

천연물질 추출물이 감마선에 의한 자루달개비 체세포돌연변이 빈도에 미치는 영향

김진규, 신해식¹, 김연구, 이병현, 이영일
한국원자력연구소, ¹충남대학교

Effects of some natural extracts on *Tradescantia* somatic cell pink mutation frequencies induced by gamma-ray

Jin Kyu Kim, Hae Shick Shin¹, Yeon Ku Kim, Byoung Hun Lee, Young Il Lee
Korea Atomic Energy Research Institute, ¹Chungnam National University

요 약

방사선 지표식물 자루달개비(*Tradescantia* 4430)를 이용하여 천연물질이 방사선유발 체세포 분홍돌연변이에 미치는 영향을 평가하였다. 천연물질 추출물을 3시간 동안 처리한 후 감마선을 조사한 실험군과 감마선만을 조사한 실험군에 있어서 체세포 분홍돌연변이 빈도변화의 차이를 두 실험군의 고조기간 통합자료를 이용하여 비교·평가하였다. 천연물질 추출물 FB 및 FB-I의 경우는 방사선에 의하여 유발된 체세포 돌연변이를 대조군에 비해 두 배 이상 상승시켰다. 추출물에 함유된 일부 성분과 방사선의 상호작용(synergism)에 의하여 유전자 돌연변이가 상승된 때문으로 해석될 수 있다. 한편 PG의 수용성 추출물이 적정 농도로 처리된 실험군에서는 세포돌연변이가 유의한 수준($p < 0.05$)으로 감소되어 PG 추출물이 방사선에 의해 유발되는 유전자 손상을 저감시키는 효능이 있음을 확인할 수 있었다. 자루달개비는 방사선손상 정도를 변화시킬 가능성이 있는 천연후보물질을 검색·평가하기 위한 생물학적 모델기구임이 입증되었다.

ABSTRACT

This study deals with the effect of some natural extracts on the pink mutations induced by radiation in *Tradescantia* 4430 stamen hair cells. Inflorescence cuttings,

with or without pretreatments of natural extracts for 3 hours, were exposed to 1 Gy of gamma ray. Comparisons were made on the basis of pooled data during the peak interval between the mean pink mutation frequencies of the two experimental groups. Pretreatments of FB or FB-I resulted in two-fold increases of the pink mutation frequencies, compared to those of control group. Synergism between certain fractions and radiation was a possible cause of increased DNA damage. On the other hand, the extract PG in proper concentrations significantly reduced the pink mutation frequencies ($p < 0.05$). The result meant that PG had a protective effect on radiation-induced cell damage. *Tradescantia* proved to be an excellent biological model system for assessing the radiomodification effects of natural materials.

