

# 효모 유래 셀레늄 펩타이드의 인간 섬유아세포에 대한 UVB 보호효과

이향복<sup>1</sup> · 이정옥<sup>1</sup> · 호앙구엔<sup>1</sup> · 윤선아<sup>1</sup> · 엄지민<sup>1</sup> · 이유리<sup>1</sup> · 문형인<sup>2</sup> · 정진호<sup>2</sup> · 김은기<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>인하대학교 생물공학과, <sup>2</sup>서울대학교 병원 피부과

## UVB Protective Effect of Yeast Originated Selenium Peptide on Fibroblast

Hyang-Bok Lee<sup>1</sup>, Jung-Ok Lee<sup>1</sup>, Dung H. Nguyen<sup>1</sup>, SunA Yoon<sup>1</sup>, Jimin Um<sup>1</sup>, Yu Ri Lee<sup>1</sup>, Hyung-In Moon<sup>2</sup>, Jin Ho Chung<sup>2</sup> and Eun-Ki Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

<sup>2</sup>Department of Dermatology, Seoul National University College of Medicine and Institute of Dermatological Science, Seoul National University Hospital, Seoul 110-744, Korea

**Abstract** Selenium-containing peptide (Selenium peptide) was produced by autolysis of *Saccharomyces cerevisiae* which was cultured in inorganic selenium-supplemented medium. Selenium peptide showed antioxidant activity and protective effects on UVB irradiated human fibroblast. Minimal toxicity of selenium peptide was observed whereas selenium nitrate exhibited cell toxicity as low as  $10^{-9}$  M. Selenium peptide also increased human fibroblast growth, procollagen type I and also decreased MMP-1 (matrix metalloprotease-1). This result showed the potential of selenium peptide as a nontoxic antioxidant.

**Keywords:** Antioxidant, Selenium peptide, UV protection, Yeast autolysis, MMP-1 (matrix metalloprotease-1)

### 서 론

셀레늄은 필수미량원소로서 1957년에 발견된 항산화 효소인 glutathione peroxidase (GPx)의 활성 자리에 존재하는 셀레노시스테인이 시스테인의 황 자리에 셀레늄이 들어간 형태로 존재한다는 것이 알려진 이후 그 중요성이 부각되게 되었다 [1-3]. 셀레늄을 함유하는 단백질은 대부분 항산화 기작과 관련되어지며 glutathione peroxidase (GPx), thioredoxin reductase (TR), selenoprotein P, selenoprotein W, selenoprotein R 등이 있다.

셀레늄은 인체 내에서 항산화 능력뿐만 아니라 면역기능 개선, 암 예방 효과, 암 전이 억제에 역할을 하며 [4-6], 피부

를 자외선과 같은 산화적 스트레스로부터 손상되는 것을 보호한다고 알려져 있다 [6-7]. 피부에 존재하는 selenoprotein은 자외선에 의해 유도된 자유 라디칼 제거한다. 또한 세포 내 selenoprotein 발현 양의 차이는 자외선에 의한 감수성으로 나타나며 셀레늄을 공급하였을 경우 자외선에 의한 손상이 감소되고 apoptosis 또한 감소되면서 피부에 대한 보호 효과를 나타낸다 [8-9].

셀레늄은 형태에 따라 생물학적 이용도가 달라지며, Selenite나 selenate 같은 무기 형태는 소화 흡수 과정에서 산화 촉진제로 작용할 수 있고 독성이 강해 생체 이용성이 낮은 특성이 있다. 그러나 셀레노메티오닌 같은 유기 셀레늄은 독성이 낮고 이용 측면에서 매우 유용하다고 할 수 있다. 채소나 어류, 효모를 통해 합성되는 유기 셀레늄은 대부분 셀레노메티오닌으로 이는 단백질의 구성성분으로 체내에 흡수된 후 일단 단백질에 저장되었다가 서서히 메티오닌 대사과정을 거치면서 셀레늄을 공급하게 되고 남은 셀레늄은 urine

### \*Corresponding author

Tel: +82-32-860-7514, Fax: +82-32-872-4046

e-mail: ekkim@inha.ac.kr

이나 호흡을 통해 배출된다. 따라서 셀레늄은 셀레노메티오닌 형태로 섭취되어야 하는데 그 중 효모는 무기 셀레늄을 유기 형태 (80% 셀레노메티오닌)로 전환시키므로 매우 유용하게 이용할 수 있다. 셀레노메티오닌 또한 GPx와 같은 활성이 보고되어 있고, 무기 셀레늄보다 독성이 적지만 단독으로 이용 시에는 세포 독성이 있어 그 자체로서는 기능성 식품이나 화장품 원료로 사용할 수 없어 더욱 안전한 셀레늄 화합물의 개발이 필요한 실정이다 [10-11].

