때 방사선량이 발생중심지에서 일정하게 배양세포에 조사되도록 하기 위하여 켈러스 (생체중 약 0.4 g)를 페트리디쉬 중앙에 일직선상으로 5개씩 치상하였다. 감마선 처리 후 14일째의 켈러스를 대상으로 세포의 성장과 항산화효소 활성을 조사하였다. 감마선 처리는 한국원자력연구소의 코발트 60 (^{60}Co)의 감마선을 이용하였다.

조효소액의 추출

식물배양세포 생중량 0.4 g을 0.05 M 인산 원충액 (pH 7.0) 0.5 mL과 함께 얼음위의 막자사발에서 마쇄한 후 14,000 rpm로 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 단백질정량은 BSA를 표준단백질로 사용한 Bradford (1976)의 방법에 따라 측정하였다.

항산화효소 활성측정

SOD 활성은 McCord와 Fridovich (1969)의 방법에 따라 xanthine, xanthine oxidase (XOD)와 cytochrome c를 이용하여 측정하였다. 효소측정을 위한 반응액 [10 mM xanthine 2.5 mL, 10 mM cytochrome c 0.5 mL, 0.1 mM EDTA를 포함한 0.05 M 인산원충액 (pH 7.8) 47 mL의 혼합액]은 매번 조제하여 사용하였다. 반응액중 cytochrome c의 농도를 일정하게 유지하기 위하여 반응액을 만든 후 sodium dithionite로 매회 보정하였다. 상기 반응액 1 mL과 효소액 (10 μ L 전후)을 큐벳에 넣은 후 10^{-4} M EDTA를 포함한 0.05 M 인산원충액 (pH 7.8)으로 25배 희석한 XOD 10 μ L를 첨가하여 효소 반응을 시작하였다. 효소활성의 1 단위 (unit)는 25°C에서 2분간 반응하여 550 nm에서 흡광도변화를 조사하여 XOD 활성이 50% 억제된 것으로 정의하였다.

POD 활성은 pyrogallol를 기질로 사용한 Sigma사의 방법에 따라 측정하였다. 배양세포 조효소액 100 μ L를 3 mL cuvette에 넣고 0.1 M 인산원충액 (pH 6.0) 0.32 mL, 0.147 M H_2O_2 0.16 mL, 5% pyrogallol 용액 0.32 mL과 증류수 2.1 mL을 함께 섞은 후, 420 nm에서 20초간 상온에서 흡광도 변화를 측정하여 구하였다. UV 측정시 반응액의 흡광도가 0.4-

재료 및 방법

식물배양세포주 및 감마선 처리

0.7이 되도록 조효소액을 희석하여 효소활성을 측정하였다. POD 활성은 다음의 식으로부터 구하였다. POD 활성 (unit/g 건물중) = $[(\Delta A_{420}/20 \text{ sec}) \times (\text{희석배율})] / (12^* \times \text{g시료/mL 반응액})$. 여기서 12^* 는 420 nm에서의 흡광계수이다.

CAT 활성은 기질인 H_2O_2 의 감소량을 측정하는 방법 (Aebi 1984)을 사용하였다. 효소측정을 위한 반응용액은 0.053 M H_2O_2 1 mL, 효소액 0.1 mL, 0.05 M 인산완충액 (pH 7.0) 1.9 mL의 혼합액으로 하여, 효소활성 (unit)은 cuvette내에서 효소에 의한 H_2O_2 의 분해를 240 nm의 흡광도 감소를 1분간 측정하여 다음의 식으로 계산하였다. CAT 활성 (unit/g 건물중) = $(\Delta A_{240}/\text{min} \times \text{희석배율}) / (2 \times 43.6^*)$. 여기서 43.6^* 은 240 nm에서 H_2O_2 의 흡광계수이다.

