

화학적 변이에 대한 Cinnamaldehyde의 항돌연변이 작용기구

송근섭 · 한상배* · 최동성**

이리농공전문대학 식품공업과

* 식품의약품안전본부 서울지방청

** 우석대학교 생물식품 및 환경화학부

The Mechanism of Antimutagenic Effect of Cinnamaldehyde on Chemical Mutagenesis

Geun-Seoub Song, Sang-Bae Han* and Dong-Seong Choi**

Dept. of Food Engineering, Iri National College of Agriculture & Technology, Iksan 570-110

* Seoul FDA, Seoul 135-090

** Division of Food, Environmental and Chemical Engineering and

Biotechnology, Woosuk University, Wanju, 565-701

Abstract

The antimutagenic mechanism of cinnamaldehyde on mutagenesis induced by 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO) and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) was investigated in various DNA repair-deficient strains, *E. coli* B/r and K-12 series. Cinnamaldehyde did not show any effects not only on the β -galactosidase activities of GW1060 and GW1103(*recA441*) which synthesizes β -galactosidase constitutively at 41°C but also on that of GW1107[*lexA51* (Def)] in which the SOS response always occur. These results suggest that cinnamaldehyde does not change the function of RecA which positively controls the SOS response as well as not acting as the repressor like LexA. In addition, no inhibitory effect of cinnamaldehyde was observed on the growth of Trp⁺ revertant and the delay of viable cell growth was also not found by adding cinnamaldehyde. Despite the decrease in the number of revertants, a significant increase in survival of 4-NQO treated cells was observed in *E. coli* WP2s (*uvrA*), ZA159 (Δ *uvrB*) and TK603 (*uvrA*). But these effects disappeared in excision-proficient strain WP2 (*uvrA*⁺) and *lexA*-deficient strains(CM561 and CM611). The enhancement of survival was not found in WP67 (*uvrA polA*) deficient in polymerase I which ligates the gap between complementary DNA. From the above results, we assume that cinnamaldehyde might show antimutagenic effect by enhancing an error-free recombinational repair system.

Key words : cinnamaldehyde, mechanism of antimutagenic effect, recombinational repair

서론

세균에 있어서도 돌연변이의 전과정이 아직 명백하게 밝혀져 있지 않지만, 일반적으로 화학적 돌연변이는 몇 가지 단계 즉, 변이원의 세포내로의 incorporation, 반

응성 대사산물의 형성, DNA와의 반응, DNA 복제 및 DNA 수복을 포함하는 단계들로 구성되어져 있는 것으로 알려져 있다. 최근 이와 같은 돌연변이 유발과정의 여러 단계중에 작용함으로써 환경변이원으로부터의 유전독성 위해성을 억제할 수 있는 다양한 요인들이 있을

것으로 기대되어 지난 십여년동안 세균분석계를 이용한 광범위한 연구로부터 돌연변이 억제효과를 나타내는 물질들이 발견되어져 왔다. Cinnamom oil의 주성분으로 알려져 있는 cinnamaldehyde도 그중 하나로서 Kak-inuma 등¹⁾에 의하여 처음으로 항돌연변이 활성이 있는 것으로 보고되었다. Cinnamaldehyde의 항돌연변이 효과에 대한 연구에서 Ohta 등²⁾은 생세포수 및 자발적인 복귀돌연변이수에는 영향을 미치지 않으면서 4-nitroquinoline 1-oxide(4-NQO)에 의한 Trp⁺ 복귀돌연변이의 수가 감소됨을 보고하였다. 또한 Ohta 등³⁾은 일부 DNA 수복 경로가 결여되어 있는 여러 가지 돌연변이주를 사용하여 cinnamaldehyde가 이들 미생물의 생존력에 미치는 영향을 조사한 결과 생존율의 증가는 *recA* 유전자 기능과 관련되어 있으며, cinnamaldehyde는 RecA protein에 작용함으로써 오류없는 재조합 수복을 촉진시키는 것으로 추정하였다.

