

최 종
연구보고서

α -glucosidase inhibitor 고함유 신기능성 고추 품종
육성에 관한 연구

Research on breeding of new functional pepper variety with
high AGI (α -glucosidase inhibitor)

연구기관

제일종묘농산(강원대학교, 원예연구소)

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “ α -glucosidase inhibitor 고함유 신기능성 고추 품종 육성에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2008 년 4 월 일

주관연구기관명 : 제일종묘농산(주)

총괄연구책임자 : 박동복

세부연구책임자 : 박동복

연 구 원 : 정성훈, 문미정, 박지성,

협동연구기관명 : 원예연구소

협동연구책임자 : 조명철

연 구 원 : 배도함, 채영, 김대현, 이우문

양은영, 정해봉, 채수영

협동연구기관명 : 강원대학교

협동연구책임자 : 이해익

연 구 원 : 김상무, 김임하, 최민지, 김진선

유재형, 유왕균, 김장원, 김희웅

요 약 문

I. 제 목

1. 과제명 : α -glucosidase inhibitor 고함유 신기능성 고추 품종의 육성에 관한 연구
- 가. 세부과제명 : 혈당강하 기능성 고추의 돌연변이 육성 및 품종화
- 나. 협동과제명
 - 1) 고추로부터 AGI의 개발
 - 2) 혈당강하 기능성 고추의 계통육성 및 유전분석

II. 연구개발의 목적 및 필요성

고추는 우리나라 채소작물 중에서 가장 중요한 작물로 생산액 및 소비량이 세계 최상위이다. 하지만 최근 중국으로부터 많은 량의 고추가 수입되고 있고, 수입 물량의 급속한 증가가 국내 고추 산업에 심각한 문제가 되고 있다. 이러한 여건에서 국내 고추 산업의 국제 경쟁력 확보 및 국내 고추 산업의 안정화를 위한 새로운 기능성 품종의 개발 및 보급은 국내 고추 산업의 안정화에 매우 중요하다 하겠다.

당뇨병은 고혈당을 특징으로 하는 만성적인 병으로, 나이가 들어가면서 비만과 함께 오는 중요한 병이다(Yoo 등, 2002; Abrams 등, 1982). 1970년대 우리나라의 당뇨병 발병률은 약 1% 미만으로 추정되었으나 2003년에는 10% 이상으로 늘어났다. 당뇨병 치료를 위한 저비용의 약제와 건강보조제의 개발이 당뇨병 발생 증가와 함께 중요성이 증가되고 있다. α -glucosidase는 가장 중요한 탄수화물 분해 효소로 탄수화물의 소화과정의 마지막 단계에서 glucose 연결고리의 분해를 촉진한다. α -glucosidase inhibitor(AGI)는 식후 혈당과다를 억제하기 위한 소화 탄수화물의 이용을 지연시킬 수 있다(Mueller 등, 1987; Nelson 등 2000; Oki 등, 1999).

따라서 당뇨병은 높은 발병률과 함께 심각한 급만성 합병증을 유발함으로써 많은 관심의 대상이 되고 있다. 당뇨병과 그와 관련된 질병의 치료에 지불되는 비용은 날로 증가하고 있으므로 당뇨병과 관련된 치료제 내지는 치료 보조제의 개발 뿐 아니라 적절한 형태의 건강 보조 식품의 개발은 시급한 실정이다.

α -glucosidase 저해물질은 십이지장을 비롯한 공장 상부에서 탄수화물의 소화 흡수율을 저하시켜 혈당치의 상승을 억제할 수 있으므로 당뇨병, 비만증, 과당증 등 성인병의 예방과 치료 목적으로 이용 될 수 있다. 실제로 위와 같은 목적으로 본 연구진은 약 1,400여종의 국내 자생 식물 70% 에탄올 추출액을 대상으로 α -glucosidase inhibitor(AGI)를 탐색한

결과 고추에 효소활성 저해제가 분포하고 있음을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 이미 탐색된 고추 기원 AGI의 순수 분리를 통하여 물리, 화학, 생화학적 성질 및 동물 실험을 통하여 체내에서의 효과 등을 규명하여 의약품 선도 물질로의 개발 가능성을 타진하고, 또한 이를 근거로 십이지장을 비롯한 공장 상부에서 탄수화물의 소화 흡수율을 저하시켜 혈당강하 능력이 강화된 고추 품종의 육성을 목적으로 고활성 계통의 선발, 돌연변이 처리, 교배 등을 통하여 신기능성 고추 품종의 육성을 하고자 한다. 육성된 신기능성 고추 품종은 추출을 통한 농축 가공 원료가 아닌 채소로서 그대로 섭취하여 혈당강하를 이룰 수 있는 생식용 고활성 고추 품종 육성 및 연중 공급할 수 있는 가공 식품 개발을 목표로 한다.

기존의 의약품이나 건강 보조식품은 유효성분의 유기합성 또는 추출 및 농축을 통하여 생산되므로 많은 생산비용이 수반된다. 그러나 고추의 경우 별다른 가공 없이 생식으로 사용하므로 비교적 저렴하게 원하는 목적을 이룰 수 있는 장점이 있다. 고추의 새로운 수요를 창출함으로써 고추 소비의 극대화 및 재배 농가의 수익 향상을 기대할 수 있다. 또한 신기능성을 갖는 품종으로 육성함으로써 수입 저가 농산물과의 경쟁력이 증가되고 최종적으로 농민의 소득증대와 연계될 수 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 우리나라 고추의 소비 촉진 및 국제 경쟁력 향상을 목표로 기능성이 추가된 새로운 형태의 고추 품종을 육성하고 이를 상업화 하는데 목적을 두고 있다.

1. 혈당강하 기능성 고추의 돌연변이 육성 및 품종화

기능성 고추 품종육성을 위한 유전자원을 대상으로 α -glucosidase inhibitor(AGI) 활성 평가, 고활성 계통 선발, 선발된 자원의 품종화를 목표로 한다. 또한 돌연변이체 처리를 통한 고활성 α -glucosidase inhibitor(AGI) 고추 계통 선발 가능성 및 돌연육종 기술을 확립하여 고추 기능성 품종육성 가능성을 검토하고자 한다.

2. 고추의 AGI 개발

고추에 있는 α -glucosidase inhibitor(AGI)의 특성을 구명함으로써 고추 섭취를 통한 건강증진에 기여하고, 국내 고추의 우수성을 홍보하고자 고추로부터 AGI의 분리 및 정제, AGI의 구조결정 및 이화학적 특성 구명, AGI의 저해기작 및 특성 규명, 쥐에서 AGI의 혈당강하 효과 검정 및 고활성 품종의 항 당뇨 효과를 검정하고자 한다.

3. 혈당강하 기능성 고추 계통육성 및 유전분석

혈당강하 기능성 성분이 높은 고추 품종육성을 위한 기초 연구로 보유하고 있는 유전자원을 대상으로 α -glucosidase inhibitor(AGI) 활성을 평가하여 활성이 높은 자원의 선발, 고정 및 품종등록을 하고자 한다. 또한 선발된 계통들의 α -glucosidase inhibitor(AGI) 성분의 유전양식을 구명하여 기능성 품종육성의 기초자료를 활용하고, 선발된 고효성 계통들에 대해서는 약배양을 통해 조기 기능성 고추 품종육성 가능성을 검토하고자 한다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 혈당강하 기능성 고추의 돌연변이 육성 및 품종화

예비시험으로 보유하고 있던 고추 유전자원 평가를 통해 α -glucosidase inhibitor (AGI) 활성이 높은 고추 유전자원을 확인하였다. AGI 활성이 높은 계통을 선발, 고정하는 과정을 거쳐 ‘당조’ 고추 품종을 육성하여 국립종자관리원에 생산판매신고를 완료하였으며, 품종보호권 설정을 위한 품종보호출원을 하였다. 또한 고추 돌연변이체 처리를 통한 고추 돌연변이 품종육성 가능성을 검토하고자 돌연변이체 처리방법, 처리효과 등에 대한 시험을 수행하여 다양한 고추 돌연변이체 생성 가능성을 확인하였다. 이러한 결과에 대해서는 원예학회에 논문발표를 하였고, 그 결과를 논문으로 작성하여 게재하였다.

나. 고추의 AGI 개발

고추로부터 AGI의 분리 및 정제, AGI의 구조결정 및 이화학적 특성 구명, AGI의 저해기작 및 특성 규명, 쥐에서 AGI의 혈당강하 효과 검증 및 고효성 품종의 항 당뇨 효과를 검증하였다. 본 연구의 결과를 통해 안정성이 확보된 고추로부터 강력한 항당뇨 활성을 갖는 신규 α -glucosidase 저해제를 분리 정제하여 항당뇨 활성을 실증하였다. 이들 저해제를 통해 새로운 당뇨병 치료제의 개발이 기대되며, 나아가서는 새로운 항당뇨 기능성 식품 개발과 기능성 고추 신품종의 개발이 가능 할 것으로 판단된다.

다. 혈당강하 기능성 고추 계통육성 및 유전분석

고추 유전자원 850여점을 대상으로 α -glucosidase inhibitor(AGI) 활성을 고추 과실과 잎을 대상으로 검증하였다. 그 결과 과실과 잎에서 과실과 잎에서 각각 활성이 높은 8계통씩을 고효성 계통을 선발하여 계통들의 원예적 특성, 생육단계별 AGI 활성, 지역적응시험을 수행하였다. 지역적응 시험 및 원예적 특성 평가 결과를 토대로 고추 잎에서 α -glucosidase inhibitor (AGI) 활성이 높은 1계통을 선발하여 잎 전용 기능성 품종으로 등록하고자 준비 중에 있다. 잎과 열매에서 AGI 활성이 높은 것으로 선발된 계통들을 활용하여 잎에서 AGI

성분의 유전, 열매의 과중, 과장 등의 원예적 특성의 유전양식을 조사하였다. 이러한 결과를 바탕으로 분리세대 앞에서 AGI 활성이 높은 계통을 선발할 수 있는 가능성을 확인하였다. 또한 고효성 계통을 이용한 F₁ 조합을 대상으로 약배양을 통해 조기에 고효성 계통육성 가능성을 검토 중이다.

2. 결과 활용에 대한 건의

가. 결과활용 계획

열매에서 AGI 활성이 높은 '당조' 고추 품종은 현재 생산판매 신고를 완료하여 시교공급 및 희망자를 대상으로 종자 판매를 실시하고 있다. 돌연변이체 처리를 통해 확립된 기술은 논문 발표 및 계재를 통해 새로운 고추 돌연변이 품종육성의 기초 자료로 활용하고자 한다.

고추에서 분리한 AGI를 통해 새로운 당뇨병 치료제의 개발에 활용이 기대되며, 나아가서는 새로운 항당뇨 기능성 식품 개발과 항당뇨 기능성 고추 신품종 개발에 기여 할 수 있을 것으로 기대된다.

앞에서 활성이 높은 것으로 선발된 계통에 대해서는 품종보호 출원을 하고 상업화 할 계획이다. 고추의 AGI 활성의 유전분석 결과를 토대로 F₂ 분리집단에서 활성이 높은 개체들의 선발 가능성을 확인하였고, 선발된 고효성 계통들에 대해서는 계속 고정 및 약배양을 통해 AGI 고효성 품종 육성에 활용하고자 한다. 또한 고효성 계통 간에 작성된 F₁ 식물체를 대상으로 약배양을 통해 조기에 AGI 고효성 품종 육성 가능성을 검토하고자 한다.

나. 건의내용

본 과제를 통해 개발된 품종의 상업화 및 개발 기술의 적극적인 활용을 위한 지속적인 연구 지원을 요망한다.

SUMMARY

I. Subject

Research on breeding of new functional pepper variety with high AGI (α -glucosidase inhibitor)

1. Detail subject : Breeding of functional pepper variety by mutation
2. Cooperative subjects
 - 1) Development of AGI from pepper
 - 2) Breeding of functional pepper inbred lines and genetic analysis

II. Necessity and Objective of this Research

1. Purpose of research and development

The production of pepper crop is the most important vegetable in Korean vegetable market. However the import of pepper from China is dramatically increased. And we prospect the increasing rate will be rapidly expedited. To obtain increasing of competition ability in Korean pepper industry and stable production of pepper, development of new functional pepper varieties will have high priority.

Diabetes mellitus is one of the most serious, chronic diseases that is developing with an increase in obesity and ageing in the general population. In Korea, the incidence of diabetes was estimated less than 1% in 1970s, but it is increased as more than 10% in 2003. It is important to develop not only the medicine or supplement but also health supplement food as the cost for treatment of diabetes and other disease related with diabetes are getting increase. α -Glucosidase is among the most important carbohydrate-splitting enzymes that also catalyze the hydrolysis of α -glucose linkage in the final step of the digestive process of carbohydrates. α -Glucosidase inhibitors could retard the use of dietary carbohydrates to suppress postprandial hyperglycemia. α -Glucosidase inhibitor can be used in therapy for adult disease such as diabets, obesity or high blood glucose as this enzyme inhibitor retard absorption of glucose in the jejunum including the duodenum so that glucose concentration in blood can be controlled.

For this aim above, we investigated the α -glucosidase inhibitor's effects in ethanol

extracts from more than 1,400 species of native plants. From the results, we found pepper has α -glucosidase inhibitor's activity. Therefore, in this research, we purified the α -glucosidase inhibitor in pepper and investigated its physical, chemical and biological characters. Through the animal experiment, we confirm the effect of inhibitor in vivo and investigated the possibility of development it as a leading medicinal product. For the breeding of pepper variety that has high inhibitory activity on α -glucosidase, we screened pepper germplasms, and then selected the high α -glucosidase inhibitor lines. Our aim is to breed pepper lines that can strongly decrease the blood glucose by eating them in raw without any processing such as extract and concentrate. Also we tried to develop dietary supplements with the peppers, which could be supplied all year around.

2. Effect of developed technique

The production cost of current medicines or dietary supplements are high since it is produced by synthesis of effective component or extraction and concentration. but, in case of pepper, its therapeutic effect could be obtained cheaply because it is commonly consumed as raw vegetable without any processing. Once consumption of new functional peppers is established, the pepper farmers' income could be increased. Also pepper can occupy competitive position in world market through the breeding as a new functional pepper crop.

III. Research Content and Scope

In this research, we are focused on breeding of new functional pepper variety and its commercialization to stimulate pepper consumption. And that could improve the competitive power of pepper in world's pepper market.

1. Breeding the pepper mutants having an effect of decreasing blood glucose

To breed the functional pepper variety, we will estimate the AGI activity of pepper and selected high AGI activity pepper line. we will also attempt to register the selected pepper line as a new cultivar. We will investigate the possibility of breeding high AGI activity pepper line by mutation.

2. Study of AGI in pepper

To contribute health promotion by functional pepper variety, AGI properties of peppers will be investigated. We will isolate and purify the AGI from pepper and determined its structure. We will also study its physico-chemical properties and the blood glucose – lowering effects of AGI in rats and anti-diabetes effect of high AGI activity pepper line.

3. Breeding the blood-glucose lowering pepper lines and analysis of its genetic background

We will screen the high AGI activity pepper lines by investigating AGI activity of pepper genetic resource. We will select the pepper variety and applicate 'plant variety protection'. We will analyze genetic background of pepper and it will be used as basic database for breeding of functional peppers.

IV. Application plans of results

1. Breeding the pepper mutants having an effect of decreasing blood glucose

Through the evaluation of genetic resource of pepper, we have breed 'Dangjo' pepper which has high α -glucosidase inhibitory activity and completed the production sale report at National seed management office. Also we had a 'plant variety protection' to establish the 'protection of the breeder's right'. We investigated the possibility of breeding high AGI activity pepper line by mutation.

2. Study of AGI in pepper

We isolated and purified the AGI from pepper and determined its structure. We also studied its physico-chemical properties and the blood glucose – lowering effects of AGI in rats and anti-diabetes effect of high AGI activity pepper line.

3. Breeding the blood glucose lowering pepper lines and analysis of its genetic background

We screened the high AGI activity pepper lines by investigating AGI activity of 850 kinds of pepper genetic resource. We selected one pepper line and it has been prepared for 'plant variety protection application'. We confirmed probability that high AGI activity pepper could be selected through the genetic analysis of high AGI activity pepper line. We have also investigated the probability of breeding high AGI activity pepper line by anther culture in early stage of hybrid pepper (F_1).

4. Proposal for result application

A. Plan for result application

We had registered 'production and sale' of 'Dangjo' pepper line having high AGI activity in fruits. We have sold 'Dangjo' to candidates. The established technique in this research will be utilized as a basic database to breed new pepper mutants by publishing research papers. We are planing to apply 'plant variety protection' of pepper lines having high AGI activity in leaves. From the result of genetic analysis of AGI activity in pepper, we will continually breed the high AGI activity pepper line from BC, F₂ isolated group. We will also investigate the probability of breeding of high AGI activity pepper line by anther culture in its early stage.

B. Proposition

Continuous research support will be required to commercialize a variety developed in this research and active utilization of developed technology

CONTENTS

Chapter 1. Necessity and objective of this Research	
Section 1. Purpose of research and development	
Section 2. Effect of developed technique	
Section 3. Research Content and Scope	
Chapter 2. Technical developments in Korea and abroad	
Section 1. Importance of developed technology and developed situation of related technology in Korea and abroad	
Section 2. Situation of market	
Chapter 3. Results and Discussion	
Section 1. Breeding of functional pepper variety by mutation	
1. Evaluation of AGI (α -glucosidase inhibitor) activity of pepper germplasm and treatment of mutagen in pepper	
2. Characterization of selected lines and treatment of mutagen with high AGI activity selected lines	
3. Commercialization of high AGI activity line	
Section 2. Study of AGI in pepper	
1. Purification and characterization of α -glucosidase inhibitor	
2. Physico-chemical characterization of AGI	
3. Blood glucose lowering effect of AGI in rat	
Section 3. Breeding and genetic analysis of high AGI selected pepper lines	
1. AGI activity evaluation of pepper germplasm	
2. Characterization and cross combination of high AGI selected lines	
3. Characterization and genetic analysis of high AGI selected pepper lines	
Chapter 4. Accomplishment and contribution of research field	
Chapter 5. Application plans of results	
Chapter 6. Information obtained from foreign countries during research	
Chapter 7. References	

목 차

제 1장 연구개발 과제의 개요	
제 1절 연구개발 목적과 필요성	
제 2절 기술개발의 효과	
제 3절 연구범위	
제 2장 국내외 기술개발 현황	
제 1절 연구의 중요성 및 국내외 관련기술의 현황	
제 2절 시장현황	
제 3장 연구개발 수행 내용 및 결과	
제 1절 혈당강하 기능성 고추의 돌연변이 육성 및 품종화	
1. 고추 유전자원의 AGI (α -glucosidase inhibitor) 활성조사 및 돌연변이 처리	
2. 고효성 선발계통의 돌연변이체 처리 및 선발계통의 활성 재확인	
3. AGI 고효성 계통의 품종화	
제 2절 고추로부터의 AGI 개발	
1. α -glucosidase 저해제의 분리정제 및 구조결정	
2. AGI의 이화학적 특성 구명	
3. 쥐에서의 AGI의 혈당강하 효과	
제 3절 혈당강하 기능성 고추의 계통육성 및 유전분석	
1. 고추 유전자원의 AGI 활성평가	
2. AGI 고효성 선발계통들의 특성평가 및 교배조합 작성	
3. 유전분석 및 고효성 계통의 특성검정	
제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	
제 5장 연구개발 결과의 활용계획	
제 6장 연구개발 과정에서 수집한 해외과학기술정보	
제 7장 참고문헌	

제 1장 연구개발 과제의 개요

제 1절 연구개발 목적과 필요성

최근 경제 발전으로 인한 식생활의 서구화와 편의생활에 따른 활동량의 감소 및 체중의 증가 그리고 사회의 복잡성 등으로 인해 동맥경화, 고혈압, 암, 비만 및 당뇨병 등의 만성 퇴행성 질환이 증가되고 있다(Wattnberg, 1983; Corry와 Tuck, 2000). 이들 만성 퇴행성 질환 중에 특히 당뇨병은 비만과 함께 그 환자수가 빠른 속도로 증가할 뿐만 아니라 그 유병 연령이 점차 낮아지고 있어 그 심각성이 더욱 증가되고 있다(Stratton 등, 2000; King 등, 1998).

당뇨병은 고혈당을 특징으로 하는 대사성 질환으로서 혈당농도의 증가와 함께 당이 뇨로 배설되는 등의 탄수화물 대사 이상 뿐만 아니라 단백질과 지질 대사 및 전해질의 대사에 이상을 초래한다(Yoo 등, 2002; Abrams 등, 1982). 1970년대 우리나라의 당뇨병 발병률은 약 1% 미만으로 추정되었으나 2003년에는 10% 이상으로 늘어났으며, 또 다른 10%의 인구가 당뇨병에 걸릴 위험군인 것으로 알려져 있다. 또한 국내 10대 사망원인에 관한 보고서에 따르면, 1993년에 10만명당 16.3명이던 당뇨병에 의한 사망률이 2005년에는 24명으로 늘어나 전체 사망원인의 3위를 점유했다(Lim 등, 2001 NSO, 2005). 따라서 당뇨병은 높은 발병률과 함께 심각한 급만성 합병증을 유발함으로써 많은 관심의 대상이 되고 있다.

α -Glucosidase (EC 3.2.1.20)는 소장의 용모에 존재하는 소화 효소로서 이당류나 소당류를 탄수화물의 소화 흡수 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다 (Caspary, 1978). 따라서 α -glucosidase의 억제를 통한 탄수화물의 가수분해 저해는 식후 혈당 상승의 조절에 의한 당뇨 합병증의 예방에 직접적인 영향을 미친다(Chun 등, 2001; Kim 등, 2002). 지금까지 많은 종류의 α -glucosidase 저해제가 발견되었으며, 그 중에서도 acarbose, voglibose 그리고 nojirimycin의 유도체와 같은 몇몇 당 유도체에 연구자들의 많은 관심이 모아지고 있다. 이들은 α -glucosidase의 활성부위에 우선적으로 결합하여 기질이 결합하는 것을 방해함으로써 식후 혈당이 상승하는 것을 억제하여 당뇨 합병증의 진행을 늦추거나 예방을 하게 되는 것으로 보고되고 있다(Lebovitz, 1998).

최근 한약재를 비롯한 허브, 뿌잎 그리고 여러 식용 가능한 식물들로부터 혈당 강하 물질, α -amylase inhibitor 또는 α -glucosidase inhibitor의 개발에 관한 여러 연구들이 보고되어 있다(Franco 등, 2000; Hansawasdi 등, 2000; Honda와 Hara, 1993; Qian 등, 2001). 민간에서 당뇨병 치료의 목적으로 사용하고 있거나 또는 혈당강하 작용이 기대되는 천연유래 물질 중에서 잠상물질이 혈당강하 효과가 있다고 보고되었고(Lee 와 Kim, 1993; Kim 등, 1993), 또 뽕나무 잎이나 뿌리껍질에서도 혈당강하작용 물질을 분리한 바 있다(Lee 등,

1998; Asno 등, 1994). 실제로 위와 같은 목적으로 본 연구진은 약 1,400여종의 국내 자생 식물 70% 에탄올 추출액을 대상으로 α -glucosidase inhibitor(AGI)를 탐색한 결과 고추에 효소활성 저해제가 분포하고 있음을 확인하였다.

따라서 본 연구에서는 이미 탐색된 고추 기원 AGI의 순수 분리를 통하여 물리, 화학, 생화학적 성질 및 동물 실험을 통하여 체내에서의 효과 등을 규명하여 의약품 선도 물질로의 개발 가능성을 타진하고 또한 이를 근거로 십이지장을 비롯한 공장 상부에서 탄수화물의 소화 흡수율을 저하시켜 혈당강하 능력이 강화된 고추 품종의 육성을 목적으로 고효성 계통의 선발, 돌연변이 처리, 교배 등을 통하여 신기능성 고추 품종의 육성을 하고자 하였다. 육성된 신기능성 고추 품종은 추출을 통한 농축 가공 원료가 아닌 채소로서 그대로 섭취하여 혈당강하를 이룰 수 있는 생식용 고효성 고추 품종 육성 및 연중 공급할 수 있는 가공식품 개발을 목표로 하였다.

제 2절 기술개발의 효과

기존의 의약품이나 건강 보조식품은 유효성분의 유기합성 또는 추출 및 농축을 통하여 생산되므로 많은 생산비용이 수반된다. 그러나 고추의 경우 별다른 가공 없이 생식으로 사용하므로 비교적 저렴하게 원하는 목적을 이룰 수 있는 장점이 있다. 고추의 새로운 수요를 창출함으로써 고추 소비의 극대화 및 재배 농가의 수익 향상을 기대할 수 있을 것이다. 또한 신기능성을 갖는 품종으로 육성함으로써 수입 저가 농산물과의 경쟁력이 증가되고 최종적으로 농민의 소득증대와 연계될 수 있다.

제 3절 연구범위

본 연구는 우리나라 고추의 소비 촉진 및 국제 경쟁력 향상을 목표로 기능이 추가된 새로운 형태의 고추 품종을 육성하고 이를 상업화 하는데 목적을 두고 있다. 따라서 본 연구과제에서는 고추 품종별 AGI 분포 조사, 고추 유전자원의 확보 및 평가, 고효성 계통의 선발 및 교배 육성, 돌연변이 유기 조건설정 및 돌연변이 유래 개체들의 특성 평가를 통한 육종 가능성 검토, AGI의 유전자식 구명 및 고효성 계통의 품종화를 시도하고자 한다. 또한 고추로부터 AGI의 분리 및 정제, AGI의 구조결정 및 이화학적 특성 구명, AGI의 저해기작 및 특성 규명, 쥐에서 AGI의 혈당강하 효과 검증 및 고효성 품종의 항 당뇨 효과를 검증하고자 한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절 연구의 중요성 및 국내외 관련기술의 현황

현재까지 많은 종류의 당뇨병 치료제가 개발되어 있고 개발이 진행 중이다. 당뇨병 치료제의 한 카테고리로 당질 흡수 억제를 타겟으로 한 의약품은 식사 후에 고혈당을 억제하는 것을 목적으로 개발되어지고 있는 약제로 소장 내에서 탄수화물의 분해에 관여하고 있는 소화효소인 α -glucosidase의 활성을 저해함으로써 당질의 흡수를 십이지장을 비롯한 공장상부에서 저해하고 공장하부 및 회장을 걸쳐 흡수되게 함으로써 식후의 과혈당을 억제하게 된다. 이는 당뇨병환자가 이용할 경우, 경구 혈당강하제라든지 인슐린 사용량을 경감시킬 수 있는 기대 효과가 있다. 또한 예방의학 차원에서도 당뇨병으로의 진전을 억제할 수 있다. 이러한 목적으로 개발된 의약품이 이미 수종 개발되어 Glucobay, Basin 등의 상품명으로 시판이 되고 있다. 이들 의약품은 다소의 부작용이 뒤따르고 있으므로 부작용이 적은 의약품 개발을 위하여 식물 및 미생물 기원의 신규물질을 대대적으로 탐색하여 hibiscus, guaba 등으로부터 정제되어 구조가 결정된바 있다. 본 연구진도 위와 같은 목적으로 약 1,400여종의 국내 자생 식물들을 대상으로 70% 에탄올 추출액을 이용하여 α -glucosidase inhibitor (AGI)를 탐색한 결과 고추에 효소활성 저해제가 분포하고 있음을 최초로 확인하였다. 특히 고추는 우리나라에서 많이 먹는 채소의 하나로 추출이나 정제하지 않고 생식용으로 사용할 수 있다는 점에서 기존의 의약품이나 건강 보조식품과는 차별화 할 수 있는 장점을 갖는 새로운 개념의 채소로 부각 할 수 있다. 혈당강하 기능을 부여한 채소는 아직 개발된 것이 없는 실정이다.

제 2절 시장현황

당뇨예방 개선식품은 현재 일부 제품이 시판되고 있으며 기술개발과 복합화를 통하여 현재로부터 미래까지 시장 확산이 가능하고 채산성이 매우 높다. 성인병 예방 개선식품의 시장 규모는 2,152억\$이 될 것으로 예측하며 그중 당뇨예방 개선식품은 132억\$로 추정된다. 우리나라의 고추 생산량은 연간 20만톤(건조 후 기준)에 이르며, 국민 1인당 연간 소비량은 4kg으로 세계 평균소비량 500g에 비해 대단히 높다. 현재 국내 고추시장규모는 연간 1조~1조 2천억원 정도로 추정된다. 우리나라 고추는 중국산에 비해 가격 및 품질(색택) 경쟁력이 떨어져 수입량이 증가될 전망이다. 중국산 고추의 민간수입 가능가격은 381원/600g이고 이를 가공 후 국내 판매가격은 3,138원/600g으로 국내산 도매가격 5,196원/600g으로 60.4%수준이다.(한국농촌경제연구원, 2008). 세계 고추 생산량은 1,600만톤으로 중국은 그중 40%를 차지하는 700만톤을 생산하고 있다(FAO, 2008). 국가별 고추 품질을 보면 중국의 산동성, 하북성, 섬서성

에서 생산되는 고추는 한국산과 비슷하나 인도산 고추는 품질이 낮아 선호도가 낮으며 파키스탄 고추는 색택은 양호하나 너무 맵고 씨가 많으며 멕시코산 고추는 감미종이 대부분이므로 실질적인 경쟁상대는 중국이다. 따라서 한국산 고추는 수입산과의 경쟁력도 확보하고 농민들의 수익도 보장될 수 있도록 신품종 육성을 위한 연구, 노력이 시급한 과제이다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 혈당강하 기능성 고추의 돌연변이육성 및 품종화

1. 고추 유전자원의 AGI (α -glucosidase inhibitor) 활성조사 및 돌연변이 처리

가. 연구목적

혈당강하 기능성 고추의 계통육성 및 품종화에 기여하고자 함

나. 재료 및 방법

1) 고추 자원들의 AGI 활성 조사

제일농산에서 보유하고 있던 고추 자원 400여점을 2005년 2월 하순에 파종하여 육묘한 후 4월 하순 비가림 하우스와 노지 포장에 정식하여 고추가 착과되었을 때 계통별로 일시에 비슷한 크기의 열매와 잎을 채취하여 AGI 활성 분석용 시료로 이용하였다. AGI 활성조사는 강원대학교에서 확립된 다음의 방법으로 수행하였다. 고추 잎과 열매를 수확하여 온풍 건조 또는 동결 건조한 후 10배 volume의 70% EtOH를 가하여 12시간 진탕 추출한 후 원심 분리하여 상정액의 AGI 활성을 측정하였다. 고추의 70% ethanol 추출물 50 μ l와 돼지 소장 기원의 α -glucosidase 100 μ l를 혼합하여 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 preincubation 한 후 기질인 maltase (4mmol)를 500 μ l 가하여 반응을 개시하였다. 반응은 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 진행하였으며, 반응 후 100 $^{\circ}$ C에서 5분간 끓여 반응을 정지 시켰다. 반응액으로부터 생성된 glucose의 양을 glucose kit를 이용하여 glucose oxidase법으로 측정하였다. 이렇게 측정된 glucose 양은 반응액에 70% ethanol 추출물 대신 70% ethanol을 넣은 것을 control로 하여 이것과 비교하여 저해율을 계산하였다. 이때 기질인 maltose (4mmol)를 첨가하지 않은 반응액을 blank로 하였다.

2) 돌연변이 처리 조건 확립

고추의 돌연변이 유기를 위한 EMS 처리 시간 및 농도를 결정하기 위하여 증류수에 하룻밤 침지한 고추 종자 '생력 211호' 및 '생력 213호'를 EMS 0.05M, 0.15M 로 각각 조제한 용액에 0~9시간 까지 처리한 후 증류수로 3회 수세하여 pot에 파종하였다. 그 후 매일 아침, 저녁으로 물을 충분히 주며 발아 상태를 점검하며 생존율을 조사하였다. 생존율을 기준으로 EMS 처리 적정 시간 및 농도를 결정하였다.

다. 시험결과

1) 고추 유전자원의 AGI 활성 평가

평가된 자원들의 열매에서의 AGI 활성 배수는 AR 1650을 1배로 기준하여 1부터 49배까지 분포하였다. 배수별 분포비율은 그림 1-1과 같다. AGI 활성이 2.0이하가 전체의 13.8%, 2.1-5.0배 25.7%, 5.1-10.0배 25.7%, 10.1-15.0배 22.4%, 15.1-20.0배 5.9% 그리고 20.1배 이상이 6.6% 였다.

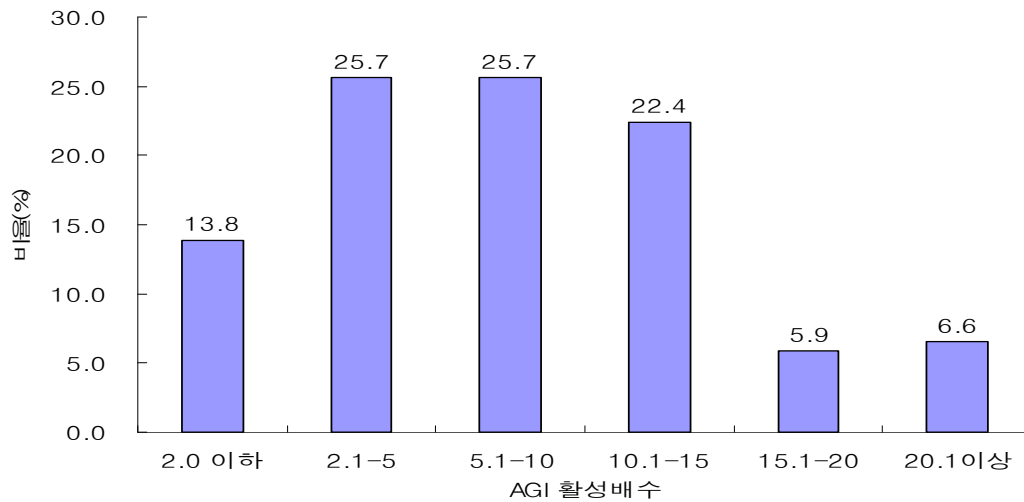


그림 1-1. 고추 열매에서 AGI 활성저해 배수의 분포

고추 열매에서 AGI 저해활성이 높았던 계통들의 저해활성 및 주요 원예적 특성은 표 1-1 및 1-2와 같다. 선발된 계통들의 열매의 저해활성 정도는 69.7-130.2%까지 분포하였다. 주요 원예적 특성은 과장은 6-21cm, 과경은 0.7-9.8cm, 과피색은 초록색, 황색, 적색이 포함되어 있다. 매운맛의 정도는 매운맛이 없는 것부터 강한 것까지 다양하고 착과방향은 1계통을 제외하고는 모두 하향이였다.

