

Mitomycin C 유도 소핵 생성 유발에 대한 배추김치 및 부추김치 추출물의 마우스 말초혈에서의 억제 효과

류재천* · 박건영¹

*서울시 성북구 하월곡동 39-1, 한국과학기술연구원, 독성연구실
¹부산시 금정구 장전동 산30, 부산대학교, 식품영양학과

Anticlastogenic Effect of Baechu (Chinese cabbage) Kimchi and Buchu (leek) Kimchi in mitomycin C-induced micronucleus formations by supravital staining of mouse peripheral reticulocytes

Jae-Chun Ryu* and Kun-Young Park¹

*Toxicology Laboratory, Korea Institute of Science and Technology, PO Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea
¹Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, 30 Jang Jun-dong, Keum Jung-ku, Pusan 609-735, Korea

(Received, February 26, 2001 / Accepted, March 24, 2001)

ABSTRACT: Kimchi is a major Korean traditional fermented food, as a supplying source of vitamins and minerals which is prepared with various vegetables and condiments such as red pepper, garlic and salted fish etc. There are many types of Kimchi depending on the ingredients and preparation methods used. To investigate the clastogenicity and anticlastogenicity of Baechu (Chinese cabbage) Kimchi and Buchu (leek, *Allium odorum*) Kimchi in mouse, it was performed acridine orange supravital staining of micronucleus (AOSS-MN) assay using mouse peripheral reticulocytes. Baechu Kimchi and Buchu Kimchi were cultivated by organic agricultural technique, and Kimchi samples were prepared by methanol extraction and lyophilization. First of all, it was studied the clastogenicity of two Kimchi samples themselves (250-1,000 mg/kg) after oral administration in mouse. And also to study the anticlastogenic effect of oral administration of Kimchi samples, mitomycin C (MMC, 1 mg/kg, i.p.) was used as micronucleus inducing agent in this study. Dosing scheme was performed as simultaneous (co-treatment), 3 hr before (pre-treatment) and 3 hr after (post-treatment) with MMC treatment. Two Kimchi samples in the range of 250-1,000 mg/kg did not reveal any clastogenic effect in AOSS-MN assay in mouse. They also revealed anticlastogenic effects in post-treatment of Baechu Kimchi (1,000 mg/kg), and in pre-treatment of Buchu Kimchi (500 and 1,000 mg/kg) with statistical significance. The anticlastogenic effect revealed 1 and 6 hr after treatment of Baechu Kimchi, and Buchu Kimchi with 3 and 6 hr pretreatment. Consequently, it is suggested that antimutagenic and anticlastogenic mechanisms of Baechu and Buchu Kimchi in vivo attributed to spindle formation and kinetic behavior of mutagens such as absorption and metabolism etc.

Keywords : Baechu (Chinese cabbage) Kimchi, Buchu (leek) Kimchi, anticlastogenicity, peripheral reticulocyte, supravital staining, micronucleus, mouse

서 론

김치는 비타민과 무기질의 중요한 공급원으로써 신선한 재료를 얻을수 없는 겨울철을 대비하여 소금에 절이고 마늘, 생강, 고추, 파, 젓갈등의 양념을 넣어 발효시킨 우수한 한국인의 전통발효식품의 하나이다. Park 등(1995, 1998)의 보고에 의하면, 배추 김치(Choi and Park, 1998)는 물론 부추김치(Lee et al., 1996)등의 주재료가 녹황색 채소라는

점과 특히 발효과정에서 생성되는 젖산균과 유기산, 식이섬유에 의한 정장작용 및 종양세포의 증식억제 및 면역계의 활성화로 암 예방효과와 항암효과뿐만 아니라 고혈압, 동맥경화, 당뇨에도 효과적인 것으로 알려져 있다(Hosono et al., 1990; Park et al., 1995; Cheigh and Park, 1994). 또한 김치에는 플라보노이드, 카로틴등의 여러 생체 조절 영양소들이 있어 항산화, 면역증강, 항암효과등이 보고되고 있다(Park et al., 1995, 1998; Choi et al., 1997; Hwang et al., 1997).

