

절식이 흰쥐의 간과 신장의 Thiobarbituric Acid-Reactive Substance량 및 항산화효소 활성도에 미치는 영향

박평심[†] · 고춘남* · 박재윤**

동강대학 식품영양과

*환경위생과

**조선대학교 의과대학 생화학교실

Effects of Total Dietary Restriction on the Contents of Thiobarbituric Acid-Reactive Substance and Antioxidant Enzymes in the Liver and Kidney of Rats

Pyoung-Sim Park[†], Choon-Nam Koh* and Jae-Yoon Park**

Dept. of Food and Nutrition, and *Dept. of Environment and Hygiene,
Dongkang College, Kwangju 500-714, Korea

**Dept. of Biochemistry, College of Medicine, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

Abstract

The effects of total dietary restriction(100% restriction of energy intake) on thiobarbituric acid-reactive substance(TBARS) contents and intracellular antioxidant enzymes activities in the liver and kidney of young male Sprague-Dawley rats were studied. The TBARS contents were reduced in both liver and kidney, up to 77% and 79% of the control rats, fed *ad libitum*, respectively at 7 days after dietary restriction. Superoxide dismutase(SOD) activities in the liver and kidney of rats were increased significantly by total dietary restriction. However, the activity of catalase in kidney was decreased 27% at 6 days after dietary restriction, but this enzyme activity did not change in liver. The changes of glutathione peroxidase(GSHPx) and catalase activities in the liver and kidney of rats with dietary restriction were not significant. These result suggested that dietary restriction reduce the free radical induced by tissue damage, as determined by TBARS content, in both the liver and kidney but the changes of activities of antioxidant enzymes may not be a contributory factor in reducing oxidative damage to tissue.

Key words: dietary restriction, TBARS, SOD, catalase

서론

절식이 수명을 연장시키고 노화를 둔화시키는 효과가 있다고 보고된 후 이에 대한 많은 연구가 진행되고 있는데, 절식에 의한 노화둔화의 기전은 아직까지는 명확히 규명되어 있지 않으나 유리기에 의한 세포손상의 변화가 한 요인으로 생각되고 있다(1,2). 산소유리기(oxygen radicals)는 산소를 이용하는 세포의 대사과정에서 생성되며, 생체막의 불포화지방으로부터 과산화물을 생성시키고, 단백질이나 DNA 손상을 유발하여 산화적 세포손상을 초래한다(3,4). 세포의 산화적 손상

은 동맥경화증, 퇴행성 관절염, 당뇨병 등 여러가지 대사성 질환이나 암의 발생 및 노화에 관련이 있는 것으로 알려져 있다(5,6). 생체는 유리기에 의한 손상으로부터 자신을 보호할 수 있는 여러가지 방어기제 즉 superoxide dismutase(SOD), catalase 및 peroxidase 등과 같은 항산화 효소계와 glutathione, ascorbic acid, sulfhydryl groups, uric acid, vitamin A, vitamin E 및 bilirubin 등과 같은 비효소계 항산화 물질 등이 있다(5). SOD는 superoxide anion(O₂⁻)을 과산화수소로 전환시키는 효소로서 진핵세포에는 세포질의 Cu,Zn-SOD와 사립체의 Mn-SOD 등 isozyme이 알려져 있다(3,5). 과

[†]To whom all correspondence should be addressed

산화수소는 세포의 정상적인 대사산물이며 조직에 대한 산화적 손상을 일으킬 수 있는 산소의 반응성 형태로서 과산화수소의 생성과 분해과정은 세포손상과정에 관여하며 catalase와 peroxidase는 대표적인 과산화수소 소거 효소로 알려져 있다(3). Catalase는 호기성 세포에 광범위하게 분포되어 있는 효소로서 세포내에서 cytochrome과 같이 분포되어 있고 주로 소포체내에 존재하며 glutathione peroxidase(GSHPx)는 세포질에 있는데, 방사선 조사 등과 같이 세포내 과산화수소 농도가 증가된 조건에서는 catalase의 작용이 세포의 산화적 손상 방지에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(7).