결과 및 고찰

SOD 고생산세포주로 선발한 카사바 (*M. esculenta* Crantz) 켈러스는 계대배양 후 약 15일에 대수증식기에 진입한 후 30일에 최대생장을 나타내었으며 지속적인 배양에 따라 생장이 현저히 감소하였다 (Figure 1). 카사바 켈러스 배양 시기에 따라 항산화효소 활성은 큰 변화를 나타내었다. 단위 단백질당 SOD활성인 비활성도 (units/mg protein)는 계대배양 직후에 가장 높은 활성 (13,000 units)을 나타낸 후, 계대배양 10일까지 현저히 감소하였다. 대수증식초기인 20일까지 낮은 활성을 유지하다가 배양 20일부터 SOD 활성은 배양후기까지 지속적인 증가를 나타내었다 (Figure 1A). POD 비활성도는 SOD의 변화와 비슷하여 계대배양직후에 가장 높은 활성 (90.5 units)을 나타낸 후, 대수증식초기부터 세포생장이 최대치를 나타내는 시점까지 증가한 후 지속적인 배양에도 높은 활성을 유지하였다 (Figure 1B). 한편 CAT활성은 전반적으로 낮은 활성을 나타내었으며 SOD와 POD의 활성 변화와는 큰 차이를 나타내었다. 계대배양 직후에 낮은 활성을 보였으며 세포생장과 일치하는 패턴으로 증가한 후 감소하였다 (Figure 1C).

세포생장에 따른 단위세포 무게당 항산화효소 활성 (units/g dry cell wt)은 비활성도의 변화와 거의 같은 경향을 보였다 (결과미제시). 즉 단위세포 무게당 SOD와 POD 활성은 계대배양 직후에 가장 높았으며 이후 감소하다가 대수증식초기부터 다시 증가하였고 배양후기에도 높은 활성을 나타내었으나, CAT의 경우는 배양초기에 낮은 활성을 보인 후 세포생장과 비례하여 활성변화를 나타내었다. SOD 고생산 토마토 (*Lycopersicon esculentum*) 현탁배양에서 세포생장에 따른 SOD 활성변화는 카사바의 CAT활성 변화와 비슷하였다 (You et al. 1996). POD 고생산 고구마 (*Ipomoea batatas*) 현탁배양세포의 POD활성은 배양초기에 약하게 증가하다가 대수증식초기까지 감소한 후, 다시 증가하기 시작하여 배양후기까지 지속적으로 증가하였다 (Kwak et al. 1995). 따라서

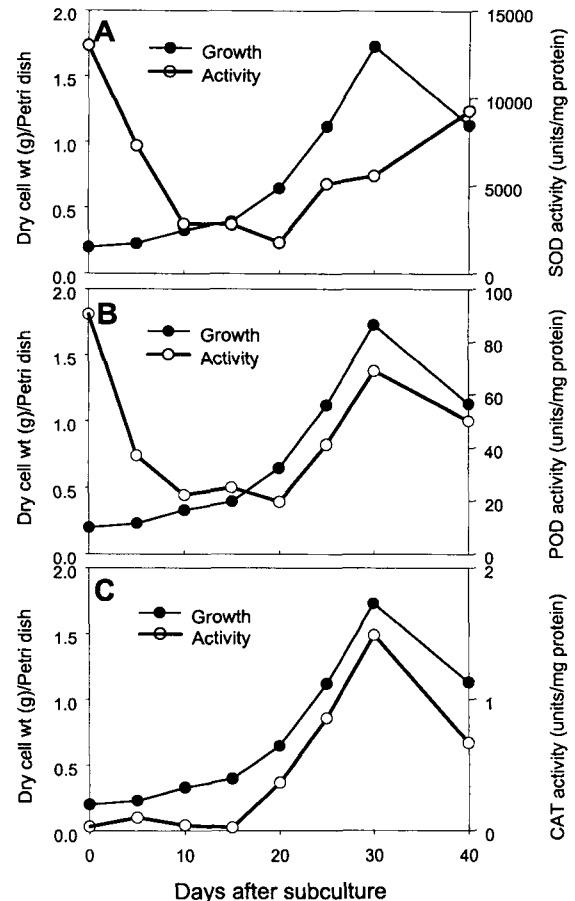


Figure 1. Changes in antioxidant enzymes during callus cultures of cassava (*Manihot esculenta*) in MS basal medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D, 30 g/L sucrose and 0.4% Phytigel. A: Time course of the cell growth and the specific activity of superoxide dismutase, B: Time course of the cell growth and the specific activity of peroxidase, C: Time course of the cell growth and the specific activity of catalase.