서 론

방사선을 포함한 돌연변이원에 대하여 민감하게 반응하는 자주달개비 (*Tradescantia* 4430)는 남색꽃을 피우는 *T. hirsutiflora* 와 분홍색꽃을 피우는 *T. subacaulis*를 인위적으로 교잡시켜 만든 종간잡종(interspecific hybrid)으로 꽃색에 있어서 유전적 이형성을 가지며 정상적인 상태에서는 우성인 남색꽃을 피운다. 자주달개비 수술털은 꽃색의 이형성에 의하여 실제로 사람이 환경에서 접하게 되는 낮은 준위의 이온화방사선과 다양한 화학 물질의 유전적 효과를 감지하는 데 가장 적합한 실험재료의 하나로 사용된다[1]. 실제로 자주달개비의 자연발생적 체세포 돌연변이 빈도가 수술털 세포당 10^{-4} 수준으로 이 값은 포유동물 세포에 있어서의 자연발생적 돌연변이 빈도가 $10^{-3} \sim 10^{-7}$ 임을 감안 할 때 상당한 유사성을 지녔다고 볼 수 있다[2]. 자주달개비 수술털의 선단세포는 분열능력이 있어 초기 분열과정 중에 방사선 및 돌연변이원이나 화학물질에 노출될 경우 쉽게 체세포 돌연변이를 일으킨다. 꽃색에 있어서의 우성인자가 존재하는 부분의 유전자가 방사선이나 다른 화학물질에 손상을 받아 절단되면 상동염색체 상에 존재하는 열성형질이 발현되어 수술털의 전체 또는 일부분이 분홍색으로 변하게 된다. 열성형질이 발현되어 나타난 유전자돌연변이인 분홍변이, 무색변이 이외에도 체세포돌연변이인 거대세포출현, 치사돌연변이 등의 여러 형태의 변이를 일으킨다[3]. 위와 같은 변이세포의 발현빈도는 화학물질과 방사선의 양이나 선량에 따라 뚜렷한 선량-반응 관계를 나타낸다. 자주달개비의 수술털(TSH) 세포변이의 종류들 중에서도 유전자돌연변이인 분홍돌연변이가 뚜렷한 선량-반응 관계를 보이는 것으로 알려져 있다[4]. 이같은 자주달개비의 특성을 이용하여 천연물질의 다양한 기능성(biological response modification)을 평가할 수 있다. 자주달개비 수술털 세포의 방사선량-반응 관계를 실험적 근거로 삼아 몇몇 종류의 천연물질이 방사선에 의하여 유발된 자주달개비 체세포 돌연변이를 변화시키는 효능이 있는지 여부를 평가하기 위한 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료 : 실험용 식물체는 방사선에 민감하게 반응하면서도 자발돌연변이율(intrinsic mutation rate)이 비교적 낮은 *Tradescantia* 4430을 사용하였다. 온실에서 건전하게 생육된 식물체를 일정한 크기로 절화하여 24시간 동안 실험실의 조건에 순치시킨 다음 평균 10개씩의 화서를 하나의 처리군으로 하여 실험하였다.

방사선 조사 : 한국원자력연구소의 ^{60}Co 감마선원 (선원강도 약 1.5×10^{14} Bq, Panoramic irradiator, Atomic Energy of Canada Ltd.)을 이용하여 상온, 공기 중에서 1.0 Gy를 조사하였다.

화서 관리 : 방사선을 조사한 식물체는 실험실 생육상에서 순치하였고, Hoagland No. 2 solution 6배 희석액[5]을 3일에 한번씩 교체 공급하여 주었다. 배양조건은 명기 14시간 동안은 20℃, 습도 80%, 조도 $290 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$ 를 암기는 10시간, 18℃, 상대습도 85%를 유지하였다.

검경분석 : 실체현미경을 이용하여 배율 25배 하에서 유전자돌연변이인 분홍돌연변이를 계수하였다. 만개상태의 화기를 실험군별로 채취한 다음 6개의 수술을 모두 떼어내 파라핀유가 도말된 슬라이드상에 펴서 검경용 프레파라트를 제작하였다. 돌연변이는 한 개 또는 다수의 연속된 분홍세포군 각각을 하나의 돌연변이 건(event)수로 계수하였으며 한 개의 정상세포로 이루어진 경우이거나 수술 전부 또는 꽃 전체가 분홍세포로 이뤄진 경우도 한 건의 분홍돌연변이로 계수하였다. 돌연변이 세포의 계수는 방사선 조사 후 4주 이상 지속적으로 실시되었으며 특히 방사선 조사 후 분홍돌연변이율 증가가 두드러진 고조기간의 검경결과를 통합한 자료(pooled data)로부터 pink mutations/100 hairs로 표현된 돌연변이빈도를 산정하였다.

천연물질의 추출물처리 천연물질의 추출은 추출기(extractor)를 이용하여 4시간 동안 80℃로 가온·추출하였고, 추출용매로는 증류수를 사용하였다. 추출물질(3ml)을 20배 희석(x20)하여 24시간 순치한 절취화서의 화서부분을 중심으로 3시간동안 침지하였다. 침지 중에 화서의 절단부위가 마르지 않도록 하였다.