De 등(8)은 절식시킨 흰쥐의 간에서 lipofucin량이 감소된다고 하였고, Chipalkatti 등(9)은 절식이 지질과산화산물 생성량을 감소시킨다고 했다. Youngman 등(10)은 절식에 의해서 단백질의 산화와 DNA 산화가 감소된다고 하여 절식이 유리기에 의한 세포손상 방지 효과가 있는 것으로 보고되어 있다(11). 또한 Xia 등(12)은 Fischer 344 rat을 40% 절식시켜 사육하면 지질과산화가 감소되며, 이의 주된 요인은 항산화효소 활성도 증가에 기인한다고 하였다.

본 실험에서는 단기적 완전절식(열량의 섭취를 100% 차단)이 산화적 세포손상에 미치는 영향을 Sprague-Dawley 중 흰쥐를 완전 절식시킨 후 간 및 신장의 항산화효소 활성도와 지질과산화물인 thiobarbituric acid-reactive substance(TBARS)량을 측정하여 장기적인 부분절식에 의한 변화와의 차이점을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험계획 및 실험동물의 처치

실험동물은 생후 8주된 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐로 체중 $215 \pm 15g$ 되는 것을 사용하였으며, 실험시작 1주일간 고형사료로 사육시킨 후 절식군은 물을 제외한 일체의 식이부여를 금지하여 사육하면서 1일 간격으로 7일까지 매일 5마리씩 희생시켜 간과 신장을 절제하였다. 절제된 간과 신장은 5배의 0.1M phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 균질화시켜 균질액의 일부는 TBARS 측정에 사용하고 나머지는 $12,000 \times g$ 로 15분간 원심분리하여 상등액을 조효소액으로 사용하여 항산화효소 활성도를 측정하였다.

TBARS량 측정

TBARS량은 Buege와 Aust(13)의 방법에 의해서 측

정하였다. 즉 TBA 시약(0.375% TBA in 0.25N HCl) 1.0ml에 butylated hydroxytoluene을 최종농도가 0.01%가 되게 가하고 균질액 1.0ml를 가하여 잘 혼합한 후 $98^\circ C$ 로 15분간 가열하고 즉시 냉각시켜 $1,500 \times g$ 로 15분간 원심분리하여 상등액을 취해 535nm에서 흡광도를 측정하여, malondialdehyde의 흡광계수 $1.56 \times 10^2 / \text{mM/cm}$ 를 이용하여 계산하였다.

Superoxide dismutase 활성도 측정

SOD 활성도는 Crapo 등(14)의 방법에 의해서 xanthine, xanthine oxidase 및 cytochrome c를 이용하여 측정하였다. 시험관에 100mM phosphate buffer(pH 7.8) 2.3ml에 0.5mM xanthine 0.3ml와 0.1mM cytochrome c 0.3ml를 넣고 혼합하여 xanthine oxidase 용액을 첨가하고 550nm에서 1분간 변화되는 흡광도를 측정하여 흡광도의 증가 속도가 매분당 0.020이 되게 xanthine oxidase량을 조절하였다. 효소의 활성도는 상기 조건에서 조효소액을 가하여 증가되는 흡광도를 측정하였으며, cytochrome c 환원속도를 50% 억제하는 효소량을 1 unit로 표시하였다.

Catalase 활성도 측정

Catalase 활성도는 Aebi(15)의 방법에 따라 소모되는 과산화수소의 양으로 측정하였다. 즉, 50mM phosphate buffer(pH 7.0) 2.0ml에 조효소액 0.05ml를 가하여 혼합한 후 10mM H_2O_2 용액 1.0ml를 가하여 혼합하고 240nm에서 15초간 변화되는 흡광도를 측정했다. 효소의 활성도는 1분 동안에 $1\mu M$ 의 H_2O_2 를 분해시키는 효소량을 1 unit로 하였다.

