

광스트레스에 의한 미세조류의 색소 함량 변화

민병술*, 진언선**, 이미영*
*순천향대학교 생명과학부
**한경대학교 대학원 식물생명공학과
e-mail:sulbyong@sch.ac.kr

High light-induced alteration of pigment content in microalga

Byoung-Sul Min*, Eon-Seon Jin**, Mi-Young Lee*
*Division of Life Science, Soonchunhyang University
**Division of Plant Biotechnology Graduated School of Bio &
Information Technology, Hankyong National University

요 약

본 연구에서는 미세조류에 광스트레스를 가해서 특정 색소의 증가를 유도하였다. 광스트레스를 미세조류인 *N. oculata*에 각각 가했을 때, 안세라크산틴 6.6 배, 제아크산틴 8.6 배, 증가함을 HPLC로 분석하였다. 이러한 광스트레스에 노출되면 크산토피 회로에서 비올라산틴이 안세라크산틴과 제아크산틴으로 역위되어 광보호를 하기 때문이다.

1. 서론

광합성 반응시 명반응에서 형성되는 superoxide ($\cdot O_2^-$), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot OH$), singlet oxygen (O_2)과 같은 활성산소에 노출되면 주로 산화 스트레스가 일어난다 [1]. 이처럼 활성산소와 빛 에너지에 의한 광합성 기구의 손상을 광억제 (photoinhibition)이라고 하는데 광합성 생물들은 이러한 광억제 의한 피해를 방어하거나 최소한으로 피해를 줄이기 다양한 방어기작을 하게 된다. 대표적인 예로 카로테노이드인데 가장 큰 특징은 광억제시 나타나는 과잉 에너지를 없애주는 광보호 기능이라 할 수 있고 세포막 및 세포벽의 산화를 예방하는 효과적인 항산화제임이 많은 연구를 통해 밝혀졌다.[2, 3] 크산토피 회로 (비올라산틴, 안세라크산틴, 제아크산틴)는 빛의 세기에 의해 조절되는데 빛의 세기가 비교적 낮을 때 혹은 광합성이 포화되지 않는 정도의 광도에서는 주로 비올라산틴 형태로 존재하게 된다. 그러나 빛의 세기가 강해지거

나 광합성에 의해 사용되는 것보다 높은 광도를 받게 되면 산성화 반응이 일어나 비올라산틴 de-epoxidase의 활성이 높아져 비올라산틴은 감소하고 제아크산틴 및 안세라트산틴 함량이 높아지게 된다 [4]. 본 연구에서는 광합성 미세조류 *N. oculata*를 이용하여 광스트레스를 가했을 때 색소의 변화에 대해 다양하게 살펴보았다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 광스트레스

Low light ($40 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서 배양한 *N. oculata*를 무균대에서 200 ml 세포 배양용 병에 2 개씩 옮긴 후 하나의 배양용 병은 대조군으로 low light에서 배양하고 하나의 배양용 병은 실험군으로서 high light를 가하여 준다. Low light은 $40 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ($2,000 \text{ lux}$)의 빛의 세기로 일반 배양기에서 배양하고 high light 은 $2,000 \mu\text{mol photons}$

$m^{-2}s^{-1}$ (100,000 lux)의 빛의 세기로 할로젠 램프를 이용하여 12시간 동안 광스트레스를 가해준다. High light 12시간 뒤 원심분리 (15,000 rpm, 10분, 4 °C)하여 셀을 수거하였다.

2.2. 추출

0.22 μm nylon filter로 멸균된 90 % Acetone 200 μl 를 각각의 시료에 넣어준다. 65 °C 온도에서 20분 동안 열 추출한 후 원심분리 (15,000 rpm, 10분, 4 °C) 하였다. 상등액을 0.22 μm nylon syringe filter로 정밀여과한 후 HPLC 분석 시료로 사용하였다.

2.3. HPLC 분석

HPLC 분석시 사용된 컬럼은 Waters Spherisorb 5 μm ODS2 4.6 \times 250 mm Analytical Column 이었다. Mobile phase는 gradient를 사용하였으며 총 분석시간은 30분이었다. 용매 A는 Acetonitrile, Water, Triethylamine (9:1:0.01) 용매 B는 Ethylacetate를 사용하였다. 처음 시작은 A가 100 %이며 1분 동안 A 88 %, B 12 %하여 용매조건을 변경한 후 14분 동안 A를 88 %, B를 12 % 비율로 유지하였다. 15~21분 동안 B를 100 %으로 올린 후 21~23분 동안 A를 100 %으로 변경하였다. 이후 7분 동안 A를 100 %으로 평형화 시킨 후 다음 시료를 분석하였다. Flow rate는 모든 시간에서 1 ml / 1 min이며, 흡광도는 440 nm, 샘플은 20 μl 을 주입하였다.

