

Chinese Hamster Ovary세포에서 Benzo(a)pyrene과 3-Methylcholanthrene에 의한 DNA 단사절단과 복제억제에 미치는 Saponin의 영향†

이정섭 · 이형호* · 박기현** · 박상대

서울대학교 자연과학대학 동물학과, *부산수산대학교 생물공학과

**한국인삼연초연구소

(1990. 7. 10 접수)

본 연구는 Chinese hamster ovary(CHO-KI) 배양세포에서 S-15분획에 의해 활성화된 benzo(a) pyrene (BP)과 3-methylcholanthrene(MC)에 의해 유발된 DNA 단사절단과 DNA 복제억제 및 그 회복과정에 미치는 한국산 인삼추출물 saponin의 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

S-15분획으로 활성화된 10^{-5} M의 BP 또는 MC를 $1.0-10\mu\text{g/ml}$ 의 saponin과 함께 처리할 경우 BP와 MC 단독처리군에 비해 DNA 단사절단률이 감소하였다. DNA 합성률은 활성화된 10^{-5} M의 BP와 10^{-6} M의 MC에 의해 각각 50% 및 75% 억제되었으나, $0.1-10\mu\text{g/ml}$ 의 saponin을 동시에 처리할 경우 DNA 합성억제율이 약 10% 이상 둔화되었다. 그러나 $100\mu\text{g/ml}$ 이상의 saponin 농도에서는 DNA 복제억제에 부가적인 효과를 나타내었다. 또한 10^{-5} M의 BP 또는 MC 처리 후 정상배지에 배양할 경우 DNA 복제억제는 처리 후 1시간에서 최대치를 보이다가 점차 회복되어 4시간 정도에서 정상수준으로 회복되었다. 그러나 $10\mu\text{g/ml}$ saponin의 존재하에서는 배양 후 1시간 정도에서 DNA 합성률이 정상수준으로 회복하고, 6시간후면 대조군의 150% 이상 증가하였다. 이러한 결과는 saponin이 DNA 상해요인에 의한 돌연변이 및 암유발과정에 저해적인 효과를 나타냄을 간접적으로 시사하는 것이다.

서 론

Benzo(a)pyrene(BP)과 3-methylcholanthrene (MC)은 polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)에 속하는 대표적인 돌연변이 및 암유발물질로서 유기 물질의 불완전 연소에 의해 생성되는 것으로 알려져 있다. 이들은 비교적 안정된 탄소고리에 의해 연결되어 있고 물과의 친화력이 없기 때문에 그 자체로는 무해하나 생체내로 들어갈 경우 aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH)나 epoxide hydrase(EH) 등과 같은 여러가지 활성화 효소에 의해 DNA나 단백질과 반응할 수 있는 형태로 활성화된다 (Levin *et al.*, 1977 ; Selkirk *et al.*, 1982). 이러한 대사적

† 본 연구는 인삼연초연구소 연구비에 의해 수행된 것임.

활성(metabolic activation)은 생체내에서 해독작용의 일환으로 microsomal mixed function oxidase(cytochrom P-450과 P-448)에 의해 주도된다(Selkirk *et al.*, 1982).

이렇게 대사적으로 활성화된 대사중간체의 대부분은 일련의 포합해독(conjugated detoxification)작용에 의해 체외로 배출되지만(Nebert *et al.*, 1982), 이 해독과정중 재활성화된 일부의 중간체는 -BP의 경우 7, 8-diol-9, 10-hydrodiol(BPDE) (Huberman *et al.*, 1976), MC의 경우 *trans*-9, 10-hydrodiol(Eastman and Bresnick, 1979)-DNA와 강한 친화력을 가지게 되어 돌연변이 및 암유발에 결정적인 역할을 하게 된다. 이러한 활성화 형태의 중간체는 세포내에서 DNA 단사절단 및 복제억제 등을 포함하는 여러형태의 DNA상해를 유발함으로써 악영향을 끼치게 된다(Park *et al.*, 1985, 1990).