Glutathione peroxidase 활성도 측정

GSHPx 활성도는 Flohe 등(16)의 방법에 의해 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 2.5ml에 3 mM GSH, 20mM NaN_3 , glutathione reductase 0.72 U, NADPH 0.45mM과 조효소 용액을 넣고 0.45mM H_2O_2 를 가하여 340nm에서 3분 동안 흡광도의 변화를 측정하였으며, 비효소적 반응은 상기와 같은 조건에서 단지 0.45mM H_2O_2 를 가하지 않고 흡광도의 변화를 측정하였고, 효소활성도는 비효소적 반응에 의한 흡광도 변화를 감한 값을 다음식에 의해서 계산하였다.

$$A = 0.868 \left(\frac{[NADPH]_t}{[GSH]_0} \right) \left(\frac{V_i}{V_s} \right)$$

여기서 A: 효소 활성도, [NADPH]: NDAPH 농도변화, [GSH]₀: GSH의 처음농도, t: 반응시간, V_i: 반응액 용량 및 V_s: 효소액 용량이다.

단백질 정량 및 통계처리

단백질의 정량은 Lowry 등(17)의 방법에 의해서 측정하였으며, 소의 혈청 알부민을 표준 단백질로 사용하였다.

이상의 실험 결과는 student's t-test 에 의해서 검정하였다.

결과 및 고찰

절식에 의한 체중 변화

체중 215±15g인 흰쥐 10마리를 물을 제외한 식이의 투여를 차단하여 절식시키고 7일 후까지 매일 체중을 측정하였으며, 그 결과는 Table 1과 같다. 절식 7일째 실험군의 흰쥐가 죽기 시작하였고, 절식 8일째에는 절식 실험군의 흰쥐 30%가 희생되었기 때문에 실험은 7일까지만 진행하였다. 흰쥐의 체중은 절식 시작 후 1일까지는 변화가 없었고, 2일 경과 후부터는 시간이 경과함에 따라서 감소되었는데, 절식 4일 경과시에 3일째의 평균체중 193g에 비하여 8.8%가 감소된 176g를 나타내서 가장 큰 감소를 나타냈고, 그 후 시간이 경과함에 따라서 체중감소는 계속되었으나 감소율은 점점 줄어들어 7일째는 6일째의 평균체중 158g에 비하여 3.7%가 감소된 152g을 나타냈는데, 이는 절식 시작때의 체중에 비하여 27%가 감소된 것으로 나타났다. 절식에 의한 체중의 변화는 절식 후 3일에서 5일 사이에 가장 많은 체중의 감소가 있었음을 알 수 있다.

절식에 의한 간 및 신장 TBARS량 변화

우리기는 지질, 단백질 및 DNA를 손상시킴으로서 세포손상을 초래하게 되는데, TBARS는 우리기에 의

Table 1. The body weight of rats after total dietary restriction

Duration of fasting(days) ¹⁾	Body weight(g)
0	215±14 ²⁾
1	210±16
2	203±12
3	193±15
4	176±16
5	165±14
6	158±16
7	152±15

¹⁾Animals were divided into 8 groups, comprising group from the beginning of dietary restriction to 7th day. Food was totally restricted(100% restriction of calori intake) except drinking water.

²⁾Values are Mean±S.D., n=6 at each group.

한 지질손상의 지표로서 가장 많이 이용되는 물질이다(13). 완전절식이 간 및 신장의 지질과산화에 미치는 영향을 TBARS량을 측정하여 관찰한 결과(Fig. 1), 간에서는 완전절식 4일째에 0.20±0.02µM/g tissue로 절식 전 0.26±0.06µM/g tissue에 비하여 23%가 감소되었으며, 그 후 시간의 경과에 의한 더 이상의 TBARS량 감소는 없었다. 신장에서는 완전절식 6일째에 0.15±0.01µM/g tissue로 절식전 0.19±0.03µM/g tissue에 비하여 21%가 감소되어 완전절식에 의해서 간과 신장에서 모두 TBARS량이 감소되어 있어서 완전절식이 지질과산화를 감소시키는 것으로 생각된다. Xia 등(12)은 흰쥐를 26개월간 사육한 흰쥐 실험에서 장기 TBARS량은 시간이 경과됨에 따라서 증가된다고 하여 노화의 진행과 TBARS 산물량 증가가 연관성이 있음을 보여주고 있으며, 40% 부분절식에 의해서 TBARS량은 현저히 감소된다고 하였고, Albrecht 등(18)은 4주간 부분 절식시킨 흰쥐의 간에서 TBARS량이 약 40% 감소된다고 하였는데, 본 실험에서는 단기적인 완전절식으로 TBARS량이 감소되어 장기간 부분절식에 의한 Xia 등(12)의 실험 소견과 유사한 경향을 나타냈으므로 흰쥐에서 부분절식이나 완전절식은 모두 장기의 산화적 손상을 감소시킬 수 있을 것으로 추측된다.

