

간행물 등록번호

NNIBR-2023-0000311-01

조직배양기술을 이용한 유용 담수식물 증식 연구
(1차년도)

Research on Propagation of Useful Freshwater Plants
using Tissue Culture Technology

동식물연구실 식물연구팀

국립낙동강생물자원관

발간등록번호: NNIBR-2023-0000311-01

조직배양기술을 이용한 유용 담수식물 증식 연구 (1차년도)

담수생물연구본부 동식물연구실 식물연구팀

신수영, 이승영, 황용, 최경수, 최지수,
서민정, 김태진, 정용태, 이성현

Research on Propagation of Useful Freshwater Plants
using Tissue Culture Technology

Su Young Shin, Seung Young Lee, Yong Hwang,
KyoungSu Choi, Ji Su Choi, Min Jeong Seo, Tae Jin Kim,
Yong Tae Jeong, Sung Hyeon Lee,

Plant Research Team
Animal & Plant Research Department
Nakdonggang National Institute of Biological Resources

2023

목 차

목차	i
표 목차	iii
그림 목차	iv
초 록	vi
I. 서론	1
1. 연구목적	1
2. 연구의 필요성	1
3. 연구동향	2
4. 연구추진체계 및 당해연도 성과지표	4
가. 연구추진체계	4
나. 당해 연도 세부 연구목표 및 내용	4
II. 연구내용 및 방법	6
1. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 선정 및 자원확보	6
2. 조직배양기술 활용 유용 담수식물의 캘러스 유도	6
3. 담수식물의 캘러스 증식 및 배양조건 확립	7
4. 유용 담수식물의 생리활성 증진효과 연구기반 조성	8
III. 연구결과 및 고찰	10
1. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 선정 및 자원확보	10
가. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 선정	5
나. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 자원 확보	5

2. 조직배양기술 활용 유용 담수식물의 캘러스 유도	11
가. 종자 발아	11
나. 무병식물체(유묘) 확보	12
다. 무병식물체 조직을 이용한 캘러스 유도	13
라. 무병식물체 조직을 이용한 캘러스 유도 결과	14
3. 담수식물의 캘러스 증식 및 배양조건 확립	16
가. 캘러스 이식 및 계대배양	16
나. 캘러스 액체배양 조건 탐색	16
4. 유용 담수식물의 생리활성 증진효과 연구기반 조성	17
가. 생리활성 증진효과 연구수행을 위한 문헌조사	17
나. 생리활성 증진효과 연구수행을 위한 기초연구	18
5. 담수식물 증식 연구수행을 위한 유관기관과의 업무 협력	19
IV. 결론	20
V. 참고문헌	22

표 목차

표 1. 조직배양기술 활용 사례	3
표 2. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 선정	6
표 3. 액체크로마토그래피(LC) 조건	8
표 4. 당해연도 증식 후보소재	10
표 5. 차년도 증식 후보소재 자원확보	11
표 6. 콩제비꽃 캘러스 유도 결과(단일호르몬)	14
표 7. 여뀌바늘 캘러스 유도 결과(단일호르몬)	15
표 8. 콩제비꽃 캘러스 유도 결과(혼합호르몬)	15
표 9. 여뀌바늘 캘러스 유도 결과(혼합호르몬)	15

그림 목차

그림 1. 연구 추진체계	4
그림 2. 연차별 연구추진내용	4
그림 3. 콩제비꽃 종자발아	12
그림 4. 여뀌바늘 종자발아	12
그림 5. 콩제비꽃 이식 및 무병식물체 확보	12
그림 6. 여뀌바늘 이식 및 무병식물체 확보	12
그림 7. 콩제비꽃 조직 절편 치상(옥신)	13
그림 8. 콩제비꽃 조직 절편 치상(사이토카인)	13
그림 9. 여뀌바늘 조직 절편 치상(옥신)	13
그림 10. 여뀌바늘 조직 절편 치상(사이토카인)	13
그림 11. 콩제비꽃 혼합호르몬 절편 치상	14
그림 12. 여뀌바늘 혼합호르몬 절편 치상	14
그림 13. 콩제비꽃 캘러스 형성(옥신)	14
그림 14. 콩제비꽃 캘러스 형성(사이토카인)	14
그림 15. 여뀌바늘 캘러스 형성(옥신)	15
그림 16. 여뀌바늘 캘러스 형성(사이토카인)	15
그림 17. 콩제비꽃 캘러스 이식	16
그림 18. 여뀌바늘 캘러스 이식	16
그림 19. 콩제비꽃 캘러스 선별	16
그림 20. 콩제비꽃 캘러스 계대배양	16
그림 21. 콩제비꽃 캘러스 액체배양 조건 탐색	16
그림 22. 콩제비꽃 캘러스 추출물 제조	18
그림 23. 콩제비꽃 캘러스 추출물 물질 분석	18

그림 24. 여뀌바늘 켈러스 추출물 대사체 분석	18
그림 25. 총 페놀함량	19
그림 26. DPPH 라디칼 소거능	19
그림 27. 구리 이온의 환원력	19
그림 28. 철 이온의 환원력	19
그림 29. 유관기관 방문 및 업무협의	19

초 록

천연물 시장이 지속적으로 확대되면서 국내 생물자원(식물)을 이용한 화장품, 식·의약분야 소재 개발 및 활용이 증대되고 있으며 산업화 적용을 위해 품질이 동일하고 안정된 원료나 소재의 생산이 끊임없이 요구되어지고 있다. 이에 대한 해결법으로 식물조직배양기술이 주목받고 있으며 모식물체로부터 완전한 식물체로 재생할 수 있는 식물의 전형성능을 활용하여 천연 소재 안정적 확보, 유용물질 생산 연구 등을 통해 다양한 생물산업 분야에 적용되고 있다.

본 연구과제는 자원관에서 연구개발 되고 있는 유용 담수식물(생리활성 특허소재 및 기술이전 소재)의 생물산업 활용 증대를 위하여 조직배양기술을 이용하여 환경에 제약받지 않는 안정적인 소재 확보 및 생리활성 증진 소재 발굴로 산업화 활용 가치를 창출하고자 신규과제로 발굴하여 연구를 수행하였다.

당해연도 조직배양 후보소재로 선정된 콩제비꽃과 여뀌바늘 종자를 활용하여 종자발아 및 발아촉진 처리를 통해 발아율과 발아세를 관찰하고 무병식물체(유묘)를 다량 확보하여 캘러스 유도를 위한 소재로 활용하였다. 무균상태에서 키운 콩제비꽃 잎과 줄기 절편과 여뀌바늘 잎 절편을 식물생장조절제 5가지 종류에 농도별로 치상하여 캘러스를 유도하였다.

생리활성 증진 연구 수행을 위한 기초자료로서 문헌조사를 수행하였고 기초연구 기반으로 유도된 캘러스를 선별하여 콩제비꽃 및 여뀌바늘 캘러스 추출물을 제조하였다. 콩제비꽃 캘러스 추출물에서 유용물질 분석 및 2차 대사산물 분석을 수행하였고 콩제비꽃 캘러스 추출물의 항산화 실험을 수행하였다.

그 결과 콩제비꽃은 2, 4-D와 Zeatin에서 캘러스 유도율이 높게 나타났고 여뀌바늘은 2, 4-D, Zeatin 및 Kinetin에서 캘러스 유도율이 높게 나타났다. 또한 단일호르몬보다 혼합호르몬(2, 4-D 및 Zeatin 또는 2, 4-D 및 Kinetin)에서 캘러스 유도율이 더 효과적이었다. 콩제비꽃 캘러스 추출물에서 유용물질을 확인 하였고, 항산화 효과를 확인하였다. 여뀌바늘 캘러스 추출물에서 플라보노이드계 2차 대사산물을 다량 확인하였다.

본 연구결과를 통해 당해연도 조직배양 후보소재 콩제비꽃과 여뀌바늘 2종에 대해 조직배양을 성공하였으며 생물 산업에 활용 할 수 있는 담수식물의 소재 가치를 창출하였다. 또한 생리활성 연구를 추진 할 수 있는 기초자료를 구축하였고 특허출원을 완료하여 지식재산권을 확보하였다.

