

Lactobacillus Leichmanii에 있어서 Vitamin B₁₂가

핵산대사에 미치는 영향*

—특히 Allicin의 효과에 대하여—

이화여자대학교 의과대학 미생물학교실

박 혜 경

=Abstract=

Effect of Vitamin B₁₂ on Nucleic Acid Metabolism in Lactobacillus leichmanii (Effect of Allicin on Nucleic Acid Metabolism)

Hae-Kyung, Park

Dept. of Microbiology, College of Medicine, Ewha Womans University

Vitamin B₁₂ is required during growth of Lactobacillus leichmanii. At a concentration, allicin stimulated the action of vitamin B₁₂ and also had the same effect on DNA synthesis by isotope experiment.

서 론

Lactobacillus leichmanii는 미생물 성장인자로써 methyl기 또는 vitamin B₁₂를 필요로 한다¹⁾²⁾³⁾. Vitamin B₁₂는 사람체내에서나 미생물세포내에서 one carbon intermediate의 전달과정에 요구되며 deoxy-ribonucleotide합성, 핵산의 isomerization 등에 관여하며 기타 세균세포내 대사과정에서 많은 효소의 coenzyme으로써 이용되고 있다⁴⁾. 즉 vitamin B₁₂는 L. leichmanii의 세포내에서 직접적으로 핵산생합성 과정에 관여된다는 것이다⁵⁾.

한편, 한국인은 동물성식품섭취량이 적어 vitamin B₁₂ 섭취량이 부족되는 것으로 되어 있다⁶⁾¹⁸⁾. 그결과 한국인 혈청내 vitamin B₁₂ 함량은 구미인의 절반밖에 되지 않는다¹⁸⁾. 그러나 우리나라에서는 아직 vitamin B₁₂의 정형적부족증환자는 발견치 못하고 있다. 이런 점에 대한 생체의 반응도는 국민의 식이성 및 유전적 관계가 있다고 볼 수가 있다.

우리나라 사람들의 식습관은 당질섭취량이 많다. 그 결과 vitamin B₁ 요구량이 높을 것으로 되어 있으나 실제 섭취량을 조사한데 외국인의 그것에 비하여 큰 차이가 없으나 과거와는 달리 최근 조사보고에 의하면 vitamin B₁ 부족증 증례는 도리어 감소되고 있다고 한다. 이런 현상은 이제까지 알려진 바로는 첫째 쌀의 도정율이 낮다는 설이 있고 둘째로는 마늘 섭취와 관계가 있다고도 한다²¹⁾. 즉 마늘성분중 마늘냄새의 주 성분인 Allicin은 장내에서 vitamin B₁과 결합하여 B₁ 흡수를 촉진시키고 체내 체류를 촉진한다고 한다²¹⁾. 또한 Allicin은 allyl disulfide 화합물으로써 Alliin이 allinase에 의하여 분해되어 형성된 것으로써 마늘의 냄새의 원천이 되며 자극성이 강하고 과량을 사용하였을 때에는 세균의 성장억제작용이 있다고 한다¹⁹⁾. 그러나 적당량을 사용하였을 때에는 위에 있어서 각종대사를 촉진시키는 것으로 되어 있다⁷⁾²⁰⁾.

위와 같은 견지에서 저자는 마늘성분중 allicin과 vitamin B₁₂와의 상관관계를 관찰하고자 미생물의 성장과정과 미생물세포내에서의 핵산(DNA)생합성에 대

*본 논문은 이화여자대학교 연구보고서로써로 진행되었음.

한 영향을 관찰한 바 결과를 얻었기에 보고 하는 바이다.

실험방법

1) 균주 : 본교실에서 계대배양하고 있는 *L. leichmanii*(ATCC 7830)을 사용하였다.

2) 시약 : Vitamin B₁₂는 주사용용액(5ng/ml) (Rorisol 50 U.S.A.)를 사용하였고 Allicin(Sigma, U.S.A.) 및 Allyl disulfide(WAKO pure chemical Inc.)를 사용하였다.

