

D8 生物反應器에서 地黃(*Rehmannia glutinosa* Lib.)의 新梢 생산에 關여하는 要因

서울대학교 : 고은정*, 송문성, 박윤진, 옥현충, 박주현, 채영암

Factors Affecting Shoot Production in Bioreactor Culture of *Rehmannia glutinosa* Lib.

Seoul Nat'l Univ. : Koh, EJ, Song MS, Park YJ, Ok HC, Park JH and
Chae YA

실험목적

생물반응기를 이용한 대규모 배양의 지황 종묘 생산에 대한 적용 가능성을 검토하고자, 신초 형성에 관여하는 요인으로 적정 생물반응기의 형과 배양밀도, 생물반응기 내 용존 산소와 aeration 및 유리화 억제제의 효과 등을 조사, 분석하였다.

재료 및 방법

- 생물반응기 배양용 재료 : BA 2mg/l와 NAA 0.5mg/l가 첨가된 MS 기본배지 (0.8% 한천, 3% 자당)를 이용하여 온도 $25\pm 2^\circ\text{C}$, 일장 16시간에서 부정아 유도.
- 생물반응기 형과 배양밀도 : 유도된 부정아 30g과 50g을 배지 1.2 L가 채워진 2.5L 용량의 교반형 생물반응기와 空氣浮揚型 생물반응기에 접종하여 배양.
- 배지 내 溶存酸素量의 영향 : 배양 전 용존산소를 100%로 포화시킨 교반형 생물반응기에 DO meter를 부착하여 배양 중 용존산소 측정.
- 배지 내 pH가 신초형성에 미치는 영향 : 멸균 전 pH를 5.7로 조정한 배지와 MES [2-(N-Morpholino) ethane sulfonic acid]를 첨가하여 pH를 5.7로 조정한 후 멸균한 배지에서 배양.
- 적정 aeration의 양 결정 : aeration 양을 각각 1.0, 0.5 vvm으로 조정 후 배양
- 신초의 유리화(vitrification) 억제 : 琉璃化 억제제인 anti-vitrifying agent (Sigma, Cat. No. A0807)를 각각 3~7 g/l의 농도로 처리.

결과 및 고찰

- 공기부양형(air-lift type) 생물반응기가 교반형(stirrer type) 생물반응기에 비해 신초 형성에 유리하였다.
- 2.5L 규모의 생물반응기에서 적절한 배양 밀도는 배지 1.5L에 시료 50g(줄기절편 90개)이었고, 공기의 주입량은 0.5 v.v.m으로 조절하는 것이 효과적이었다.
- 신초의 생산 효율을 높이기 위해 배지에 pH buffer 역할을 하는 MES를 첨가한 결과, 생성된 신초의 수가 증가하였다.
- 유리화 억제제를 5g/l의 농도로 배지에 첨가하였을 경우 신초의 유리화 현상이 뚜렷하게 억제됨과 동시에 신초의 형성도 증가되었다.

Table 1. Effect of culture density on shoot formation in bioreactor culture of *R. glutinosa* after 4 weeks

Inoculum volume (g)	Number of shoots	
	Stirrer type	Air-lift type
30	235	418
50	< 50	572

Table 2. Effects of MES and aeration rate on shoot formation in bioreactor culture of *R. glutinosa* after 3 weeks

Treatment	Total number of shoots harvested	Multiplication rate (%)
A†	321	356
B	245	270
C	460	510
D	298	330

†; A: without MES and aeration of 0.5 vvm, B: without MES and aeration of 1.0 vvm
 C: with MES and aeration of 0.5 vvm, D: with MES and aeration of 1.0 vvm

Table 3. Effect of antivitrifying agent on shoot formation in *R. glutinosa* after 4 weeks culture

Conc. (g/l)	No. of shoots / flask (Mean ± S.E.)	Fresh weight(g) (Mean ± S.E.)
Control	22.0 ± 2.4	10.32 ± 0.44
3	8.0 ± 1.6	1.05 ± 0.18
4	9.0 ± 2.5	1.20 ± 0.14
5	39.3 ± 1.7	5.45 ± 0.33
6	31.3 ± 7.2	3.28 ± 0.61
7	31.8 ± 4.9	3.30 ± 0.54

Control : MS medium supplemented with BA 2.0 mg/l and NAA 0.5 mg/l

S.E. : standard error