한편 Rutten과 Gocke⁴⁾는 cinnamaldehyde가 일시적으로 생육지연을 유도함으로써 4-NQO에 의하여 유발된 DNA 손상이 오류없이 수복될 수 있도록 하며, 반면에 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)에 의한 DNA 손상의 수복에 대해서는 생육지연이 영향을 미치지 못하는 것으로 보고하였다. de Silva 등⁵⁾도 *Salmonella typhimurium*을 이용하여 4-NQO에 의한 돌연변이에 대하여 cinnamaldehyde의 영향을 조사한 결과 복귀돌연변이의 수가 감소되었으며, 이와 같은 효과는 미생물의 생존에는 아무런 영향없이 lag phase가 2~4시간 지연되어지기 때문인 것으로 보고하였다.

이와 같이 cinnamaldehyde의 항돌연변이 작용기구가 아직 명확하게 밝혀져 있지 않으며, 환경변이원의 위해성 판단을 위해서는 돌연변이 유발력을 변형시킬 수 있는 요인들에 대한 더욱 상세한 이해가 중요하게 여겨지고 있음에도 불구하고 국내에서는 이와 같은 시도가 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 *Escherichia coli* B/r 계열 및 *E. coli* K-12 계열의 다양한 DNA 수복 결손주를 사용하여 MNNG와 4-NQO에 대한 cinnamaldehyde의 항돌연변이 효과, 생존율 변화 및 생육시간의 변화를 비교 검토함으로써 지금까지 밝혀져 있는 cinnamaldehyde의 항돌연변이 작용기구를 더욱 뒷받침할 수 있는 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 균 주

본 연구에 사용된 균주는 Table 1과 같다. *E. coli* WP2 series는 일본의 Ohta박사로부터, *E. coli* GW

series는 미국의 Opperman박사로부터, TK test에서 사용된 균주인 *E. coli* TK series는 일본의 Watanabe-Akanuma 박사로부터 분양받아 사용하였다.

2. 시약 및 기기

4-nitroquinoline-1-oxide(4-NQO), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG), L-tryptophan, L-histidine, *o*-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside(ONPG), *p*-nitrophenyl phosphate disodium(PN-PP), cinnamaldehyde는 Sigma사 제품을, petri dish는 γ -ray 살균제품(NUNC Co.)을 사용하였다. 4-NQO와 cinnamaldehyde의 용매로서는 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 사용하였고, MNNG는 3차 증류수(ddH₂O)를 사용하여 용해하였다. SOS Chromotest와 GW series 실험의 흡광도는 Spectronic 21(Bausch & Lomb Co.)을, 혼탁도는 Klett-Summerson colorimeter(Klett-Summerson Co.)를 사용하여 측정하였다. WP2 test와 TK test의 cell count는 colony counter(Model 560, Sontex Co.)를 이용하여 측정하였다.

3. *E. coli* GW series test

30°C에서 하룻밤 전배양한 배양액(ADS 70, 1×10⁹ cells/ml)을 L medium[bacto tryptone 10 g, bacto yeast extract 5 g, NaCl 10 g, ampicillin (20 μ g/ml) per liter]에 1:10(v/v)으로 희석하고 30°C에서 약 3시간 진탕배양한 다음(ADS 25, 1×10⁸ cells/ml), 41°C에서 1시간 배양하여 SOS response를 유도하고 이어 30°C에서 1시간 배양하였다(ADS 70, 1×10⁹ cells/ml). Cinnamaldehyde 100 μ l(최종농도 80 μ g/ml)를 41°C에서의 SOS response 유도반응 직전에 첨가하였다. 이 배양액의 탁도(OD₆₆₀)를 측정한 후, Miller의 방법을 약간 수정하여 β -galactosidase(β -Gal) 활성을 측정하였다⁶⁾. 즉, 배양액 200 μ l에 Z buffer[Na₂HPO₄·12H₂O 21.5 g, NaH₂PO₄·2H₂O 6.25 g, KCl 0.75 g, MgSO₄·7H₂O 0.25 g, β -mercaptoethanol 2.7 ml per liter(pH 7)] 1.8 ml, 0.2% SDS 용액 50 μ l와 chloroform 20 μ l를 첨가하고 37°C에서 10분간 두어 온도를 균일화시킨 다음, ONPG(4 mg/ml) 0.4 ml를 첨가하여 정색반응을 진행시켰다. 1 M Na₂CO₃ 1 ml를 첨가하여 반응을 정지시키고 400nm와 550nm에서의 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 아래와 같이 나타내었다. 단 t는 반응시간(min), v는 반응부피(ml)이다.