대표적 selenoprotein인 GPx는 항산화 효소로서 대사에서 생기는 과산화수소, 지질 과산화물 및 인지질 과산화물을 제거하고 염증반응조절, 지질과 단백질 및 DNA를 산화적 공격으로부터 보호한다. GPx의 항산화 활성은 glutathione (GSH)에 의존하는데 GPx의 활성장리에 존재하는 셀레노시스테인 (R-SeH)이 과산화물과 반응할 때는 2분자의 GSH를 이용하여 환원시키게 된다 [1]. 그러나 GPx는 84 KDa의 고분자량의 단백질이라는 것과 낮은 안정성 때문에 치료용으로 이용이 어려운 단점이 있어 GPx 모방분자에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다 [12-16].

효모는 무기 셀레늄 첨가 배지에서 셀레늄이 단백질 내에 무작위로 들어가는데 80% 정도가 셀레노메티오닌으로 전환 되므로 효모 배양을 통해 GPx 모방분자를 생산하였다. 화학적 합성이나 킬레이트 화합물의 경우 안정성과 영양적 측면에서 유용하지 않으며 풍부한 아미노산을 함유하고 단백질과 공유 결합한 셀레늄 펩타이드를 생산하기 위해서는 미생물, 특히 효모로부터 생산하는 것이 더 효과적이기 때문이다. 셀레노메티오닌이 펩타이드 내에 결합한 형태인 셀레늄 펩타이드는 단백질의 가수분해에 의해 GPx 유사 활성이 증가하며 셀레늄의 독성이 더욱 감소하고 저분자량의 펩타이드는 피부로의 경피흡수가 용이하고 풍부한 아미노산 조성으로 영양원으로서의 역할을 한다 [23].

선행결과로부터 부가적인 가수분해 효소의 첨가 없이 효모 내에 존재하는 가수분해 효소를 이용하여 자가 효소 분해법으로 생산하였고, 본 연구를 통해서 효모에서 생산한 셀레늄 펩타이드가 독성이 낮은 유기 셀레늄 공급원으로서 이용 가능하고 산화적 스트레스로부터 피부 보호능이 있는지를 측정하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 셀레늄 펩타이드의 생산

셀레늄 펩타이드의 생산을 위하여 *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 7752)는 20 ppm의 sodium selenate가 포함된 YM 배지에 접종하여, 250 rpm의 현탁배양기에서 48시간 진탕 배양하였다. 배양된 효모는 3,000 × g의 속도로 30분간 원심 분리하여 회수하고 두 차례 세척하여 효모 표면의 셀레늄을 제거한 후 ultrasonicator (Sonifer 450, Branson, USA)를 이용하여 세포를 파쇄 하였다 (duty

cycle : 28%, output control : 4.5분). 파쇄된 세포에 5% NaCl을 첨가하여 250 rpm의 속도로 50°C에서 48시간 동안 반응한 후 세포 부유물을 제거하기 위하여 3,000 × g의 속도로 30분간 원심 분리하여 상등액을 취하였다 [17-18]. 생산된 셀레늄 펩타이드 (Se-pep)의 농도는 10<sup>-9</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-5</sup> M의 농도로 준비하고 대조구로는 셀레늄을 이용하였다. 셀레늄이 포함되지 않은 배지에서 생산된 효모 펩타이드 (Y-pep)는 펩타이드의 평균분자량을 기본으로 하여 실험에 이용하였다.

