

## 상추 (*Lactuca sativa* L.) callus로부터 ACAT 억제 활성물질, phytol의 생산

안광희 · 장태오 · 백남인 · 김세영\*  
경희대학교 농학과, 식물대사연구센터

### Production of Phytol, an ACAT Inhibitor, from Callus Culture of Lettuce (*Lactuca sativa* L.)

AN, Kwang-Hee · JANG, Tae-O · BAEK, Nam-In · KIM, Se-Young\*

Department of Agronomy, Plant Metabolism Research Center, Kyunghee University, Suwon, 449-701, Korea

**ABSTRACT** The possibility for mass production of phytol, inhibitory diterpene against ACAT (Acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase) was investigated by using callus culture of lettuce. The callus were induced from lettuce cotyledon explants on MS medium containing  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA after 4 week's culture. Adventitious roots were formed from the explants on MS medium containing  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA or  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA. Adventitious shoots and roots were emerged from the callus when the callus was transferred to MS medium containing auxin alone, or with cytokinin. The plant growth regulators and their concentrations for the organogenesis were  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA,  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA,  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA with  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  kinetin, or  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D with  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  kinetin. Analyses of chlorophyll contents showed that chlorophyll contents were higher in morphogenic calli than in non-morphogenic calli. However, the chemical analyses of gas chromatography indicated that phytol contents were not proportionate to the chlorophyll contents of callus. The content of phytol was higher in callus than in lettuce cotyledon.

**Key words:** Lettuce, *Lactuca sativa* L., Callus, Phytol, ACAT inhibitory activity

## 서 론

식물이 생산하는 물질 중에는 의약, 향료, 색소, 농약, 향수, 비타민, 호르몬, 효소 등 인간의 생활과 밀접한 연관을 가지고 있는 것이 많으며, 이들 물질의 대부분은 2차 대사산물로 존재하고 있다. 그러나 일반적으로 식물로부터 직접 이러한 물질을 추출하면 함량이 낮은 것이 대부분이고 또 계절, 장소, 기후, 재배조건, 식물체의 부위 등에 따라 생산성이 다르므로 공급이 안정되어 있는 것만은 아니다. 그러므로 필요성분의 수요에 대한 공급조절 역할을 할 수 있는 수단으로 식물 조직배양에 의한 유용물질 생산은 그 가능성이 증대되고 있다. 전 세계적으로 약 30만 종의 식물이 알려져 있으며, 매년

1,500여 종의 물질을 식물체로부터 추출·분리하고 있다. 이 가운데 300여 종은 생리활성을 가진 유용물질로 평가되고 있다 (Allan and Fowler 1985). 식물의 세포 및 조직배양기술은 식물체내에 함유되어 있는 활성물질을 기내배양을 통하여 생산할 수 있는 가능성을 가지고 있다. Callus 조직은 합성배지 내에서 무균 상태로 배양하기 때문에 연중 아무 때나 이용할 수 있고 물질대사도 보통 식물체보다 간단하기 때문에 화학 및 생물학 연구에도 쉽게 이용할 수 있다 (Hiraoka et al. 1973; Misawa et al. 1975; Tabata et al. 1971).

상추는 식용으로 뿐만 아니라 경엽와 종자라 하여 약용으로도 이용되고 있고, 주요 약효로는 음종, 하혈 등에 대한 치료 효과가 알려져 있으며, 주요 성분으로는 quercetin, luteolin과 같은 flavonoid의 배당체가 보고되어 있다 (Jung and Shin 1990). ACAT (Acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase)는 세포 내에서 cholesterol과 long chain fatty acyl

\*Corresponding author. Tel 031-201-2605 Fax 031-204-8116  
E-mail seyoungkim@kibi.com

CoA를 기질로 하여 cholesterol ester (CE)를 형성하는 효소로서, cholesterol의 체내축적에 관여한다. 상추로부터 분리된 diterpene 화합물인 phytol이 ACAT 활성을 억제한다는 것이 보고되었다 (Jang and Baek 2000). Phytol은 식물조직에서 녹색의 색소성분인 chlorophyll의 구성성분으로 존재하며, 녹색 채소에서 색소로서의 역할뿐만 아니라 중요한 생리활성 물질로 알려져 있으며 (Lawson et al. 1989), 항돌연변이 및 항암 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다. 즉 종양세포에 직접적인 증식억제 효과를 나타내며, UV와 EMS에 의한 *Salmonella*와 돌연변이 유발을 억제하고 (Cho 1989), 자연살해세포와 대식세포의 활성을 항진시킨다 (Kim et al. 1993). 이러한 효과 외에 암세포 증식억제 효과와 항암 및 면역활성 증강 효과가 보고되어 있다 (Lee et al. 1999).

