

## 약용식물종자의 혈전분해 활성화에 대한 감마선 조사의 영향

권수정<sup>1</sup>, 김재성<sup>2</sup>, 박병천<sup>1</sup>, 성정현<sup>3</sup>, 정다화<sup>3</sup>, 임채영<sup>4</sup>

<sup>1</sup>동신대학교 산업용가속기이용생물연구센터, <sup>2</sup>조선대학교 유전공학과, <sup>3</sup>동신대학교 한약재산업학과, <sup>4</sup>동신대학교 생물자원산업화지원센터

### Effect of Gamma-Irradiation on Fibrinolytic Activity in Medicinal Plant Seeds

Su-Jung Kwon<sup>1</sup>, Jae-Sung Kim<sup>2</sup>, Boun-Chun Park<sup>1</sup>, Jeong-Hyeon Seong<sup>3</sup>, Da-Hwa Jung<sup>3</sup>, and Chae-Young Lim

<sup>1</sup>Biology Research Center for Industrial Accelerators, Dongshin University, Naju, Korea

<sup>2</sup>Department of Genetic Engineering, Chosun University, 375 Seosukdong Gwangju 501-759, Korea, <sup>3</sup>Department of Oriental Medicine Material, Dongshin University, Naju, Korea, <sup>4</sup>Biotechnology Industrialization Center, Dongshin University, 252 Daehodong, Naju, Jeonnam 520-714, Korea

(Tel) +82-61-336-1875 (Fax) 82-61-336-1879, E-mail : [tigerdog@hanmail.net](mailto:tigerdog@hanmail.net)

#### 연구목적

식물종자저장 중 미생물에 의한 부패, 활력저하, 생리활성 물질의 감소와 장기저장에 따른 에너지 소비증가 등이 문제가 되고 있다. 또한 전세계적으로 약·식용으로 이용되고 있는 천연식물의 기능성 소재화를 위해 성분 및 약리효과에 대한 관심이 고조되고 있어 본 연구는 약용식물종자를 대상으로 방사선 조사에 의한 저장기술과 생리·약리 활성 검증 등을 통해 종자의 표준화 확립으로 산업화의 토대를 마련하고자 한다. 이를 위해 본 연구는 여러 저선량의 방사선 조사를 통해 몇가지 약용식물종자의 혈전분해 효과 및 각 선량에 따른 차이를 비교·분석하였다.

#### 재료 및 방법

- 시험재료 : 본 실험에 사용된 종자는 2003년산이며 전남 나주시에 소재한 종묘사에서 구입하였다.
- 실험방법

##### 조단백질 분리

울무 50g을 멸균수로 균질화하여 6000 rpm, 4℃, 15분 원심분리 후 상층액을 회수하였다. 회수된 상층액에 -70℃로 처리된 동량의 에탄올을 가하며 최종적으로 에탄올 농도가 50%가 되게 적정하여 1시간 동안 4℃에서 교반하였다. 다시 6000rpm, 4℃, 15분간 원심분리 후 상

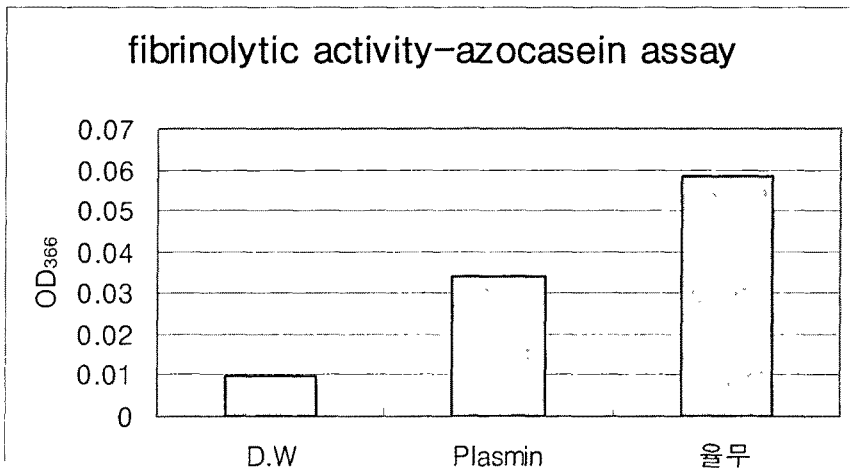
층액을 회수하였다. 회수된 상층액에 동량의 에탄올(-70℃)을 가하며 최종적으로 에탄올 농도가 75%가 되게 적정하여 1시간 동안 4℃에서 교반하였다. 12000rpm, 4℃, 15분간 원심분리 후 형성된 침전물을 멸균수에 현탁하였다. 불순물을 제거하기 위하여 12000rpm, 4℃ 10분간 원심분리하여 상층액을 syringe filter로 거른후 시료로 사용하였다.

