

## 다양한 식물배양세포주의 Glutathione 함량

이정은 · 안영옥 · 권석윤 · 이행순 · 김석원<sup>1</sup> · 박일현<sup>2</sup> · 박상수\*  
생명공학연구소 식물세포공학연구실, <sup>1</sup>유전자원센터 <sup>2</sup>충남대학교 생화학과

### Glutathione Contents in Various Plant Cell Lines

LEE, Joung-Eun · AHN, Young-Ock · KWON, Suk-Yoon ·  
LEE, Haeng-Soon · KIM, Suk-Won<sup>1</sup> · PARK, IL-Hyun<sup>2</sup> · KWAK, Sang-Soo\*

*Plant Cell Biotechnology Laboratory,*

<sup>1</sup>*Genetic Resources Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology,*

*P.O. Box 115, Yusong, Taejeon, 305-600, Korea*

<sup>2</sup>*Department of Biochemistry, Chungnam National University, Yusong, Taejeon, 305-764, Korea*

**ABSTRACT** We investigated the levels of glutathione (GSH) and its oxidized form (GSSG) in 24 cell lines derived from various plant species to understand the antioxidative mechanism in plant cell cultures. The total glutathione content was  $98 \pm 27 \mu\text{g/g}$  cell fresh wt, showing a slight difference in plant species. The average content of GSH and GSSG was  $72 \pm 20$  and  $26 \pm 10 \mu\text{g/g}$  cell fresh wt, respectively. The average GSH content in plant cell lines occupies approximately 73% in total glutathione. During the suspension cultures of *Scutellaria baicalensis*, one of the plant species we tested, the GSH content decreased in proportion to the cell growth during the exponential growth stage, showing the low level at the stationary growth stage ( $84 \mu\text{g/g}$  cell fresh wt), whereas the GSSG content increased to the stationary growth stage ( $31 \mu\text{g/g}$  cell fresh wt). The results suggested that the ratio of GSH and GSSG should be involved in the cell growth and antioxidative mechanism in cultured cells.

**Key words:** Antioxidative mechanism, oxidized glutathione (GSSG), plant cell line, reduced glutathione (GSH), *Scutellaria baicalensis*

## 서 론

식물은 각종 환경스트레스에 노출되면 생체내 산소가 유해한 활성산소종 (reactive oxygen species: ROS)으로 변한다. 이들 ROS는 생체내에서 단백질, 지질, DNA 등에 손상을 주어 노화와 질병을 촉진하고 심할 경우는 세포를 고사하게 한다 (Alscher and Hess 1993; Asada 1999). 식물은 ROS에 의한 산화적 스트레스 (oxidative stress)로부터 자신을 보호하기 위하여 superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD),

catalase 등의 항산화효소와 ascorbic acid (AsA), glutathione 등의 다양한 종류의 저분자 항산화물질을 생산한다 (Alscher and Hess 1993; Inze and Van Montagu 1995).

한편 상처를 받은 식물절편에서 유도되는 캘러스와 현탁 배양세포는 산화적 스트레스로부터 자신을 보호하기 위하여 높은 항산화기구 (antioxidative mechanism)가 발달해 있다고 생각되기 때문에, 식물배양세포는 항산화기구의 해석과 항산화물질 생산연구에 적합한 재료로 간주된다. 저자들은 다양한 식물종에서 유도된 100 여종의 배양세포주에서 SOD, POD 등의 항산화효소 활성을 조사한 결과, 식물배양세포주의 평균 SOD 활성은 식물체에 비하여 약 수십에서 수백배 높은 활성을 나타내는 것을 확인하였다 (Kim et al. 1994; You et al. 1996; Jang et al. 1997). SOD와 POD 고생산 세포

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

주로 각각 선발된 카사바 (*Manihot esculenta*)와 고구마 (*Ipomoea batatas*) 배양세포주는 항산화효소의 생산, 항산화효소 유전자의 분리 및 항산화기구 해석에 유용하게 이용되고 있다 (Kwak et al. 1995, 1996; Huh et al. 1997, 1998; Kim et al. 1999; Lee et al. 1999; Yun et al. 2000). 그리고 다양한 식물세포주를 대상으로 저분자 항산화물질인 AsA 함량을 분석한 결과, 배양세포의 평균 AsA 함량은 식물체의 것에 비하여 오히려 수십배 낮았다 (Ahn et al. 1998, 1999). 그러나 식물배양세포는 AsA 생합성 및 대사연구에는 적합한 소재임이 시사되었다.

