

유색미 겨 추출물의 품종간 발암과정 억제효과의 비교

남석현* · 강미영¹

이주대학교 자연과학대학 기초과학부, ¹경북대학교 사범대학 가정교육과

초 록 : 12품종의 유색미에 대한 항변이원활성 및 항암활성을 *in vitro*에서 일품벼를 대조구로하여 조사하였다. 각 품종별 쌀겨를 0.5%의 TFA를 포함한 80% 에탄올, 또는 n-hexane으로 추출하여 각각 색소분획과 핵산분획을 제조한 다음, SOS chromotest를 이용하여 변이원에 대한 억제활성을 측정함과 동시에 각 분획의 DNA strand scission 및 발암 promotor에 대한 억제활성을 측정하여 이들이 가지는 발암억제효과를 평가하였다. 색소분획의 항변이원활성은 LK1B4-12-1-1 > 상해향혈나 > HP833-1-3-1-1 > Chokoto14 > 자광도 > 자진 > 길림흑미 > Tiwan-Tsi-C > 흑진미 > Linsia-Shoea-Dau > 수원425 > 수원415의 순서였으며, 핵산분획에서는 LK1B4-12-1-1 상해향혈나 > 일품벼 > HP833-1-3-1-1 > Chokoto14 > 자광도 > 자진 > Linsia-Shoea-Dau > Tiwan-Tsi-C > 흑진미 > 수원425, 길림흑미 > 수원415의 순서로 활성이 나타났다. 색소분획물이 가지는 DNA strand scission에 대한 억제활성을 조사한 실험결과, HP833-1-3-1-1 > Tiwan-Tsi-C > 자진 > Chokoto14 > 수원425 > 흑진미 > LK1B4-12-1-1 > 수원415 > 자광도 > 길림흑미 > Linsia-Shoea-Dau > 상해향혈나의 순서로 활성을 보인 반면, 핵산분획에서는 LK1B 4-12-1-1 > 수원415 > 길림흑미 > Chokoto14 > 흑진미 > 자진 > 수원425 > Tiwan-Tsi-C > 상해향혈나 > Linsia-Shoea-Dau > 자광도 > HP833-1-3-1-1 > 일품벼의 순서로 활성을 보였다. 발암 promotor의 단기검출법을 이용한 실험결과, 발암 promotor TPA에 대한 색소분획물의 억제활성은 Linsia-Shoea-Dau > 길림흑미 > HP833-1-3-1-1, 수원425 > 흑진미 > 자진 > Chokoto 14 > 상해향혈나 > 수원415 > LK1B4-12-1-1 > Tiwan-Tsi-C > 자광도의 순서로 나타났다.(1997년 9월 5일 접수, 1997년 12월 8일 수리)

서 론

현미의 색깔이 열린 갈색에서 흑자색에 이르기까지 다양한 품종적 변이가 있는 유색미(紫稻)는 현재 일반화 되어 있는 백색 쌀의 선조로서, 바로 이 유색미로부터 황백색의 돌연변이가 생겨나 여러종류의 재배벼로 개량 발전되었다고 추정된다. 재배목적에 맞추어 계속 개량되어 온 일반적인 재배품종들에 비하여 유색미는 미질이나 식미의 측면에서 뒤떨어지지만, 생육이 왕성하고 다수확성이며, 취반용 쌀로 이용하는 여러종류의 재배벼보다 종자의 발아능력이 우수하다고 보고되어 있다.¹⁾ 이와같은 여러가지 우수한 유전적 특성 가운데 유색미의 우수한 발아능력은 아마도 종자내에 발아능력의 유지 등에 관계하는 생리활성 물질이 타 품종에 비하여 다량 포함되어 있는데에 기인할 가능성이 높다고 보여진다. 산업사회의 발전 및 국민소득의 증가에 따라 식품의 영양적인 측면보다는 식품이 가지는 인체의 생리기능에 대한 영향에 관심이 모아지고 있고, 일상적인 식품섭취를 통한 건강관리와 유지라는 새로운 관점에서 식품성분에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 시점에서 볼때,²⁾ 유색미의 생리활성 물질에 대한 연구 및 이용은 중요한 의미를 갖는다고 본다. 수명이 긴 인간의 경우, 장기간에 걸친 유해 환경인자와의 지속적인 접촉에 의하여 세포내 유전물질의 변