### 셀레늄 펩타이드의 제조 및 분석

효모 세포의 셀레늄 함량을 측정하기 위하여 원심 분리하여 얻어진 pellet을 건조시킨 후 60% HNO<sub>3</sub>을 이용하여 60°C에서 12시간 동안 가수분해하였다. 셀레늄 단백질을 1% HNO<sub>3</sub>로 희석하여 Graphite furnace atomic absorption spectrophotometer (AAS 5EA, Analytik Jena, Germany)를 이용하여 셀레늄의 양을 측정하였다. Palladium (10 ppm)을 첨가하여 각 시료의 안정화에 이용하였다 [19-20].

생산된 셀레늄 펩타이드의 분자량 측정을 위하여 Waters사의 Ultrahydrogel 250 gel permeation chromatography (GPC) 컬럼 (1 mL/min, 10 mM potassium phosphate buffer, pH 7.0)을 이용하였으며, 평균 분자량은 다음과 같은 방법으로 계산하였다.

$$\Sigma (MW \times \text{conc.}) / \Sigma \text{conc.}$$

### Glutathione peroxidase (GPx) 활성측정

Glutathione peroxidase 활성은 Paglia와 Lawrence [21]의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료 (0.05 mL)를 50 mM potassium phosphate 완충용액 (pH 7)에 1 mM EDTA, 1 mM NaN<sub>3</sub>, 0.2 mM NADPH, 1 mM glutathione, 1 U/mL glutathione reductase를 혼합한 용액에 첨가하여 37°C에서 10분간 반응 후 0.05 mL의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5 mM)를 첨가하여 340 nm에서 5분간 흡광도의 감소를 측정하였다. 1 M NADPH 소비량을 1 Unit으로 하였으며, 단백질 정량은 BCA (bicinchoninic acid) 방법을 이용하였다.

### 인간 피부 섬유아세포의 초대배양

인간 피부 섬유아세포의 초대배양은 성인의 foreskin으로부터 얻어 10% fetal calf serum, 2 mM glutamine, and penicillin (100 U/mL), streptomycin (100 µg/mL)이 포함된 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 섬유아세포는 90% 정도 자라면 계대 배양하였고, 세포는 5 세대 이후부터 실험에 이용하였다.

## 세포 생존율 측정

세포의 생존율 측정을 위하여 시료 처리 혹은 UV 조사 후에 [22] 배양중인 세포에 MTT 용액 (5 mg/mL)을 20  $\mu$ L 첨가하여 37°C에서 배양하였다. 4시간 후 상등액을 제거하고 200  $\mu$ L의 dimethylsulfoxide를 첨가하여 formazan 생성물을 녹이고, 이를 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 실험결과는 대조구 대비 흡광도를 percentage로 표현하였으며, 6반복 시행하였다. 대조구로는 셀레늄이 포함되지 않고 GPx 유사활동이 없는 효모 펩타이드를 이용하였다.

## UV 조사 및 시료의 처리

UV light source는 285-350 nm (peak : 310-315 nm)의 emission spectrum을 갖는 F75/85W/UV21 fluorescent sun lamps를 이용하였다.

인간 피부섬유아세포는 10 cm culture dishes (Falcon Lincol Park, NJ)에 잘 때까지 배양하고, serum이 없는 배지를 이용하여 24시간 배양 후 phosphate-buffered saline으로 교체 후 UV (0-100 mJ/cm<sup>2</sup>)을 조사하였다. UV 조사 후 세포는 phosphate-buffer saline을 이용하여 세척하고 배지를 첨가하고 시료 처리 혹은 무처리하여 72시간동안 배양하였다 [22].

## 단백질 발현양 측정

세포 상등액 추출물은 12,000  $\times$  g의 속도로 10분간 원심 분리하여 단백질을 얻어 westernblot을 실시하였다. 1차 항체로는 monoclonal anti-type I procollagen aminoterminal extension peptide (SP1. D80) antibody (Developmental Studies Hybridoma Bank, Iowa City, IA)와 monoclonal anti-MMP-1 antibody (Oncogen, Co., Boston, MA)를 이용하였다.

자료의 분석은 Student t-test를 이용하여 통계 분석하였으며 결과 값은 평균 (Means)  $\pm$  구조 방정식 (Structural Equation Modeling, SEM)으로 표현하였다.

