

## Aloe 세포 배양계에서 CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> gas가 세포 성장 및 다당체 생산에 미치는 영향

박태영, 조규현, 허원\*, 김동일\*\*

강원대학교 화학공학과, 강원대학교 환경생물공학부\*, 인하대학교 화공고분자생물공학부\*\*  
전화 (0361) 250-6335, FAX (0361) 251-6335, E-mail : ghcho@cc.kangwon.ac.kr

### Abstract

We developed a on-line gas control system for three gas components and investigated the effect of oxygen, carbon dioxide, and ethylene on polysaccharide production and cell growth in the suspension cultures of *Aloe saponaria*. Carbon dioxide(5% v/v) enhanced significantly polysaccharide production while the cell growth was not affected.

### 서론

일반적으로 O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 등의 gas 성분들은 식물세포 현탁배양에서 세포의 성장 및 2차 대사산물의 생산에 많은 영향을 끼치는 것으로 보고되어 졌다.

산소는 생명체 호흡의 기본성분일 뿐만 아니라 탄소화합물의 호기적 대사에서 최종 전자 수용체로서 작용한다. 또한 세포의 분화에도 매우 큰 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다[1]. 이산화탄소는 식물세포의 배양에 있어 세포의 성장과 밀접한 관계를 갖고 있다. Maurel 등 [2]은 배양기의 이산화탄소 농도를 증가시켰을 때, 세포의 생장이 증가되었다고 보고하였으며, Nesius 등 [1]은 이산화탄소가 감소하였을 때 장미 현탁 세포의 생장이 저해되었다고 보고하였다. Ethylene은 식물세포가 매우 소량으로 생산하는 휘발성 성분의 하나로 과일숙성에 관여하는 유용물질의 생산 촉진을 하며, coffee 세포의 caffeine 생산성 증대에 매우 중요

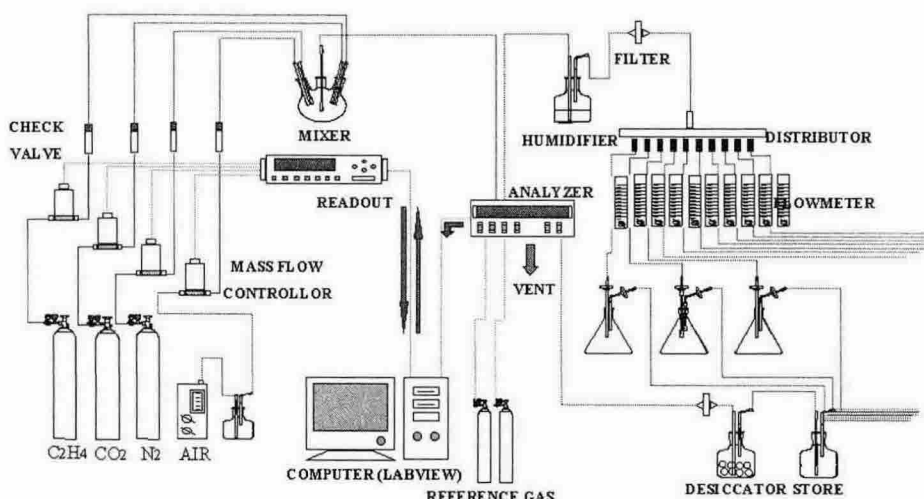


Figure 1. Schematic diagram of the gas control apparatus

한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[3].

그러나, 기존의 연구들은 단일 gas 성분에 대한 연구결과로써, 복합 gas가 식물세포 배양에 미치는 영향에 대해서는 보고된 사례가 없다. 따라서, 본 연구진은 복합 gas가 식물세포 배양에 미치는 영향에 대해 조사하고자 하였으며, 본 논문은 이러한 연구의 초기 단계로 gas 조성을 자동 제어할 수 있는 시스템의 개발 및 각 단일 gas 성분이 식물세포 배양에 미치는 영향에 대해 조사하였다.

## 재료 및 방법

실험에 사용된 세포주로는 *Aloe saponaria*를 현탁 배양으로 유도한 세포를 사용하였으며 배양 조건은 M&S 기본 배지에 glucose 3%(w/v), pH 5.6, NAA 30  $\mu$ M, BA 10  $\mu$ M을 첨가하여 25°C dark room에서 계대 배양하였다. 실험시 gas 조성당 10개씩의 플라스크를 접종하였으며 2일마다 한번씩 sampling을 하여 20일동안 배양하였다. 접종은 배지 20 mL당 FCW 2.5 g을 접종하였다. Sampling은 100ml 플라스크 전체를 사용하였고 성장속도, glucose 소비속도, 2차대사물질 생산량, ethylene 활성량, polysaccharide 생산량등을 분석하였다. Gas 공급조절은 Kofloc사의 MFC를 사용하였고 산소와 이산화탄소 분석은 GC와 Lokas사의 gas 분석기를 사용하였으며 ethylene은 GC을 이용하여 분석하였다. 2차대사물질은 HPLC를 사용하여 정량분석을 하였고 polysaccharide의 양은 에탄올 침전법을 사용하였다. Gas공급량과 플라스크의 head space의 gas량은 computer를 이용하여 on-line조절을 하여 자동화 system을 구축하도록 하였다. Figure 1은 gas 제어 시스템을 개략도로 나타낸 것이다.