- 혈전분해 활성 시험 : 종자의 조단백질 분리는 4℃에서 수행하였으며 생성된 침전물을 10mM citrate-NaOH pH 6.0 완충용액에 현탁하여 시료로 사용하였다. 1.2% fibrinogen을 30mM Tris-HCl 완충용액(0.15 M NaCl, pH 7.4)에 용해시킨 용액에 1.5% agarose를 첨가하여 혼합한 후 thrombin을 첨가하여 1시간 동안 실온에서 고화시켜 fibrin agarose plate를 제조하였다. 활성측정을 위해 지름 5mm의 구멍을 만들어 각 추출액 20μl를 침적한 후 37℃incubator에서 12시간 반응시켜 fibrin이 분해되어 생기는 투명환의 면적을 계산하였으며 대조구로서는 정제된 혈전용해효소인 plasmin을 사용하였다. 추출액의 혈전용해활성은 3회 반복하였으며 대조구의 용해면적에 대한 시료의 용해 면적의 상대적인 비율로 환산하여 산출하였다.

#### 단백질 분해 활성 측정

단백질 분해효소 활성은 Azocasein assay법( )을 이용하였다. Azocasein이 분해되어 나오는 acid-soluble material(azo기)양을 측정함으로써 단백질 분해 활성을 판정하였다.

0.1% Azocasein용액(50mM Tris-HCl, pH 7.4) 300에 단백질을 첨가하여 37℃ incubator에서 30분간 반응시킨 후 ice-cold한 10% TCA 600을 넣고 즉시 혼합시켰다. 이 시료들을 10분 동안 얼음에 꽂아 반응을 정지시킨 후 (Microcentrifuge)에서 12000rpm, 4℃, 15분간 원심분리 하였다. 그리고 상층액을 회수하여 UV/Vis - recording spectrophotometer( ) 366nm에서 OD값을 측정하여 단백질 분해 활성을 측정하였다.



## 결과 및 고찰

울무의 혈전분해 활성 시험 결과 모든 시료에서 투명환을 형성함으로써 혈전용해 활성을 확인 할 수 있었다. 대조구로 사용한 정제된 혈전용해 효소인 plasmin(1)과 비교했을 때 모든 시료가 높은 활성을 보였다. 비조사 종자인 control(1.2)과 비교하여 1Gy(1.1), 4Gy(1.13), 16Gy(1.05), 32Gy(1.03) 시료에서는 약간 낮은 활성을 보였으며 반면에 8Gy(1.5)와 64Gy(1.68) 시료는 더 높은 혈전용해 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 X선 조사가 종자의 혈전용해 활성을 향상시킬 가능성을 나타낼 수 있을 것으로 사료된다. 아욱 종자는 모든 시료에서 혈전용해 활성을 보였지만 plasmin(1)과 비교하여 control(0.85), 4Gy(0.73), 8Gy(0.66), 16Gy(0.66), 32Gy(0.73), 64Gy(0.66)에서 낮은 활성 보였다. 특히 1Gy(0.21)가 가장 낮은 활성을 보였다. 이것은 감마선 조사가 종자의 혈전용해 활성에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 무 종자는 모든 시료에서 혈전용해 활성이 나타나지 않았다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 울무는 뛰어난 천연 혈전용해제로 이용 가능성을 시사하며 아욱 또한 가능성을 나타낸 것으로 생각된다.