Table 1. Genotypes of *E. coli* B/r and K-12 strains used in this study

Tester strains	Genotypes
<i>E. coli</i> B/r	<i>trpE65(Oc) malB15 lon-11 sulA1</i>
WP2	
WP2s	as WP2, also <i>uvrA155</i>
WP67	as WP2, also <i>uvrA155 polA1</i>
CM561	as WP2, also <i>lexA102 malB⁺</i>
CM611	as WP2, also <i>uvrA155 lexA102 malB⁺</i>
ZA159	as WP2, also Δ <i>uvrB</i> Δ <i>chl</i>
<i>E. coli</i> K-12	<i>his-4(Oc) thr-1 leu-6 proA2 argE3 thi-1 galK2 lacY1</i>
AB1157	<i>ara-14 xyl-5 mtl-1 tsx-33 rpsL31 supE44</i>
TK603	as AB1157, also <i>uvrA6 ilv-325 argE⁺</i>
TK610	as AB1157, also <i>uvrA6 umuC36 ilv-325 argE⁺</i>
<i>E. coli</i> B/r	<i>uvrA215::Mud(Ap lac) cts lacΔU169 recA441(tif-1) sfiA11</i>
GW1060	<i>his-4 strA31(rpsL) thr leu thi arg ilv^s galK</i>
GW1103	<i>umuC::Mud(Ap lac) cts lacΔU169 recA441(tif-1) sfiA11 his-4</i>
	<i>uvrA6 strA31(rpsL) thr leu thi arg ilv^s galK</i>
GW1105	as GW1103, also <i>uvrA⁺ lexA3(Ind-) malE::Tn5</i>
GW1107	as GW1103, also <i>uvrA⁺ lexA51(Def)</i>

β -Galactosidase activity =

$$1,000 \times \frac{OD_{400} - 1.75 \times OD_{550}}{t \times v / 2 \times OD_{660}}$$

4. *E. coli* WP2 series test

하룻밤 전배양한 WP2 series 배양액(ADS 70, 1×10^9 cells/ml)을 Oxoid nutrient broth No.2로 1:10(v/v)으로 희석하고 37°C에서 약 4시간 진탕배양한 다음(ADS 70, 1×10^9 cells/ml), 원심분리(1, 200×g, 30min)하여 배지를 제거하였다. 침전된 균체에 5 ml의 PB solution(M/15 phosphate buffer, pH 7.2)으로 재현탁시키고 변이원 200 μ l를 첨가한 후, 37°C에서 1시간 진탕배양하여 돌연변이를 유도하고, 다시 원심분리하여 변이원을 제거한 다음 5 ml의 PB solution으로 재현탁시켰다. 돌연변이가 유도된 WP2 series 현탁액 200 μ l 및 cinnamaldehyde 100 μ l(최종농도 80 μ g/ml), L-tryptophan(최종농도 1 μ g/ml)이 첨가된 top agar[agar 6 g, NaCl 5g per liter] 2 ml를 혼합하여 Vogel-Bonner glucose agar medium(VBM)[agar 15 g, 50× VB salts(warm ddH₂O 670ml, MgSO₄·7H₂O 10 g, citric acid monohydrate 100 g, K₂HPO₄(anhydrous) 500 g, NaNH₅PO₄·4H₂O 175 g per liter) 20 ml, 40% glucose 10 ml per liter ddH₂O]에 평판, 고화시키고, 37°C에서 48시간 배양하여 Trp⁺ 복귀돌연변이주를 계수하였다. 한편, 변이원이 처리된 균 현탁액을 10⁻³까지

희석한 다음, 각 희석액 100 μ l 및 cinnamaldehyde 100 μ l(최종농도 80 μ g/ml), top agar 2 ml를 혼합하여 Vogel-Bonner nutrient agar medium(VBNM)[VBM, 5% (v/v) Oxoid nutrient broth No.2]에 평판, 고화시키고, 37°C에서 24시간 배양하여 균을 계수하여 생존율을 측정하였다.