3) 균액제조 : Vitamin B₁₂ assay medium (Difco) 5ml broth에 *L. leichmanii*를 37°C 부탄기에 20시간 호기성배양후 원심침전하여 세균침전을 세번 생리적식염수로 씻어서 증류수에 부유시켜 균액으로 사용하였다³⁾.

4) 미생물성장에 미치는 영양 측정방법 : Vitamin B₁₂ assay medium 5ml, vitamin B₁₂ 5ng/ml, allicin 10ng/ml, Allyl sulfide 10ng/ml를 다음과 같은 량을 첨가한 후 각시험관에 일정량의 균액을 넣고 37°C에서 20시간 배양한 후 λ=530에서 혼탁도를 spectrophotometer를 사용하여 읽는다.

5) 핵산대사에 미치는 영향 : C¹⁴-glycine을 위와같은 media에 첨가하여 세균을 배양하고 DNA를 분리하여 Radioactivity를 scintillation counter에 의하여 측정하였다.

실험결과 및 고찰

Vitamin B₁₂ 미생물측정법에 있어서 미생물의 발육 조건은 vitamin B₁₂ 농도에 반드시 정비례하지만은 않

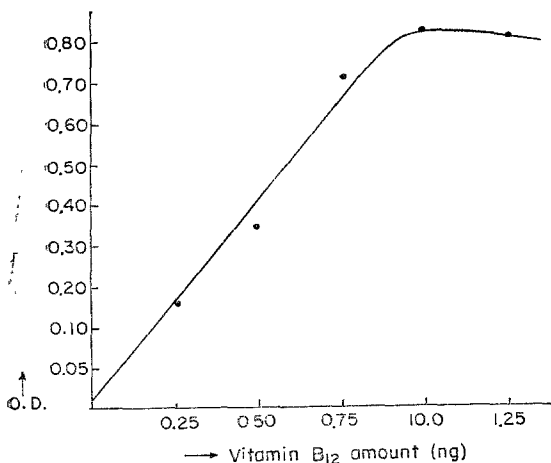


Fig. 1. Standard curve.

는다. 그래서 아래와 같은 실험을 하여 미생물의 발육조건이 가장 좋은 vitamin B₁₂ 농도를 우선결정하였다.

Vitamin B ₁₂	0	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25
ng/ml		ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
Turbidity (O.D.)	0.001	0.16	0.34	0.72	0.82	0.80

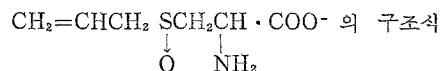
Fig. 1에서 보는 바와 같이 *L. leichmanii*의 성장상태는 vitamin B₁₂의 media중의 농도가 일정량 이상이 되면 도리어 둔화되는 경향이 있는 것을 알았다. 즉 농도가 0.25ng/ml에서 0.75ng/ml 사이가 가장 양호하였다. 그래서 본 실험에서는 0.50ng/ml 농도를 표준으로 택하였다.

Alliin의 효과에 대하여

Table 1 및 3에서 보는 바와 같이 vitamin B₁₂ 량을 일정케하고 alliin함량을 변화시킨바 미생물의 발육은 alliin함량이 1.5ng까지는 변화가 없었다가 그 이상의 농도에서는 발육이 억제되었고 많은 농도에서는 전연 발육되지 않음을 관찰하였다. 한편 DNA생합성에 있어서 보전제 alliin 농도가 1.0ng, 1.5ng까지는 상승하여 alliin을 부가치 않은 군에서 530cpm이든 것이 1,585cpm 및 1,225cpm으로 되었다. 그 이상의 농도에서는 130cpm 그리고 110cpm가 되었다. 즉 alliin이 어느농도까지는 DNA 생합성을 촉진시켰으나 그 이상에 있어서는 도리어 DNA 생합성을 억제시키는 경향으로 나타났다. 이는 미생물의 발육속도와도 일치되었다.