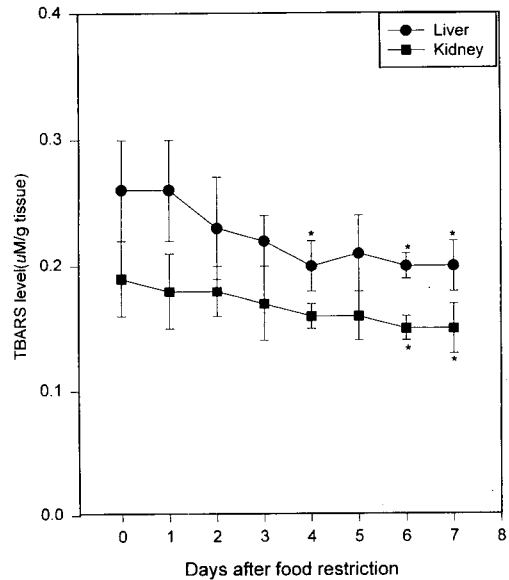


Fig. 1. Level of thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) in the liver and kidney of dietary restricted rats.

TBARS level was detmrined spectrophotometrically. Values are mean±S.D., n=7 at each group.

*Significant at p<0.05 vs non-fasting control group (day 0 group)

절식에 의한 간 및 신장 항산화효소 활성도 변화

항산화 효소는 절식에 의한 지질과산화 저하에 영향을 주는 중요한 요인으로 생각되는데, Rao 등(19)은 생후 21개월 및 28개월된 흰쥐에서 부분절식(40%)에 의해 간 SOD, catalase 및 GSHPx 활성도가 증가되고, 특히 catalase가 가장 큰 효소활성도 증가를 나타냈다고 하였다. Xia 등(12)은 부분절식(40%)시킨 16개월 및 26개월된 흰쥐의 간 및 신장 SOD, catalase 및 GSHPx 활성도는 모두 증가된다고 하여, 장기간의 부분절식에 의해서 SOD, catalase 및 GSHPx 활성도가 모두 증가되는 것으로 보고되어 있다. 그러나 Lammi-Keefe 등(20)은 생후 41일된 흰쥐를 2일간 완전절식시켜서 항산화효소를 측정할 결과 근육에서 catalase 활성도는 절식하지 않은 쥐에 비하여 2배정도 증가되어 있고, SOD는 변화가 없었고, 심장에서는 catalase와 SOD 모두 완전절식에 의한 효소 활성도 변화가 없다고 하여 완전절식에 의한 효소 활성도 변화는 실험동물의 연령, 절식정도, 절식기간 및 장기에 따라서 다를 것으로 생각된다.

본 실험에서 완전절식시킨 흰쥐의 간 항산화효소 활성도를 측정한 결과 SOD는 절식전 39.89 ± 4.17 U/mg protein에서 완전절식 4일째에는 47.32 ± 4.38 U/mg protein로 18%가 증가되었고, catalase는 완전절식 7일까지 효소활성도 변화가 없었으며, GSHPx는 완전절식 7일째에 16% 감소를 나타내서 장기적인 절식에 의한 항산화 효소활성도 변화와는 다른 양상을 나타냈다. 또한 신장에서 SOD 활성도는 절식전 19.74 ± 4.99 U/mg protein에서 완전절식 5일째에는 25.60 ± 2.29 U/mg protein로 29%가 증가되었다(Fig. 2). Catalase 활성도는 절식전 1354.3 ± 134.6 mU/mg protein이었는데 완전절식 6일째에는 988.3 ± 2150.2 U/mg protein로 효소활성도가 27% 감소되었다(Fig. 3). GSHPx 활성도는 완전절식 7일까지 활성도 변화가 없어서 장기적인 부분절식에 의한 효소 활성도의 변화와는 다른 소견을 나타냈다(Fig. 4). 이러한 실험결과는 Lammi-Keefe 등(20)은 완전절식에 의해 catalase활성도만 증가되고 catalase 및 GSHPx 활성도는 변화가 없었다는 실험보고와는 차이가 있으며, 부분절식에 의한 효소활성도 변화와도 차이가 있는데, 절식에 의해 간과 신장의 catalase 및 GSHPx 활성도 변화가 서로 다르게 나타나므로 절식에 의한 항산화효소 활성도 변화는 장기나 효소의 종류에 따라서 서로 다를 수 있다.