최근에는 기존의 고전적인 독성평가기법에서 진일보한 세

*To whom correspondence should be addressed

포나 분자수준의 독성평가방법이 개발되어 소개(Ryu *et al.*, 1999)되고 있다. 특히 cell level에서 DNA손상을 측정하는 single cell gel electrophoresis(comet assay)(Singh *et al.*, 1994; Ryu *et al.*, 1997; Tice *et al.*, 2000), mouse lymphoma thymidine kinase forward gene mutation (Clive *et al.*, 1983; Sawyer *et al.*, 1985; Ryu *et al.*, 1999a), FISH(fluorescence *in situ* hybridization)(Hayashi *et al.*, 1994b), PRINS(primed *in situ* hybridization)(Abbo *et al.*, 1993) 그리고 *lac I*(Big Blue)(Kohler *et al.*, 1991; Ryu *et al.*, 1998b, c, 1999b, 2000, 2001) 나 *lac Z*(Muta Mouse)(Suzuki *et al.*, 1993) gene을 지표로 한 transgenic model 등이다. 또한 포유동물인 설치류의 골수내 적혈구의 분화과정 중에 형성되는 비정상적인 염색체성분인 소핵의 유도를 지표로하는 cytogenetic 시험법으로 다염색적혈구(polychromatic erythrocytes)를 이용한 소핵시험법(micronucleus assay)이 Schmid(1975)에 의해 개발되어 소개된 이후, 변이원성을 평가하는 *in vivo* 시험법으로 전세계적으로 이용되어 오고 있었고, 골수세포 대신 말초혈액을 이용한 시험법이 MacGregor(1980) 등에 의해 소개되었으나, 미성숙적혈구의 수가 적은 것과 Giemsa 염색법으로는 미성숙적혈구와 성숙적혈구의 구분이 쉽지 않은 이유로 널리 사용되지 못하였다(Tinwell and Ashby, 1989). 그러나 최근 Hayashi등(1983, 1990, 1992, 1994a, b, c)에 의해 말초혈액 내의 망상적혈구(reticulocyte)를 acridine orange로 형광염색하는 초생체염색법(Supravital Staining Method)이 소개되어 Giemsa 염색을 통한 골수세포 대신 말초 혈액세포의 유용성이 실험적 검증을 통하여 입증되었다(Hayashi *et al.*, 1990, 1992; Ryu *et al.*, 1998a; Wakata *et al.*, 1998; Exerson *et al.*, 1995; Heo *et al.*, 1997).

본 연구에서는 한국인의 식생활에서 빼 놓을수 없는 김치 중에서 유기농법으로 재배한 배추김치와 부추김치를 가지고, *in vivo*에서의 항 돌연변이 효과를 관찰하기 위하여 가장 진보된 *in vivo* 소핵시험법인 acridine orange supravital staining micronucleus assay를 활용하여 연구하였다.

실험 재료 및 방법

시험물질 및 대조물질

본 연구에 사용된 배추 및 부추 김치 시료는 부산대학교 식품영양학과에서 유기농법에 의해 재배된 배추와 김치를 사용하여 배추김치(유기배추 100.0 g, 고춧가루 2.5 g, 마늘 1.4 g, 생강 0.6 g, 멸치젓 2.2 g, 무 13.0 g, 양파 2.0 g, 설탕 1.0 g)와 부추김치(부추 100.0 g, 고춧가루 9.0 g, 마늘 5.0 g, 생강 2.0 g, 멸치젓 13.0 g, 참쌀풀 13.0 g, 설탕

2.0 g)를 15°C에서 6일간 숙성시켜 제조하였고, pH는 각각 4.31과 4.34를 보였다. 시료는 메탄올 추출후 동결건조한 분말시료를 시험에 사용하였고 용매는 멸균증류수로 하였다. 소핵유발물질인 양성대조물질로는 mitomycin C(MMC, Sigma, Cat. No. M0503)를 주사용 증류수에 용해하여 사용하였다.

실험동물 및 검체 투여

대한실험동물에서 구입한 6 주령 ICR계 웅성 마우스를 분양받아 한국과학기술연구원 동물실험실에서 온도 27°C±2, 습도 57±5%, 형광등 명암 12시간 주기, 조도 300-600Lux의 사육환경하에서 polycarbonate(70W×240L×120H mm) cage에 6마리씩 넣어 사육하였다. 시료는 (주)삼양사의 실험동물사료를 구입하여 실험동물에 공급하였으며 상수는 자유로이 공급하였다. 분양받은 후 1주일간의 순화사육기간을 거쳐 육안으로 관찰하여 정상적인 실험동물만 시험에 사용하였다. 순화기간을 거친 모든 동물의 체중을 측정, 소정의 범위에 드는 동물을 무작위로 각 시험군에 6마리씩 배분하였고, 각 시험군의 식별은 cage별 tag표시법을 이용하였다. 양성대조군으로는 mitomycin C(MMC)를 생리식염수에 용해시켜 복강주사하였다.