형이 축적되고, 결국 종양세포가 생성됨에 따라 중년이후 암으로 대표되는 성인병의 발병이라는 치명적인 문제점에 직면해 있다. 따라서 환경인자가 가지는 유전독성의 문제가 큰 관심사로 등장하여 일상적으로 밀접하게 접촉하는 식품의 유전독성에 관한 연구가 많은 주목을 받게 되었다.³⁾ 그러나 식품중에는 유전독성을 가진 물질만이 존재하는 것은 아니며, 오히려 길항적 작용을 나타내는 항변이원성 물질도 포함되어 있기 때문에 이들을 이용한 돌연변이 유발의 억제는 암을 포함한 성인병의 예방측면에서 중요하다. 미생물이나 조직배양세포를 이용한 *in vitro*의 간편한 실험계의 확립 이후, 약용식물,⁴⁾ 야채류,⁵⁾ 과일류,⁶⁾ 버섯류,⁷⁾ 유제품,⁸⁾ 기타 식품들의 변이원성 및 항변이원성에 대한 연구⁹⁾가 활발히 진행되고 있는것도 이와같은 중요성을 대변하는 것이라고 하겠다. 우리나라도 최근에 국민들의 식생활 양상이 변화함에 따라, 주식으로 이용되는 곡류의 소비양상이 달라지면서 가공성의 다양화 및 보전적 기능이 풍부한 쌀 품종 육종 방안이 절실히 요구되는 실정이며, 이미 기술한 유색미의 특성으로 볼때 유색미가 이와같은 시대적인 요구에 적합한 농업소재로서 주목될 수 있으리라고 생각된다. 따라서 본 실험에서는 항암효과가 알려진 탄닌계 및 안토시아닌계 색소와 함께 각종 생리활성 물질을 일반미보다 다량 함유하고 있으리라고 추정되는 유색미를 대상으로 유색미 겨층에

찾는말 : Colored rice cultivars, Antimutagenicity, DNA strand scission, Antipromotion

*연락처자

포함된 물질이 가지는 항암, 항변이원성을 다양한 품종을 대상으로 조사하고자 하였다. 이와같은 목적의 일환으로서, 유색미 겨를 n-hexane, 또는 TFA를 함유하는 80% 에탄올에 의한 추출로 핵산분획과 색소분획으로 나누어 각 분획물이 가지는 항변이원 활성을 측정하고 아울러 이들이 생체내에서 발암 initiation 및 promotion 과정을 억제할 수 있는가 여부를 in vitro의 실험계에서 조사함으로써 각 유색미 품종들이 보이는 변이원성 억제효과를 포함한 발암과정에 대한 억제효과를 비교 검토하였다.

재료 및 방법

공시시료 및 시약

길림흑미, 자진, HP833-1-3-1-1, 수원415, 수원425, Chokoto 14, Linsia-Shoca-Dau, 자광도, 상해향혈나, Tiwan-Tsi-C, 흑진미, LK1B4-12-1-1 및 대조구로 사용한 일반미인 일 품벼를 포함한 13종류의 쌀겨를 작물시험장으로부터 제공 받았다. 실험에 사용한 시약중에서 mitomycin C, sodium borohydrate, CuCl₂, ONPG(o-nitrophenyl-β-galactoside), PNPP(p-nitrophenyl phosphate), Trizma base 및 TPA(12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate)는 Sigma의 제품을 사용하였고 ΦX174RF DNA는 Gibco-BRL로부터 구입하였다. Epstein-Barr virus(EBV) early antigen에 대한 monoclonal antibody는 Novocastra Laboratories의 제품을 사용하였으며, western blot용 ECL kit는 Amersham에서 구입하여 사용하였다. 시료 추출용 n-hexane 및 에탄올은 Junsei사 (Kyoto, Japan)의 제품을 구입하여 사용하였다.

유기용매 추출분획의 제조

품종별 시료의 쌀겨를 먼저 n-hexane으로 상온추출하여 핵산분획물을 얻은 다음, 잔사에 존재하는 색소 및 친수성 물질을 추출하기 위하여 0.5% TFA(trifluoroacetic acid)를 포함한 80% 에탄올 용액으로 상온추출하여 색소분획물을 제조하였다.

항변이원성의 측정

항변이원성은 *E. coli*. PQ 37를 지시균주로 사용한 SOS chromotest 기법을 이용하여 조사하였다.^{15,18,19} 37°C에서 LB 배지에 하루밤 진탕배양한 배양액을 동일한 액체배지로 10배수 희석한 다음, 37°C에서 2시간 진탕배양하였다. 배양 후 액체배지로 다시 4배수 희석한 배양액에서 0.4 ml를 취한 다음, 2 mg의 시료와 6 ng/ml이 되도록 변이원인 mitomycin C를 첨가한 다음, 최종 반응용량을 액체배지로 4 ml가 되도록 조정하여 37°C에서 2시간 재차 진탕배양하였다. 배양이 끝난 배양액 0.2 ml를 1.8 ml의 B buffer (60 mM Na₂ HPO₄, 10 mM KCl, 40 mM Na₂HPO₄, 1 mM MgSO₄, 50 mM β-mercaptoethanol, pH 7.0)와 섞고 여기에 1.6 mg의 ONPG를 첨가한 다음, 37°C에서 30분간 반응시켰다. Na₂CO₃로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 발색한 반응액의 흡광도를 측정하여 시료의 첨가로 유도된 β-galac-

