

# 벼 종자에 대한 저준위 감마선의 영향을 밝힌 멀티오믹스 접근법

## 응용 자료

### 저자

Hayashi, G<sup>1</sup>., Shibato, J<sup>2,3</sup>., Kubo, A<sup>4</sup>., Imanaka, T<sup>5</sup>., Agrawal, GK<sup>6</sup>., Shioda, S<sup>2,3</sup>., Fukumoto, M<sup>1</sup>., Oros, G<sup>7</sup>., Rakwal, R<sup>2,3,8</sup>

Deepak SA<sup>9</sup>, Seetaramanjaneyulu. Gundimeda<sup>9</sup>, Upendra Simha<sup>9</sup>, Arunkumar Padmanaban<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Tohoku University

<sup>2</sup>Showa University

<sup>3</sup>Hoshi University

<sup>4</sup>NIES, Japan

<sup>5</sup>Kyoto University

<sup>6</sup>RLABB, Nepal

<sup>7</sup>HAS, Hungary

<sup>8</sup>University of Tsukuba, Japan

<sup>9</sup>Agilent Technologies, Bangalore

### 개요

이 응용 자료에서는 Agilent 멀티오믹스 솔루션을 통해 벼의 스트레스 관련 전사체학 및 대사체학 바이오마커를 식별하기 위한 워크플로를 소개합니다. Agilent 시료 전처리 소모품, 기기 및 소프트웨어 도구를 사용하여 후쿠시마현 이타테촌의 이타테 농장(ITF)에서 재배한 벼 종자에 대한 저준위 감마선의 영향을 연구하였습니다. 본 연구에서는 고품질의 전사체학 및 대사체학 데이터를 생성하여 Agilent GeneSpring/Mass Profiler Professional(MPP) 13.1 소프트웨어로 통합하였습니다. 복합적인 멀티오믹스 분석 결과, 식물의 스트레스 반응과 관련된 여러 가지 대사 및 방어 경로에서의 변조를 발견하였습니다. 연구 결과에 따르면, 방사성 핵종에 오염된 토양에서 재배한 벼가 스트레스에 대한 방어 능력이 향상된 종자를 생산합니다. 이 연구는 Agilent 멀티오믹스 워크플로를 통해 식물 유래 샘플의 유전자 발현 및 대사산물 분석을 수행할 수 있음을 증명하였습니다.



**Agilent Technologies**

## 서론

식물을 이온화 방사선(IR)에 노출시키면 에너지를 최초로 흡수할 때와 최종 생물학적 상해가 발현되기까지 다양한 반응을 유발한다고 알려져 있습니다<sup>1</sup>. 이 연구에서는 방사성 핵종에 오염된 이타테 농장(ITF)의 토양(논)에서 재배한 벼 종자에 저준위 감마선이 미치는 영향을 조사하였습니다. 이 응용자료는 Agilent 멀티오믹스 솔루션을 사용하여 벼 종자의 전사체 및 대사체를 연구한 멀티오믹스 분석 결과를 소개합니다.

## 재료 및 방법

그림 1은 본 연구의 워크플로를 나타냅니다.

## 식물 재료 수집

ITF(후쿠시마현 이타테촌) 논에 방사성 핵종에 오염된 토양에서 경작한 벼 (*Oryza sativa* L. 고시히카리 품종)를 상온에서 수집하고 저장하였습니다. 이 토양은 후쿠시마 다이 이치 원자력 발전소(FDNPP) 재해로 인해 오염되었습니다. 이후의 분석에서 사용할 종자는 도정하여 액체 질소에 급속 냉동하고 -80°C에서 보관하였습니다. 토양의 방사능 수준은 게르마늄 반도체 검출기로 측정하였습니다. 미나미소마(후쿠시마현)에서 재배한 같은 품종의 종자는 오염되지 않은 것으로 판단하여 대조군으로 사용하였습니다.

## RNA 추출 및 마이크로어레이 분석

RNA는 CTAB, phenol-chloroform 및 컬럼 기반 RNA 분리 키트를 함께 사용하여 벼 종자 250mg에서 추출하였습니다. RNA의 양과 품질은 NanoDrop을 사용해서 측정하였습니다. 전체 RNA 추출량은 7µg이상이었습니다. RNA 완전성(integrity)은 Agilent 2100 Bioanalyzer 시스템과 6000 Nano chip(p/n 5067-1511)을 사용해 평가하였습니다(그림 2). 전체 RNA 중 25ng은 단색 Agilent Low Input Quick Amp(LIQA) Labeling Kit (p/n 5190-2305)를 사용하여 표지하고 cRNA 품질은 NanoDrop과 RNA 6000 Nano chip이 장착된 Bioanalyzer로 평가하였습니다. cRNA 1.65µg를 Agilent rice 4×44 k 벼 마이크로어레이 (AMADID: 015241)에서 혼성화 하였습니다. Agilent SureScan (p/n G4900DA)과 Feature Extraction 12.0 소프트웨어를 통해 스캐닝 및 특징 추출을 각각 수행하였습니다.