모든 p 값은 양측검정을 실시하였고,  $p \leq 0.05$ 를 유효 값으로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 셀레늄 펩타이드의 생산

*Saccharomyces cerevisiae*의 의해 생산된 자가 단백질 분해효소에 의하여 auto lysis를 유도하고 세포유래 단백질을 작은 펩타이드로 분해하여 상대적으로 반응 면적을 높이고, 일반적으로 단백질 분해에 이용되는 산 가수분해

에 의해 항산화 활성이 저하되는 것을 막아 산업적 효용성을 용이하게 하였다.

*Saccharomyces cerevisiae*의 자가분해 효소에 의해 생산된 셀레늄 펩타이드는 [23] GPx 유사 활성이 298.51  $\pm$  5.65 unit/mg protein으로 셀레늄 함량은 12.67  $\mu$ g/mg protein 이었다. 또한 대조군으로 사용된 효모 펩타이드는 셀레늄을 거의 함유하지 않았고 GPx 유사활성도 나타나지 않았다 (data not shown).

### 셀레늄 펩타이드의 인간 피부 섬유아세포에 대한 독성

선행 연구결과에서도 셀레노메티오닌과 sodium selenate를 셀레늄 원료로 이용하였을 경우 각각 14.9%와 27.9%의 효모에 대한 성장 저해율을 보인 반면 셀레늄 펩타이드 (10 ppm) 처리구에서는 4.7%의 성장 저해율로 효모에 대한 독성이 거의 없었다 [23]. 또한 생산된 셀레늄 펩타이드의 인간 피부 섬유아세포에 대한 세포 독성을 확인하기 위하여 10<sup>-9</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-5</sup> M 농도로 섬유아세포에 첨가하고 대조군으로 셀레늄을 함유하지 않은 효모 펩타이드를 첨가하여 셀레늄에 의한 세포 독성을 측정된 결과 무기 셀레늄의 첨가는 10<sup>-9</sup> M에서 세포가 거의 죽었으나 (data not shown) 셀레늄 펩타이드는 Fig. 1에서와 같이 10<sup>-5</sup> M에서도 셀레늄에 의한 독성이 나타나지 않았다. 따라서 효모의 자가분해로 생성된 셀레늄 펩타이드는 미생물에서의 저독성을 보인 것과 같이 인간 피부 섬유아세포에 대한 독성에 유사한 결과를 보여 주고 있다.

### 셀레늄 펩타이드의 인간 피부 섬유아세포에 대한 세포 증식효과

산화적 스트레스에 대한 셀레늄 펩타이드의 세포보호효과 측정을 위하여 배양중인 인간 피부섬유아세포에 100 mJ/cm<sup>2</sup>의 UVB를 조사하고, 10<sup>-9</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-5</sup> M의 셀레늄 펩타이드를 처리한 후 MTT assay를 이용하여 세포 생존율을 측정된 결과 Table 1에서와 효모 펩타이드와 셀레늄 펩타이드 모두 UVB에 의한 손상으로부터 세포 보호효과를 나타내었으며, 특히 셀레늄 펩타이드가 세포의 증식을 더욱 촉진시키는 것으로 나타났다.

**Table 1.** Effect of selenium peptide (Se-pep) and yeast peptide (Y-pep) pretreatment on cell proliferation of human skin fibroblast after exposure to UVB

	No irradiation	UV irradiation <sup>*</sup>			
		Control	10 <sup>-9</sup> M	10 <sup>-7</sup> M	10 <sup>-5</sup> M
Y-pep	100%	93.2 $\pm$ 2%	103.8 $\pm$ 8%	108.4 $\pm$ 4%	125.6 $\pm$ 12%
Se-pep	100%	92.4 $\pm$ 5%	107.5 $\pm$ 7%	137.3 $\pm$ 11%	153.3 $\pm$ 9%

<sup>\*</sup>  $p < 0.05$  (n=5)

<sup>\*\*</sup> Skin fibroblasts were cultured for 24 h and then the medium was replaced with PBS and the cells were exposed to UV (0-100 mJ/cm<sup>2</sup>) light. After irradiation, the cells were washed with PBS and cultured with selenium peptide and yeast peptide.

