

## Ac/Ds 전이인자 시스템을 이용한 벼 삽입변이 집단의 항산화 활성

단국대학교 : 이동진\*, 이지영, 농업생명공학연구원 : 은무영, 윤도원, 차영순  
경상대학교 : 한창덕, 영남농업시험장 : 남민희, 이기환

### Antioxidant Activity of Insertional Mutatants Induced by As/Ds-Mediated Gene Tagging System in Rice

Dankook Univ. : D. J. Lee\*, J.Y. Lee,  
National Inst. of Agricultural Biotechnology : M.Y.Eun, D.W. Yun, Y.S.Cha  
Geongsang National University : C.D. Han,  
National Youngman Agricultural Experiment Station : M.H.Nam, K.H.Lee

#### 실험목적

본 실험은 전이인자 Ac/Ds를 이용하여 구축된 삽입변이 집단의 벼 종실에 함유되어 있는 항산화활성을 검정하여 신기능성 벼 품종육성 및 기능성 신소재 개발을 위한 기초자료를 얻기 위하여 실시하였다.

#### 재료 및 방법

공시재료 : Ds 전이계통 (Ds transposant) 선발 자원 887점(작물유전체기능연구사업과제)

시료추출 : 시료는 100% Ethyl alcohol 에서 추출하였다. 추출액(약물)은 vacuum pump를 이용하여 건조시킨 후 용도에 따라 Methyl alcohol (DPPH assay) 또는 Dimethylsulfoxide (MTT assay)를 이용하여 적정 농도로 용해후 사용하였다.

#### Anti-oxidant assay: DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) assay

0.75 mg/mL 농도의 약물을 96 well plate의 각 well에 100 uL 씩 분주하고, 다시 여기에 150 uM DPPH (59.145 mg/mL in methanol) 용액 150 uL를 첨가하여 섞은 다음 37 °C에서 30분간 반응시키고 518nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### Anti-cancer assay: MTT (Microculture Tetrazolium) assay

세포(B16 mouse melanoma cells) 부유액( $5 \times 10^4$  cells/mL)을 96 well plate의 각 well에 100 uL 씩 분주하여 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> incubator 에서 24시간 동안 배양하였다. 30 mg/mL의 약물을 300 ug/mL 농도로 각 well에 처리하고 위와 동일한 조건하에서 48시간 배양하였다. cell seeding 후 72시간 경과후 각 well에 MTT용액 (2 mg/mL in distilled water) 을 50 uL씩 처리하고 4시간 동안 배양하였다. 마지막으로 plate에 들어 있는 배지와 MTT용액을 제거하고, 각 well 의 formazan 결정을 DMSO로 녹인 후 microplate reader (540nm)에서 흡광도를 측정하였다.

#### 실험결과

1. 종실 함유 추출물의 항산화성(Free Radical 소거능)은 300 ug/mL 농도에서 10% 이하에서 60% 까지 다양한 활성도를 나타내었다.
2. 공시재료의 대부분은 30 % 이하의 매우 낮은 항산화 활성도를 나타냈으나, 25점은 30-60 %로 대비품종인 일품벼(22%)의 활성도보다 높게 나타났다.
2. 특히 40-60 %의 항산화 활성을 갖는 4점의 경우 유전자분석 등을 통해 신기능성 소재로 이용가능성이 매우 높을 것으로 생각되었다.

---

\*연락처 : 이동진 E-mail : [dongjilee@dankook.ac.kr](mailto:dongjilee@dankook.ac.kr) 전화 : 041-550-3622

Table. 1 Free radical scavenging activity by DPPH in rice grains

Degree of inhibition (%)	No. of accessions	Ratio	Check variety
90 -100	0	0	A.A.*
80 - 90	0	0	
70 - 80	0	0	
60 - 70	0	0	
50 - 60	1	0.1	
40 - 50	3	0.3	
30 - 40	21	2.8	
20 - 30	253	28.5	Ilpumbyeo
10 - 20	531	59.9	
0 - 10	78	8.8	
Total	887	100	

\* : Ascorbic acid (standard substance of DPPH assay)