

회수나무의 캘러스로부터 현탁배양에 의한 체세포배발생과 재분화 유도

전남대학교 생물학과 : 배대호, 황백*Somatic Embryogenesis and Regeneration Induction through Suspension Culture from Callus of *Camptotheca acuminata* Decaisne

Department of Biology, Chonnam National University

Dae-Ho Bae and Baik Hwang*실험목적 (Objectives)

회수나무(*Camptotheca acuminata* Decaisne)는 중국에서 자생하는 낙엽고목이며 난소암, 위암, 폐암 등 항암력이 매우 우수한 것으로 알려져 있다. 특히 이 나무의 이차대사산물인 camptothecin(CPT)은 다른 항생제 작용과 달리 DNA topoisomerase I의 작용을 방해하는 강력한 억제제로 밝혀졌고 이를 이용한 보다 안정적인 CPT유도체를 합성하기 위한 많은 연구가 진행되고 있다. CPT계열의 대표적 항암제로는 난소암과 폐암 치료제인 Topotecan과 대장암에 효과가 있는 Irinotecan 등이 있다. 앞으로 암발생률이 증가하는 현상을 볼 때, 중국에서 한정적으로 자생하는 회수나무의 수요는 계속 늘어날 것으로 전망되며, 세계시장에 발맞추어 나아가려면 국내에서의 회수나무 연구는 필수적이라고 생각된다. 따라서 본 연구는 기내에서 캘러스로부터 식물생장조절제를 함유한 현탁배양을 통한 회수나무의 다량번식체계 확립을 목적으로 연구를 수행하였다.

재료 및 방법 (Materials and Methods)

○ 재료

전남산림환경연구소에서 분양 받은 회수나무의 종자를 기내에서 발아시켜 3주 동안 배양한 후 자엽, 배축, 뿌리로 나누어 캘러스 유도 절편체로 사용하였고 유도된 캘러스를 본 실험에 재료로 사용하였다.

○ 방법

종자의 표면살균은 70% EtOH 2분, 0.3% NaOCl 용액에서 8분 처리한 다음 멸균수로 3-4회 세척하였고 멸균된 MS기본배지(3% sucrose, 0.3% phytagel, pH 5.7)에서 발아 시켰다. 발아 3주 후 캘러스를 유도하기 위해 식물체를 자엽, 배축, 뿌리 별로 나누고 MS기본배지에 옥신류(IAA, NAA, 2,4-D)를 농도별(0.2, 1.0, 3.0, 10.0 mg/L)로 단독 처리하여 25 ± 1°C에서 4주 동안 암배양 후 관여하는 식물생장호르몬을 조사하였다. 또한 캘러스 유도 최적배지를 알아보기 위해 0.2 mg/L 2,4-D을 포함한 SH, B5, WPM, MS배지에서 배양하였다. 유도된 캘러스는 5 × 5 mm 정도 크기로 자른 후 현탁배양에서 체세포배발생 및 식물체 재분화를 관찰하기 위해 phytagel이 포함되지 않은 WPM 액체배지에 시토키닌류(BA, Kinetin, Zeatin)를 농도별(0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L)로 단독 처리하여 25 ± 1°C 상태에서 광 50 μmol m⁻²s⁻¹, 광주기 16/8로 6주간 명배양 후 결과를 확인하였다.

주저자 연락처(Corresponding author): 황백 E-mail: bhwang@chommam.ac.kr. Tel: 062-530-3392

실험결과 (Results)

기내에서 3주간 발아된 식물체로부터 캘러스 유도를 위해 식물 부위별, 옥신류별, 농도 별로 처리한 결과 식물부위별 절편체에서는 배축에서 캘러스가 가장 잘 형성되었으며 다음으로 자엽에서 캘러스가 잘 형성되는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 뿌리에서는 거의 캘러스가 유도되지 않았다. 캘러스 유도는 0.2 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L NAA에서 캘러스가 잘 형성되었으나 비교적 높은 농도의 1.0 mg/L 2,4-D와 비교적 낮은 농도인 0.2 mg/L NAA 그리고 IAA가 첨가된 배지에서는 캘러스가 유도 되지 않고 갈변화 되었다. 캘러스 배지는 0.2 mg/L 2,4-D를 포함한 WPM에서 가장 좋았고 다음으로 MS, B5 그리고 SH 배지 순으로 캘러스 성장을 보였다(Fig. A). 유도된 캘러스를 일정크기로 잘라 시토키닌류 호르몬이 첨가된 액체배지에서 배양한 결과 BA가 함유된 WPM 액체배지(Fig. B)에서 다른 배지에 비하여 형태적 변화가 잘 일어났으며, 구형의 체세포배발생이 일어났다(Fig. C). 그 중 비교적 낮은 농도의 0.5 mg/L BA에서는 이러한 형태적 변화(Fig. D)가 다른 농도에 비해 활발하였고 배양 4주 후 붉은색을 띤 잎으로의 재분화를 관찰하였다(Fig. E, F).

* 시험성적

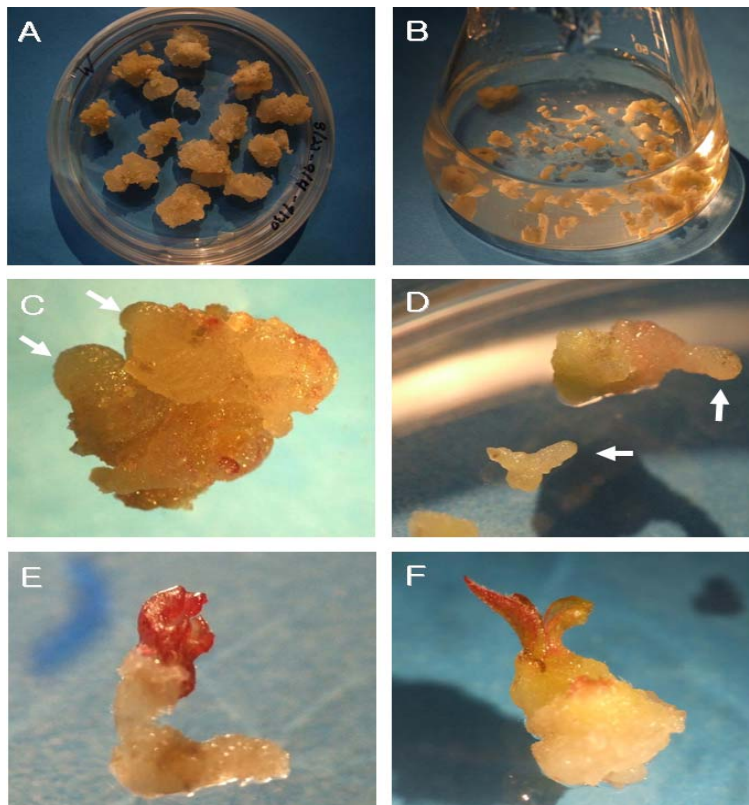


Figure. A : Callus formed from hypocotyl segments on WPM solid medium containing 0.2 mg/L 2,4-D after 4 weeks. B : Somatic embryogenesis on WPM liquid medium containing 0.5 mg/L BA. C : Somatic embryo in suspension culture. D : Germinated somatic embryo. E : Shoot regeneration from somatic embryo after 4 weeks. F : Shoot regeneration from somatic embryo after 6 weeks.