시험물질의 용량은 50% 치사용량(LD₅₀)의 1/2값을 최고 용량으로 하였고, 최고 용량에 대해 공비 2로 한 낮은 두 용량을 설정하여 0.1 ml/10g body weight가 되도록 하여 경구투여하였다.

혈액채취 및 표본제작과 관찰

우선 acridine orange-coated slide의 제작은 70°C에서 미리 가열시킨 slide glass의 중앙에 증류수에 1 mg/ml농도로 녹인 acridine orange 용액 10 µl를 떨어뜨린후 유리막대로 균일하게 도말하여 건조시킨후 밀봉하여 사용할 때까지 상온에서 보관하였다. 시험물질의 소핵 유발의 최적 시간을 결정하기 위해서는 시험물질 투여 후 12시간부터 72시간까지 12시간 간격으로 마우스의 꼬리혈관으로부터 혈액 5 µl를 취하여 acridine orange-coated slide에 떨어뜨린 후 cover glass로 덮은 다음, 2시간동안 4°C에 방치하여 세포와 acridine orange가 충분히 반응하게 한다. 만들어진 slide는 영구적으로 보존할 수는 없지만, 플라스틱 밀봉 팩에 넣어 여러 날 정도 냉장보관이 가능하고, 또한 deep freezer에서는 몇 주정도의 보관이 가능하다. 형광현미경으로 관찰시 blue excitation(e.g. 490 nm)과 yellow에서 orange barrier filter(e.g. 515 nm long pass)의 혼합된 filter를 사용하였다. 현미경의 배율 10×100배에서 관찰하며 망상적혈구는 I형에서 III형까지 미성숙 망상적혈구를 2000개를 계수하며 그중 소핵을 지니는 망상적혈구를 계수하였다.

김치시료에 대한 소핵시험

배추 및 부추김치시료는 멸균증류수에 용해시켜 1,000 mg/kg을 최고용량으로 경구 투여하였다. 소핵시험에서는 두 김치시료에 대해 각각 250, 500, 1,000 mg/kg의 세 용량에 대해 1회 경구 투여 한 후 소핵유발능을 관찰하였다. 김치 시료에 대한 혈액 채취의 최적시간을 결정하기 위해 시험 물질의 최고용량인 1,000 mg/kg을 경구 투여하여 36시간, 48시간 및 60시간 후에 꼬리 정맥으로부터 혈액을 채취하여 표본을 제작하였다. 500 mg/kg과 250 mg/kg의 용량에 대해서는 1회 경구 투여한 후, 최고 용량에 대해 가장 높은 소핵 유발 빈도를 나타내는 시간에서 혈액을 채취하였다. 시험 물질을 투여하지 않은 6마리의 mouse에 대해 혈액을 채취하여 음성 대조군으로 하고, 양성대조군으로는 MMC의 1 mg/kg 용량을 복강 투여 하여 48시간 후에 혈액을 채취하였다.

김치의 MMC로 유도된 소핵형성의 억제효과

MMC로 유도된 소핵생성에 미치는 영향을 연구하기 위해, 각 김치시료의 250, 500 그리고 1000 mg/kg의 각 용량을 MMC 1 mg/kg 용량과 세가지 방법으로 병행 투여하였다. 즉, MMC 투여의 3시간 전 투여(pre-treatment)와 동시투여(co-treatment), 그리고 3시간 후 투여(post-treatment)로 하였고, 혈액의 채취는 MMC 투여시간을 기준으로 48시간이 경과한 후 실시하였다.