결과 및 고찰

방사선에 의하여 자주달개비 수술털 세포에 유발되는 각종 돌연변이는 방사선 조사 후 날씨가 경과함에 따라 점차 증가하여 최대값에 이르렀다가 다시 감소하여 자발돌연변이율까지 낮아지는 포물선의 양상을 나타낸다. 이러한 방사선생물학적 특성을 이용하여 추출물을 10배, 희석 처리하여 방사선을 조사한 실험군과 방사선만을 조사한 실험군 비교하였을 때 두 실험군은 분홍돌연변이 빈도가 최대값을 포함한 고조기간은 8일부터 증가하기 시작하여 16일 경부터 감소하기 시작하였다. 이는 통상적으로 고조기간이 6일~10일에 최대값이 분포하는 점을 감안할 때 2일~6일의 고조기간 지연이 나타난 것으로써 천연물질 추출물, 또는 추출물에 함유된 염분의 영향일 가능성이 있다. 추출물을 20배 희

석하여 처리한 실험군 또한 고조기간이 다소 지연되는 결과를 얻었다. 염분은 방사선에 대한 DNA손상에 대한 방어효과작용이 있는 것으로 알려져 있기 때문에[6] 이같은 고조기간 지연의 원인으로 작용했을 가능성을 배제할 수 없다. 수술당 털수와 수술털당 세포수의 일자별 변화 양상은 대조군과 비교하여 유의할 만한 변화는 없었다. 즉, 추출물 처리에 의한 공시식물체의 개화불량 등 생육저해가 유발되지 않은 점은 본 실험에서의 추출물 처리가 결취화서에 중대한 영향을 주는 요인으로 작용하지 않았음을 의미한다.

고조기간에 걸친 통합자료를 분석한 결과, FB 및 FB-I 추출물을 전처리한 실험군의 분홍돌연변이율은 대조군에 비해 두배 정도 증가하였다 (Fig.1) 이같은 체세포 돌연변이율의 증가는 추출물에 함유된 일부 성분과 감마선의 상호작용 (synergism)에 의한 결과인 것으로 해석될 수 있다. 두가지 요인의 복합적 작용이 상호적으로 작용함으로써 방사선만의 조사에 의하여 유발되는 세포손상보다 훨씬 높은 손상 정도가 나타난 것이다. 한편 추출물의 농도를 저농도로 처리한 경우 흥미로운 결과를 나타내었다. PG 추출물 처리군에 있어서의 분홍돌연변이율은 통계적으로 유의할 만한 신뢰수준($P < 0.05$)으로 감소하였다. 이는 PG 추출물의 성분이 감마선에 의한 세포내 유전물질의 손상을 보호하는 작용을 나타낸 결과이다. 본 연구의 결과에 비추어 볼 때 자주달개비는 특정물질 성분에 의한 방사선 방어효과는 물론 방사선 민감효과를 동시에 확인할 수 있는 실험계로서 다양한 천연물질의 radiomodification 가능성을 평가하는 데 유용한 수단이다.

감사의 말씀

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. Ichkawa, S. and Ishii, C., Validity of simplified scoring methods of somatic mutations in *Tradescantia* stamen hairs, *Environ. Exp. Bot.*, **31**:247-252 (1991).
2. Sparrow, A. H. and Sparrow, R. C., Spontaneous somatic mutation frequencies for flower color in several *Tradescantia* species and hybrids, *Environ. Exp. Bot.*, **16**:23-43 (1976).
3. Underbrink, A. G., Schairer, L. A., and Sparrow, A. H., Chemical Mutagens: Principles and Methods for their Detection, Ed. Hollaender, A., Plenum Press, New York, **3**:171-207 (1973).
4. Sparrow, A. H., Underbrink, A. G., and Rossi, H. H., Mutations induced in *Tradescantia* by small dose of X-rays and neutrons: analysis of dose-response curves, *Science*, **176**:916 (1972).