## 결과 및 고찰

Fig. 2는 CO<sub>2</sub>의 주입이 세포의 생장에 미치는 영향을 조사한 것이다. 그림에서 보는 바와 같이 CO<sub>2</sub>의 주입은 세포의 생장에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었다. Fig 3은 CO<sub>2</sub>의 주입이 2차 대사물질의 생산에 미치는 영향을 CO<sub>2</sub>의 조사한 것으로, 5% CO<sub>2</sub>가 첨가되었을 때, 세포의 exponential phase에서 2차 대사물질이 급증하였음을 알 수 있다. CO<sub>2</sub>의 주입은 polysaccharide의 생산에 있어서도 CO<sub>2</sub>가 주입되지 않은 경우와 비교하여 1.8배 생산성을 증가시켰으며(Fig. 4). 이러한 polysaccharide의 생산성 증대는 CO<sub>2</sub> 주입시 발생하는 ethylene의 생성과 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다(Fig. 5). O<sub>2</sub>만 주입하였거나 gas를 주입하지 않은 플라스크에서는 ethylene이 검출되지 않았다.

## 요약

본 연구에서는, gas 성분의 조성을 on-line으로 자동제어할 수 있는 시스템을 확립하고, 이를 이용하여 각 성분들이 식물세포에 미치는 영향에 대해 조사하였다. 실험결과, CO<sub>2</sub>가 첨가되었을 때, 세포의 생장에는 큰 차이를 볼 수 없었으나, 2차 대사물 및 polysaccharide의 생산성을 증대시켰다. 특히, polysaccharide의 경우, CO<sub>2</sub>가 첨가되었을 때 1.8배의 생산성 증대를 나타내었다.

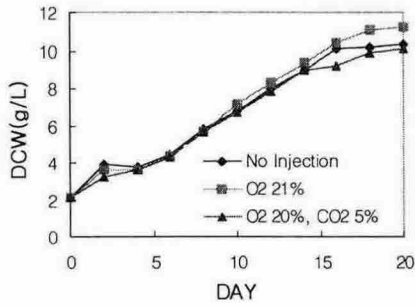


Figure 2. Growth rates when cultures were equilibrated with various head space gas compositions.

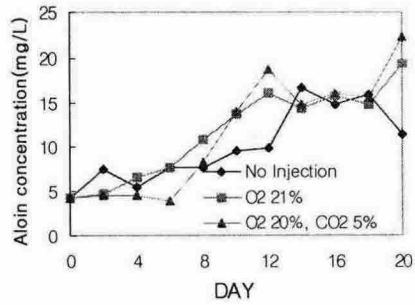


Figure 3. Effect of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> in head space of the cultures equilibrated with gases on aloin production.

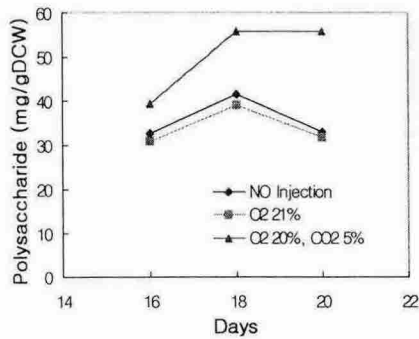


Figure 4. Polysaccharide productions when cultures were equilibrated with various head space gas compositions.

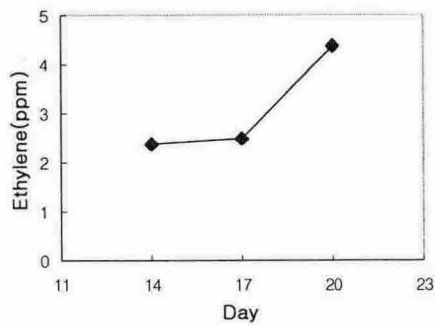


Figure 5. Ethylene evolution when cultures were equilibrated with 5% CO<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub>

## 감사

본 연구는 한국산업기술평가원 산업기반기술개발사업(0399004-1-1)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Payne. G.F, Bringi. V, Prince. C, Shuler, M.L., "Plant cell and tissue culture in liquid systems"(1991), *Oxford university press*, New york
2. B. Maurel, A. Pareilleux, "Effect of carbon dioxide on the growth of cell suspensions of catharanthus roseus"(1985), *Biotechnology Letters*, 7, 313-318
3. Chi. G.L, Pua. E.C, "Ethylene inhibitors enhanced de novo shoot regeneration from cotyledon explants of Brassica campestris spp. chinensis"(1989), *In vitro plant sci*, 64, 243-250