

(05-B-2)

물리 화학적 요인이 *Gymnema sylvestre* 세포배양에 미치는 영향

이은정, 한은주, 백기엽

충북대학교 첨단원예기술개발연구센터

Gymnema 의 유효 약리 성분인 gymnemic acid 는 당뇨, 천식, 이노작용 및 소염제로써 상업적 가치증가에 따라 수요도 증가하고 있다. 그러나 종자 번식법은 종자의 생존율과 발아율이 낮고, 영양제 번식법의 경우에도 낮은 발근력으로 인해 증식이 어려운 단점을 가지고 있다. 따라서 세포배양을 통한 유효 약리성분의 대량 생산을 위해 배지 내 화학적 요인과 배양기 내 물리적 요인에 관한 최적 조건을 구명하였다.

1. *Gymnema sylvestre* 세포 성장량은 2,4-D 1mg/L 처리구에서 가장 높게 나타났으며, 1mg/L 이상의 농도에서는 현저히 감소하였다. 오옥신과 사이토키닌의 혼용 처리 실험에서 2,4-D 1mg/L 를 대조구로 하여 kinetin 을 농도별로 처리한 결과 kinetin 0.1mg/L 혼용 처리구가 오옥신 단독 처리구에 비하여 생장에 효과적이었다.

2. *Gymnema sylvestre* 세포배양에 적합한 MS 배지 농도를 조사한 결과 1/2MS 와 1MS 두 처리구 간에는 유의차를 보이지 않았으며, MS 배지 내 질소원의 비율($\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$)은 20:40 이 연속배양에 가장 효과적이었다.

3. *Gymnema sylvestre* 세포배양의 경우 sucrose 3% 처리구에서 생체중과 건물중이 가장 높게 나타났으며, 생체중, 건물중 결과와 달리 생체중에 대한 건물중 비율은 당농도와 비례하여 증가하였다. *Gymnema sylvestre* 세포 배양시 배양기 내 세포 접종밀도는 세포 증가율 비교 결과 60g/가 가장 효율적인 초기 세포 접종밀도라고 생각되었다.

4. 약용식물로 식용을 고려한다면 세포의 성장량에는 큰 영향을 주지 않는 범위 내에서 2,4-D 이외의 타 오옥신으로 전환하는 것이 안정성을 높일 수 있다. 따라서 2,4-D 를 대조구로 하여 IBA 와 NAA 를 농도별로 처리한 결과 NAA 5mg/L 처리구에서 대조구와 5% 범위 내에서 유의차가 나타나지 않은 성장 반응을 나타내었다.

5. 3L 생물반응기를 이용한 *Gymnema sylvestre* 세포배양의 경우 공기 공급량을 0.05vvm 으로 시작하여 세포의 생장이 진행됨에 따라 단계적으로 0.4vvm 까지 증가시키는 것이 생장에 가장 효과적이었다. 위 실험 결과들을 바탕으로 3L 생물반응기에서의 *Gymnema sylvestre* 세포의 성장변화를 확인한 결과 생체중은 배양 10 일부터 급격히 증가하여 배양 20 일째 최고 성장량을 나타내었으며, 건물중은 배양 15 일 이후에는 큰 변화를 보이지 않았다. 배양기간동안 배지 내 존재하는 sucrose, glucose, fructose 함량은 배양 15 일을 기준으로 거의 전량이 소모되었다. 또한 배양 15 일 이후부터 세포가 증식함에 따라 공기 주입구 부분부터 세포가 침적되고, 생물반응기 내부의 압력상승에 따른 배지 역류현상이 관찰되었다. 이상의 결과로 보아 *Gymnema sylvestre* 세포 배양의 경우 15 일 주기로 배양하는 것이 세포증식에 가장 효과적인 것으로 생각되었다.