Fig. 1과 Table 1의 결과로부터 셀레늄만을 인간 피부 섬유아세포 처리 시에는  $10^9$  M의 농도에서 UVB 조사 시 세포가 대부분 사멸하였으므로 효모 펩타이드보다 셀레늄 펩타이드가 인간 피부 섬유아세포의 분화를 촉진시키는 것으로 사료된다. 이러한 결과는 세포 증식효과가 있는 효모 펩타이드에 셀레늄을 결합시킴으로써 셀레늄의 독성이 소멸되고 성장 혹은 분화 촉진을 일으키는 결과를 가져온 것으로 UVB에 의한 손상으로부터 세포를 보호할 수 있는 소재로서의 가능성을 보인 것으로 보였다고 할 수 있다. 그러나 무작위로 들어간 것이므로 인간 피부 섬유아세포가 셀레늄과 접촉하지 못한 이유인지 효모 펩타이드에 구조적인 영향을 미쳐서 이루어진 결과인지는 추후 정확히 밝혀야 할 문제이다.

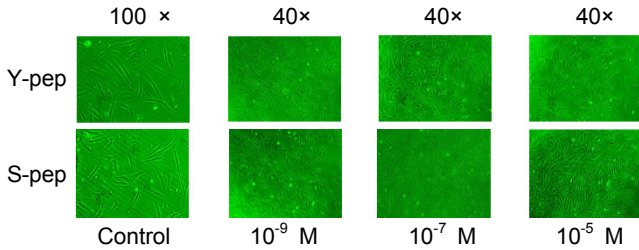


Fig. 1. The change of survival adding selenium peptide (Se-pep) and yeast peptide (Y-pep) in human skin fibroblast.

**셀레늄 펩타이드의 인간 피부 섬유아세포에서의 Type I Procollagen 및 MMP-1 (matrix metalloproteinase) 발현에 미치는 효과**

UV는 활성산소종을 발생시켜 발암 및 광 손상을 유발하고, 전사인자인 NF- $\kappa$ B와 AP-1의 결합을 활성화시켜 결국은 피부의 형태를 유지시켜주는 기질 단백질 (matrix protein)인 콜라겐, 엘라스틴 등을 분해시키는 효소인 collagenase 등의 발현을 증가시켜 피부 기질 단백질의 손상을 가져온다. 또한 나이가 들수록, 콜라겐 합성은 줄어드는 반면 MMP-1의 수준은 증가하는 것이 sun-protected human skin (*in vivo*)에서 밝혀졌다 [24]. UV 조사는 *in vitro*에서 섬유아세포에서 matrix metallo proteinase (MMP)의 합성을 유도하고 MMP에 의하여 콜라겐이 파괴되어 광노화에 의한 피부손상을 가져오는 것으로 알려져 있다 [25]. 피부의 펩타이드 공급 또한 영양분의 부족으로 일어나는 피부 노화를 방지하며 섬유아세포의 증식을 높이고 콜라겐의 발현을 증가시킨다고 보고 되어있다 [26]. 따라서 셀레늄 펩타이드의 이러한 효능을 측정하기 위하여 westernblot을 실시하여 type I procollagen 및 MMP-1 발현양을 조사하였다.

셀레늄 펩타이드 및 효모 펩타이드를  $10^{-5}$  M의 농도로 세포에 처리하여 UVB에 의해 유발되는 산화적 스트레스로부터 type I procollagen 수준의 감소를 막고 이에 따른 MMP-1의 수준을 저해하는지 확인한 결과, UVB 조사는 procollagen I의 발현을 감소시키는데 효모 펩타이드와 셀

레늄 펩타이드  $10^{-5}$  M에서 각각 24.7%, 9.9%의 발현 증가를 보였으나 UVB에 의한 발현 감소를 회복시키지 못하였다 (Fig. 2). 위의 결과는 효모 펩타이드와 셀레늄 펩타이드 모두 인간 피부 섬유아세포에 UVB 조사시 감소되는 type 1 procollagen을 회복시키지 못하는 것으로 보이며, 효모 펩타이드와 셀레늄 펩타이드 간에도 차이가 없으므로 셀레늄의 영향은 없는 것으로 판단된다.