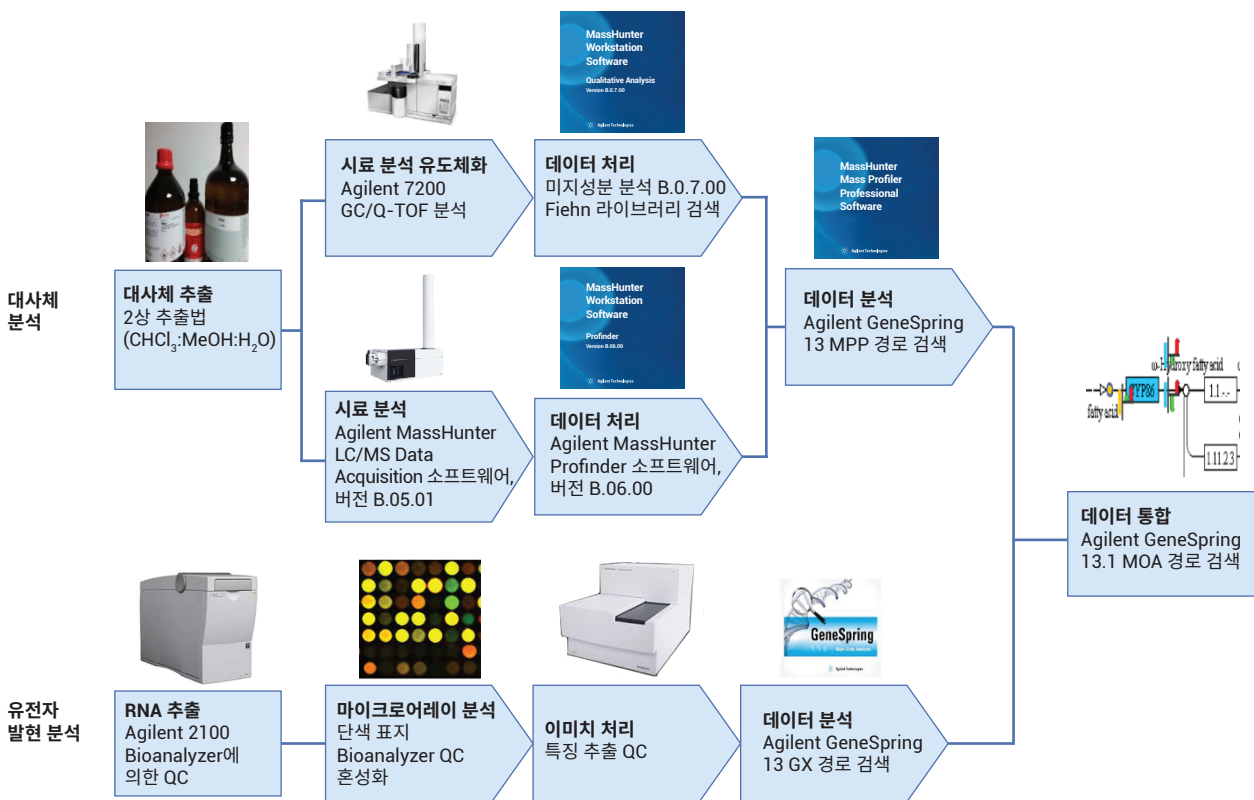


그림 1. 벼의 방사성 마커 식별을 위해 사용한 유전자 발현 및 대사체 분석 워크플로

데이터는 GeneSpring 13.1을 사용하여 분석하였으며, Moderated T-검정을 Westfall Young Permutative 다중 검정 보정(p 값 컷오프 0.05, 배율 변화 >2)과 함께 사용하였습니다. 차별 발현 유전자(DEG)는 Pathway Architect로 경로에 맵핑하였습니다.

## 정량 RT-PCR 검증

원스텝 qRT-PCR은 Agilent Brilliant III ultrafast SYBR Green QRT-PCR master mix(p/n 600886)를 이용하여 96-well plate에서 20µL로 반응 후 Agilent AriaMx Real time PCR 시스템(p/n G8830A)을 사용하여 수행하였습니다. 50°C에서 5분간 역전사 단계를 거친 후 95°C에서 3분간 변성시켰습니다. 그 다음, 95°C에서 10초간 40회 사이클을 돌리고 60°C에서 12초간 결합/신장을 수행하였습니다. 오염이 없는 것을 확인하기 위해 템플릿 없는 대조군(NTC)을 유지하였습니다. 대조군과 방사선 노출된 종자의 표적/참조 유전자에서 얻은 Cq 값은 GeneSpring 13.1의 RT-PCR 모듈로 분석했습니다. 반응결과에 따른 amplicon 크기는 Agilent 2100 Bioanalyzer 시스템에서 제조사 프로토콜에 따라 DNA 1000 키트(p/n 5067-1504)로 생성물을 분석해 확인하였습니다.

## 대사물질 추출

벼 종자는 방사성 핵종에 오염된 토양에서 재배한 벼 또는 대조군인 청정 토양에서 얻은 벼에서 얻었으며, 막자사발과 막자로 액체 질소에서 가루로 만들었습니다. 이 분말은 -80°C에서 보관하였습니다. 시료(50mg)는 chloroform:methanol:water = 1:2.5:1 (v/v/v) 혼합액으로 추출하고, 4°C에서 5분간 볼텍스 혼합하였습니다. 시료 튜브를 20,800rpm에서 2분간 원심 분리한 다음 상층액을 새 튜브에 옮겼습니다. 400µL의 초고순도 증류수를 각 상층액에 첨가한 다음, 튜브를 다시 10초간 볼텍스 혼합하고 20,800rpm에서 2분간 원심 분리하였습니다. 수용액상과 유기상(각각 위층과 아래층)은 분리 후 건조하였습니다.