유리기에 의한 세포손상은 유리기의 생성량 증가나 소거량 감소에 의해서 일어날 수 있는데, Amstad 등(21,22)은 SOD를 과잉생산하게 조작한 동물세포에서

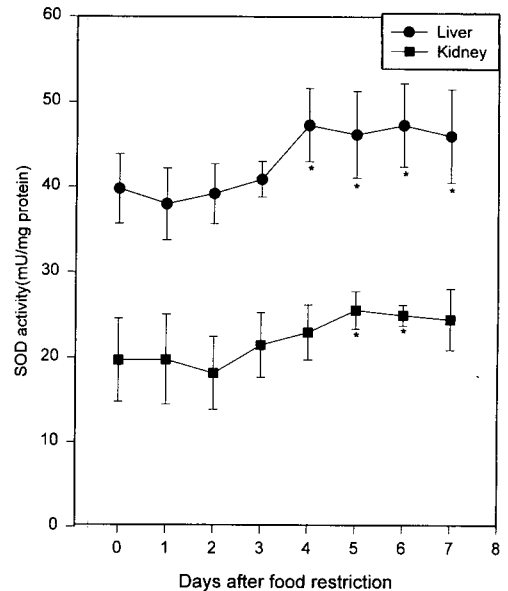


Fig. 2. Superoxide dismutase(SOD) activity in the liver and kidney of dietary restricted rats.

Values are mean \pm S.D., n=7 at each group.

*Significant at $p < 0.05$ vs non-fasting control group (day 0 group)

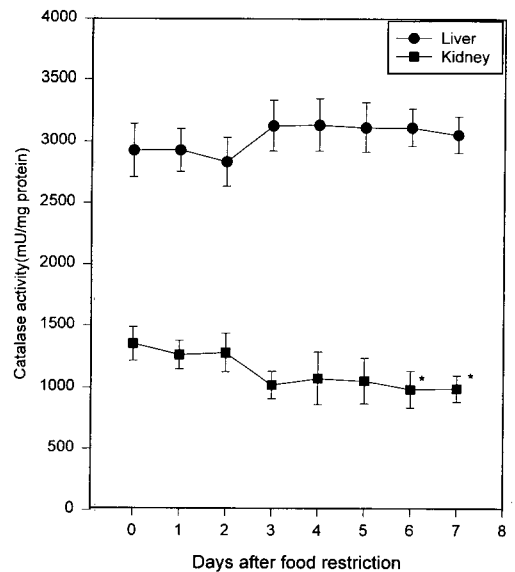


Fig. 3. Catalase activities in the liver and kidney of dietary restricted rats.

Values are mean \pm S.D., n=7 at each group.