본 연구는 상추 callus 배양으로부터의 phytol 생산 가능성을 검토하고, phytol과 chlorophyll 함량의 상호관계를 비교하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 상추로부터 phytol 표준품의 분리

수원시 평고 작목반에서 구입한 상추생체 20 kg을 100% MeOH (72 L)를 가하여 실온에서 추출한 후 80% MeOH (22.5 L)를 가하여 다시 한번 더 추출하고 여과지로 여과하여 감압농축하였다. 농축물을 물 (1 L)과 EtOAc (4 L)로 분배·추출하고, 감압농축하여 EtOAc분획 (56 g)을 얻었다.

EtOAc분획 (56 g)을 silica gel (750 g) column chromatography (CHCl<sub>3</sub>:MeOH=10:1 → 7:1 → 5:1 → 3:1)를 실시하여 70 ml씩 분취하였다. 이 분취액을 TLC (thin layer chromatography)로 확인하여 유사한 분획끼리 모아 감압농축하여 모두 8개의 분획물 (CCE-1~CCE-8)을 얻었다. 그 중 2번째 분획 (CCE-2, 16.56 g)을 다시 silica gel (250 g) column chromatography (*n*-hexane : EtOAc=5:1 → 3:1 → CHCl<sub>3</sub>:MeOH=10:1)하여 11개의 분획물을 얻었으며, 이 중 4번째 분획 (CCE-2-4) 4.2 g 중에서 100 mg을 취하여 다시 ODS (50 g) column chromatography (acetone:MeOH:H<sub>2</sub>O =3:7:1 → 9:3:1)하여 phytol (CCE-2-4 -1, 70 mg)을 분리하였다. Phytol : White powder (CHCl<sub>3</sub>); IRv (Cm-1, KBr): 3330, 1470, 1380, 1010; EI/MS *m/z*: 296 (M<sup>+</sup>), 278, 263, 196, 182, 126, 123, 71, 57; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ), 5.40 (1H, tq, *J*=6.84, 1.40 Hz, H-2), 4.14 (2H, d, *J*=6.84 Hz, H-1), 1.99 (2H, t, *J*=6.96 Hz, H-4), 1.66 (3H, br. s, H-20), 1.00-1.66 (19H, methine & methylene), 0.88, 0.86 (6H, br. S, H-16,17), 0.86, 0.84 (6H, d, *J*=2.68, H-18,19); <sup>13</sup>C-NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>, δc) 140.14 (C-3), 123.11 (C-2), 59.34 (C-1), 39.85 (C-4), 39.34 (C-5), 37.40 (C-9), 37.34 (C-6), 37.26

(C-8), 36.65 (C-10), 32.76 (C-11), 32.66 (C-7), 27.95 (C-15), 25.12 (C-12), 24.77 (C-13), 24.45 (C-14), 22.69 (C-19), 22.59 (C-20), 19.72 (C-18), 19.68 (C-16), 16.13 (C-17).

### Callus 유기 및 배양

상추 (*Lactuca sativa* L. cv. Green Skirt, 청치마) 종자를 70% 에탄올에 30초간, 1% sodium hypochlorite 용액에 15분간 침적한 후 멸균수로 3~4회 수세하였다. 표면살균 시킨 종자를 sucrose 30 g · L<sup>-1</sup>과 agar 8 g · L<sup>-1</sup>이 첨가된 MS (Murashige and Skoog 1962) 기본배지에 적당량씩 파종하였다. 본 실험의 모든 배양은 조도 2000 Lux의 120W 백색 형광등하에서 광주기 16/8 (명/암)시간으로 하고 25±1°C의 온도조건 하의 배양실에서 실시하였다. 파종한 종자는 3~4일 후부터 발아하기 시작하였으며 이후 약 30 mm 정도된 유묘의 자엽을 callus 유기용 절편으로 사용하였다. 절편체는 유묘의 자엽 부위를 2 mm×3 mm 크기로 4면 절단한 다음 향측면 (adaxial side)이 배지에 닿도록 치상하였다.