통계학적 평가

소핵시험에 대한 결과는 Hayashi 등(1994a)과 Lovell (1989)의 방법에 따라 3단계의 통계처리법을 적용하여 결과를 분석하였다. 소핵을 함유하는 망상적혈구(micronucleated reticulocyte-MNRET)의 빈도를 계수하여, 1단계에서는 Hayashi 등에 의해 축적되어진 음성 및 양성대조군에 대한 배경 data와 비교해 보았고, 2단계에서는 MMC에 대한 소핵유발 억제 효과에 대한 연구 결과는 MMC 투여군을 대조군으로 하여 각 김치 시료의 병행투여군을 시험군으로 하여 음성대조군의 결과와 이항분포를 통하여 유의성을 평가하였고(유의수준 $p < 0.05$), 여기에서 유의한 차이를 나타내면 3단계로서 시험물질처리군의 결과에 대해서 용량반응관계가 있는가를 Cochran Armitage경향검정을 통하여 유의성을 평가하였다.

결과 및 고찰

김치시료에 대한 소핵시험

각 시료를 최고용량인 1,000 mg/kg을 1회 경구투여하여

Table 1. Micronucleus assay in peripheral blood of male ICR mouse by Baechu (Chinese Cabbage) Kimchi

	Route	Dose (mg/kg)	Number of mouse	Sampling time(hr)	%MNRETa (Mean±S.D.)
^b Negative control		·	6	·	0.22±0.06
MMC	i.p.	1	6	48	3.77±0.77
		1000	6	36	0.22±0.13
Baechu Kimchi	p.o.	1000	6	48	0.20±0.06
		1000	6	60	0.29±0.14
		500	6	60	0.28±0.06
		250	6	60	0.21±0.06

^a 2000 Reticulocytes per mouse were counted.

^b Peripheral blood was obtained from non-treated mice.

MNRET : micronucleated reticulocyte, MMC : mitomycin C
i.p. : intraperitoneal administration, p.o. : oral administration.

Table 2. Micronucleus assay in peripheral blood of male ICR mouse by Buchu (leek) Kimchi

	Route	Dose (mg/kg)	Number of mouse	Sampling time (hr)	%MNRETa (Mean±S.D.)
^b Negative control		·	6	·	0.22 ± 0.06
MMC	i.p.	1	6	48	4.04±0.98
		1000	6	36	0.24±0.07
Buchu Kimchi	p.o.	1000	6	48	0.28±0.11
		1000	6	60	0.21±0.12
		500	6	48	0.28±0.08
		250	6	48	0.24±0.07

^a 2000 Reticulocytes per mouse were counted.

^b Peripheral blood was obtained from non-treated mice.

MNRET : micronucleated reticulocyte, MMC : mitomycin C
i.p. : intraperitoneal administration, p.o. : oral administration.

36, 48, 60 시간 후 마우스의 꼬리정맥으로부터 혈액을 채취하여 소핵의 유발빈도를 계수하였다. 그 결과 배추김치는 60시간(Table 1), 부추김치는 48시간(Table 2)을 최적 소핵 유발시간으로 결정하였다. 최고용량에 대해 공비 2로 설정된 500, 250 mg/kg의 용량에 대해 결정된 최적 시간에서의 혈액을 채취하여 유발된 소핵을 계수하였다. 각각의 결과에 대해 이항 분포를 통한 검정(유의수준 $p < 0.05$)을 수행하였고, 각 시험군은 음성 대조군에 비해 통계학적 유의성이 없는 것으로 나타났으며, 이에 따라 본 시험 조건하에서 배추 (Table 1) 및 부추김치 (Table 2)는 250-1,000 mg/kg용량에서 소핵을 유발하지 않는 것으로 판정되었다.

MMC로 유도된 마우스에서의 김치시료의 소핵형성 억제 효과

배추 및 부추김치의 250, 500 그리고 1000 mg/kg의 각 용량을 MMC 1 mg/kg 용량과 병행 투여하였다. 병행 투여

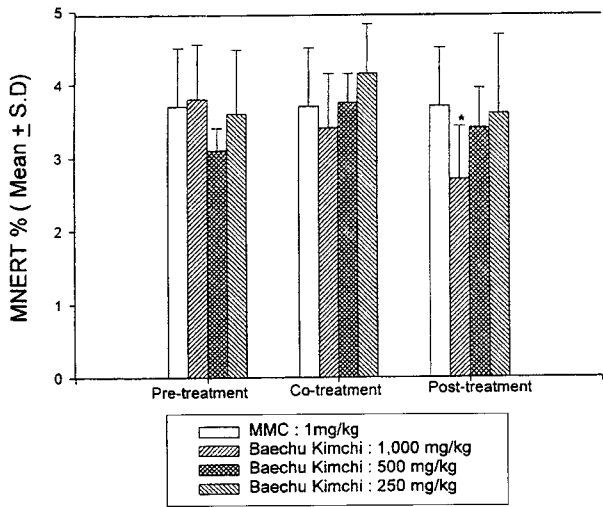


Fig. 1. Anticlastrogenic effect of Baechu (Chinese Cabbage) Kimchi in MMC-induced mice.
*p<0.05.