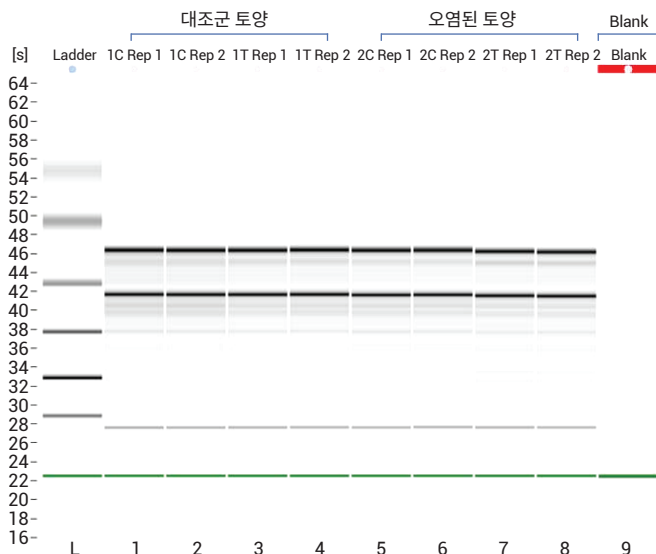


그림 2. 오염 토양 및 대조군 토양에서 재배한 벼 종자로부터 추출한 RNA의 Bioanalyzer 프로파일

## 유도체화 및 GC/Q-TOF 분석

시료 중 대사체의 유도체화는 Palazoglu와 Fiehn 프로토콜에 따라 수행하였습니다<sup>2</sup>. 대사체 분석에는 Agilent 7200 GC Q-TOF를 사용하였으며, Agilent Fiehn GC/MS Metabolomics Standards Kit (p/n 400505)에서 d<sub>27</sub> myristic acid를 머무름 시간 고정(RTL) 표준 물질로 사용하였습니다. 표 1은 본 연구에

사용된 GC Q-TOF 조건을 나타냅니다. 7200 GC/Q-TOF 데이터는 Agilent MassHunter Unknown Analysis Software(버전 B.07.00)를 사용해 처리하였습니다. 이 소프트웨어는 모델 이온 추적을 사용하여 화합물의 동시 용리를 통해 자동으로 스펙트럼을 deconvolution합니다. 스펙트럼 정보는 FAME 혼합물에 대한 머무름 지수(RI)를 기준으로 Agilent-Fiehn 라이브러리와 매칭하였습니다.

표 1. GC/Q-TOF 분석에 사용한 조건

GC 조건	
컬럼	Agilent DB-5ms, 30m × 0.25mm, 0.25µm, 가드 길이 10 m (p/n 122-5532G)
주입량	1µL
Split 모드 및 분할비	Splitless
Split/Splitless 주입구 온도	250°C
오븐 온도 프로그램	1분간 60°C 유지 10°C/분 단위로 325°C까지 상승, 10분간 유지
운반 가스	Helium, 일정 유속 최대 1.9mL/분
이송 라인 온도	290°C
Q-TOF 조건	
이온화 모드	EI
이온화원 온도	230 °C
사중극자 온도	150 °C
m/z 스캔	50~600m/z
스펙트럼 수집 속도	5 스펙트럼/초, 2679 전이/스펙트럼, centroid 모드

## LC/MS 분석

건조한 수용액상 및 유기상 분획을 100µL methanol:water(1:1 v/v)로 재부유시킨 다음, 3,000rpm에서 10분간 원심 분리하였습니다. 재부유시킨 분획의 5µL를 Agilent 6550 Accurate mass Q-TOF LC/MS 시스템과 연결한 Agilent 1290 Infinity LC System에 주입하였습니다. 기준 용액은 0.1% acetic acid를 함유한 1L의 methanol:acetonitrile:water(750:200:50)에 10µL HP921과 5µL purine을 용해하여 준비하고, 등용매 펌프를 사용해 0.3mL/min의 유속으로 분사하였습니다. 유기상에 존재하는 대사체의 MS 데이터는 양이온 및 음이온 모드에서 모두 수집하였으며, 수용액상의 대사체 데이터는 양이온 모드에서 수집하였습니다(표 2와 3). 원시 데이터는 Agilent Profinder(버전 B.06.00)로 정렬하여 통합했습니다. 이렇게 얻은 결과의 CEF 파일을 MPP로 처리하여 감마선에 노출된 벼 종자와 대조군 사이의 차이 특징을 확인하였습니다. 이 차이 특징은 Agilent METLIN 데이터베이스를 사용하여 식별하였습니다.

LC/MS 및 GC/Q-TOF에서 식별한 화합물을 대상으로 MPP/Pathway Architect 13.1을 사용하여 통계 분석, 배율 변화 및 벼 경로에 대한 맵핑을 수행하였습니다.