Callus 유기 배지는 MS 기본배지, MS 기본배지의 무기염 농도를 1/2로 낮춘 1/2 MS 배지와 몇 가지 농도별로의 auxin (2,4-D, NAA, IBA, IAA)이 단용으로 첨가된 MS 고체배지를 사용하였다.

### Callus 내의 chlorophyll 함량 측정

Callus 배양의 결과, 형태적 분화가 가능한 morphogenic callus (MC)와 형태적 분화가 불가능한 것으로 관찰된 non-morphogenic callus (NMC)로 구분되었다. Chlorophyll 함량을 산출, 비교·분석하기 위해 MC와 NMC의 특징이 확연히 구분되는 실험구를 선별하여 실험하였다. 또한 식물체와 callus간의 chlorophyll 함량을 비교·분석하기 위해 MS 기본배지에서 5주 배양한 상추 자엽의 chlorophyll 함량을 측정하였다. Callus의 chlorophyll 함량은 Mackinney (1941)와 Arnon (1949)의 방법에 준하여 측정하였다. Chlorophyll 추출액은 원심분리기를 사용하여 약 5,000 rpm으로 5분간 원심 분리 후 상등액을 취하여 시료로 사용하였다. 추출한 chlorophyll은 분광광도계 (Model U-1100 Spectrophotometer, Hitachi, Japan)를 사용하여 645, 663 및 710 nm에서의 흡광도 (Absorbance; ΔAbs)를 측정하였으며, 측정값을 다음의 Arnon식 (1949)에 넣어 chlorophyll a, chlorophyll b 및 total chlorophyll 함량을 산출하였다.

Chlorophyll a (mg · ml<sup>-1</sup>)=12.7 (A663-A710)-2.69 (A645-A710)  
Chlorophyll b (mg · ml<sup>-1</sup>)=22.9 (A645-A710)-4.68 (A663-A710)  
Total chlorophyll (mg · ml<sup>-1</sup>)=8.02 (A663-A710)+20.2 (A645-A710)

## Callus 내의 phytol 함량 측정

Callus의 실험구는 chlorophyll 함량 측정실험 때와 동일한 실험구를 선별하여 실험하였다. 또한 callus와 식물체 간의 phytol 함량을 비교하기 위해 MS 기본배지 내에서 발아하여 5주간 배양한 상추 자엽을 대조구로 사용하였다. 12주간 배양한 상추 callus를 각 시험구당 1g씩 채취한 후 각각 막자사발에서 분쇄하였다. 각 시료의 total volume이 50 ml이 되도록 99% acetone 용액을 첨가하여 homogenate를 얻었다. Homogenate를 밀봉하여 암소에서 24시간 동안 1차 추출하였고, 여과 후 1차 추출물의 잔여물을 동일한 방법으로 2차 추출하였다. 1, 2차 추출을 통해 얻어진 여액을 48°C에서 vacuum evaporator로 감압농축 하였다. 농축물을 H<sub>2</sub>O (25 ml)과 EtOAc (25 ml)로 분배·추출하고, 분획의 효율을 높이기 위해 물층을 다시 EtOAc (25 ml)로 분배·추출하였다. 2회 반복 분획한 EtOAc 분획물을 합하여 magnesium sulfate anhydrous (MgSO<sub>4</sub>)를 이용 수분을 제거한 후 여과하고, 여액을 vacuum evaporator로 감압농축 하고 그 무게를 측정하였다.

상추 callus 내의 phytol 존재여부를 확인하기 위하여 TLC 법을 사용하였다. 상추 callus에서 추출한 각각의 시료와 표준 phytol을 모세관을 사용하여 spotting 하였다. 전개용매는 (*n*-hexane : EtOAc=3 : 1)을 사용하였으며, 전개 후 TLC plate를 발색시약 (10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 용액에 담근 후 가열하여 확인된 R<sub>f</sub>값으로부터 phytol의 존재 여부를 확인하였다.