I. 서론

1. 연구목적

- 자원관에서 기초·심화연구를 통해서 발굴되고 있는 유용 담수식물(생리활성 특허소재 및 기술이전 소재)의 생물산업 활용 증대를 위한 담수식물 증식 연구
- 조직배양기술을 이용하여 자연을 훼손하지 않고 환경변화에 영향을 받지 않는 안정적인 소재 확보
- 유용 담수식물 조직배양 켈러스 소재의 생리활성 증진 연구 및 대량배양 연구를 통해 천연물 소재 바이오산업 활성화 기여

2. 연구의 필요성

가. 정책적 배경

- “생물자원관의 설립 및 운영에 관한 법률(20.02.)”에 따라 생물자원의 지속 가능한 이용에 기여하고자 담수생물분야의 생물자원 보전·이용 기술 개발 및 실용화·산업화지원 사업 추진 필요
- “제1차 생물자원관 기본계획(2021~2025년)”에 따라 (1)생물자원 발굴 및 주권확보 강화를 위해 생물자원 가치탐색을 통한 원천소재 발굴 강화, 생물소재화 융합연구 추진, (2)생물자원의 지속가능한 활용 기반 조성을 위해 우수 생물소재 대량증식 및 실용화 연구 필요
- “제4차 국가생물다양성전략(2019~2023년)”에 따라 생물다양성 보전 및 증진 및 생물다양성 이익고유 및 지속가능한 이용을 위해 생물자원의 보존·증식기술 개발 고도화와 지속가능한 생태자원 활용 활성화 필요

나. 산업적·기술적 배경

- 조직배양기술은 식물세포·조직이 생육조건에 따라 독립된 개체로 분화할 수 있는 식물의 전형성능*을 이용하여 기내 환경 내에서 영양분이 포함된 멸균 배지에 증식시키는 기술로 모개체와 동일한 특성을 갖는 식물개체를

생산할 수 있음

- 조직배양기술은 몸체가(바이오매스)가 작은 초본식물, 성장이 더딘 목본식물, 종자확보나 발아가 어려운 소재, 재배 시에 유효성분이 달라지는 경우, 활성은 뛰어나나 체내 함량이 매우 적은 경우에 원활한 소재 확보 및 유용물질 생산을 위해서 활용되고 있는 기술임
- 조직배양기술은 다양한 분야(농업, 환경, 생명자원 보존, 생명공학, 식·의약 분야)에서 적용하여 신종종육종, 무병 우량묘의 대량생산, 식물종의 보존 및 증식, 생명공학 기술과 융합한 GM(Genetically Modified)작물의 개발, 식물유래 기능성 2차 대사산물의 생산 및 바이오의약품 생산 등에 활용이 가능
- 조직배양기술 기반 유용 활성물질 생산 연구는 유용 대사체 생산에 요구되는 내·외부 환경 요인을 최적화 할 수 있어 유용 활성물질 생산성의 안정성 향상은 물론 재현성 및 수급성 조절에 매우 유리한 연구 수단임
- 우수한 천연활성 소재를 발굴하여 기업화로 넘어가는 과정에서 소재의 대량 확보가 가장 중요한 관건인 경우가 많으며, 근본적인 해결방법으로 식물조직배양기술이 활용되고 있음. 자연에 서식하는 식물자원을 직접 채취 및 활용하는 것이 아니라 생물반응기내 세포배양을 통해 증식 및 생산하기 때문에 환경파괴로부터 자유롭고 적극적인 자연환경 보존 수단으로도 활용이 가능

3. 연구동향

가. 국내·외 연구동향

- 농촌진흥청은 토종 인진쑥의 켈러스를 배양 후 뿌리조직을 유도하여 말라리아 치료제의 원료로 이용되는 물질인 ‘아르테미시닌’을 식물 체외로 배출하게 함으로써 유효물질의 순도를 높이고 생산량도 3배 이상 향상시킴(농업경제신문 2021.04)
- 한국생명공학연구원은 높은 효능을 가진 자생식물 고삼과 혈떡이풀로부터 켈러스 유도 및 증식과정을 거쳐 가장 최적의 배양 조건을 구명하였으며 대사체 생합성 관련 전사체 발현연구 및 항염 활성을 갖는 ‘티아렐릭산’이 4배 증대된 켈러스 세포주를 선발하여 유효성분 함량증진 기술개발에

성공함(과학기술정보통신부 2020.10.)

- 미국 MIT 연구진은 백일홍의 캘러스 배양을 통해 나무와 같은 목질화 세포로 분화시키는 기술을 개발하여 연구결과를 국제 학술지(Journal of Cleaner Production, 20.12.)에 게재하였으며 식물을 기반으로 한 건축자재 등 산업용, 가정용 목재를 생산하는 과정에 드는 시간과 비용을 크게 줄일 수 있을 것으로 기대(사이언스타임지 2021.01)
- 최근 5년간(2017년~2021년) 국내 식물 조직배양 R&D 투자는 621.8억원으로 평균 124.4억원으로 조사되었으며(NTIS R&D 투자현황분석), 천연물, 기능성 물질, 의약 관련 조직배양연구는 식물 대량생산 및 형진전환 연구와 더불어 생명과학 및 보건의료 분야에서 많은 비중을 차지함
- 국내 조직배양기술 활용 대표적인 사례는 표 1과 같음

표 1. 조직배양기술 활용 사례

업체명	업체현황	업체 정보
농업회사법인 호트팜		<ul style="list-style-type: none"> - 경기도 화성시 소재 조직배양 묘생산 판매업체 - 조직배양 생산시설에서 딸기, 고구마, 샤인머스켓 조직배양 무병묘 생산판매
마고플랜츠		<ul style="list-style-type: none"> - 본사는 서울 강남에 소재하며 전북 전주시 소재 연구소와 순창군 사업장 운영 - 2014년에 씨감자 사업법인으로 설립, 조직배양 씨감자 생산업체
(주) 바이오밸류		<ul style="list-style-type: none"> - 제주특별자치도 서귀포시 소재 산삼배양근 생산 및 판매업체 - 2005년부터 농약성분 및 유해중금속이 검출되지 않는 산삼배양근 개발 및 제품 출시

4. 연구추진체계 및 당해년도 성과지표

가. 연구추진체계

(1) 연구단계별 추진내용

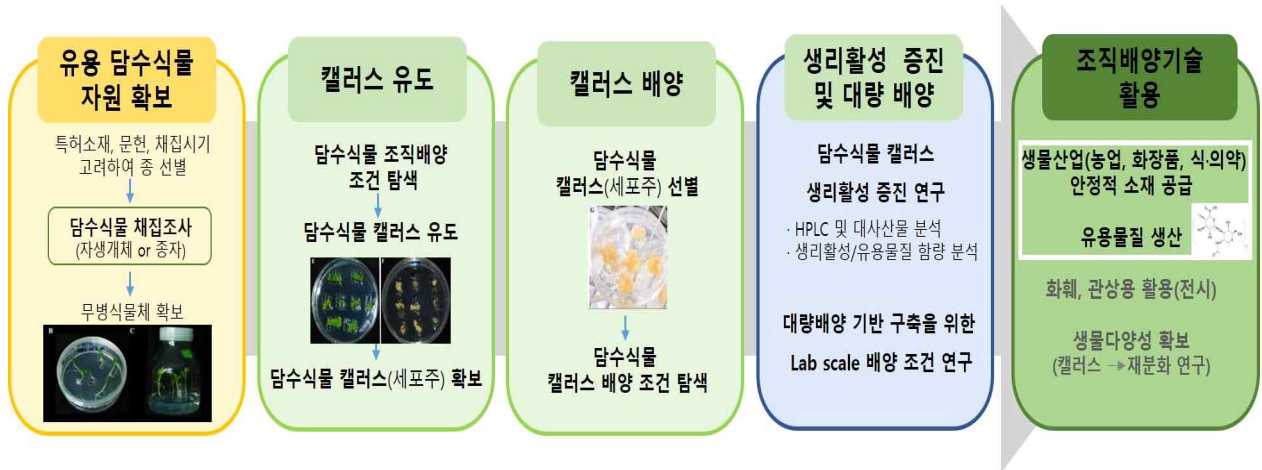


그림 1. 연구 추진체계

(2) 연차별 추진내용



그림 2. 연차별 연구추진내용

나. 당해년도 성과지표

(1) 2023년 연구목표: 담수식물 활용을 위한 조직배양기술 기반 구축 및 소재 발굴

○ 성과지표1: 조직배양 후보소재 자원 확보(3종)

- (설정근거) 특허소재, 문헌, 기술이전 등을 고려한 후보소재 선정 및 확보

- 성과지표2: 유용 담수식물 켈러스 유도(1건)
 - (설정근거) 담수식물 켈러스 유도 및 선별

- 성과지표3: 유용 담수식물 켈러스 배양 조건 탐색(1건)
 - (설정근거) 담수식물 켈러스 증식을 통해 액체배양 최적화 조건 연구

- 성과지표4: 담수식물 생리활성 증진 연구 기반 조성(1건)
 - (설정근거) 생리활성을 증진을 위한 유도제, 배양조건 등 자료조사 및 실험 구상

- 성과지표5: 지식재산권 확보(2건)
 - (설정근거) 연구 성과 확산을 위한 특허출원

II. 연구내용 및 방법

1. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 선정 및 자원 확보

가. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 선정 및 자원 확보

- 자원관에서 보유하고 있는 특허출원 소재 중에서 식물소재를 30종을 선별하여 문헌조사, 기술이전 및 소재확보 용이성을 고려하여 최종적으로 12종을 후보소재로 선별하였고 기술이전 등의 우선순위를 고려하여 당해연도 후보소재 2종(콩제비꽃, 여뀌바늘) 및 차년도 후보소재 3종(큰고랭이, 샷갓사초, 뚜껍덩굴)을 조직배양 연구소재로 선정(표 2)