식물의 대표적인 항산화기구인 ascorbate-glutathione 경로의 주요 구성성분인 glutathione (GSH)은 glutamic acid, cysteine 및 glycine의 3종의 아미노산이 결합한 물질 ( $\gamma$ -L-Glu-L-Cys-Gly)로 모든 식물에 분포하는 대표적인 저분자 thiol 화합물이다 (Alscher 1989). GSH는 sulfur transport, protein disulfide reductant, 제초제와 같은 xenobiotic의 해독 및 유전자 발현조절 등의 기능을 가지는 필수대사산물이다 (Foyer et al. 1976). 식물세포내의 GSH 농도는 식물 종과 조직 및 분화단계에 따라 다르지만, 잎의 엽록체와 세포질에서의 농도는 10 mM 수준으로 알려져 있다 (Foyer et al. 1976). Glutathione은 정상세포에서는 보통 세포내에 풍부하게 존재하는 NADPH와 glutathione reductase (GR)에 의해 활성형인 환원형의 GSH로 대부분 존재하지만, 2개의 GSH가 dehydroascorbate reductase에 의해 disulfide 결합으로 생성되는 산화형 GSSG도 일부 존재하는 것으로 알려져 있다 (Foyer et al. 1997). 본 논문에서는 높은 스트레스 조건에서 배양되는 24종의 켈러스의 GSH 함량과 아울러 황금 (*Scutellaria baicalensis*) 현탁배양에 따른 glutathione 함량 변화를 환원형인 GSH와 산화형인 GSSG로 나누어 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 배양세포주 및 배양

생명공학연구소 식물연구팀과 유전자원센터 유전자은행실에 의해 관리, 배양되고 있는 켈러스 24종을 대상으로 환원형 GSH와 산화형 GSSG의 함량을 조사하였다. 모든 세포주는 4주 간격으로 계대배양하여 25°C에서 암배양하였다.

황금 (*Scutellaria baicalensis*) 현탁배양세포는 Ahn 등 (1999)이 확립한 현탁배양세포주를 사용하였다. 생중량 1g의 세포를 2 mg/L p-chlorophenoxyacetic acid (p-CPA), 0.5 mg/L 2,4-D, 0.1 mg/L kinetin과 30 g/L sucrose가 함유된 SH (Schenk and Hildebrandt, 1972) 50 mL 배지를 함유한 250 mL 플라스크에서 접종하여 25°C에서 암조건에서 진탕배양 (100 rpm) 하였다.

### Glutathione 함량 측정

Glutathione 함량은 glutathione reductase (GR)과 4-vinylpyridine를 이용한 Griffith (1980)의 방법에 따라 측정하였다. 대수증식 후기에 해당하는 켈러스 또는 황금 현탁배양 후 일정간격으로 수확한 세포 생체중 0.5 g을 얼음위의 유발에서 마쇄한 후 1.5 mL의 metaphosphoric acid (5%)를 넣어 전체 glutathione을 추출하였다. 추출물을 11,000 g에서 15분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 상층액 0.5 mL을 0.5 M 인산완충액 (pH 7.5) 0.5 mL과 혼합하여 glutathione 함량 분석 시료로 사용하였다. 전체 glutathione 함량은 반응액 [5 mM EDTA, 0.6 mM 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), 0.2 mM NADPH를 포함하는 100 mM 인산완충액 (pH 7.5)] 3 mL이 첨가된 1회용 큐벳에 시료 100  $\mu$ L와 GR 10 unit (10  $\mu$ L)를 넣고 혼합하여 412 nm에서 1분간 반응시켜 흡광도 변화를 조사하여 GSH 표준 검량선으로부터 구하였다. 산화형 GSSG의 함량은 시료에 5  $\mu$ L 4-vinylpyridine (95% 순도)을 첨가하여 10분 동안 상온에서 반응시킨 후, 상기 반응액 3 mL과 혼합하여 전체 glutathione 함량분석과 같은 방법으로 측정하였다. GSH의 함량은 전체 glutathione 함량과 GSSG 함량의 차로서 산출하였다. 실험에 사용한 시약은 Sigma사로부터 구입하였다.