5. *E. coli* TK series test

실험방법은 *E. coli* GW series test와 같으나, L-tryptophan 대신에 L-histidine (1 μ g/ml)을, VBM 대신에 HCA agar medium[agar 15 g, Tris salts 12.1 g, NH₄Cl 1 g, KH₂PO₄ 22 mg, KCl 1.49 g, NaCl 4.68 g, Na₂SO₄ 220 mg, MgCl₂·6H₂O 2.03 g, CaCl₂·2H₂O 147 mg, FeCl₃·6H₂O 8.1 mg, thiamine 200 μ g, glucose 2 g, threonine, leucine, valine, isoleucine 각각 100 mg, arginine, proline 각각 200 mg, casamino acids(Difco) 40 mg per liter(pH 7.2)]을, VBNM 대신에 HCAO plate [HCA, 5% (v/v) Oxoid nutrient broth No.2]를 사용하였다.

6. Reconstruction assay

Cinnamaldehyde가 Trp⁺ 복귀돌연변이주의 생육에 선택적으로 작용하는지를 확인하기 위하여 reconstruction assay를 실시하였다. 즉, tryptophan이 첨가되지 않은 VBM plate에 나타난 WP2s Trp⁺ 복귀돌연변이주를 새로운 VBM plate를 이용하여 재선발한 다음 liquid minimal glucose medium에 24시간 배

양하였다. 이 배양액을 PB solution을 이용하여 1×10^3 cells/ml의 균농도가 되도록 희석한 다음, 희석액 200 μ l, cinnamaldehyde(80 μ g/ml) 100 μ l, top agar 2 ml를 혼합하여 VBM plate에 평판, 고화시켰다. 37°C에서 24시간 배양하여 콜로니를 계수하였다.

7. Cell division에 미치는 영향

Cinnamaldehyde가 전체적인 균 생육에 어떠한 영향을 미치는가를 확인하기 위하여 cell division assay를 실시하였다. 즉, 돌연변이가 유도된 균 200 μ l를 L-tryptophan(10 μ g/ml)이 첨가된 liquid minimal glucose medium 5 ml에 접종하고, 37°C에서 배양하면서 30분마다 적당한 농도로 희석한 균액 100 μ l와 top agar 2 ml를 혼합하여 VBNM plate에 평판, 고화시켰다. 37°C에서 24시간 배양하여 콜로니를 계수하였다.

결과 및 고찰

1. *E. coli* GW series에서의 cinnamaldehyde의 영향

Cinnamaldehyde 그 자체가 SOS response의 조절인자인 RecA와 LexA에 직접 영향을 주는지를 확인하기 위하여 *E. coli* GW series를 이용하여 β -Gal을 정량하였다. Cinnamaldehyde가 RecA를 분해하거나 LexA와 유사하게 SOS response의 repressor로서 작용한다면 SOS response는 전혀 유도되지 않을 것이며, 또한 4-NQO와 같은 SOS 수복 의존성 돌연변이원 처리에 의해서도 돌연변이가 유도되지 않을 것이다. Table 2에 나타난 바와 같이 GW1060(*uvrA215::Mud*

recA441)과 GW1103(*umuC::Mud recA441*)에 있어서 cinnamaldehyde의 첨가구와 무첨가구에서의 β -Gal의 활성은 차이를 보이지 않았으므로 cinnamaldehyde는 SOS response의 positive 조절인자로서의 RecA 작용에 아무런 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. GW1105[*lexA3* (Ind⁻)]와 GW1107[*lexA51* (Def)]의 β -Gal 활성에 있어서도 cinnamaldehyde 첨가로 인하여 거의 변화가 없는 것으로 나타나 cinnamaldehyde가 LexA와 같은 SOS repressor로서 작용하지 않는 것으로 생각되었다.

2. *E. coli* WP2 series와 TK series에서의 영향

항돌연변이 효과가 보고된 cinnamaldehyde는 위 실험결과에서도 볼 수 있듯이 SOS response의 조절인자인 RecA와 LexA에 대하여 아무런 영향을 나타내지 않았다. 따라서 cinnamaldehyde는 손상된 DNA의 어떤 수복시스템에 작용하여 항돌연변이 효과를 나타낼 것으로 생각되어 수복시스템 결손 변이주들인 *E. coli* WP2 series와 TK series를 이용하여 대표적인 SOS 수복 의존성 변이원인 4-NQO⁷⁾와 직접적인 염기서열 변경을 유도함으로써 돌연변이를 유발하는 것으로 알려져 있는 MNNG⁸⁾의 변이원성에 대한 cinnamaldehyde의 영향을 조사하였다(Table 2). 먼저 WP2 series의 기본균주인 WP2s에 대한 cinnamaldehyde의 영향을 조사한 결과 4-NQO의 변이원성을 60% 감소시키고 동시에 균 생존율 또한 12% 상승시킨 반면, MNNG에 대해서는 아무런 효과를 나타내지 못하였다. 또한 Trp⁺ 복귀돌연변이주에 대한 선택적인 균 생육 억제에 의하여 항돌연변이 활성이 나타났는지를 확인