표 2. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 선정(당해연도 및 차년도)

우선 순위	담수식물종식 후보소재	생리활성 (특허)	문헌조사 (특허, 논문)	기술이전	소재확보 용이성 (구매, 대량채집)	자원 확보	채집시기
1	콩제비꽃	발모	X	2021, 2022	X	기 확보	
2	여뀌바늘	항균	X	2020	X	기 확보	
3	큰고랭이	항염	X	2022	X	확보예정 (채집)	개화 6-8월, 종자 9-10월
4	샷갓사초	발모	X	2022	X	확보예정 (채집)	개화 5-7월, 종자 7-8월
5	뚜껍덩굴	항진균	X	심화 연구 중	X	확보예정 (채집)	개화 7-8월, 종자 8-10월

나. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 자원 확보

- 당해연도 후보소재는 종자를 정선하고 차년도 후보소재 중 큰고랭이는 경북 상주시 소재에서 개체와 종자를 채집하였고, 샷갓사초는 경북 안동시 소재에서 개체를 채집하였음. 뚜껍덩굴은 충남 논산시 소재에서 종자를 확보하였음

2. 조직배양기술 활용 유용 담수식물의 캘러스 유도

가. 종자 발아 및 무병식물체 확보

- 종자소독은 0.2% tween 20으로 30초, 70% 에탄올 1분, 2% NaOCl 20분 및

멸균수를 이용하여 순차적으로 처리하여 소독한 후, 발아촉진을 위해 GA₃ 2mg/L에 침지하여 저온(4℃)에서 24시간 처리함. 멸균수로 1회 세척한 후 1/2 MS 배지에 콩제비꽃 및 여뀌바늘 종자를 파종하고 콩제비꽃은 25℃, 여뀌바늘은 30℃ 온도조건과 장일(16h Light/8h Dark) 조건의 배양기에서 종자발아를 유도함

- 콩제비꽃과 여뀌바늘의 종자 파종 후 종자 발아율과 발아세를 관찰하고 발아된 개체는 2~3주 동안 무균배양실 내에서 계속 배양한 후 어린 유묘 1개체씩 사각 페트리디쉬(72x72x100cm, incu tissue, SPL)에 각각 이식함

- 발아율(%): (발아한 총 종자수/치상한 종자수)×100

- 발아세(%): (가장 많이 발아한 날까지의 발아한 종자수 합계/치상한 종자수)×100

나. 조직절편을 이용한 캘러스 유도

- 콩제비꽃과 여뀌바늘 유묘를 이식한 후 4-6주 정도 배양한 개체를 캘러스 유도에 사용함. 콩제비꽃 줄기와 잎 조직 및 여뀌바늘 잎 조직을 1cm 크기로 절단하여 식물생장조절물질인 옥신 계열(2,4-D, IAA, IBA) 및 사이토키닌 계열(zeatin, kinetin)을 농도별로 첨가한 MS배지에 치상하여 24℃, 암조건의 배양실에서 캘러스를 유도함

3. 담수식물의 캘러스 증식 및 배양조건 확립

가. 캘러스 증식

- 콩제비꽃과 여뀌바늘 잎, 줄기 조직에서 유도된 캘러스는 0.6% plant agar가 첨가된 1/2MS with vitamin and MES(3% sucrose, pH 5.8 조정) 배지를 제조하여 멸균한 뒤 100x20 mm petri dish(SPL)에 30 ml 씩 부은 후 건조시킨 고체 배지에 이식하였고 4주 동안 암 조건에서 배양함. 캘러스의 크기, 성장속도 등을 구분하면서 새로운 배지에 이식하여 5-6주 간격으로 계대배양을 실시함

나. 캘러스 액체배양 조건 탐색

- 액체배양 조건 탐색을 위해서 콩제비꽃 캘러스를 이용하였으며, 1/2 MS 액체 배지에 호르몬 농도를 2, 4-D 1mg/L, 2, 4-D 0.5mg/L + Zeatin 0.3mg/L 및

2, 4 D 1mg/L+ Zeatin 0.5mg/L 조건으로 배양하고 캘러스 접종량을 달리한 2, 4-D 0.5mg/L + Zeatin 0.3mg/L의 동일한 배지에서 캘러스를 배양함

4. 유용 담수식물의 생리활성 증진효과 연구기반 조성

가. 생리활성 증진 연구기반 조성을 위한 문헌조사

- 차년도 생리활성 증진 연구를 수행하기 위해 차년도 연구소재 유용물질 및 생리활성 증진을 위한 유도제, 배양조건, 실험방법 등을 조사함

나. 생리활성 증진 연구를 위한 기초 연구

- 생리활성 증진 연구를 위한 기초 연구로써 콩제비꽃 및 여뀌바늘 캘러스를 동결 건조하고 시료를 파쇄한 후 70% 에탄올로 추출하여 농축한 시료로 활용함
- 물질분석을 위해 HPLC, LC-MS, UV 분석을 수행하여 콩제비꽃 캘러스 추출물의 유용물질 분석 및 여뀌바늘 캘러스 추출물의 2차 대사산물을 분석함(표 3)

표 3. 액체크로마토그래피(LC) 조건

액체크로마토그래피(LC) 조건:	시간(분)	유속(mL/분)	A	B
			용매(%)	용매(%)
<ul style="list-style-type: none"> • 유속: 0.25 mL/min • 컬럼온도: 상온 • 용매 조건 • 시료 주입량: 1 µL 	0.00	0.25	90	10
	1.00	0.25	90	10
	16.00	0.25	5	95
	19.00	0.25	5	95
	19.10	0.25	90	10
	20.00	0.25	90	10

- 콩제비꽃 캘러스 추출물의 총 페놀 함량 측정
 - 시료의 페놀 함량 측정 Phenolic Compounds Assay Kit (MAK365, Sigma)를 사용하여 평가함. 96-well plate에 시료 100 µl와 PC Probe 20 µL 첨가하여 혼합 후 PC Assay buffer 80 µL를 첨가하여 10분간 실온에서 반응 후 480 nm에서 흡광도를 측정함. 페놀함량은 catechin 표준곡선을 통해 환산함.

○ 항산화 활성 측정(DPPH Assay)

시료 70 μ l를 96-well plate에 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma) 용액(0.21 mg/ml) 130 μ l과 넣은 후 실온에서 30분간 반응한 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3 배수로 실시함. 시료의 라디칼 소거활성은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도를 구하여 아래와 같이 백분율로 표시하였으며, 대조구로서 Trolox를 사용함.

$$\text{Radical Scavenging Activity(\%)} = (A_{\text{control}} - A_{\text{Sample}})/A_{\text{control}} \times 100$$

○ 항산화 활성 측정(FRAP Assay)

시료의 철 이온에 대한 킬레이트 활성은 ferric reducing antioxidant power(FRAP) assay kit (MAK369, Sigma)를 사용하여 평가함. 96-well plate에 시료 10 μ l을 190 μ l의 reaction mix (FRAP Assay Buffer에 FeCl₃ 용액과 FRAP Probe 포함)와 혼합하여 37°C에서 60분간 반응한 후 594 nm에서 흡광도를 측정함. 킬레이트 활성은 표준 곡선을 통해 μ M Feq(Ferrous equivalents)으로 환산하여 positive control과 비교함.

○ 항산화 활성 측정(CUPRAC Assay)

구리 이온(copper ion)의 환원력은 antioxidant kit(MAK334, sigma)를 이용하여 측정함. 시료 20 μ l과 reaction mix 100 μ l에 넣은 후 실온에서 10분간 반응시킨 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구로서 Trolox를 사용함.