조처리 과정을 거쳐 각각 분획한 시료를 vial에 취하고 TMS유도체화제 시약인 98% Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide를 각 시료가 일정한 농도가 되도록 일정량 가한 후 48°C에서 30분간 가열하여 TMS화하였다. Phytol 함량 분석 방법으로는 GC (gas chromatography)를 이용하였다. 본 실험에 사용된 GC는 Shimadzu GC-14B (Japan)이고 detector는 flame ionization detector (FID), column은 DB-5 (Methylpoly-siloxane Megabore, 30 m×0.32 mm×0.25 μm film thickness)를 사용하였으며, injector 온도는 300°C, detector 온도는 320°C, column 온도는 초기온도 200°C, 온도 상승률은 5°C/min, 최종 온도는 300°C로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 상추로부터 phytol 표준품의 분리

식용 식물자원으로부터 활성물질을 탐색하기 위한 연구의 일환으로 상추로부터 이차대사산물을 분리·정제하고, 분리한 물질에 대하여 여러 가지 활성을 검색한 결과, ACAT (Acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase) 억제활성을 갖는 물질로서 diterpene 화합물 phytol이 분리, 보고된 바 있다 (Jang

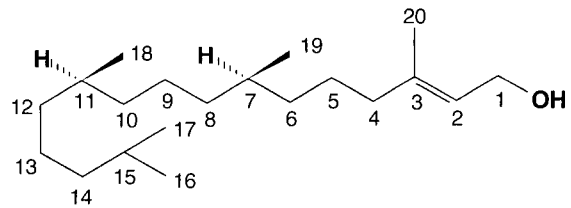


Figure 1. The chemical structure of phytol.

and Baek 2000). 이 화합물의 대량생산 가능성을 검토하기 위하여 기내에서 배양조건을 달리해가며 배양하여, phytol의 함량을 분석하였다.

표준물질을 얻기 위하여 상추를 MeOH로 추출하고, 이 추출물을 EtOAc와 H<sub>2</sub>O로 분배 추출하였다. EtOAc 분획으로부터 silica gel column chromatography를 반복하여 phytol을 분리하였으며, 화학구조의 동정은 NMR을 비롯한 각종 spectrum data를 이용하였다. 이 화합물의 chemical shift를 만족시키는 화합물의 문헌 값과 비교한 결과 phytol로 확인되었다 (Bikram et al. 1989) (Figure 1).

### Callus 유기 및 배양

상추자엽 절편을 치상한 4일 후부터 자엽절편이 부풀기 시작하면서 callus가 형성되었다. 형성된 상추의 callus는 중량이 가볍고 대체적으로 friable한 편이었다. 배양 1주일 후부터 IAA, IBA 및 NAA 처리구에서는 callus로부터 부정근이 형성되었으나 2,4-D 처리구와 1/2 MS, MS 배지에서는 부정근 형성이 거의 발생하지 않았다. 또한 2,4-D 처리구의 경우에는 부정아 형성이 관찰되지 않았다.

Auxin 단용처리 배지에서 유기된 callus를 auxin (NAA, 2,4-D)과 cytokinin (BA, kinetin, 2-iP)이 몇 가지 농도별 (0.1, 0.5, 1.0 mg · L<sup>-1</sup>)로 혼용처리된 MS 한천배지에 배양하여 결과를 관찰하였다. Callus를 4주 간격으로 계대배양하며 12주간 배양한 결과, 모든 처리구에서 부정아와 부정근의 발달만 전체적으로 촉진되었다.

상추의 재분화는 2가지 경로로 이루어졌다. 첫 번째는 일부 치상한 explant가 callus화되면서 부정아와 부정근이 직접 생성되었으며, 두 번째는 치상한 explant가 callus 분화과정을 거친 후 비대해진 callus 덩어리에서 부정아와 부정근이 발달하였다. 실험을 통해 확인한 결과 전자의 경우보다는 후자의 경우가 더 많이 관찰되는 경향이 있었다. 전자의 경우 절편체의 절단면으로부터 callus의 형성과 동시에 부정아와 부정근이 생성된 것은, 상처가 주변의 세포에 영향을 주어 부정아와 부정근의 형성이 활발하게 일어나도록 유도한 것으로 보인다. 일반적으로 상처를 받은 부위는 내재 auxin이나 ethylene의 농도가 증가하며, 이러한 변화가 외부에서 첨가한 식물생장조절물질과의 상호작용을 통해 부정아와 부정근의 형성을 유도한 것으로 사료된다.