Table 2. Effect of cinnamaldehyde on SOS response of *E. coli* GW strains after treatment with 4-NQO and MNNG

Strain	SOS response induction	Cinnamaldehyde	OD ₄₀₀	OD ₅₅₀	OD ₆₆₀	Reaction time (min)	β -Gal activity
GW1060 <i>uvrA215::Mud recA441</i> (<i>tif-1</i>)	41°C	(-)	0.406	0.033	0.485	10	718
		(+)	0.394	0.030	0.466	10	732
GW1103 <i>umuC::Mud recA441</i> (<i>tif-1</i>)	41°C	(-)	0.197	0.040	0.520	30	81
		(+)	0.186	0.030	0.499	30	89
GW1105 <i>lexA3</i> (Ind ⁻)	30°C	(-)	0.040	0.022	0.528	15	1.89
		(+)	0.037	0.020	0.504	15	2.64
GW1107 <i>lexA51</i> (Def)	30°C	(-)	0.451	0.030	0.428	10	931
		(+)	0.432	0.026	0.417	10	926

Table 3. Effect of cinnamaldehyde on DNA repair mutants after treatment with 4-NQO and MNNG

Strain	Mutagen treatment (revertants)	Cinnamaldehyde	Revertants /plate	I.R. ^(a) (%)	Mutagen treatment (survival)	% Survival	I.R. ^(b) (%)
WP2s <i>uvrA155</i>	4-NQO (2 µg/ml)	(-)	984	60	4-NQO (4 µg/ml)	10	12
		(+)	392		MNNG (60 µg/ml)	22	
	MNNG (3 µg/ml)	(-)	967	-9		6	0
		(+)	1054			6	
ZA159 Δ <i>uvrB</i> Δ <i>chl</i>	4-NQO (2 µg/ml)	(-)	735	57	4-NQO (4 µg/ml)	2	10
		(+)	318			13	
	MNNG (3 µg/ml)	(-)	923	-1	MNNG (60 µg/ml)	2	0
		(+)	936			2	
TK603 <i>uvrA6</i>	4-NQO (3 µg/ml)	(-)	876	29	4-NQO (8 µg/ml)	13	8
		(+)	621			21	
	MNNG (4 µg/ml)	(-)	920	1	MNNG (60 µg/ml)	4	2
		(+)	908			6	
TK610 <i>uvrA6</i> <i>umuC36</i>	4-NQO (3 µg/ml)	(-)	5	0	4-NQO (5 µg/ml)	8	13
		(+)	5			21	
	MNNG (4 µg/ml)	(-)	620	-2	MNNG (60 µg/ml)	4	-1
		(+)	634			3	
WP2	4-NQO (90 µg/ml)	(-)	157	4	4-NQO (160 µg/ml)	8	1
		(+)	151			9	
	MNNG (3 µg/ml)	(-)	923	1	MNNG (80 µg/ml)	2	0
		(+)	912			2	
CM561 <i>lexA102</i>	4-NQO (90 µg/ml)	(-)	4	0	4-NQO (20 µg/ml)	6	-1
		(+)	4			5	
	MNNG (4 µg/ml)	(-)	661	-8	MNNG (10 µg/ml)	12	1
		(+)	714			13	
CM611 <i>lexA102</i> <i>uvrA155</i>	4-NQO (2 µg/ml)	(-)	3	0	4-NQO (0.5 µg/ml)	10	2
		(+)	3			12	
	MNNG (4 µg/ml)	(-)	512	-2	MNNG (8 µg/ml)	8	1
		(+)	521			9	
WP67 <i>uvrA155</i> <i>polA1</i>	4-NQO (2 µg/ml)	(-)	891	44	4-NQO (4 µg/ml)	8	2
		(+)	501			10	
	MNNG (2 µg/ml)	(-)	70	-6	MNNG (4 µg/ml)	11	2
		(+)	74			13	

(a) I.R : Inhibition rate of mutagenesis

(b) I.R : Increasing rate of survival

하기 위하여 reconstruction assay를 실시하였다. Table 3에서 볼 수 있는 것과 같이 cinnamaldehyde의 첨가구와 무첨가구에서의 Trp⁺ 복귀돌연변이주 수의 차이를 나타내지 않아 cinnamaldehyde에 의한 Trp⁺ 복귀돌연변이주에 대한 선택적인 균 생육 억제 현상은 나타나지 않았다.