III. 연구결과 및 고찰

1. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 선정 및 자원 확보



가. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 선정

- 생물산업 지원 가능성을 고려하여 담수식물 조직배양 후보소재를 선정
 - 1단계 선정: 기관이 보유한 생리활성 특허소재(2022.12. 기준) 중 식물소재 30종을 대상으로 논문, 특허 등의 문헌조사를 통해 미연구된 후보소재 17종 1차 선정
 - 2단계 선정: 기술이전 및 소재확보 용이성을 고려하여 12종을 최종 조직배양 후보소재로 선정

나. 유용 담수식물 조직배양 후보소재 자원 확보

- 당해연도 후보소재는 최종 선정된 후보소재 12종중에서 종자가 확보되어 있는 콩제비꽃과 여뀌바늘을 우선순위로 증식 수행(표 4)

표 4. 당해연도 증식 후보소재

구분	종명	선정기반	원종 개체 정보	종자사진
1	콩제비꽃	<ul style="list-style-type: none"> · 특허등록: 콩제비꽃 추출물을 이용한 발모 촉진 또는 탈모 억제용 조성물 ('21. 3.) · 기술이전체결: 2020년 11월 	<ul style="list-style-type: none"> · 자생지* 야생개체 채집 후 유리온실 내 증식을 통해 종자 확보 * 채집지: 경북 상주시(2021) 	
2	여뀌바늘	<ul style="list-style-type: none"> · 특허출원: 여뀌바늘 추출물을 이용한 항균용 조성물 ('20. 9.) · 기술이전체결: 2020년 11월 	<ul style="list-style-type: none"> · 자생지* 내 결실기 성숙 종자 채종 후, 정선을 통해 종자 확보 * 채집지: 경북 상주시(2020) 	

- 차년도 후보소재는 선정기준에 따라 큰고랭이, 샷갯사초 및 뚜껍덩굴 3종으로 자원을 확보하기 위해 개체 생장시기 및 개화시기 등을 조사하여 식물분류 전문 연구원과 종을 확인 한 후 개체 또는 종자를 확보(표 5)

표 5 차년도 증식 후보소재 자원 확보

구분	종명	유용성 정보	원종 개체 정보	자생지 개체	재배 및 종자확보
1	삿갓사초	<ul style="list-style-type: none"> · 특허등록: 삿갓사초 추출물을 이용한 발모 촉진 또는 탈모 억제용 조성물('23.3) · 기술이전체결: 2022년 10월 	<ul style="list-style-type: none"> · 채집지: 경북 안동 · 채집일: '23.6.15-16. · 전 초: 40 개체 · 다년생 담수식물 		
2	큰고랭이	<ul style="list-style-type: none"> · 특허등록: 삿갓사초 추출물을 이용한 발모 촉진 또는 탈모 억제용 조성물('23.3) · 기술이전체결: 2022년 9월 	<ul style="list-style-type: none"> · 채집지: 경북 예천 · 채집일: '23.6.23. · 전 초: 25 개체 · 다년생 담수식물 		
3	뚜껍덩굴	<ul style="list-style-type: none"> · 특허출원: 뚜껍덩굴 추출물을 이용한 식물 감염성 진균에 대한 항진균용 조성물('22.9.) · 심화연구 진행 중 	<ul style="list-style-type: none"> · 채집지: 충남 논산 · 채집일: '23.10.19. · 종 자: 200 개 · 다년생 담수식물 		

2. 조직배양기술 활용 유용 담수식물의 캘러스 유도

가. 종자발아

- 콩제비꽃과 여뀌바늘 종자발아를 위해 종자소독(0.2% tween 20으로 30초, 70% 에탄올 1분, 2% NaOCl 20분 및 멸균수로 수세) 및 발아촉진(GA₃ 2mg/L에 침지하여 4 °C에서 24시간 처리 후 멸균수로 수세) 과정을 거친 콩제비꽃 및 여뀌바늘 종자를 1/2 MS 배지(100×40mm petridish)에 과종
- 종자발아를 위해 콩제비꽃 25 °C 배양기 및 여뀌바늘 30°C 배양기에서 2일간격으로 확인하여 각 발아율 및 발아세 확인
- 콩제비꽃의 발아율은 최대 45%, 발아세는 34.65%로 확인(그림 3)
- 여뀌바늘의 발아율은 최대 83%, 발아세는 77.5%로 확인(그림 4)

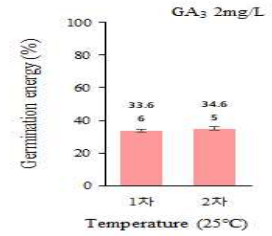
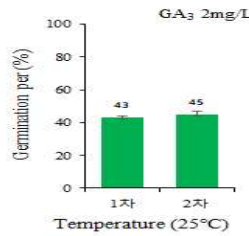
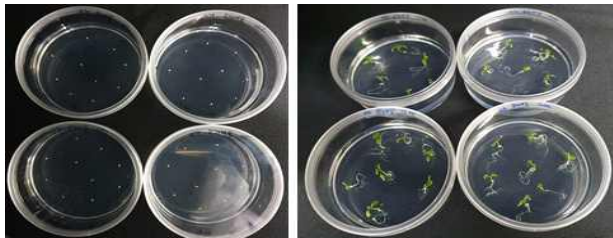


그림 3. 콩제비꽃 종자발아

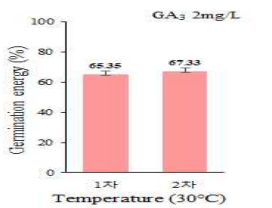
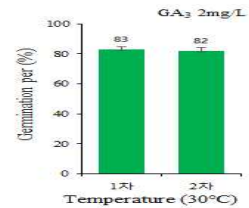
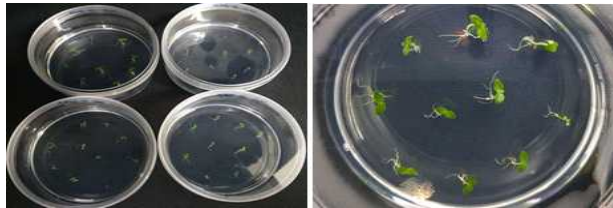


그림 4. 여뀌바늘 종자발아

나. 무병식물체(유묘) 확보

- 콩제비꽃과 여뀌바늘의 발아개체를 2~3주 동안 무균배양실 내에서 배양하여 총 장 2cm 정도의 어린 유묘를 1개체씩 새 배지에 각각 이식(72x72x100cm, SPL)
- 충분한 양의 식물체 확보를 위해, 무균배양실에서 4주 이상 배양
- 콩제비꽃 식물체 총길이는 4~6cm 정도이며, 줄기 1개에 잎이 한 장씩 달린 형태로 기부에 새로 생긴 줄기의 수는 5-10개가 확인(그림 5)
- 여뀌바늘 식물체 총 길이는 7-8cm 정도이며, 한 개의 줄기에서 잎이 마주보고 나면서 길이생장을 하는 것으로 확인(그림 6)

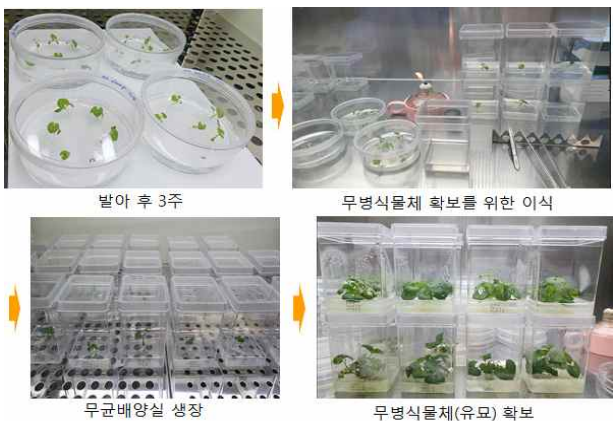


그림 5. 콩제비꽃 이식 및 무병식물체 확보



그림 6. 여뀌바늘 이식 및 무병식물체 확보

다. 무병식물체 조직을 이용한 캘러스 유도

- 콩제비꽃 무병식물체(6~7주 배양)와 여뀌바늘 무병식물체(4주 배양)의 잎과 줄기 절편을 가로길이 1cm 크기로 절단
- 식물생장조절물질인 옥신(2,4-D, IAA, IBA) 및 사이토카인(zeatin, kinetin)의 단일 호르몬을 각 농도별로 첨가한 MS배지에 치상하여 캘러스 유도(그림 7-10)

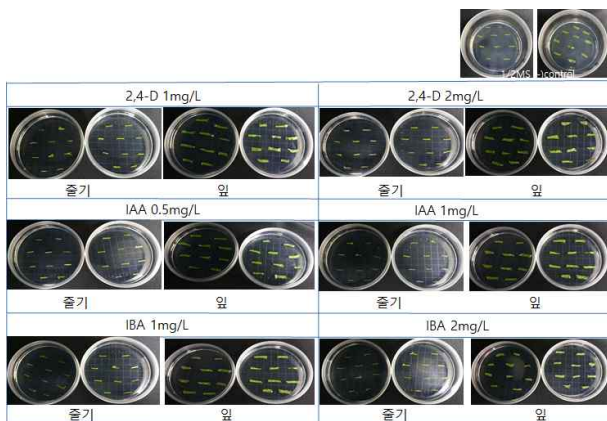


그림 7. 콩제비꽃 조직절편 치상(옥신)

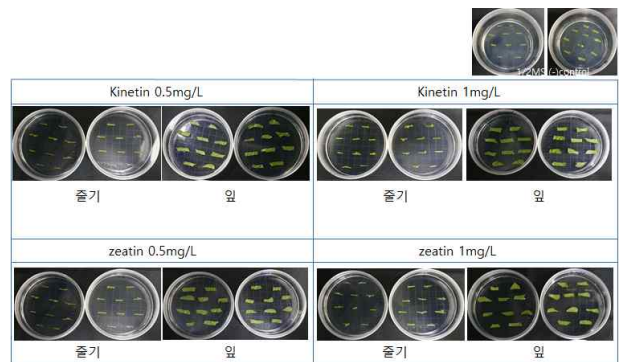


그림 8. 콩제비꽃 조직절편 치상(사이토카인)