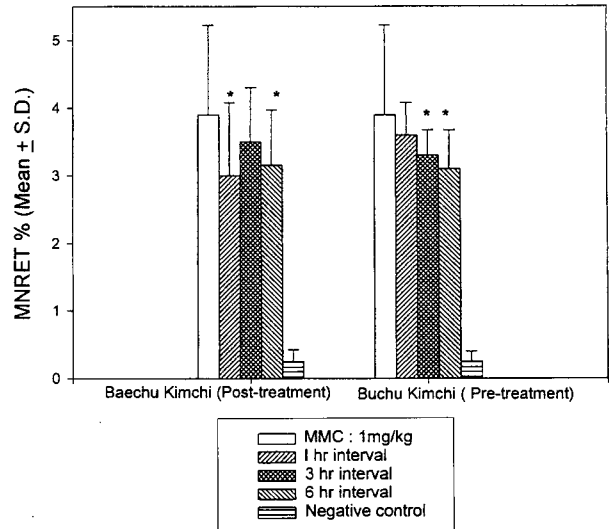


Fig. 3. Time-dependent anticlastrogenic effect of Kimchi samples in MMC-induced mice. Baechu Kimchi and Buchu Kimchi samples were administered p.o., 1,000 mg/kg and 500 mg/kg, respectively.
*p<0.05.

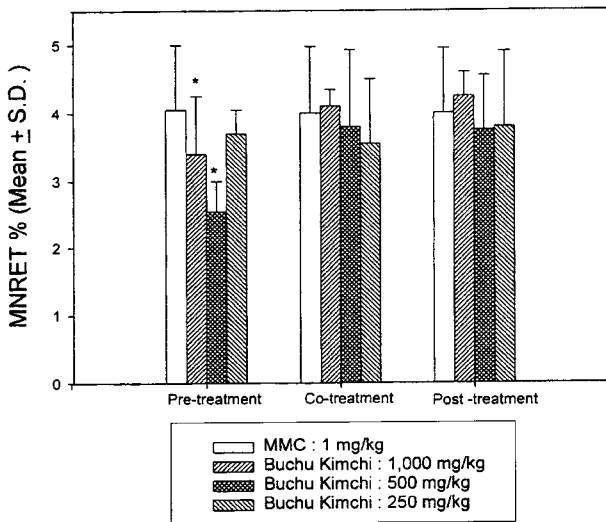


Fig. 2. Anticlastrogenic effect of Buchu (leek) Kimchi in MMC-induced mice.
*p<0.05.

는 MMC 투여의 3시간 전 투여(post-treatment), 동시투여(co-treatment), 그리고 3시간 후 투여(post-treatment)로 하였다.

Fig. 1에서 볼 수 있듯이 배추김치의 경우는 MMC 투여 후 3시간 경과시 경구투여한 post-treatment 군의 최고용량인 1000 mg/kg 군에서 유의성 있는 소핵억제 효과를 나타내었고, 전처리나 동시처리군에서는 통계학적으로 유의성 있는 억제효과를 관찰할수 없었다.

부추김치의 경우(Fig. 2)는 배추김치와는 다르게 3시간 전

처리군(pre-treatment)의 1,000 mg/kg과 500 mg/kg의 경구 투여시 MMC의 소핵유도를 유의성있게 억제하는 것으로 나타났다. 특히 500 mg/kg의 투여군이 현저한 소핵 억제 유발능을 나타냄을 알 수 있었고, 동시처리나 후처리군에서는 유의성을 관찰할 수 없었다.