## 유전자 발현 및 대사체 데이터 통합

유전자 발현과 대사체학 데이터 세트는 GeneSpring/MPP/Pathway Architect 13.1에서 멀티오믹스 실험을 생성하여 결합했으며, 이를 통해 서로 다른 유형의 오믹스 데이터에 대한 상관관계 및 경로 분석이 가능하였습니다.

표 2. 유기상 분획 및 수용액상 분획에 사용한 LC 조건

유기상 LC 조건			
LC 컬럼	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 3.0 × 50mm, 2.7µm		
주입량	5µL		
유량	0.3mL/min		
항온 컬럼 온도	30 °C		
이온화 모드	양이온 모드 MS, 음이온 모드 MS		
이동상	A) 10mM ammonium acetate 포함 acetonitrile:water (2:3 v/v) B) 10mM ammonium acetate 포함 acetonitrile:isopropanol (1:9 v/v)		
LC 그레디언트	시간	A	B
	0	100	0
	2	100	0
	40	0	100
	50	0	100
	50.1	100	0
	60	100	0
수용액 상 LC 조건			
이온화 모드	양이온 모드 MS		
이동상	A) 0.2% acetic acid 첨가 water B) 0.2% acetic acid 첨가 methanol		
LC 그레디언트	시간	A	B
	0	95	5
	5	95	5
	30	0	100
	40	0	100
	40.1	95	5
	50	95	5

표 3. LC/MS 수집에 사용된 MS 이온화원 파라미터

Agilent 6550 Q-TOF 수집 파라미터	
수집 모드	MS
이온 극성	양이온/음이온
건조 가스 유량	250°C에서 15L/분
분무기	40psig
차단 가스 유량	350°C에서 10L/분
VCap	3,500V
노즐 전압	1,000 V
단편화기	100 V
MS, 범위	50~1,700 m/z

## 결과 및 고찰

### 유전자 발현

GeneSpring GX 모듈을 사용한 데이터 분석을 통해, 오염된 토양(즉, 저준위 내/외부 감마선에 노출)에서 재배한 벼에서 수확한 종자에서 총 2,331개의 차별 발현 유전자(DEG,  $p$ -값  $\leq 0.05$ , 배율 변화 컷오프  $\geq 2.0$ )를 밝혀냈습니다. 그 중 1,891개의 유전자가 상향 조절되었고, 440개의 유전자는 하향 조절되었습니다. GeneSpring 13.1은 대화형 컴퓨팅 환경으로 조사를 활성화하는 큐레이션된 경로(WikiPathways/BioCyc/KEGG)를 지원하여 생물학적 맥락에서 데이터를 이해할 수 있도록 돕습니다. Pathway Architect를 사용한 경로 분석에서는 차이 유전자가 식물의 방어, 세포벽 합성, 2차 대사체 생성, 지방산 대사, 항산화

물질 및 에너지 순환 경로에 속한다는 것을 밝혀냈습니다. 그림 3은 벼의 대사 경로에서 발생한 전반적 유전자 발현 변형의 개요를 나타내며, 이를 통해 시료에서 발생하는 이벤트를 시각화하여 이해할 수 있습니다.

녹말/sucrose 대사, 식물 호르몬 신호 형질 도입에 속한 몇 가지의 차별 발현 유전자(DEG)를 몇 종의 방어 유전자와 함께 Agilent AriaMx qRT-PCR로 검증하였습니다. 유전자 발현 마이크로어레이에서 얻은 발현 값은 qRT-PCR의 값과 동등하였습니다. 방사선 스트레스에 대한 일부 경로의 연관성은 아래에서 논의합니다.

벼 종자에서 발병 관련 유전자 *PR10*의 발현이 8.2배 증가했습니다. 이 유전자는 체르노빌 원자로 시설 주변 출입금지 구역의 방사성 핵종 오염 토양에서

방사선에 노출된 벼 잎사귀의 방사선 스트레스에 대한 단백질 마커로 식별된 바 있습니다<sup>3</sup>. *PR10*은 식물이 비생물적 및 생물적 환경 스트레스에 대항하는 데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있습니다.

방사선에 노출된 벼 종자는 지방산 대사(그림 3A), 페닐프로파노이드 생합성(그림 3B) 및 탄수화물 대사(그림 3C) 경로 등의 주요 조절 장애를 나타냈습니다. 이후에 연계된 경로에서의 변화도 대사 개요에서 추적할 수 있습니다. 페닐프로파노이드 경로에 속하여 모노리그놀류를 생성하는 유전자는 세포벽의 능동적 강화를 나타내는 향상된 발현을 보였습니다(그림 3B). 리그닌은 부분적인 방향족 화합물 특성으로 인해 감마선에 대한 저항이 있는 것으로 알려져 있습니다<sup>4</sup>.