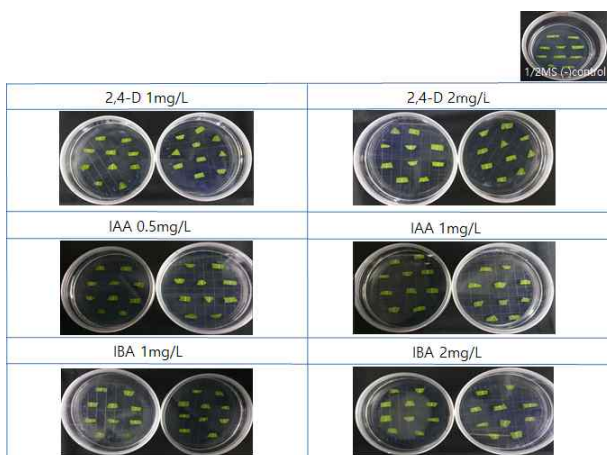


그림 9. 여뀌바늘 조직절편 치상(옥신)

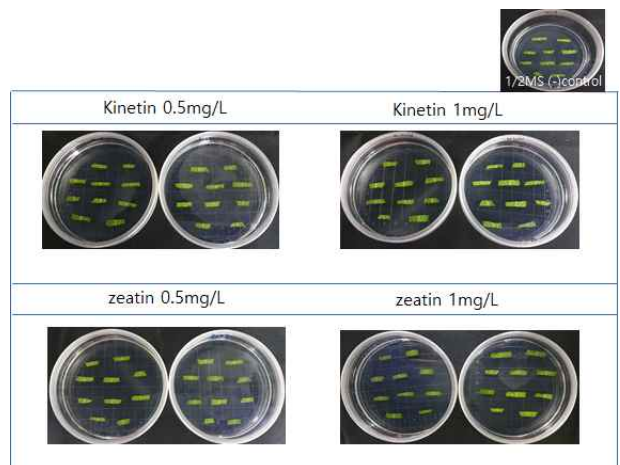


그림 10. 여뀌바늘 조직절편 치상(사이토카인)

- 단일호르몬에서 캘러스 유도가 되었지만 캘러스 유도율이나 캘러스 성장 속도 등의 효율성 제고를 위해 혼합호르몬(옥신과 사이토카인) 조건에서 농도별로 첨가한 1/2 MS배지에 조직 절편을 치상하여 캘러스를 유도(그림 11-12)

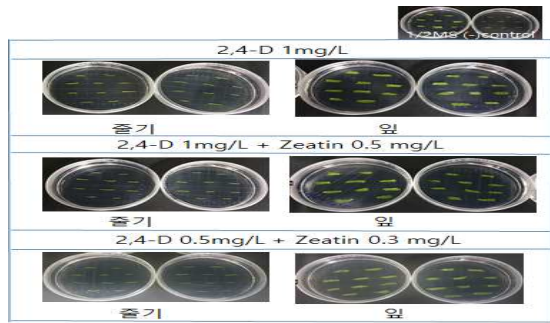


그림 11 콩제비꽃 혼합호르몬 절편 치상

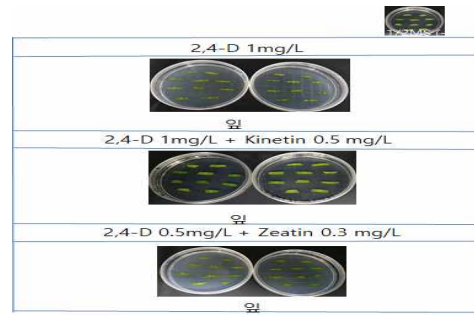


그림 12 여뀌바늘 혼합호르몬 절편 치상

라. 콩제비꽃 및 여뀌바늘 캘러스 유도 결과

- 콩제비꽃 캘러스 유도 결과, 2,4-D 0.5mg/L와 zeatin 0.5mg/L에서 가장 높은 비율로 캘러스가 형성되는 것을 확인(그림 13-14 및 표 5)

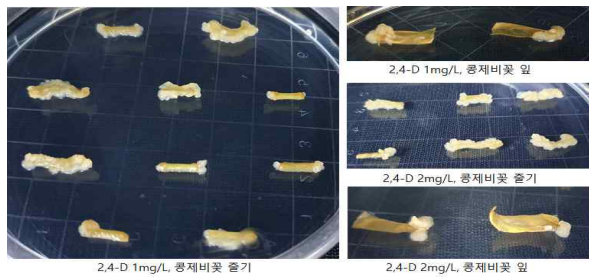


그림 13. 콩제비꽃 캘러스 형성(옥신)



그림 14. 콩제비꽃 캘러스 형성(사이토키린)

표 5. 콩제비꽃 캘러스 유도 결과(단일호르몬)

Plant growth regulator (mg/L)		callus		roots	
		leave	stem	leave	stem
2,4-D	0.5	+	+++	-	-
	1.0	+	+++	-	-
	2.0	+	+++	-	-
IAA	0.5	-	+	+	+++
	1.0	+	+	+	+++
IBA	1.0	-	+	+	+++
	2.0	-	++	+	+++
Kinetin	0.5	-	-	-	++
	1.0	-	-	-	+
Zeatin	0.5	+	+	+	++
	1.0	++	++	+	++

- 여뀌바늘 캘러스 유도 결과, 2,4-D 1mg/L, kinetin 1mg/ml 및 zeatin 0.5mg/L에서 캘러스 형성이 잘 되는 것을 확인(그림 15-16 및 표 6).

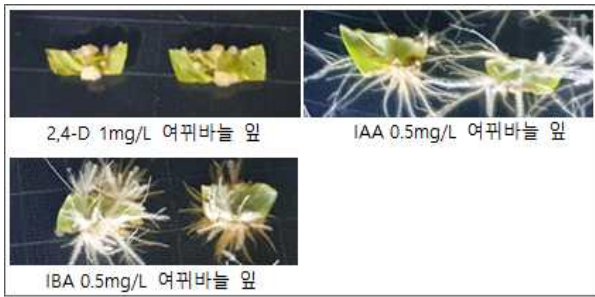


그림 15. 여뀌바늘 캘러스 형성(옥신)



그림 16. 여뀌바늘 캘러스 형성(사이토카인)

표 6. 여뀌바늘 캘러스 유도 결과(단일호르몬)

Plant growth regulator (mg/L)		callus		roots
		leave		leave
2,4-D	1.0	+++		-
	2.0	+++		-
IAA	0.5	-		+++
	1.0	-		+++
IBA	1.0	-		+++
	2.0	-		+++
Kinetin	0.5	++		-
	1.0	+++		-
Zeatin	0.5	+++		-
	1.0	+++		-

○ 또한, 옥신과 사이토카인 호르몬 혼합배지에 캘러스를 유도 한 결과 단일호르몬에서 보다 캘러스 유도율과 생성량이 높은 비율로 나타나는 것을 확인(표 7-8)

표 7. 공제비꽃 캘러스 유도 결과(혼합호르몬)

Plant growth regulator (mg/L)	callus	
	leave	stem
2,4-D 1	++	++
2,4-D 0.5 + zeatin 0.3	++	+++
2,4-D 1 + zeatin 0.5	++	+++

표 8. 여뀌바늘 캘러스 유도 결과(혼합호르몬)

Plant growth regulator (mg/L)	callus
	leave
2,4-D 1	++
2,4-D 0.5 + zeatin 0.3	+++
2,4-D 1 + kinetin 1	++

3. 담수식물의 캘러스 증식 및 배양조건 확립

가. 캘러스 증식

- 콩제비꽃과 여뀌바늘 잎과 줄기 조직에서 유도된 캘러스는 새로운 배지에 이식하여 6주 정도 배양(그림 17-18)
- 캘러스의 성장크기를 확인하여 생육정도와 모양이 양호한 캘러스를 구분하여 선별(그림 19)
- 캘러스 이식 및 계대배양 시 캘러스 성장 상태는 단일호르몬이 첨가된 1/2 MS 배지 조건에서 보다 혼합호르몬이 첨가된 1/2 MS 배지조건에서 콩제비꽃 캘러스 생장이 더 잘되는 것으로 확인(그림 20)