한편 de Silva 등⁵⁾은 *Salmonella typhimurium*을 이용하여 4-NQO의 변이원성에 대한 cinnamaldehyde의 효과를 조사한 결과 lag phase의 연장으로 인한 항돌연변이 활성을 나타냄을 보고하였으나, Fig. 1에 나타난 바와 같이 *E. coli* WP2s를 이용한 본 연구에서는 cin-

naldehyde에 의한 생육 지연효과는 나타나지 않았다.

위와 같은 결과와 지금까지 알려진 *E. coli*에서의 DNA 수복시스템을 고려할 때 cinnamaldehyde의 항돌연변이 활성에 대한 가능한 기작은 첫째 돌연변이를 수반하는 SOS 수복 저해효과, 둘째 SOS 수복의 충실도 상승효과, 셋째 절제수복, 부정합수복, 재조합 수복과 같은 착오없는 수복시스템의 상승효과 등 3가지로 생각할 수 있었다. SOS 수복이 비록 돌연변이를 수반하지만 균의 생존율은 증가시키는 긴급 수복계이기 때문에^{9,10)} cinnamaldehyde에 의한 SOS 수복의 저해효

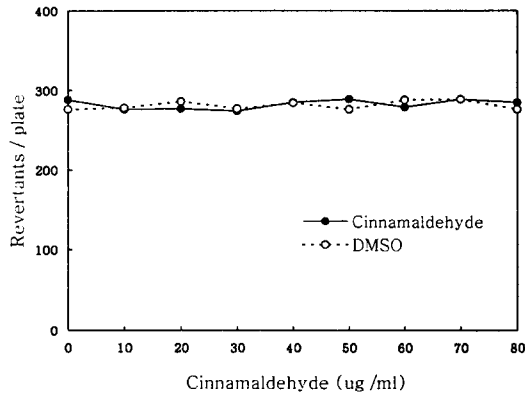


Fig. 1. Effects of cinnamaldehyde on the growth of Trp^+ revertants.

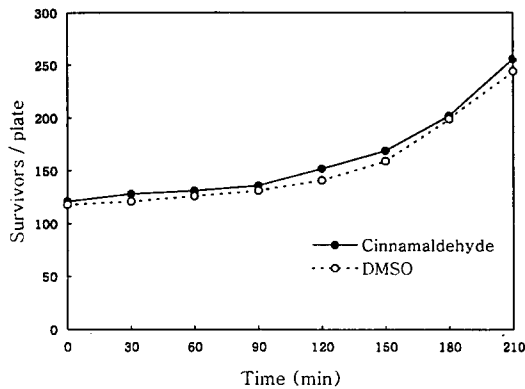


Fig. 2. Effects of cinnamaldehyde on the first cell division in *E. coli* WP2s after 4-NQO treatment.

과가 있었다면 돌연변이를 뿐만 아니라 생존율 또한 감소할 것이다. 그러나 cinnamaldehyde 첨가에 의하여 돌연변이율이 감소되었던 WP2s와 ZA159에서 오히려 생존율이 증가하였으므로 SOS 수복 저해 가능성은 없는 것으로 생각되었다. 돌연변이율의 감소와 동시에 생존율이 증가한 위와 같은 결과와 특히 SOS 수복 의존성 돌연변이원인 4-NQO에 대해서만 효과가 나타난 것은 SOS 수복의 충실도 상승효과라는 가능성을 강하게 제시하였다. 만약, 위와 같은 가능성이 사실이라면 SOS 수복 결손주에서는 어떤 효과도 나타나지 않을 것이므로 SOS 수복 결손주인 TK610(*umuC*⁻)과 그 대조주인 TK603(*umuC*⁺)에서의 영향을 비교하였다. TK603에서 돌연변이율 감소와 생존율 증가가 있었으나 TK610에서도 역시 강한 생존율 증가가 나타나