표 1-1. 고추 열매의 AGI 고활성 계통의 저해활성 정도

Sample Number	저해활성(%)	Sample Number	저해활성(%)
1509	69.7	1496	104.3
3604	70.2	1647	108.7
3560	72.3	3880	110.0
4004	73.3	3886	119.6
3825	88.0	1601	126.2
1347	97.2	3854	130.2
1356	103.3		

표 1-2. 고추 열매의 AGI 고풍성 계통들의 원예적 특성

Sample Number	과장(cm)	과경(cm)	과형	과피색	꽃받침 모양	매운맛	꽃자루 자세
1509	6-8	0.7-1.1	좁은삼각형	빨강	감싸는형	강	상향
3604	9-10	1.6-2.1	좁은삼각형	빨강	감싸는형	중	하향
3560	12-14	1.4-1.8	좁은삼각형	빨강	노출	중	하향
4004	15-18	8.3-10.1	사각형	초록	노출	무	하향
3825	13-18	1.9-2.2	좁은삼각형	빨강	감싸는형	중	하향
1347	17-19	1.8-2.8	좁은삼각형	빨강	노출	중	하향
1356	11-16	1.6-2.2	좁은삼각형	빨강	노출	중	하향
1496	7-11	2.8-4.2	사다리꼴	빨강	노출	중	하향
1647	18-21	3.2-3.8	나팔형	빨강	노출	약	하향
3880	12-16	2.8-3.7	삼각형	빨강	노출	약	하향
3886	17-19	1.7-2.3	좁은삼각형	빨강	노출	중강	하향
1601	12-14	7.2-9.8	직사각형	초록	노출	무	하향
3854	5-8	7.1-9.2	사각형	황색	노출	무	하향

2) 고추의 돌연변이 처리 조건 검토

EMS 처리에 의한 고추의 돌연변이 유기 조건을 확립하고자 0.05M과 0.15M 2가지 농도 조건에서 처리시간을 1, 2, 3, 6, 9시간 침지 처리한 결과 0.05M EMS 처리에서는 3~6시간 처리한 구에서 생존률 50%를 보이는 반면, 0.15M EMS 처리구에서는 2~3시간 처리구에서 생존률이 50%대를 보였다. 아직 발아되고 있는 미성숙한 개체의 경우 대비구와 비교하여 1달 이상 늦게 발아되는 것을 감안하여 새로운 돌연변이체로 고려하지 않았다. 돌연변이 처리를 한 종자들의 파종 후 발아 조건은 21.1℃로 고정된 온실에서 수행되었다. 최종적으로 고추 EMS를 이용한 돌연변이 처리 조건은 0.15M에서 2시간 처리하는 것으로 결정하였다.

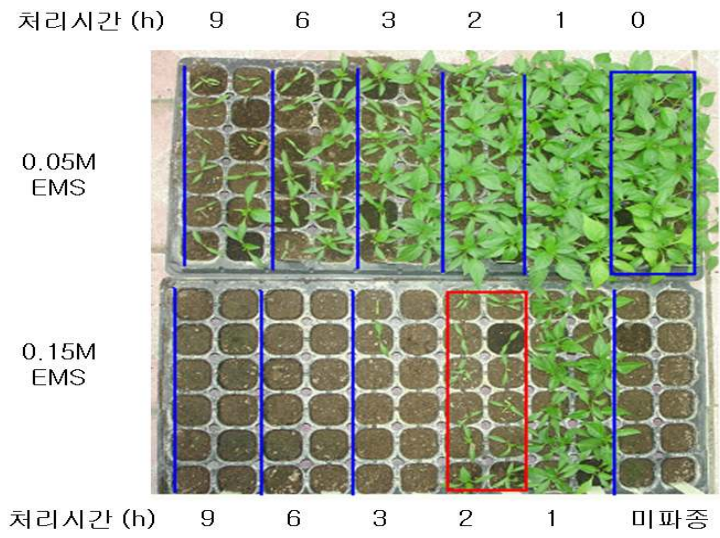


그림1-1. EMS의 처리 시간과 처리 농도에 따른 '생력 211호'의 발아 및 생육비교

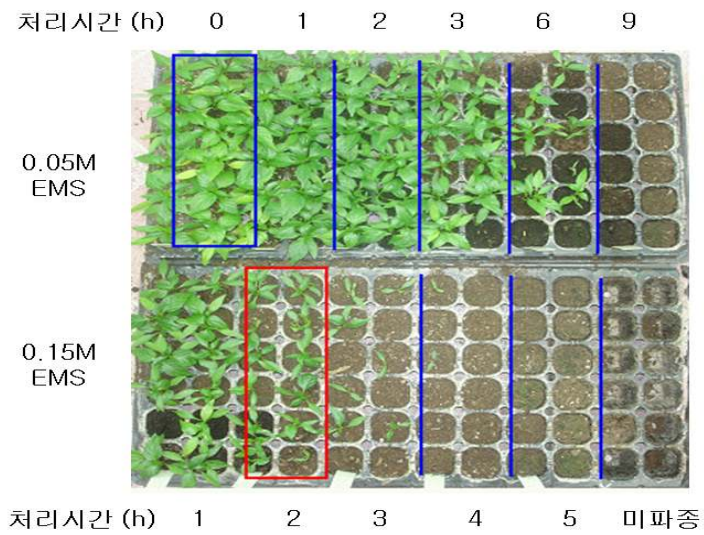


그림1-2. EMS의 처리 시간과 처리 농도에 따른 '생력 213호'의 발아 및 생육 비교

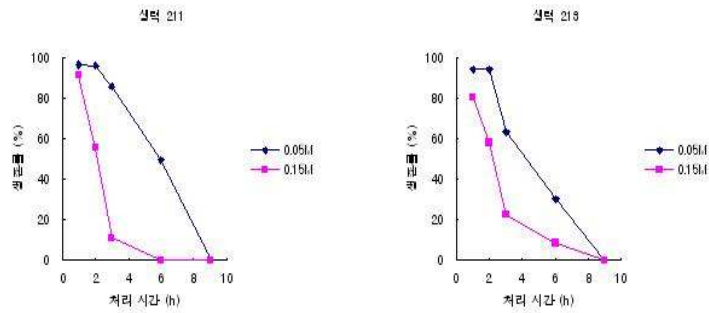


그림 1-3. EMS의 처리 시간과 처리 농도에 따른 고추의 품종별 생존률

EMS 돌연변이 처리제로 돌연변이를 유기한 개체들 간의 AGI 활성화에 차이가 있는지를 조사한 결과는 표 1-3 및 1-4와 같다. 0.15M EMS로 2시간 종자에 처리하여 발생한 돌연변이체의 AGI 활성 분포를 조사한 결과 AGI 저해활성이 ‘생력 211호’에서는 대조구 19.7%와 비교하여 11.3%부터 25.4%까지 차이가 있었고, ‘생력 213호’에서는 대조구 20.1%와 비교하여 15.5부터 25.4%까지 분포하였다. ‘생력 211호’와 ‘생력 213호’ 모두에서 대조구보다 높은 활성을 나타내는 개체들이 확인되어 돌연변이체 처리에 의한 AGI 고활성 개체 유기 가능성이 있는 것으로 생각되었다.

표 1-3. 0.15M EMS, 2시간 처리 후 발생한 돌연변이체의 AGI 활성 분포(생력 211호)

Sample Number	저해활성(%)	Sample Number	저해활성
control	19.7		
1	21.5	6	20.6
2	20.0	7	12.9
3	25.4	8	15.9
4	21.8	9	11.3
5	21.2	10	14.6

표 1-4. 0.15M EMS, 2시간 처리 후 발생한 돌연변이체의 AGI 활성 분포(생력 213호)

Sample Number	저해활성(%)	Sample Number	저해활성
control	20.1		
1	21.4	6	15.5
2	20.3	7	17.3
3	23.5	8	19.4
4	18.2	9	25.4
5	23.0	10	20.0

라. 결과요약

1) AGI 활성 조사

AGI 활성 조사 결과 열매에서는 1배부터 49배까지 자원들 간에 활성 저해도에 차이가 있었고, 원예적 특성평가 결과 다양한 크기와 모양, 매운맛이 분포되어 있었다.

2) 돌연변이 처리 조건 설정

가) 고추의 돌연변이제 처리를 통한 돌연변이 유기조건을 검정한 결과 EMS를 이용한 돌연변이 처리 조건은 0.15M에서 2시간 처리하는 것이 적당하였다.

나) 돌연변이제 처리를 통해 AGI 활성이 다양한 개체들을 확보 할 수 있을 것으로 판단되었다.

2. 고효성 선발 계통의 돌연변이제 처리 및 선발 계통의 활성 재확인

가. 연구목적

1) 고효성 계통을 활용한 돌연변이 유기 및 돌연변이 집단의 AGI 활성 검정을 통해 고효성 개체의 선발 가능성을 검토하고자 함

2) 1년차에 선발된 고효성 계통의 활성을 재확인하여 품종등록을 위한 자료로 활용하고자 함

나. 재료 및 방법

1) 돌연변이 처리 및 AGI 활성조사

고추의 돌연변이 유기를 위해 지난해 고효성으로 선발된 '제일 3090' 및 '제일 4001' 두 집단의 종자를 각각 500립씩 선별하여 돌연변이 처리를 실시하였다. 돌연변이 처리는 지난해 확립된 EMS 0.15M에서 2시간 동안 처리하여 획득된 종자를 제일종묘(주) 농장 내 육묘장에 2006년 3월 상순 육묘용 상자에 파종하였다. 파종 후 정상적으로 발아된 것만 골라서 72공 트레이에 가식한 후 70일간 육묘하였다. 육묘된 묘를 농장 내 비가림 하우스에 정식하고 원예연구소 표준 재배법을 기준으로 재배하였다. 정식 후 70일째에 잎과 열매를 수확하여 강원대학교에서 확립된 방법으로 AGI 활성을 조사하였다.

2) 선발 고효성 계통의 AGI 활성 재확인

선발된 고효성 '제일 3090' 및 '제일 4001' 두 계통의 AGI 활성을 재 검정하고자 위와 같은 방법으로 육묘하여 제일종묘(주) 농장에 정식하였다. 정식 후 청과 상태의 생육단계가 비슷한 열매를 수확하여 강원대학교에서 확립된 방법으로 AGI 활성을 검정하였다.

다. 시험결과

1) 돌연변이 처리 개체들의 AGI 활성 조사

돌연변이 처리된 묘의 육묘 및 재배상황은 다음의 사진 3-1 및 3-2와 같다. 돌연변이 처리된 두 집단인 종자를 각각 500립씩 과중하여 정상적으로 발아된 개체들을 트레이에 가식하여 육묘하였다. 돌연변이 처리된 '제일 3090' 및 '제일 4001'의 평균 발아율은 각각 48%, 43% 였다.



사진 3-1. 돌연변이 처리 개체들의 초기 생육모습



사진 3-2. 돌연변이 처리 개체들의 착과모습

돌연변이 처리된 종자에서 유래된 정상 발아 종자들을 정식하여 재배했을 때 일부 개체를 제외하고는 정상적인 생육이 가능하였다.(사진 3-2)

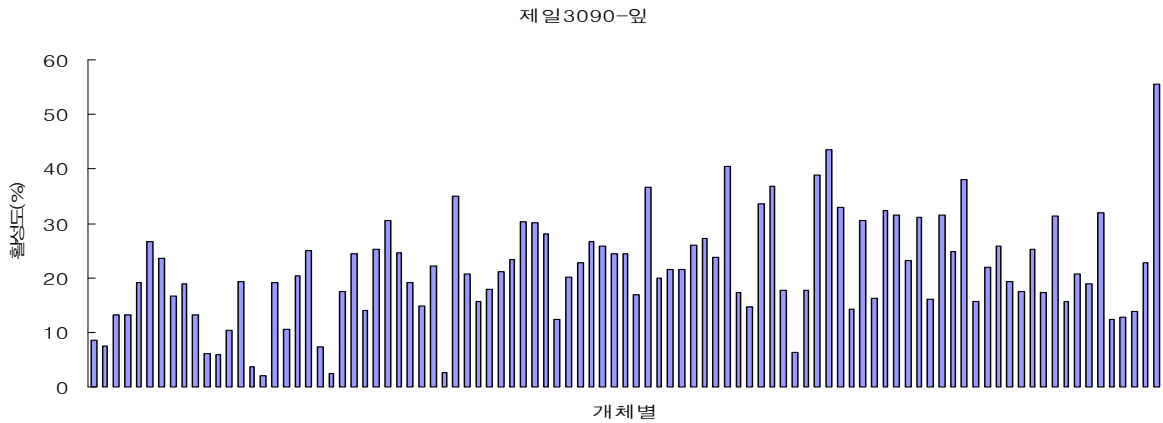


그림 3-1. '제일3090' 계통의 돌연변이 처리 유래 식물체 잎의 개체별 AGI 활성화 정도

돌연변이 처리된 '제일 3090' 계통 유래 개체들 중에서 원예적 특성이 양호한 95 개체들을 대상으로 잎의 AGI 활성도를 조사한 결과 최저 2.01부터 최대 55.56까지 다양한 변이 폭을 보여 최대 27배의 차이가 있었다(그림 3-1). 활성화 정도별 분포를 보면 최저 대비 5배까지가 10.5%, 5.1~10배 38.9%, 10.1~15배 31.6%, 15.1~20배 16.8%, 20.1 배 이상이 2.1% 였다 (그림 3-2).

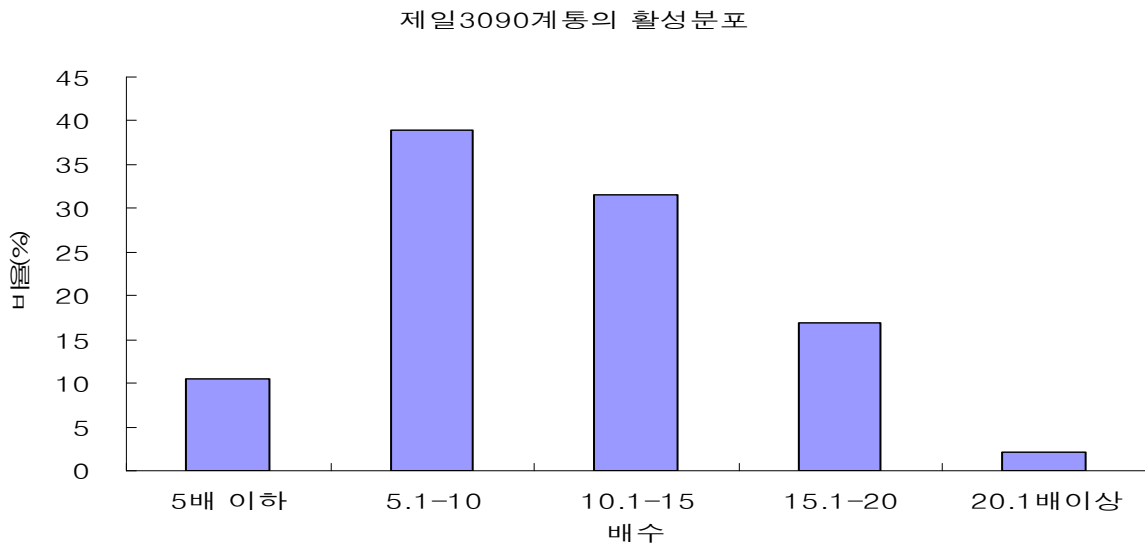


그림 3-2. '제일 3090' 계통의 돌연변이 처리 개체들의 잎의 AGI 활성화 배수 분포도

돌연변이 처리된 '제일 3090' 계통 유래 개체들 중에서 원예적 특성이 양호한 28개체들을 대상으로 열매의 AGI 활성도를 조사한 결과 최저 1.8부터 최대 14.6까지 다양한 변이 폭을 보여 최대 8.2배의 차이가 있었고, 돌연변이를 처리하지 않은 것(오른쪽 끝 막대)보다 활성화

이 낮은 것부터 높은 것까지 다양한 변이를 보였다(그림 3-3).

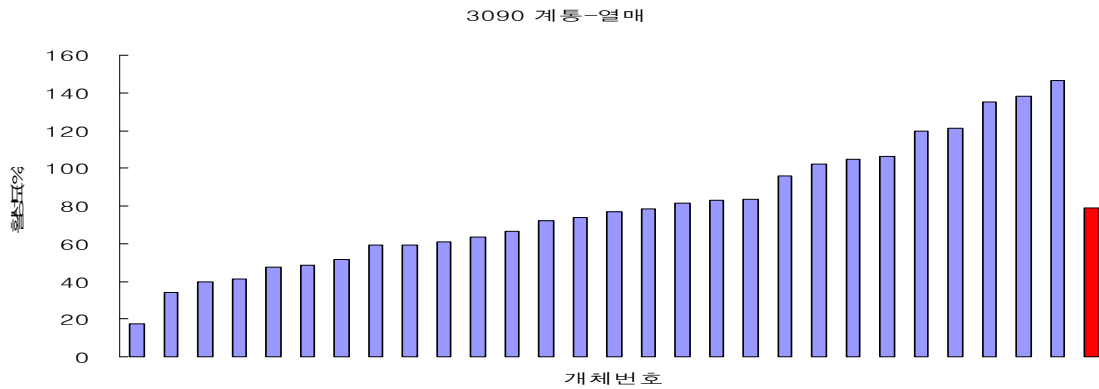


그림 3-3. '제일3090' 계통의 돌연변이 처리 유래 식물체 열매의 개체별 AGI 활성 정도

'제일 4001' 계통 유래 돌연변이 처리된 개체들 중에서 원예적 특성이 양호한 70 개체들을 대상으로 잎의 AGI 활성을 조사한 결과 최저 3.50부터 최대 43.51까지 다양한 변이 폭을 보여 최대 12배의 차이가 있었다(그림 3-4).

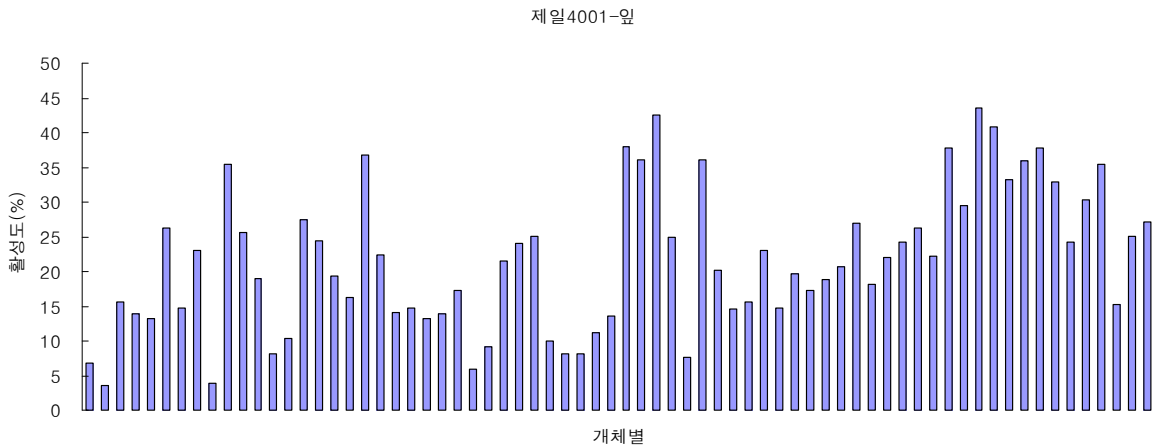


그림 3-4. '제일 4001' 계통의 돌연변이체 처리 유래 식물체 잎의 AGI 활성

활성 정도별 분포를 보면 최저 대비 3배까지가 15.7%, 3.1~6배 34.3%, 6.1~9배 32.9%, 9.1~12배 14.3%, 12.1 배 이상이 전체의 2.9% 였다(그림 3-5).

4001 계통의 활성분포

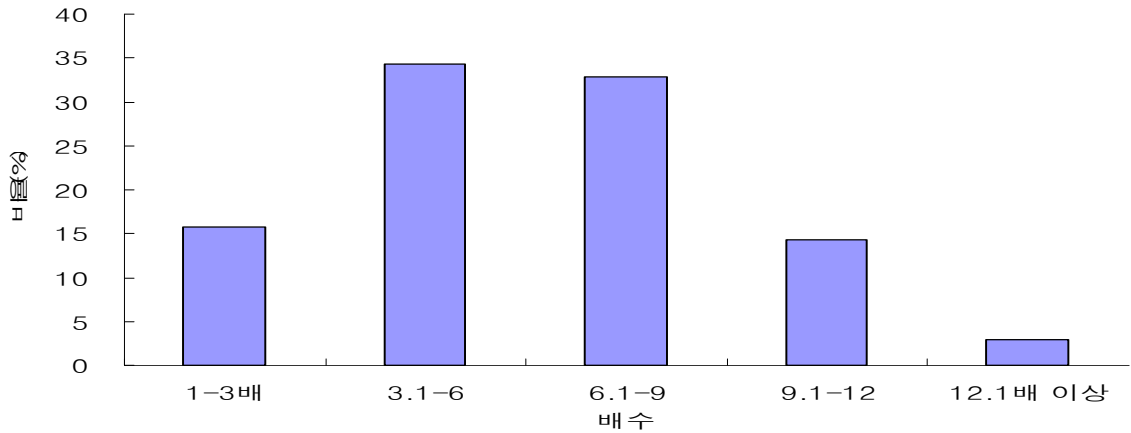


그림 3-5. '제일 4001' 계통 유래 돌연변이체 처리 개체 유래 식물체 잎의 AGI 활성 분포

돌연변이 처리된 '제일 4001' 계통 유래 개체들 중에서 원예적 특성이 양호한 19 개체들을 대상으로 열매의 AGI 활성도를 조사한 결과 최저 1.5부터 최대 12.0까지 다양한 변이 폭을 보여 최대 7.9배의 차이가 있었고, 돌연변이를 처리하지 않은 것(오른쪽 끝 막대)보다 활성이 낮은 것부터 높은 것까지 다양한 변이를 보였다(그림 3-6).

4001 계통-열매

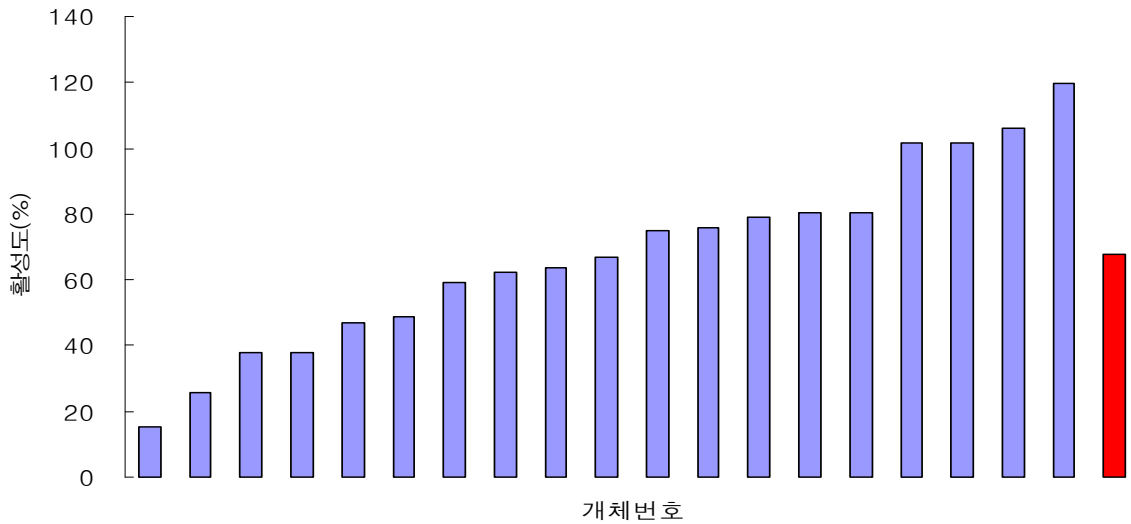


그림 3-6. '제일 4001' 계통의 돌연변이체 처리 식물체 유래 열매의 개체별 AGI 활성 정도

이상의 결과를 토대로 판단해 볼 때 돌연변이 처리를 통한 고추 잎과 열매의 AGI 변이

폭 확대가 가능할 것으로 판단되었다. 돌연변이 처리된 개체들의 선발은 분석이 장기간 소요되고, 재배 기간 중의 집중적인 폭우로 재배 하우스가 전체적으로 담수 피해를 입어 고효성 개체 선발에는 실패하였다. 다만 돌연변이제 처리를 통한 AGI 활성 변이의 폭을 확대할 수 있는지의 가능성을 확인하는 정보를 얻을 수 있었다.

2) 선발된 AGI 고효성 계통의 활성 재확인

1차년도에 AGI 활성이 높은 것으로 선발된 ‘제일 3090’, ‘제일 4001’ 계통의 연차간의 AGI 활성 안정성을 확인하고자 2년차 활성 조사결과는 그림 3-7과 같다. 2차년도 분석에서도 1차년도와 같이 대비 품종대비 3~5배 까지 활성이 높은 것으로 확인되었다.

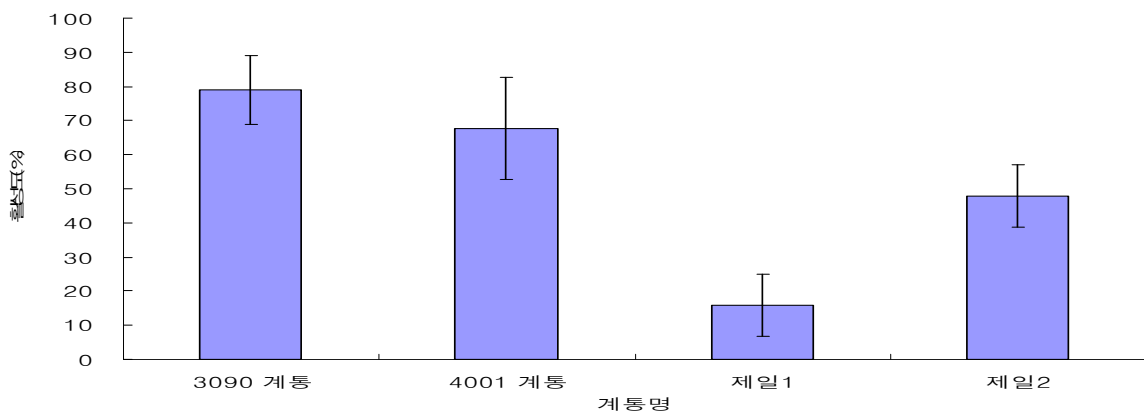


그림 3-7. 고효성으로 선발된 계통들의 2차년도 활성검정 결과

라. 결과요약

- 1) 1차년도에 고효성으로 선발된 두 집단을 대상으로 돌연변이제 처리 후 확보된 개체들의 잎과 열매를 대상으로 AGI 활성을 조사한 결과 잎에서 AGI 활성이 최대 27배, 열매에서는 8배까지의 차이가 확인되었다.
- 2) 돌연변이제 처리를 통해 고추 잎과 열매의 AGI 활성 변이 폭을 확대할 수 있을 것으로 확인되었다.
- 3) 선발된 고효성 계통의 AGI 재 활성 검정 결과 대비품종 대비 3~5배까지 높은 것으로 확인되었다.

3. AGI 고효성 계통의 품종화

가. 연구목적

α -glucosidase inhibitor (AGI) 활성이 높은 것으로 선발된 계통의 품종등록 및 상업화

나. 재료 및 방법

1, 2차 년도에 AGI 활성이 높은 것으로 선발된 계통들의 상업화를 위해 품종 등록시 필요한 특성 조사 및 국립종자원 품종등록 처리 절차에 따라 수행

다. 육성동기

전 세계적으로 육종목표가 양에서 질로, 질에서 기능성으로 변화하고 있는 추세에 따라 건강에 도움이 되는 기능성 고추품종을 육성하고자 생각하고 있던 중, 2003년 강원대학교 농업생명과학대학 이해익 교수로부터 고추에 함유된 α -glucosidase inhibitor(AGI)로 하여금 혈당을 강하게 하여 당뇨병을 예방하는 효과가 있는 품종을 육성해보자는 제안을 받았다. 동년 8월경 강원대학교 대학원생들이 폐사를 방문하여 시험재배하고 있던 여러 계통의 고추 유전자원을 채취하여, 이를 강원대학교에서 AGI 활성을 분석하였다. 그 결과 폐사에서 선발하고 있던 1823-1-1-1-1 계통에서 AGI 활성이 높은 것으로 확인되어 충분한 품종 개발 가능성이 있다고 판단하여 2004년 농림기술관리센터의 농림기술개발사업을 신청하여 2005년부터 강원대학교 이해익 교수, 원예연구소 조명철 박사와 공동연구를 통하여 혈당강화 기능성 고추 품종인 '당조고추'를 육성하게 되었다.

라. 육성결과

당조고추(<i>Capsicum annuum</i>)

1) 구분 : 도입육성 품종

2) 육성내력

가) 재료 수집 및 선발

(1) 도입 : 1994년 유럽에서 도입

나) 생육 및 특성검정 : 1999 ~ 2007년

다) 육성기관 : 제일종묘농산

라) 육성자 : 박동복, 박지성, 이해익, 조명철

3) 주요특성

- 가) 수량이 높고 고온기에 착과력이 우수함
- 나) 매운맛이 적고 미숙과의 과피 색이 연노랑임
- 다) 고정종으로 자가 채종이 가능함으로 종자대 절감 가능
- 라) 시설 재배시 바이러스병에 중 정도의 저항성임

4) 적응지역 : 전국적으로 시설재배가능

5) 재배상 유의점 : 비가림 시설재배에 유리

6) 보완을 요하는 특성 : 조기 수량증대를 위한 재배법 개발 요구됨

7) 시험성적

가) 고유특성

- (1) 당조고추 품종은 고정종 품종으로 국내 비가림 토경재배 조건에서 재배적응성이 높고, 착과력이 우수함
- (2) 미숙과색은 연노랑이고, 숙과색은 적색이며 착과 방향은 수평 및 하향임

품종명	초형	엽색	꽃 색	착과방향	과형	미숙과색	숙과색
당 조	약간서다	녹색	백색	수평,하	외뿔형	연노랑	적색
부국(대비)	약간서다	녹색	백색	하	세장형	녹색	적색

나) 가변특성

- (1) ‘당조고추’ 품종의 개화 소요일수는 과종 후 85 - 95일 전후로 대비 품종보다 약간 빠른 편이고, 과중은 80~100g 정도의 대과이며 과장과 과폭은 각각 13~15cm, 3~5cm 정도임
- (2) 식물체 마디부분의 색소가 발현되고, 잎의 크기는 대비종보다 크고, 내서성이 다소 강함

품종명	개화소요 일수(일)	과중 (g)	과 장 (cm)	과폭 (cm)	과육두께 (mm)
당 조	85~95	90±15	13±1.5	3.5±1.2	2.8±0.6
부국(대비)	90~100	85±13	12±1.3	3.1±1.1	2.2±0.5

※ 개화소요 일수는 과종 후 일수임

품종명	식물체마디부 위색소	잎 길이 (cm)	잎 너비 (cm)	잎자루 길이(cm)	잎자루 두께(mm)	내서성
당 조	열다	11.6±1.2	6.2±0.4	5.1±0.5	2.0±0.3	강
부국(대비)	매우열다	10.1±0.8	5.5±0.3	4.4±0.4	1.4±0.2	중

다) 병해충 저항성 : 대비품종과 비교하여 포장상태에서 바이러스에 중정도의 저항성이
고 다른 병해충에 대해서는 비슷한 수준임

품종명	바이러스	흰가루병	탄저병	기타 병해충
당 조	중	약	약	중
부국(대비)	중	약	약	중

라) 수량성 : 4,026kg/10a

(1) '당조고추'의 수량성은 10a당 약 4,200kg 정도로 수량이 높고, 착과력이 우수하며, 특
히 고온기 비가림 토경재배에 유리한 특성이 있음

품종명		주당수량(g/주)	추정수량(kg/10a)
당 조	2005	3,129 ± 634	4,329
	2006	3,334 ± 283	3,222
	2007	3,218 ± 476	4,527
	평균	3,227 ± 464	4,026
부 국 (대비)	2005	2,978 ± 480	3,896
	2006	2,852 ± 438	3,252
	2007	2,697 ± 340	3,360
	평균	2,842 ± 419	3,503

마) 품질특성

(1) '당조고추'의 품질은 기존의 시판 고추와 비교하여 약간 수량이 많고 미숙과색은
연노랑색이고, 숙과색은 적색인 고정종 품종으로 당도가 다소 높은 특성이 있음

품종명	미숙과색	숙과색	과실 광택	꼭지의 함몰	태좌의매운 맛	당도 (°Bx)
당 조	연노랑	적색	중간	없다	없다	9.3
부국(대비)	녹	적색	중간	없다	있다	7.2

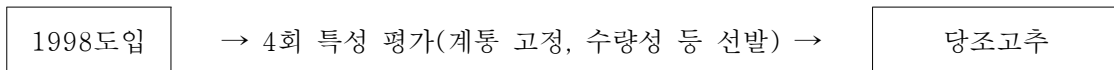
8) 육성경과

가) 육성계통도 : 1823-1-1-1-1-선발-1-1-1-1

연도	'1998-2002	'2003	'2004	'2005-2007
세대	도입및 선발	선발	선발	선발 및 검정
도입,선발	1	1	1	1
	:	:	:	:
	-집단	-집단	-집단	당조고추
	:	:	:	:
	30	30	30	30
주요과정	계통선발 및 생산력검정시험			

○ 1998년 유럽에서 도입 → 1998 ~2007년 특성 평가 및 선발

나) 육성 계보도



다) 육성내역(육성계통도)

년도	계 통		비 고
	모 계	부 계	
1998	1823		① 유럽에서 고추품종을 도입 ② 재배결과 분리되는 것을 확인 ③ 순계선발법으로 선발함.
1999	1823-1		계통순화 및 계통선발 (연노랑색 선발)
2000	1823-1-1		계통순화 및 계통선발 (연노랑색 선발)
2001	1823-1-1-1		계통순화 및 계통선발 (연노랑색 선발)
2002	1823-1-1-1-1		계통순화 및 계통선발 (연노랑색 선발)
2003	3090		강원대학교 이해익교수가 a-glucosidase inhibitor 성분분석 및 고함량 확인 및 선발
2004	3768		성분분석결과 AGI 고함량 우수계통선발
2005	1620		성분분석결과 AGI 고함량 우수계통 선발
2006	1620		채종시험 및 생산력검정시험 및 선발
2007	당조고추로 명명함		종자번호 2321 생산력검정시험 등

라) 기 타

- (1) 2005년부터 농림기술관리센터의 농림기술개발사업 지원으로 강원대학교 이해익 교수, 원예연구소 조명철 박사와 공동 연구하여 육성된 품종입니다.
- (2) 혈당을 저하시키는 a-glucosidase inhibitor가 일반 고추에 비하여 다량 함유 되어 있는 기능성 품종입니다.
- (3) 수량성이 높고 연노랑색에서 적색으로 착색됩니다.
- (4) 과실비대기에 비료부족으로 품질이 떨어지지 않도록 연속적인 추비를 하여야 합니다.