## 결과 및 고찰

### 다양한 식물세포주의 glutathione 함량

다양한 식물종에서 유도한 배양세포주 24종의 환원형 (GSH)와 산화형 (GSSG) glutathione 함량을 Table 1에 정리하였다. 조사한 배양세포의 전체 glutathione 함량 (환원형 GSH와 산화형 GSSG의 합한 함량)은  $98 \pm 27$  ( $\mu$ g/g cell fresh wt)로 식물 종류에 따른 함량변화는 크지 않았다. 배양세포의 환원형 GSH와 산화형 GSSG의 평균함량 ( $\mu$ g/g cell fresh wt)은 각각  $72 \pm 20$ 와  $26 \pm 10$ 으로, 환원형인 GSH가 산화형인 GSSG의 함량보다 약 2.8배 높아 배양세포의 전체 glutathione중에서 환원형 GSH는 약 73%를 차지하였다. 조사한 배양세포중에서 전체 glutathione함량은 하수오 (*Pleuropterus multiflorus*)와 월계화 (*Rosa chinensis*)에서 각각 175.5와 140.6으로 평균값의 각각 약 1.8배와 1.4배 높았다. 그리고 당느릅나무 (*Ulmus davidiana*) 세포주가 가장 낮은 값 (48.5)을 나타내었다.

식물의 종에 따른 전체 glutathione 함량은 큰 차이를 나타내지 않았지만, 질레꽃 (*Rosa multiflora*), *Rosa hybrida* 처럼 같은 종의 식물간에도 배지의 구성에 따라 다른 함량을 보였다 (Table 1). 즉 *R. centifolia*의 경우는 MS1D배지와 MSNK배지에서 배양하였을 때 전체 glutathione 함량은 각

**Table 1.** The levels of reduced and oxidized glutathione in 24 cell lines derived from different plant species.

Plant species	Culture medium <sup>a</sup>	Total glutathione (µg/g fr wt)	Reduced GSH (µg/g fr wt)	Oxidized GSSG (µg/g fr wt)	GSH/GSSG
<i>Achyranthes japonica</i>	MS2NIB	110.7	89.5	21.2	4.2
<i>Cucumis melo</i> var. <i>inodorus</i>	MS1D	73.2	56.7	16.5	3.4
<i>Cucumis sativus</i>	MS1D	102.7	71.3	31.4	2.2
<i>Daucus carota</i>	MS1D	72.9	50.3	22.6	2.2
<i>Ipomoea batatas</i>	MS1D	67.2	53.6	13.6	3.9
<i>Leonurus sibiricus</i>	MS1D	116.0	84.1	31.9	2.6
<i>Manihot esculenta</i>	MS1D	113.5	80.2	33.3	2.4
<i>Magnolia salicifolia</i>	MS1D	112.0	84.7	27.3	3.1
<i>Melandryum firmum</i>	MS1D	70.6	52.6	18.0	2.9
<i>Platycodon grandiflorum</i>	MS1D	118.6	91.0	27.6	3.2
<i>Pleuropterus multiflorus</i>	MS1D	175.5	113.1	62.4	1.8
<i>Quamoclit coccinea</i>	SH	87.6	67.6	20.0	3.3
<i>Raphanus sativus</i>	MS1D	102.8	68.7	34.1	2.0
<i>Rosa centifolia</i>	MS1D	83.8	63.0	20.8	3.0
<i>Rosa centifolia</i>	MSNK	80.5	59.9	20.6	2.9
<i>Rosa chinensis</i>	SH	140.6	105.2	35.4	2.9
<i>Rosa hybrida</i>	SH	68.7	50.9	17.8	2.8
<i>Rosa hybrida</i>	MS2NIB	108.6	73.8	34.8	2.1
<i>Rosa multiflora</i>	1/2MS1B	89.1	64.9	24.2	2.6
<i>Rosa multiflora</i>	SH	115.2	91.8	23.4	3.9
<i>Scutellaria baicalensis</i>	SH	107.1	85.0	22.1	3.8
<i>Sophora angustifolia</i>	MS1D	109.0	82.4	26.6	3.0
<i>Syringa dilatata</i>	MS1D	72.5	45.3	27.2	1.6
<i>Ulmus davidiana</i>	SH	48.5	33.4	15.1	2.2
Average		98 ± 27	72 ± 20	26 ± 10	2.8 ± 0.5