식물배양세포의 생장과 항산화효소 활성은 밀접한 관계가 있으나 배양세포주와 항산화효소 종류에 따라 많은 차이가 있음이 시사된다. 카사바 켈러스배양에서 계대배양, 배양후기의 세포노화 및 배지내 영양고갈에 따른 배양스트레스 (산화적인 스트레스 등)에는 SOD와 POD에 의해 주로 조절되고 있음이 시사되었다.

카사바 켈러스를 계대배양한 후 배양 7일째에 감마선을 처리하여 세포생장과 항산화효소 활성에 미치는 영향을 조사하였다. 카사바 켈러스의 생장은 감마선 처리 후 7일부터 조사선량이 증가함에 따라 감소하기 시작하였으며 (결과 미제시), 처리후 14일에 이르러 감마선을 처리하지 않은 대조구에 비해 50 Gy와 70 Gy 처리구에서 각각 약 50%와 80%의 생장이 감소되었다 (Figure 2A). 10 Gy와 30 Gy의 저선량은 세포생장에 거의 영향을 미치지 않았다. 켈러스의 색깔은 감마선 처리 후 14일부터 조금씩 갈색으로 변하기 시작하였으며 이러한 현상은 조사선량이 높을수록 뚜렷하였다 (Figure 2B). 따라서 감마선은 세포생장에 크게 영향을 미치는 것이 확인

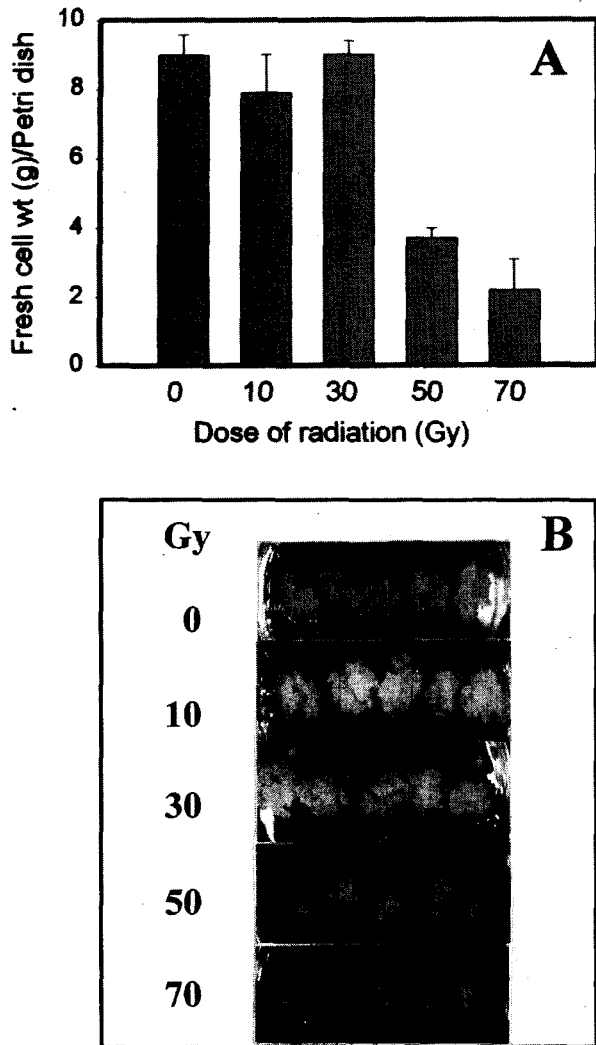


Figure 2. Effects of gamma radiation on the cell growth of cassava (*Manihot esculenta*) in MS basal medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D, 30 g/L sucrose and 0.4% Phytigel. Gamma-ray (10, 30, 50, 70 Gy) was irradiated on 7 days after subculture and the cell growth was investigated at 14 days after treatment. Error bars indicate SE of three replicates. A: The cell growth on the various dose of gamma radiation, B: The pictures of gamma ray-irradiated callus.