9) 품종 특성기술서

1. 종명 및 학명 : 고추 (<i>Capsicum annuum</i> L.)
2. 품종명 : 당조 (Dangjo)
3. 식물체의 주요 형태적 특성 - 과실 성숙전 색이 연노랑색이다.
4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성 - 과실 성숙전 색이 다르다. - 신미가 약간 있다.
5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술 - 출원품종을 2회 생산력검정을 한 결과 과실 성숙전 색에서 균일성과 안정성이 입증되었다.
6. 출원품종을 구별하는데 도움이 되는 추가 정보 - AGI(a-glucosidase inhibitor) 성분이 다량 함유되어 있다.
7. 품종육성에 관한 정보 7.1 위 품종은 유전적 변형기술을 이용하여 육성된 품종(GMO)입니까? 예(), 아니오(0) 7.2 유전적변형기술에 의한 품종(GMO)인 경우 보건복지부고시 1997-12호의 “유전자 재조합체 실험지침”이나 농촌진흥청의 “농림축산업 관련 유전자 재조합체 실험 및 취급지침[연협51800-42(‘99. 1. 28)]” 또는 국제규정에 의해 실험을 실시하였습니까? 예(), 아니오() 7.3 관련규정에 의해 실험을 실시한 경우 안전성 결과를 첨부하였습니까? 예(), 아니오() ※ 질문 3에서 아니오에 해당되는 경우 안전성 결과가 제출되기 전에는 다음의 절차가 진행되지 않습니다. 가. 품종의 심사(품종보호출원품종의 경우) 나. 품종생산·수입·판매신고필증의 교부(품종생산·수입·판매 신고품종의 경우)

10) 현재 품종보호출원증이고 시교를 농가에 분양하여 재배 시험중 임

11) 육성품종 사진



미숙과의 착과 및 과실특성

성숙과의 착과 및 과실특성

제 2 절 고추로부터 AGI의 개발

1. α -Glucosidase 저해제의 분리 정제 및 구조 결정

가. 연구목적

고추로부터 분리한 AGI의 정제 및 구조결정

나. 재료 및 방법

건조된 고추 잎 분말 2 kg을 20 L의 70% EtOH로 상온에서 12시간 동안 교반 추출하였고, 그 추출물을 감압 농축하여 총 추출물 682.7 g을 얻었다. 이렇게 얻어진 1차 추출물을 증류수로 현탁한 다음 동량의 dichloromethane과 ethanol을 가하여 충분히 진탕 교반한 후 방치 분획하였다. 유기 용매층 (dichloromethane -ethanol)을 취한 후 수층에 동량의 dichloromethane 가하여 같은 방법으로 분획하였다. 이렇게 얻어진 유기 용매층을 모아 회전 감압 농축하여 1차 활성 분획 (144.6 g)을 얻었다. 이렇게 얻은 활성 분획에 일정량의 증류수를 가하여 현탁 시키고, dichloromethane만을 가하여 충분히 진탕 교반 후 방치 분획하여 dichloromethane층을 제거하고, 수층에 재차 dichloromethane과 ethanol 혼합액 (1:1)을 동량 가하고 진탕 교반 후 분획하였다. 이렇게 얻어진 유기 용매층 (dichloromethane/ethanol)을 감압 농축하여 2차 활성 분획 (12.51 g)을 얻었다.

이렇게 얻어진 2차 활성 분획을 ethyl acetate : methanol (3:1)를 이용하여 silica gel column chromatography로 분획하였다. 활성이 있는 fraction을 모아 ethyl acetate : methanol (8:1)를 이용하여 silica gel column chromatography를 실시하여 fraction을 받았다. 이렇게 받은 fraction은 TLC를 이용 각각의 band를 확인하여 비슷한 band를 모아 6개의 분획 (CA-A~F)으로 나누었다. 각 분획의 활성을 측정하여 α -glucosidase 저해활성을 보이는 분획 (CA-C, 0.73 g)을 80% methanol을 이용하여 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 fraction을 받아 각 fraction의 TLC band를 이용 7개의 분획 (CA-CA~G)으로 나누었다. 이들 분획 중에 α -glucosidase 저해활성을 보이는 분획 CA-CC와 CA-CE를 methanol을 이용 recrystallization을 진행하여 각각 Apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside (AGI-6481, 0.23 g)와 Apigenin-7-O- β -D-xylo-hex-4-ulopyranoside (AGI-4433, 0.051 g)를 분리 정제 하였다. 이상의 고추 잎으로부터 α -glucosidase 저해제의 분리정제과정은 Fig. 1에 나타내었다.

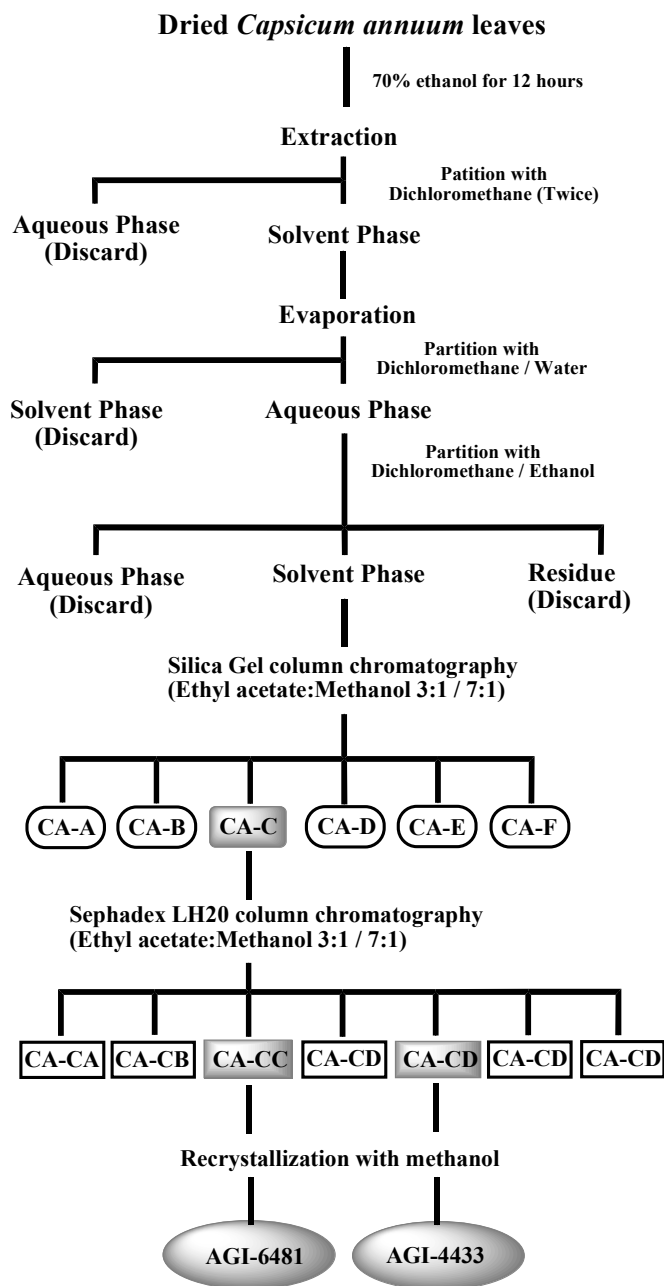


Figure 1. Diagram of purification of α -glucosidase inhibitor from *Capsicum annuum* leaves.

다. 연구결과

1) AGI-6481과 AGI-4433의 TLC band 확인

분리과정중의 분획과 정제된 AGI-6481과 AGI-4433을 TLC로 확인 하였다 (Fig. 1-1). 그 결과 AGI-4433과 AGI-6481이 Rf값 6.5와 5.7의 위치에 single band로 나타났으며, 또한 HPLC를 이용하여 순도를 검증에서 AGI-6481은 80% methanol을 mobile phase로 하여 retention time이 4.570 min인 단일 peak로 나타났으며, AGI-4433 또한 retention time이 3.910 min의 단일 peak인 확인 되었다 (Fig. 1-2).

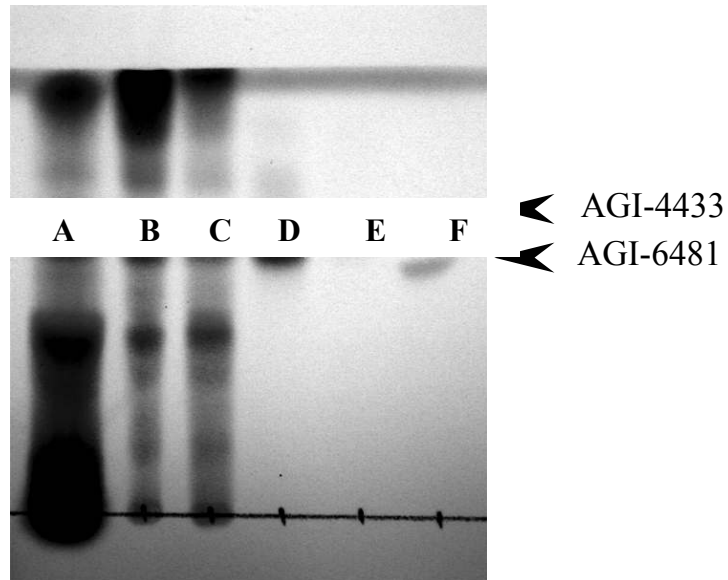


Figure 1-1. Thin layer chromatography of the extracts of *Capsicum annuum* leaves.

A: ethanol extract, partition with dichloromethane (B: solvent phase,
C: aqueous phase, D: Insoluble phase) E: purified inhibitor (AGI-4433)
F: purified inhibitor (AGI-6481)

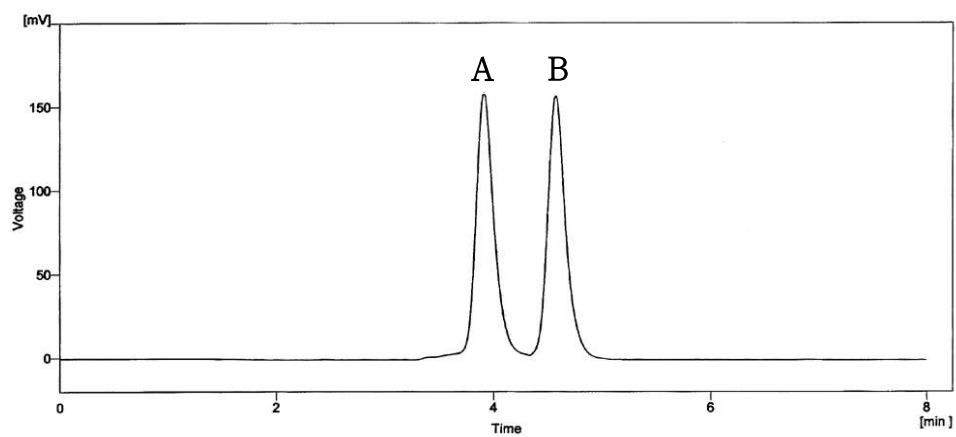


Figure 1-2. HPLC chromatogram of AGI-6481(A) and AGI-4433(B) from leaves of *Capsicum annuum*.

2) Apigenin-7-O-β-D-glucopyranoside의 구조 분석

Compound 1 : Apigenin-7-O-β-D-glucopyranoside (AGI-6481)

C₂₁H₂₀O₁₀

yellow amorphous powder, mp: 190°C

IR (neat): 3425, 3054, 2987, 2685, 1612, 1421, 1265, 1156 cm⁻¹

MALDI-TOF MS (*m/z*): 433 [M+H⁺], 271

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 12.98 (s, 1 H), 10.40 (bs, 1 H), 7.95 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6'), 6.92 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.88 (d, 1 H, *J* = 2.1 Hz, H-8), 6.87 (s, 1 H, H-3), 6.49 (d, 1 H, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.39 (d, 1 H, *J* = 4.7 Hz), 5.12 (d, 1 H, *J* = 4.5 Hz, H-1"), 5.05 (t, 1 H, *J* = 5.8 Hz), 4.12 (t, 1 H, *J* = 5.7 Hz, H-2"), 3.68 (dd, 1 H, *J* = 9.4, 4.61 Hz, H-3"), 3.40-3.47 (m, 1 H, H-5"), 3.13-3.23 (m, 2 H, H-6"a, 6"b) ppm

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 182.88 (4), 165.10 (2), 163.80 (7), 162.25 (5), 161.95 (4'), 157.79 (9), 129.48 (2', 6'), 121.84 (1'), 116.85 (3', 5'), 106.18(10), 103.95 (3), 100.72 (1"), 100.35 (6), 95.68 (8), 78.02 (5"), 77.28 (3"), 73.94 (2"), 70.34 (4"), 61.44 (6") ppm

AGI-6481은 옅은 노란색의 결정성 물질로 melting point가 190°C로 측정되었다. AGI-6481의 IR spectrum은 Fig. 2-1에 나타내었으며, 3425 cm⁻¹에 -OH기에 기인하는 흡수 band가 나타났고, unsaturated C=O에 기인하는 1612 cm⁻¹, 1421 cm⁻¹에 aromatic C=C에 기인하는 흡수 band가 나타났다. 그리고 1156 cm⁻¹에 당분자의 C-O에 기인하는 흡수 band가 나타났다. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) spectrum에서 δ 7.95 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6')와 6.92 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H-3', 5') ppm에서 doublet으로 갈라지는 peak와 δ 6.87, 6.49 ppm의 singlet peak로부터 이 화합물의 골격을 apigenin으로 추정하였다 (Fig. 2-3). 또한 δ 5.12 (d, 1 H, *J* = 4.5 Hz) ppm의 anomeric proton을 확인하였다. anomeric proton의 spectrum상 위치와 coupling constant를 문헌 (Markham *et al.* 1986)과 비교하여 O-glycoside가 apigenin에 β-linkage로 연결되어 있음을 추정할 수 있었다. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) spectrum에서 δ 100.72, 78.02, 77.28, 73.94, 70.34, 61.44 ppm에서 당에 의한 carbon의 peak를 관찰 할 수 있었고, δ 182.88 ppm에 있는 C-4를 확인하였다 (Fig. 2-2). 다음 ¹³C-¹H COSY spectrum에서 C-3와 일치하는 H-3을 확인하였고, 2개의 H-2', 6'과 correlation하는 C-2', 6'을 확인하였다 (Fig. 2-4). 또한 ¹³C-¹H COSY에서 H-6와 일치하는 C-6를 확인했다. Glucose가 6번에 존재할 경우를 ¹H NMR spectrum (Markham *et al.* 1986)을 보면 H-3과 H-8이 각각 6.88과 6.87 ppm에 존재한다. 이 결과는 AGI-6481과 일치하는 결과로 이 화합물은 6번에 glucose가 붙은 것으로 추론하였다. MALDI-TOF MS spectrum으로 분자량 ([M+H⁺]) peak *m/z* 433을 확인할 수 있었으며, 당 분자가 탈리되어

aglycone에 해당하는 fragment ion이 m/z 271에서 base peak로 나타났다 (Fig. 2-5). 이상의 결과로 미루어 볼 때 이 화합물의 구조가 Apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside임을 확인할 수 있었다 (Fig. 3-4).

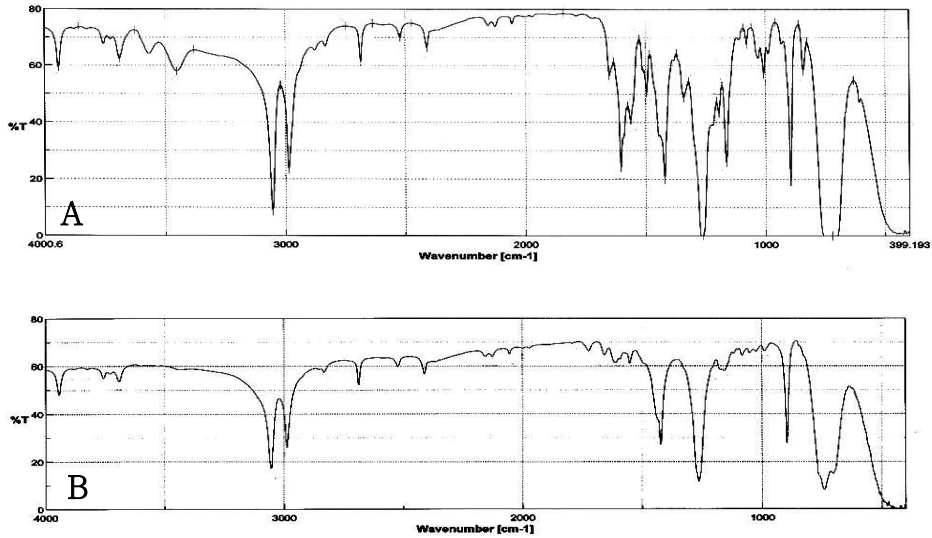


Figure 2-1. Fourier-transform infrared (FT-IR) spectrum of AGI-6481 (A) and AGI-4433 (B) from leaves of *Capsicum annuum*.

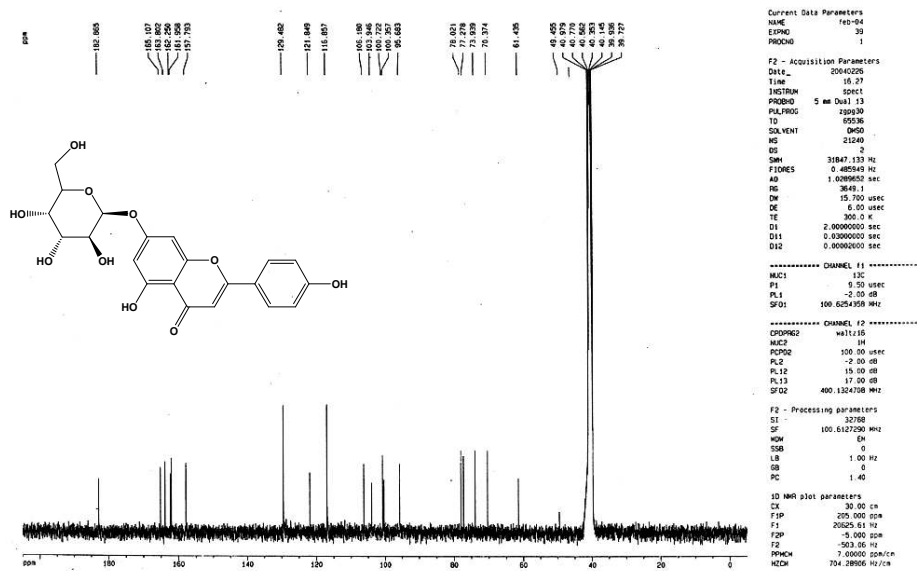


Figure 2-2. ^{13}C NMR spectrum of Apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside (AGI-6481).

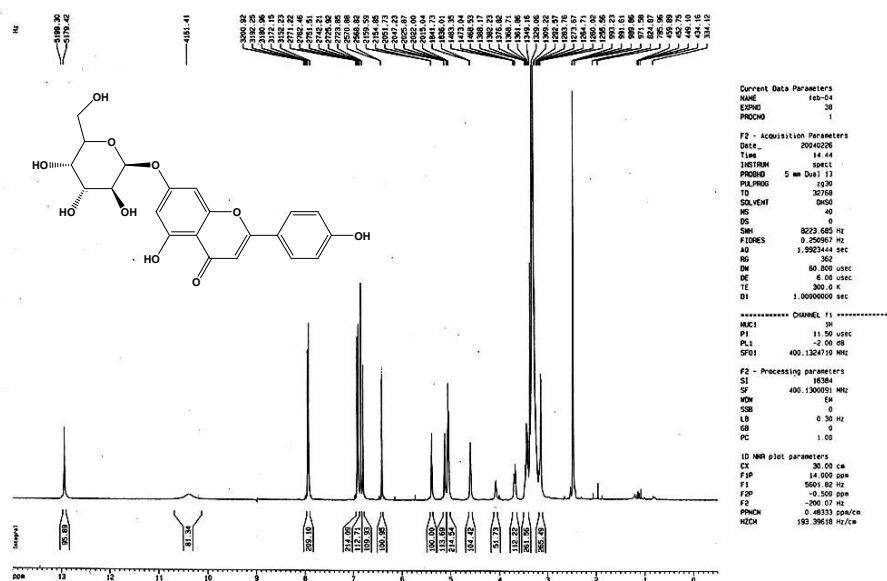


Figure 2-3. ^1H NMR spectrum of Apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside (AGI-6481).

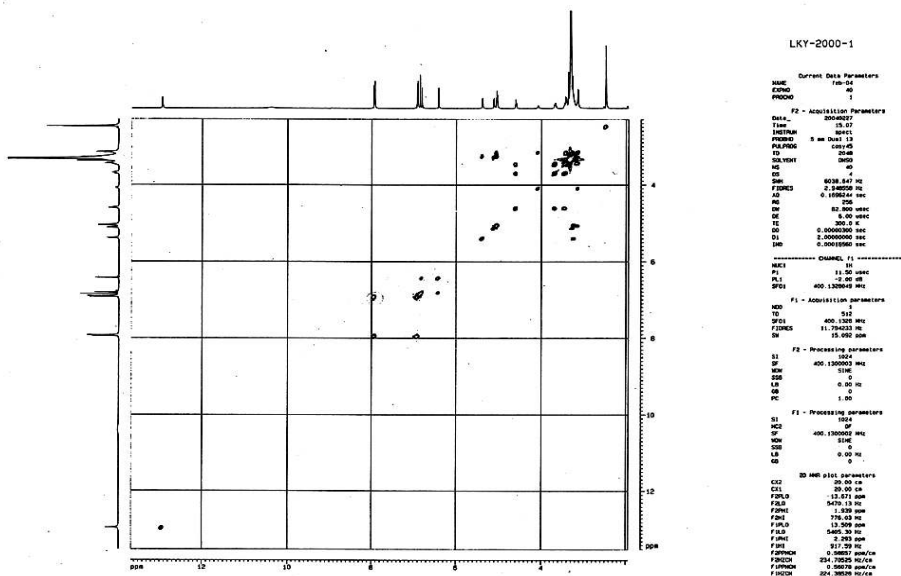


Figure 2-4. ^1H - ^1H COSY NMR spectrum of Apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside (AGI-6481).

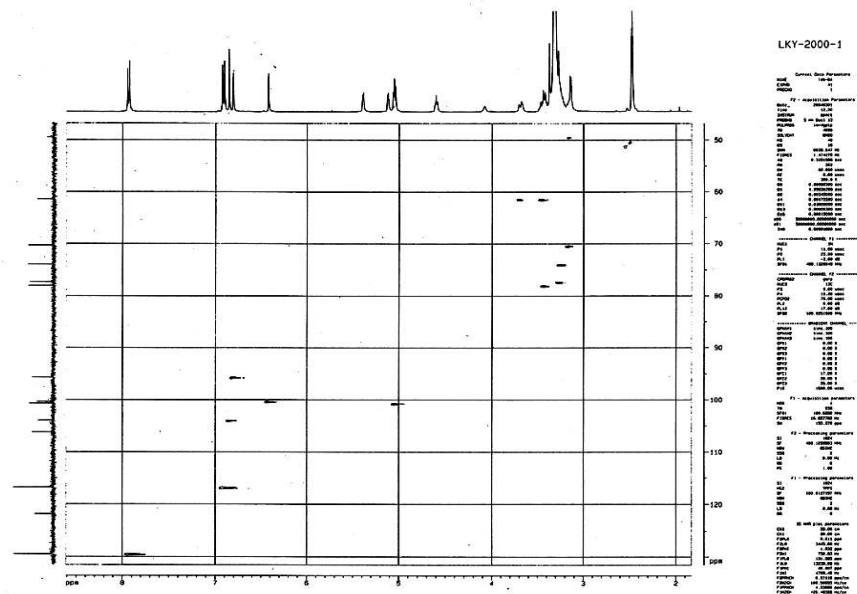


Figure 2-5. HMQC NMR spectrum of Apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside (AGI-6481).

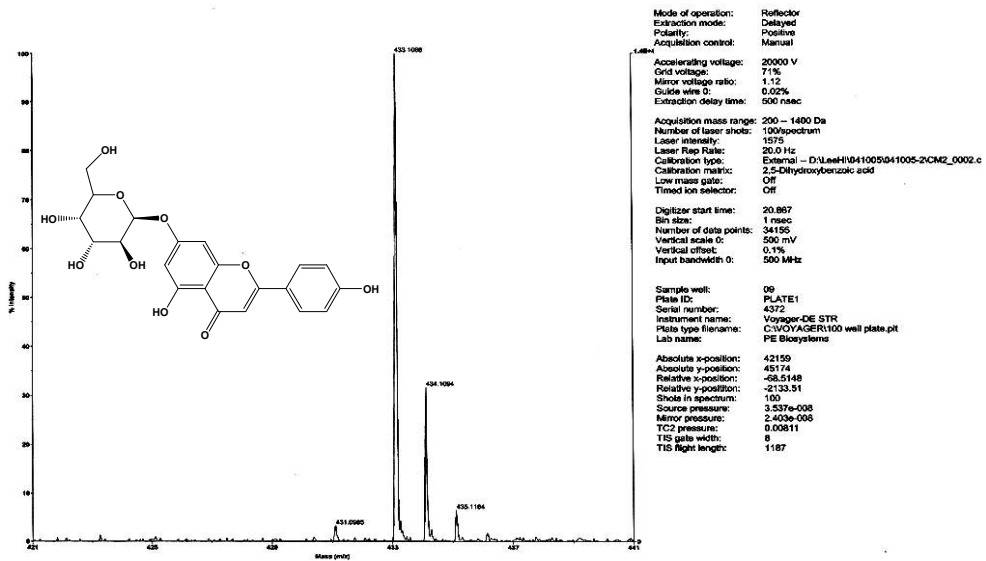


Figure 2-6. MALDI-TOF mass spectrum of Apigenin-7-O- β -D-xylo-hex-4-ulopyranoside (AGI-6481).

3) Apigenin-7-O-β-D-xylo-hex-4-ulopyranoside의 구조 분석

Compound 2 : Apigenin-7-O-β-D-xylo-hex-4-ulopyranoside (AGI-4433)

C₂₁H₁₈O₁₀

yellow amorphous powder, mp: 170°C (DEC)

IR (neat): 3453, 3054, 2986, 2685, 1604, 1421, 1260, 1163, 1008 cm⁻¹

MALDI-TOF MS (*m/z*): 431 [M+H⁺], 271

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 12.98 (s, 1 H), 10.40 (bs, 1 H), 7.95 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6'), 6.92 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H-3', 5'), 6.88 (d, 1 H, *J* = 2.1 Hz, H-8), 6.87 (s, 1 H, H-3), 6.49 (d, 1 H, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.77 (d, 1 H, *J* = 5.9 Hz), 5.52 (d, 1 H, *J* = 5.7 Hz), 5.26 (d, 1 H, *J* = 7.9 Hz, H-1"), 4.91 (t, 1 H, *J* = 5.2 Hz), 4.32 (t, 1 H, *J* = 6.2 Hz, H-2"), 4.18 (dd, 1 H, *J* = 9.4, 4.61 Hz, H-3"), 3.78-3.75 (m, 1 H, H-5"), 3.64-3.58 (m, 2 H, H-6"a, 6"b) ppm

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 206.44 (4"), 182.88 (4), 165.20 (2), 163.13 (7), 162.34 (5), 162.06 (4'), 157.79 (9), 129.50 (2', 6'), 121.77 (1'), 116.87 (3', 5'), 106.43 (10), 103.99 (3), 101.25 (1"), 100.30 (6), 95.76 (8), 77.53 (5"), 76.93 (3"), 72.74 (2"), 61.23 (6") ppm

AGI-4433은 옅은 노란색의 결정성 물질로 melting point 측정에서는 AGI-6481과는 달리 170°C에서 decompose되는 것으로 측정되었다. AGI-4433의 IR spectrum은 Fig. 2-1에 나타내었으며, 3453 cm⁻¹에 -OH기에 기인하는 흡수 band가 나타났고, unsaturated C=O에 기인하는 1604 cm⁻¹, 1421 cm⁻¹에 aromatic C=C에 기인하는 흡수 band가 나타났다. 그리고 1163 cm⁻¹에 당분자의 C-O에 기인하는 흡수 band가 나타났다. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) spectrum에서 δ 7.95 (d, 2 H, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6')와 6.92 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H-3', 5') ppm에서 doublet으로 갈라지는 peak와 δ 6.87, 6.49 ppm의 singlet peak로부터 이 화합물의 골격을 apigenin으로 추정하였다 (Fig. 3-2). 또한 δ 5.26 (d, 1 H, *J* = 7.9 Hz) ppm의 anomeric proton을 확인하였다. anomeric proton의 spectrum상 위치와 coupling constant를 문헌 (Markham *et al.* 1986)과 비교하여 O-glycoside가 apigenin에 β-linkage로 연결되어 있음을 추정할 수 있었다. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) spectrum에서는 AGI-6481과는 달리 δ 101.25, 77.53, 76.93, 72.74, 61.3 ppm에서 당에 의한 carbon의 peak 5개를 관찰할 수 있었으며, C-4"가 ketone 형태로 δ 206.44 ppm의 위치로 shift된 것이 관찰되었다 (Fig. 3-1). C-4"의 shift를 제외하고는 AGI-6481의 ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) spectrum과 완전히 일치하는 것으로 두 화합물이 매우 유사하며, glucose의 4번째 carbon의 C-OH기가 C=O의 ketone형으로 변경된 것으로 추정되었다. Glucose가 6번에 존재할 경우를 ¹H NMR spectrum (Markham *et al.* 1986)을 보면 H-3과 H-8이 각각 δ 6.88과 6.87 ppm에 존재한다. 이 결과는 AGI-6481과 마찬가지로 AGI-4433과도 일치하는 결과로 이 화합물은 6번에

glucose가 붙은 것으로 추론하였다. MALDI-TOF MS spectrum으로 분자량 ($[M+H^+]$) peak m/z 431을 확인할 수 있었으며, 당 분자가 탈리되어 aglycone에 해당하는 fragment ion이 m/z 271에서 base peak로 나타났다 (Fig. 3-3). 이상의 결과로 미루어 볼 때 이 AGI-4433의 구조는 Apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside의 구조에서 glucose의 4번째 carbon이 ketone형태로 바뀐 Apigenin-7-O- β -D-xylo-hex-4-ulopyranoside임을 확인할 수 있었다 (Fig. 3-4).

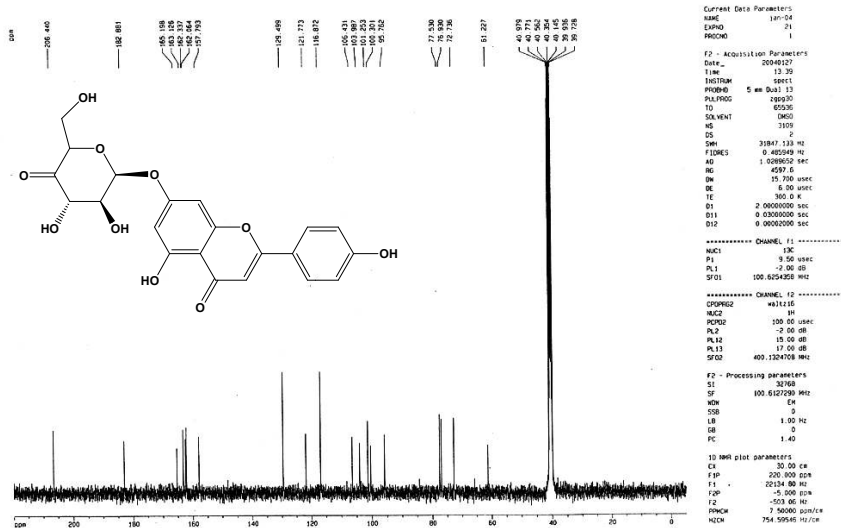


Figure 3-1. ^{13}C NMR spectrum of Apigenin-7-O- β -D-xylo-hex-4-ulopyranoside (AGI-4433).

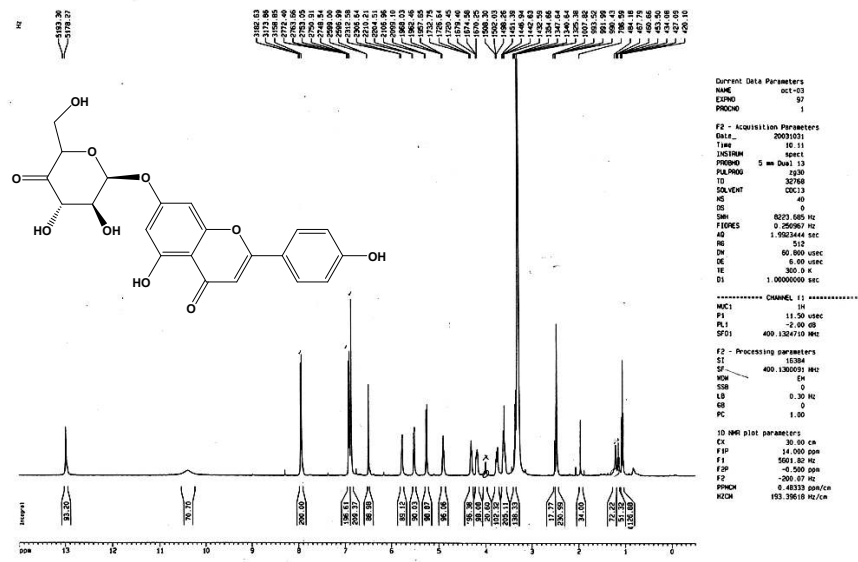


Figure 3-2. ^1H NMR spectrum of Apigenin-7-O- β -D-xylo-hex-4-ulopyranoside (AGI-4433).