**Table 1.** Comparison of chlorophyll content for morphogenic and non-morphogenic callus.

Treatment	Con.(mg · L <sup>-1</sup> )	Chlorophyll contents (mg · ml <sup>-1</sup> )			
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	Chlorophyll a/b	Total Chlorophyll
NMC <sup>x</sup>	2,4-D0.1+BA0.1	0.302 ± 0.147 <sup>z</sup> b <sup>y</sup>	1.393 ± 0.138 b	0.212 ± 0.094 a	1.695 ± 0.270 bc
	2,4-D0.5+BA0.5	0.257 ± 0.209 b	1.264 ± 0.233 b	0.190 ± 0.156 a	1.520 ± 0.412 c
	NAA1.0+2-iP1.0	0.285 ± 0.331 b	0.504 ± 0.160 c	0.792 ± 1.096 a	0.789 ± 0.175 d
MC <sup>w</sup>	NAA0.5+Kinetin0.1	0.599 ± 0.328 ab	1.591 ± 0.943 b	0.761 ± 0.972 a	2.188 ± 0.638 b
	NAA0.1+Kinetin1.0	0.888 ± 0.290 a	3.434 ± 0.203 a	0.262 ± 0.097 a	4.320 ± 0.177 a
	NAA0.5+Kinetin1.0	0.294 ± 0.052 b	1.980 ± 0.107 b	0.150 ± 0.348 a	2.273 ± 0.057 b
Leaf	NAA0.1+Kinetin1.0	2.532 ± 0.185	20.545 ± 1.019	0.124 ± 0.015	23.067 ± 0.851

<sup>z</sup>Mean ± S.D., n=3.

<sup>y</sup>Means with a same letter in column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

<sup>x</sup>NMC=non-morphogenic callus.

<sup>w</sup>MC=morphogenic callus.

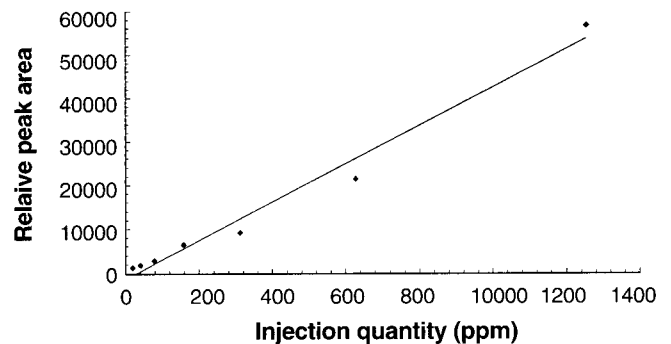
### Callus 내의 chlorophyll 함량 측정

총 chlorophyll 함량은 형성적 callus (MC)가 비형성적 callus (NMC)에서 높은 것으로 나타났다 (Table 1). NMC의 경우 0.1 mg · L<sup>-1</sup> 2,4-D + 0.1 mg · L<sup>-1</sup> BA 처리구에서의 total chlorophyll 함량이 1.695 ± 0.270 mg · ml<sup>-1</sup>로 가장 높았고, MC의 경우 0.1 mg · L<sup>-1</sup> NAA + 1.0 mg · L<sup>-1</sup> kinetin 처리구의 total chlorophyll 함량이 4.320 ± 0.177 mg · ml<sup>-1</sup>로 가장 높았다. 상추 자엽의 total chlorophyll 함량은 23.067 ± 0.851 mg · ml<sup>-1</sup>로 각 callus 실험구에 비해 상당히 높은 수준이었다. Duncan's multiple range test 결과 모든 처리구에서 chlorophyll a/b의 유의한 차이는 나타나지 않았다. MC와 NMC의 처리구에 비해 상추자엽의 chlorophyll a/b의 비율은 낮은 수치로 나타났는데, 이는 callus에 비해 상추자엽의 생리적 활성이 떨어짐에 의해 chlorophyll a가 chlorophyll b로 전환된 것이라고 사료된다.

상추 callus의 형성능이 총 chlorophyll 함량과 관련이 있는 것은 chlorophyll을 함유하고 있는 엽록체가 질소대사 등 물질대사의 주요한 역할을 담당하는 세포소기관으로서 callus 재분화의 역할을 하고 있다고 생각된다.

### Callus 내의 phytol 함량 측정

상추 callus에서 추출한 각각의 시료에 대하여 phytol의 존재를 TLC를 이용하여 확인하였다. 표준 phytol을 동시에 전개하였을 때, Rf값 (*n*-hexane:EtOAc=3:1, 0.51) 및 10% 황산의 발색양상 (황갈색)으로부터 모든 시료에 phytol이 존재함을 확인하였다. 또한, 각 시료 중의 phytol의 함량을 GC를 이용하여 정량분석하였다. 분석조건에서의 TMS화한 phytol의 retention time은 8' 45"로 나타났으며, phytol 또는 시료에 대한 검량선을 figure 2와 같이 구하여, 이를 이용하여 정량 하였다.