되었다.

감마선처리된 생체내 활성산소종을 과다하게 생성하여 세포생장에 영향을 준 것이 예측되어 세포생장에 큰 영향이 있었던 감마선처리 후 14일째의 세포를 대상으로 항산화효소 활성을 조사하였다. SOD 비활성도 (units/mg protein)는 30 Gy까지는 큰 변화가 없었으나 50 Gy부터는 조사선량에 비례하여 증가하여 70 Gy를 조사하였을 때는 무처리에 비해 약 4 배 증가된 8000 unit을 나타내었다 (Figure 3A). POD 비활성도는 SOD와 비슷하여 50 Gy부터 활성이 증가하였으며 70 Gy를 조사하였을 때는 약 2.5배 증가된 50 unit을 나타내었다 (Figure 3B). CAT 활성은 SOD, POD와는 달리 처리한 선량 범위에서는 감마선에 의해 큰 변화는 없었다 (Figure

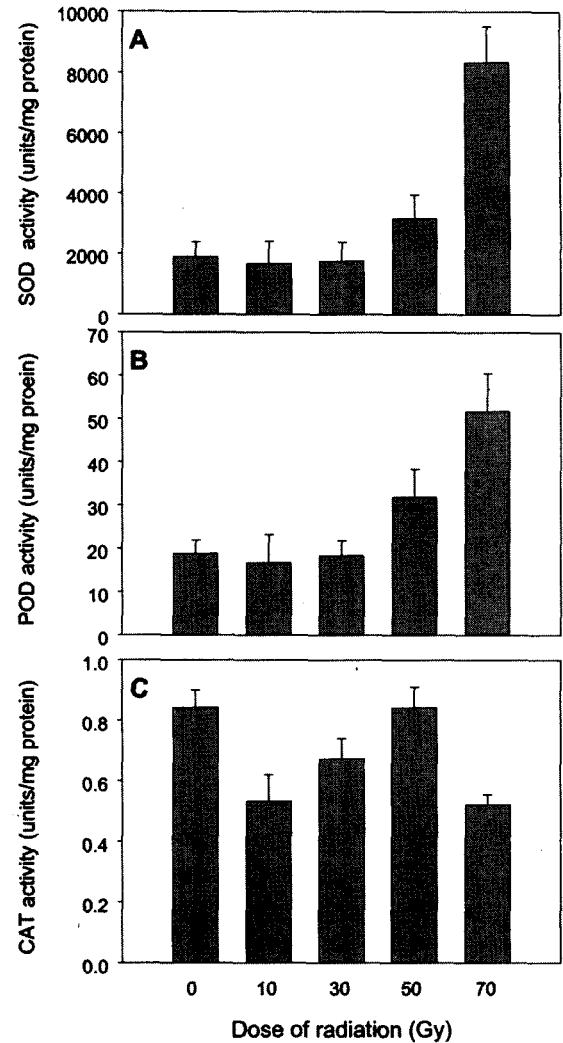


Figure 3. Gamma radiation-induced changes of antioxidant enzymes in callus cultures of cassava (*Manihot esculenta*) in MS basal medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D, 30 g/L sucrose and 0.4% Phytigel. Gamma-ray (10, 30, 50, 70 Gy) was irradiated on 7 days after subculture and the enzyme activity was investigated at 14 days after treatment. A: The specific activity of superoxide dismutase on various doses of gamma radiation, B: The specific activity of peroxidase on various doses of gamma radiation, C: The specific activity of catalase on various doses of gamma radiation. Error bars indicate SE of three replicates.