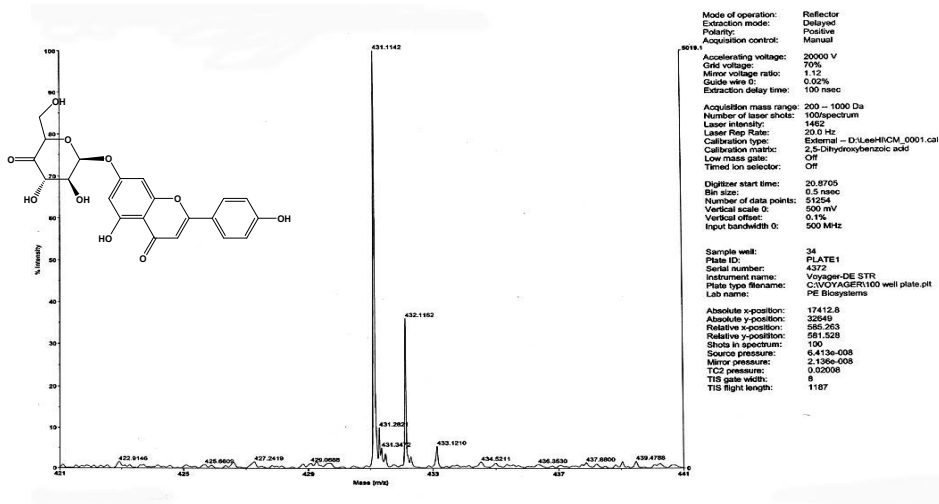


Figure 3-3. MALDI-TOF mass spectrum of Apigenin-7-O-β-D-xylo-hex-4- ulopyranoside (AGI-4433).

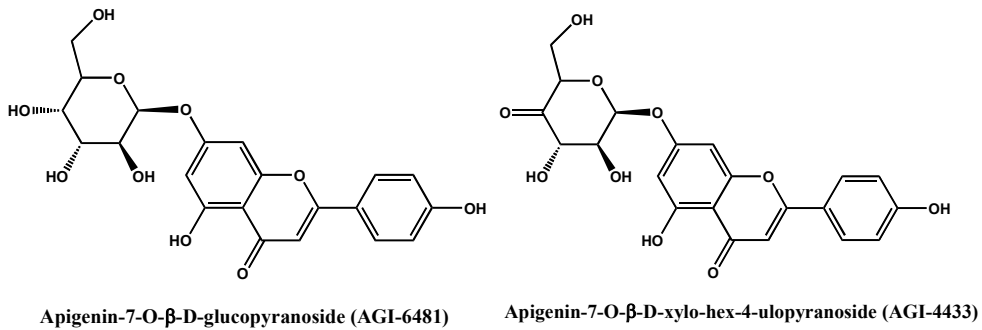


Figure 3-4. Chemical structures of α-glucosidase inhibitor from *Capsicum annuum* leaves.

2. AGI의 이화학적 특성구명

가. 연구목적

고추로부터 분리한 AGI의 혈당강하 기능성을 확인하여 고추의 계통육성 및 품종화에 기여하고자 함

나. 재료 및 방법

1) 재료

실험에 사용한 α -glucosidase는 각각 돼지 소장, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus stearothermophilus* 기원의 효소를 이용하였으며, β -glucosidase로는 Almonds기원의 효소를 사용하였다. 돼지 소장 기원의 α -glucosidase은 다음과 같은 과정으로 제조하였다. 우선 돼지 소장을 전부 전개하여 놓고 접막을 slide glass로 긁어모았다. 모아진 접막에 5배 (w/v)의 0.5 M NaCl, 0.5 M KCl, 5 mM EDTA (pH 7.0) 용액을 가하여 S-10 Direct Driven Stirrer로 5분간 균질화 한 후 20,000 g에서 30분간 원심분리 하였다. 침전에 다시 EDTA 용액을 가하여 원심분리 하는 과정을 2~3회 반복하여 얻은 침전에 5배의 0.9% NaCl 용액을 가하여 균질화 한 후 1,000 g에서 30분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 하루 동안 투석하여 이를 효소원으로 사용하였다. 이 효소원을 -80°C 에 보관하면서 필요시 꺼내어 사용하였다.

인공기질로서는 pNPG와 *p*-nitro-phenyl- β -D-glucopyranoside를 사용하였고 천연기질로서 maltose와 sucrose를 사용하였다. Glucose kit는 아산제약주식회사 제품을, 그 밖의 시약은 Sigma Chemical (St, Louis, MO, USA)을 사용하였다.

2) 기기

저해제의 분리정제를 위하여 Silica gel (Merck, 60F, 70~230 mesh, USA) 및 Sephadex LH-20 (Pharmacia, bead size 25~100 μm , Sweden) column chromatography, HPLC (Hewlett - Packard, Germany)를 이용하였다. 저해물질의 구조해석과 질량분석을 위하여 NMR (Bruker DPX 400 MHz, USA)와 Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry (MALDI-MS, Voyager-DE STR, Applied Biosystems, USA)를 사용하여 구조를 확인하였다. 효소활성 및 단백질 정량은 U-3210 spectrophotometer (Hitachi, Japan)를, 식물 파쇄는 BM-2 homogenizer (Nihonseiki Kaisha LTD, Japan)를, 감압건조는 Rotary Evaporator RE47 (Yamato Scientific Co., LTD, Japan)을 소장접막 균질화는 S-10 Direct Driven Stirrer (Hana Instruments)를 사용하였으며 시료 원심분리는 J2-MC centrifuge (Beckman Coulter, Inc, USA)를 사용하였다.

3) α -Glucosidase 저해제의 분리정제

고추잎으로부터 AGI의 분리를 위한 과정은 1차년도와 같은 방법으로 AGI 4433과 AGI 6481을 획득하였다. 즉, 건조된 고추 잎 분말을 70% ethanol로 추출하여 dichloromethane 과 물 등을 이용하여 fractionation을 하여 활성 분획을 얻었다. 활성분획을 silica gel과 Sephadex LH20 column chromatography를 통해 α -glucosidase 저해제를 분리정제 하였다. 이렇게 분리 정제된 α -glucosidase 저해제를 methanol를 이용한 recrystallization을 통해 순수 분리하였다. 수 분리된 고추 잎 기원 α -glucosidase 저해제를 HPLC, FT - IR, ^{13}C , ^1H NMR, MALDI-TOF MS를 통해 구조 및 질량을 확인하였다. 추출물의 확인과 정제과정중의 정제 정도의 확인은 TLC (silica gel 60 F254, Merck)로 하였다. TLC의 전개는 hexane : methanol : ethyl acetate = 5 : 1 : 1을 전개용매로 진행하였으며, band는 5% 황산을

spray한 후 hot-plate로 태워 확인하였다. TLC를 이용한 α -glucosidase 활성 band를 확인하기 위해 시료를 TLC로 전개시키고 각 band를 scratch하여 ethanol로 추출한 후 α -glucosidase 저해활성을 측정하였다.

4) α -Glucosidase에 대한 저해 활성 측정

α -Glucosidase에 대한 저해 활성은 *p*NPG를 기질로 하여 측정하였다. 75 mU/ml α -Glucosidase와 저해제를 pH 7.0, 37°C에서 15분간 preincubation 한 후 3 mM *p*NPG를 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 0.1 M Na₂CO₃를 가하여 반응을 정지 시켰다. 필요에 따라 0.1 M Na₂CO₃로 희석한 후 400 nm에서 흡광도를 측정하였다. 저해제를 적당히 희석하여 그 저해 활성을 알아보았으며, 저해제를 대신하여 buffer를 넣어준 반응액과의 흡광도 차이로부터 저해율을 계산하였다. 이때 기질인 *p*NPG가 들어있지 않은 반응액을 blank로 하여 흡광도를 측정하였다.

5) Disaccharase 저해활성의 측정

Disaccharase에 대한 저해활성은 maltose 또는 sucrose를 기질로 하여 측정하였다. 돼지 소장기원의 부분 정제된 disaccharase 100 μ l와 저해제 50 μ l를 pH 7.0, 37°C에서 15분간 preincubation 한 후 각각의 기질 (maltose: 2 mM; sucrose: 15 mM) 500 μ l을 가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 반응액을 100°C에서 5분간 처리하여 반응을 정지시켰으며, 각각의 기질로부터 생성된 glucose의 양은 glucose kit를 이용하여 측정하여 저해제를 대신하여 buffer를 넣어준 반응액과의 흡광도 차이로부터 저해율을 계산하였다. 이때 기질인 maltose나 sucrose가 들어있지 않은 반응액을 blank로 하여 흡광도를 측정하였다.

6) Disaccharase 저해 활성에 대한 kinetics

분리 정제된 저해제의 농도를 각각 달리하여 다른 농도의 maltose (0.125 - 4 mM)와 sucrose(0.94 - 30 mM)에서의 저해 활성을 측정하였다. 이렇게 측정한 저해 활성을 이용 Lineweaver-Burk plot (1/S vs 1/V)으로 나타내어 저해 활성의 kinetic에 대해 알아보았다. *K_i* 값은 다음의 수식으로 계산하였다

$$K_i = I / (K_m' / K_m - 1)$$

I: 저해제의 농도, *K_m*: Michaelis 상수, *K_m'*: 저해제가 존재할 때의 Michaelis 상수.

7) AGI의 열 및 pH안정성

AGI의 가공 특성을 구명하기 위하여 위내에서의 체류시간을 고려한 pH 2.0에서 37°C, 60분간, 100°C에서 60분간 노출하여 안정성을 검토하였다. AGI를 주어진 pH 및 온도 조건에 노출 시킨 후 잔여 활성을 측정하여 처리전의 활성과 비교하여 안정성을 구하였다.

다. 연구결과

1) 돼지 소장으로부터 disaccharase의 부분정제

분리 정제된 AGI-6481과 AGI-4433의 소장 기원 disaccharase에 대한 IC₅₀ 및 K_i 값 등의 저해 mechanism과 kinetic을 보다 정확히 알아보기 위해 돼지 소장의 추출물로부터 disaccharase의 분리 정제를 진행하였다. 먼저 20 mM EDTA, 20 mM cysteine을 함유하는 extraction buffer에 papain을 1 mg/ml이 되도록 첨가하여 불활성화 되어 있는 protease를 활성화 시켰다. 이렇게 활성화된 papain을 소장 추출물 50 µg/ml이 되도록 가하여 37°C에서 90분간 반응을 시켰다. 반응이 끝난 후 원심 분리하여 상등액을 조효소액으로 하여 DEAE-sepharose column chromatography (2.5 × 10 cm)에 실시하였다. Papain 처리를 통해 얻어진 soluble한 조효소액 20 ml를 column에 loading (1 mg protein/ml)하고, 1 column volume의 buffer로 washing을 하였다. Elution은 NaCl을 0 - 500 mM이 되도록 linear gradient를 실시하였으며, fraction은 각 4 ml이 되도록 80개를 받았다. 이렇게 받은 각 fraction의 protein의 양과 disaccharase 활성, conductivity를 측정하여 도식화 하였다 (Fig. 4). Disaccharase의 활성은 pNPG를 기질로 하는 total α-glucosidase, maltose를 기질로 하여 maltase, 그리고 마지막으로 sucrose를 기질로 하여 sucrase 활성을 각각 측정하였다. 그 결과 NaCl gradient를 걸고 난 후 fraction 40에서 55번에 걸쳐 disaccharase 활성이 검출되기 시작하였으며, 상대적인 단백질의 양은 현저하게 줄어들었음을 알 수 있었다. 단위 단백질당 효소 활성은 정제 전에 비해 sucrase의 경우 약 1.5배 활성을 증가된 효소액을 얻을 수 있었으며, total α-glucosidase는 약 1.8배 그리고 maltase의 활성은 단위 단백질당 활성에 있어서 정제 전에 비해 2배 이상의 정제율을 보였다.

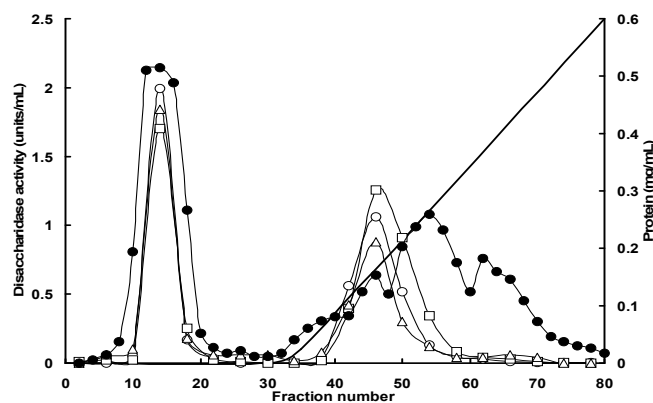


Figure 4. Affinity chromatography of disaccharase from porcine small intestine with DEAE-sepharose column chromatography. Elution with 0 - 500 mM NaCl gradient. ●: Protein; ○: α-glucosidase; □: Maltase; △: Sucrase; —: Conductivity.

이들 disaccharase는 chromatography상에 같은 농도의 NaCl에서 elution되는 것으로 확인 되었으며, 이러한 결과는 이들 서로 다른 disaccharase가 구조상 큰 차이를 보이지 않기 때문인 것으로 해석된다. 이렇게 부분 정제된 disaccharase를 이용하여 분리 정제된 고추 잎 기원의 α -glucosidase 저해제의 IC_{50} , reversibility, kinetics 그리고 K_i 값 등의 저해 mechanism의 연구에 이용하였다.

2) α -Glucosidase에 대한 저해 활성

α -Glucosidase에 대한 저해 활성을 알아보기 위해 시판품인 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Bacillus stearothomophilus* 기원의 α -glucosidase와 부분 정제한 돼지 소장 기원의 disaccharase (maltase, sucrase)를 사용하였다. 또한 β -glucosidase로는 Almond 기원의 효소를 사용하였다. 실험은 각각의 효소에 대한 AGI-4433과 AGI-6481의 저해활성을 측정하여 효소활성의 50%를 저해시키는데 필요한 저해제의 농도 (IC_{50})로 나타내었다. 이때 기존의 의약품으로 널리 이용되고 있는 α -glucosidase 저해제인 Acarbose와 Voglibose의 IC_{50} 을 control로 하여 비교하였다 (Table 1). AGI-6481은 돼지 소장 기원의 maltase와 sucrase에 대한 IC_{50} 이 각각 320, 382 μ g/ml로 나타났으며, AGI-4433은 2.3, 3.8 μ g/ml로 나타났다. AGI-6481의 glucose가 4번 carbon의 -OH기가 ketone형으로 변형된 AGI-4433이 AGI-6481보다 maltase과 sucrase 모두에 대해 150배에서 약 100배의 높은 저해활성을 보이는 것으로 나타났다. 이는 AGI-6481이 기존의 의약품인 Acarbose나 Voglibose에 비해 현격히 낮은 활성을 보였던 과는 달리 AGI-4433은 Acarbose와 비교했을 때 maltase에 대해서는 비슷한 저해활성을 보이는 것으로 나타났다. 또한 sucrase에 대해서는 Acarbose보다 오히려 2배정도 높은 저해활성을 보이는 것으로 나타났다. 하지만 Voglibose와 비교했을 때는 maltase의 경우 약 10배, sucrase의 경우 약 20배 정도 낮은 저해활성을 보이는 것으로 나타났다. 미생물의 α -glucosidase에 대한 저해활성에 대한 실험에서는 AGI-6481과 AGI-4433 모두 저해활성이 없는 것으로 나타났으며, 이는 기존의 의약품인 Acarbose와 Voglibose에서도 같은 결과를 나타내었다. 또한 식물 기원의 Almond β -glucosidase에 대한 저해활성의 연구에서도 AGI-6481과 AGI-4433은 물론 Acarbose와 Voglibose 모두 저해활성이 없는 것으로 나타났다. 이들 저해제의 기원별 효소에 대한 저해활성의 차이는 α -glucosidase가 기원별 구조적 차이로 크게 Type I과 Type II로 나뉘는데 이상의 결과로 볼 때 AGI-6481과 AGI-4433은 그 저해활성이 기존의 저해제와 비슷하거나 다소 차이를 보이는 것으로 나타났으나, origin에 따른 α , β -glucosidase에 대한 감수성은 같은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 고추 잎 기원이 α -glucosidase 저해제가 기존의 저해제와 같은 저해 mechanism을 갖고 있기 때문인 것으로 보인다.

Table 1. Inhibitory effect of AGI-6481, AGI-4433, Acarbose and Voglibose against α - and β -glucosidase from various origin.

	IC ₅₀ ^a (μ g/ml)			
	AGI-6481	AGI-4433	Acarbose	Voglibose
Porcine small intestine maltase	320.0	2.3	2.2	0.2
Porcine small intestine sucrase	382.0	3.8	6.2	0.2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> α -glucosidase	NI ^b	NI	NI	NI
<i>Bacillus stearothomophilus</i> α -glucosidase	NI	NI	NI	NI
Almond β -glucosidase	NI	NI	NI	NI

^a IC₅₀ value is defined as the concentration of α - and β -glucosidase inhibitor to inhibit 50% of its activity under the assayed conditions, and 3 mM pNPG and p-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside was used as a substrate in this assay. ^bNI: no inhibition

3) α -Glucosidase에 대한 reversibility

고추 잎에서 분리 정제한 AGI-6481과 AGI-4433의 돼지 소장 기원의 α -glucosidase에 대한 가역성 여부를 알아보았다. 먼저 저해제를 적당히 희석하여 저해율이 약 50% 내외가 되도록 하여 실험에 사용하였다. 이때 기존의 저해제인 Acarbose와 Voglibose를 control로 하여 비교하였다. 먼저 적당히 희석된 저해제를 돼지 소장에서 부분 정제한 효소액과 혼합하여 12시간동안 4°C에서 투석하였으며, 투석액은 매 4시간마다 갈아주었다. 이렇게 투석한 저해제와 효소액의 혼합물의 α -glucosidase 활성을 측정하였다. 측정된 활성은 저해제를 대신하여 buffer를 첨가한 혼합액의 활성을 control로 하여 각각의 저해활성을 계산하였다. 이렇게 측정된 저해율을 저해제와 혼합하여 투석을 하지 않고 4°C에서 24시간 방치한 시료의 저해 활성과 비교하여 가역성 여부를 확인하였다. 그 결과 AGI-6481과 AGI-4433 모두 12시간 투석 후의 활성이 투석을 하지 않은 것의 48%와 43%에 비해서 전혀 활성을 나타내지 않았다 (Table 2). 이는 고추 잎에서 분리 정제한 AGI-6481과 AGI-4433은 돼지 소장 기원의 α -glucosidase에 대해서 가역적인 저해제인 것을 보여준다. 고추 잎 기원의 α -glucosidase 저해제와 같이 Acarbose와 Voglibose 모두 돼지 소장기원의 α -glucosidase에 대한 가역적 저해제인 것으로 나타났다. 하지만 이들 저해제들은 AGI-6481과 AGI-4433의 저해활성이 투석 후에 전혀 남아 있지 않았던 것과 달리 Acarbose의 경우 전체 활성의 40%정도가 Voglibose의 경우 약 69%의 저해활성이 남아 있는 것으로 나타났다. 이는 AGI-6481과 AGI-4433 모두 Acarbose, Voglibose와 같이 α -glucosidase에 대해 가역적이거나

결합력이 상대적으로 약해 투석 후 활성이 전혀 남아있지 않은 것을 나타내며, 또한 Voglibose의 경우 Acarbose에 비해서도 약 2배정도 α -glucosidase에 대한 결합력이 뛰어난 것으로 나타났다. 이러한 가역성 여부와 상대적인 결합력으로 이들을 의약품으로 이용하고자 할 경우 그 복용량을 결정할 때도 이용된다. 현재까지 연구된 α -glucosidase 저해제는 Acarbose를 비롯하여 대부분이 가역적인 저해제이며, castanospermine과 그 유도체만이 비가역적 저해제이다. Acarbose, nojirimycin, 1-deoxynojirimycin 등과 같이 imino group을 가진 cyclic 당유도체들은 α -glucosidase와의 complex를 이루는 평형이 천천히 일어난다. 즉 α -glucosidase - inhibitor complex의 dissociation rate가 늦다. 그러나 indolizidine alkaloid인 castanospermine은 α -glucosidase - inhibitor complex의 dissociation constant가 acarbose에 비하여 2- 3배 작았으며, preincubation 시간이 α -glucosidase의 저해활성에 영향을 주었다. 가역적 저해제는 slow-binding inhibitor로, 비가역적 저해제는 tight-binding inhibitor로 알려져 있다. 따라서 AGI-4433의 경우 소장 기원의 disaccharidase에 대해 Acarbose와 비슷하거나 다소 높은 저해활성을 나타내지만 실제 같은 효과를 보하고자 할 경우 Acarbose 보다 복용량을 늘려야 할 것으로 나타났다.

Table 2. Effect of AGI-6481, AGI-4433, Acarbose and Voglibose on α -glucosidase activity before and after dialysis.

Inhibitor	Inhibition (%)		Remain activity (%)
	Before dialysis	After dialysis	
AGI-6481	48.2 ± 3.4*	0.2 ± 0.1	0.0
AGI-4433	43.5 ± 1.9	0.3 ± 0.1	0.0
Acarbose	51.1 ± 2.7	20.3 ± 1.9	39.8
Voglibose	49.5 ± 3.1	33.8 ± 3.0	68.2

*Mean values ± standard deviation (3 replicates).

4) Disaccharase에 대한 저해 kinetics

AGI-6481과 AGI-4433의 돼지 소장 기원의 maltase와 sucrase에 대한 저해 kinetic에 대한 연구를 진행하였다. 먼저 서로 다른 농도의 AGI-6481 (0, 420, 840 μ g/ml)과 AGI-4433 (0, 3.06, 6.13 μ g/ml)을 첨가하고 다양한 농도의 maltose를 기질로 하여 돼지 소장 기원의 maltase 활성을 측정하였다. 이렇게 측정한 다양한 농도 (S)에서의 반응 속도 (V)를 서로 다른 농도의 저해제가 존재할 때의 반응 속도와 Lineweaver-Burk plot을 이용하여 분석하였다. 그 결과 AGI-6481과 AGI-4433 모두 돼지 소장 기원의 maltase에 대해 경쟁적 저해

제로 나타냈다 (Fig. 5). Gao 등에 의해 보고된 식물기원 flavone인 baicalein (5,6,7-trihydroxyflavone)은 AGI-6481과 AGI-4433의 구조와 유사한 저해제임에도 혼합형의 저해양식으로 나타나 전혀 다른 pattern으로 보고된 바 있다. 이때 서로 다른 농도의 저해제가 존재하더라도 maltose에 대한 똑같은 Km값 (2.24×10^{-3} M)을 나타냈으며, Ki값은 AGI-6481은 433 $\mu\text{g/ml}$ 을, AGI-4433은 약 3.1 $\mu\text{g/ml}$ 을 나타냈다 (Table 3). 이들 AGI-6481과 AGI-4433의 Ki값은 Acarbose (0.68 $\mu\text{g/ml}$)와 Voglibose (0.13 $\mu\text{g/ml}$)에 비해 다소 높은 값을 나타냈다. 돼지 소장 기원의 sucrase에 대한 저해 kinetic의 연구도 서로 다른 농도의 AGI-6481 (0, 1200, 2400 $\mu\text{g/ml}$)과 AGI-4433 (0, 12.5, 25.0 $\mu\text{g/ml}$)을 첨가하고 다양한 농도의 sucrose를 기질로 하여 돼지 소장 기원의 sucrase의 활성을 측정하였다. 이렇게 측정한 다양한 농도 (S)에서의 반응 속도 (V)를 maltase에서와 같이 Lineweaver-Burk plot을 이용하여 분석하였다. 그 결과 AGI-6481과 AGI-4433 모두 돼지 소장 기원의 sucrase에 대해 경쟁적 저해제로 나타났다 (Fig. 6). Acarbose와 Voglibose, 1-deoxynojirimycin 등 이미 잘 알려진 α -glucosidase 저해제들은 모두 기질 유사체이며, 이들 모두 경쟁적 저해제인 것으로 보고되었다 (Rhinehart *et al.*, 1987; Hanozet *et al.*, 1981; Samulitis *et al.*, 1987). AGI-6481과 AGI-4433은 서로 다른 농도의 저해제가 존재하더라도 sucrose에 대한 똑같은 Km값 (2.70×10^{-2} M)을 나타냈으며, Ki값은 AGI-6481은 1420 $\mu\text{g/ml}$ 을 나타냈으며, AGI-4433은 약 17.17 $\mu\text{g/ml}$ 을 나타냈다 (Table 3). 이들 AGI-6481과 AGI-4433의 Ki값은 Acarbose (9.59 $\mu\text{g/ml}$)와 Voglibose (1.34 $\mu\text{g/ml}$)에 비해 다소 높은 값을 나타냈다.

Table 3. K_i values of AGI-6481, AGI-4433, Acarbose and Voglibose for porcine small intestinal disaccharidase.

Substrate	Km (M)	K_i ($\mu\text{g/ml}$)			
		AGI-6481	AGI-4433	Acarbose	Voglibose
Maltose	2.24×10^{-3}	433.0	3.10	0.68	0.13
Sucrose	2.70×10^{-2}	1420.0	17.17	9.59	1.34

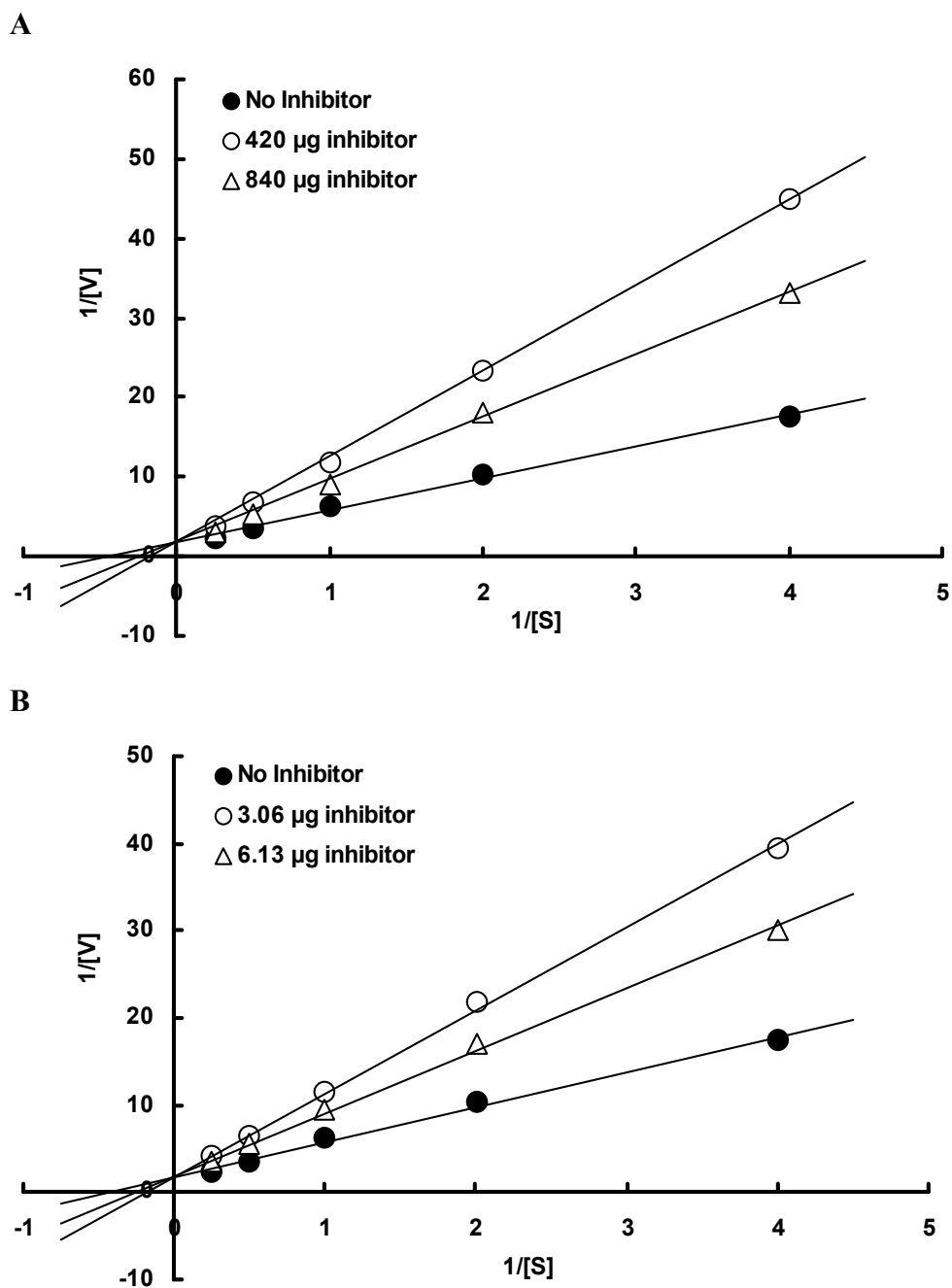


Figure 5. Lineweaver–Burk plot of the reaction of maltase from porcine small intestine in the presence of AGI-6481 (A) and AGI-4433 (B).

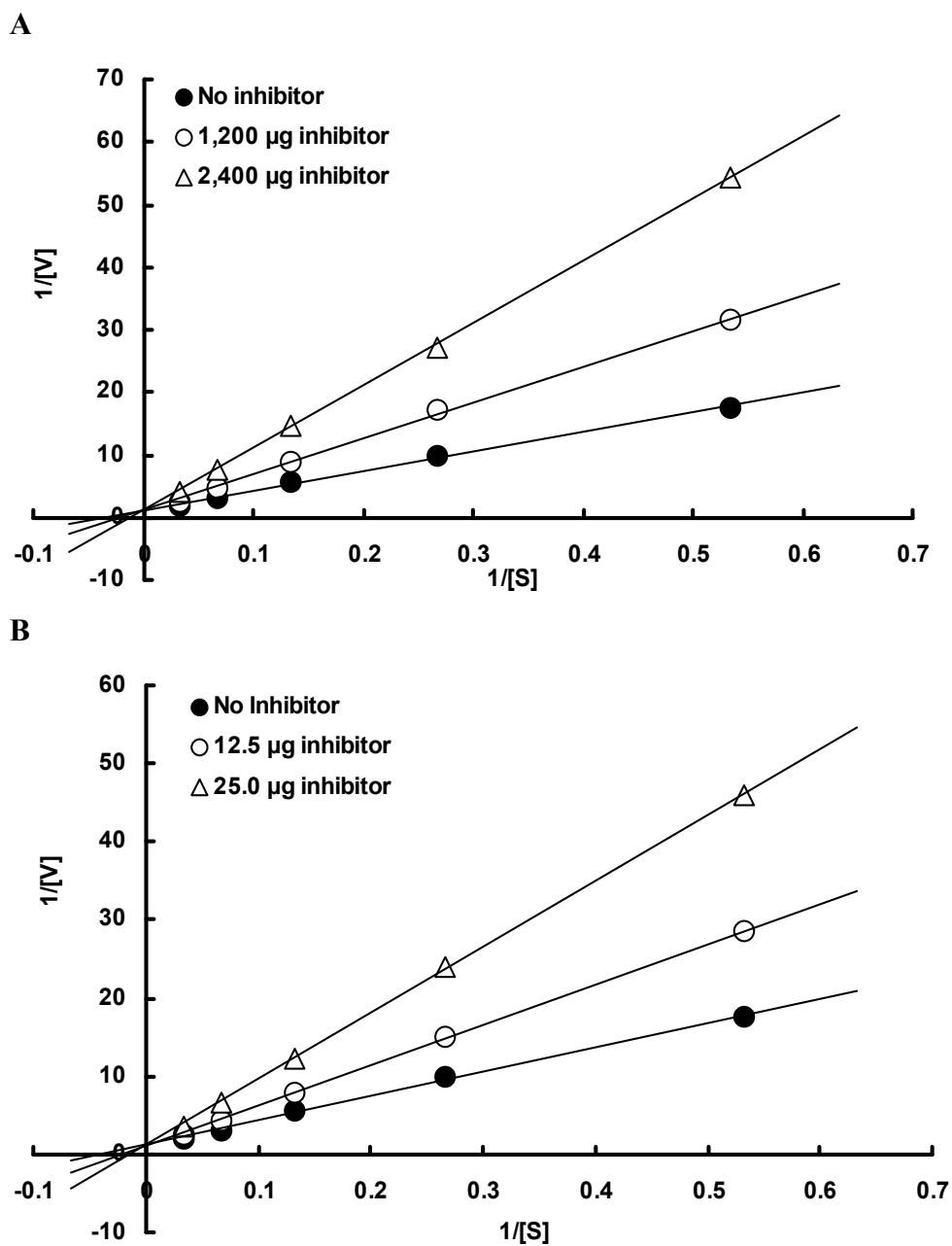


Figure 6. Lineweaver–Burk plot of the reaction of sucrose from porcine small intestine in the presence of AGI-6481 (A) and AGI-4433 (B)

5) AGI의 열 및 pH안정성

AGI의 열 및 pH안정성 측정 결과 100℃에 60분간 가열하여도 85%이상의 잔존 활성을 나타낼 뿐 아니라 pH 2.0의 가혹한 조건에서 60분간 처리하여도 잔존 활성이 70%이상 나타나 가공 특성이 매우 뛰어난 것으로 판단된다 (Fig. 7).

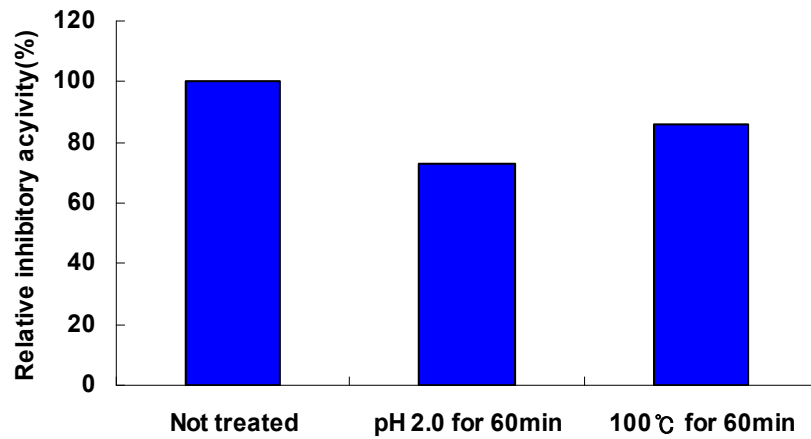


Figure 7. Heat and pH stability of AGI

3. 쥐에서 AGI의 혈당강하 효과

가. 연구목적

고추로부터 분리한 AGI의 혈당강하 기능성을 동물실험을 통하여 확인하고자 함.

