

## P 23 지치 (*Lithospermum erythrorhizon* S.) 세포의 Suspension Culture에 의한 Shikonin 생산에 미치는 저선량 $\gamma$ 선 처리의 효과

황혜연 · 김재성<sup>1</sup> · 백명화<sup>1</sup> · 이영복 \*

충남대학교 식물자원학부 원예학과, <sup>1</sup>한국원자력연구소 동위원소 · 방사선 응용연구팀

### 연구 목적

약용식물인 지치의 근부조직에는 자색의 shikonin이 함유되어 있어 예로부터 상처, 화상 및 치질의 치료약으로 매우 유용하게 사용되어 왔고, 최근에는 천연 Bio색소로 이용가능성이 대두되고 있다. Shikonin은 주로 뿌리의 cork층에서만 국한적으로 합성되는 2차 대사물질인 관계로 양적으로 매우 소량만이 분비된다. 이러한 유용대사물질을 대량으로 생산하고자 지치의 생체조직으로부터 얻어진 callus를 세포현탁배양을 이용하여 shikonin의 대량생산을 시도하는 한편 아울러 지치의 callus에 저선량 감마선을 조사하여 지치의 배양세포로부터 세포 증식 및 shikonin생산효과의 증대 가능성에 관한 연구를 수행하였다.

### 재료 및 방법

지치 (*Lithospermum erythrorhizon*) 뿌리조직의 배양으로 얻어진 callus를 2,4-D 0.5mg/l가 첨가된 LS고체배지에 치상한 후 25°C에서 2개월간 암배양하여 증식시켰다. 그 후 생체량 1g 정도의 callus를 100ml flask에 10ml의 성장조절물질이 첨가되지 않은 M-9액체배지에서 10일간 현탁배양한 후, 6개의 shikonin 고생산주를 선발하였으며 이들을 실험재료로 공시하였다. 모든 실험은 6반복으로, 25°C 항온 gyratory shaker에 100rpm으로 암상태에서 수행하였다.  $\gamma$ 선처리구는 callus를 생

체량 1g 정도를 1회용 petridish의 정중앙에 치상한 후 0, 1.0, 2.0, 16.0, 30.0 Gy로 조사하였다. 감마선을 조사한 callus 생체량 1g 정도를 100ml flask에 10ml의 LS배지에 BA 2mg/l 및 NAA 2mg/l를 첨가한 액체배지 (LB2N2)와 LS배지에 kinetin 2mg/l 및 IAA 0.2mg/l를 첨가한 액체배지 (LK2I0.2)에 옮겨 10일간 1차배양한 후 shikonin생산을 위해 세포를 멸균수로 수세하여 M-9액체배지로 옮겨 10일간 2단계배양을 한 후 세포의 건중량과 shikonin 유도체의 함량을 분석하였다.

### 결과 및 고찰

Shikonin 유도체의 생산성이 높은 고생산주를 선발하기 위하여 성장조절물질이 첨가되지 않은 M-9액체배지에서 배양한 결과, 6개의 cell line을 선발하여 114L, 195L, 340L, 471L, 620L, 622L로 명명하였다. 이 들 6종류의 cell line 중에서도 shikonin의 생산은 620L에서 가장 높았고, 195L에서 가장 낮았다. 그러나  $\gamma$ 선을 처리한 후 세포의 증식 및 shikonin의 생산에 있어서 LB2N2배지와 LK2I0.2배지에서 비교 실험한 결과, LB2N2배지에서 보다 LK2I0.2배지에서 현저히 양호하였으며, 특히 622L에서 세포의 증식 및 shikonin의 생산에 양호한 효과를 볼 수 있었다. 또한 shikonin 유도체의 생성량은 세포의 증식과 비례적으로 증가되지 않는 것이 확인되었으며,  $\gamma$ 선 처리에 대한 세포의 증식 및 shikonin 유도체의 생산에 대한 저선량  $\gamma$ 선 처리 효과는 30.0Gy에서 확인되었다.