tosidase의 활성을 측정하였고, 세균이 발현하는 alkaline phosphatase의 활성을 기준으로 β-galactosidase의 활성이 유도값을 평가하였다. 즉, β-galactosidase 활성측정에 사용한 배양액 0.2 ml에 1.8 ml의 P buffer(1 M Tris, 0.1% SDS)를 넣고 여기에 1.6 mg의 PNPP를 첨가한 다음, 37°C에서 30분 반응시킨다. 반응후 0.6 N이 되도록 염산을 첨가하여 5분간 정치한 후, 다시 0.8 ml의 2 M Tris 용액을 넣은 다음, 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성 unit는 [1000 × A420/t, t; 반응시간(분)]으로 나타내었으며, β-galactosidase unit의 alkaline phosphatase unit에 대한 비율(R)을 구하여 변이원과 시료를 첨가하지 않았을 경우의 R에 대하여 변이원 및 시료를 모두 첨가했을 때의 R을 계산하여 Induction factor를 정하였다.

DNA strand scission에 대한 억제효과의 측정

DNA strand scission의 억제활성은 ΦX174 RF DNA에 화학적으로 유발시킨 strand nicking이 시료의 첨가로 억제되는 정도로 측정하는 Ueda 등의 방법으로 검정하였다.¹⁴ 즉, 0.2 μg의 ΦX174 RF DNA를 100 mM의 mitomycin C와 0.5 mM의 sodium borohydrate 및 0.1 mM CuCl₂의 조건하에서 ml당 10 mg의 시료와 함께 37°C에서 1시간 반응시켰다. 반응 후, DNA 반응액을 Tris-acetate buffer로 완충화시킨 1%의 agarose gel에 전기영동하여 supercoil 상태의 RF I DNA와 nicking이 발생한 RF II 및 RF III DNA를 분획하였다. RF I DNA에 대한 RF II와 RF III DNA의 상대적 비율은 ethidium bromide로 염색한 gel을 UV로 조사하여 나타난 각 DNA band를 Image Analyzer(Bio Image 50S Series, B.I. System Corp., USA)로 band의 intensity를 측정하여 정량화하였다.

발암 promotion에 대한 억제효과의 측정

시료가 보유한 발암 promotion의 억제효과는 발암 promotor 단기검출법인 Epstein-Barr Virus (EBV) 활성화 시험법을 적용하여 측정하였다.¹⁵ 간단히 설명하면, 10% 우태아 혈청(Gibco-BRL)이 포함된 RPMI1640배지(Gibco-BRL)에서 배양한 marmot B lymphoblast cell 유래의 B95-8 cell (1 × 10⁶ cells/ml)에 발암 promotor인 TPA를 25 mg/ml의 농도로 처리하여 EBV early diffusible antigen의 발현을 유도하였다. 여기에 시료를 200 μg/ml가 되도록 첨가하여 48시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 세포를 RIPA buffer (50 mM Tris.Cl pH7.2, 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% Sodium deoxychorate, 0.1% SDS, 1% Trasylol, 1 mM DTT, 2 mM PMSF)로 추출하여 총단백질을 제조하였다. Bradford 법¹⁶으로 정량한 10 μg의 세포 총단백질을 SDS-PAGE로 분획하고, 이를 nitrocellulose membrane에 고정화시켰다. 그다음, EBV의 early diffusible antigen에 대한 단클론 항체를 일차항체로 반응시킨 후, 여기에 peroxidase가 결합된 항마우스 IgG를 이차항체로 재차 반응시키는 방법으로 western blotting analysis를 실시하였다.¹⁷ Western blot은 기본적으로 Amersham 사의 ECL kit 설명서에 의거하여 수행

하였으며, TPA에 의하여 유도된 early antigen의 발현을 시료가 억제하는 정도는 western blot 결과 나타난 antigen band의 intensity를 Image Analyzer(Bio Image 50S Series, B.I. System Corp., USA)로 측정하여 TPA 만을 단독처리한 대조구의 항원발현량을 기준으로하여 시료처리에 의한 상대적 감소율로서 평가하였다.

결과 및 고찰

품종별 겨 추출물의 항변이원성

다양한 품종의 유색미를 대상으로 겨층에 포함된 변이원 억제활성의 품종별 분포 및 변이원성 억제물질의 일반적 성질을 구명하기 위한 목적으로 유색미 겨성분을 색소분획

Table 1. Inhibitory effect of the pigment fraction of the rice brans on mitomycin C-induced mutagenicity

Cultivas	Indicator enzyme activities(unit)		Induction factor
	β -galactosidase	alkaline phosphatase	
mitomycin(-)	2.22	23.85	1
mitomycin(+)	9.00	8.03	12.04
Ilpumbyeo	ND	ND	ND
Kilimheugmi	7.59	10.07	8.10
Jajin	4.14	5.40	8.24
HP833-1-3-1-1	5.98	6.27	10.25
Suweon 425	7.02	9.90	7.62
Chokoto 14	7.60	8.94	9.13
Linsia-Shoea-Dau	7.57	10.50	7.75
Jagwangdo	8.47	10.53	8.64
Sanghaehyanghyulla	7.64	6.74	12.18
Tiwan-Tsi-C	7.95	10.92	7.82
Heugjinmi	8.75	12.07	7.79
LK1B4-12-1-1	6.37	4.67	14.65
Suweon 415	7.23	11.74	6.62