나. 재료 및 방법

1) 실험동물 및 사육조건

생후 4주된 CD (SD) - IGS 중 수컷 흰쥐를 (주) 오리엔트 (서울, Korea)에서 구입하여 4주 동안 pellet형 고형사료 (제일사료, Korea)로 사육하면서 환경에 적응 시킨 후 생후 8주에 본 실험에 이용하였다. 사료의 조성은 수분 12.3%, 조단백 22.4%, 조지방 4.2%, 조섬유 4.0%, 회분 6.5%, 칼슘 0.9%이며, 사육조건은 자동 조절 ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$; $50\pm 10\%$; 취기 20 ppm 이하, 조명 150-300 lux)되고, 명암은 12시간 사이클 (18:00~06:00)로 자동 조절된다. 생후 8주된 체중 200 g 내외의 쥐를 각 9마리씩 4군으로 나누었으며, 20-24시간 물만 주고 절식 시켰다. 이들 각 군은 Sucrose (2 g/kg)을 투여하기 10분전에 apigenin-7-O- β -D-xylo-hex-4-ulopyronoside (AGI-4433; 10, 30 mg/kg), Acarbose (2.5 mg/kg)를 식염수에 녹여 구강 투여 (intra-gastric administration)하였다. Sucrose를 투여하기 전 또는 투여 후 30분 60분 120분에 꼬리에서 혈액을 채취하였다. 혈당 glucose의 농도는 glucose-oxidase method에 따라 glucose 정량용 kit를 이용하여 측정하였다. 모든 실험 결과는 평균치 (mean) \pm 표준오차 (standard error of mean)로 표시하였다. 통계적 유의성은 SPSS를 이용한 student's t-test로 검정하였다.

2) 실험동물의 당뇨병 유발 및 사육조건

생후 4주된 CD (SD) - IGS 중 수컷 흰쥐를 (주) 오리엔트 (서울, Korea)에서 구입하여 4주 동안 pellet형 고형사료 (수퍼피드, Korea)로 사육하면서 환경에 적응 시킨 후 24시간 물만 주고 절식시킨 후 streptozotocin (Sigma, USA) (45mg/kg)을 복강 주사하여 당뇨병을 유발한 뒤 1주후 본 실험에 이용하였다. 사료의 조성은 조단백질 22.1%이상, 조지방 3.5% 이상, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 1.2%이하 이며, 사육조건은 자동 조절 ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$; $40\pm 10\%$; 취기 20 ppm 이하, 조명 150-300 lux)되고, 명암은 12시간 사이클 (18:00~06:00)로 자동 조절된다. 생후 9주된 체중 250 g 내외의 쥐를 각 5마리씩 4군으로 나누었으며, 20-24시간 물만 주고 절식 시켰다. 이들 각 군은 Sucrose (2 g/kg)을 투여하기 30분전에 고추추출액, voglibose (0.2 mg/kg)를 구강 투여 (intra-gastric administration)하였다. Sucrose를 투여하기 전 또는 투여 후 30분 60분 90분 120분에 꼬리에서 혈액을 채취하였다. 혈액의 glucose의 농도는 혈당측정기 (Roche, Germany)를 사용하여 측정 하였다. 모든 실험 결과는 평균치 (mean) \pm 표준오차 (standard error of mean)로 표시하였다.

3) 분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군 간의 유의성 검정은 Student's t-test로 실시하였다.

다. 연구결과

1) 고추 잎 추출물의 혈당 강하 효과

고추 잎 추출물의 식이 섭취에 따른 식후 혈당 강하효과를 알아보았다. 실험에 사용된 쥐를 초기 혈당이 비슷하게 하여 5마리를 한 군으로 총 4개의 군으로 나누었다. 식후 혈당량의 변화를 관찰하기 위하여 16시간 절식한 동물에 생리식염수, Acarbose (2.5 mg/kg) 및 고추 잎 추출물 (50, 150 mg/kg)을 각각 sucrose (2 g/kg)와 함께 투여 후 혈당량의 변화를 측정하였다. 혈당량의 측정은 sucrose를 투여하기 전, 투여 후 30, 60, 120분에 실시하였으며, 그 결과는 Fig. 8와 같다. sucrose를 섭취 시키고 처음 30분경과 후의 혈당은 대조군으로 이용된 생리식염수 그룹에 비해 고추 잎 추출물 50 mg/kg을 투여한 그룹에서 비교적 낮은 혈당을 유지하였으며, 150 mg/kg을 투여한 군에서는 sucrose만 투여한 군에 비해 현저히 낮은 혈당을 유지 시켜주는 것을 확인하였다. 그러나 식후 혈당 강하제로 이용되는 Acarbose (2.5 mg/kg)을 투여한 군에 비해서는 다소 혈당 강하효과가 낮은 것으로 나타났다. 이상의 결과로 α -glucosidase 저해활성이 있는 고추 잎 추출물의 sucrose를 섭취시킨 쥐에서의 혈당 강하효과를 확인하였으나, 그 효과가 기존의 저해제인 Acarbose에 비해서는 다소 떨어지는 것으로 나타났다. 따라서 고추 잎 추출물로부터 분리 정제한 신규 α -glucosidase 저해제인 AGI-6481과 AGI-4433중 실험결과 저해활성이 Acarbose와 비슷한 것으로 나타났던 AGI-4433의 혈당 강하효과에 대한 실험을 진행하였다.

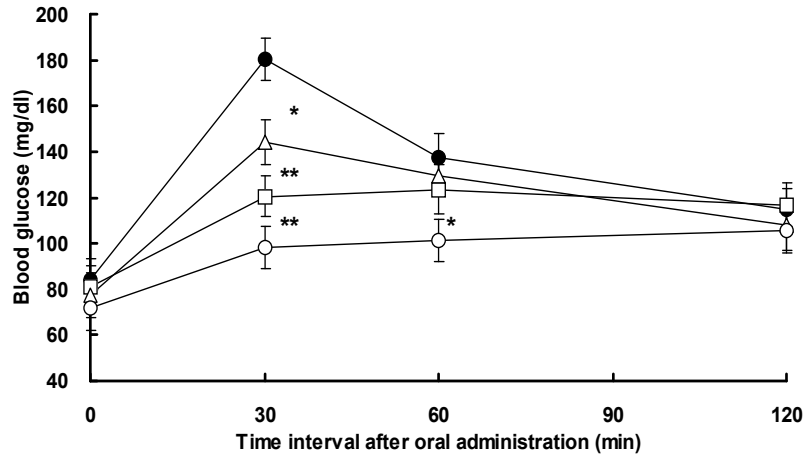


Figure 8. Effects of crude extracts of *Capsicum annuum* on blood glucose levels after sucrose administration. All bars were expressed as mean \pm S.E.M. (n=5). *p<0.05; **p<0.01 compared with control.

● Control; ○ Acarbose 2.5 mg; □ Crude extracts 150 mg ; △ Crude extracts 50 mg

2) AGI-4433의 혈당 강하 효과

고추 잎 추출물로부터 1차년도에 분리 정제한 신규 α -glucosidase 저해제인 AGI-6481과 AGI-4433 중에 저해활성이 Acarbose와 비슷한 것으로 실험결과 나타났던 AGI-4433의 혈당 강하효과에 대한 실험을 진행하였다. 실험에 사용된 쥐를 초기 혈당이 비슷하게 하여 9마리를 한 군으로 총 4개의 군으로 나누었다. 식후 혈당량의 변화를 관찰하기 위하여 16시간 절식한 동물에 생리식염수, Arcabose (2.5 mg/kg) 및 AGI-4433 (10, 30 mg/kg)을 각각 sucrose (2 g/kg)와 함께 투여 후 혈당량의 변화를 측정하였다. 혈당량의 측정은 sucrose를 투여하기 전, 투여 후 30, 60, 120분에 실시하였으며, 그 결과는 Fig. 9와 같다.

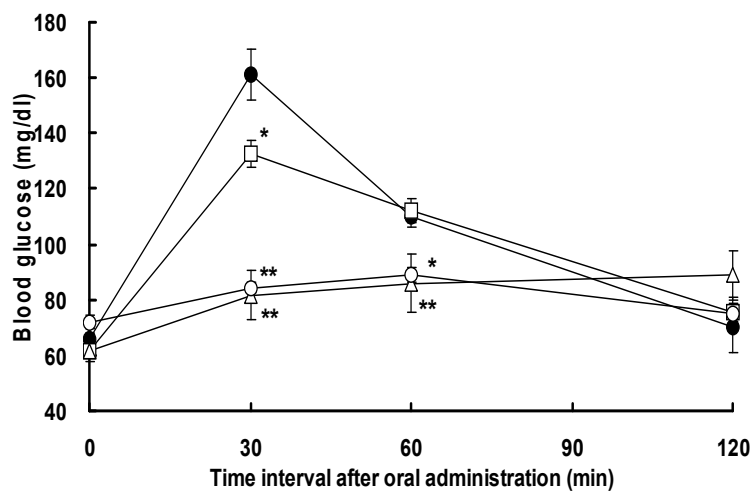


Figure 9. Effects of AGI-4433 on blood glucose levels after sucrose administration. All bars were expressed as mean \pm S.E.M. (n=9).

*p<0.05; **p<0.01 compared with control.

● Control; ○ Acarbose 2.5 mg; □ AGI-4433 10 mg; △ AGI-4433 30 mg

sucrose를 섭취 시키고 처음 30분경과 후의 혈당은 대조군으로 이용된 생리식염수 그룹에 비해 AGI-4433 10 mg/kg을 투여한 그룹에서 다소 낮은 혈당을 유지하는 것으로 나타났으며, 30 mg/kg을 투여한 군에서는 sucrose만 투여한 군에 비해 매우 낮은 혈당을 유지시켜주는 것을 확인하였다. 이러한 AGI-4433을 30 mg/kg 투여한 군의 식후 혈당 강하효과는 기존의 저해제인 Acarbose (2.5 mg/kg)을 투여한 군과 별다른 차이가 없으며, 두 그룹 모두에서 효과적인 식후 혈당 강하효과를 나타내었다.

3) 당뇨병 유발 쥐에서 고추 잎 조추출물의 혈당 강하 효과

당뇨병 유발 쥐에서 고추 잎 조추출물의 식이 섭취에 따른 식후 혈당 강하효과를 알아보았다. 실험에 사용된 당뇨병 유발 쥐를 초기 혈당이 비슷하게 하여 5마리를 한 군으로 총 4개의 군으로 나누었다. 식후 혈당량의 변화를 관찰하기 위하여 16시간 절식한 동물에 생리식염수, Voglibose (0.2 mg/kg) 및 고추 잎 추출물을 DMSO에 녹여(145, 290 mg/kg)을 각각 sucrose (2 g/kg)와 함께 투여 후 혈당량의 변화를 측정하였다. 혈당량의 측정은 sucrose를 투여하기 전, 투여 후 30, 60, 90, 120분에 실시하였으며, 그 결과는 Fig. 10과 같다. sucrose를 섭취 시키고 처음 30분경과 후의 혈당은 대조군으로 이용된 생리식염수 그룹에 비해 고추 잎 추출물 145 mg/kg을 투여한 그룹에서 비교적 낮은 혈당을 유지하였으며, 290 mg/kg을 투여한 군에서는 sucrose만 투여한 군에 비해 현저히 낮은 혈당을 유지 시켜주는 것을 확인하였다. 특히 290 mg/kg을 투여한 군에서는 식후 혈당 강하제로 이용되는 Voglibose (0.2 mg/kg)을 투여한 군과 동일한 혈당 강하효과를 확인 하였다. 이상의 결과로 α -glucosidase 저해활성이 있는 고추 잎 추출물의 sucrose를 섭취시킨 당뇨병 유발 쥐에서의 혈당 강하효과를 확인하였으며, 290 mg/kg을 투여한 군에서는 기존의 저해제인 Voglibose와 동일한 혈당강하효과를 보임을 확인하였다.

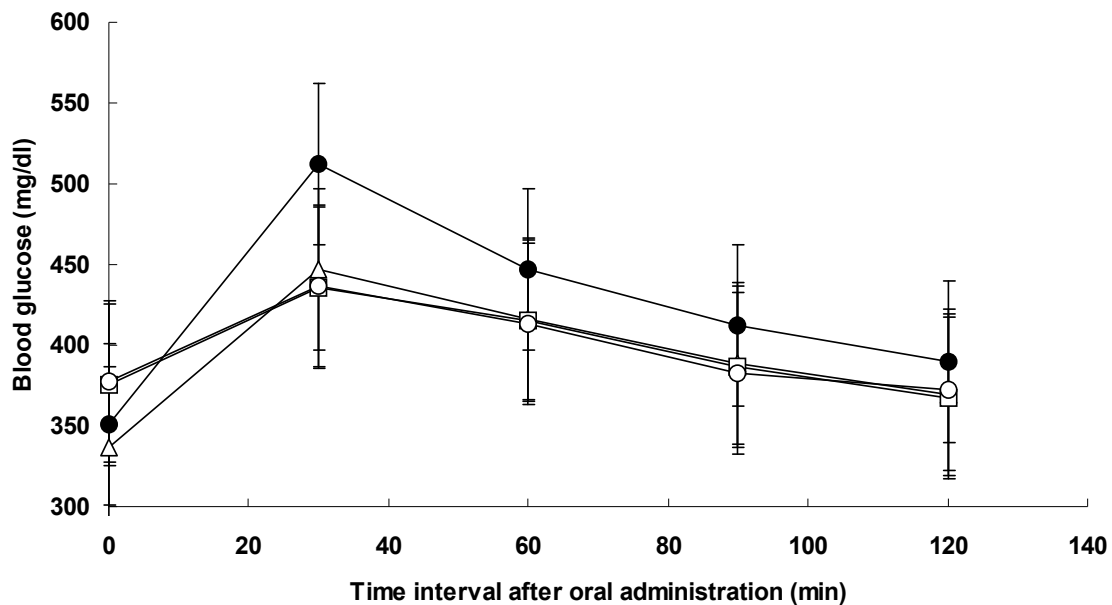


Figure 10. Effects of pepper crude extract on blood glucose levels after sucrose administration in diabetic rat. All bars were expressed as mean \pm S.E.M. (n=9). *p<0.05; **p<0.01 compared with control.

● Control; ○ Voglibose 0.2 mg; □ Crude extract 145 mg; △ Crude extract 290 mg

당뇨병 유발 쥐에서 crude extract의 투여결과 생리식염수 그룹에 비해 crude extract 145mg/kg을 투여한 그룹에서 낮은 혈당 유지함을 확인 하였으며, crude extract 290mg/kg을 투여한 그룹에서는 기존의 저해제인 Voglibose (0.2 mg/kg)을 투여한 그룹과 같은 혈당 강하효과를 나타내었다. 대표적인 α -glucosidase inhibitor인 Acarbose는 인슐린 의존형 당뇨병과 인슐린 비의존형 당뇨병 모델에서 식후 혈당상승억제 효과가 증명되었다. 또 nojirimycin 유도체인 miglitol은 인슐린 의존형 당뇨병과 인슐린 비의존형 당뇨병모델에서 식후 혈당상승억제에 효과가 있음이 입증되었다. 그러나 *in vitro* 실험결과를 생체 내에 적용해 보면 반드시 일치하지는 않는다. Acarbose와 비교하였을 때 *in vitro* potency와 *in vivo* potency가 차이를 보이는 이유는 저해제의 화학적 안정성, 대사 (metabolism), 소장에서 저해제가 제거되는 속도 (소장으로부터의 흡수 여부 및 그 속도) 등이 원인일 수 있다 . AGI-4433의 이러한 결과는 두 고추 기원의 α -glucosidase 저해제 AGI-6481과 AGI-4433이 Acarbose와 Voglibose와 마찬가지로 경쟁적 저해제인 것으로 나타났으나, 가역성과 K_i 값으로 볼 때 같은 저해활성을 보인 AGI-4433이 같은 혈당강하효과를 나타내기 위해 Acarbose보다 많은 양이 요구되는 것으로 판단된다.

본 연구의 결과를 통해 안정성이 확보된 고추로부터 강력한 항당뇨활성을 갖는 신규 α -glucosidase 저해제를 분리 정제하여 항당뇨활성을 실증하였다. 이들 저해제를 통해 새로운 당뇨병 치료제의 개발이 기대되며, 나아가서는 새로운 항당뇨 기능성 식품 개발과 기능성 고추 신품종의 개발이 가능 할 것으로 판단된다.

제 3절 혈당 강하 기능성 고추의 계통 육성 및 유전분석

1. 고추 유전자원의 AGI 활성평가

가. 연구목적

고추 유전자원 중에서 AGI(α -Glucosidase Inhibitor) 활성이 높은 계통을 선발 육성하고, AGI 성분의 유전양식을 구명하고자 함

나. 재료 및 방법

공시 재료로는 *Capsicum annuum*, *C. baccatum*, *C. pubesense*, *C. chinense*, *C. frutescense* 5종이 포함된 유전자원 5AR1 등 848점을 2005년 3월 4일 과중하여 원예연구소 육묘장에서 육묘하였으며, 육묘 및 재배관리는 원예연구소 표준 재배법에 따라 수행되었다. 원예적 특성 조사는 AGI 성분 분석을 위해 잎과 과실을 채취할 때 신품종 특성 조사요령(농림부, 2000)을 기준으로 조사하였다. AGI 성분 분석을 위해 육묘된 자원들의 잎과 과실을 2회에 걸쳐 채취하여 분석용 시료로 이용하였다. 분석은 강원대학교 농업생명과학대학 생명공학부 실험실에서 확립된 방법으로 세부과제 1에서 수행된 방법으로 수행되었다.

다. 시험결과

1) AGI 고활성 계통 선발을 위해 평가된 자원들의 원예적 특성

AGI 고활성 계통을 선발하고자 평가된 유전자원 848점의 원예적 특성 평가 결과는 다음과 같다. AGI 활성 분석 시 수확된 과실의 과중 분포는 0.5g부터 56g 까지 다양하게 분포하였다(그림 3-1). 2.0g 이하가 전체의 9.4%, 2.1-5.0g 27.4%, 5.1-10.0g 31.8%, 10.1-20g 13.0%, 20.1g이상이 전체의 18.4%였다.

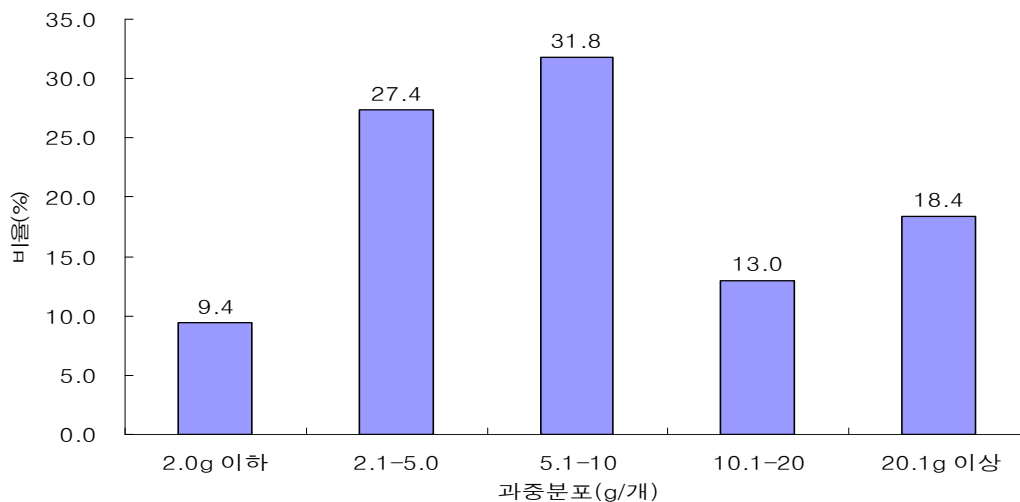


그림 3-1. 과중 분포 비율

과장의 분포는 0.8-15.4cm까지 분포하였다(그림 3-2). 전체의 64.8%는 5.1-10.0cm에 분포하였고 2.0cm 이하가 3.9%, 15.1cm 이상은 0.9%였다.

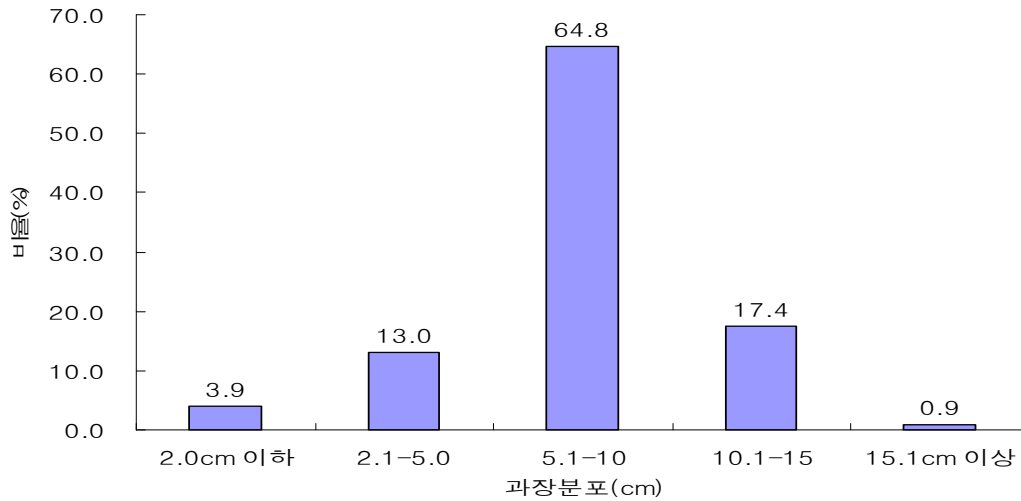


그림 3-2. 과장 분포 비율

조사된 과실의 과폭 분포는 그림 3-3과 같이 0.5-6.3cm까지 분포하였다. 조사된 과실의 51.5%는 1.1-2.0 정도로 시판 건고추 품종과 같은 수준이었고, 4cm 이상의 단고추 계통도 14% 정도가 분포하였다.

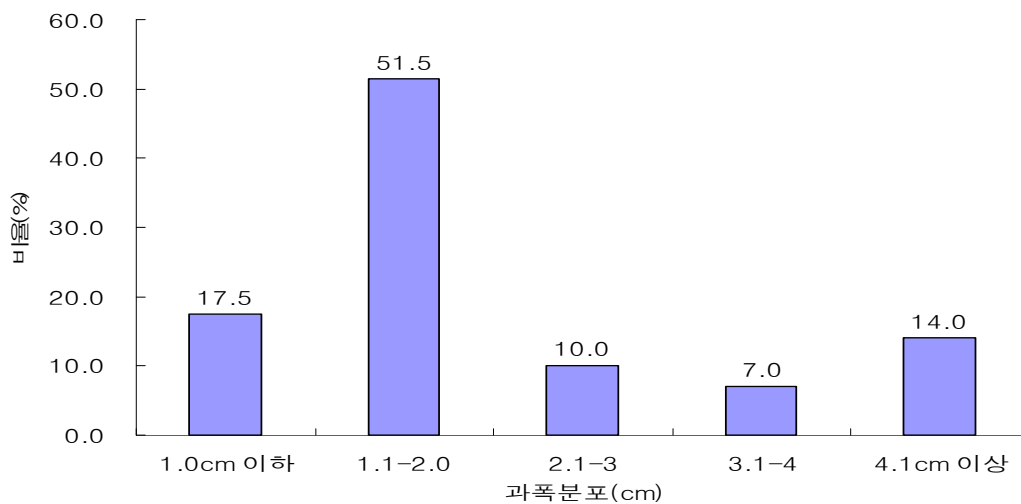


그림 3-3. 과폭 분포 비율

조사된 계통들의 하배축 색 분포는 그림 3-4와 같다. 녹색이 전체의 23%, 1/4 정도 보라색을 띠는 것이 12.2%, 1/2 정도의 보라색을 띠는 것이 15.0%, 전체가 보라색인 계통들이

18%, 기타 혼합된 것이 31.8% 였다.

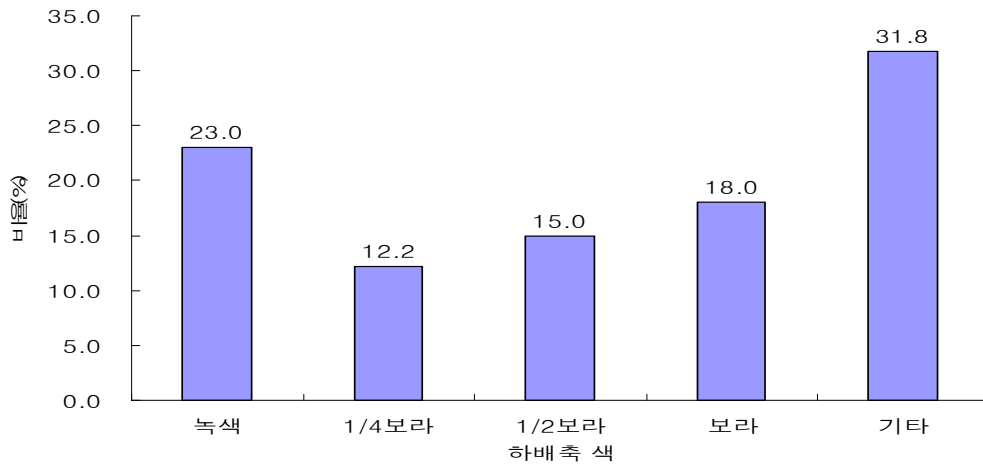


그림 3-4. 하배측 색의 분포

조사된 계통들의 잎과 과실 채취시 엽장 및 엽폭의 분포는 그림 3-5와 3-6과 같다. 엽장은 3cm 이하가 전체의 3.2%, 3.1-5.0cm 50.5%로 가장 많았고, 다음이 5.1-7.0cm 33.3%, 7.1-9.0cm 11.2%, 9.1cm 이상이 1.8% 분포하였다. 엽폭은 전체의 50.7%가 2.1-3.0cm 범위에 분포하였고, 1cm 이하가 0.5%, 4.1cm 이상이 5.2% 수준이었다.

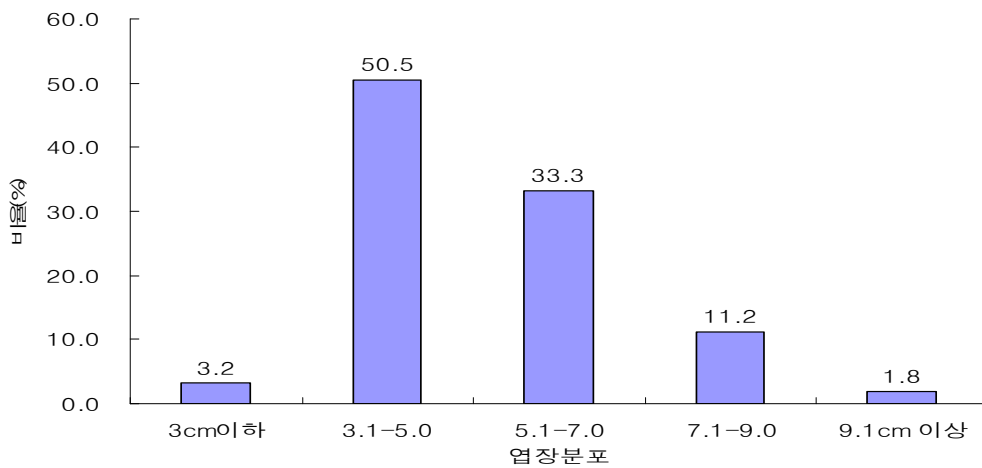


그림 3-5. 엽장 분포

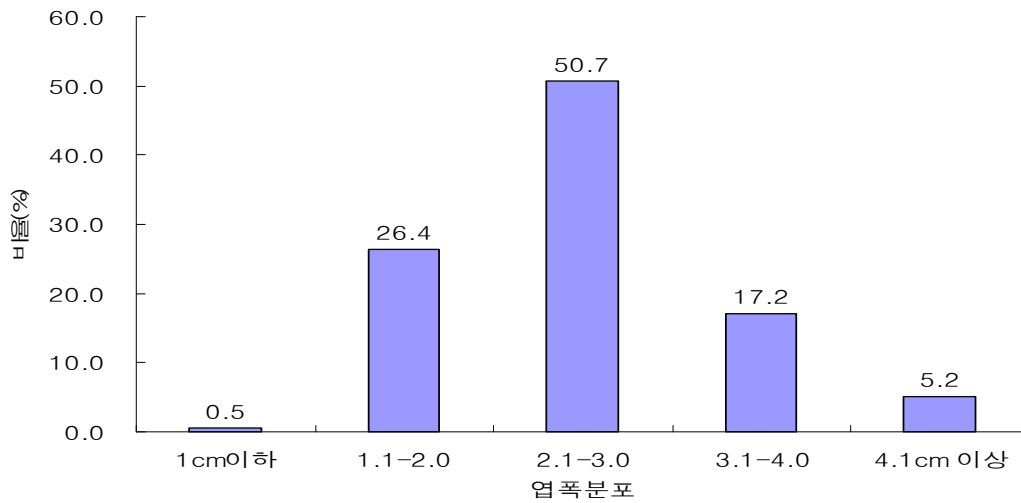


그림 3-6. 엽폭 분포

조사된 계통들의 줄기색 분포는 전체의 72%가 녹색이었고, 녹색 + 보라색이 20%, 녹색 + 많은 보라색 4%, 보라색도 1% 정도가 포함되었다.

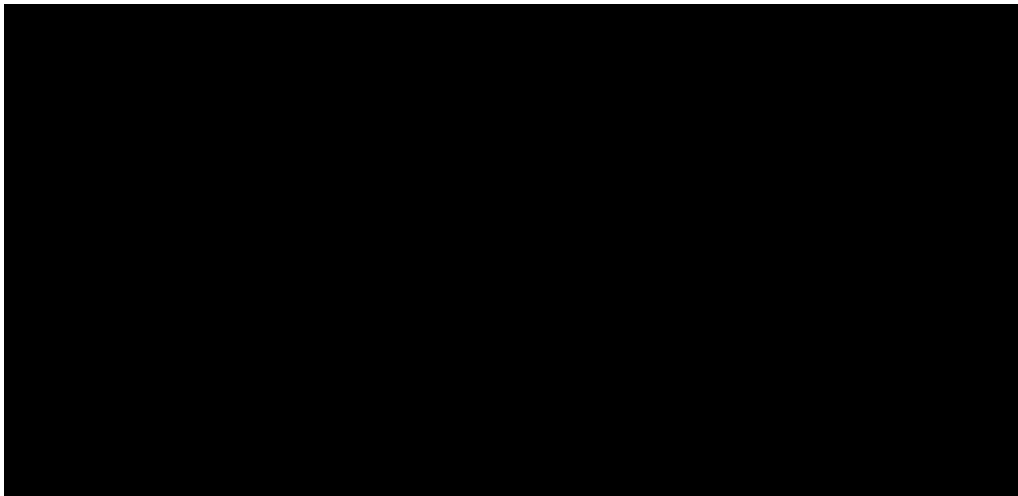


그림 3-7. 줄기색 분포

조사된 계통들의 미숙과색 및 숙과색 분포는 그림 3-8 및 3-9와 같다. 조사된 계통들의 미숙과색은 전체의 92%는 녹색이었고, 황색 5%, 보라색 2%, 기타 검정색 1%였다. 숙과색은 전체의 97%가 적색이었고, 황색계열이 2%, 초코렛 색깔이 1% 였다.

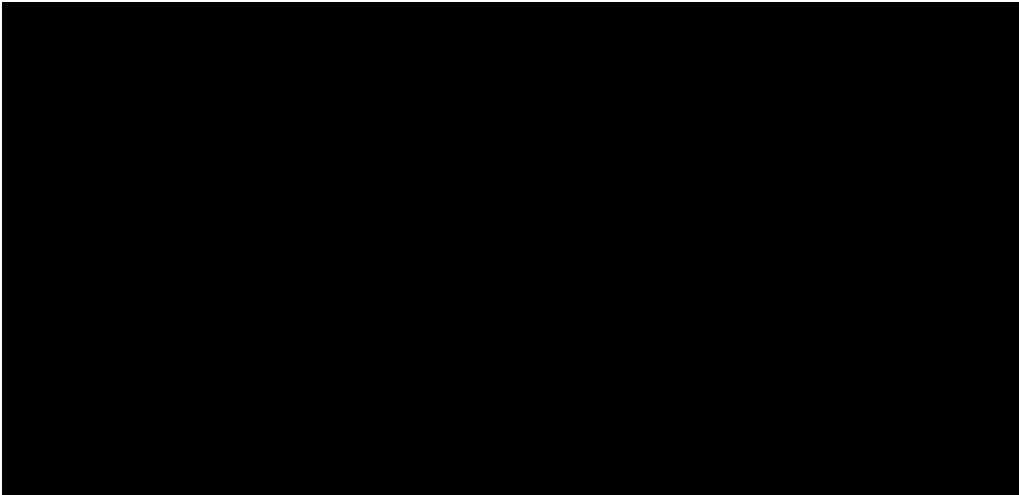


그림 3-8. 미숙과색 분포

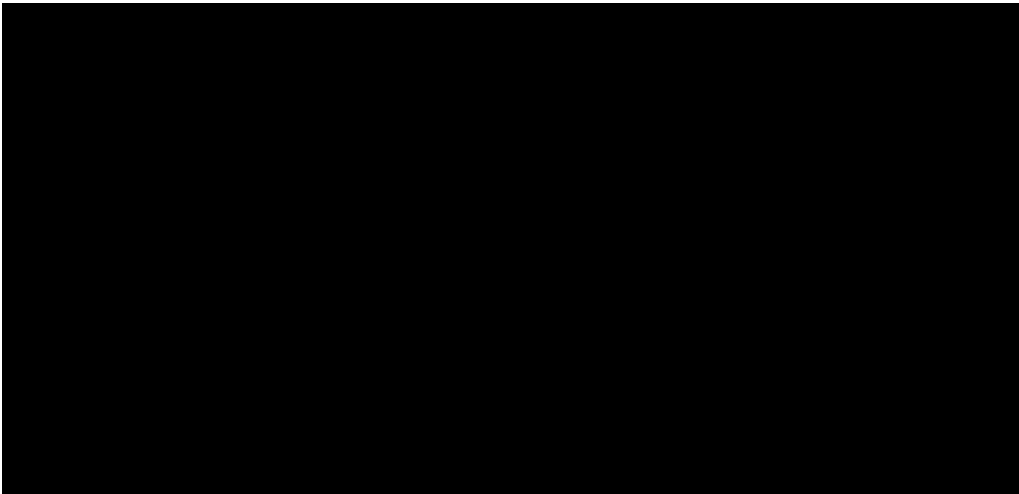


그림 3-9. 숙과색 분포

2) AGI 고효성 계통의 선발

공시된 유전자원을 대상으로 고추 과실과 잎에서 AGI 활성을 조사한 결과는 그림 3-10 및 3-11과 같았다. 고추 과실을 대상으로 분석된 자원 중에서는 제주재래의 AGI 활성 저해도를 1배로 기준 하였을 때 최대 22.7배까지 계통 간에 차이가 있었다. 2배 이하로 분포한 계통수가 전체의 13.3%, 2.1-5.0배 45.4%를 차지하였다. 5.1-10.0배가 36%, 10.1-15.0배가 3.8%, 15.1-20배가 1.1%, 20.1배 이상이 0.4%였다. 이상의 결과를 기준으로 활성이 높은 상위 8계통을 선발하여 원예적 특성 조사 및 유전분석용 재료로 활용하고자 선발하여 생육 관리 중에 있다.