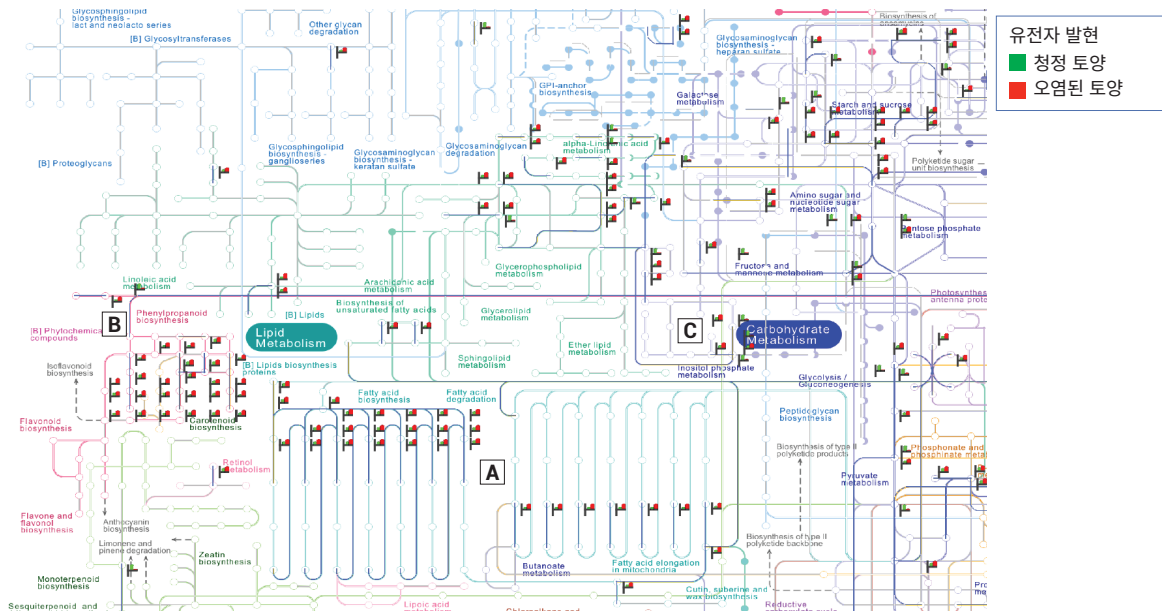


그림 3. 저준위 감마선 노출 결과 벼 KEGG 대사 경로에서 차별 조절된 유전자 개요. HeatStrips는 대조군과 방사선 노출 시료의 평균 차이 존재비 값을 표시함

GeneSpring GX의 상관관계 도구를 사용하여 단일 기술로 얻은 성분 간 관계 또는 두 가지 기술로 얻은 성분 간 연관성을 살펴볼 수 있습니다. 그림 4는 유전자 발현 연구의 몇 가지 경로에서 차이 성분들의 상관관계를 분석한 결과를 보여줍니다. Phenylalanine 생합성/대사 및 페닐프로파노이드 생합성에 속한 유전자는 양의 상관관계를 보였습니다. Phenylalanine, tyrosine, tryptophan 경로 산물은 페닐프로파노이드 경로에서 방어 관련 2차 대사체의 합성을 위한 전구체로 사용되었습니다. 페닐프로파노이드 경로 유전자를 활성화하면 리그닌이 축적되는데, 이것은 식물에서 생물학적 및 비생물학적 스트레스에 대한 방어로 알려져 있습니다. 업스트림 및 다운스트림 경로에서 유전자 간 양의 상관관계가 뚜렷했으므로, 벼 종자에서 방사선에 대한 방어가 잘 조절된다는 것을 알 수 있었습니다.