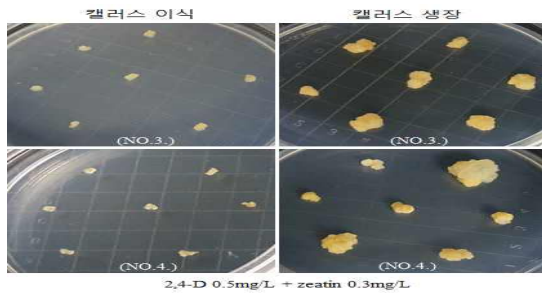


그림 17. 콩제비꽃 캘러스 이식

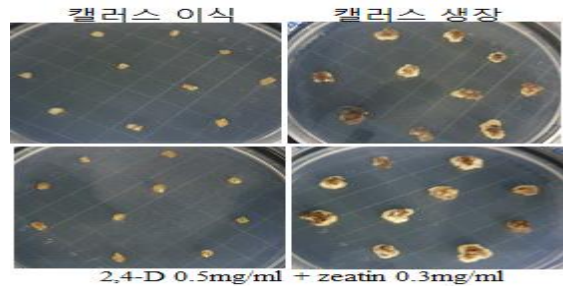


그림 18. 여뀌바늘 캘러스 이식



그림 19. 콩제비꽃 캘러스 선별

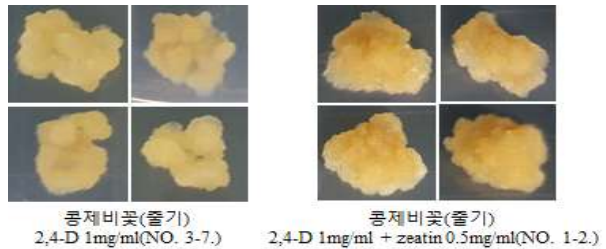


그림 20. 콩제비꽃 캘러스 계대배양

나. 캘러스 액체배양 조건 탐색

- 고체배지에서 배양한 캘러스를 이용하여 액체배양 조건을 확인
- 접종량에 따른 성장률을 확인하기 위해 250ml 삼각플라스크에 동일한 호르몬 조건의 액체배지 20ml 를 넣고 캘러스를 0.1g, 0.5g, 1.0g 으로 정량하여 배양한 후 캘러스 성장률을 확인

- 액체 배지 조성에 따른 생장률을 확인하기 위해 3가지 조건의 액체배지 20ml 에 켈러스 0.5g 씩 정량하여 배양한 후 생장률을 확인(그림 21)
- 액체배양 조건 탐색을 위한 기본적인 배지조건 및 접종률을 확인한 결과 2, 4-D 단일배지에서 보다 2, 4-D + Zeatin 의 혼합호르몬에서 생장률이 더 높게 나타났고 접종률은 1g 일 때 생장률이 높게 나타남. 차년도에는 scale-up을 통해 당해연도에 확보된 켈러스를 활용하여 액체배지 양을 증가 시키면서 액체배양 생장률을 확인할 예정임

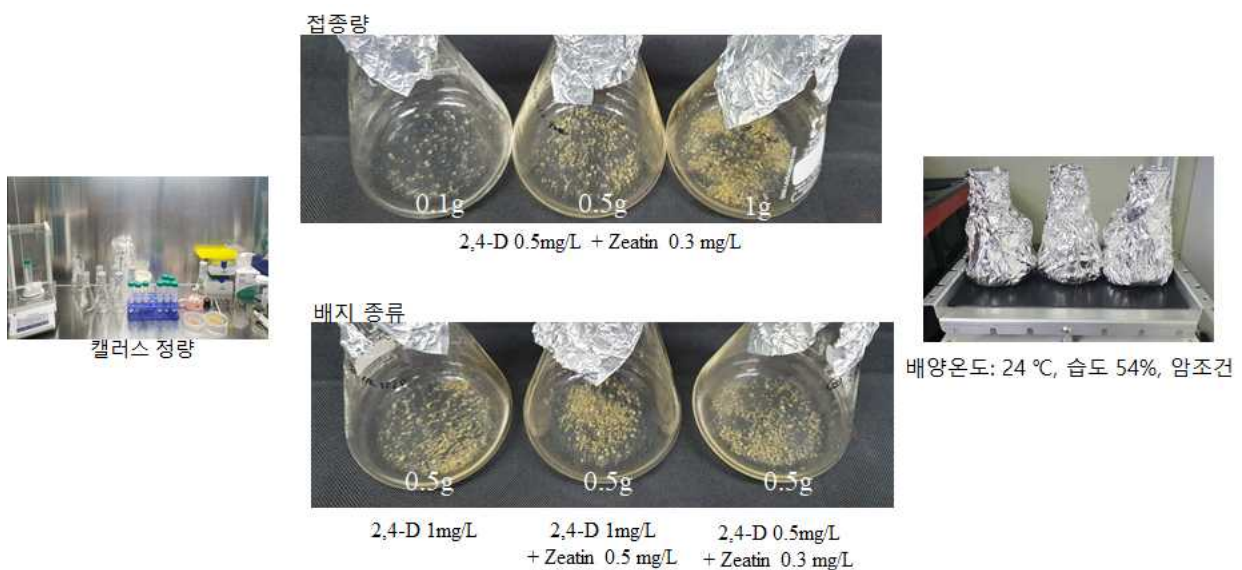


그림 21. 콩제비꽃 켈러스 액체배양 조건 탐색

4. 유용 담수식물의 생리활성 증진효과 연구기반 조성

가. 생리활성 증진효과 연구수행을 위한 문헌조사

- 차년도 추진할 연구내용 중 생리활성 증진 효과 연구수행을 위해 문헌조사를 실시함. 조직배양 후보소재 중에서 문헌을 통해 후보물질을 예측하고 물질분석이나 생리활성 연구를 수행하고자 함.
- 당해연도에는 문헌조사를 통해 기초자료를 마련하고 차년도에 켈러스 액체배양 scale-up 과정을 진행하면서 조건이 확립되면 후보물질이나 활성 연구가 가능할 것으로 예상함

나. 생리활성 증진효과 연구수행을 위한 기초연구

- 계대배양 중인 콩제비꽃 잎 유래 및 줄기 유래 캘러스를 동결건조한 후 70% 에탄올 추출 및 농축을 통해 추출물 제조(그림 22)

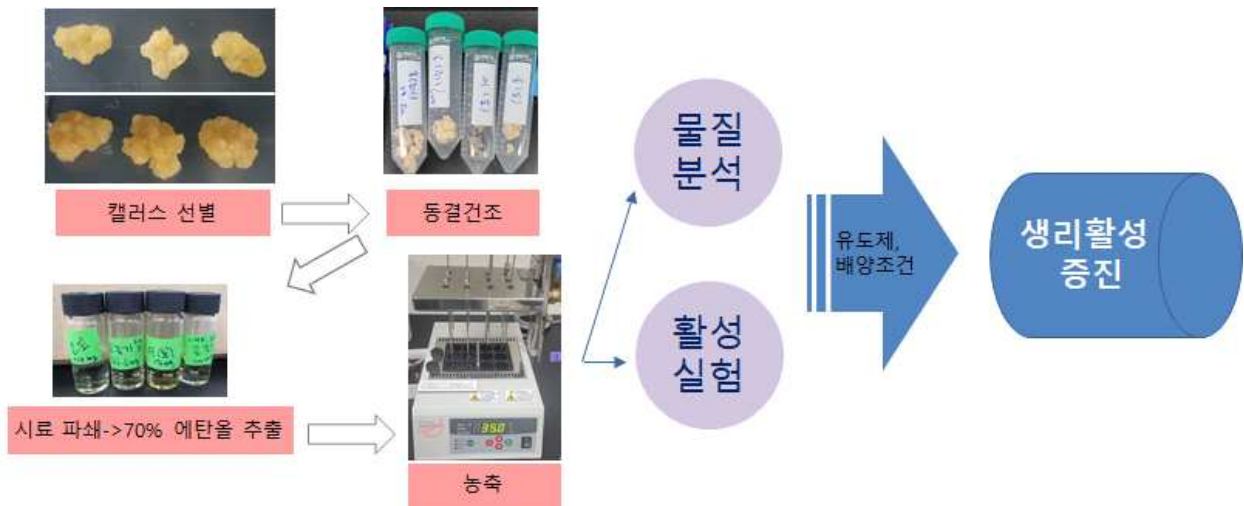


그림 22. 콩제비꽃 캘러스 추출물 제조

- 콩제비꽃 캘러스 추출물(잎, 줄기)에서 물질분석 수행(그림 23)

- 여뀌바늘 캘러스 추출물(잎)에서 2차 대사물질 분석 수행(그림 24)