한편 인삼의 구성성분인 saponin에 대한 연구는 주로 생리 및 생화학적 측면에서 많은 연구가 진행되어왔다. 즉 saponin은 부신에서 catecholamine의 분비를 촉진하며(Lim *et al.*, 1987), 또 지질의 과산화과정을 저해함으로써 항산화활성을 지니며, 이는 다시 라디칼의 형성을 저해함으로써 생체내에 유익한 영향을 끼치는 것으로 알려지고 있다(Kim(Jun) *et al.*, 1989). 그러나 DNA 상해요인에 의한 DNA 유전독성에 미치는 영향에 대한 연구는 전무한 상태이다.

따라서 본 연구는 S-15분획으로 활성화된 BP와 MC에 의해 유발된 DNA 단사절단과 복제억제 및 그 회복의 과정에 미치는 saponin의 영향을 규명함으로써 돌연변이 및 암유발 억제효과와의 관련성 여부를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 세포배양

Chinese hamster ovary(CHO-K1) 세포를 전실험에 걸쳐 사용하였다. 배양액은 Eagle's 최소배지(GIBCO ; Grand Island Biological Co., Grand Island, N.Y.)에 10% 소의 혈청(GIBCO)과 항생물질 페니실린-G(100 unit/ml)와 스트렙토마이신(100 μ g/ml)을 첨가하여 사용하였고, 10mM의 HEPES buffer(Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri)와 7.5% 중탄산나트륨으로 완충시켜 pH를 7.2~7.4로 유지시켰다. 세포는 5% 탄산가스가 공급되는 37°C 항온기에서 단층배양하였고, 0.05% trypsin-EDTA, pH 7.2(Sigma Co.)용액으로 2~3일마다 계대배양하였다. Saponin은 한국인삼연구소에서 제공한 3년근 홍삼으로 추출한 총정제 saponin을 사용하였다.

2. S-15분획의 제조

S-15분획의 제조방법으로 Matsuoka 등(1979)의 방법을 약간 수정하여 사용하였다. 180~240g내외의 Sprague-Dawley쥐로부터 간을 떼어내 인산완충 식염수(phosphate buffered saline : PBS) 용액으로 씻어낸 다음, 0~4°C에서 Sucrose-HEPES 용액(250mM sucrose, 2 mM MgCl₂, 20mM HEPES, pH 7.4)을 간의 그램당 3배의 부피로 넣어 Potter-Elvehjem-type Teflon분쇄기로 분쇄하였다. 초원심분리기에서 9,000xg로 10분, 15,000xg로 20분 동안 각각 원심분리한 다음 상층액을 수거 사용하였다.

3. Benzo(a)pyrene(BP) 및 3-methylcholanthrene(MC)의 처리

BP와 MC는 dimethyl sulfoxide(DMSO, Merck)에 용해시킨 후 PBS로 희석하여 원액(0.1M)을 만들고 처리하기 직전에 필요한 농도로 혈청이 들어있지 않은 배양액으로 희석하여 S-15분획과 함께 사용하였다. 이때 반응혼합물은 3ml의 S-15분획, 2ml의 20mM HEPES완충액(pH 7.4), 1ml의 50mM MgCl₂, 1ml의 300mM KCl, 3ml의 3차 증류수 그리고 대사활성의 조효소로서 3mM의 NADPH로 구성하였다.