3. 실험 결과

3.1. 광스트레스에 의한 *N. oculata* 색소 변화

Low light에서 배양한 *N. oculata*를 대조군으로 하여 high light와 색소함량을 비교하였을 때 (Fig. 1.) 안세라크산틴 6.6 배, 제아크산틴 8.6 배, 증가하였고 네오산틴 22 %, 비올라산틴 77 % 감소하였다 (Fig. 2, Table 1).

크산토피 회로에서 3가지 색소의 상대적 함량을 대조군과 high light을 비교하였을 때 비올라산틴은 4.1 배 정도 감소하였고 안세라크산틴은 6.9 배, 제아크산틴은 9 배 정도 증가하였다 (Table 2).

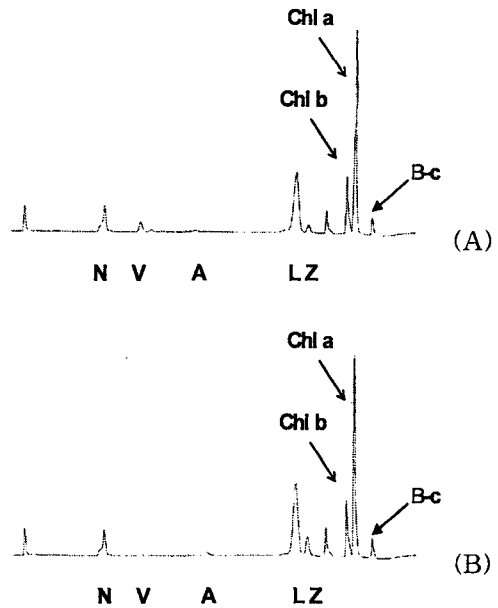


Fig. 1. HPLC elution profile of total pigment extract *N. oculata* at low light (A) and high light (B). Abbreviations used: N, neoxanthin; V, violaxanthin; A, antheraxanthin; L, lutein; Z, zeaxanthin; Chl a, chlorophyll a; β -c, β -carotene.

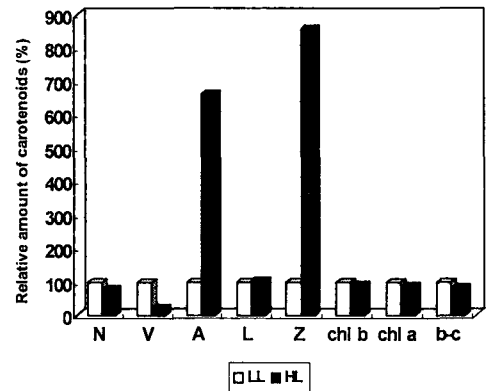


Fig. 2. Relative amount of carotenoids in *N. oculata* at low light (LL) and high light (HL). Abbreviations used: N, neoxanthin; V, violaxanthin; A, antheraxanthin; L, lutein; Z, zeaxanthin; Chl a, chlorophyll a; β -c, β -carotene.

Table 1. Carotenoid composition in *N. oculata* at low light (LL) and high light (HL).

Growth conditions	N	V	A	L	Z	β -C
	10^{-18} mol / cell					
LL	36.87±4.07	12.68±0.58	0.53±0.07	100.23±7.37	0.81±0.07	33.51±4.81
HL	28.69±1.16	2.91±0.22	3.48±1.07	103.15±5.19	6.97±0.89	26.71±0.72

Abbreviations used: V, violaxanthin; A, antheraxanthin; Z, zeaxanthin.

Table 2. Relative amount of pigment with respect to the sum of three carotenoids (Xanthophyll cycle) in *N. oculata* at low light (LL) and high light (HL).

Xanthophyll	LL	HL
V	90.44	21.7
A	3.76	26.08
Z	5.8	52.22
Sum (%)	100	100

Abbreviations used: V, violaxanthin; A, antheraxanthin; Z, zeaxanthin.

4. 결론

다양한 스트레스 중 광스트레스에 의해 특정 색소가 증가한다는 것은 많은 연구가 되어있었다. 특히 크산토펴 회로에서 비올라산틴이 안세라크산틴으로 제아크산틴으로 역위되어 2개의 색소가 크게 증가하는 것으로 알려져 있는데 본 연구에서도 이를 기반으로 *N. oculata*에 광스트레스 실험한 결과 안세라크산틴과 제아크산틴이 크게 증가하였고 비올라산틴과 네오산틴 감소하였다. 즉, 광스트레스에 의해 크산토펴 회로가 역반응을 한 것을 본 연구에서 증명하였다.

참고문헌

- [1] Lidon, F. C., Henriques, F. S. (1993) Oxygen metabolism in higher plant chloroplasts. *Photosynthetica* 29 (2) : 249-279.
- [2] Demmig-Adams, B., Adams III, W.W. (1996) The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis, *Trends Plant Sci.* 1 : 21-26.
- [3] Tee, E. S. (1992) Carotenoids and retinoids in human nutrition. *Rev. Food Sci, Nutr.* 31 : 103.
- [4] Siefermann Harms, D. (1977) The xanthophyll cycle in higher plants. Springer, Berlin. 218-230.