*Significant at $p < 0.05$ vs non-fasting control group (day 0 group)

유리기 손상이 오히려 증가되는 것을 보고하였고, Orr와 Sohal(23)은 catalase나 SOD를 단독으로 과잉생산하도록 형질전환시킨 초파리의 수명이 연장되지 않았

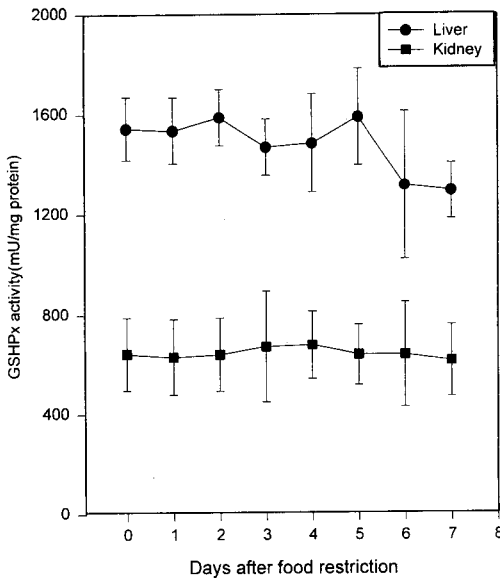


Fig. 4. Glutathion peroxidase(GSHPx) activity in the liver and kidney of dietary restricted rats. Values are mean±S.D., n=7 at each group.

으나, catalase와 SOD를 동시에 형질전환시킨 초파리의 수명이 증가하는 것으로 보고하여(24), 유리기 소거 효소중 한가지 효소의 증가로는 유리기 손상억제 효과가 적은 것으로 보고되어 있다. 따라서 항산화효소 활성도가 모두 증가된 부분절식과 항산화효소의 활성도 변화가 서로 다른 완전절식에서의 TBARS량 감소 요인은 서로 다를 것으로 생각된다.

장기적인 부분절식에 의한 TBARS량 감소에는 항산화효소 활성도 증가가 중요한 요인으로 작용하였으나, 본 실험에서 완전절식에 의해 유리기 소거효소 중 SOD 활성도만 증가되고, catalase와 GSHPx 활성도는 감소되었거나 변화가 없기 때문에 완전절식에 의한 TBARS량 감소는 항산화효소에 의한 유리기 소거량 변화보다는 유리기 생성량의 변화 등 다른 요인이 작용할 것으로 추측된다.

요 약

단기적인 완전절식에 의한 산화적 세포손상의 변화를 관찰하기 위해서 Sprague-Dawley 중 흰쥐를 물음 제외한 일체의 음식을 완전절식시킨 후 간 및 신장의 SOD, catalase, GSHPx 활성과 TBARS량을 측정한다. 결과, TBARS량은 신장에서 절식 후 감소되어 6일째에는 절식 전에 비하여 21% 감소하였고, 간에서도 절식 시작 후 4일째에는 절식 전에 비하여 23% 감소되었다.

SOD 활성도는 신장에서 절식 후 증가되어 5일째에는 절식 전에 비하여 31% 증가하였고, 간에서도 절식 후 증가되어 4일째에는 절식 전 효소 활성도에 비하여 20%가 증가되었다. Catalase 활성도는 신장에서 절식 후 6일째에는 절식 전에 비하여 27% 감소되었고, 간에서는 효소 활성도 변화가 없었으며, GSHPx 활성도는 신장과 간 모두에서 절식에 의한 효소 활성도 변화가 관찰되지 않았다. 이상의 실험 결과로서 완전절식에 의해서 TBARS량은 감소되고, 항산화효소 활성도의 변화는 효소의 종류에 따라서 서로 다른 양상을 나타내는 것을 알 수 있으며, 완전절식에 의한 TBARS량의 감소요인은 부분절식에 의한 요인과는 다른 것으로 추측된다.

감사의 글

이 논문은 1995년도 조선대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 연구되었으며 이에 깊이 감사드립니다.