ND : not determined

Table 2. Inhibitory effect of the hexane fraction of the rice brans on mitomycin C-induced mutagenicity

Cultivars	Indicator enzyme activities(unit)		Induction factor
	β -galactosidase	alkaline phosphatase	
mitomycin(-)	2.25	23.90	1
mitomycin(+)	9.00	8.03	11.91
Ilpumbyeo	7.83	8.00	10.40
Kilimheugmi	7.59	10.70	7.53
Jajin	4.14	5.40	8.14
HP833-1-3-1-1	5.98	6.27	10.13
Suweon 425	7.02	9.90	7.53
Chokoto 14	7.60	8.94	9.03
Linsia-Shoea-Dau	7.67	10.50	7.76
Jagwangdo	8.47	10.50	8.57
Sanghaehyanghyulla	7.64	6.74	12.04
Tiwan-Tsi-C	7.95	10.90	7.75
Heugjinmi	8.75	12.10	7.68
LK1B4-12-1-1	6.37	4.67	14.49
Suweon 415	7.23	11.7	6.56

물과 핵산분획물로 대별하여 각 분획물이 가지는 항변이원성을 검정·비교하였다. 색소분획물이 가지는 항변이원성을 각 유색미 품종들에서 조사한 결과, LK1B4-12-1-1이 가장 활성이 높았고 상해향혈나>HP833-1-3-1-1>Chokoto14>자광도>자진>길림흑미>Tiwan-Tsi-C>흑진미>Linsia-Shoea-Dau>수원425>수원415의 순서로 활성을 보이고 있었다(Table 1). 일반미인 일품벼에서는 재료 및 방법에서 기술한 시료제조법을 통하여 색소분획물이 회수되지 않았기 때문에 색소분획에 관한 한, 유색미와 일반미간의 활성을 비교할 수 없었다. 핵산추출물의 항변이원성은 역시 LK1B4-12-1-1이 가장 높았고, 상해향혈나>HP833-1-3-1-1>Chokoto 14>자광도>자진>Linsia-Shoea-Dau>Tiwan-Tsi-C>흑진미>길림흑미, 수원425>수원415의 순서로 활성을 나타내었다(Table 2). 핵산분획물에 대한 실험결과, 예상과는 다르게 일반미인 일품벼의 항변이원성도 매우 높게 나타났으며, 실제로 일품벼보다 활성이 높은 유색미는 LK1B4-12-1-1과 상해향혈나에 불과하였다. 품종별 항변이원성을 볼 때, LK1B4-12-1-1과 상해향혈나가 색소 및 핵산분획 모두에서 강한 억제활성을 나타냄을 알 수 있었다.

쌀겨 추출물의 DNA 손상 억제효과

세포가 변이원성 물질에 노출될 경우, 유전물질인 DNA에 화학적 수식과 더불어 이를 제거하고자 하는 수복반응계가 활성화된다.²⁰⁾ 그러나 장기간에 걸친 지속적인 변이원과의 접촉은 정상적인 수복반응중의 실수를 유발하게 될 가능성을 높여주며, 결과적으로 정상적인 세포유전자가 보유하는 유전정보가 변조될 확률이 높아짐으로써 정상세포가 암으로 발전하는 계기를 부여하는 것으로 보인다. 본 실험에서 사용한 화학적 변이원인 mitomycin C는 세포의 DNA에 strand-cross link를 형성할 뿐만 아니라 DNA 염기 중 guanine이나 adenine 잔기의 amino group에 결합하여 DNA를 변조함으로써 변이원성을 발현하는 것으로 알려져 있다. 이와같은 기작 이외도 mitomycin C의 quinone 부위는 공기 및 기타 화학적 환원에 의해서 superoxide anion이나 hydrogen peroxide를 형성케 하여 DNA의 strand scission을 유도함도 보고되어 있다.^{21,22)} 본 연구에서는 mitomycin C에 의한 DNA strand scission의 유도현상에 주목하여 이와같은 DNA 손상을 억제시킬 수 있는 활성이 유색미 겨에 포함되어 있는가를 검정하였다. 즉 이중쇄 DNA phage인 Φ X174의 supercoil 상태의 이중쇄 환상 DNA인 RF I DNA가 strand scission이 발생함으로써 open circle 상태의 이중쇄 DNA인 RF II, 또는 이중쇄 모두에 손상이 발생한 직선상 DNA인 RF III DNA로 전환되는 것을 저해하는 정도로서 품종별 색소분획물 및 핵산분획물이 보유한 DNA strand scission에 대한 억제활성을 조사하였으며, 이에 대한 실험의 결과를 Fig. 1 및 Fig. 2에 나타내었다. 각 figure에서 lane 1과 2는 Φ X 174 DNA의 RF I과 RF II, 또는 RF III 형태의 DNA가 gel에서 이동한 위치이며, 나머지 lane 들은 품종별 유기용매 분획물들을 표준반응액에 첨가했을 때의 결과를 보여주고 있다. RF I에서 RF II나 RF III

