

대사유도물질 처리에 의한 콩나물의 아이소플라본 생합성 양상 변화유도

건국대학교: 이지현, 김소연, 정우석\*

Manipulating isoflavone levels in bean sprouts by chemical elicitor treatment

\*Konkuk University: Ji-Hyun Lee, So-Yeon Kim, Woosuk Jung\*

실험목적

콩나물에 세 가지 스트레스관련 화합물을 처리를 통해 2차대사를 조절하여 콩의 기능성물질인 isoflavone의 함량변화를 유도하고 이에 관계되는 phenylpropanoid pathway 관련 유전자의 발현양상을 규명함

실험방법

1. 종자소독 및 발아조건
  - 종자소독: 99.5% EtOH (1min), 락스 원액 (5min)
  - 발아조건: 1% Bacto agar plate, 암조건, 25°C(습도 60%)에서 8일간
2. 2차 대사 유도 및 시료 채취
  - 처리 용액: 10mM salicylic acid, 0.5% methyl jasmonic acid, 12mM acetic salicylic acid
  - 처리 방법: 10초간 침지 후 암 상태, 25°C에서 16시간 처리
3. 분석시료의 조제 및 HPLC를 이용한 isoflavone 정량분석
  - 0.01g당 500µl의 0.1% acetic acid가 첨가된 80% 메탄올용액에 의한 추출
  - C18 reverse phase column 사용
4. Northern Blot
  - RNA isolation: Trizol method
  - DIG high prime DNA labeling and detection starter kit II

실험결과

- 소명콩을 발아시켜 세 가지 스트레스관련 화합물을 처리한 결과 전체 Isoflavone 생성량(Fig.1) 무처리구와 비교하여 10mM salicylic acid 처리구와 12mM acetic salicylic acid 처리구에서는 각각 132.8%와 125.1% 증가한 반면 50% methyl jasmonic acid 처리구에서는 33.9%가량 감소하였다.
- 콩나물에 세 가지 스트레스관련 화합물을 처리한 결과 Isoflavone의 12개의 이성질체를 살펴보면 daidzein, glycitein, genistein계열 모두에서 SA와 ASA 처리구에서는 NT 처리구보다 증가하였고, MeJA 처리구에서는 NT 처리구보다도 감소하였다.
- Daidzein으로부터 glyceollins의 합성과 관계된 유전자 IFR (Isoflavone reductase)의 northern blot결과 NT 처리구와 MeJA 처리구에서는 발현이 관찰되지 않은 반면 SA처리구에서는 진하게, ASA 처리구에서는 그 보다 흐리게 발현이 관찰되었다.

\* Corresponding author:(Phone) +82-2-450-3729 (E-mail) jungw@konkuk.ac.kr

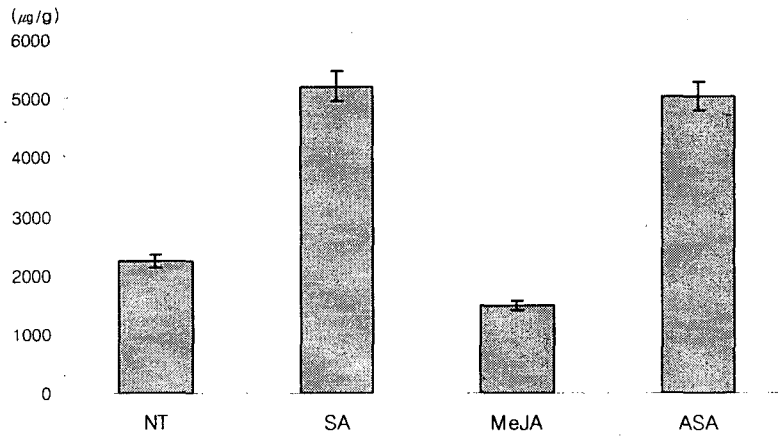


Figure 1. Comparison of total isoflavones in bean sprouts with 4 treatments (NT; nontreatment, SA; 10mM salicylic acid, MeJA; 0.5% methyl jasmonic acid in 50% ethanol, ASA; 12mM acetyl salicylic acid), vertical bars represent to standard error.

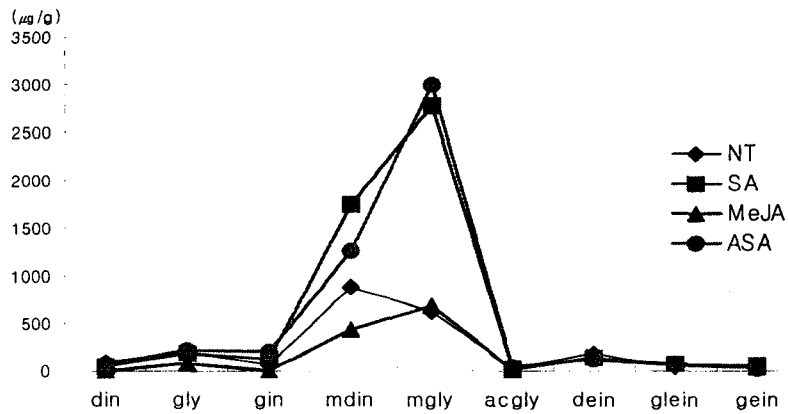


Figure 2. Composition of 12 individual isoflavones in bean sprouts with 4 treatments (Din; daidzine, Mdin; malonyldaidzine, Adin; acetyldaidzin, Dein; daidzein, Gly; glycitin, Mgly; malonylglycitin, Agly; acetylglycitin, Glein; glycitein, Gin; genisitin, Mgin; malonylgenisitin, Agin; acetylgenisitin, Gein; genistein).

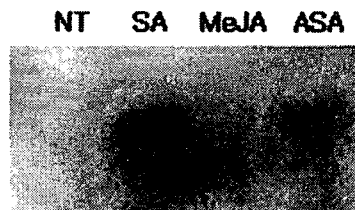


Figure 2. Northern analysis of IFR gene in bean sprouts with 4 treatments.