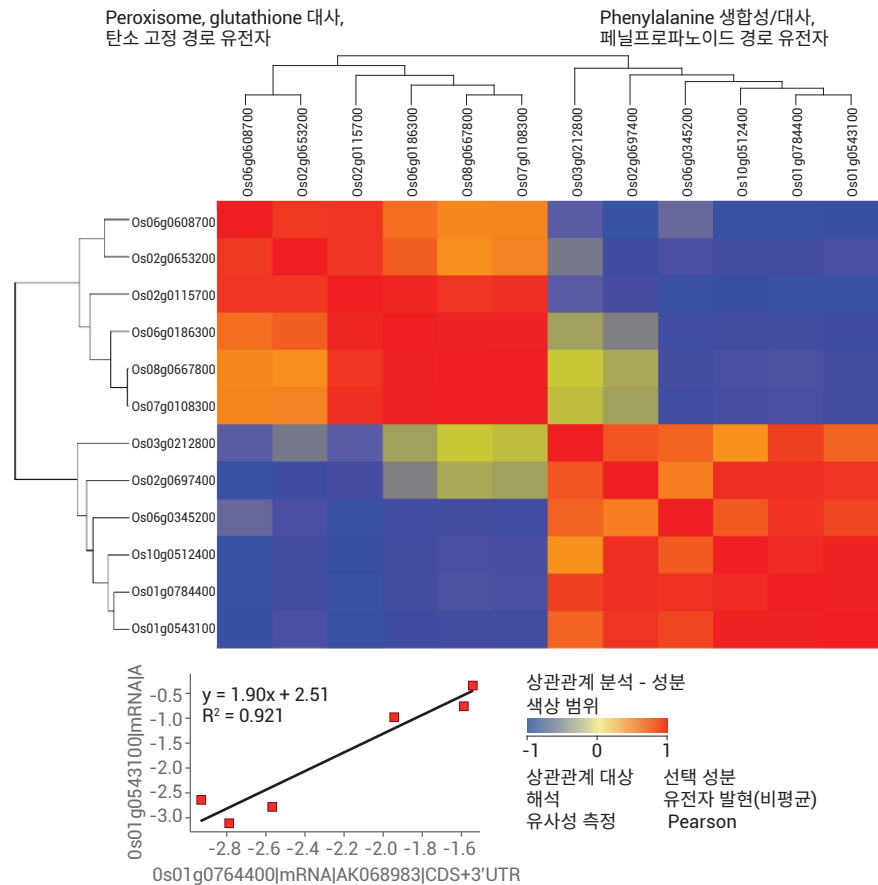


그림 4. 일부 경로에서 차이 성분의 유사성(광합성 생물의 phenylalanine, tyrosine, 및 tryptophan 생합성, 페닐프로파노이드 생합성, phenylalanine 대사, peroxisome, 탄소 고정, 그리고 glutathione 대사). 이 산점도(scatter plot)는 chorismate mutase 와 peroxidase 72 사이에 존재하는 양의 상관관계를 나타냄

## 대사체 분석

GC/MS와 LC/MS 기술을 사용하여 벼 종자에서 총 383개 대사체를 식별하였으며, GeneSpring의 MPP 모듈을 통해 50개의 차이 대사체를 식별하였습니다. 이 대사체는 벼 경로에서 주로 에너지, 지방산, 아미노산, 뉴클레오타이드 및 2차 대사 경로에 속해 있었습니다(표 4). 세포벽 단백질의 중요한 성분인 아미노산 proline은 매우 상향 조절되어 방사선 노출 종자에서 배율 변화가 17.5를 넘었습니다. 이 성분의 축적은 유해 환경 영향으로 유발된 자유 라디칼에 대항하는 세포 보호에서 중요한 역할을 하며, 식물 중 스트레스 내성의 좋은 지표 역할을 합니다<sup>5</sup>.

## 유전자 발현 및 대사체 데이터의 통합 MOA 분석

### 멀티오믹스 경로 분석

GeneSpring/MPP 13.1의 멀티오믹스 분석(MOA) 모듈을 사용하면 이질적인 데이터를 통합 분석할 수 있어 연관 관계와 데이터 일치치를 발견해 낼 수 있습니다. 따라서 이를 통해 근본적인 생물학적 메커니즘을 더욱 종합적으로 이해하는 데 도움이 됩니다. 본 연구에서는 MOA를 사용하여 유전자 발현과 대사체 데이터를 결합하였습니다. 결과에서는, 분석한 두 가지 오믹스 사이의 여러 경로에서 겹쳐지는 성분이 나타났습니다(표 5). Linolenic acid와 12-OPDA라는 두 가지 대사체가 *alpha* linoleic acid 대사의 ACX 유전자와 함께 상향 조절되었습니다. 이 경로는 호르몬인 jasmonic acid의 생성에 관련되어 있으며, 이 물질은 식물의 스트레스 반응과 관련이 있습니다.

표 4. LC/MS 및 GC/MS로 식별한 벼 종자의 일부 감마선 유도 차이 대사체, 배율 변화 및 조절 정보 포함(MPP 13.1)

화합물명	CAS 번호	질량	Log FC	조절
아미노산				
L-Arginine	74-79-3	174.1121	-18.2	하향
DL-Serine	302-84-1	105.0429	-16.5	하향
L-Methionine	63-68-3	149.0516	-17.9	하향
D-Proline	344-25-2	115.0632	17.5	상향
L-Alanine	56-41-7	116.0885	22.7	상향
탄수화물				
Glucose	50-99-7	180.0632	-13.2	하향
Ribose	24259-59-4	307.1575	-2.7	하향
Trehalose	6138-23-4	363.1725	26.0	상향
Raffinose	17629-30-0	365.1696	24.5	상향
유기산				
Pimelic acid	111-16-0	154.9934	-6.6	하향
Phosphoric acid	7664-38-2	299.0720	2.9	상향
Oxalic acid	144-62-7	147.0659	15.2	상향
지방산				
Methyl palmitoleate	1120-25-8	96.00481	-6.7	하향
Linolenic acid	463-40-1	278.2248	21.3	상향
Stearic acid	57-11-4	284.2717	21.8	상향
Linoleic acid	60-33-3	337.1711	-2.3	하향
2차 대사물질				
Ferulic acid	1135-24-6	323.1081	-3.4	하향
12-OPDA	85551-10-6	292.1996	16.0	상향

표 5. 벼 경로에서의 유전자 발현 및 LC/MS 대사체 데이터 사이의 중첩 성분

경로	유전자 발현		대사체	
	일치된 성분	경로 성분	일치된 성분	경로 성분
Purine 대사	3	132	2	92
Pentose phosphate 경로	2	48	1	35
Sulfur 대사	1	35	1	29
Cysteine 및 Methionine 대사	4	85	3	57
<i>alpha</i> -linolenic acid 대사	3	33	1	40
Pyrimidine 대사	2	112	1	66
Glycine, serine 및 threonine 대사	3	55	2	51
Sphingolipid 대사	2	22	1	25
Aminoacyl-tRNA 생합성	2	114	4	52
Arginine 및 proline 대사	2	63	3	90



또한 멀티오믹스 경로 분석은 다양한 오믹스 수준에서 성분을 직접 시각화하고, 여러 가지 연결된 이벤트의 개요를 제공합니다. 예를 들어, 불포화 지방산 경로 유전자와 대사체의 증가는, 다운스트림 cutin과 suberin 생합성 유전자 및 대사체의 후속적 증가로 나타났습니다(그림 5).