3C). 카사바 배양세포는 감마선처리에 의해 세포내에서 과다하게 발생하는 활성산소종을 제거하기 위하여 SOD, POD 등이 관여하는 항산화기구가 작용함이 시사되었다. 과산화수소를 제거하는 항산화효소인 POD와 CAT의 활성변화가 감마선에 따라 큰 차이를 나타내는 것은 흥미로운 사실로 자세한 연구가 요구된다. 감마선처리에 의한 카사바 배양세포의 SOD와 POD 동위효소의 정성적인 변화는 없고 활성이 증가 혹은 감소하는 정량적인 변화를 나타내었다 (결과 미제시). 식물체 또는 배양세포에 대한 감마선처리가 POD의 활성과 isoenzyme에 미치는 영향에 대한 보고는 있으나 SOD와 CAT 활성에 미치는 영향에 대한 보고는 없다. 보리 (*Hor-*

deum vulgaris L.) 종자에 감마선을 처리하였을 때 선량에 비례하여 유묘의 생장이 억제되고 POD 활성이 증가하였다 (Sah et al. 1996). POD를 고생산하는 형질전환담배 식물체에 감마선을 처리하였을 때 식물체의 생장이 조사선량에 비례하여 현저하게 억제되었으나 항산화효소 활성은 감마선 처리에 영향을 받지 않았다 (Yun 1998). 아마도 카사바 배양세포의 경우는 세포내의 물분자가 분해되어 생성된 hydroxyl radical의 피해뿐만 아니라 이로 인해 발생하는 이차적인 활성산소종들이 스트레스원으로 작용하여 세포내의 항산화효소 활성이 증가한 것으로 생각된다.

본 연구에서는 SOD를 고생산하는 세포주에 대한 감마선의 영향을 조사하였으나, SOD 활성이 낮은 배양세포주 등 다양한 배양세포에 감마선을 처리하여 세포생장과 항산화효소 활성에 미치는 영향을 조사하고 식물체에 대한 결과와 비교함으로써 배양세포가 지닌 방사선 내성특성을 자세히 이해할 수 있을 것으로 기대된다. 석탄, 석유 등 화석연료의 과다한 사용으로 지구온난화 등을 초래하는 등 지구규모의 여러 가지 문제점이 제기되고 있어 향후 방사선의 산업적 이용은 더욱 증가할 것으로 생각된다. 따라서 방사선이 인간뿐 아니라 식물을 포함한 생태계 전반에 미치는 영향을 조사할 필요가 있다. 특히 방사선에 대한 식물의 내성기구, 방사선지표 식물 등에 관한 연구가 요구된다.

적 요

Superoxide dismutase (SOD) 고생산세포주로 선발된 카사바 (*Manihot esculenta* Crantz) 배양세포에 감마선을 처리하여 세포생장과 SOD, peroxidase (POD), catalase (CAT)의 항산화효소 활성을 조사하였다. 카사바 켈러스는 계대배양 후 약 15일에 대수증식생장기에 진입한 후 30일에 최대생장을 나타내었으며 지속적인 배양에 따라 생장이 현저히 감소하였다. SOD와 POD의 비활성도 (units/mg protein)는 계대배양 직후에 가장 높았으며 대수증식 초기까지 감소한 후 다시 배양후기까지 증가하였다. CAT 활성은 세포생장과 비례하여 활성변화를 나타내었으며 계대배양 직후와 배양후기에 낮은 활성을 나타내었다. 계대배양 7일째의 카사바 켈러스에 감마선을 처리한 한 결과, 처리 후 14일째 배양세포는 방사선량에 비례하여 세포생장에 크게 영향을 주어 50 Gy와 70 Gy에서 각각 약 50%와 80%의 생장이 억제되었다. 이 시기의 SOD와 POD는 방사선량에 비례하여 증가하여 70 Gy를 조사한 경우 각각 4배, 2.5배 증가하였으나 CAT은 방사선에 거의 영향을 받지 않았다. 카사바 켈러스배양에서 계대배양, 배양후기의 세포노화 및 배지내 영양고갈에 따른 배양스트레스는 SOD와 POD에 의해 주로 조절되고 있음이 시사되었다.

사사 - 본 연구는 과학기술부 원자력연구개발사업 (NA1030)

의 연구결과이다. 원고의 세심한 논평과 수정을 해준 김재훈박사, 윤병욱박사에게 감사한다.