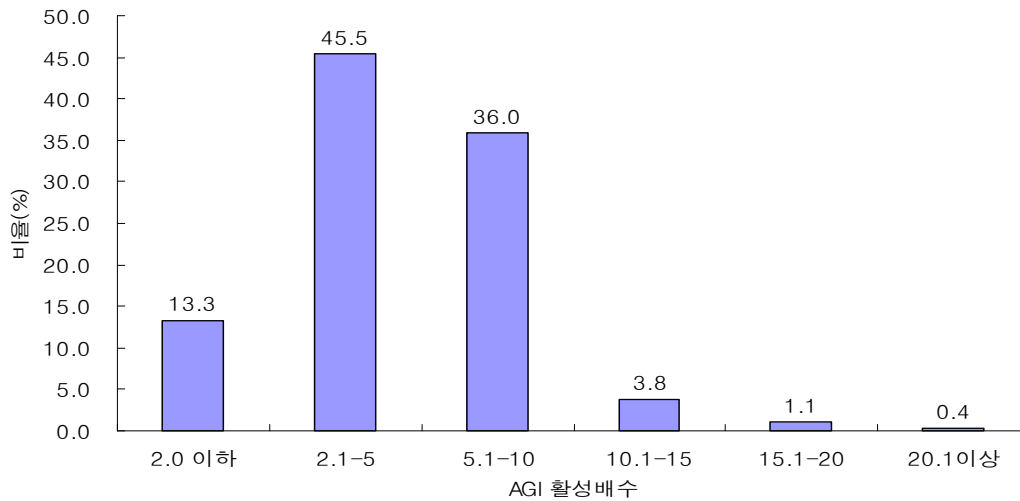


그림 3-10. 고추 과실에서 AGI 활성화 배수의 분포

그림 3-11은 잎을 대상으로 AGI 활성을 조사한 결과이다. 잎에서는 과실에서와는 달리 계통간의 차이가 적었는데, 부강을 기준으로 저해활성 배수가 1.0이하가 전체의 18.8%, 1.1-2.0배가 53.1%, 2.1-3.0배 21.0%, 3.1-4.0배 4.9%, 4.1-5.0배가 1.8% 그리고 5.1이상이 전체의 0.4%였다. 이상의 결과를 기준으로 잎에서도 8계통을 선발하여 과실에서와 같이 원예적 특성을 조사하고 유전분석용 재료로 활용하고자 생육 관리 중에 있다.

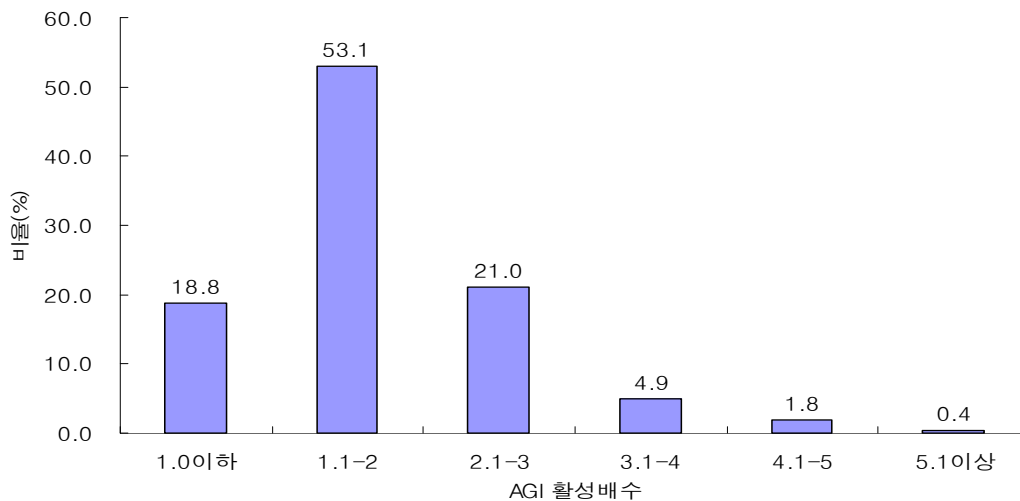


그림 3-11. 고추 잎에서 AGI 활성화 배수의 분포

3) AGI 고활성 선발 계통들의 원예적 특성

과실에서 AGI 고활성으로 선발된 계통들의 원예적 특성은 표 3-1과 같다. 활성저해도는 98.8 - 179.2%까지였고, 착과방향은 모두 하향이었으며, 미숙과색은 연녹색 1계통을 제외하

고는 모두 녹색이었고, 숙과색은 모두 적색이었다.

표 3-1. 과실에서 선발된 계통들의 AGI 활성 및 원예적 특성

계통명	저해도(%)	착과방향	과중(g/개)	과장(cm)	과폭(cm)	미숙과색	숙과색
5AR 709	179.2	하	3.1±1.5	7.0±2.3	1.2	녹색	적색
5AR 298	176.1	하	3.8±1.8	4.2±1.1	1.8	녹색	적색
5AR 224	162.0	하	8.2±2.1	8.2±2.2	1.8	녹색	적색
5AR 456	109.7	하	19.7±3.5	11.0±2.1	2.7	연록	적색
5AR 686	108.4	하	9.6±2.3	7.2±1.8	1.7	녹색	적색
5AR 275	105.0	하	7.2±1.2	10.6±1.9	1.3	녹색	적색
5AR 454	101.9	하	12.6±2.3	7.7±1.5	2.5	녹색	적색
5AR 289	98.8	하	3.8±1.2	4.7±0.9	1.3	녹색	적색
제주재래	8.6	하	9.0±2.2	10.1±2.1	1.6	녹색	적색

앞에서 AGI 고효성 계통으로 선발된 계통들은 표 3-2와 같다. AGI 활성은 740%~1,210% 까지 과실에서 보다는 매우 높은 경향이였다. 원예적 특성에서는 과실에서 선발된 것과 같이 착과방향은 모두 하향이였고, 미숙과색은 녹색, 숙과색은 적색이였다. 과중은 1.8~22.9g까지, 과장은 6.4 - 14.2cm, 과폭은 0.7 - 3.3cm까지 분포하였다.

표 3-2. 앞에서 선발된 계통들의 AGI 활성 및 원예적 특성

계통명	저해도(%)	착과방향	과중	과장	과폭	미숙과색	숙과색
5AR 696	1,210	하	4.3±0.9	10.1±1.1	1.3	녹색	적색
5AR 292	1,135	하	17.2±2.9	14.2±1.5	2.0	녹색	적색
5AR 202	1,078	하	5.1±1.1	6.9±0.9	1.3	녹색	적색
5AR 110	1,038	하	1.8±0.5	7.5±1.1	0.7	연록	적색
5AR 664	995	하	15.1±1.2	10.8±1.9	1.7	녹색	적색
5AR 663	995	하	3.4±0.8	7.2±1.5	0.8	녹색	적색
5AR 719	853	하	3.7±1.1	6.4±0.9	1.5	녹색	적색
5AR 672	740	하	22.9±2.6	7.5±1.3	3.3	녹색	적색
부 강	203	하	10.5±1.8	10.3±2.1	1.6	녹색	적색

라. 결과 요약

1) 원예적 특성 평가 결과

가) AGI 고효성 계통을 선발하고자 평가된 유전자원 848점의 원예적 특성 평가 결과 과중 분포는 0.5g부터 56g 까지 다양하게 분포하였고, 2.0g 이하가 전체의 9.4%, 2.1~5.0g 27.4%, 5.1~10.0g 31.8%, 10.1~20g 13.0%, 20.1g 이상이 전체의 18.4% 정도였다.

나) 과장의 분포는 0.8-15.4cm까지 분포하였고 전체의 64.8%가 5.1-10.0cm에 분포하였고 2.0cm 이하가 3.9%, 15.1cm 이상은 0.9%였다.

다) 과실의 과폭 분포는 0.5-6.3cm까지 분포하였고, 51.5%는 1.1-2.0cm 정도로 시판 건고추 품종과 같은 수준이었고, 4cm 이상의 단고추 계통도 14% 정도가 분포하였다.

라) 하배측 색 분포는 녹색이 전체의 23%, 1/4 정도 보라색을 띠는 것이 12.2%, 1/2 정도의 보라색을 띠는 것이 15.0%, 전체가 보라색인 계통들이 18%, 기타 혼합된 것이 31.8% 였다.

마) 엽장은 3cm 이하가 전체의 3.2%, 3.1-5.0cm 50.5%로 가장 많았고, 다음이 5.1-7.0cm 33.3%, 7.1-9.0cm 11.2%, 9.1cm 이상이 1.8% 분포하였다. 엽폭은 전체의 50.7%가 2.1-3.0cm 범위에 분포하였고, 1cm 이하가 0.5%, 4.1cm 이상이 5.2% 수준이었다.

바) 줄기색 분포는 전체의 72%가 녹색이었고, 녹색 + 보라색이 20%, 녹색 + 많은 보라색 4%, 보라색도 1% 정도가 포함되었다.

사) 청과색은 전체의 92%는 녹색이었고, 황색 5%, 보라색 2%, 기타 검정색 1%였다. 숙과색은 전체의 97%가 적색이었고, 황색계열이 2%, 초코렛 색깔이 1% 였다.

2) AGI 고효성 계통의 선발

가) 고추 과실을 대상으로 분석된 자원 중에서는 제주재래의 AGI 활성 저해도를 1배로 기준 하였을 때 최대 22.7배까지 계통 간에 차이가 있었다. 2배 이하로 분포한 계통수가 전체의 13.3%, 2.1-5.0배가 45.4%를 차지하였다. 5.1-10.0배가 36%, 10.1-15.0배가 3.8%, 15.1-20배가 1.1%, 20.1배 이상이 0.4%였다.

나) 잎을 대상으로 AGI 활성 저해도를 조사한 결과 잎에서는 과실에서와는 달리 계통 간의 차이가 적었는데, 부강을 기준으로 저해활성 배수가 1.0배이하가 전체의 18.8%, 1.1-2.0배가 53.1%, 2.1-3.0배 21.0%, 3.1-4.0배 4.9%, 4.1-5.0배가 1.8% 그리고 5.1배이상이 전체의 0.4%였다. 이상의 결과를 기준으로 잎과 과실에서 각각 8계통을 선발하여 원예적 특성을 조사하고 유전분석용 재료로 활용하고자 생육 관리 중에 있다.

3) AGI 고효성 선발 계통들의 원예적 특성

가) 과실에서 AGI 고효성 계통으로 선발된 계통들의 원예적 특성은 착과방향은 모두 하향이였으며, 청과색은 연녹색 1계통을 제외하고는 모두 녹색이었고, 숙과색은 모두 적색이었다. 과중은 3.1-19.7g까지, 과장은 4.2-11cm, 과폭은 1.2-2.7cm까지 분포하였다.

나) 잎에서 AGI 고효성 계통으로 선발된 계통들의 원예적 특성은 과실에서 선발된 것과 같이 착과방향은 모두 하향이었고, 청과색은 녹색, 숙과색은 적색이었다. 과중은 1.8-22.9g까지, 과장은 6.4-14.2cm, 과폭은 0.7-3.3cm까지 분포하였다.

2. AGI 고크성 선발 계통들의 특성평가 및 교배조합 작성

가. 연구목적

전년도에 선발된 고크성 계통의 세대진전 및 교배조합 작성, 선발된 고크성 계통의 생육 단계별 활성검정, 선발된 고크성 계통들의 지역적응성 검정 및 고크성 계통간에 작성된 F_1 조합의 약배양을 수행하고자 함

나. 재료 및 방법

1) 전년도에 과실과 잎에서 고크성으로 각각 선발된 8계통 및 대비 품종을 원예연구소 온실에서 3월 2일 72공 트레이에 파종하여 육묘한 후 5월 10일 비가림 비닐하우스 및 노지 포장에 단구제로 10주씩 정식하여 원예연구소 표준 재배법을 기준으로 재배하였다. 정식된 계통들은 자식을 실시하여 세대를 진전하였고, 생육단계를 과실은 개화 후 30일, 45일, 잎은 과실을 수확하는 시기에 하위엽(오래된 잎)과 상위엽(어린 잎)으로 구분하여 육안으로 확인하여 최대한 비슷한 생육단계의 시료를 채취하여 AGI 활성을 강원대학교 농업생명과학대학에서 분석하였다.

2) 선발된 고크성 계통의 유전분석을 위해 열매와 잎에서 선발된 고크성 계통과 저활성 계통, 고크성 계통과 고크성 계통간의 F_1 조합을 작성하였고, F_2 및 여교잡 세대를 작성하고자 하였다..

3) 1년차에서 선발된 고크성 F_1 4조합의 지역적응성 시험을 위해 수원, 괴산, 영양 3개 지역에서 원예연구소 표준재배법을 기준으로 각각 육묘하여 정식 후 과실을 개화 후 30일(미숙과)과 45일(숙과)에 수확하여 생육 단계별 AGI 활성을 강원대에서 확립된 방법으로 조사하였다.

4) 금후 조기 고정을 위한 방법으로 약배양 체계를 확립하고자 기존에 원예연구소에서 확립된 방법으로 약배양을 실시하였다.

다. 시험결과

1) 고크성 선발 계통들의 원예적 특성평가 및 세대진전

표 3-1. 과실에서 고풍성으로 선발된 계통들의 원예적 특성 평가 결과

BN	과중(g/개)	과장(cm)	과경(cm)	착과방향	미숙과색	숙과색
FR1(6FR1-1)	7.1±1.2	8.8±2.3	1.3	하	녹색	적색
FR2(6FR2-1)	7.8±1.5	5.4±1.1	1.8	하	녹색	적색
FR3(6FR3-1)	10.6±2.0	7.6±1.8	2.2	하	녹색	적색
FR4(6FR4-1)	35.2±3.8	14.4±1.9	3.1	하	연황	적색
FR5(6FR5-1)	11.3±1.8	6.3±0.9	1.9	하	연록	적색
FR6(6FR6-1)	10.5±1.9	11.0±1.5	1.6	하	녹색	적색
FR7(6FR7-1)	26.9±2.9	11.3±1.5	2.9	하	연록	적색
FR8(6FR8-1)	4.8±1.1	5.9±0.8	1.6	하	연록	적색
대비종	14.4±2.0	13.6±2.1	1.7	하	연록	적색

지난해 잎과 과실에서 고풍성으로 선발된 16계통에 대해 자식을 통한 세대 진전을 실시하였다. 과실에서 고풍성으로 선발된 8계통의 원예적 특성을 평가한 결과는 표 3-1과 같다. 평가된 계통들의 과중은 4.8~35.2g, 과장은 5.4~14.4cm, 과경은 1.6~3.1cm까지 다양하게 분포하였고, 착과방향은 모두 하향이였다. 선발된 계통들의 청과색은 연록 3, 연황 1, 녹색 4 계통이었고, 숙과색은 모두 적색이였다.

잎에서 고풍성으로 선발된 8계통의 원예적 특성 평가 결과는 표 3-2와 같다. 평가된 계통들의 과중은 3.7~28.5g, 엽장은 5.8~28.0cm, 엽폭은 3.9~8.7cm까지 분포하였고, 청과색은 연록 3, 녹색 4, 농록 1계통이었고, 숙과색은 모두 적색이였다.

표 3-2. 잎에서 고풍성으로 선발된 계통들의 원예적 특성 평가 결과

BN	과중(g/개)	엽장(cm)	엽폭(cm)	착과방향	미숙과색	숙과색
LE1(6LE1-1)	8.1±1.5	26.0±3.4	7.1±1.3	하	녹색	적색
LE2(6LR2-1)	3.7±0.5	23.7±3.5	6.4±1.3	하	연록	적색
LE3(6LE3-1)	13.3±1.8	21.0±2.9	5.8±0.8	하	녹색	적색
LE4(6LE4-1)	11.2±1.3	27.4±3.2	8.5±2.1	하	녹색	적색
LE5(6LE5-1)	26.1±3.2	25.5±2.9	6.6±1.1	하	농록	적색
LE6(6LE6-1)	7.3±1.3	5.8±1.3	3.9±0.6	하	녹색	적색
LE7(6LE7-1)	8.0±1.9	26.3±3.5	8.7±1.9	하	연록	적색
LE8(6LE8-1)	28.5±3.5	28.0±3.9	8.0±1.5	하	연록	적색
대비종	13.9±2.1	22.7±2.3	7.0±1.1	하	녹색	적색

선발된 계통들을 비가림 하우스와 노지포장에서 각각 재배하여 생육 단계를 상위엽과 하위엽으로 구분하여 잎의 AGI 활성을 조사한 결과는 그림 3-1과 같다. 선발된 계통들의 생육 단계별 잎에서의 AGI 활성정도는 하위엽 보다는 상위엽에서 전반적으로 활성도가 높았다. 하위엽에서의 AGI 활성정도는 지난해 낮은 것으로 확인된 계통 대비 최대 5.4배까지 높은 것으로 나타났다. 하위 엽에서의 활성정도는 1년차에서 선발된 순위와는 다소 차이가 있었는데 이는 1년차에 잎 샘플 채취 시기가 전반적으로 어린 묘 상태의 것에서 채취되었기 때문으로 판단되었다. 상위 엽에서의 AGI 활성은 한 계통을 제외하고는 모두 대비 품종에 비교하여 높게 나타났다. 활성정도는 대비 품종대비 최대 9.4배 까지 높은 것으로 나타나 지난해의 선발 결과와 비슷한 경향이였다. 그림 2는 같은 계통을 노지에 재배하여 상·하위엽 구분 없이 고르게 채취하여 AGI활성을 조사한 결과 대비품종 보다 1.5~5.2배까지 높게 나타나 지난해 선발의 효과가 있는 것으로 확인되었다.

잎의 AGI 저해활성

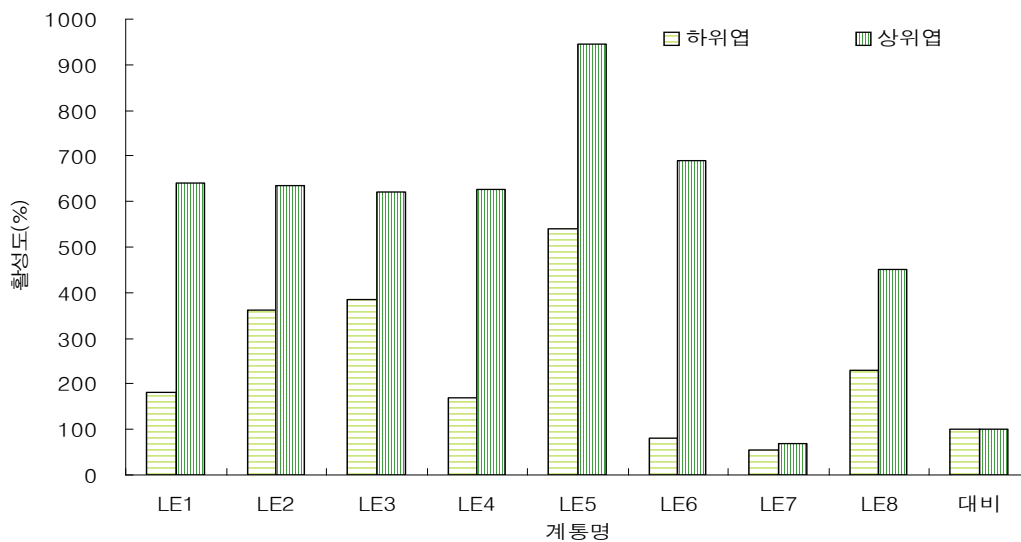


그림 3-1. 선발 고효성 계통들의 하우스 재배시 잎에서의 AGI 활성 정도

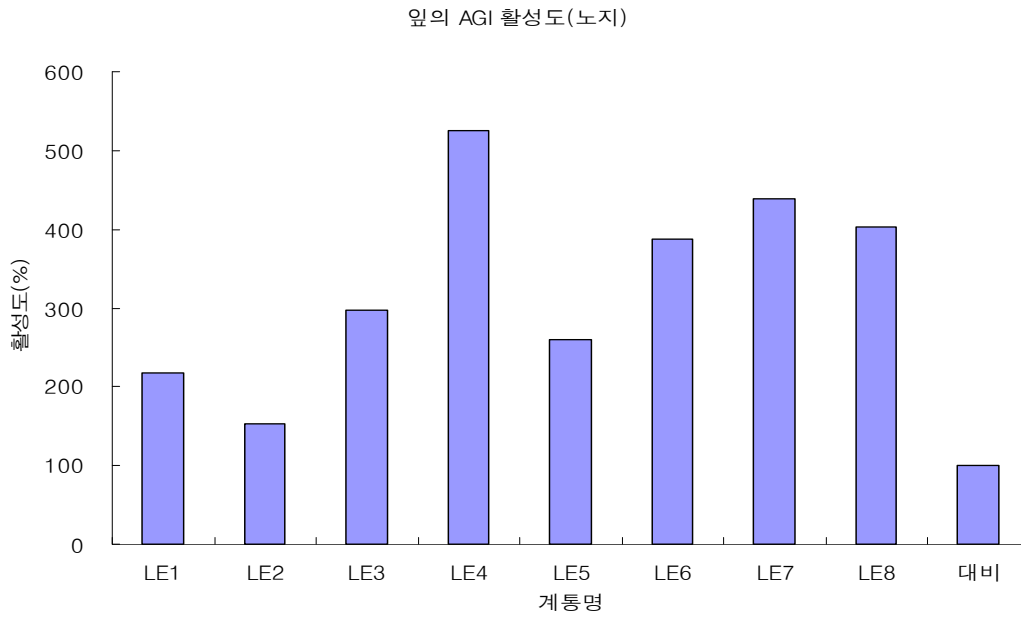


그림 3-2. 선발 고효성 계통들의 노지 재배시 앞에서의 활성화 정도

과실에서 높은 것으로 선발된 계통들을 대상으로 개화 후 30일경의 미숙과와 45일경의 숙과를 대상으로 2차년도 AGI 활성화조사 결과는 그림 3-3과 같다.

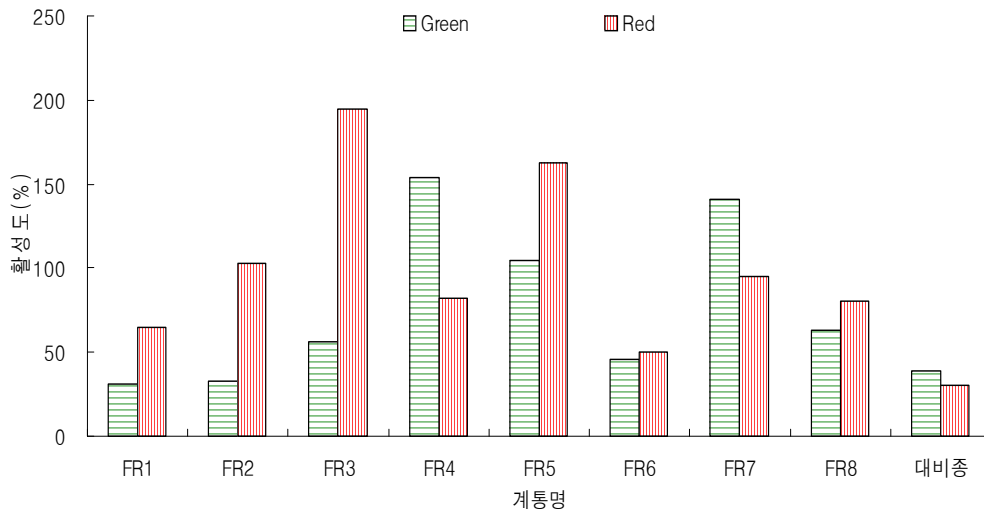


그림 3-3. 고효성 선발계통들의 과실 생육단계별 AGI 활성화조사 결과

1차년도에 선발된 계통들의 AGI 활성화정도는 미숙과에서는 31.0~153.7까지, 숙과에서는 50.5~195.0까지로 대비종 대비 3.9~6.4배 높았다. 계통간 청과와 숙과에서 활성화에 차이가 있었는데 FR 4(6FR4-1), FR 7(6FR7-1)번을 제외하고는 모두 숙과에서 활성화가 높은 것으로 나타났다.

2) 유전분석을 위한 교배조합 작성

선발된 고효성 계통들의 유전분석을 위해 열매에서 고효성 계통과 저효성 계통간의 F₁ 조합 및 잎에서 고효성/고효성 간의 F₁ 조합을 작성하였다. 작성된 F₁ 조합은 현재 과중하여 F₂ 및 여교잡 세대 작성을 위해 교배 중에 있다. F₁ 조합 작성시 수확된 과실들의 원예적 특성은 표 3-3과 같다.

표 3-3. 과실에서 고효성으로 선발된 계통들의 특성

조합명	과중(g/개)	과장(cm)	과경(cm)	채종량
6FR 1(고효성)	4.3	8.1	1.1	500
6FR 22(저효성)	11.7	16.3	1.3	2,000
F ₁ (6FR 1 × 6FR 22)	4.1	7.2	1.1	150

채종된 F₁ 조합들은 F₂ 및 여교잡 세대 진전을 위해 2006년 12월 16일 과중되어 원예연구소 온실에서 교배 중에 있다.

3) 지역적응시험 수행

1년차에 고효성으로 선발된 계통들을 대상으로 수원, 괴산, 영양지역에서의 지역적응 시험을 위해 공시된 계통들의 원예적 특성은 표 3-4와 같다.

표 3-4. 지역적응 시험 수행 계통들의 원예적 특성(수원)

구분	과중(g/개)	과장(cm)	과경(cm)	미숙과색	숙과색
6ar4(제일1308)	22.2±3.5	10.8±1.9	2.2	연록	적색
6ar5(제일1326)	12.1±1.9	7.9±1.2	1.9	연록	적색
6ar6(제일3090)	40.6±5.2	12.7±1.5	3.1	연황	적색
ar7(제일4001)	39.2±4.9	14.1±2.1	2.9	녹색	오렌지색

고효성으로 선발된 지역적응 시험 공시용 4 계통의 원예적 특성은 과중은 12.1~40.6g까지 일반 국내 시판종 고추 품종과 비슷한 것부터 40g 이상의 대과종까지 분포하였다. 과장은 7.9~14.1cm, 과경은 1.9~3.1cm까지 분포하였다. 청과색은 연록 2, 연황 1, 녹색이 1계통이었고, 적과색은 적색이 3계통이었고, 1계통은 오렌지색이었다.

지역별 지역적응 시험 계통들의 과실의 생육 단계별(개화 후 30일 및 45일된 미숙과 및 숙과) AGI 활성은 그림 3-4,5,6,7과 같다.

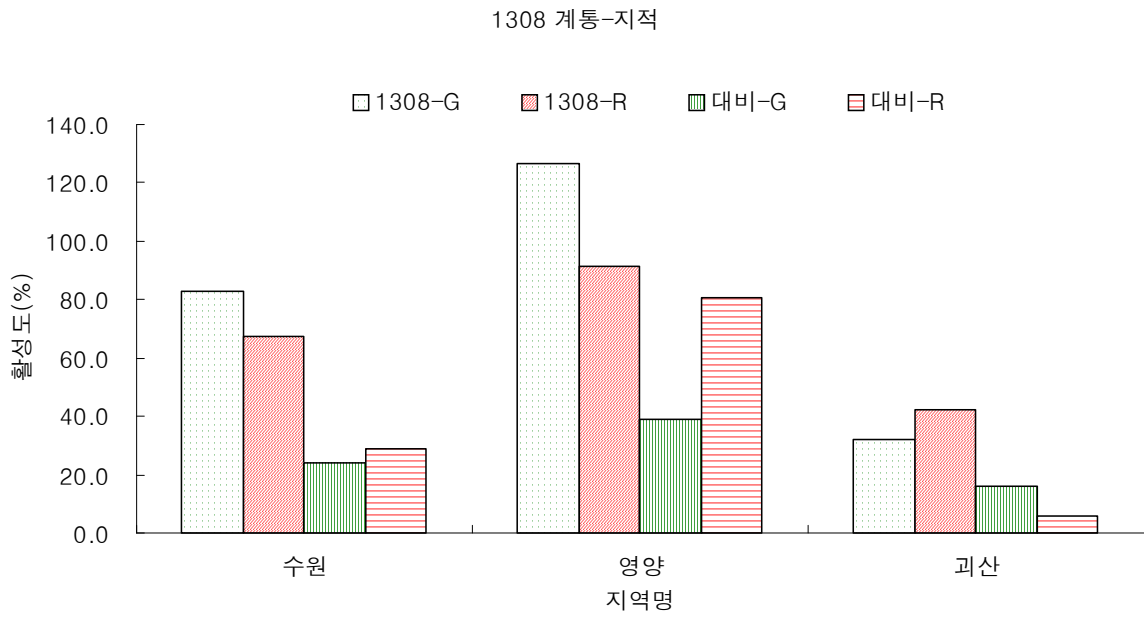


그림 3-4. '제일 1308' 계통의 지역적응시험 결과

'제일 1308'계통의 수원, 영양, 괴산에서의 지역적응시험 결과 지역간에는 영양이 가장 높았고, 수원, 괴산의 순이었다. 선발계통은 청과 숙과 모두 대비종 품종보다 활성이 높았다. '제일 1326', '제일 3090' 및 '제일 4001'계통도 '제일 1308' 계통과 같은 경향이였다.

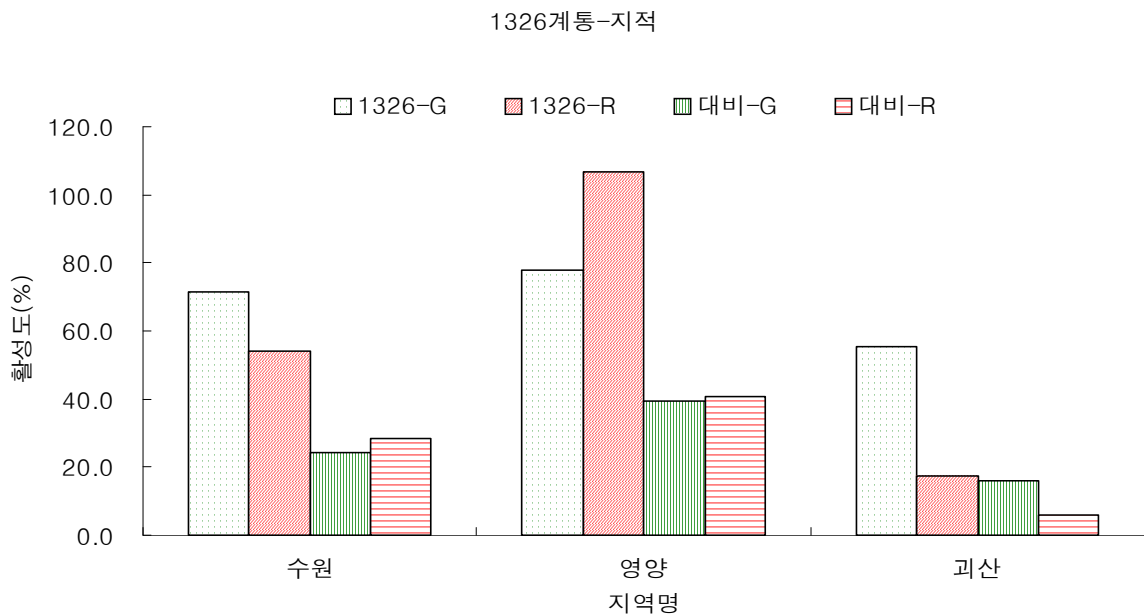


그림 3-5. '제일 1326' 계통의 지역적응시험 결과

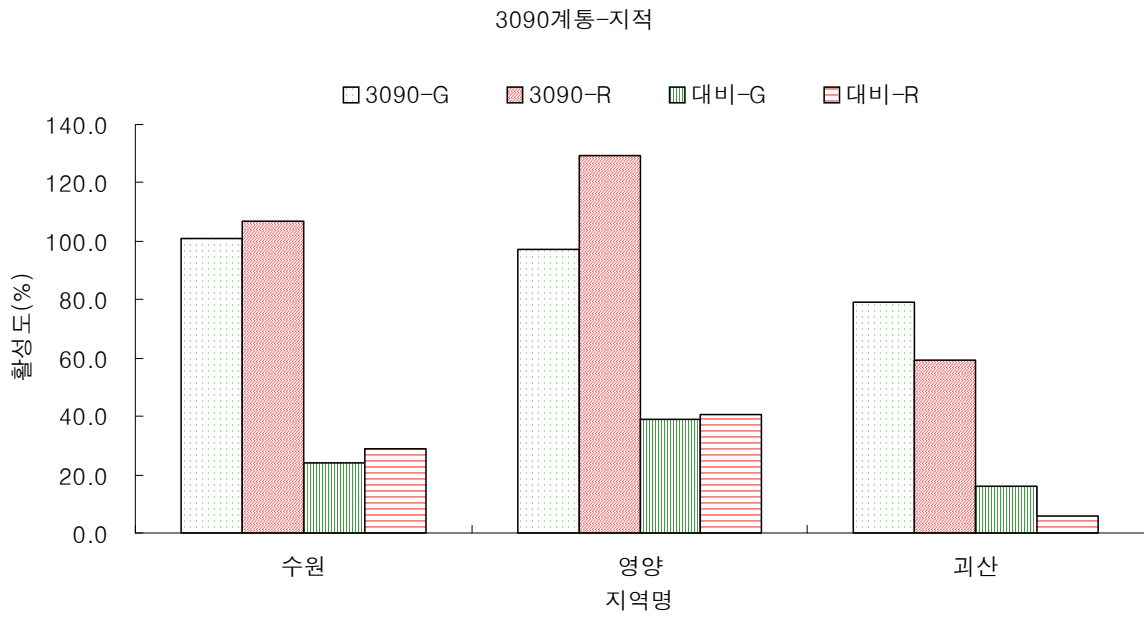


그림 3-6. '제일 3090' 계통의 지역적응시험 결과

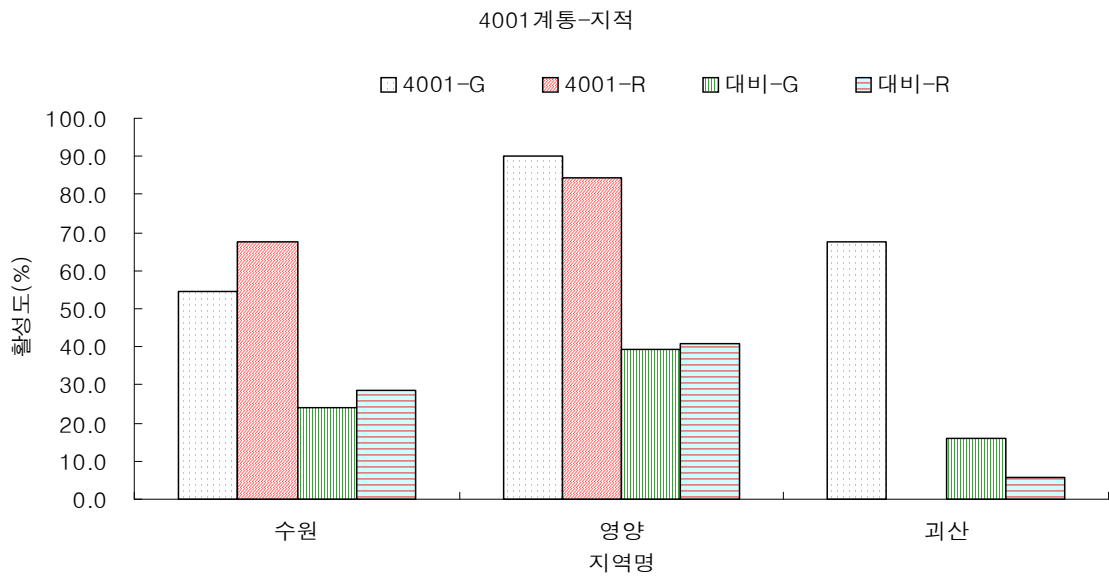


그림 3-7. '제일 4001' 계통의 지역적응시험 결과

지적시험결과 지역별, 계통간 차이는 있었지만 대비중 대비 모든 지역에서 고효율성으로 선발된 계통들의 활성이 높은 것으로 나타났다.