4. 알칼리 유출법

DNA 단사절단을 측정하기 위하여 Kohn 등(1976, 1981)이 기술한 알칼리 유출법을 약간 변형하여 수행하였다. $0.2\mu\text{Ci/ml}$ 의 ^3H -thymidine으로 24-48시간 표지한 뒤 PBS로 3회 세척하고 BP나 MC를 처리하기 직전까지 정상배양액으로 4시간 동안 배양하였다. BP 또는 MC를 처리한 후 차게한 PBS-Merchant용액(147mM NaCl , $1.47\text{mM KH}_2\text{PO}_4$, 2.70mM KCl , $8.10\text{mM Na}_2\text{HOP}_4$, $0.53\text{mM Na}_2\text{EDTA}$, pH 7.4)으로 세포를 수거하여 pore-size $2\mu\text{m}$ 의 polyvinyl chloride filter(Millopore Corp.)위에 올려놓고 차게한 PBS-Merchant용액으로 3~5회 세척하였다. 그후 pH 10.0인 용해용액(0.2% sodium lauryl sarcosinate, 2.0M NaCl , 40mM EDTA)으로 세척한 후 $20\text{mM Na}_2\text{EDTA}$ (pH 10.3)용액으로 다시 세척하였다. 20mM EDTA 와 $20\text{mM tetrapropyl ammonium hydroxide}$ 가 혼합된 pH 12.1의 유출용액을 넣고, 암상자에서 연동펌프(Monostat Instrument Co., N.Y.)를 사용하여 분당 0.04ml 의 속도로 유출시키면서 시간마다 분획채취기(LKB, Sweden)로 12시간 동안 분획을 채취하였다. 각 분획안의 방사능은 liquid scintillation spectrometer(Packard Instrument Co.)로 측정하였으며, 여과지에 남아있는 방사능은 여과지를 0.4ml 의 1N HCl 로 70°C 에서 1시간 동안 처리하고 2.5ml 의 0.4N NaOH 로 상온에서 30분 동안 중화시킨 후 scintillation cocktail(4g PPO , $0.1\text{g POPOP/1L toluene}$)을 넣어 scintillation spectrometer로 측정하였다.

5. DNA합성률 측정

세포를 $0.02\mu\text{Ci/ml}$ 의 ^{14}C -thymidine (specific activity $50-60\text{mCi/mM}$, Amersham International Ltd., Amersham, U. K.)으로 24~48시간 동안 선평지한 후 2시간 동안 정상배지에서 배양하고, BP 또는 MC를 처리한 직후 또는 필요한 시간 동안 정상배지에 배양하고 $10\mu\text{Ci/ml}$ 의 ^3H -thymidine이 포함된 배지에서 10분 동안 pulse표지하였다. 세포를 방사능으로 표지되어 있지 않은 thymidine($100\mu\text{g/ml}$)이 들어있는 인산완충 식염수로 3번 세척한 후 SSC(150mM NaCl , $15\text{mM sodium citrate}$) 용액을 사용하여 수거하였다. 수거한 세포를 0.5M 수산화나트륨용액으로 30분간 용해시킨 후 4°C 로 냉각시킨 4% trichloroacetic acid(TCA)용액에 18시간 처리하였다. DNA를 GF/A 여과지(Whatman glass fiber filter, W & R Balston Ltd., England)에 수거하여 건조시킨 후 0.5N HCl 용액으로 90°C 에서 2시간 동안 용해시키고 scintillation cocktail을 넣고 liquid scintillation spectrometer를 이용 여과지 위에 남아 있는 방사능의 양을 측정하였다. DNA 합성율은 $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ 방사능의 비로써 계산하였다.

결 과

Fig. 1은 알칼리 유출법을 이용하여 DNA단사절단을 측정한 것으로, 10^{-5} M 의 BP와 (Fig. 1A) MC(Fig. 1B)를 S-15로 1시간 활성화시킨 후 $1.0\mu\text{g/ml}$ 또는 $10\mu\text{g/ml}$ 의 saponin을 함께 처리하였을 때, BP와 MC 단독처리군에 비하여 DNA 단사절단율이 감소하였다. 이와 같은 결과는 saponin이 BP와 MC에 의한 DNA 단사절단을 감소시킴을 시사한다.

BP와 MC에 의한 DNA 합성억제에 미치는 saponin의 영향을 조사하기 위하여 ^{14}C -thymidine으로 표지한 CHO-K1세포에 10^{-5} M BP 또는 10^{-6} M MC를 S-15과 함께 처리하면서 0.1, 1.0, 10, 100 그리고 $1000\mu\text{g/ml}$ 의 saponin을 1시간 동안 처리하였다. 그후 ^3H -thymidine으로 10분 동안 pulse표지한 다음 DNA합성률을 측정하였다(Table 1). 10^{-5} M BP 단독처리군에서는 DNA합성률이 대조군에 비해 약 50%, 그리고 10^{-6} M MC의 경우는 약 79%저해되었으나, $0.1-10\mu\text{g/ml}$ 농도의 saponin을 동시 처리하였을 경우, 10%이상 DNA합성저해가 둔화되었다. 그러나 $100\mu\text{g/ml}$ 이상의 saponin농도에서는 오히려 DNA합성에 부가적인 저해 효과를 나타내었다(Table 1).