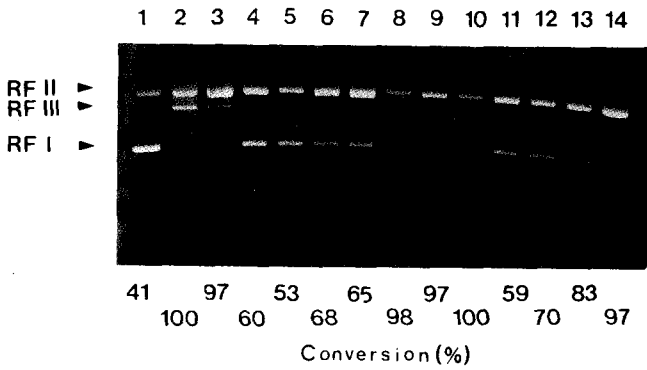


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis to analyze the inhibitory effect of the pigment fraction prepared from the rice brans against DNA strand scission induced by mitomycin C. 1, mitomycin C-free control ; 2, mitomycin C-treated control ; 3 to 14, addition of the fraction prepared from Kilimheugmi, Jajin, HP 833-1-3-1-1, Suweon 425, Chokoto 14, Linsia-Shoea-Dau, Jagwangdo, Sanghaehyanghyulla, Tiwan-Tsi-C, Heuginmi, LK 1B4-12-1-1 and Suweon 415, respectively.

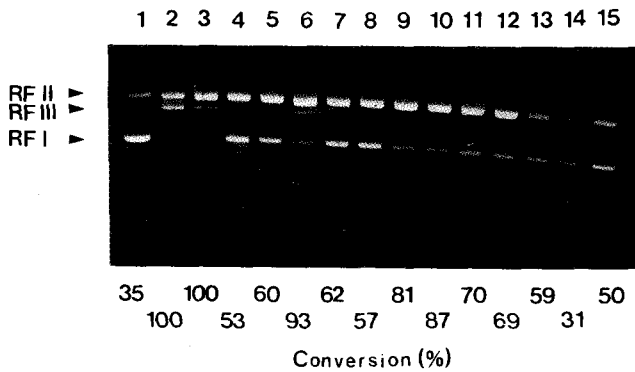


Fig. 2. Agarose gel electrophoresis to analyze the inhibitory effect of the hexane fractions prepared from the rice brans against DNA strand scission induced by mitomycin C. 1, mitomycin C-free control ; 2, mitomycin C-treated control ; 3 to 15, addition of the fraction prepared from Ilpumbyeon, Kilimheugmi, Jajin, HP833-1-3-1-1, Suweon 425, Chokoto 14, Linsia-Shoea-Dau, Jagwangdo, Sanghaehyanghyulla, Tiwan-Tsi-C, Heuginmi, LK1B4-12-1-1 and Suweon 415, respectively.

로의 전환율을 근거로 DNA strand scission을 억제하는 활성을 계산하여 각 품종별 억제활성을 비교하면, 우선 색소분획물의 경우 HP833-1-3-1-1의 활성이 가장 높았고 그 다음으로 Tiwan-Tsi-C > 자진 > Chokoto 14 > 수원425 > 흑진미 > LK1B4-12-1-1 > 수원415 > 자광도 > 길림흑미 > Linsia-Shoea-Dau > 상해향혈나의 순서로 활성이 나타났다(Fig. 1). 핵산분획물의 억제활성은 LK1B4-12-1-1이 가장 높았고 다음으로 수원415 > 길림흑미 > Chokoto14 > 흑진미 > 자진 > 수원425 > Tiwan-Tsi-C > 상해향혈나 > Linsia-Shoea-Dau > 자광도 > HP833-1-3-1-1의 순서를 보였다(Fig. 2). 이미 설명한 바와 같이 일반적으로 유색미가 일반미보다 DNA 손상을 억제하는 활성이 우수한가의 여부는 대조구인 일반미의 시료를 회수할 수 없는 문제점으로 인하여 확실한 결론을 얻을 수 없었으나 핵산분획물에 있어서는 일반미보다 유색

미의 활성이 우수함을 알 수 있었다(Fig. 2). 각 분획물이 보이는 변이원에 대한 억제활성은 색소분획과 핵산분획에서 품종간에 비슷한 활성분포를 보인 반면(Table 1, 2), DNA의 strand scission에 대한 억제활성은 색소분획과 핵산분획에서 품종간에 상이한 활성도의 분포를 보였다(Fig. 1, 2).