**Figure 2.** Standard curves of lettuce phytol in GC analysis.

상추 callus 생체중 1 g중에 포함된 phytol 함량은 NMC에서 전체평균이 0.967 ± 0.881 mg · ml<sup>-1</sup>으로 MC의 전체평균 0.911 ± 0.987 mg · ml<sup>-1</sup>보다 높은 수준이었다. 0.5 mg · L<sup>-1</sup> NAA + 1.0 mg · L<sup>-1</sup> kinetin 처리구인 MC에서 phytol 함량이 2.030 mg · ml<sup>-1</sup>으로 가장 높게 나타났다.

본 실험결과 chlorophyll 함량과 phytol 함량과는 비례관계가 성립하지 않는 것으로 나타났으며, 상추 식물체보다는 callus 조직에서 더 많은 함량의 phytol이 포함되어 있는 것으로 나타났다 (Figure 3). 따라서 상추 phytol은 식물체의 chlorophyll에 대해 일정량 포함되어 있는 것이 아니라 세포내의 대사 활동에 따라 그 함량이 정해지는 것으로 생각된다. 본 실험에서 식물체에 비해 callus의 phytol 함량이 높았던 것은 식물생장조절물질이 phytol 합성대사의 주효소의 활성을 높여주었던지 아니면 주효소의 합성을 증가시켜 주었기 때문인 것으로 사료된다. 또한 본 연구의 결과는 상추에서의 활성물질 phytol의 생산에 callus의 기내배양이 보다 유용하게 이용될 수 있는 가능성을 보여 주었다.

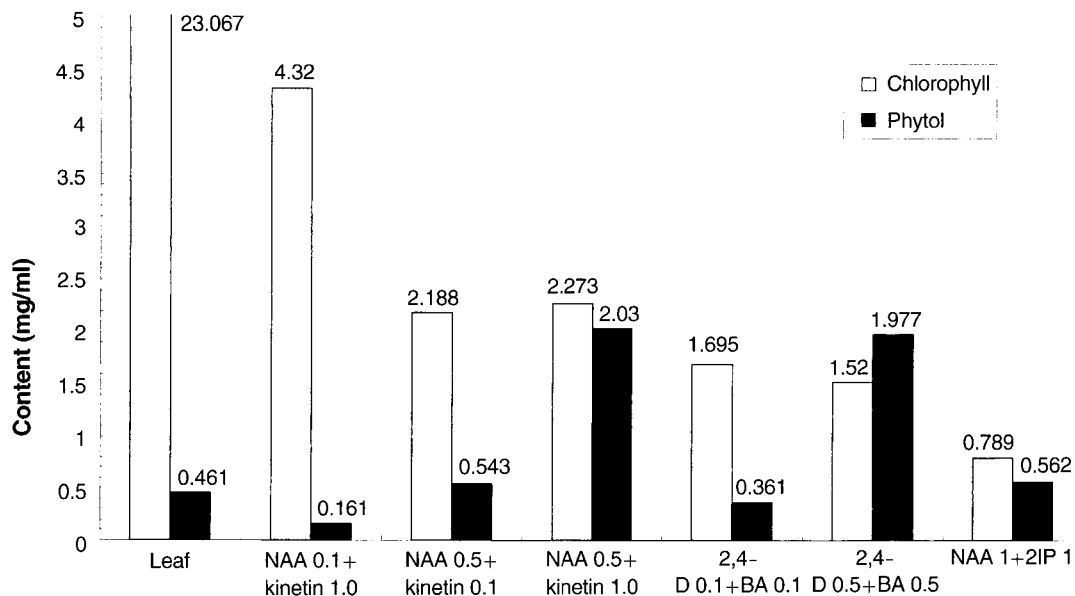


Figure 3. Comparison of chlorophyll and phytol content for MC and NMC.

## 적 요

상추의 기내 callus 배양으로부터 ACAT (Acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase) 억제 활성물질로 알려진 phytol의 생산가능성이 연구되었다. Callus는  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA가 첨가된 MS 배지에 4주간 치상된 자엽 절편체로부터 유도되었으며, 다양한 수준의 chlorophyll을 함유하고 있었다. Phytol이 chlorophyll분자를 구성하는 물질로 알려져 있음에도 불구하고, phytol의 추출량은 녹색의 자엽에서 보다 callus에서 높게 나타났다. GC 분석결과, phytol의 추출량은 callus의 chlorophyll 함량과 비례하지 않는 것으로 나타났으며, callus의 chlorophyll 함량수준은 callus의 형성능과 관련이 있는 것으로 사료되었다. 본 연구의 결과는 phytol의 기내생산에 있어서 상추의 callus 배양의 잠재성을 제시한다 하겠다.