위와 같은 결과를 바탕으로 김치시료의 시간 의존적인(time-dependent) 소핵 억제효과를 확인하고자, 후처리에 유의성을 보인 배추김치에 대해서는 1000 mg/kg을 MMC 투여 후 1시간(+1 hr), 3시간(+3 hr), 그리고 6시간(+6 hr) 경과후 1회 경구투여하여 소핵 억제 효과를 관찰하였다. 또한 전처리에 유의성을 보인 부추김치의 경우는 최고 소핵 생성억제 용량인 500 mg/kg을 MMC 투여의 1시간(-1 hr), 3시간(-3 hr), 그리고 6시간(-6 hr) 전에 1회 경구 투여하여 소핵 유발억제능을 관찰하였다. 그 결과, Fig. 3에서 볼 수 있듯이 배추김치는 MMC 1 mg/kg을 복강 투여후 시료를 1 시간후, 6시간 후 1000 mg/kg의 용량으로 경구 투여한 군에서 통계학적 유의성(p<0.05)을 나타내며 MMC의 소핵 유발능이 감소함을 확인 할 수 있었고, 부추김치의 경우는 MMC의 복강 투여의 3시간과 6시간 전에 경구 투여시 유의성 있는 소핵 유발능의 감소 효과를 나타내었다.

이러한 억제효과는 in vivo 소핵시험법으로서 가장 진보된 시험법인, mouse의 말초혈을 이용한 in vivo supravital staining micronucleus assay를 이용한 위의 결과를 통해, 배추 및 부추김치 시료가 강력한 돌연변이 유발물질인 MMC에 의한 소핵유발효과를 억제함을 확인 할 수 있었고,

특히 배추김치의 경우는 돌연변이물질의 섭취후에 효과가 있었으며, 부추김치의 경우는 돌연변이 물질투여 전에도 효과가 있어, 배추 및 부추의 각 구성성분중의 차이에 의한 효과는 물론 각 김치의 효율적인 섭취를 통해 김치의 항 돌연변이 및 항암효과를 극대화시킬수 있으며, 어떤 성분이 MMC유도에 의한 소핵생성에 영향을 미치는지에 대해 조상 전래의 여러종류의 김치에 관한 체계적인 연구를 통해 항 돌연변이효과를 예측할 수 있는 자료로 제시하여 국민건강생활 증진을 위한 기초자료로도 활용될 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