5. Conger, A., A simple liquid-culture method of growing plants, *Proc. Florida State Horticultural Society*, **77**:3-6 (1964).
6. Kim, J. K., Kim, W. R., Kim, J. S., Kim, K. N., and Hong, K. P., Effect of NaCl and gamma ray on pink mutations in the stamen hair cells of *Tradescantia* 4430, *Korean J. Environ. Agr.*, **18** (1999) (in press)

Table 1. Experimental code for the group or material

Code	group or material	remark
CT	Control group	
PG	<i>Panax ginseng</i>	
FB	Fermented beans	
FB-I	Fermented beans	Korean style
AP	<i>Artemisia peinceps</i>	

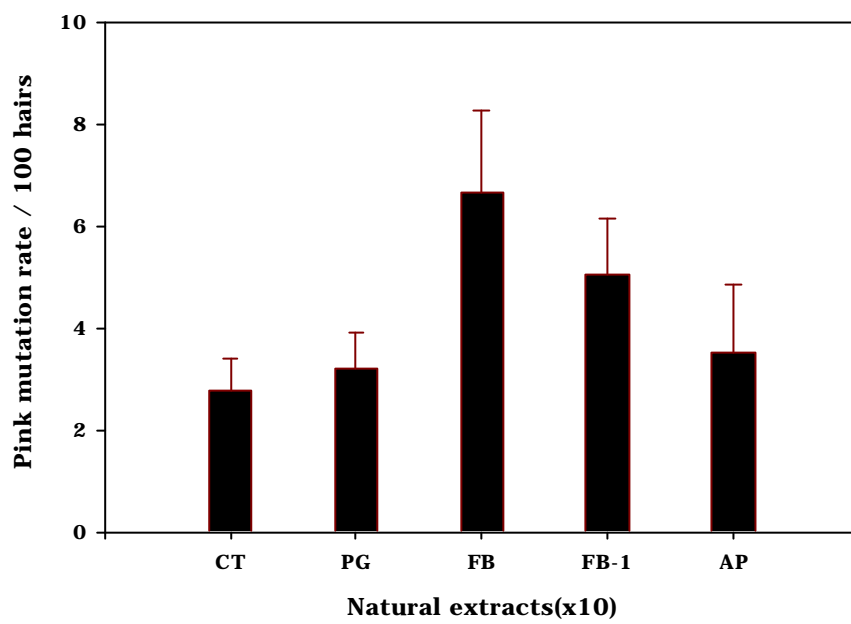


Fig. 1. Pink mutation frequencies induced by radiation in *Tradescantia* 4430 pretreated with 10-fold diluted natural extracts.

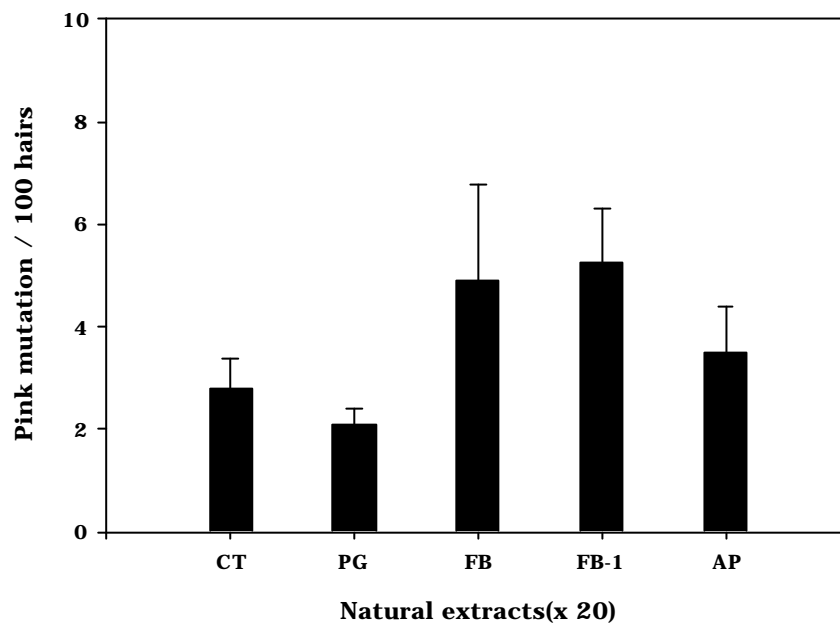


Fig. 2. Pink mutation frequencies induced by radiation in *Tradescantia* 4430 pretreated with 20-fold diluted natural extracts.