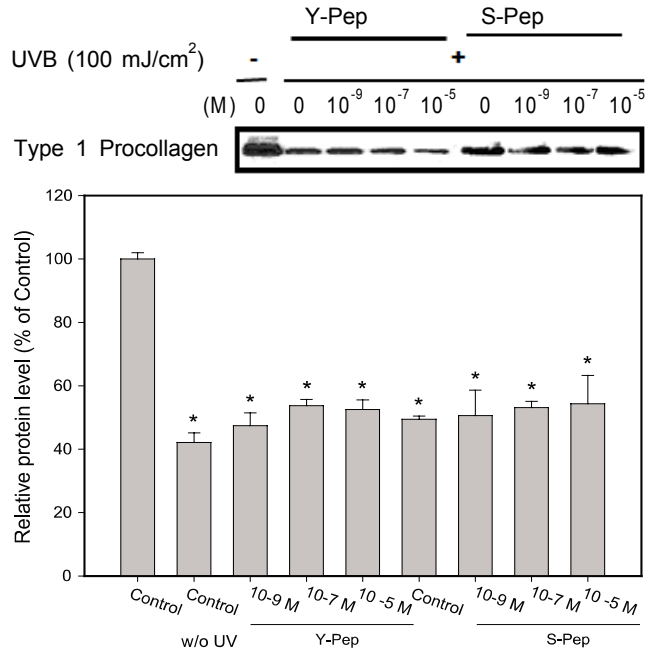
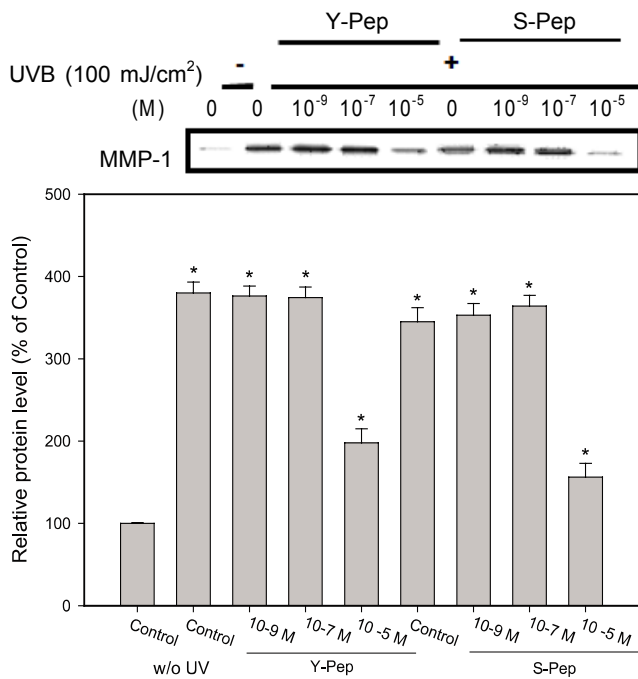


Fig. 2. Effect of selenium peptide (Se-pep) and yeast peptide (Y-pep) treatment on expression of type 1 procollagen in human skin fibroblast against UVB irradiation. \*Cells were harvested and the intracellular level of type 1 procollagen was measured. \*\*Cultures were immunoblotted for type 1 procollagen (monoclonal anti-type 1 procollagen aminoterminal extension peptide antibody). \*\*\*Results are presented by means  $\pm$  SEM and significant difference from cells not treated with selenium peptide and yeast peptide, but exposed to UVB. \*\*  $p < 0.05$ .

또한 생산된 셀레늄 펩타이드의 UVB에 의한 피부 보호 효과를 측정하기 위하여 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) 분해능을 측정하였다. UV를 조사하지 않고 화합물 무처리를 100%로 잡고 UV 조사 후 화합물 처리 시와 무처리 시의 MMP-1 분해능을 비교한 결과 효모 펩타이드와 셀레늄 펩타이드  $10^{-5}$  M 처리구에서 각각 52.1%, 45.2%의 저해 활성을 보였다 (Fig. 3).

위의 결과는 효모 펩타이드와 셀레늄 펩타이드 모두  $10^{-5}$  M의 고농도에서 회복시켰고, 효모 펩타이드와 셀레늄 펩타이드 간의 비교에서는 셀레늄 펩타이드가 좀 더 많이 감소는 되었으나 이 결과가 셀레늄 펩타이드의 특징이라고 보기에는 두 데이터 간의 유의차가 없으므로 셀레늄의 영향이 아닌 효모 펩타이드의 특징으로 생각되어진다.