Table 1에서 얻은 결과를 토대로 DNA 복제 억제를 둔화시키는 saponin농도($10\mu\text{g/ml}$)에서

BP와 MC에 의한 DNA 복제억제의 회복과정에 미치는 saponin의 영향을 조사하였다(Fig. 2). 일반적으로 CHO-K1 세포에 BP 또는 MC를 S-15 존재하에 1시간 처리하고 정상배지에 배양하면 처리 후 1시간에서 가장 높은 DNA 합성억제가 유발되며, 그후 점차 회복되어 4시간 후에는 거의 정상 수준으로 나타낸다(Fig. 2A & B). 그러나 BP 또는 MC처리 후 10 μ g/ml 농도의 saponin이 존재하는 상태에서 정상배지에 배양하면, 전형적인 DNA합성억제의 회복양상에서 벗어나 1시간 정도면 대조군 수준 이상으로 회복될 뿐 아니라, 6시간에는 대조군의 150% 이상 DNA합성률이 현저히 증가되었다. 이러한 현상은 BP(Fig. 2A)와 MC(Fig. 2B) 처리시에 모두 나타났는데, 이같은 결과는 saponin이 DNA상해요인에 의한 DNA합성억제의 회복과정에서 중요한 역할을 수행하고 있음을 시사하는 것이다.

Table 1. Effects of saponin on the inhibition of DNA synthesis induced by S-15-activated BP or MC in CHO-K1 cells.

Chemical Treatment ^a	Saponin Dose (μ g/ml) ^a	Specific Activity (%) ^b	% Increased ^c
None	10	100	—
10 ⁻⁵ M BP	—	50.3	—
	0.1	58.0	7.7
	1.0	62.5	12.2
	10.0	70.2	19.9
	100.0	48.9	-1.4
	1000.0	42.5	-7.8
10 ⁻⁶ M MC	—	79.5	—
	1.0	90.4	10.9
	10.0	94.9	15.4
	100.0	97.6	18.1
	1000.0	52.3	-27.2

a, CHO-K1 cells were pre-labeled with 0.02 μ Ci/ml ¹⁴C-thymidine for 24 hr, treated with S-15-activated BP or MC for 1hr, together with indicated doses of saponin in the serum-free medium, and then puls-labeled with 10 μ Ci/ml ³H-thymidine for 10 min.

b, The rate of DNA synthesis was expressed as specific activity:
 Σ ³H-thymidine cpm / Σ ¹⁴C-thymidine cpm

c, Percent increase means the percent value enhanced by saponin in the indicated doses relative to that of independent treatment of BP or MC activated with S-15 for 1 hr.

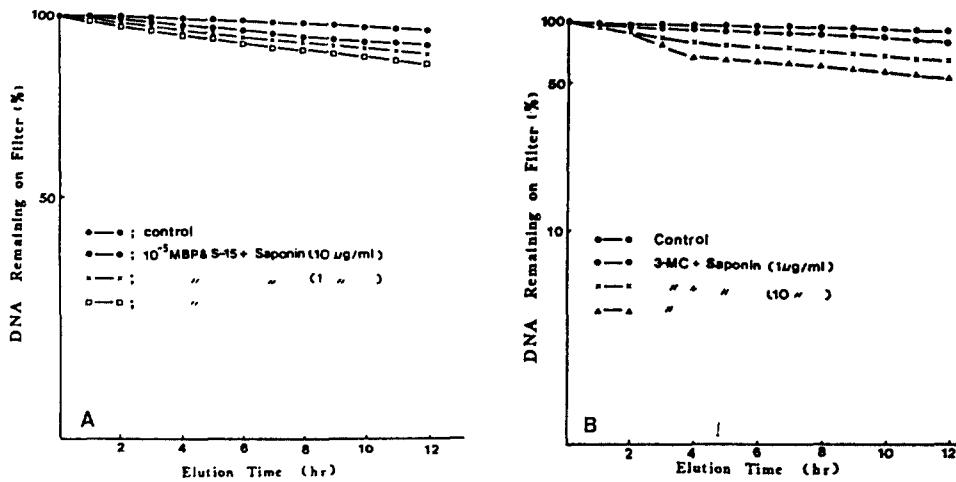


Fig. 1. Effects of saponin on DNA single strand breaks induced by S-15-activated BP (Panel A) or MC (Panel B). CHO-K1 cells were prelabeled with 14 C-thymidine for 24 hr, treated with 10^{-5} M of BP or MC which had activated with S-15 fraction for 1 hr, together with indicated doses of saponin. Thereafter, alkaline elution was carried out as described in Materials and Methods.