SOS 수복의 충실도 상승효과도 또한 없는 것으로 생각되었다. 지금까지 사용된 모든 균주는 절제수복이 결여된 균주(*uvrA*⁻, Δ *uvrB*)이기 때문에 cinnamaldehyde가 절제수복의 상승효과를 통하여 항돌연변이 활성을 나타낸 것으로도 생각할 수 없었다. 또한 부정합 수복은 주로 염기유사물질이나 알킬화제에 의한 염기쌍 변경손상에 작용하는 수복계임을 고려할 때¹¹ 대표적인 알킬화제인 MNNG에 대해서는 효과를 보이지 않은 반면, 부정합 수복과는 거리가 먼 4-NQO에 대해서 강한 효과가 나타났기 때문에 cinnamaldehyde가 부정합 수복 상승작용을 나타내지 않은 것으로 생각된다.

이상의 결과는 cinnamaldehyde가 재조합 수복의 상승효과를 통하여 항돌연변이 활성을 나타냈다고 보고한 Ohta 등³⁾의 추정과 일치하였다. 재조합 수복은 절제수복이나 adaptive response에 의한 수복과는 달리 꼭 DNA 복제 후에 일어난다는 점에서 절제수복의 단점을 보완하는 수복 기구이다¹². 따라서 SOS response가 유도되지 않은 상태에서도 고수준으로 발현되는 절제수복의 존재시에는 그 효과가 어느 정도 상쇄될 것이다. 이러한 사실은 절제수복이 결여되지 않은 균주인 WP2(*uvrA*⁺)에서의 돌연변이 저해율이 절제수복이 결여된 WP2s(*uvrA*⁻), ZA159(*uvrB*)와 TK603(*uvrA*⁻)에서 보다는 현저하게 낮았고 생존율의 상승도 거의 나타나지 않은 결과로부터 확인되었다. 또한 재조합 수복은 SOS 수복과 마찬가지로 복제포오크가 지연될 경우에 일어나지만 복제착오가 일어나지 않는다는 차이점이 있다¹². 4-NQO는 복제포오크를 멈추게 하여 SOS response를 유발하는 돌연변이원이며, MNNG는 복제포오크의 지연과는 관계없이 직접적인 염기쌍 변경에 의해 돌연변이를 일으키는 변이원^{7,8)}임을 고려하면, cinnamaldehyde가 4-NQO에 의해 유도된 돌연변이에 대해서는 효과를 보인 반면에, MNNG에 의한 돌연변이에 대해서는 아무런 효과를 보이지 않았다는 점에서 강한 설득력을 가진다 할 수 있다. 재조합 수복에 관여하는 주요 유전자는 *recA*, *B*, *F*, *polA* 등으로 알려져 있으며, *recA*는 SOS 수복 뿐만 아니라 재조합 수복에도 중요하게 관여하는 유전자이고, *polA*는 복제후 *gap*을 상보적으로 합성하여 매꾸어 주는 역할을 한다. SOS response가 차단된 균주에서는 *RecA*의 농도가 상대적으로 낮기 때문에 생존율의 상승효과는 낮을 것으로 생각된다. 또한 *polA*가 결여된 균주에서는 돌연변이율은 감소시킬 수 있으나 생존율은 증가시키지 못할 것이다. 이러한 사실은 SOS response가 차단된 균주인 CM561, 특히 절제수복이 결여된 CM611에서도 생존율이 증가하지 않았으며, *polA*가 결여된 균주인 WP67에서 돌연

변이율은 크게 감소하였으나 생존율의 증가는 전혀 나타나지 않은 결과로 확인할 수 있었다. 또한 *umuC*⁻ 균주에서는 *RecA*의 높은 증폭으로 인하여 *umuC*⁻ 균주에서 보다 생존율이 약간 높은 것으로 알려져 있으며¹³⁾, 본 연구에서도 TK603(*umuC*⁺)에서 보다도 TK610(*umuC*⁻)에서 생존율의 상승효과가 높게 나타났다.

이상의 결과로부터 4-NQO에 의하여 유발된 돌연변이에 대한 cinnamaldehyde의 항돌연변이 효과는 오류 없는(error-free) 재조합수복을 촉진하는 것으로 추정된다.