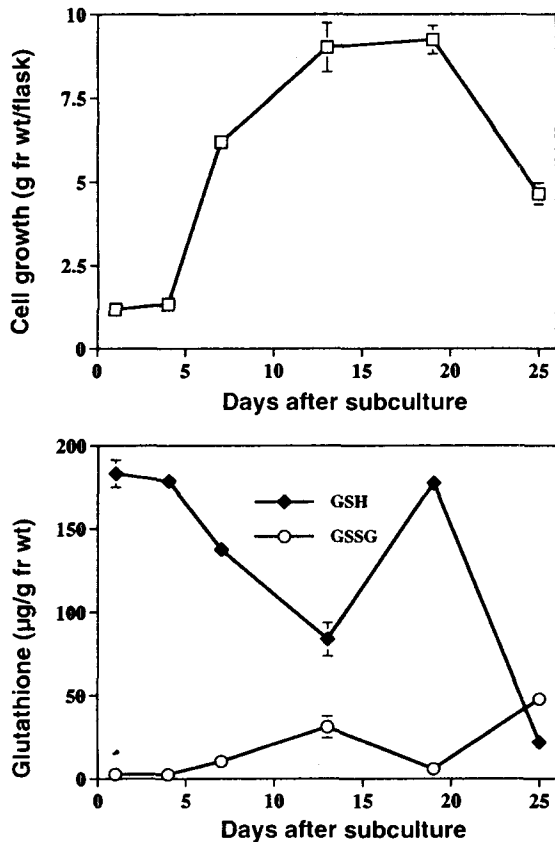
<sup>a</sup> Thirty g/L sucrose and 0.4 % gelrite were added to all media. The pH of all media was adjusted 5.8 before autoclaving. MS2NIB: Murashige and Skoog (1962) medium containing 2 mg/L NAA and 1 mg/L BA; MS1D: MS medium containing 1 mg/L 2,4-D; SH: Schenk and Hildebrandt (1972) medium containing 2 mg/L p-PCA, 0.5 mg/L 2,4-D and 0.1 mg/L kinetin, MSNK: MS medium containing 10 mg/L 2,4-D and 10 mg/L NAA, 0.1 mg/L kinetin; 1/2MS1B: half-strength MS medium containing 1 mg/L BA.

각 83.8과 80.5로 비슷하였다. 그러나 *R. hybrida*의 경우는 SH배지와 MS2NIB배지에서 각각 68.7과 108.6 그리고 *R. multiflora*의 경우는 1/2MS1B배지와 SH배지에서 각각 89.1과 115.2로 배지의 종류에 따라 약간의 차이를 나타내었다. 그리고 모든 세포주가 동일한 배양상태에 있지 않았음을 감안하더라도 배양세포의 glutathione 함량은 식물의 계통분류와 무관하다고 보여진다. 배양세포의 전체 glutathione 함량 가운데 환원형 GSH의 함량이 높은 것은 지금까지 보고된 식물체의 결과와 일치하는 것이다 (Smith 1985; Foyer et al. 1997). 즉 정상적인 상태의 식물세포 내에서는 환원형 (GSH)이 전체 glutathione의 90%이상을 차지하며 외부 스트레스에 의해 세포내의 산화형의 비율이 증가한다. 식물세포는 GSH의 항산화 및 환원제로서의 역할을 수행하기 위하여 높은 GSH/GSSG의 비율을 유지할 필요가 있는 것으로 생각된다. 배양세포의 glutathione 함량은 몇 종의 식물체 잎의 함량과 비교한 결과, 식물체 잎보다 약 2~3배 높음이 확인되었다 (결과 미제시). 식물배양세포의 세포내 기관별 그리고 세포생

장 단계별 glutathione 함량을 조사하면 각 기관별, 배양시기별 배양세포의 항산화기구를 이해하는데 도움이 될 것으로 생각되며 향후 이에 대한 자세한 실험을 수행할 예정이다.