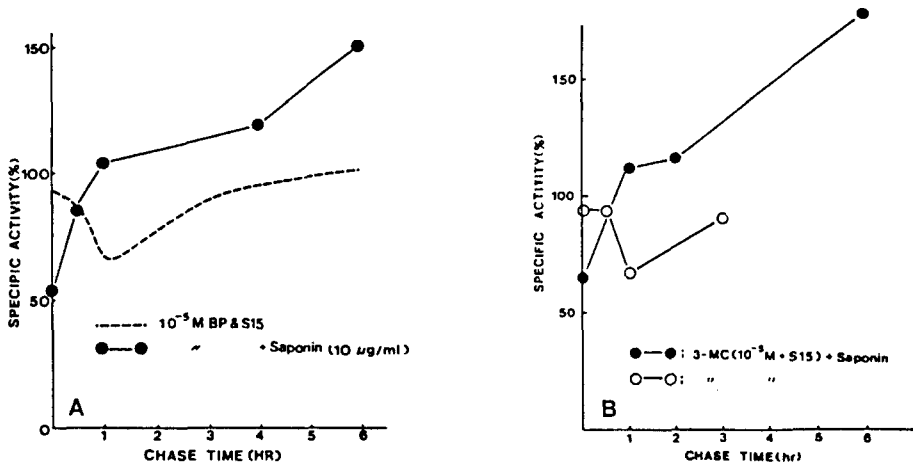


Fig. 2. Effects of saponin on the recovery process of the inhibition of DNA synthesis induced by S-15-activated BP (Panel A) or MC (Panel B). CHO-K1 cells prelabeled with 0.02μ Ci/ml 14 C-thymidine were treated with 10^{-5} M of BP or MC in the presence of S-15 fraction, washed with phosphate buffered saline (PBS), chased for indicated times in the normal medium containing 10μ g/ml saponin, and then pulse-labeled with 10μ Ci/ml 3 H-thymidine for 10 min. The rate of DNA synthesis was expressed as specific activity: Σ^3 H-thymidine cpm / Σ^{14} -thymidine cpm.

논 의

포유동물배양세포에서 자외선이나 methyl methanesulfonate (MMS)와 같은 직접적인 DNA 상해요인에 의한 DNA 단사절단 및 복제억제에 관한 연구는 지난 20여년 동안 많은 연구가 수행되어왔다(Edenberg, 1976 ; Park and Cleaver, 1979). 그러나 benzo(a)pyrene(BP)이나 3-methylcholanthrene(MC)과 같은 돌연변이 및 발암원의 전구물질에 대한 연구는 개체 수준의 생체독성 측면에서 대사활성 과정중에 생성되는 중간체의 동정 및 생화학적 특성의 규명 등에 주로 국한되어 왔다. 최근 본 연구실에서는 이러한 발암전구물질인 BP와 MC에 의한 DNA 단사절단 및 복제억제의 양상 등을 규명한 바 있다(Park *et al.*, 1990). 본 연구는 인삼성분인 saponin이 BP 또는 MC에 의한 DNA 단사절단 및 복제억제 등의 유전독성에 감소효과를 지니는지를 밝히기 위하여 수행하였다.