**Fig. 3.** Effect of selenium peptide (Se-pep) and yeast peptide (Y-pep) pretreatment on expression of MMP-1 in human skin fibroblasts against UVB irradiation. \*Cells were harvested and the intracellular level of MMP-1 was measured. Cultures were immunoblotted for MMP-1 (monoclonal anti-MMP-1). \*\*Results are presented by means  $\pm$  SEM and significant difference from cells not treated with selenium peptide and yeast peptide, but exposed to UVB. \*\*\*  $p < 0.05$ .

**결론**

효모의 효소 자가 분해에 의해 생산된 셀레늄 펩타이드는 항산화 효소인 glutathione peroxidase 유사 활성을 가지는데 이를 피부에 적용하기 위해 피부에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 셀레늄 펩타이드는 셀레늄이 가지는 독성이 거의 나타나지 않았으며 오히려 세포 증식 효과를 보였다. 또한 셀레늄 펩타이드가 효모 펩타이드보다 더 높은 세포 증식과 UVB 조사에 의한 세포 보호 효과를 보였고 이는 셀레늄이 세포 내 항산화 활성을 증가시키는 것으로 사료된다. 이를 통해 셀레늄 펩타이드는 독성이 적은 유기 셀레늄 화합물로 피부에 적용하기 위한 항산화제로서의 가능성을 보여주었다.

**요약**

셀레늄 함유 펩타이드 (셀레늄 펩타이드)는 무기 셀레늄이 포함된 배지에서 효모를 배양하여 효모의 자가분해에 의해 만들었다.

효모 배양에 의해 만들어진 셀레늄 펩타이드는 GPx 유사 활성을 보였으며, UVB 조사가 된 인간 섬유아세포에 대하여 세포 보호효과를 나타냈다.

셀레늄 나이트레이트는 10<sup>-9</sup> 몰 농도에서 낮은 세포독성을 보인 반면 셀레늄 펩타이드는 최소의 독성만을 보였다. 또한 셀레늄 펩타이드는 인간 섬유아세포의 성장과 procollagen type I을 증가시킨 반면 MMP-1의 감소를 가져왔다.

연구결과 셀레늄 펩타이드가 무독성의 항산화제로서의 가능성을 보여주었다.

**감사**

본 연구는 한국연구재단 국제협력연구사업 (F01-2007-000-10063-0)지원으로 수행되었음.

접수 : 2009년 7월 14일, 게재승인 : 2009년 9월 18일

**REFERENCES**

1. Arteel, G. E. and H. Sies (2001) The biochemistry of selenium and the glutathione system. *Environ Toxicol Pharmacol.* 10: 153-158.
2. No authors listed (1987) Incorporation of selenium into glutathione peroxidase. *Nutr. Rev.* 45: 344-345.
3. No authors listed (1991) Specificity of selenium uptake by selenoproteins. *Nutr. Rev.* 9: 62-64.
4. Combs, G. F. and W. P. Gray (1998) Chemopreventive agents : selenium. *Pharmacol. Ther.* 79: 179-192.
5. Jiang, C., W. Jiang, C. Ip, H. Ganther, and J. Lu (1999) Selenium-induced inhibition of angiogenesis in mammary cancer at chemopreventive levels of intake. *Mol. Carcinog.* 26: 213-225.
6. McKenzie, R. C. (2000) Selenium, ultraviolet radiation and the skin. *Clin. Exp. Dermatol.* 25: 631-636.
7. Emonet, N., M. T. Leccia, A. Favier, J. C. Beani, and M. J. Richard (1997) Thiols and selenium: protective effect on human skin fibroblasts exposed to UVA radiation. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 40: 84-90.
8. Rafferty, T. S., R. C. Mckenzie, J. A. A. Hunter, A. F. Howie, J. R. Arthur, F. Nicol, and G. J. Beckett (1998) Differential expression of selenoproteins by human skin cells and protection by selenium from UVB-radiation-induced cell death. *Biochem. J.* 332: 231-236.
9. Mu, Y., S. Lv, X. Ren, G. Jin, J. Liu, G. Yan, W. Li, J. Shen, and G. Luo (2003) UV-B induced keratinocyte apoptosis is blocked by 2-selenium-bridged  $\beta$ -cyclodextrin, a GPX mimic. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 69: 7-12.
10. Schrauzer, G. N. (2000) Selenomethionine: a review