- Abbo, S., Dunford, R.P., Miller, T.E., Reader, S.M. and King, I.P. (1993): Primer-mediated *in situ* detection of the B-hordein gene cluster on barley chromosomes 1H. *Genetics*, **90**: 11821-11824.
- Cheigh, H.-S. and Park, K.-Y. (1994): Biochemical, Microbiological, and nutritional aspects of Kimchi (Korean Fermented Vegetable Products), *Critical Rev. Food Sci. Nutrition*, **34**: 175-203.
- Choi, M.-W., Kim, K.-H., Kim, S.-H. and Park, K.-Y. (1997): Inhibitory effects of Kimchi extracts on carcinogen-induced cytotoxicity and transformation in C3H/10T1/2 cells, *J. Food Sci. Nutr.*, **2**: 241-245.
- Choi, W.-Y. and Park, K.-Y. (1998): Brining property and antimutagenic effects of organic Chinese cabbage Kimchi, *J. Food Sci. Nutr.*, **3**: 287-291.
- Clive, D., McCuen, R., Spector, J.F.S., Piper, C. and Mavournin, K.H. (1983): Specific gene mutations in L5178Y cells in culture : A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gen-Tox Program. *Mutation Res.*, **115**: 225-251.
- Exerson, G. L., Bryant, M. F., Kwanyuen, P. and Kigerman, A. D. (1995): Bleomycin sulfate-induced micronuclei in Human, rat, and mouse peripheral blood lymphocytes, *Environ. Mol. Mutagen.*, **25**: 31-36.
- Hayashi M., T. Sofuni, and M. Ishidate Jr. (1983): An application of acridine orange fluorescent staining to the micronucleus test, *Mutation Res.*, **120**: 241-247.
- Hayashi, M., Morita, T., Kodama, Y., Sofuni, T. and Ishidate, M. Jr. (1990): The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutation Res.*, **245**: 245-249.
- Hayashi, M., Kodama, Y., Awogi, T., Suzuki, T., Asita, A.O. and Sofuni, T. (1992): The micronucleus assay using peripheral blood reticulocytes from mitomycin C- and cyclophosphamide-treated rats. *Mutation Res.*, **278**: 209-213.
- Hayashi, M., Hashimoto, S., Sakamoto, Y., Hamada, C., Sofuni, T. and Yoshimura, I. (1994a): Statistical analysis of data in mutagenicity assays : Rodent micronucleus assay. *Environ. Health Perspec. Suppl.*, **102**, Suppl. 1, 49-52.
- Hayashi, M., Maki-Paakkanen, J., Tanabe, H., Honma, M., Suzuki, T., Matsuoka, A., Mizusawa, H. and Sofuni, T. (1994b) : Isolation of micronuclei from mouse blood and fluorescence *in situ* hybridization with a mouse centromeric DNA probe. *Mutation Res.*, **307**: 245-251.
- Hayashi, M. and Sofuni, T. (1994b): The micronucleus assay with rodent peripheral blood and acridine orange supravital staining. In *Chromosomal alterations* (edited by G. Obe and A.T. Natarajan), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 203-213.
- Hayashi M., R. R. Tice, J. T. MacGregor, D. Anderson, D. H. Blakey, M. Kirsh-Volders, F. B. Oleson Jr, F. Pacchierotti, F. Romagna, H. Shimada, S. Sutou, and B. Vannier (1994c): *in vivo* rodent erythrocyte micronucleus assay, *Mutation Res.*, **312**: 293-304.
- Heo, M. Y., Kim, J.H. and Ryu, J.-C., (1997): Anticlastogenicity of beta-carotene and galangin using *in vivo* supravital staining micronucleus test. *Environ. Mutagens & Carcinogens*, **17**: 92-96.
- Hosono, A., Wardojo, R. and Otani, H. (1990): Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamine, *Agric. Biol. Chem.*, **54**: 1639.
- Hwang, S.-Y., Hur, Y.-M., Choi, Y.-H., Rhee, S.-H., Park, K.-Y. and Lee W.-H. (1997): Inhibitory effect of Kimchi extracts on mutagenesis of aflatoxin B1, *Environ. Mut. Cacinog.*, **17**: 133-137.
- Kohler, S.W., Provost, G.S., Fieck, A., Kretz, P.L., Bullock, W.O., Sorge, J.A., Putman, D.L. and Short, J.M. (1991): Spectra of spontaneous and mutagen-induced mutations in the *lac I* gene in transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**: 7958-7962.
- Lee, K.-I., Jung, K.-O., Rhee, S.-H., Suh, M.-J. and Park, K.-Y. (1996): A study on Buchu(Leek, *Allium odorum*) Kimchi-changes in chemical, microbial and sensory properties, and antimutagenicity of Buchu Kimchi during fermentation, *J. Food Sci. Nutr.*, **1**: 23-29.
- Lovell, D.P., D. Anderson, R. Albanese, G.E. Amphlett, G. Clare, R. Ferguson, M. Richold, D. G. Papworth, and J. R. K. Savage(1989): Statistical analysis of *in vivo* cytogenetic assays. In *Statistical evaluation of mutagenicity test data* (edited by D.J. Kirkland), Cambridge university press, 184-232.
- MacGregor J.T., C.M. Wehr, and D.H. Gould (1980): Clastogen-induced micronuclei in peripheral blood erythrocytes: The basis of an improved micronucleus test. *Environ Mutagen*, **2**: 509-514.
- Park, K.-Y., Baek, K.-A, Rhee S.-H. and Cheigh H.-S., (1995): Antimutagenic effect of Kimchi, *Foods & Biotech.*, **4**: 141-145.
- Park, K.-Y., Cho, E.-J. and Rhee S.-H., (1998): Increased antimutagenic and anticancer activities of Chinese cabbage Kimchi by changing kinds and levels of sub-ingredient, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**: 625-632.
- Ryu, J.-C., Choi, Y.-J., Kim, Y.-J., Kim, H.-T. and Bang, H.-A. (1999): Recent advanced toxicological methods for environmental hazardous chemicals, *Kor. J. Environ. Toxicol.*, **14**: 1-12.
- Ryu, J.-C., Kim, H.-J., Seo, Y.-R. and Kim, K.-R. (1997): Single cell gel electrophoresis (comet assay) to detect DNA damage and apoptosis in cell level. *Environ. Mutagens & Carcinogens*, **17**: 71-77.
- Ryu, J.-C., Kim, K.-R., Kim, H.-J., Myung, S.-W., Kim, G.-H.,