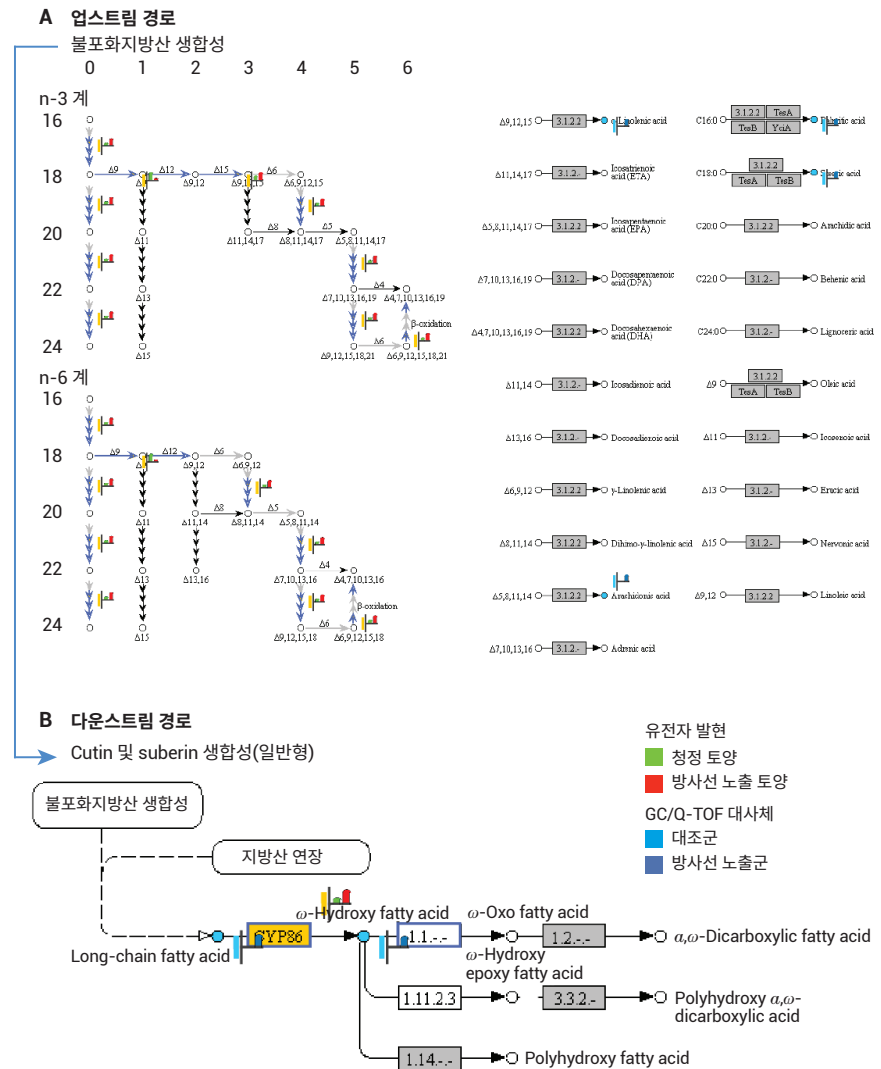


그림 5. 업스트림 및 다운스트림 경로의 성분 간 상호 작용을 증명하는 일부 예시. A) 유전자와 대사체의 상향 조절이 불포화지방산 경로의 생합성과 (B) 이후의 cutin 및 suberin 생합성 경로에서 명확히 드러남. 열 스트립은 대조군과 방사선 노출 시료의 평균 차이 존재비 값을 나타냄. 열 스트립을 따라 있는 노란색 막대는 유전자를 나타내며, 파란색 막대는 대사체에 대한 결과를 나타냄



## 멀티오믹스 상관관계 분석

기술 간 상관관계 분석을 통해 유전자 및 대사체와 같이 함께 조절되는 성분을 식별할 수 있습니다. 본 연구에서는 탄수화물 대사와 지방산 대사 경로로부터 몇 가지 차이 유전자와 대사체에 대한 상관관계를 분석하였으며, 그 결과 대사체 raffinose 및 trehalose와 탄수화물 대사 경로의 유전자 사이에서 양의 상관관계를 관측하였습니다(그림 6).