품종별 겨 추출물의 발암 promotion 억제효과

발암의 개시단계인 DNA내 돌연변이의 발생을 억제하는 활성을 측정함으로써 정상세포가 잠재적 종양세포로 변환하는 과정을 각 시료의 성분이 억제하는 활성을 검정하는데 이어, 잠재적 종양세포가 암세포로 변환하는 과정인 발암 promotion에 대한 억제활성을 조사하였다. 발암 promoter인 TPA를 EBV에 의하여 형질 전환된 B lymphoblast 세포에 처리했을 때 유도되는 바이러스의 복제개시 지표인 조기항원(early diffusible antigen)의 발현이 시료의 첨가에 의하여 억제되는 정도로서 시료에 함유된 억제활성을 평가하였다.^{15,24)} 분획물들중 품종별 색소분획물의 억제활성을 조사한 결과가 Fig. 3으로서, TPA 만을 처리했을 때 47kDa 단백질의 발현이 유도되었다. 이 단백질은 EB 바이러스 genome의 BamH I-M rightward reading frame 1 유래의 단백질과 분자량이 일치할 뿐 아니라 early diffusible antigen에 대한 단클론항체와 반응하는 것으로 보아, 본 실험에서 목표로 하는 분자임을 확인할 수 있었다.²⁵⁾ Western blot으로 동시에 검출되는 분자량이 약간 큰 단백질은 아마도 TPA 처리에 의하여 인산화되어 SDS-PAGE 상에서 전기영동도가 늦어진 동일한 단백질로 생각된다. TPA 처리만으로

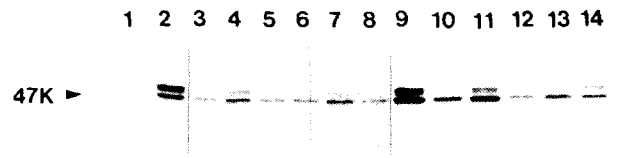


Fig. 3. Western blotting analysis to determine the inhibitory effect of the pigment fraction prepared from the rice brans on TPA-induced EBV early diffusible antigen expression. 1, TPA-free control ; 2, TPA-treated control ; 3 to 14, addition of the fraction prepared from Kilimheugmi, Jajin, HP833-1-3-1-1, Suweon 425, Chokoto 14, Linsia-Shoea-Dau, Jagwangdo, Sanghaehyanghyulla, Tiwan-Tsi-C, Heuginmi, LK1B4-12-1-1 and Suweon 415, respectively.

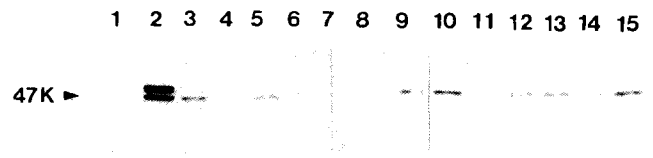


Fig. 4. Western blotting analysis to determine the inhibitory effect of the hexane fraction prepared from the rice brans on TPA-induced EBV early diffusible antigen expression. 1, TPA-free control ; 2, TPA-treated control ; 3 to 15, addition of the fraction prepared from Ilpumbyeon, Kilimheugmi, Jajin, HP833-1-3-1-1, Suweon 425, Linsia-Shoea-Dau, Chokoto 14, Jagwangdo, Sanghaehyanghyulla, Tiwan-Tsi-C, Heuginmi, LK1B4-12-1-1 and Suweon 415, respectively.