10 μ g/ml 농도의 saponin은 S-15분회에 의해 활성화된 BP와 MC에 의한 DNA 단사절단의 유발에 저해효과를 보였는데(Fig. 1) 이는 대사활성의 과정중에 생긴 BP 또는 MC의 중간체와 saponin이 복합체를 이루어 발생한 결과이거나, 또는 DNA 상해의 회복에 관여하는 효소(DNA repair enzymes)의 활성을 증가시킴으로써 발생한 결과가 아닌가 추측된다. 또한 0.1-10 μ g/ml 농도의 saponin은 BP나 MC의 DNA합성 저해효과를 완화시켰을 뿐 아니라(Table 1) 그 합성억제로부터의 회복을 가속화시켰다(Fig. 2). 특히 흥미로운 사실은 CHO-K1세포에 BP나 MC를 처리한 후 10 μ g/ml의 saponin이 함유된 정상배지에 배양하였을 때 1시간 이후 DNA합성률이 대조군 수준을 넘게되고 6시간에는 150% 이상을 넘게된다는 사실이다(Fig. 2A & B).

일반적으로 DNA 합성물의 저해는 DNA상해에 의해 활성화되어 있던 replicon의 숫적감소에 기인하거나(Painter and Young, 1976 ; Painter, 1977), 이미 복제가 개시된 복제포크(replication fork)의 진행을 DNA 상해가 방해하여 발생한다고 알려져왔다(Edenberg, 1976 ; Hanawalt *et al.*, 1979). 또한 복제억제의 회복과정에는 새로운 복제원점(newly avtivated replication origin)의 사용가능성이 제시되고 있다(Meneghini and Mello-Filho, 1983). 이러한 사실들을 기초하여 볼 때 BP나 MC에 의한 상해의 회복과정에서 DNA합성물의 현격한 증가는 saponin에 의한 활성 replicon의 숫적증가와 더불어 새로운 복제원점의 사용에 의한 배가적 효과로 사료된다(Park and Cleaver, 1979 ; Meneghini and Mello-Filho, 1983 ; Tayler, 1984 ; Griffiths and Ling, 1985).

REFERENCES

1. Edenberg, H.J., (1976): Inhibition of DNA replication by ultra-violet light. *Biophys. J.* 16: 849-860.
2. Eastman, A., and E. Bresnick, (1979): Metabolism and DNA binding of 3-methylcholanthrene. *Cancer Res.* 39: 4316-4321.
3. Griffiths, T.D., and S.Y. Ling, (1985): Effects of ultraviolet light on thymidine incorporation, DNA chain elongation and replicon initiation in wild-type and excision-deficient Chinese hamster ovary cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 826: 121-128.
4. Hanawalt, P.C., P.K. Cooper, A.K. Ganesan, and C.A. Smith, (1979): DNA repair in bacteria and mammalian cells. *Ann. Rev. Biochem.* 48: 783-836.

