

유용 약용식물의 대량증식

김재훈, 김명조, 변경록

(주) 마이크로프랜즈 세포배양연구실

TEL: 0652-254-2613~4, FAX: 0652-254-2417

전북 전주시 덕진구 인후동 2가 226-9

강원도 춘천시 후평동 생물산업벤처기업지원센터 407호

Abstract

Somatic embryogenic cells of valuable medicinal plants were cultured in MS (Murashige and Skoog) liquid medium by subculture at 2 week intervals. The embryogenic cells could be proliferated with maintenance of identical embryogenesis. The cell clumps developed to somatic embryos of uniform sizes of torpedo stage after 4~5 weeks of culture. The culturing for a period about 10~15 days led the somatic embryos to the development of seedlings which could be utilized as materials for health foods or providing useful components.

서론

대부분의 약용식물은 작물에 비해 재배기간이 길고, 재배지역이 한정되어 있으며 연작이 가능하지 않아서 생산에 많은 문제점이 있다. 최근에는 조직배양을 이용하여 약용식물을 대량으로 증식시키려고 시도하고 있지만 여러 가지 해결해야 할 문제점이 많아 실용화되지 못하고 있다. 즉 조직배양에 의해 완전한 식물체를 유도하는 것은 실험실 수준에서 소량생산하는 것이 부분적으로 이루어졌지만 산업화시킬 정도의 많은 양을 얻는 시스템은 아직까지 이루어지고 있지 않다. (주)마이크로프랜즈의 연구팀은 이러한 문제를 모두 해결할 수 있는 신기술로 여러 유용식물의 배발생세포를 액체배지에서 대량으로 유도하여 체세포배발생과정을 거쳐 유식물체를 대량으로 얻는 방법을 개발하였다. 이렇게 대량으로 얻어진 유식물체는 뿌리 및아의 발달이 양호하여 종자로부터 얻은 식물체를 대신할 수 있고, 이들을 유용성분의 추출용 재료 또는 건강식품, 음료, 차, 화장품 및 신기능성 건강보조식품 등에 사용할 수 있을 것이다.

재료 및 방법

약용식물의 종자를 70% 에탄올로 30초간 1차 멸균한 후, 2% 차염소산나트륨으로 15분간 2차 멸균하였다. 멸균된 종자는 멸균수로 3회 세척한 후 물기를 제거하고,

종자내의 자엽 및 배축을 각각 2 mm 정도의 절편으로 절단하여 0.5~1.0 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS (Murashige and Skoog) 한천배지(1.0% 한천, 3% sucrose, pH 5.8로 조정하여 121°C, 1.2 기압하에서 스팀멸균)에 이식하여 온도 24±1°C, 암소 (dark condition)에서 배양하였다. 멸균된 페트리디쉬(87 x 15 mm)에 배지를 25 mL씩 분주하고, 페트리디쉬당 10 절편씩을 치상하였다. 배양 4주 후 자엽 및 배축 절편조직으로부터 배발생캘러스가 유도되었다. 배발생캘러스를 생장조절물질이 첨가되지 않은 MS 액체배지에서 3주간 배양하였을 때 단세포 및 소세포군의 배발생세포를 대량으로 얻을 수 있다. 계대배양시 배양초기의 세포농도와 동일하게 새로운 배지에서 배양하여 배발생세포를 증식시킬 수 있다. 배발생세포로부터 발달된 배발생세포피는 식물생장호르몬이 첨가되지 않은 MS 액체배지에 계대배양하여 균일한 크기의 구상형, 심장형, 어뢰형 시기의 체세포배발생과정을 거쳐 유식물체로 발달하였다

결과 및 고찰

약용식물의 자엽 또는 배축을 절단하여 0.5~1.0 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 한천배지에서 배양하여 배발생캘러스를 얻어 동일배지에 계대배양할 때 일부캘러스는 부서지기 쉬운 배발생캘러스가 되었다. 이 캘러스를 선별하여 MS 액체배지에 밀도를 높게 하여 3주간 배양하였을 때 단세포 및 소세포군의 배발생세포를 대량으로 얻을 수 있다. 배발생세포는 크기가 균일하고 세포상태의 것만을 분리하여 새배지에 옮겨 계대배양하였을 때 배발생세포는 계속 증식시킬 수 있었다. 이 배발생세포는 2주정도 배양하면 생중량이 10배정도 증가하였다. 한편, 세포들이 뭉쳐서 배발달로 진행되는 배발생세포피는 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 MS 액체배지에 옮겨 형광빛 조건에서 약 3주간 배양하면 구상형배가 유도된다. 처음 구상형배가 발달할 때에는 세포피와 구상형배가 혼재되어 있는데 이들을 동일한 시기의 것으로 분리하기 위해 배양용기를 30초간 움직이지 않게 놓아둔 후 구상형배가 대부분 가라앉으면 천천히 다른 용기에 배지를 따라낸다. 이때 배지와 함께 먼저 옮겨지는 것은 무게가 가벼운 세포피이고, 늦게까지 배지와 함께 남는 것은 세포피보다 무거운 구상형배가 대부분이다. 이와 같이 중력을 이용한 방법으로 계대배양 때마다 비슷한 크기로 분리해주면 체세포배 발생과정에서 비교적 균일한 체세포배의 집단을 모을 수 있다. 구상형배로부터 체세포배 발달은 약 3주 간격으로 새로운 배지에 계대배양함으로써 쉽게 이루어졌다. 체세포배가 성숙(자엽기 이후)함에 따라 계대배양 기간을 3주에서 2주 정도로 단축하였을 때 유식물체가 많이 발달하였다. 액체배지에서 유도된 유식물체는 한천배지의 페트리디쉬에 옮겨 형광빛 아래에서 배양하였을 때 자엽과 뿌리가 정상적으로 발달한 균일한 유식물체가 되었다.

약용식물의 배발생세포를 액체배지에서 배양하여 증식시켜 짧은 기간내에 간편하게

체세포배 및 유식물체를 대량으로 생산할 수 있는 방법은 약용식물의 추출물을 얻는데 편리하고 건강식품, 음료, 차, 의약품 및 화장품의 원료 등에 유용하게 사용될 수 있다 또한, 유식물체를 인공종자로서 순화시켜 재배용 육묘로 사용하도록 공급할 수 있다.

요약

유용약용식물의 배발생세포를 MS (Murashige and Skoog) 액체배지에서 배양하여 균일하게 대량으로 증식시키고, 이들이 체세포배과정을 거쳐 유식물체로 발달시키는 기술을 개발하였다. 이 방법에 의해 일부 귀중한 약용식물은 공장생산이 가능하게 되었고, 싼가격에 약용식물의 유용성분을 추출하여 건강식품, 음료, 차, 의약품 및 화장품의 원료로 사용할 수 있다.