

현탁배양에 의한 연초 Xanthi 조직으로 부터 ubiquinone의 생산

한국인삼연초연구소

강신웅, 양덕춘, 천성룡
손종현, 최광택, 박지창

Ubiquinone production from *N. tabacum* cv. Xanthi tissue by suspension culture

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

Kwang, S.W., Yang, C.C., Cheon, S.R.,
Shon, J.H., Choi, K.T., Park, J.C.

실험목적

최근 조직배양 기술을 이용한 이차대사산물 생산연구가 활발히 진행되고 있는바, 심장병 치료제로써 사용되는 Ubiquinone-10를 연초 *N. tabacum* cv. Xanthi 조직을 현탁배양하여 생산하고자 수행하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용한 재료는 연초 *N. tabacum* cv. Xanthi 정상조직과 *Agrobacterium tumefaciens* A₄T 균주를 접종하여 형질전환된 연초 hairy root를 이용하여 수행하였으며, ubiquinone의 분석은 배양세포 625mg을 냉동건조하여 600 ul의 propanol과 hexan을 3 : 5로 혼합하여 추출한 후 원심분리하여 건조시킨후 dioxane을 25 μ l 첨가하여 Bondapak C-18 HPLC을 이용하여 분석하였다.

실험결과 및 고찰

1. 연초 Xanthi callus의 현탁배양시 세포밀도와 배양시기별 callus의 증가율과 ubiquinone의 함량변화를 조사한 결과 callus의 증가율은 28에서 15일간 배양하였을때 가장 높았으며 ubiquinone의 함량은 배양 10일경에 비교적 높았다.
2. 연초 Xanthi callus의 현탁배양시 성장에 미치는 2,4-D와 NAA의 혼합효과를 조사한 결과 유의적인 차이는 없었으나 NAA를 1.0mg/l 단독으로 처리하였을때 증식효과가 높았다.
3. *A. tumefaciens* A₄T 균주에 의하여 형질전환된 식물체의 루리와 정상루리에서 ubiquinone의 함량을 조사한 결과 형질전환된 루리에서 ubiquinone의 함량이 높았다.
4. 또한 형질전환된 식물체에서 형성된 루리와 따로 배양된 hairy root와의 ubiquinone의 함량의 측정결과 hairy root를 단독으로 배양했을때 ubiquinone의 함량이 높았다.
5. 현탁배양시 ubiquinone의 함량에 미치는 sucrose의 효과를 조사한 결과 10-50g/l 첨가시에서는 성장과 ubiquinone의 함량에는 커다란 차이가 없었으나 70g/l 첨가시 ubiquinone의 생산수율이 다소 높은 경향을 보였다.

Table 1. Effect of cell density on the production of ubiquinone 10(ub 10) and growth of callus derived from *N. tabacum* cv.Xanthi leaf by suspension culture according to time course in the dark condition

Cultured Time(Days)	Cell density (%)	Fresh weight (g/flask)	Content of ub 10 ($\mu\text{g/g. D. W.}$)
5	1	0.707 \pm 0.046	12.75
	2	1.190 \pm 0.031	15.35
	3	1.726 \pm 0.166	21.70
10	1	2.106 \pm 0.143	22.90
	2	3.798 \pm 0.251	24.40
	3	4.656 \pm 0.170	19.95
15	1	5.042 \pm 0.244	17.15
	2	7.074 \pm 0.284	16.10
	3	7.365 \pm 0.218	16.70
20	1	5.384 \pm 0.052	18.30
	2	7.139 \pm 0.117	18.40
	3	7.943 \pm 0.469	18.35

Table 3. Effect of 2,4-D and NAA on the growth of callus derived from *N. tabacum* cv. Xanthi leaf by suspension culture

Phytohormone(mg/l)		Fresh weight of callus (g/flask)
2,4-D	NAA	
0	0.5	2.848 \pm 0.213
	1.0	3.999 \pm 0.819
	2.0	3.712 \pm 0.466
0.05	0.5	2.269 \pm 0.122
	1.0	3.280 \pm 0.156
	2.0	3.304 \pm 0.295
0.1	0.5	3.106 \pm 0.364
	1.0	3.388 \pm 0.144
	2.0	2.526 \pm 0.104
0.5	0.5	2.150 \pm 0.244
	1.0	2.739 \pm 0.217
	2.0	3.369 \pm 0.348

Table 4. Ubiquinone contents of normal and transformed roots derived from *N. tabacum* cv.xanthi

Roots	Dry weight per fresh weight ($\mu\text{g. D. W. /g. F. W.}$)	Contents of Ubiquinone per fresh weight ($\mu\text{g/g. F. W.}$)
Normal root	0.062	0.1125
Transformed root	0.066	0.6575

Table 6. Effect of sucrose on the production of ubiquinone 10 (ub 10) and growth of xanthi hairy roots transformed by infection of *A. tumefaciens* A4T

Conc. of sucrose (g/l)	Fresh weight of hairy roots(g/flask)	Content of ub 10 ($\mu\text{g/g}$)	Productive index ($\mu\text{g/flask}$)
10	2.448 \pm 0.139	1.202	2.942
30	2.529 \pm 0.151	1.402	3.546
50	2.510 \pm 0.064	1.434	3.599
70	3.074 \pm 0.074	1.470	4.519

Table 5. Ubiquinone contents of normal and transformed roots derived from *N. tabacum* cv.xanthi

Cell lines	Dry weight per fresh weight ($\mu\text{g. D. W. /g. F. W.}$)		Contents of Ubiquinone per fresh weight ($\mu\text{g/g. F. W.}$)	
	Root with shoot	Root only	Root with shoot	Root only
Ub002-1	0.061	0.058	1.097	1.115
Ub005	0.068	0.065	1.192	1.293