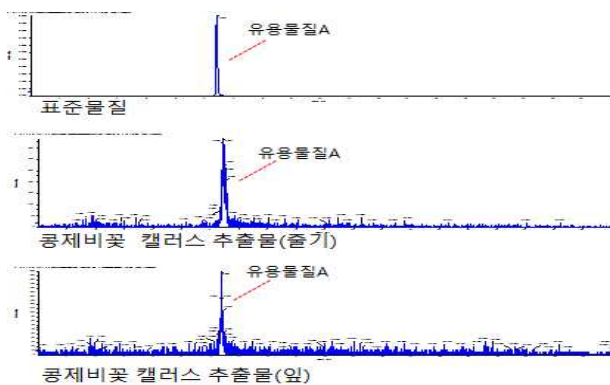


그림 23. 콩제비꽃 캘러스 추출물 물질분석

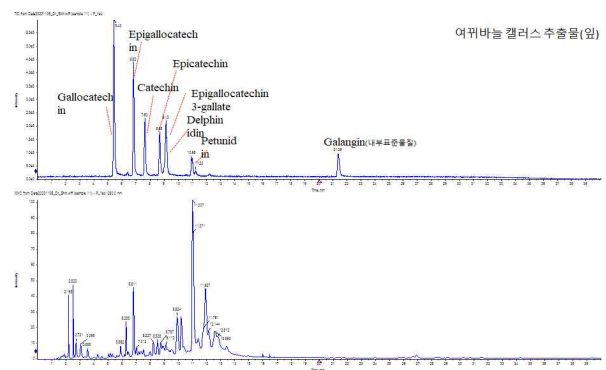


그림 24. 여뀌바늘 캘러스 추출물 대사체 분석

- 콩제비꽃 캘러스 추출물의 생리활성 연구

- 콩제비꽃 캘러스 추출물의 총 페놀함량 측정 및 DPPH, 구리 이온(Cu^{2+})의 환원력 및 철 이온(Fe^{2+})의 환원력 등 항산화 효과 실험 수행
- 콩제비꽃 잎과 줄기 캘러스 추출물에서 페놀화합물을 확인 할 수 있었으며, 항산화 효과 실험에서도 콩제비꽃 잎 유래 및 줄기 유래 캘러스 추출물에서 모두 자유라디칼 소거 활성과 구리와 철 이온 환원력을 확인하였음(그림 25-28)

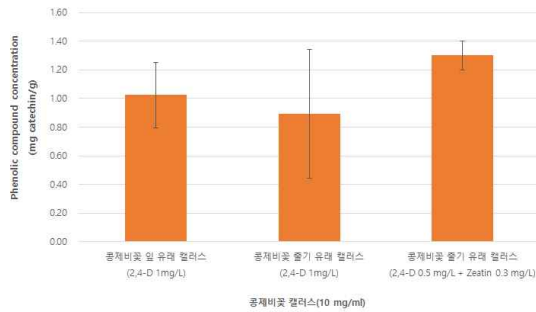


그림 25. 콩제비꽃 칼러스 추출물 총 페놀함량

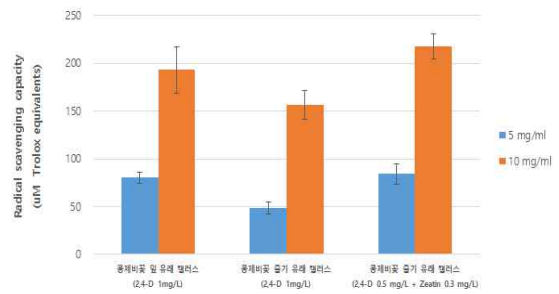


그림 26. DPPH 라디칼 소거능

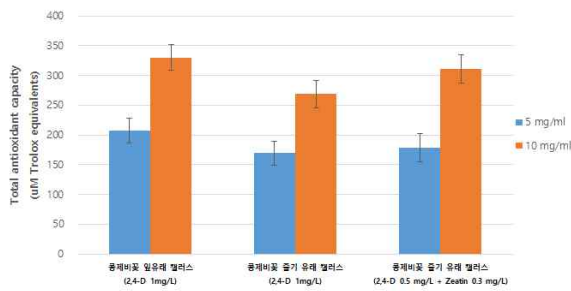


그림 27. 구리 이온(Cu²⁺)의 환원력

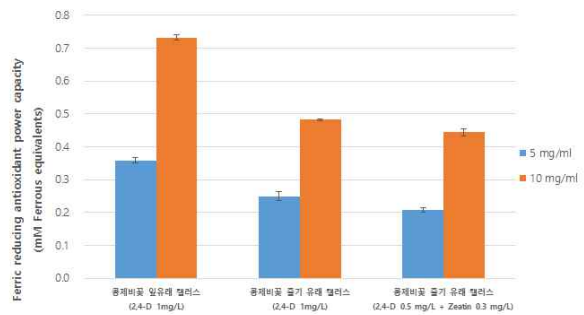


그림 28. 철 이온(Fe²⁺)의 환원력

5. 담수식물 증식 연구수행을 위한 유관기관과의 업무 협력

가. 유관기관 업무 협력

- 담수식물의 원활한 조직배양 및 타기관의 조직배양 조건 등을 참고하기 위해 유관기관 방문 및 업무협약
- 칼러스 선별의 중요성과 계대배양을 통한 지속적인 칼러스 생장유지를 위한 라인 선별 및 액체배양 조건 등에 대한 정보를 공유 및 본 연구과제에 접목하여 연구 수행(그림 29).



그림 29. 유관기관 방문 및 업무협약

IV. 결론

1. 조직배양기술 활용 유용 담수식물 증식 연구

- 본 연구과제는 유용 담수식물 소재의 안정적 확보 및 생물산업 활용 가치 증대를 위해 기관이 보유한 특허출원 소재 중 담수식물 30종에 대해 1단계(논문, 특허조사) 및 2단계(기술이전, 소재확보 용이성)을 기반으로 최종적으로 12종을 선별하였고, 종자확보 및 기술이전 등에 따라 우선순위를 선정함
- 우선적으로, 조직배양 연구를 지속적으로 수행하기 위해 배양실 내에 LED Light 조건, 암 조건 및 기기장비 점검을 통해 조직배양기술 기반을 구축하였음
- 당해연도 조직배양 후보 소재인 콩제비꽃과 여뀌바늘의 종자발아 연구를 수행하여 종자발아 조건을 확보하였으며 무병식물체(유묘)를 확보하여 조직(잎, 줄기) 절편을 식물생장조절제 종류별, 농도별로 치상한 후 캘러스를 유도함.
- 식물생장조절제의 영향을 살펴보기 위해 단일호르몬과 혼합호르몬을 처리한 결과, 콩제비꽃 및 여뀌바늘 모두 혼합호르몬에서 캘러스의 유도율 및 성장조건이 더 효과적임을 확인함
- 차년도 생리활성 증진 연구 수행을 위한 문헌조사 및 기초연구를 통해서 콩제비꽃 캘러스 추출물에서 유용물질을 확인 할 수 있었고, 여뀌바늘 캘러스 추출물에서 플라보이드계의 2차 대사산물을 다량 확인 할 수 있었음. 또한 콩제비꽃 캘러스 추출물의 총 페놀함량을 측정하고 DPPH, 구리 및 철 이온 환원력 등 실험을 통해 항산화 효과가 있는 것을 확인함

2. 연구결과 활용 방안

- 유용 담수식물 활용 조직배양기술 기반 구축으로 담수식물의 캘러스 유도 및 배양을 통해 연구성과(지식재산권 권리 및 논문 등) 지속적 확보
- 조직배양기술을 통해 유용 담수식물의 안정적인 소재 확보로 다양한 생물산업 (화장품, 식·의약분야) 활용성 증대

3. 연구성과

가. 정량적 연구성과

구분	1. 정책건의		2. 논문게재		3. 산업재산권			4. 홍보		기 타
	제정	개정	국내논문	Scopus, SCI-E 이상	출원	등록	기술 이전	보도자료	기고	
계획					2					
실적					2			1		
달성도(%)					100%			초과달성		

- 특허출원 1건 완료(콩제비꽃 껍질 추출물을 함유하는 항산화 활성을 갖는 조성물, 콩제비꽃 조직 유래의 껍질의 제조 방법 및 이의 제조 방법에 의해 제조된 콩제비꽃 껍질)
- 특허출원 1건 완료(신규 화합물을 유효성분으로 포함하는 탈모 개선 및 치료용 조성물)
- 조직배양 연구결과에 대한 보도자료 1건