4) 고효율성 선발 계통간 F₁ 식물체의 약배양

1차 년도에 고효율성으로 선발된 계통들 간의 F₁ 조합을 작성 하였다. 작성된 F₁ 식물체를 대상으로 약배양을 수행중이다.



그림 3-8. 약배양을 위한 식물체 및 약에서 식물체 발달과정

교배조합이 작성된 친의 과실에서 활성이 높았던 계통들의 과중은 4.2~8.1g, 과장은 4.4~9.5cm, 과폭은 1.0~1.4cm까지였다. 각 친은 500립 이상, F₁조합은 300립 이상의 종자를 채종하였다. 잎에서 활성이 높았던 계통들의 과중은 5.0~9.1g, 과장 6.4~9.1cm, 과폭은 1.0~1.8까지였다. 잎에서 활성이 높았던 조합들의 각 친은 500립 이상, F₁ 조합은 각각 54립, 217립의 F₁ 종자를 채종하였다.

표 3-6. 약배양을 위한 고효성 계통간의 F₁ 조합작성 내역

조합명	과중(g/개)	과장(cm)	과폭(cm)	채종량(립)
6FR1-1(과실고활성)	4.2	7.9	1.0	500립이상
6FR2-1(과실고활성)	4.4	4.4	1.4	“
6FR3-1(과실고활성)	8.1	9.5	1.4	“
F ₁ (6FR1-1×6FR2-1)	-	-	-	383
F ₁ (6FR1-1×6FR3-1)	-	-	-	322
6LE1-1(잎 고효성)	5.0	7.4	1.0	500립 이상
6LE2-1(잎 고효성)	8.8	6.4	1.8	“
6LE3-1(잎 고효성)	9.1	9.1	1.4	“
F ₁ (6LE1-1×6LE2-1)	-	-	-	217
F ₁ (6LE1-1×6LE3-1)	-	-	-	54

라. 결과요약

1) 전년도에 과실과 잎에서 고효성으로 선발된 8계통 및 대비 품종들을 원예연구소 온실에서 자식을 실시하여 세대를 진전하였다. 잎에 대한 AGI 활성조사 결과 오래된 하위엽 보다는 새로운 상위엽에서 AGI 활성이 전반적으로 높았고, 상위엽에서의 AGI 활성은 대비 품종 대비 최대 9배까지 활성이 높은 것으로 나타났다. 과실의 생육단계별 AGI 활성은 미

숙과 보다는 숙과에서 전반적으로 높았고, 선발계통들이 대비종 보다 높게 나타나 1차년도
의 선발 효과가 확인되었다.

2) 선발된 고효성 계통의 유전분석을 위해 열매에서 고효성 계통과 저효성 계통간
에서 고효성과 고효성 계통간의 F_1 조합을 작성하였다. 작성된 F_1 식물체 들은 현재 F_2 및
여교잡 세대 작성을 위해 교배중에 있다.

3) 1차년도에 선발된 고효성 4계통의 지역적응성 시험을 수원, 괴산, 및 영양에서 수행
하였다. 지역별로 수확된 과실의 AGI 활성은 모든 계통에서 대비종 보다 높게 나타났고 지
역별로는 영양에서 재배했을 때 활성이 수원이나 괴산지역에서 보다 높았다. 고효성 계통의
원예적 특성은 과중 12.1~40.6g까지로 일반 국내 시판 고추품종과 비슷한 것부터 40g 이상
의 대과종까지 분포하였다. 과장은 7.9~14.1cm, 과경은 1.9~3.1cm까지 분포하였고 미숙과
색은 연록 2, 연황 1, 녹색이 1계통이었고, 숙과색은 적색이 3계통이었고, 1계통은 오렌지색
이었다.

4) 고효성 계통간에 작성된 F_1 식물체를 대상으로 약배양을 수행 중에 있다.

3. 유전분석 및 고효성 계통의 특성 검정

가. 연구목적

유전분석을 위해 1, 2차 년도에 작성된 F_1 , F_2 및 BC 집단을 대상으로한 유전분석 및 선
발 고효성 계통들의 특성 검정을 수행하고자 함

나. 재료 및 방법

1) 유전분석

과실에서 고효성/저효성 간에 작성된 F_1 , F_2 및 BC 집단 및 열매에서 고효성/고효성 계통
간에 작성된 F_1 , F_2 및 BC 집단을 이용하였다. 과실에서 AGI 활성이 높은 것으로 선발된
조합에서는 과중, 개화기 등 몇 가지 주요 원예적 형질에 대한 유전분석을 실시하였다. 열매
에서 AGI 활성이 높은 것으로 선발된 계통들간의 조합에서는 열매의 AGI 성분 및 엽장, 엽폭에
대한 유전분석을 실시하였다. 과실에서는 상대적으로 AGI 활성의 절대값이 낮고 분석시 오
차가 심하여 실질적으로 AGI 성분의 유전분석은 곤란하였다. 따라서 본 과제의 최종 목표
에 맞추어 활성이 높은 기능성 품종 육성의 가능성을 검토하고자 열매에서 활성이 높은 것 간
에 작성된 두 조합을 활용하여 AGI 활성의 유전양상을 조사하였다. 유전분석 및 AGI 활성
분석용 시료의 과중은 2007년 9월 28일 105공 트레이에 직파하여 12월 4일까지 관리하다가
지속적인 관리를 위해 50공 트레이에 이식하여 생육을 관리 하였다. 개체별로 개화기의 유
전양상을 분석하고자 과중 후 150일까지 개체별 개화기를 조사하였다. 열매의 AGI성분 분석
용 집단은 12월 30일 본엽이 17~20매 정도 전개되었을 때 일시에 생장점 주변의 열매를 채취
하여 AGI 활성 분석용 시료로 이용하고 또한 엽장, 엽폭의 유전분석용 시료로도 이용하였
다. AGI 성분 분석은 강원대학교에서 확립된 방법대로 강원대학교에서 실시하였다.

2) 고효율 계통들의 특성 검정

1, 2차 년도에 과실과 잎에서 고효율으로 선발 고정되어온 계통들의 원예적 특성을 평가하기 위해 2007년 3월 2일 원예연구소 육묘용 온실에서 72공 트레이에 파종하여 육묘한 후 5월 2일 원예연구소 비가림 하우스에 정식하였다. 정식된 식물체들은 원예연구소 표준 재배법으로 생육을 관리하면서 특성을 평가하였다. 선발 계통들의 지역별 AGI 활성을 조사하고자 영양고추시험장, 괴산 제일종묘농산 포장과 원예연구소 노지 및 비가림 하우스에 정식하여 관리하면서 적기에 시료를 채취하여 AGI 활성을 평가하였다. 주요 원예적 특성 평가는 원예연구소에서 행하고 있는 방법대로 수행하였고, AGI 활성은 과실와 잎의 시료를 같은 시기에 채취하여 강원대학교에서 확립된 방법대로 수행하였다.

3) 고효율 계통 육성을 위한 약배양

과실에서 활성이 높은 것과 낮은 것 7AR1(6FR1-1/6FR2-1), 7AR2(6FR1-1/6FR2-1)와 높은 것과 낮은 것 7AR3(6FR1-1/6FR22-1), 7AR4((6FR1-1/6FR24-1) 및 잎에서 활성이 높은 것으로 선발된 것 간의 F₁ 조합 7AR14(6LE1-1/6LE2-1), 7AR15(6LE1-1/6LE2-1)를 공시하여 원예연구소에서 확립된 방법으로 약배양을 수행하였다.

다. 시험결과

1) 유전분석 결과

표 3-1. 유전분석을 위한 교배 조합작성 결과

구분	조합명	F ₁	F ₂	BC ₁ P ₁ F ₁	BC ₁ P ₂ F ₁
과실	고활성(P ₁ , 6FR1-1)/저활성(P ₂ , 6FR22-1)	○	○	○	○
과실	고활성(P ₁ , 6FR1-1)/저활성(P ₃ , 6FR24-1)	○	○	○	○
잎	고활성(P ₁ , 6LE1-1)/고활성(P ₂ , 6LE2-1)	○	○	○	○
잎	고활성(P ₁ , 6LE1-1)/고활성(P ₃ , 6LE3-1)	○	○	○	○

고추 과실과 잎에서 활성이 높은 계통과 낮은 계통 및 높은 계통과 높은 계통간에 작성된 유전분석용 시료의 교배조합은 표 3-1과 같다.

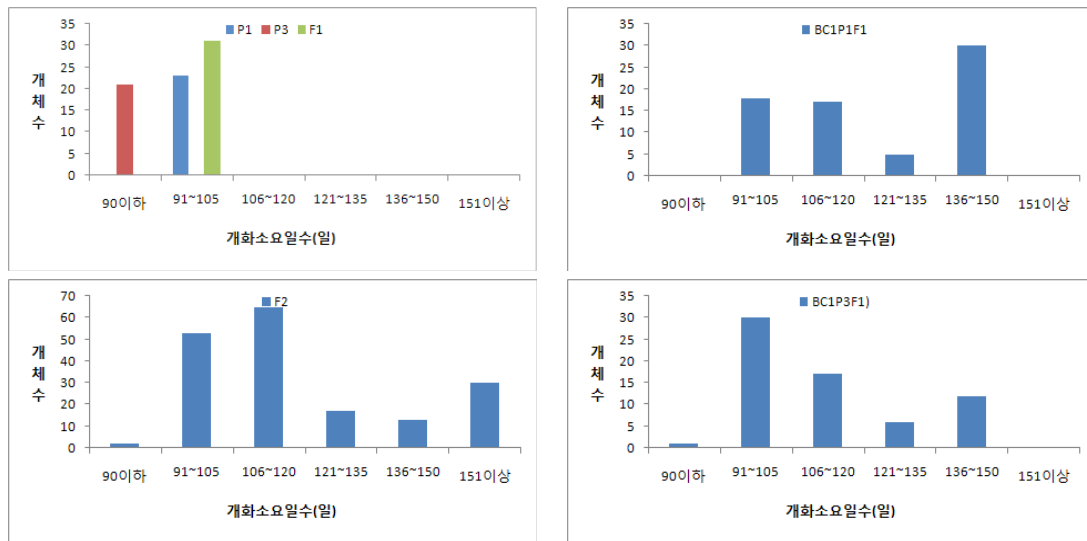


그림 3-1. 과실의 고휘성(P₁)× 저활성(P₃) 간 세대별 개화기의 분포

과실에서 활성이 높은 P₁(6FR 1-1)의 평균 개화기는 파종 후 104일 이었고, 활성이 낮은 P₂(6FR 22-1)의 평균 개화기는 101일로 양친 간에 차이가 크지 않았다. F₁의 개화기는 양친보다 약간 빠른 97일이었고, F₂ 및 BC₁P₁F₁, BC₁P₂F₁ 집단의 평균 개화기는 각각 116.8일 ±24.9, 110.9일±21.3, 112.6일±20.5 이었다. 과실에서 활성이 높은 P₁(6FR 1-1)과 활성이 낮은 P₃(6FR 24-1)간의 F₁, F₂ 및 BC₁P₁F₁, BC₁P₂F₁ 집단을 대상으로 개화기에 대한 유전분석결과는 그림 3-1과 같다. 과실에서 활성이 높은 P₁(6FR 1-1)의 평균 개화기는 파종 후 104일 이었고, 활성이 낮은 P₃(6FR 24-1)의 개화기는 88일이었다. P₁, P₃간 F₁의 개화기는 양친의 중간보다 다소 늦은 99일이었다. F₂ 및 BC₁P₁F₁, BC₁P₂F₁의 평균 개화기는 각각 118.7일 ±19.7, 124.1일±18.6, 112.8일±17.0 이었다.

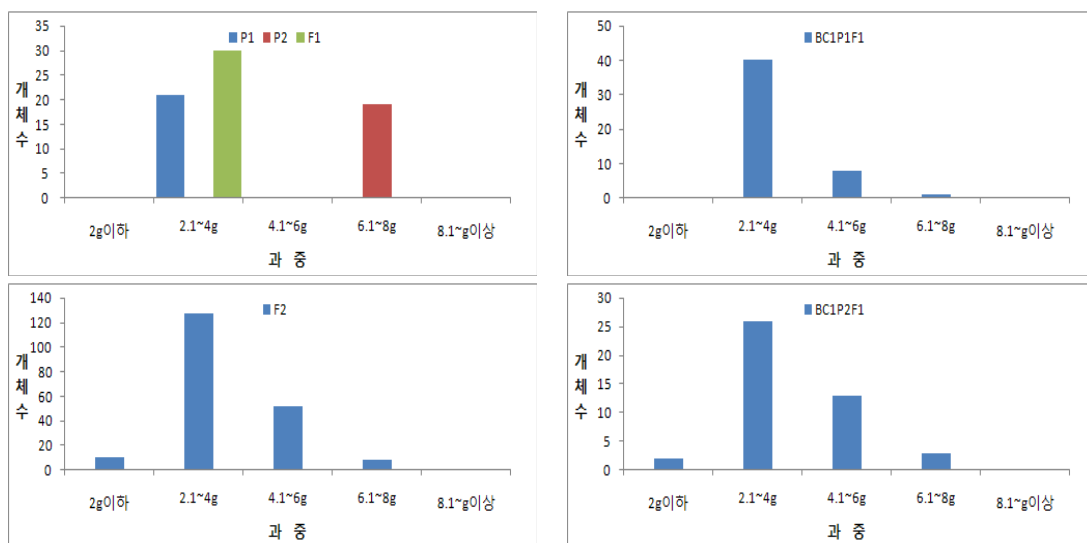


그림 3-2. 과실의 고휘성(P₁)× 저활성(P₂) 간 세대별 과중의 분포

과실에서 AGI 활성이 높은 것으로 선발된 P₁(6FR1-1)의 평균 과중은 3.6g 이었고, P₂(6FR22-1)의 평균 과중은 6.8g으로 양친 간에 다소 차이가 있는 조합을 대상으로 과중에 대한 유전분석 결과, P₁(6FR1-1) × P₂(6FR22-1)간 F₁의 평균 과중은 3.7g, F₂의 평균과중은 3.6g, BC₁P₁F₁의 평균 과중은 3.4g으로 P₁쪽으로 분포하였고, BC₁P₂F₁ 집단의 평균 과중은 3.7g으로 양친의 F₁과 비슷하게 분포하였다(그림 3-2). P₁, P₂간의 과장에 대한 유전은 P₁(6FR1-1)의 평균 과장은 6.3cm였고, P₂(6FR22-1)의 평균 과장은 6.8cm로 양친간의 차이가 크지 않았다. P₁(6FR1-1) × P₂(6FR22-1)간 F₁의 평균 과장은 7.6cm로 양친보다 길어졌고, F₂의 평균과장은 7.5cm, BC₁P₁F₁ 및 BC₁P₂F₁의 평균 과장은 각각 7.4cm, 8.0cm 였다.

과실에서 AGI의 활성이 높은 것으로 선발된 P₁(6FR1-1)과 활성이 낮은 것으로 선발된 P₃(6FR24-1)간의 조합에서, P₁(6FR1-1)의 평균과중은 3.6g, P₃(6FR24-1)의 평균 과중은 4.5g 으로 계통간 차이가 크지 않았다. P₁(6FR1-1) × P₃(6FR24-1)간 F₁의 평균 과중은 3.1g, F₂의 평균과중은 4.1g, BC₁P₁F₁의 평균 과중은 3.3g, BC₁P₂F₁의 평균 과중은 2.4g으로 양친보다 작은 쪽으로 분포하였다(그림 3-3). P₁(6FR1-1)의 평균 과장은 6.3cm였고, P₃(6FR24-1)의 평균 과장은 7.9cm였다(그림 3-4). P₁(6FR1-1) × P₃(6FR24-1)간 F₁의 평균 과장은 5.9cm로 양친보다 짧아져 P₁, P₂ 조합과는 다른 경향이였다. F₂의 평균과장은 6.5cm, BC₁P₁F₁ 및 BC₁P₂F₁의 평균 과장은 각각 6.2cm, 5.2cm 였다.

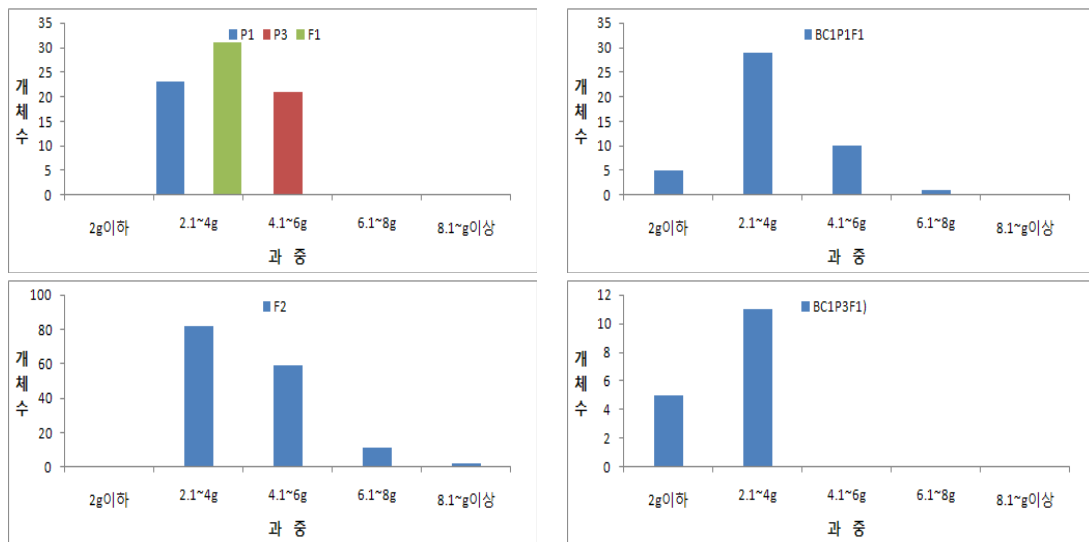


그림 3-3. 과실의 고효성(P₁)× 저효성(P₃) 간 과중의 분포

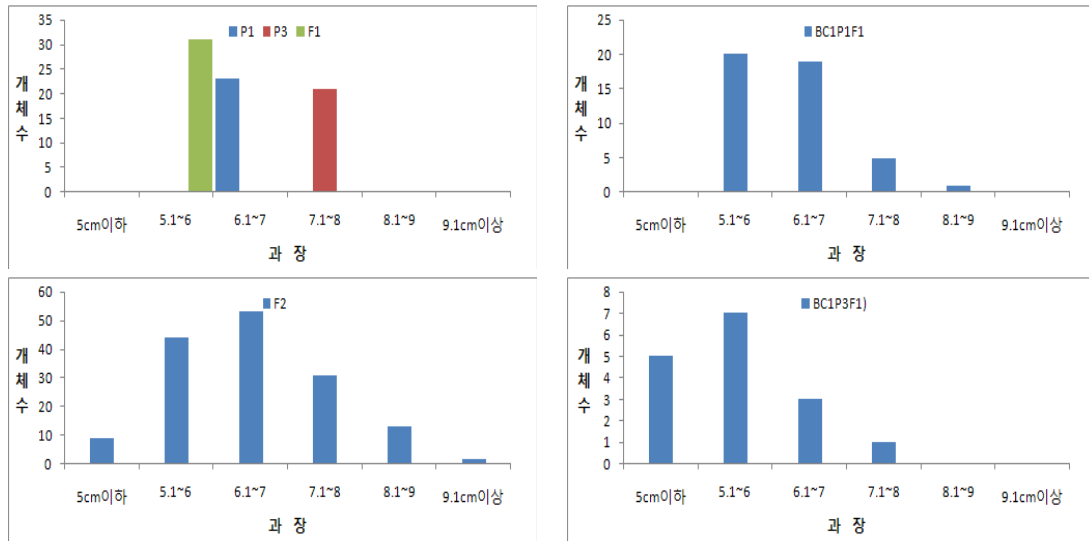
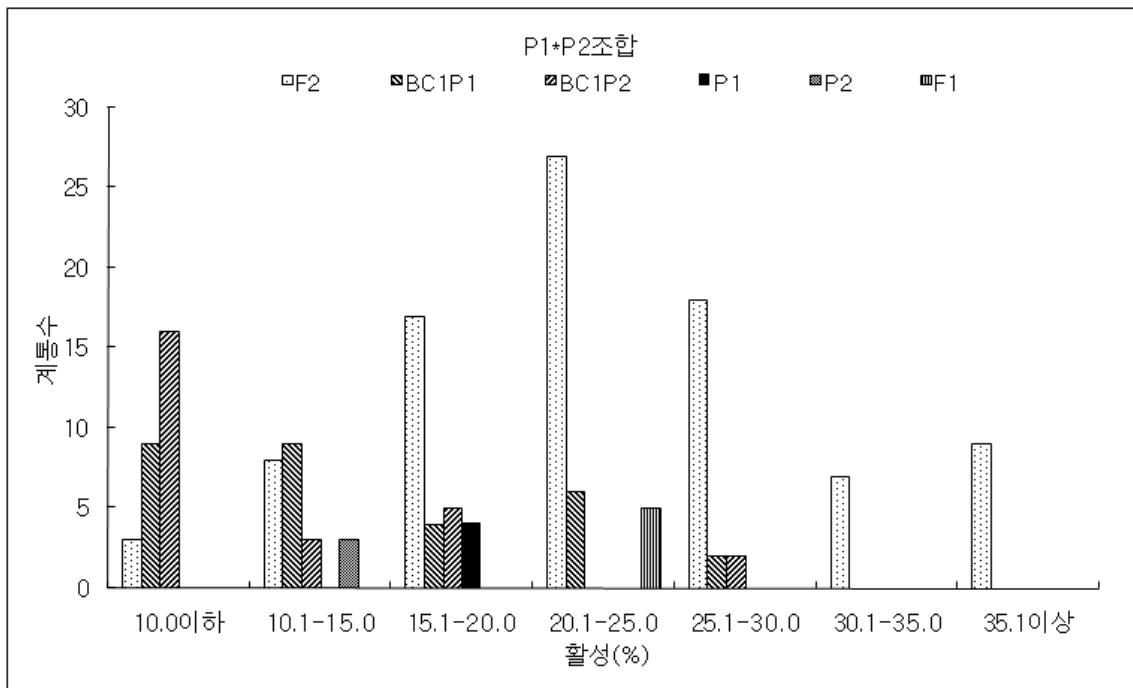


그림 3-4. 과실의 고효성(P₁)× 저효성(P₃) 간 과장의 분포

앞에서 AGI 활성이 높은 개체의 선발 가능성을 검토하고자 고효성 계통간에 교배된 조합의 F₁, F₂ 및 BC₁P₁F₁, BC₁P₂F₁을 대상으로 AGI 활성 분포를 조사한 결과는 그림 3-5, 3-6 및 표 3-2와 같다.

그림



3-5. 고효성(P₁) × 고효성(P₂) 조합의 잎의 AGI 활성 분포

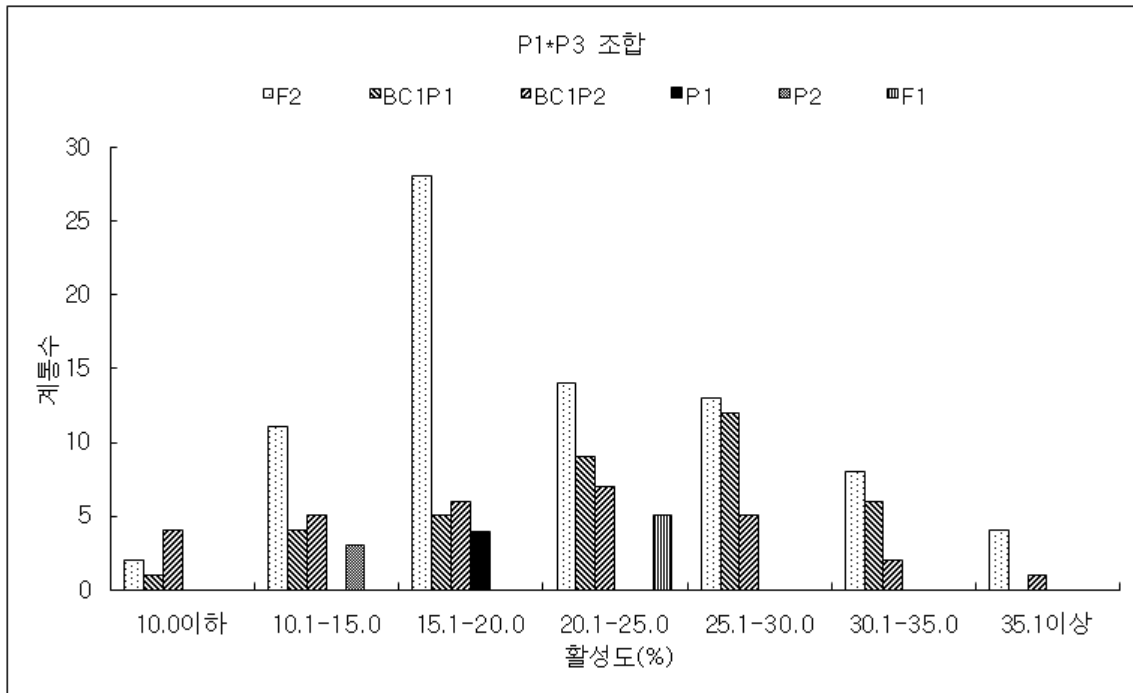


그림 3-6. 고효성(P₁) × 고효성(P₃) 조합의 잎의 AGI 활성 분포

고활성(P₁, 6LE1-1) × 고효성(P₂, 6LE2-1) 조합의 양친인 P₁의 평균 AGI 활성은 17.6%, P₂의 평균 AGI 활성은 16.4% 였다. 이들의 F₁ 조합에서의 평균 AGI 활성은 양친보다 높은 20.4% 였고, F₂ 집단에서의 평균 AGI 활성은 23.7%로 양친보다 높은 쪽이 많이 분포하였다. BC₁P₁F₁ 조합에서는 평균 AGI 활성은 14.9%로 낮아졌고, BC₁P₂F₁ 조합에서는 평균 AGI 활성은 9.1%로 더 낮아져 고효성 계통의 선발은 F₂ 집단에서 개체 선발을 하는 것이 유리할 것으로 판단되었다.

표 3-2. 잎에서 활성이 높았던 P₁, P₂, P₃ 계통간 조합별 AGI 활성 분포

구분	P ₁ (6LE 1-1)×P ₂ (6LE 2-1) 조합		P ₁ (6LE 1-1)×P ₃ (6LE 3-1)조합	
	평균	편차	평균	편차
P ₁ (6LE 1-1)	17.6	3.95	17.6	2.87
P ₂ (6LE 2-1)	16.4	2.53	-	-
P ₃ (6LE 3-1)	-	-	14.5	1.71
F ₁	20.4	4.3	20.2	1.51
F ₂	23.7	2.1	21.7	1.79
BC ₁ P ₁ F ₁	14.9	1.71	23.2	2.69
BC ₁ P ₂ F ₁	9.1	1.88	-	-
BC ₁ P ₃ F ₁	-	-	19.7	2.84

고활성(P_1 , 6LE1-1) × 고탄성(P_3 , 6LE3-1) 조합의 양친인 P_1 의 평균 AGI 활성은 17.6%, P_3 의 평균 AGI 활성은 14.5% 였다. 이들간 F_1 조합에서의 평균 AGI 활성은 양친보다 높은 20.2% 였고, F_2 집단의 평균 AGI 활성은 21.7%로 고탄성(P_1) × 고탄성(P_2) 조합과 비슷한 경향이였다. $BC_1P_1F_1$ 조합에서는 평균 23.2%로 높아져 앞의 조합과는 차이가 있었다. $BC_1P_3F_1$ 조합에서도 평균 19.7%로 조합간에 AGI 활성의 정도가 달라져 유전 양상이 일정하지 않은 것을 확인 할 수 있었다. 유전분석을 위해 작성된 조합의 F_2 집단에서 AGI 활성이 높은 10개체를 선발하여 화분에 정식하였다. 선발된 개체들은 약배양 및 자식과정을 거쳐 고정하여 활성이 높은 기능성 계통 육성에 활용하고자 한다.

앞에서 활성이 높은 것으로 선발된 $P_1(6LE1-1)$ 과 $P_2(6LE2-1)$ 간 교배조합 집단의 잎 특성에 대한 유전은 표 3-3과 같다. P_1 의 엽장은 평균 6.2cm, P_2 의 엽장은 평균 7.0cm로 두 계통간에 차이가 크지 않았고, F_1 의 엽장은 양친의 중간인 6.5cm, F_2 의 평균 엽장은 6.5cm로 양친의 중간에 대부분이 분포하였다. $BC_1P_1F_1$ 및 $BC_1P_2F_1$ 의 평균 엽장은 각각 7.1cm, 7.4cm로 양친보다 약간 큰 것으로 나타났다. $P_1(6LE1-1)$ 과 $P_2(6LE2-1)$ 간 교배조합 집단의 엽폭에 대한 유전은 P_1 의 엽폭은 평균 2.7cm, P_2 의 엽폭은 평균 3.1cm로 엽장과 같이 두 계통간에 차이가 크지 않았고, F_1 의 엽폭은 양친의 중간인 2.9cm, F_2 의 평균 엽폭은 3.1cm로 양친의 큰 쪽과 같았다. $BC_1P_1F_1$ 및 $BC_1P_2F_1$ 의 평균 엽폭은 각각 3.3cm, 3.5cm로 양친보다 약간 큰 것으로 나타났다. P_1 과 $P_3(6LE3-1)$ 집단의 엽장, 엽폭도 P_1 , P_2 조합과 비슷한 경향이였다.

표 3-3. 앞에서 활성이 높았던 P_1 , P_2 계통간 조합별 엽장, 엽폭의 유전

구분	엽 장(cm)		엽 폭(cm)	
	평균	편 차	평균	편 차
$P_1(6LE1-1)$	6.2	0.93	2.7	0.36
$P_2(6LE2-1)$	7.0	1.2	3.1	0.56
F_1	6.5	0.2	2.9	0.32
F_2	6.5	0.92	3.1	0.47
$BC_1P_1F_1$	7.1	0.83	3.3	0.38
$BC_1P_2F_1$	7.4	0.63	3.5	0.27

2) 고탄성 계통들의 특성 검정

과실에서 1, 2차년도에 고탄성으로 선발된 계통들의 원예적 특성 평가 결과 개화기는 과중 후 87일부터 110일까지 분포하여 대비중 90일 보다 대부분 늦은 경향이었고, 착과방향은 모두 하향이였다. 과중은 6.8g~51.2g, 과장은 6.3~18.2cm범위에 분포하였다(표 3-4). 청과색은 농록 4, 연록 1, 연황 2, 녹색 1계통이였고 숙과색은 모두 적색이였다. 선발계통들의 AGI 활성을 원예연구소와 영양고추시험장에 정식하여 조사한 결과 지난해와는 달리 대비품

종 보다 평균적으로 낮은 계통부터 최대 2.5배 높은 계통까지 분포하여 안정적인 고효성 계통을 선발하기가 곤란하였다(그림 3-7).