Allicin이 생물성장에 미치는 영향 : Table 2 및 4에서 보는 바와 같이 vitamin B₁₂는 가장 좋은 발육조건에 두고 allicin 농도만 변동시킨바 미생물의 발육속도는 0.5ng에서는 대조군에 비하여 큰 변화가 없었고 1.0ng에서는 혼탁도가 0.80으로 갑자기 상승되더니 1.5ng에서 도리어 0.24로 떨어져 성장이 억제되는 경향으로 나타났으며 2.5ng에서는 전연 성장치 않음을 알았다. 한편 DNA 생합성을 살펴보면 0.5ng까지는 역시 큰 변화가 없다가 1.0ng에서 1,450cpm, 1.5ng에서 1,632cpm으로 나타나 최고치에 달하였고 2.0ng에서는 370cpm으로 0.5ng의 430cpm과 비슷하였고 2.5ng에서는 125cpm으로 대조군과 비슷하였다. Allicin에 있어서는 alliin 때와 같이 강한 억제작용은 없는 경향이였다.

Alliin(3-(allylsulfinyl) alanine)은



으로 나타내고 마늘의 구성성분이며 냄새가 없고 antibacterial action도 없는 것으로 되어 있다. 그러나 이

Table 1.

Tube	1	2	3	4	5	6	7
Vitamin B ₁₂ ¹⁾	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Alliin ²⁾	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30
O.D. ³⁾	0.32	0.36	0.36	0.36	0.05	0.02	0.00

- 1) *Vitamin B₁₂ Solution 5ng/ml
 2) *Alliin Solution 10ng/ml
 3) *O.D. Optical density

Table 2.

Tube	1	2	3	4	5	6
Vitam in B ₁₂ ¹⁾	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Allicin ²⁾	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
O.D. ³⁾	0.38	0.39	0.80	0.04	0.03	0.001

- 1) Vitamin B₁₂ 5ng/ml
 2) Allicin 10ng/ml
 3) O.D. Optical density

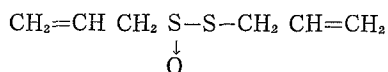
Table 3.

Tube	1	2	3	4	5	6
Vitamin B ₁₂	0.50ng/ml	0.50ng/ml	0.50ng/ml	0.50ng/ml	0.50ng/ml	0.50ng/ml
Allicin	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
Radioactivity(cpm)	530	560	590	720	0	0

Table 4.

Tube	1	2	3	4	5	6
Vitamin B ₁₂	0.5ng/ml	0.5ng/ml	0.5ng/ml	0.5ng/ml	0.5ng/ml	0.5ng/ml
Allicin	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
Racliioactivity (cpm)	485	1,430	450	132	170	125

물질이 allinase라는 효소작용을 받으면 allicin으로 변한다 (Thio-2-propene-1-sulfinic acid s-allyl ester).



이 물질은 강한 자극성 냄새가 있고 피부를 자극하며 antimicrobial activity가 있는 것으로 되어 있다¹⁸⁾. 이런 과정은 마늘을 손상시키는 것만으로도 마늘조직 내에서도 일어날 수가 있다¹⁹⁾. 그리고 이물질이 대사를 촉진시킨다고 한다.⁷⁾⁸⁾

한편 vitamin B₁₂가 세균조직내에서의 역할은 핵산 합성과정에 있어 ribonucleoside diphosphate가 deoxyribonucleoside로 변화되는데 이용된다²⁾.

또한 vitamin B₁₂는 folic acid와 같은 작용도 하고⁹⁾ thymine합성에 이용된다¹⁰⁾. Mancourt 등은 L. leichmanii를 vitamin B₁₂와 thymidine 이 첨가된 배지에서 균의 성장에 영향을 준다고 하였다⁵⁾. 이물질에 대하여는 Lionel¹¹⁾, William¹²⁾, Gary¹³⁾ 등도 같은 의견을 제창하였다. 저자는 vitamin B₁₂가 L. leichmanii 성장에 있어 중요한 인자로 되어있으며 그중에서도 핵산합성에 요구됨을 관찰하였고 마늘성분중 alliin 과 allicin이 vitamin B₁₂작용에 미치는 영향을 관찰 하였다. Alliin은 thiamine과 결합하여 allithiamine 이 되어 체내에 thiamine 저장을 돕고 thiamine 활성화에 크게 영향을 주는것으로 되어 있다⁷⁾. 본 실험에서도 alliin과 allicin의 antibacterial action이 일정농

이상에서는 출현하나 일정농도 까지는 대사를 촉진
 켜고 DNA합성과정에서도 역시 같은 효과가
 있는 것을 관찰하였다.