## 인용문헌

- Alconero, R. (1983) Regeneration of plants from cell suspensions of *Lactuca saligna*, *lactuca sativa*, and *lactuca serriola* Hort Science 18(3):305-307
- Allan, E. J., and M. W. Fowler. (1985) Biologically active plant secondary metabolites-perspectives for the future. Chemistry and Industry:408-410
- Anna, J. B., Hans, B. and Klaus, P. A. (2001) Biosynthesis of hemi- and monoterpene moieties of isoprenyl phenyl ethers from the liverwort *Trichocolea tomentella*. Phytochemistry 57:7-14
- Barwale, U. B., H. R. Kerns and J. M. Widholm. (1986) Plant regeneration from callus cultures of several soybean genotypes via embryogenesis and organogenesis. Planta 167:473-481
- Bikram, S., Pawan, K. A. and Raghunath, S. T. (1989) Isolation of trans-Phytol from *Phyllanthus niriri*. Phytochemistry 15:1076
- Bohlin, L. (1992) Antispasmodic activity of  $\beta$ -damascenone and E-phytol isolated from *Ipomoea pescaprae*. Planta Med. 58:19-21
- Cho, Y. H., Ahn, S. J., Park, K. Y., Yoo, M. A. and Lee, W. H. (1993) Effects of phytol on the mutagenicity of UV and EMS in *Salmonella* and *Drosophila* mutation assaying systems. Environ. mutag Carcin., 13:92-100
- Halperin W. (1966) Alternative morphogenesis events in cell suspensions. Am J Bot 53:443-453
- Jang, T. O. and Baek, N. I. (2002) Isolation of ACAT (Acyl-CoA: Cholesterol Acyltransferase) Inhibitor From the Leaves of *Lactuca sativa* L. Korean J. Agri. 45:2
- Jung, E. B. and Shin, M. K. (1990) In 'Hyang Yak Dae Sa Jun'. Young Lim Sa, Seoul, Korea, pp 1060
- Kim, K. H., Chang, M. W., Park, K. Y., Rhee, S. H., Rhew, T. H., and Sunwoo, Y. I. (1993) Antitumor activity of phytol identified from perilla leaf and its augmentative effect on cellular immune response. Korean J. Nutr. 26:379-389
- Lawson, T., Nunnally, J., Walker, B., Brensnick, E., Wheeler, D. and Wheeler, M. (1989) Isolation of compounds with antimutagenic activity from Savoy Chieftain cabbage, J. Agri. Food Chem 37:1363-1367
- Lee, E. K., Park, S. K., Ryu, J. W., Sa, D. M. Lee, M. S. and Leem, K. O. (1996) In 'Introduction of Resource Plant'. Su Il. Seoul. Korea:25-257
- Lee, K. L., Lee, S. H. and Park, K. Y. (1999) Anticancer Activity of Phytol and Eicosatrienolic Acid Identified from Perilla Leaves. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28:1107-1112

- Molisch, H.** (1937) Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-allelopathie. Fisher, Jena
- Santos, I., I. Guimaraes and R. Salema.** (1994) Somatic embryogenesis and plant regeneration of Nerium olender. Plant Cell Tiss. Organ Cult. **37**:3-86
- Sharma, P. and M.V. Rajam.** (1995) Genotype, explant and position effects on organogenesis and embryogenesis in eggplant (*Solanum melongena* L.). J. Exp. Bot. **46**:135-141
- Sinnot, E. W. and R. Bloch.** (1941) Division in vacuolated plant cells. Amer. J. Bot. **28**:225-232
- Taya M, Mine K, Kino-oka M, Tone S, Ichi T. (1992) Production and release of pigments by culture of transformed hairy root of Red beet. J Ferment Bioeng **73**:31-36
- Zhou X, Han Y, Yang W, Xi T.** (1992) Somatic embryogenesis and analysis of peroxidase in cultured lettuce (*Lactuca sativa* L.) cotyledons. Ann Bot **69**:97-100

(접수일자 2002년 2월 14일)