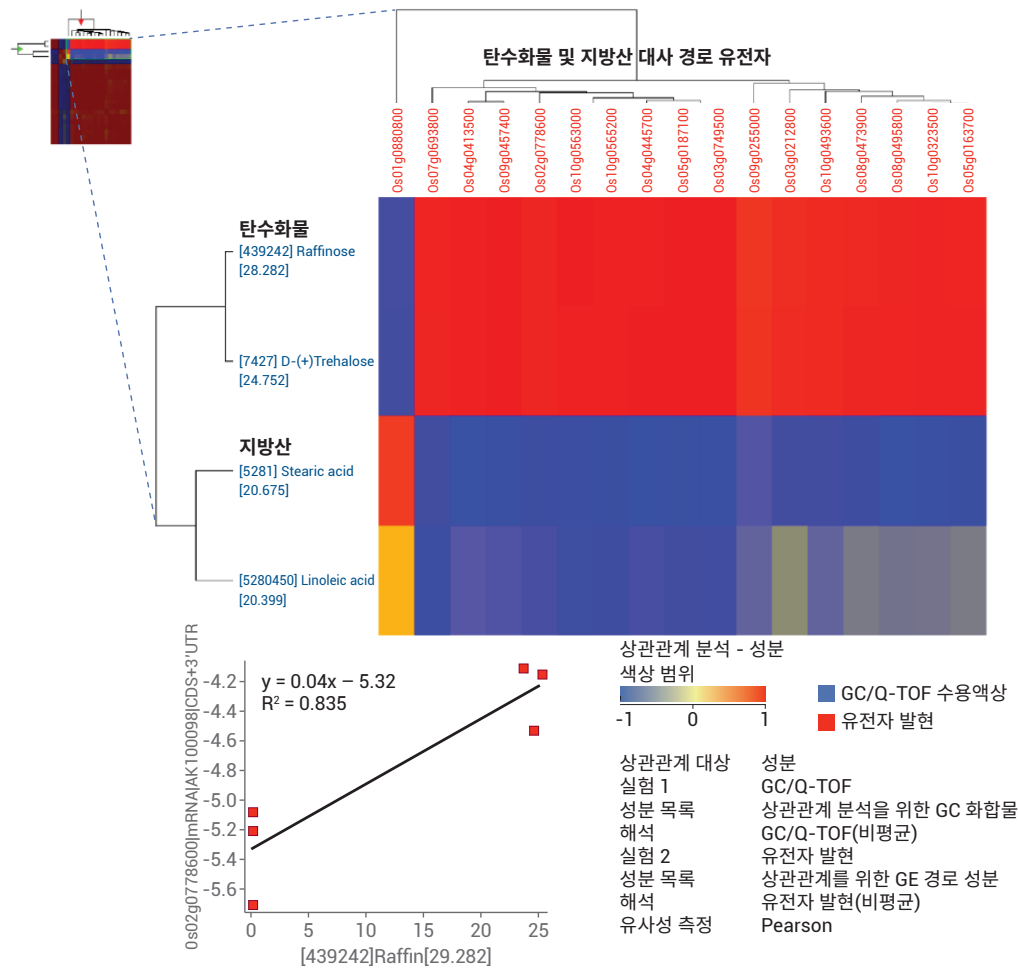


그림 6. 감마선에 노출된 벼 종자의 탄수화물 대사/지방산 대사에서 유전자 발현과 대사 차이의 상관관계 분석 (Pearson) 열지도. 이 산점도(scatter plot)는 cellulose 5(Os02g0778600) 유전자와 대사체인 raffinose 사이에서 양의 상관관계를 보임

## 결론

이 연구에서는 Agilent 멀티오믹스 솔루션을 적용하여, 잘 조절된 방어 메커니즘으로 나타나는 것을 통해 저준위 감마 방사선에 벼 종자가 반응한다는 것을 확인하였습니다.

Agilent GeneSpring/MPP 13.1을 사용한 전사체 및 대사체 데이터의 종합적 멀티오믹스 분석 결과, 유해한 환경 요소에 대한 식물의 스트레스 반응에 관여하는 여러 대사 경로에서 차이 유전자 및 대사체가 상당히 중첩되는 것을 발견하였습니다. 이러한 특징은 감마선에 노출된 벼 종자의 방사능 마커로 사용할 수 있습니다.

Agilent 플랫폼과 소프트웨어 도구를 결합한 통합 오믹스 분석은 스트레스를 겪는 식물에서 발생하는 중요한 이벤트를 식별하기 위한 강력한 접근법입니다.

## 참고문헌

1. Hayashi, G.; et al. Unraveling low-level gamma radiation-responsive changes in expression of early and late genes in leaves of rice seedlings at litate village, Fukushima. *J. Hered.* **2014**, *105*, pp 723-738.
2. Palazoglu, M; Fiehn, O. Metabolite identification in blood plasma using GC/MS and the Agilent Fiehn GC/MS Metabolomics RTL Library. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-3638EN, **2009**.
3. Rakwal, R.; et al. Ultra low-dose radiation: stress responses and impacts using rice as a grass model. *Int. J. Mol. Sci.* **2009**, *10*(3), pp 1215-1225
4. Brauns, F. E.; Brauns, D. A. The chemistry of lignin: Covering the literature for the years 1949–1958. Academic Press Inc.: New York, USA, 1960, page 564.
5. Neelam, D.; et al. Radiation Sensitivity of *Cajanus cajan* to gamma radiations. *J. Food Process Technol.* **2014**, *5*:394.



[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

연구 용도로만 사용하십시오. 진단 용도로는 사용하지  
수 없습니다.

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2016  
한국에서 발행, 2016년 3월 1일  
5991-6416K0

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418  
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부  
고객지원센터 080-004-5090 [www.agilent.co.kr](http://www.agilent.co.kr)



**Agilent Technologies**