위와같은 결과로 보아 alliin과 allicin의 많은량 섭
 식은 인체에 해가 될 수 있으나 일정량에서는 도리어
 itamin 작용을 돕는것을 관찰하였다.

결 론

*L. leichmanii*의 성장과정에 있어 vitamin B₁₂가
 요구되며 vitamin B₁₂의 작용을 alliin및 allicin이 일
 정한 농도에 있어서는 대사를 촉진시키고, DNA합성
 에 대하여도 동위원소실험에 의하면 촉진시키는 효과
 가 있음을 알았다.

—References—

- 1) Robert, L. Davis, and Bacon F. Chow: Some applications of rapid uptake of vitamin B₁₂ by resting *Lactobacilli leichmanii* organism, *Science*, 115, 352, 1952.
- 2) Buchanana, R.E., and N.E. Gibbons: *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed., William Wilkins, 1974.
- 3) Graham, S. Wilson, and Ashley Miles: *Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology, and immunity*, 6th ed., Edward, Arnold, 1975.
- 4) William Burrow: *Burrows textbook of microbiology*, 12ed., Saunders, 1973.
- 5) Mancourt Dowring, Irwin A. Rose, and B.S. Schweigert: Purine and pyrimidine requirement of *L. leichmanii* in the presence of vitamin B₁₂ or thymidine, 141—143, 1952.
- 6) Mancourt Downing, and B.S. Schweigert: Role of vitamin B₁₂ in nucleicacid metabolism. IV. Metabolism of C¹⁴-labelled thymidine by *Lactobacillus leichmanii*, 521—526, 1955.
- 7) 이진순: 마늘이 대사과정에 미치는 영향에 대해서, 서울대학교 논문집, 자연과학, 144—170, 1957.

- 8) 박혜경, 성낙용: 해산물의 vitamin B₁₂ 함량측정 이화의대지, 1, 113—117, 1978.
- 9) Kamath, S.H.: *Clinical biochemistry for medical technologists*, Little Brown and Company Boston, 158—159, 1976.
- 10) Dinning, J.S., B.K. Allen, R.S. Young, and P.L. Day: The role of vitamin B₁₂ in thymine biosynthesis by *L. leichmanii*, *J. Biol. Chem.* 233, 674, 1958.
- 11) Lionel A. Manson: Vitamin B₁₂ and deoxy-ribose synthesis in *Lactobacilli leichmanii*, *J. Biol. Chem.* 235, 2955—2958, 1960.
- 12) Beck, W.S., S. Hook, and B.H. Barnett: The metabolic function of vitamin B₁₂ distinctive mode of unbalanced growth behavior in *Lactobacillileichmanii*, *Biochim. Biophys. Acta*, 55, 455—469, 1962.
- 13) Gary R. Cravens, and Mancourt Downing: Vitamin B₁₂ and purine metabolism in *Lactobacilli leichmanii*, *J. Biol. Chem.*, 238, 1464—1466, 1962.
- 14) Robert L. Davis, and Bacon F. Chow: Some applications of rapid uptake of vitamin B₁₂ by resting *Lactobacillus leichmanii* organism, *Science*, 115, 351—352, 1952.
- 15) Raven, J.L.: Assay of vitamin B₁₂, *Lancet*, i, 1101, 1956.
- 16) Clive Brandbeer, and Marjess L. Woodrow: Transport of vitamin B₁₂ in *Escherichia coli*. Energy dependence, *J. Bacteriology*, 128, 99—104, 1976.
- 17) Masao Kageyama, Kathryn A. Burg, and D. Perlmar: Microbial production of vitamin B₁₂ antimetabolites. III. Compound 102804 from *Bacillus cereus*,
- 18) C.J. Cavallito and J. Hays Bailey: Allicin, the antibacterial Principles of *Allium Sativum*, *J. Amer. Chem. Soc.* 66, 1950, 1944.
- 19) R.C. Jain: Effect of alcoholic extract of Garlic in Atherosclerosis, *Am. J. Clin. Nutr.* 31, 1982, 1978.