- Lee, M.-J. and Chang, I.-M. (1998a): Genotoxicity Study of Bojungchisup-tang, an oriental herbal decoction-in vitro chromosome aberration assay in chinese hamster lung cells and in vitro supravital-staining micronucleus assay with mouse peripheral reticulocytes, *Arch. Pharm. Res.*, **21**(4): 391-397.
- Ryu, J.-C., Youn, J.-Y., Kim, Cho, K.-H. and Chang, I.-M. (1998b): Transgenic Mutagenesis assay to elucidate the mechanism of mutation in gene level, *Environ. Mutagen & Carcinogen*, **18**(1): 1-7.
- Ryu, J.-C., Youn, J.-Y., Cho, K.-H. and Chang, I.-M. (1998c): Mutation spectrum in *lac I* gene of transgenic Big Blue cell line following to short term exposure 4-nitroquinoline N-oxide, 29th Environmental Mutagen Society, Anaheim, CA, March 21-26, *Environ. Mol. Mutagenesis*, Vol. **31**, Suppl. 29, p. 16.
- Ryu, J.-C., Kim, K.-R. and Choi, Y.-J. (1999a) : in vitro mouse lymphoma thymidine kinase (*tk+/-*) gene forward mutation assay in mammalian cells, *Environ. Mutagen & Carcinogen*, **19**(1): 7-13.
- Ryu, J.-C., Youn, J.-Y., Kim, Y.-J., Kwon, O.-S., Y.-S. Kim, H.-T., Cho, K.-H. and Chang, I.-M. (1999b): Mutation spectrum of 4-nitroquinoline N-oxide in the *lac I* transgenic Big Blue Rat2 cell line, *Mutation Res.*, **445**: 127-135.
- Ryu, J.-C., Kim, Y.-J., Kim, H.-T. and Chai, Y.-G. (2000) : Genotoxicity Assessment of atrazine in the Big Blue rat2 *lacI* transgenic cell line, 31st Environmental Mutagen Society, New Orleans, LA, April 8-April 13, *Environ. Mol. Mutagenesis*, Vol. **35**, Suppl. 31, p. 52 (No. 176).
- Ryu J.-C., Kim Y.-J. and Chai Y.-G. (2001): Mutation spectrum of 1,2-dibromo-3-chloropropane, an endocrine disruptor, in the *lac I* transgenic Big Blue Rat2 fibroblast cell line, *Carcinogenesis*, submitted.
- Sawyer, J., Moore, M.M., Clive, D. and Hozier, J. (1985): Cytogenetic characterization of the L5178Y TK+/- 3.7.2C mouse lymphoma cell line. *Mutat. Res.*, **147**: 243-253.
- Schmid, W. (1975): The micronucleus test. *Mutat. Res.*, **31**: 9-15.
- Singh, P.N., Stephens, R.E. and Schneider, E.L. (1994): Modification of alkaline microgel electrophoresis for sensitive detection of DNA damage. *Int. J. Radiation Biol.*, **66**: 23-28.
- Suzuki, T., Hayashi, M., Sofuni, T. and Myhr, B.C. (1993): The concomitant detection of gene mutation and micronucleus induction by mitomycin C *in vivo* using *lac Z* transgenic mice. *Mutat. Res.*, **285**: 219-224.
- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.-C. and Sasaki, Y.F. (2000): Single cell gel/comet assay : Guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing., *Environ. Mol. Mutagenesis*, **35**(3): 206-221.
- Tinwell, H. and Ashby, J. (1989): Comparison of acridine orange and giemsa stains in several mouse bone marrow micronucleus assays - including a triple dose, *Mutagenesis*, **6**: 476-481.
- Wakata, A., Miyamae, Y., Sato, S., Suzuki, T., Morita, T., Asano, N., Awogi, T., Kondo, K., and Hayashi, M. (1998): Evaluation of the Rat Micronucleus Test with bone marrow and peripheral blood : summary of the 9th collaborative study by CSGMT/JEMS · MMS. *Environ Mol Mutagen.*, **32**: 84-100.