V. 참고문헌

1. 환경부, 2018. 11. 제4차 국가생물다양성전략(2019~2023년)
2. 환경부, 2020a. 생물자원관의 설립 및 운영에 관한 법률 제5조 및 제7조
3. 환경부, 2020b. 생물다양성 보전 및 이용에 관한 법률
4. 환경부, 2020. 국립낙동강생물자원관. 담수생물종목록 I. 국립낙동강생물자원관
5. 환경부, 2021. 05. 제1차 생물자원관 기본계획(2021~2025년)
6. 농림식품기술기획평가원 2022.3. 조직배양을 통한 작물 대량증식 기술개발 및 시사점
7. 바이오인 2021.11. 식물세포 분화조절기술
8. 농업경제신문 2021.04. 토종 인진쑥, 세포배양 통해 대량 생산 할 수 있다
9. 과학기술정보통신부(한국생명공학연구원) 2020.10. 식물세포조직배양기술에 의한 유용물질의 생합성 원천기술 확보
10. 국립생물자원관 한반도의 생물다양성(<https://species.nibr.go.kr>)
11. 국립낙동강생물자원관. 2020. 담수생물종목록(I. 담수무척추동물, 담수어류, 담수식물)
12. 국가통계포털. 2020. 국내 바이오산업 실태 조사(<http://kosis.kr>)
13. 김선자, 문홍규. 2009. 음나무 배발생 켈러스의 증식 및 체세포배 발달을 위한 액체 현탁 배양조건 확립. J Plant Biotechnol, Vol. 36, No 1, 7-12.
14. 오상임, 박은혜, 길민, 김지은, 임연진, 김상용, & 정지영. 2021. 국내 자생의 유용식물 대량증식종 선정을 위한 관상 및 바이오소재 가치 분석. 한국원예학회 학술발표요지, 115-115.
15. 박소영. 2016. 섬단풍나무의 켈러스 유도 또는 증식용 배지 및 이를 이용한 켈러스 유도 또는 증식방법 10-2018-0064190
16. Li, L., Henry, G. E., & Seeram, N. P. (2009). Identification and bioactivities of resveratrol oligomers and flavonoids from *Carex folliculata* seeds. Journal of agricultural and food chemistry, 57(16), 7282-7287.
17. Frémont, L. (2000). Biological effects of resveratrol. Life sciences, 66(8), 663-673.
18. López-Lázaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. Mini reviews in medicinal chemistry, 9(1), 31-59.
19. Deepha, V., Praveena, R., Sivakumar, R., & Sadasivam, K. (2014). Experimental and theoretical investigations on the antioxidant activity of isoorientin from *Crotalaria globosa*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 121, 737-745.

부록1

특허출원 2건

23. 12. 6. 오후 5:29

특허로
관인생략

출원번호통지서

출원일자 2023.12.06
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(WP233183)
 출원번호 10-2023-0175914 (접수번호 1-1-2023-1369555-36)
 (DAS접근코드845D)
 출원인명칭 국립낙동강생물자원관(1-2016-007403-1)
 대리인성명 원대규(9-2012-000362-4)
 발명자성명 신수영 서민정 김태진 최지수
 발명의명칭 공제비료 펠리스 추출물을 유효성분으로 포함하는 현산화 활성을 갖는 조 성물, 공제비료
 조직 유래의 펠리스의 제조 방법 및 이와 제조 방법에 의해 제조된 공제비료 펠리스

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로
 홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
 2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 등록된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가
 까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호: 0131(가관코드) + 접수번호
 3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서)를 제출하
 여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에
 문의하여 주시기 바랍니다.
 ※ 심사제도 안내 : <https://www.kipo.go.kr> 지식재산제도

23. 9. 26. 오후 1:36

특허로
관인생략

출원번호통지서

출원일자 2023.09.26
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(WP233096)
 출원번호 10-2023-0128960 (접수번호 1-1-2023-1067526-17)
 (DAS접근코드09AA)
 출원인명칭 국립낙동강생물자원관(1-2016-007403-1)
 대리인성명 원대규(9-2012-000362-4)
 발명자성명 신수영 서민정 민은정 김상철 황병수
 발명의명칭 신규 화합물을 유효 성분으로 포함하는 탈모 개선 및 치료용 조성물

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로
 홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
 2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 등록된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가
 까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호: 0131(가관코드) + 접수번호
 3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서)를 제출하
 여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에
 문의하여 주시기 바랍니다.
 ※ 심사제도 안내 : <https://www.kipo.go.kr> 지식재산제도

부록2

조직배양 후보소재 유용물질 문헌조사

○ 조직배양 후보소재의 후보 유용물질 조사

- 후보 유용물질 조사를 통해 물질분석 확인 및 생리활성 실험 등 연구수행을 위한 기초자료로 활용

※ 천연물은 다양한 환경조건에 따라 대사물질이나 생리활성에 영향을 미치는 특성이 있어 조직배양 후보소재에 물질이 검출되지 않을 수도 있고 활성이 없는 경우도 있을 수 있음

<p>여뀌바늘</p> <p>-> 여뀌바늘 포함, 유사종인 마디풀, 여뀌, 등의 물질조사</p>	1. Myricetin 3-O- α -L-rhamnopyranoside
	2. Quercitrin
	3. Artecamin
	4. Cinnamic acid methyl ester
	5. Confertifolin
	6. Ellagic acid
	7. Gallotannin
	8. Isoquercitrin
<p>콩제비꽃</p> <p>-> 콩제비꽃이 포함된 비 올라 속을 대상으로 물질 조사</p>	1. Quercitrin
	2. Apigenin 6,8-di-C-b-d-gluco-pyranoside
	3. Kaempferol 3,7-di-O-a-l-rhamnopyranoside
	4. triterpenoid saponins
	5. Aesculetin
	6. 4',5,7-Trihydroxyflavonol3-O-robinoside
	7. Isoorientin
<p>삿갓사초</p> <p>-> 삿갓사초가 포함된 사 초과를 대상으로 물질 조사</p>	1. Iuteolin
	2. Isoorientin
	3. Miyabenol A
	4. Miyabenol C
	5. Resveratrol

○ 물질 기반 생리활성 문헌조사

luteolin	당근, 올리브오일, 페퍼민트 등에서 알려져 있으며, 인간 대장(HCT116, HT29) 및 유방(MCF7, MDA-MB-231) 종양 세포주에 대한 세포독성 활성 및 methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)에 대한 항균활성 및 항산화 활성보유, 항염증, 혈관신생을 억제하고 apoptosis 유도, 종양세포에 대한 종양세포를 민감하게 반응하여 암예방 및 화학요법에 효과, 항알러지 효과가 보고됨
Isoorientin	항산화 활성, 항통증, 항염증, 위 보호활성(ETOH 유도 궤양에는 미활성), 혈관장벽 보호 효과, 항혈전 효과, 혈당감소 및 산화적 스트레스 감소에 따른 항당뇨 효과, HepG2 세포의 세포사멸 유도 효과가 보고됨
Quercetin	항산화 효과, 항균 효과, 항바이러스 효과, 항염증 효과, 항돌연변이 효과, 미백(tyrosinase inhibitor)효과가 보고됨
triterpenoid saponins	항산화 효과, 항암효과가 보고됨
Aesculetin	항염증효과, 항균 효과, 항암(세포침윤억제)효과, 항산화 효과가 보고됨
Miyabenol A	LPS 유도 RAW 264.7에 대한 항염증 효과가 보고됨
Miyabenol C	myeloid and lymphoid cell의 증식억제에 따른 항종양효과가 보고됨
Resveratrol	myeloid and lymphoid cell의 증식억제에 따른 항종양효과, 항산화 효과, 지질대사 억제조절 및 혈소판 응집효과, 항종양, 항바이러스, 식물성 에스트로젠 작용, 뇌의 microglia 세포에서 항염증 효과, <i>Escherichia coli</i> 에 대한 항균효과 보고됨

생리활성 증진 유도제

조직배양에서 배양체에 다양한 elicitor 처리에 의해서 이차대사산물의 생성을 촉진시켜 활성증진이나 유용물질 함량 증대 연구를 수행하는데 이용

1. methyl jasmonate (MeJA)

지질에 존재하는 리놀렌산으로부터 유래하는 식물 신호전달분자로 곤충, 균류, 병원체에 대한 식물방어를 활성화시키는 물질이며, 세포배양에서 이차대사산물 합성을 촉진시키는 성장조절물질로 보고(식물이 상처받았을 때 세포내 2차 신호전달 물질로 작용)

2. Jasmonic acid (JA)

식물이 상처받았을 때 세포내 2차 신호전달 물질로 작용, 식물호르몬으로 불림

3. 기타

시트르산, β -glucan, glycoprotein, chitin, chitosan 등

캘러스 유래 생리활성 증진 실험방법 조사

1. 생물반응기 내 액체배양을 통해 캘러스를 배양하고 methyl jasmonate (MeJA)와 같은 여러 종류의 유도제를 농도별로 포함한 배지에 재접종하여 암조건으로 배양한 캘러스를 이용
2. 액체배양을 통해 확보한 캘러스를 재접종하여 캘러스를 배양하는 동안 고주파와 같은 물리적 처리를 통해 이차대사산물 생성을 촉진하여 배양한 캘러스를 이용
3. 빛의 세기 조절, UV-B 조사 및 온도 조절과 같은 물리적 처리를 통해 이차대사산물 생성을 촉진하는 방법으로 배양한 캘러스를 이용

주 의

1. 이 보고서는 국립낙동강생물자원관에서 시행한 연구과제 결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 국립낙동강생물자원관에서 시행한 연구과제의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.
4. 이 보고서와 관련된 문의사항은 국립낙동강생물자원관 식물연구팀(전화 054-530-0823)으로 문의하시면 됩니다.