- of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *J. Nutr.* 130: 1653-1656.
11. Guerin, P. J. and E. R. Gauthier (2003) Induction of cellular necrosis by the glutathione peroxidase mimetic ebselen. *J. Cell. Biochem.* 89: 203-211.
  12. Liu, J. Q., G. M. Luo, X. J. Ren, Y. Mu, Y. Bai, and J. C. Shen (2000) A bis-cyclodextrin diselenide with glutathione peroxidase-like activity. *Biochim. Biophys. Acta.* 1481: 222-228.
  13. Ren, X., S. Gao, D. You, H. Huang, Z. Liu, Y. Mu, J. Liu, Y. Zhang, G. Yan, G. Luo, T. Yang, and J. Shen (2001) Cloning and expression of a single-chain catalytic antibody that acts as a glutathione peroxidase mimic with high catalytic efficiency. *Biochem. J.* 359: 369-374.
  14. Su, D., D. You, X. Ren, G. Luo, Y. Mu, G. Yan, Y. Xue, and J. Shen (2001) Kinetics study of a selenium-containing ScFv catalytic antibody that mimics glutathione peroxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 285: 702-707.
  15. Su, D., X. Ren, D. You, D. Li, Y. Mu, G. Yan, Y. Zhang, Y. Luo, Y. Xue, J. Shen, Z. Liu, and G. Luo (2001) Generation of three selenium-containing catalytic antibodies with high catalytic efficiency using a novel hapten design method. *Arch. Biochem. Biophys.* 395: 177-184.
  16. Sun, Y., T. Li, H. Chen, K. Zhang, K. Zheng, Y. Mu, G. Yan, W. Li, J. Shen, and G. Luo (2004) Selenium-containing 15-mer peptides with high glutathione peroxidase-like activity. *J. Biol. Chem.* 279: 37235-37240.
  17. Boonraeng, S., P. Foo-trakul, W. Kanlayakrit, and C. Chetanachitra (2000) Effects of chemical, biochemical and physical treatments on the kinetics and on the role of some endogenous enzymes action of Baker's yeast lysis for food-grade yeast extract production. *Nat. Sci.* 34: 270-278.
  18. Son, S. M. and J. S. Kim. (2003) Optimization for autolysis of brewers yeast slurry. *Korean J. Food sci. technol.* 35: 201-205.
  19. Cho, K. H. and J. K. Suh. (1999) Determination of arsenic, lead, and selenium in rice flour by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Anal. Sci. Technol.* 12: 130-135.
  20. Hernandez-Caraballo, E. A., M. Burguera, and J. L. Burguera (2002) Evaluation of ammonia as diluent for serum sample preparation and determination of selenium by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B. Atomic Spectros.* 57: 2159-2165.
  21. Paglia, D. E. and W. N. Valentine (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 70: 158-169.
  22. Seo, J. Y., S. H. Lee, C. S. Youn, H. R. Choi, G. E. Rhie, K. H. Cho, K. H. Kim, K. C. Park, H. C. Eun, and J. H. Chung (2001) Ultraviolet radiation increases tropoelastin mRNA expression in the epidermis of human skin *invivo*. *J. Invest. Dermatol.* 116: 915-919.
  23. Lee, J. O., Y. O. Kim, D. H. Shin, J. H. Shin, and E. K. Kim (2006) Production of selenium peptide by autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 16: 1041-1046.
  24. Varani, J., R. L. Warner, M. Gharaee-Kermani, S. H. Phan, S. Kang, J. H. Chung, Z. Q. Wang, S. C. Datta, G. J. Fisher, and J. J. Voorhees (2000) Vitamin A antagonizes decreased cell growth and elevated collagen-degrading matrix metalloproteinases and stimulates collagen accumulation in naturally aged human skin. *J. Invest. Dermatol.* 114: 480-486.
  25. Fisher, G. J., S. C. Datta, H. S. Talwar, Z. Q. Wang, J. Varani, S. Kang, and J. J. Voorhees (1996) Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature* 379: 335-339.
  26. Jouandaue-Le-Gullou, M. (2006) Di- and tripeptides : A new approach to skin nutrition. *SOFW Journal* 132: 70-77.