#### 황금 현탁배양에 따른 glutathione 함량변화

배양세포 생장에 따른 glutathione 함량변화 조사는 Table 1의 세포주 가운데 평균적인 glutathione 함량을 나타내면서 이미 저자들에 의해 세포생장에 따른 ascorbic acid (AsA)의 함량변화를 조사된 바 있는 황금 (*Scutellaria baicalensis*) 현탁배양세포를 사용하였다 (Ahn et al. 1999). 황금 현탁배양의 세포생장은 figure 1에서처럼 계대배양 후 13일에 세포생장 정지기에 도달한 후 배양후 19일부터 감소하는 S자형의 성장곡선을 나타내었다. 황금 배양세포의 현탁배양에 따른 GSH의 함량 (µg/g cell fresh wt)은 계대배양후 1일부터 세포생장 정지기에 해당하는 13일까지는 약 84까지 계속적으로 감소한 후 배양후 19일에는 다시 178까지 증가하였다가 배양



**Figure 1.** Change in GSH and GSSG contents in suspension cultures of *Scutellaria baicalensis*. The cells were cultured in SH medium containing 2 mg/L p-PCA, 0.5 mg/L 2,4-D and 0.1 mg/L kinetin in 250 mL Erlenmeyer flask at 25°C in the dark (100 rpm). Error bars indicate SE of three replicates.

후기에 해당하는 25일에는 22로 크게 감소하였다 (Figure 1). 한편 GSSG의 함량 ( $\mu\text{g/g}$  cell fresh wt)은 흥미롭게도 대수 증식기간에는 증가하여 배양후 13일에는 31까지 증가하였고 배양후기인 25일에는 약 48까지 증가하였다. 세포생장 초기에는 전체 glutathione 중에서 환원형 GSH의 비율이 98.5%로 대부분을 차지하였으나, 세포생장 정지기에 해당하는 배양 13일과 배양후기에 해당하는 25일에는 각각 73.0%와 31.4%를 차지하였다. 특히 노화가 진행된 25일째 세포에서는 오히려 산화형 GSSG의 비율이 높았다.

세포생장 초기단계의 켈러스, 생장이 왕성한 대수증식기의 켈러스 그리고 노화가 진행된 켈러스로 구분하여 glutathione 함량을 분석한 결과, 전체 glutathione 함량 가운데 산화형 GSSG의 함량비율이 각각 33%, 59%, 62%를 나타내어 배양 후기에 갈수록 산화형의 비율이 증가하였다. 세포생장에 따른 전체 glutathione 함량변화와 환원형 GSH와 산화형 GSSG의 비율변화는 glutathione이 세포생장 및 배양세포의 항산화 기구에 중요하게 관여하고 있음을 시사하는 것으로 추후 자세한 연구가 요구된다.

황금 현탁배양에 따른 AsA의 생합성은 세포의 생장과 비

례하여 증가한 후 배양후기에는 현저히 감소하였고, 황금 배양세포는 AsA 생합성연구에 좋은 재료임이 확인되었다 (Ahn et al. 1999). Glutathione은 AsA와 함께 식물의 대표적인 항산화기구의 구성성분이기 때문에 황금배양세포에서 얻어진 결과가 모든 식물배양세포의 특성을 반영하는 것인지 황금식물의 특징적인 것인지를 알아보기 위해서는 다른 식물 종의 배양세포를 사용하여 동일한 실험을 수행할 필요가 있다 (Noctor 1998). 또한 배양세포에서의 glutathione과 AsA의 역할을 규명하기 위해서는 배양세포에 인위적인 외부 환경스트레스를 처리하였을 때 이들의 전체함량 및 환원형과 산화형의 조성변화를 조사할 필요가 있으며 현재 이에 관한 실험이 진행 중이다.