문 헌

- Masoro, E. J. : Nutrition and aging. *J. Nutr.*, **115**, 842-848(1985)
- Heydari, A. R. and Richardson, A. : Does gene expression play any role in the mechanism of the antiaging effect of dietary restriction? *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **21**, 384-395(1992)
- Fridovich, I. : Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.*, **247**, 1-15(1986)
- Miquel, J. : Historical introduction to free radical and antioxidant biomedical research. In "CRC handbook of free radical and antioxidants in biomedicine" Miquel, J., Quintanilha, A. T. and Weber, H.(eds.), CRC Press, Florida, Vol. 1, pp.3-16(1989)
- Proctor, P. H. : Free radicals and human disease. In "CRC handbook of free radical and antioxidants in biomedicine" Miquel, J., Quintanilha, A. T. and Weber, H.(eds.), CRC Press, Florida, Vol. 1, p.209-222 (1989)
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. : Roles of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. In "Methods in enzymology" Fleischer, S. and Packer, L.(eds.), Academic Press, New York, Vol. 186, pp.1-85(1990)
- Deisseroth, A. and Dounce, A. L. : Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiol. Rev.*, **50**, 319-375(1970)
- De, A. K., Chipalkatti, S. and Aiyar, A. S. : Some biochemical parameters of aging in relation to dietary protein. *Mech. Ageing Dev.*, **21**, 37-48(1983)
- Chipalkatti, S., De, A. K. and Aiyar, A. S. : Effect of diet restriction on some biochemical parameters related to aging in mice. *J. Nutr.*, **113**, 944-950(1983)

10. Youngman, L. D., Park, J. Y. and Ames, B. N. : Protein oxidation associated with aging is reduced by dietary restriction of protein or calories. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 9112-9116(1992)
11. Youngman, L. D. : Protein restriction(PR) and caloric restriction(CR) compared: effects on DNA damage, carcinogenesis, and oxidative damage. *Mutat. Res.*, **295**, 165-179(1993)
12. Xia, E., Rao, G., Van, R. H., Heydari, A. R. and Richardson, A. : Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J. Nutr.*, **125**, 195-201(1995)
13. Buege, J. A., and Aust, S. D. : Microsomal lipid peroxidation., In "*Methods in enzymol*" Packer, L. S., (ed.), New York, Academic Press Inc., Vol. 52, p.302-310(1978)
14. Crapo, C. H., McCord, J. M. and Fridovich, I. : Preparation and assay of superoxide dismutase. In "*Methods in enzymol*" Fleischer, S. and Packer, L.(eds.), Academic press, New York, Vol. 53, p.382-393(1978)
15. Aebi, H. : Catalase. In "*Methods of enzymatic analysis*" Bergmeyer, H. U., Bergmeyer, J. and Graßl, M.(eds.), 3rd ed., Verlag chemie, Vol. 3, pp.273-286(1983)
16. Flohe, L., Wolfgang, A. and Gunzler, W. A. : Assay of glutathione peroxidase. In "*Methods in enzymatic analysis*" Packer, L.(ed.), New York, Academic Press, Vol. 105, pp.114-121(1984)
17. Lowry, C. H., Rsenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 256-277(1951)
18. Albrecht, R., Pelissier, M. A., Atteba, S., and Smaili, M. : Dietary restriction decreases thiobarbituric acid-reactive substances generation in the small intestine and in the liver of young rats. *Toxicol. Lett.*, **63**, 91-96(1992)
19. Rao, G., Xia, E., Nadakavukaren, M. J. and Richardson, A. : Effect of dietary restriction on the age-dependent changes in the expression of antioxidant enzymes in rat liver. *J. Nutr.*, **120**, 602-609(1990)
20. Lammi-Keefe, C. J., Swan, P. B. and Hegarty, P. V. : Effect of level of dietary protein and total or partial starvation on catalase and superoxide dismutase activity in cardiac and skeletal muscles in young rats. *J. Nutr.*, **114**, 2235-2240(1984)
21. Amstad, P., Moret, R. and Cerutti, P. : Glutathione peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu, Zn-superoxide dismutase overproducers to oxidant stress. *J. Biol. Chem.*, **269**, 1606-1609(1994)
22. Cerutti, P., Amstad, P., Peskin, A., Shah, G., Mirault, M. E., Moret, R. and Zbinden, I. : The balance between Cu,Zn-superoxide dismutase and catalase affects the sensitivity of mouse epidermal cells to oxidative stress. *Biochemistry*, **30**, 9305-9313(1991)
23. Orr, W. C. and Sohal, R. S. : The effects of catalase gene overexpression on life span and resistance to oxidative stress in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Arch. Biochem. Biophys.*, **297**, 35-42(1992)
24. Orr, W. C. and Sohal, R. S. : Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, **263**, 1128-1130(1994)

(1998년 12월 16일 접수)