5. Huberman, E., L. Sachs, S.K. Yang, and H.V. Gelboin, (1976): Identification of mutagenic metabolites of benzo(a)pyrene in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73: 607-611.
6. Kim(Jun), H., Y.H. Lee, and S.I. Kim, (1989): Antipepatoxic compounds of Korean ginseng effect of lipid peroxidation. *Korean Biochem. J.* 22: 12-18.
7. Kohn, K.W., L.C. Erickson, R.A.G. Ewig and A. Freidman, (1976): Fractionation of DNA from mammalian cells by alkaline elution. *Biochemistry* 15: 4627-4636.
8. Kohn, K.W., R.A.G. Ewig, L.C. Erickson and L.A. Zwelling, (1981): Measurement of strand breaks and cross-link by alkaline elution. *In: DNA repair: A Laboratory manual of Research Procedure* (E.C. Friedberg and P.C. Hanawalt, eds.) Marcel Dekker, N.Y. Vol. 1. part B, pp. 379-401.
9. Levin, W., A.Y.H. Lu, D. Ryan, A.W. Wood, J. Kapitalnik, S. West, M-T. Huang, A.H. Conney, D.R. Thakker, G. Holder, H. Yogi, and D.M. Jerina, (1977): Properties of the liver microsomal monooxygenase system and epoxide hydrase: factors influencing the metabolism and mutagenicity of benzo(a)pyrene. *In: Origins of human cancer.* (H.H. Hiatt, J.D. Watson and J.A. Winston, eds.) Cold Spring Harber Lab., N.Y., Book B, pp. 659-670.
10. Lim, D., K. Park, K. Kim, K. Lee, J. Moon, and Y. Kim, (1987): Influence of total ginseng saponine on secretion of catecholamines in the isolated adrenal gland of rabbits. *Korean Biochem. J.* 20: 230-238.
11. Matsuoka, A.M., H. Hayashi, and A. Ishidate Jr, (1979): Chromosome aberration tests on 29 chemicals combined with S9 mix *in vitro*. *Mut. Res.* 66: 277-290.
12. Menmeghini, R. and A.C. Mello-Filho, (1983): Rate of DNA synthesis in mammalian cells irradiated with ultraviolet light: A model replication fork, and in the number of active replicons. *J. Theor. Biol.* 100: 309-321.
13. Nebert, D.W., M. Negishi, L.W. Enquist, and D.C. Swan, (1982): Use of recombinant DNA technology in the study of genetic differences in drug metabolism affecting individual risk of malignancy. *In: Mechanism of Chemical Carcinogenesis* (C.C. Harris and P.A. Cerutti eds.) pp. 351-362.
14. Painter, R.B., (1977): Inhibition of initiation of HeLa cell replicons by methyl methanesulfonate. *Mut. Res.* 42: 299-303.
15. Painter, R.B. and B.R. Young, (1976): Formation of nascent DNA molecules during inhibition of replicon initiations in mammalian cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 418: 146-153.
16. Park, J.K., J.S. Lee, H.H. Lee, I.S. Choi, and S.D. Park, (1990). Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbon-induced DNA single strand breaks is attributed to slower rejoining processes by DNA polymerase inhibitor, cytosine arabinoside in CHO-K1 cells. *Life Science*, in press.
17. Park, K.H., J.S. Lee, H.H. Lee, and S.D. Park, (1985): Effects of 3-methylcholanthrene on DNA damages and replication inhibition in the presence of metabolic activation system. *Korean Biochem. J.* 18: 201-208.
18. Park, S.D., and J.E. Cleaver, (1979): Post-replication repair: Questions of its definition and possible alternation in Xeroderma pigmentosum cell strains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76: 3927-3931.

19. Selkirk, J.K., M.C. Macleod, C.J. Moore, B.K. Mansfield, A. Nikbakht, and K. Dearstone, (1982): Species variance in the metabolic activation of polycyclic hydrocarbons. *In: Mechanisms of Chemical Carcinogenesis.* (C.C. Harris and P.A. Cerutti, eds.) Alan R. Liss Tnc., N.Y. pp. 331-349.
20. Taylor, J.H., (1984): Replicon models for organization and control of chromosome reproduction. *In: Genetics: New frontiers* (V.L. Chopra, B.C. Joshi, R.P. Sharma and H.C. Bansal, eds). *UNIPUB*, N.Y., pp. 213-218.

Effects of Saponin on DNA Strand Breaks and Replication Inhibition Induced by S-15-activated Benzo(a)pyrene and 3-Methylcholanthrene in Chinese Hamster Ovary Cells

Jung Sup Lee, Hyung Ho Lee*, Ki Hyun Park, and Sang Dai Park**

Department of Zoology, Seoul National University, Seoul, Korea

**Department of Biological Science and Technology*

National Fisheries University of Pusan, Pusan, Korea

***Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejeon, Korea*

The present study was determined the effects of saponin extracted from Korean ginseng on the DNA strand breaks and replication inhibition in Chinese hamster ovary (CHO-K1) cells induced by S-15-activated benzo(a)pyrene (BP) and 3-methylcholanthrene (MC).

The frequencies of DNA strand breaks induced by 10^{-5} M BP or MC were significantly reduced by cotreatment with 1.0-10 $\mu\text{g/ml}$ of saponin for 1 hr, compared to those of independent treatment of BP or MC. The rates of DNA synthesis were inhibited to approximately 50% and 79% by treatment with 10^{-5} M BP and 10^{-6} M MC for 1 hr, respectively. However, the inhibition rates of DNA synthesis by BP or MC were alleviated to above 10% by incubation with 0.1-10 $\mu\text{g/ml}$ saponin. In addition, the recovery of DNA synthesis inhibited by 10^{-5} M BP or MC treatment was increased by the addition of 10 $\mu\text{g/ml}$ saponin. These results seem to suggest that saponin may exert its inhibitory effects to mutagenic and/or carcinogenic properties of DNA damaging agents in mammalian cells.