인용문헌

- Aebi H (1984) Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol* **105**:121-126
- Allen RD (1995) Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiol* **107**:1049-1054
- Alscher RG, Hess JL (1993) Antioxidants in Higher Plants. CRC Press, Boca Raton pp 1-174
- Babbs CF, Pham JA, Coolbaugh RC (1989) Lethal hydroxyl radical production in paraquat-treated plants. *Plant Physiol* **90**:1267-1270
- Bowler C (1994) Superoxide dismutase in plants. *Crit Rev Plant Sci* **13**:199-218
- Bowler C, Van Montagu M, Inze D (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **43**: 83-116
- Bradford MM (1976) A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* **72**:248-254
- Dubner D, Giscone P, Jaitovich I, Perez M (1995) Free radicals production and estimation of oxidative stress related to gamma irradiation. *Biol Trace Elem Res* **47**:265-270
- Hall EJ (1988) The physics and chemistry of radiation absorption. In: *Radiobiology for the Radiologist*. Lippincott, Philadelphia pp 1-16
- Huh GH, Lee SJ, Bae YS, Liu JR, Kwak SS (1997) Molecular cloning and characterization of anionic and neutral peroxidase cDNAs from sweet potato suspension-cultured cells and their differential expression in response to stress. *Mol Gen Genet* **255**: 382-391
- Huh GH, Yun BW, Lee HS, Jo JK, Kwak SS (1998) Overproduction of sweet potato peroxidase in transgenic tobacco plants. *Phytochemistry* **47**:695-700
- Jang MS, Huh GH, Kim SW, Park IH, Kwak SS (1996) Comparison of catalase and other antioxidant enzyme activities in various plant cell lines. *Kor J Plant Tiss Cult* **23**:157-160
- Kergonou J, Bernard P, Braquet M, Rocquet G (1987) Effect of whole body gamma irradiation on lipid peroxidation in rat tissue. *Biochim* **63**:555-559
- Kim SK, Kwak SS, Jung KH, You SH, Park IH, Liu JR (1994) Selection of plant cell lines for high yields of peroxidase. *Kor J Biochem* **27**:132-137
- Kwak SS, Kim SK, Jung KH, You SH, Park IH, Liu JR (1994) Improvement of peroxidase productivity by optimization of medium composition and cell inoculum size in suspension cultures of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Kor J Plant Tiss Cult* **21**:91-97

- Kwak SS, Kim SK, Lee MS, Jung KH, Park IH, Liu JR (1995)** Acidic peroxidase from suspension cultures of sweet potato. *Phytochemistry* **39**: 981-984
- Kwak SS, Kim SK, Park IH, Liu JR (1996)** Enhancement of peroxidase activity by stress-related chemicals in suspension cultures of sweet potato. *Phytochemistry* **43**:565-568
- McCord JM, Fridovich I (1969)** Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemoglobin. *J Biol Chem* **244**: 6049-6055
- Murashige T, Skoog F (1962)** A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**:473-497
- Sah NK, Pramanik S, Raychaudhuri SS (1996)** Peroxidase changes in barley induced by ionizing and thermal radiation. *Int J Radiat Biol* **69**:107-111
- Scandalios JG (1993)** Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiol* **101**:7-12
- You SH, Kim SW, Kim SH, Liu JR, Kwak SS (1996)** Selection and isoenzyme analysis of plant cell lines for high yields of superoxide dismutase. *Kor J Plant Tiss Cult* **23**:103-106
- You SH, Huh GH, Kwon SY, Lee HS, Bang JW, Kwak SS (1997)** Superoxide dismutase activity in suspension cultured cells of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Kor J Plant Tiss Cult* **24**: 57-61
- Yun BW, Huh GH, Kwon SY, Lee HS, Jo JK, Kwak SS (1998)** Antioxidant enzymes in *Nicotiana* cells containing an *Ipomoea* peroxidase gene. *Phytochemistry* **48**:1287-1290
- Yun BW (1998)** Characterization of transgenic tobacco plants overexpressing sweet potato peroxidases in terms of environmental stresses. Ph.D. thesis, Kyungpook Nat'l Univ

(접수일자 1998년 12월 26일)