유도된 조기항원의 발현량을 기준으로 하여 시료첨가로 항원의 발현이 억제된 정도를 측정하여 시료의 발암 promotion에 대한 억제활성을 평가한 결과, 색소분획에서는 Linsia-Shoca-Dau가 가장 활성이 높았고 길림흑미 > HP833-1-3-1-1, 수원425 > 흑진미 > 자진 > Chokoto14 > 상해항렬나 > 수원415 > LK1B4-12-1-1 > Tiwan-Tsi-C > 자광도의 순서로 활성이 나타났다(Fig. 3). 특이한 것은 자광도의 경우, 발암 promotion에 대한 억제활성보다는 오히려 TPA에 의한 promotion을 오히려 촉진하는듯 한 결과를 보인다는 점으로서(Fig. 3, lane 9), 품종에 따라서는 오히려 발암 promotor의 활성을 촉진하는 물질도 함유하고 있음을 알 수 있었다. 핵산분획에서는 길림흑미, HP833-1-3-1-1, 수원425와 Linsia-Shoca-Dau가 특히 강한 억제활성을 나타내었다(Fig. 4), 전반적으로 세포상해 활성이 높게 나타나는 경향이 있었다(미발표 결과). 따라서 핵산분획물의 세포상해활성을 정확히 측정할 필요성이 대두되므로 이에 대한 실험을 진행중에 있다. 이상의 실험결과를 검토하면, 본 논문에서 수행한 항변이원성 및 항암성 검정에서 유색미 거의 유기용매 분획물이 본 실험에서 수행한 각종 검정계에서 동일한 경향의 활성을 나타내지는 않았지만, LK1B4-12-1-1이나 HP833-1-3-1-1 만은 거의 모든 검정계에서 비교적 높은 억제활성을 나타내는 품종임을 알 수 있었다. 핵산분획물에 한하여 관찰한다면, SOS chromotest를 통한 항변이원성의 측정결과를 볼 때, 일반미인 일품벼가 조사한 대부분의 유색미보다도 강한 활성을 나타냈으나, in vitro의 항암성 검정계에서는 일반적으로 유색미들이 일반미보다 활성이 높은 경향을 보였다. 이 결과가 보여주는 것과 같이, 일반적으로 원핵세포에서 측정된 항변이원성이 반드시 in vivo의 항암활성과 일치하지 않는다는 사실, 그리고 자광도의 경우처럼 항변이원성은 우수하지만 오히려 발암 promotor로서 작용하는 활성을 보유하는 품종도 존재한다는 사실을 볼 때, 항변이원성의 측정과 더불어 DNA strand scission에 대한 억제활성 및 발암 promotion 억제활성과 같이 in vitro에서 간편하게 측정할 수 있는 항암활성도 측정하여 비교, 평가하는 것이 천연물에 포함된 유용한 항변이원 활성물질의 검색에 중요하다고 생각되었다. Initiation과 promotion 이라는 발암 2단계 과정중 비가역적인 initiation 과정보다는 가역적과정인 promotion 단계가 암의 치료 및 예방에 실제적으로 중요한 의미를 갖는다.²⁹⁾ 이 사실은 promotion 단계의 진행을 방지할 수 있는 물질의 개발에 대한 중요성과 함께, 효과적이고도 신뢰성있는 발암 promotion의 억제물질을 검색하는 작업이 특히 식품의 경우 비중있게 다루어져야 함을 시사한다. 이와같은 흐름에서 본 연구의 결과가 유색미의 산업적 활용 및 보다 우수한 보건 기능성을 가진 품종의 육종을 위한 기초자료로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 '95년도 과학기술처 선도기술개발과제 연구비에 의하여 지원되었으며 본 과제의 수행에 도움을 주신 많은

분들에게 감사를 드린다.

참고문헌

1. 名和義彦, 大谷敏郎 (1991): 有色素米の色素特性, 食品工業 35, 28-33.
2. 千葉英雄 (1992): 食品の生體調節機能; 食品成分による發癌プロモーションの抑制, 學會 出版センター.
3. Troll, W. and R. Wiesner (1985) The role of oxygen radicals as a possible mechanism of tumor promotion. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 25, 509-528.
4. Okuda, T., T. Yoshida and T. Hatano (1992) Plant phenols: Pharmacologically active tannins isolated from medicinal plants., Edited by R.W. Hemingway and P.E. Laks, Pleum press, New York.
5. Chang, I. M., K. B. Oh and N. J. Suh (1989) Study on mutagenicity of pellia tuber., A possible model for the understanding wisdom in the use of traditional chinese herbal medicines. *Proc. 2nd Int. Sym. on Recent Advances in Natural Products Res.*, 402-415.
6. Seo, J. S., Y. W. Lee, N. J. Suh and I. M. Chang (1990) Assay of antimutagenic activities of vegetable plants. *Kor. J. of Phamacogn.*, 21, 88-91.
7. Slominski, B. A. and L. D. Campbell (1989) Formation of indole glucosinolate breakdown products in autolyzed, steamed and cooked *Brassia vegetables*. *J. Agric. Food Chem.* 37, 1297-1301.
8. Morita, K., M. Hara and T. Kada (1978) Studies on natural desmutagens: Screening for vegetable and fruit factors active in inactivation of mutagenic pyrolysis products from amino acids. *Agric. Biol. Chem.* 43, 1235-1238.
9. Kim, B. K., H. S. Chung, K. S. Chung, and M. S. Yang (1980) Studies on the antineoplastic components of Korean Basidiomycetes.
10. Kang, C. Y., M. J. Shin, E. C., Choi, Y. N. Lee and B. K. Kim (1981) Studies on antineoplastic components of Korean Basidiomycetes: Mycelial culture and an antineoplastic wmpnent of *Ganoderma lucidum*.
11. Ha, Y.L., N. K. Grimm and M. Pariza (1989) Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: Identification and quantification in natural and processed cheeses. *J. Agric. Food Chem.* 37, 75-81.
12. Sugimura, T. and S. Sato (1983) Mutagens-carcinogens in foods. *Cancer Res.* 43, 2415-2421.
13. Quilladet, P. and M. Hofnung (1985) The SOS chromotest, A colorimetric bacterial assay for genotoxins; Procedures, *Mutation Res.* 147, 65-78.
14. Ueda, K., J. Morita and T. Komano (1982) Action of mitomycin C reduced with sodium borohydride on bacteriophage ΦX 174 and its single and double stranded DNAs. *Agri. Biol. Chem.* 46, 1695-1677.
15. Ito, Y., S. Yanase, J. Fujita, T. Harayama, M. Takashima and H. Imanaka (1981) A short-term in vitro assay for promoter substance using human lymphoblatoid cells latently infected with Epstein-Barr virus. *Cancer Lett.* 13, 29-37.
16. Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for