요 약

Cinnamaldehyde의 항돌연변이 작용기구를 밝히기 위하여 *E. coli* B/r 및 K-12 계열의 다양한 DNA 수복 결손주를 이용하여 4-NQO 및 MNNG에 대한 돌연변이 억제 효과 및 생존율 변화에 대하여 조사하였다. SOS response가 항상 발현되는 균주인 GW1107의 β -Gal 활성과 41°C에서 β -Gal을 합성하는 균주인 GW1060 및 GW1103의 β -Gal 활성에도 cinnamaldehyde는 효과를 나타내지 못하였다. 이와 같은 결과는 cinnamaldehyde가 LexA와 같은 repressor로서 작용하지 못함은 물론 SOS response를 positive하게 조절하는 *RecA* 기능에 대하여 아무런 변화를 주지 못한다는 사실을 제시한다. 또한 Trp⁺ 복귀돌연변이주의 생육 및 세포생장 속도에도 영향을 미치지 못하였다. 4-NQO 처리된 균주(WP2s, ZA159 및 TK603)에서 cinnamaldehyde의 첨가로 돌연변이율이 감소되었음에도 불구하고 생존율은 크게 향상되었다. 그러나 절제 수복기능이 결여되지 않은 WP2 및 *lexA* 유전자 결손주(CM561 및 CM611)에서는 그와 같은 효과가 나타나지 않았으며, 상보적 DNA의 gap을 연결시켜주는 polymerase I이 결여된 균주인 WP67에서도 생존율이 증가되지 않았다. 위와 같은 결과를 종합하여 볼 때 cinnamaldehyde는 오류없는 재조합 수복계를 향상시킴으로써 항돌연변이 효과를 나타내는 것으로 추정되었다.

참고문헌

1. Kakinuma, K., Koike, J., Kotani, K., Ikekawa, N., Kada, T., and Nomoto, M. : Cinnamaldehyde : identification of an antimutagen from a crude drug, cinnamoni cortex. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1905-1906 (1984).

2. Ohta, T., Watanabe, K., Moriya, M., Shirasu, Y., and Kada, T., : Antimutagenic effects of cinnamaldehyde on chemical mutagenesis in *Escherichia coli*. *Mutat. Res.*, **107**, 219-227 (1983).
3. Ohta, T., Watanabe, K., Moriya, M., Shirasu, Y., and Kada, T. : Analysis of the antimutagenic effect of cinnamaldehyde on chemically induced mutagenesis in *Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genet.*, **192**, 309-315 (1983).
4. Rutten, B. and Gocke, E. : The 'antimutagenic' effect of cinnamaldehyde is due to a transient growth inhibition. *Mutat. Res.*, **201**, 97-105 (1988).
5. de Silva, H. V. and Shankel, D. M. : Effects of antimutagen cinnamaldehyde on reversion and survival of selected Salmonella tester strains. *Mutat. Res.*, **187**, 11-19 (1987).
6. Nunoshiba, T. and Nishioka, H. : Rec-lac test for detecting SOS-inducing activity of environmental genotoxic substances. *Mutation Research.*, **254**, 71-77 (1991).
7. Bridges, B. A., Mottershead, R. P., Green, M. H. L. and Gray, W. J. H. : Mutagenicity of dichloro-ovos and methyl methane sulphonate for *Escherichia coli* WP2 and some derivatives deficient in DNA repair. *Mutation Research.*, **19** 295-303 (1973).
8. Costa de Oliveira, R., Laval, J and Boiteux, S. : Induction of SOS and adaptive responses by alkylating agents in *Escherichia coli* mutants deficient in 3-methyladenine-DNA glycosylase activities. *Mutation Research.*, **183**, 11-20 (1986).
9. Quillardet, P. and Hofnung, M. : The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Research.*, **147** 65-78 (1985).
10. Radman, M. : SOS repair hypothesis : Phenomenology of an inducible DNA repair which is accompanied by mutagenesis. In : Hanawalt, P. C., Stelow, R. B. (eds) Molecular mechanism for repair of DNA. Plenum Press, New York, 355-367 (1975).
11. Quillardet, P. and Hofnung, M. : Induction of the SOS system in a dam-3 mutant : a diagnostic strain for chemicals causing DNA mismatches. *Mutation Research.*, **177** 17-26 (1987).
12. Walker, G. C. : Inducible DNA repair systems. *Ann. Rev. Biochem.*, **54**, 425-457 (1985).
13. Salles B., Paoletti C. : Control of UV induction of *RecA* protein. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **80**, 65-69 (1983).

(1997년 9월 12일 접수)