## 적 요

식물배양세포의 항산화기구를 이해하기 위하여 다양한 유도조건에서 확립된 24종의 세포주를 대상으로 환원형 (GSH)과 산화형 (GSSG)의 glutathione 함량을 조사하였다. 배양세포의 전체 glutathione 함량 ( $\mu\text{g/g}$  cell fresh wt)은  $98 \pm 27$ 로 식물종에 따라 큰 차이가 없었다. 배양세포의 환원형 GSH과 산화형 GSSG의 평균함량 ( $\mu\text{g/g}$  fr wt)은 각각  $72 \pm 20$ 와  $26 \pm 10$ 을 나타내었다. 배양세포의 전체 glutathione 중에서 평균 환원형 GSH는 약 73%를 차지하였다. 황금 (*Scutellaria baicalensis*) 배양세포의 현탁배양에 따른 GSH 함량 ( $\mu\text{g/g}$  cell fresh wt)은 계대배양부터 대수증식기까지는 계속하여 감소하여 세포생장 정지기인 배양후 13일에는 84까지 감소한 후 다시 증가하였다가 배양후기에는 크게 감소하였다. 한편 GSSG의 함량 ( $\mu\text{g/g}$  cell fresh wt)은 오히려 대수증식기까지는 증가하여 배양후 13일에는 31을 나타내었고 배양후기인 25일에는 48로 오히려 산화형 GSSG의 비율이 높았다. 이러한 결과는 GSH와 GSSG의 비율이 배양세포의 생장과 항산화 기구에 중요하게 관여하고 있음을 시사한다.

사사 - 본 연구는 과학기술부 생명공학기술개발사업단 과제 (NB1170)의 연구결과이다.

## 인용문헌

- Ahn YO, Choi YH, Kwon SY, Lee HS, Kim SW, Park IH, Kwak SS (1998) Free radical scavenging activity and ascorbate content in various plant cell lines. *Kor J Plant Tiss Cult* **25**:289-293
- Ahn YO, Kwon SY, Lee HS, Park IH, Kwak SS (1999) Biosynthesis and Metabolism of Vitamin C in suspension culture of *Scutellaria baicalensis*. *J Biochem Mol Biol* **32**:451-455
- Alscher RG (1989) Biosynthesis and antioxidant function of

- glutathione in plants. *Physiol Plant* 77:457-464
- Alscher RG, Hess JL** (1993) Antioxidants in higher plants. CRC Press, Boca Raton, FL
- Asada K** (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50: 601-639
- Foyer CH, Halliwell B** (1976) The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplast: A proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta* 133:21-25
- Foyer CH, Lopez-Delgado H, Dat JF, Scott IM** (1997) Hydrogen peroxide and glutathione associated metabolism of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiol Plant* 100:241-254
- Griffith OW** (1980) Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Ann Biochem* 106:207-212
- Huh GH, Lee SJ, Bae YS, Liu JR, Kwak SS** (1997) Molecular cloning and characterization of cDNAs for anionic and neutral peroxidases from suspension cultured-cells of sweet potato 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
- Inze D, Van Montagu M** (1995) Oxidative stress in plants. *Curr Opin Biotechnol* 6:153-158
- Jang MS, Huh GH, Kim SW, Park IH, Liu JR, Kwak SS** (1997) Comparison of catalase and other antioxidant enzyme activities in various plant cell lines. *Kor J Plant Tiss Cult* 23:157-160
- Kim KY, Huh GH, Lee HS, Kwon SY, Hur Y, Kwak SS** (1999) Molecular characterization of cDNAs for two anionic peroxidases from suspension cultures of sweet potato. *Mol Gen Genet* 261:941-947
- Kim SK, Kwak SS, Jung KH, Min SR, Park IH, Liu JR** (1994) Selection of plant cell lines for high yields of peroxidase. *Kor Biochem J* 27:132-137
- 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 sweet potato. *Phytochemistry* 43:565-568
- Lee HS, Kim KY, You SH, Kwon SY, Kwak SS** (1999) Molecular characterization and expression of a cDNA encoding copper/zinc superoxide dismutase from cultured cells of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Mol Gen Genet* 262:807-814
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473-497
- Noctor G** (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Ann Rev Plant Physiol Mol Biol* 49:249-279
- Schenk FV, Hildebrandt AC** (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell culture. *Can J Bot* 50:199-204
- Smith IK** (1985) Stimulation of glutathione synthesis in photorespiring plants by catalase inhibitors. *Plant Physiol* 79:1044-1047
- You SH, Kim SW, Kim SH, Liu JR, Kwak SS** (1996) Selection and isozyme analysis of plant cell lines for high yields of superoxide dismutase. *Kor J Plant Tiss Cult* 23:103-106
- Yun BW, Huh GH, Lee HS, Kwon SY, Jo JK, Kim JS, Cho KW, Kwak SS** (2000) Differential resistance to methyl viologen in transgenic tobacco plants that express sweet potato peroxidases. *J Plant Physiol* (in press)

(접수일자 1999년 12월 17일)