- the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
17. Towbin, H., T. Staehelin and J. Gordon (1979) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 4350-4354.
 18. Kang, M. Y., Y. H. Choi and S. H. Nam (1996) Inhibitory mechanism of colored rice bran extract against mutagenicity induced by chemical mutagen mitomycin C. *Agri. Chem. Biotech.* **39**, 424-429.
 19. Kang, M. Y., Y. H. Choi and S. H. Nam (1996) Screening of antimutagenic activities from cereals and beans including rice. *Agri. Chem. Biotech.* **39**, 419-423.
 20. Groopman, J. D., B. D. Roebuck and T. W. Kensler (1994) Carcinogen-DNA and protein adducts as intermediate biomarkers for human chemoprotection trials. *Adv. Exp. Med. & Biol.* **354**, 149-160.
 21. Tomasz, M., C. M. Mercado, J. Olson and N. Chatterjee (1974) The mode of interaction of mitomycin C with deoxy-nucleic acid and other polynucleotides in vitro. *Biochemistry* **13**, 4878-4887.
 22. Ueda, K., J. Morita and T. Komano (1984) Sequence specificity of heat-labile sites in DNA induced by mitomycin C. *Biochemistry* **23**, 1634-1640.
 23. Perchellet, J. P., H. U. Gali, E. M. Perchellet, D. S. Klish and A. D. Armbrust (1992) Plant phenols ; Antitumor-promoting activities of tannic acid, ellagic acid and several gallic acid derivatives in mouse skin, Edited by R.W. Hemingway and P.E. Laks, Pleum press, New York
 24. Okamoto, H., D. Yoshida and S. Mizusaki (1983) Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced induction in Epstein-Barr virus early antigen in Raji cell. *Cancer Lett.* **19**, 47-53.
 25. Wong, K.-M. and A. J. Levine (1986) Identification and mapping of Epstein-Barr virus early antigens and demonstration of a viral gene activator that functions in trans. *J. Virol.* **56**, 149-156.

Comparison of Inhibitory Effect of Rice Bran-extracts of the Colored Rice Cultivars on Carcinogenesis

Seok Hyun Nam* and Mi Young Kang¹ (*Division of Natural Science, College of Natural Science, Ajou University, Suwon 442-749 ; ¹Department of Home Economics, College of Teacher's Education, Kyung-pook National University, Taegu 702-701*)

Abstract : Anticarcinogenicity of 12 kinds of colored rice cultivars was investigated in vitro with Ipumbyeo as a control. Pigment and hexane fractions were prepared from the rice brans through extraction with 80% ethanol containing 0.5% TFA or n-hexane to use subsequent evaluation of their anticarcinogenic effect by determining inhibitory activity against DNA strand scission and tumor promotion, as well as antimutagenic activity using SOS chromotest system. Antimutagenic activity of the pigment fractions was revealed to decrease in order of LK1B4-12-1-1 > Sanghaehyanghyulla > HP833-1-3-1-1 > Chokoto14 > Jagwangdo > Jajin > Kilmheugmi > Tiwan-Tsi-C > Heugjinmi > Linsia-Shoea-Dau > Suweon425 > Suweon415. The activity of the hexane fractions decreased in order of LK1B4-12-1-1 > Sanghaehyanghyulla > Ipumbyeo > HP833-1-3-1-1 > Chokoto14 > Jagwangdo > Jajin > Linsia-Shoea-Dau > Tiwan-Tsi-C > Heugjinmi > Suweon425, Kilmheugmi > Suweon415. Results showed that inhibitory activity against DNA strand scission in the pigment fractions decreased in order of HP833-1-3-1-1 > Tiwan-Tsi-C > Jajin > Chokoto14 > Suweon425 > Heugjinmi > LK1B4-12-1-1 > Suweon415 > Jagwangdo > Kilmheugmi > Linsia-Shoea-Dau > Sanghaehyanghyulla. On the other hand, the activity of the hexane fractions decreased in order of LK1B4-12-1-1 > Suweon 415 > Kilmheugmi > Chokoto14 > Heugjinmi > Jajin > Suweon425 > Tiwan-Tsi-C > Sanghaehyanghyulla > Linsia-Shoea-Dau > Jagwangdo > HP833-1-3-1-1 > Ipumbyeo. Experiment using the short-term assay for promotor substance showed that inhibitory activity contained in the pigment fractions against tumor promotor TPA decreased in order of Linsia-Shoea-Dau > Kilmheugmi > HP833-1-3-1-1, Suweon425 > Heugjinmi > Jajin > Chokoto14 > Sanghaehyanghyulla > Suweon 415 > LK1B4-12-1-1 > Tiwan-Tsi-C > Jagwangdo.

Key words : Colored rice cultivars, antimutagenicity, DNA strand scission, antipromotion

*Corresponding author