표 3-4. 과실의 고효성 선발계통의 원예적 특성 평가 결과

구분	개화기 (일)	착과 방향	과중 (g)	과장 (cm)	미숙과색	숙과색
FR1(6FR 1-1-1)	108±5.2	하	6.8±1.5	8.5±1.8	농록	적색
FR2(6FR 2-1-1)	105±3.5	하	13.9±2.3	6.3±1.2	녹색	적색
FR3(6FR 3-1-1)	110±4.8	하	17.3±3.2	9.2±1.5	농록	적색
FR4(6FR 4-1-1)	110±5.3	하	51.2±5.3	18.2±2.1	연황	적색
FR5(6FR 5-1-1)	99±4.6	하	16.1±3.1	7.2±1.3	연록	적색
FR6(6FR 6-1-1)	105±4.6	하	10.5±2.1	11.6±2.1	농록	적색
FR7(6FR 7-1-1)	87±3.3	하	42.9±6.2	13.5±2.5	연록	적색
FR8(6FR 8-1-1)	108±3.5	하	4.8±1.2	8.6±1.5	농록	적색
대비(제주재래)	90±2.1	하	12.3±1.9	13.8±2.3	녹색	적색

※ 개화기는 과중 후 일수

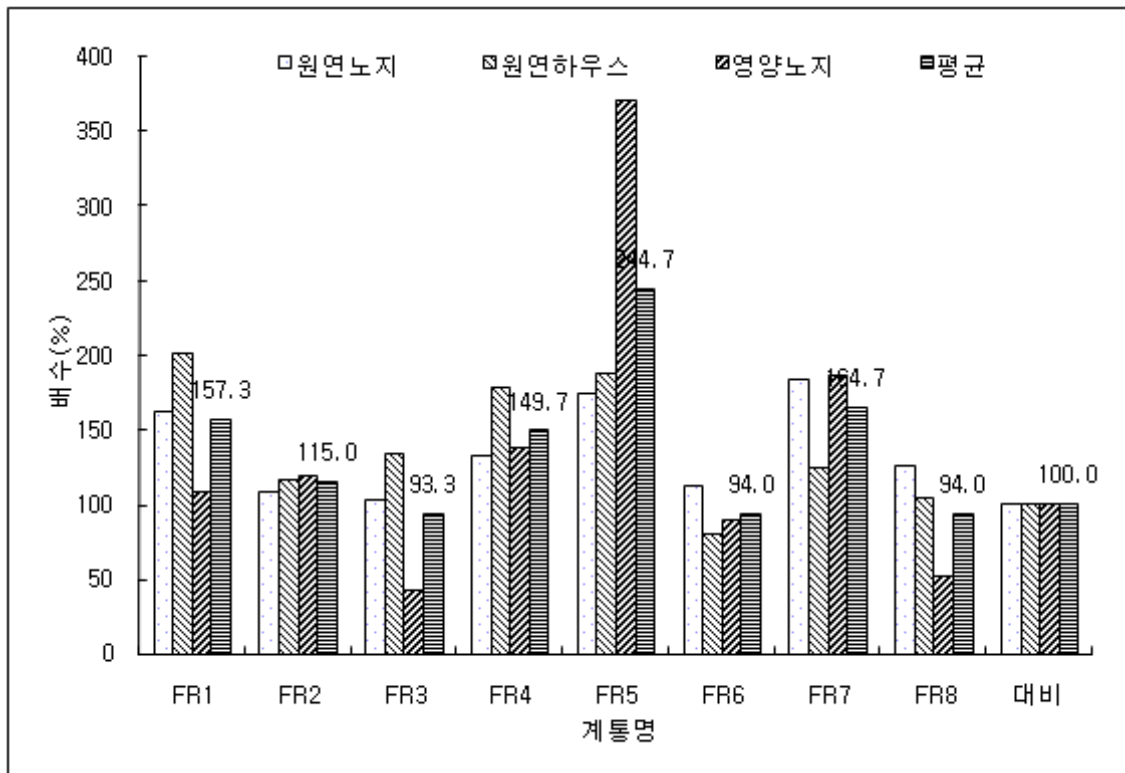


그림 3-7. 과실의 고효성 선발 계통 지적시험 결과

표 3-5. 잎의 고효성 선발계통의 원예적 특성 평가 결과

구분	개화기 (일)	착과방향	과중 (g)	과장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)
LE1(6LE 1-1-1)	112±5.2	하	7.4±2.1	9.4±1.3	19.6±3.1	5.3±1.3
LE2(6LE 2-1-1)	99±4.8	하	5.5±1.2	7.1±1.1	21.4±3.5	5.6±1.0
LE3(6LE 3-1-1)	108±4.2	하	10.5±2.1	9.5±1.5	19.9±2.3	5.6±0.6
LE4(6LE 4-1-1)	105±6.1	하	11.8±2.3	7.0±1.1	15.8±3.1	5.6±0.4
LE5(6LE 5-1-1)	112±4.9	하	21.1±3.2	16.1±2.3	12.3±3.2	4.3±0.6
LE6(6LE 6-1-1)	105±5.2	하	8.4±1.2	12.6±1.3	6.7±1.5	2.1±0.4
LE7(6LE 7-1-1)	112±6.1	하	9.4±1.1	8.6±1.5	10.3±1.6	2.8±0.3
LE8(6LE 8-1-1)	106±4.3	하	36.2±3.1	10.1±2.0	14.1±2.3	4.7±0.5
대비(시판종)	99±2.3	하	11.1±1.3	10.7±2.1	13.2±2.3	5.2±0.6

※ 개화기는 과중 후 일수

앞에서 1, 2차년도에 고효성으로 선발된 계통들의 원예적 특성 평가 결과 개화기는 과중 후 99일부터 112일까지 분포하여 대비종 99일 보다 대부분 늦은 경향이었고, 착과방향은 모두 하향이였다. 과중은 5.5g~36.2g, 과장은 7.0~16.1cm범위에 분포하였다. 엽장은 6.7~21.4cm, 엽폭은 2.1~5.6cm 범위에 분포하였다. 선발계통들의 AGI 활성을 원예연구소, 피산 제일종묘농산 포장 및 영양고추시험장에 정식하여 조사한 결과는 그림 3-8과 같다. 잎에서의 AGI 활성은 과실에서와는 달리 선발 계통들이 대비 품종에 비교하여 평균적으로 모두 높았으나 지역별로는 대비품종보다 낮은 계통도 있었다. LE 3(6LE3-1-1) 계통의 경우 수원에서는 아주 높은 활성을 보였으나 피산, 영양지역에서 낮은 활성을 보여 전체적인 평균이 낮았고, LE 1(6LE1-1-1), LE 5(6LE5-1-1), LE 6(6LE6-1-1)은 1차년도 육묘단계에서와는 달리 지역적응 시험에서는 전반적으로 낮아 지역간, 연차간에 변동이 컸다. 지역간, 연차간에 차이는 있지만 세 지역에서 안정적으로 활성이 높았던 LE 4(6LE4-1-1)계통을 선발하여 잎에서 AGI 활성이 높은 고정종 기능성 품종으로 등록하고자 한다. 선발된 LE 4(6LE4-1-1)계통은 대비품종 대비 AGI 활성이 평균 4배 높았다. LE 4(6LE4-1-1)계통의 원예적 특성은 개화기는 과중후 105일정도로 대비품종보다 1주일 정도 늦었고, 과실 특성은 과중 11.8g, 과장 7.0cm 정도의 중소과이고, 엽장 엽폭은 각각 15.8cm, 5.6cm로 상대적으로 작은 편이었다. 잎 전용 기능성 품종으로 활용하기 위해서는 잎의 크기가 큰 것이 수확 등에 유리하겠지만 수확방법이 개별적인 잎으로 수확하기 보다는 줄기를 포함한 수확이 이루어진다면 잎의 크기 보다는 성분의 함량이 중요한 요인이 될 것으로 판단되었다.

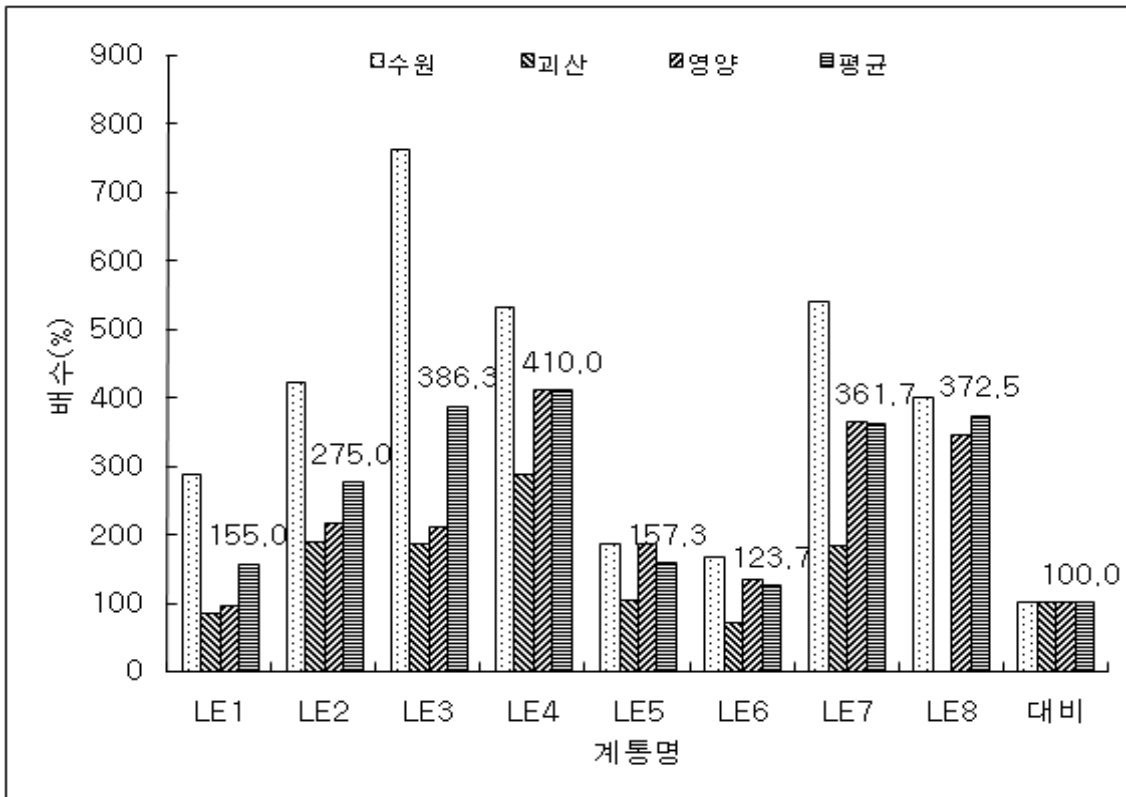


그림 3-8. 잎의 고효성 선발 계통들의 지적시험 결과

3) 고효성 계통육성을 위한 약배양

1차년도 과실에서 고효성으로 선발된 계통들 간의 F₁조합(7AR 1, 2)과 고효성과 저활성 계통간의 F₁조합(7AR 3, 4) 및 잎에서 고효성으로 선발된 계통들간 F₁조합(7AR 14, 15)을 대상으로 약배양을 실시한 결과는 표 3-6과 같다. 약배양시 재분화 식물체 획득 비율은 조합간에 차이가 컸는데 잎에서 작성된 조합의 평균 재분화율은 1.7%였다. 과실에서 작성된 조합의 평균 재분화율은 5.4%로 잎에서 작성된 조합에 비교하여 상대적으로 재분화 식물체 획득 비율이 높았다. 획득된 재분화 식물체를 순화한 비율은 25.9~77.8%까지로 순화 개체 비율은 상당히 높은 편이었다(그림 3-9). 순화된 식물체의 배수성을 육안 및 염색체 배수성 판별기를 이용한 판단한 결과 자연배가 비율이 조합별로 0~42.9%까지 다양하였다. 자연 배가되어 정상적인 2배체 식물로 착과가 잘 되는 개체들은 화분에 정식하여 자식을 통해 동질 이배체 유무를 판단하고, AGI 활성 평가를 통해 금후 고효성 계통육성 재료로 계속 활용하여 새로운 고효성 계통 육성 가능성을 검토할 예정이다.

표 3-6. 고효성 계통간에 작성된 F₁ 조합을 활용한 약배양 결과

계 통 명	치상 약수 (A)	재분 화수 (B)	순화 개체수			B/A (%)	C/B (%)	D/C (%)	E/C (%)
			합계 (C)	2배체 (D)	반수체 (E)				
7AR1(6FR1-1/6FR2-1)F ₁	2,343	121	77	21	56	5.2	63.6	27.3	72.7
7AR2(6FR1-1/6FR3-1)F ₁	1,516	62	20	4	16	4.1	32.3	20.0	80.0
7AR3(6FR1-1/6FR22-1)F ₁	1,780	37	14	0	14	2.1	37.8	0.0	100
7AR4(6FR1-1/6FR24-1)F ₁	2,000	193	78	7	71	9.7	40.4	9.0	91.0
과실 조합 합계	7,639	413	189	32	157	5.4	45.8	16.9	83.1
7AR14(6LE1-1/6LE2-1)F ₁	1,610	27	7	2	5	1.7	25.9	28.6	71.4
7AR15(6LE1-1/6LE3-1)F ₁	1,098	18	14	6	8	1.6	77.8	42.9	57.1
잎 조합 합계	2,708	45	21	8	13	1.7	46.7	38.1	61.9



약배양 유래 식물체 관리 전경



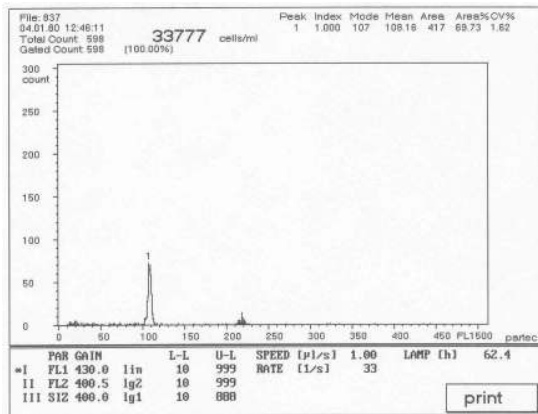
약배양 유래(2X) 개체



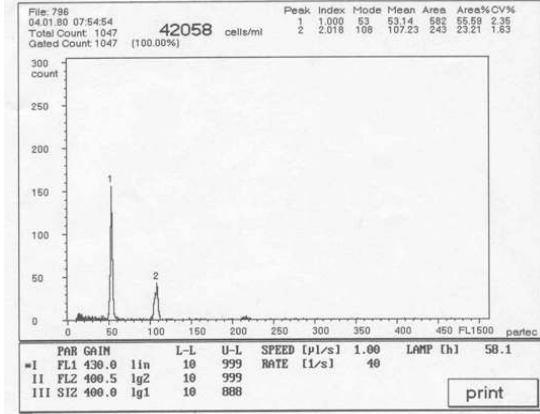
약배양 유래(2X) 개체



약배양 유래(1X) 개체



약배양 유래배수성 평가 결과
(이배체, 2X 식물)



약배양 유래 배수성 평가 결과
(반수체, 1X 식물)

그림 3-9. 약배양 유래 식물체의 생육관리 현황 및 배수성 조사 결과

라. 결과요약

1) 유전분석

가) 과실에서 활성이 높은 것으로 선발된 조합의 유전분석 결과 개화기는 F₁조합에서 양친보다 약간 늦어지는 경향이었고, F₂ 집단이 개화기도 양친보다 대부분 늦어지는 쪽으로 분포하였고, BC₁P₁F₁, BC₁P₂F₁ 집단에서도 F₂ 집단과 비슷한 경향이었다.

나) 과중의 유전은 조합별로 차이는 있었지만 선발된 조합의 F₁에서는 양친 중 작은 쪽으로, F₂, BC₁P₁F₁, BC₁P₂F₁ 집단에서도 같은 경향이었다.

다) 과장의 유전도 과중과 비슷한 경향으로 F₁에서는 짧은 쪽으로 F₂, BC₁P₁F₁ 및 BC₁P₂F₁ 집단에서도 같은 경향이었다.

라) 잎에서 AGI 활성에 대한 유전분석 결과 F₁에서는 양친보다 높은 AGI 활성을 보였고, F₂에서는 전반적으로 높은 개체의 비율이 많아 평균 AGI 활성은 양친보다 높았다.

마) 엽장, 엽폭의 유전은 F₁에서는 양친의 중간, F₂ 집단에서는 양친의 중간을 중심으로 정규분포를 하였고, BC₁P₁F₁, BC₁P₂F₁ 집단에서는 양친보다 큰 쪽으로 많이 분포하였다.

2) 고효성 계통의 특성 평가

가) 고효성 선발계통들의 특성 검정 및 지역적응 시험 수행결과 과실에서 높은 것으로 선발된 계통들의 원예적 특성은 개화기는 과중 후 87일부터 110일까지 분포하여 대비중 90일 보다 대부분 늦은 경향이었고, 착과방향은 모두 하향이였다.

나) 과중은 6.8g~51.2g, 과장은 6.3~18.2cm범위에 분포하였다.

다) 청과색은 농록 4, 연록 2, 연황 1, 녹색 1계통이었고 숙과색은 모두 적색이였다.

라) 열매에서 고효성으로 선발된 계통들의 AGI 활성을 조사하고자 지역적응시험을 수행한 결과 지역간, 연차간, 계통간에 차이가 있어 대비품종 보다 평균적으로 낮은 계통부터 최대 2.5배 높은 계통까지 다양하게 분포하여 연차간, 지역간에 안정적인 고효성 계통을 선발하기가 곤란하였다.

마) 잎에서 활성이 높은 것으로 선발된 계통들의 특성은 개화기는 과중 후 99일부터 112일까지 분포하여 대비중 99일 보다 대부분 늦은 경향이었고, 착과방향은 모두 하향이였다.

바) 과중은 5.5g~36.2g, 과장은 7.0~16.1cm범위에 분포하였고, 엽장은 6.7~21.4cm, 엽폭은 2.1~5.6cm 범위에 분포하였다.

사) 잎에서 고효성으로 선발된 계통들의 지역적응시험을 통해 잎에서의 AGI 활성을 조사한 결과 과실에서와는 달리 선발 계통들이 대비 품종에 비교하여 평균적으로 모두 높은 활성을 보였다. 지역간, 연차간에 차이는 있지만 세 지역에서 안정적으로 활성이 높았던 6LE 4-1-1계통을 선발하여 잎에서 AGI 활성이 높은 고정종 기능성 품종으로 등록하고자 한다.

아) 선발된 6LE 4-1-1 계통은 대비품종 대비 AGI 활성이 평균 4배 높았다. 선발계통의 원예적 특성은 개화기는 과중 후 105일정도로 대비품종보다 1주일 정도 늦었고, 과실 특성은 과중 11.8g, 과장 7.0cm 정도의 중소과이고, 엽장 엽폭은 각각 15.8cm, 5.6cm였다.

3) 고효성 계통 육성을 위한 약배양

가) 약배양을 통해 고정된 고효성 계통을 조기 선발하고자 약배양을 실시한 결과 재분화율은 계통간에 차이가 컸다.

나) 과실에서 선발된 조합의 평균 재분화율은 5.4%, 잎에서 선발된 조합의 평균 재분화율은 1.7% 였다.

다) 재분화된 식물체 중에서 자연배가되는 식물체의 비율은 0~42.9%로 조합간에 차이가 컸다. 과실에서 선발된 조합에서 유래된 개체들의 평균 자연 배가율은 16.9%였고, 잎에서 선발된 조합 유래 개체들의 평균 자연배가율은 38.1% 였다.

라) 자연배가된 식물체들을 대상으로 AGI 활성을 조사하여 활성이 높은 고정종 계통의 선발 가능성을 검토할 예정이다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 혈당강하 기능성 고추의 돌연변이육성 및 품종화

혈당강하 성분이 높은 기능성 고추 품종을 육성하고자 예비 선발된 계통을 포함하여 신규로 기존에 보유하고 있던 재료들을 대상으로 AGI 활성 조사 결과 과실에서 1배부터 49배까지 자원들 간에 AGI 활성에 차이가 있었다. 원예적 특성평가 결과 다양한 크기와 모양, 매운맛이 분포되어 있는 것을 확인하였다. 또한 고추에서 돌연변이체 처리를 통한 돌연변이 유기조건을 검정한 결과 EMS를 이용한 돌연변이 처리 조건은 0.15M에서 2시간 처리하는 것이 적당하였다. 고추에서도 돌연변이체 처리를 통해 AGI 활성이 다양한 개체들을 확보할 수 있을 것으로 판단되었다. 돌연변이 처리 후 확보된 개체들의 잎과 과실을 대상으로 AGI 활성을 조사한 결과 잎에서 AGI 활성이 최대 27배, 과실에서는 최대 8배까지의 차이가 확인되었다. AGI 활성이 높은 것으로 선발된 고탄성 계통들을 대상으로 2차 년도에 AGI 재 활성 검정 결과 대비품종 대비 3~5배까지 높은 것으로 확인되었다. 활성이 높은 것으로 확인된 1계통을 선발하여 AGI 활성이 높은 ‘당조’ 고추 품종을 등록하였다. 또한 돌연변이체로부터 α -glucosidase inhibitor 활성이 높은 계통의 선발에 관한 논문발표 및 게재를 통해 고추 돌연변이 품종육성에 참고 자료로 활용이 가능할 것으로 생각된다. 또한 품종 등록된 고추는 적극적인 방법으로 홍보 및 판매를 통해 기능성 고추 품종의 조기 보급 및 확산을 통해 농가 소득 증대에 기여할 수 있을 것으로 판단되고 새로운 기능성 고추 품종의 육성 가능성을 제시함으로 국내 고추 품종의 품질향상에 기여하는 바가 클 것으로 평가된다.

제 2 절 고추로부터 AGI의 개발

대표적인 탄수화물 소화 효소인 α -glucosidase에 대한 저해 효과를 갖는 고추를 대상으로 하여 AGI의 정제 및 구조 결정, 동물을 모델로 한 혈당강하 효과 등을 검정하였다. 고추로부터 AGI 활성을 갖는 AGI-6481과 AGI-4433을 각각 분리 정제하였다. 정제한 AGI-6481과 AGI-4433을 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MALDI-TOF MS, IR등의 방법으로 그 구조를 분석한 결과 AGI-6481은 apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside, AGI-4433은 apigenin-7-O- β -D-xylo-hex-4-ulopyranoside으로 분석되었다.

이들 저해제의 기원별 효소에 따른 저해 활성도와 저해 kinetics, 열 및 낮은 pH에 대한 안정성에 대한 연구를 진행하였다. AGI-6481과 AGI-4433의 기원별 α -glucosidase에 대한 저해 활성에서 두 저해제 모두 돼지 소장 기원의 maltase와 sucrase에 대한 저해활성이 있는 것으로 나타났으나, 미생물의 α -glucosidase와 Almond β -glucosidase에 대해서는 저해 활성이 없는 것으로 나타났다. 또한 돼지 소장 기원의 α -glucosidase에 대한 가역성 여부에서 AGI-6481과 AGI-4433 모두 가역적인 저해제인 것을 나타냈으며, 돼지 소장 기원의 maltase와 sucrase에 대한 저해 kinetic에 대한 연구에서 AGI-6481과 AGI-4433 모두 돼지 소장 기원의 maltase와 sucrase에 대해 경쟁적 저해제로 나타났다. 이는 이들 저해제가 기

질인 maltose나 glucose등의 유사체일 가능성이 높을 것으로 판단된다. 이때 이들의 K_i값은 AGI-6481은 433 µg/ml와 1420 µg/ml, AGI-4433은 약 3.1 µg/ml와 17.17 µg/ml로 나타냈다.

이들 저해제들의 생리활성을 알아보기 위한 동물 실험에서 고추 잎 추출물 및 분리 정제된 AGI-4433의 식이 섭취에 따른 식후 혈당 강하효과에서 고추 잎 추출물을 150 mg/kg 투여한 군과 AGI-4433을 30 mg/kg 투여한 그룹에서는 sucrose만 투여한 군에 비해 현저히 낮은 혈당을 유지 시켜주는 것을 확인하였다. 이들 두 군의 식후 혈당 강하효과는 기존의 혈당 강하제인 Acarbose (2.5 mg/kg)을 투여한 군과 별다른 차이가 없는 것으로 나타났다.

제 3절 혈당강하 기능성 고추의 계통 육성 및 유전분석

원예연구소에서 보유하고 있던 850여점의 고추 유전자원의 원예적 특성을 평가하여 다양한 유전자원의 특성을 정리하였다. 또한 평가된 자원을 대상으로 과실와 잎에서 AGI 활성을 평가하여 과실에서는 계통간에 최대 23배, 잎에서는 최대 5.8배까지 활성 차이가 있음을 확인하였다. AGI 활성 검정 결과 과실과 잎에서 활성이 높은 계통을 각각 8계통씩 16계통 선발하였다. 선발된 계통들의 AGI 활성에 대해 과실에서는 미숙과와 성숙과를 대상으로, 잎에서는 상위엽과 하위엽을 대상으로 AGI 활성정도를 조사하였다. 제 1절에서 선발된 계통들을 대상으로 수원, 괴산, 영양에서 지역적응성 시험을 수행하여 품종등록용 자료 작성에 기여하였다. 또한 제 3절에서 선발된 계통들을 대상으로 지역적응시험을 수행하여 잎에서 연차간, 지역간 AGI 활성이 높고 안정성이 높은 1계통을 선발하여 잎에서 AGI 활성이 높은 품종으로 등록할 예정이다. 잎에서 활성이 높은 것으로 선발된 고효성 계통들 간에 F₁, F₂ 및 BC₁P₁F₁, BC₁P₂F₁ 집단을 이용하여 AGI 활성의 유전양상을 조사하였다. 그리고 활성이 높은 계통들을 조기에 고정하여 선발하고자 약배양을 실시하여 다수의 식물체를 획득하여 약배양을 통한 고효성 계통의 조기 육성 가능성을 검토하고자 한다. 본 과제에서는 고추의 α-glucosidase 저해제 고 활성 계통 선발 및 특성 평가에 관한 연구 결과를 원예학회 구두 발표하고 및 논문을 작성하여 생물환경조절학회지에 게재하여 금후 기능성 고추 품종육성을 위한 참고자료로 활용할 수 있도록 기여하였다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 유전자원 평가, 선발, 품종등록 준비, 논문게재, 약배양 기술을 활용한 조기 품종육성 가능성 등에 대한 자료를 제공함으로써 금후 기능성 품종육성 과제에 많은 기여를 할 수 있을 것으로 판단된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1. 과실에서 AGI 활성이 높은 계통을 선발 육성하여 생산판매 신고를 완료하고 시교 및

종자를 판매하고 있다. 품종보호권 설정을 위한 품종보호출원을 준비 중에 있다. 본 과제에서 확립된 고추의 돌연변이체 처리 기술을 활용한 새로운 고추 품종육성에 활용가능하다.

2. 고추에 있는 α -glucosidase inhibitor(AGI)의 특성을 구명함으로써 고추 섭취를 통한 건강증진에 기여하고, 국내 고추의 우수성을 홍보하고자 고추로부터 AGI의 분리 및 정제, AGI의 구조결정 및 이화학적 특성 구명, AGI의 저해기작 및 특성 규명, 쥐에서 AGI의 혈당강하 효과 검정 및 고활성 품종의 항 당뇨 효과를 검정한 결과는 본 과제를 통해 육성된 신품종의 홍보 및 기술지도 기초 자료로 활용가능하다.

3. 앞에서 AGI 활성이 높은 1계통을 선발하여 품종보호출원을 준비하고 있고, 품종보호권이 설정되면 상업화할 계획이다. 또한 약배양을 통한 고활성 계통의 조기 고정 가능성을 검토하고자 한다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

본 연구과제를 통해 중국 절강성을 방문하여 중국 절강성의 채소 기능성 연구동향에 관한 정보를 수집할 수 있었다(출장복명서 별첨). 또한 절강성 농업과학기술원 채소연구소와 원예연구소, 강원대학교간 MOU 체결로 금후 상호간의 적극적인 연구교류 및 유전자원의

교류가 가능 할 것으로 판단된다.

이러한 결과는 본 과제를 통해 국내의 우수한 고추 기능성 품종에 대한 홍보로 국내 고추 종자의 수출에도 적극적으로 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

<붙임 : 출장결과 수집 정보>

1. 목적

- 절강성 농과원 채소연구소 방문, 연구현황 논의 및 절강대학교 농과대학 채소연구실 방문, TRANSFAR 농장 방문 등을 통한 중국의 고추를 중심으로한 채소의 기능성 연구 현황 정보를 수집하고자 하였음

2. 지역 : 중국 절강성(항주)

3. 동행인 인적사항 : 이해익(강원대학교 생명과학부 교수)

4. 수행내용

가. 주요 논의 사항

- 절강성 농과원 채소연구소 연구현황 정보수집 및 식품연구소, 분석연구소의 연구현황 정보 수집
- 절강대학교 농과대학 채소과 주준휘교수의 기능성 관련 연구정보 수집 및 관련분야 연구현황 논의

나. 절강성 농과원 현황

- 항주는 중국에서 3번째로 발전된 도시로 북경, 상하이 다음으로 경제적 발전이 이루어진 도시임
- 절강성 농과원 채소연구소 실험실을 둘러보고, 주변 채소, 화훼종묘 생산 농장을 방문하여 생산 현황 등에 대한 정보를 수집
- 종묘 생산을 위한 농장의 규모 및 시설은 국내의 우수한 육묘장 수준에 부족하지 않았고, 규모는 온실만 4ha, 조직배양 요원 50명이 일시에 작업할 수 있는 시설을 갖추고 있으며 조직배양을 담당하는 인력은 얼마든지 확보할 수 있어 조직배양 담당자는 25세 전후의 젊은 분들만 채용하여 활용하고 있다고 함
- 종묘 생산 농장은 우리나라 농공단지과 같은 곳에 위치하여 이 단지내에서는 외국인의 손님접대를 위한 식당, 호텔 등의 각종 편이 시설이 갖추어져 있었음

다. 출장성과

- 절강성 농과원을 방문하여 채소연구소, 분석연구소, 식품연구소를 방문하여 시설 및 현황을 살펴보고 금후 공동연구 과제 개발 및 공동연구를 위한 협력방안을 논의하였음
- 원예연구소 소장과 절강성 농과원 원장이 함께 만나 공동연구 협력체결을 합의하였음
- 2008년부터 2010년까지 3년동안 원예연구소 채소과와 절강성 농과원 채소연구소간 국제공동연구를 통해 가지과 채소 주요 토양병 저항성 대목 육성 과제를 수행할 계획임

5. 주요업무 수행사항 및 관련정보 수집

가. 浙江省(저장성)의 일반현황

절강성 약칭은 절이다. 중국 동남연해, 태호 이남에 자리잡고 있으며 동해와 잇닿아 있고 상해시 및 강소(江苏), 안휘(安徽), 강서(江西), 복건(福建) 4개 성과 인접해 있다. 면적은 10만여 km²이며 인구는 4,677만이다. 한족, 씨족, 회족, 만족, 묘족 등의 민족이 살고 있다. 절강성은 11개 지구급시, 22개 현급시, 37개 현, 1개 자치현 및 28개 시관할구가 있다. 성 소재지

는 항주(杭州)시다.

경내에 있는 전당강의 옛 이름 <浙江>에서 본 따 절강성이라고 했다. 진나라가 중국을 통일한 후 회계군을 설치했다. 수조 때 경향대운하를 개척해 남북의 정치, 경제 내왕을 연결했으며 이 지역의 발전을 추진했다. 남송 때에는 임안(항주)으로 도읍을 옮겼다. 원나라 때는 강절행성에 속했고 명나라 때 절강 포정사사를 설치했다. 청나라 때 절강성이라고 불리웠다.

○ 지형 (地形)

구릉, 산간지역 위주이며 산간지역이 전성 총 면적의 70%를 차지한다. 지세는 서남에서 동북쪽으로 기울려졌다. 주요 산맥에는 안탕산(雁蕩山), 천목산(天目山), 천대산(天台山), 모간산(莫干山)이 있으며 해발이 200~1000m 이상이다. 그중 서남부의 황모침의 해발이 1,921m로 전 성에서 제일 높은 산봉우리다. 항가호평원(杭嘉湖平原), 녕소평원(寧紹平原), 황암평원(黃岩平原), 온주평원(溫州平原) 과 금구분지(金衢盆地), 동양분지(東陽盆地), 포강분지(浦江盆地)는 모두 중요한 알곡 및 경제작물 생산지역이다. 연해에 크고 작은 섬 3,000여개가 있는데 그중 주산도는 중국에서 4번째로 큰 섬이다. 해안선이 굴곡적이고 항만이 많으며 항주만이 제일 크고 전당강 바다입구의 전당강조석은 세계의 일대 기관으로 되고 있다. 하류에는 각기 초계(苕溪), 전당강(錢塘江), 용강(甬江), 령강(靈江), 우강(甌江), 비운강(飛雲江), 오강(鰲江) 강 등 7개 수계가 있는데 그중 전당강이 제일 길어 간류가 410km에 달한다. 대부분 하류의 흐름이 세차고 협곡이 많아 샘물형 하류특색을 띠고 있다. 유명한 호수는 항주 서호, 가흥의 남호, 은현(鄞縣)의 동전호이다.

○ 기후(气候)

아시아열대 계절풍 기후 지역으로 따뜻하고 습하며 사계절이 분명하다. 전성 년 평균 기온이 15~19℃, 1월에 2~8℃, 7월에 27~30℃이며 금구분지가 고온중심이다. 연간 무상기는 220~275일이다. 년 강수량이 절강성 동북에서 서남으로 1000~1900mm 사이며 6~7월이 다우기이고 8~9월 태풍이 많은 우기이다. 7~8월간 강수량이 증발량보다 낮아 삼복철의 가물이 들기 쉽다.

○ 농업 (农业)

농작물은 3모작이다. 알곡생산을 위주로 농업, 임업, 목축업, 어업이 종합적으로 발전하고 있다. 벼가 주요 알곡작물이며 다음 밀류, 옥수수과 고구마이다. 경제작물은 황마, 목화, 유채, 사탕수수가 있다. 차잎을 많이 생산하는데 그 산량이 전국 1위를 차지하고 있으며 항주의 룡정차는 세계에서 유명하다. 삼림나무는 가지수가 많으며 삼나무, 소나무, 죽순대를 주요 목재로 사용하고 있다. 누에 생산량이 전국 2위를 차지하고 있다. 양식업은 소, 양, 물고기를 위주로 하고 있으며 어업은 전국에서도 유명하다. 연해지역에는 크고 작은 조기와 갈치, 오징어가 많이 나오는데 수산총량이 전국 3위를 차지하고 있다.

○ 주요 특산물(名优特产)

서호 룡정차는 국가 선물차이고 옥하현 헤명차는 빠나마 금상을 받았으며 소흥, 주현 등지의 평수주차는 진공차이다. 항주의 국화, 절강의 조개는 <절팔미>에 속하며 황암굴은 <천하과일제1>로 불리운다. 금화쏘세지와 소흥 <화조>주는 모두 전통명산이며 건덕현 엄동관 오가피주는 연속 국제 금, 은상을 수여했었다. 항주 비단은 <하늘우 노을>로 불리우며 항주 수비단은 <동방의 꽃>으로 불리운다. 온주 <우수>는 형상이 생동하며 소산화변은 해외에 널리 알려져 있다. 서호 비단우산, 부채는 실용적이고도 예술성이 풍부하다.

나. 방문기관 주요사업 내용

1). 절강성 농과원 채소연구소 방문

- 채소연구소 소장을 면담하였다. 소장은 토마토 육종가로 토마토 육종 팀을 관리 하며 소장직 담당
- 채소연구소에서는 완성품종을 만들어서 농과원 자체의 종묘회사에서 판매하고 있음
- 절강성 내 토마토 재배면적 12,000ha(국내 재배면적 약 7,000ha)
- 재배품종의 98%는 중국 국내 품종이고, 거의 대부분이 F₁ 품종임
- 미니토마토 중 일부가 이스라엘 품종이 재배되고 있음
- 신장지역의 일부에서 가공용 품종에 대해 고정종 품종재배
- 토마토 재배상의 문제점
 - 병저항성-산성토양에서 청고병이 문제되고 있고, 잎곰팡이병이 문제되고 있다고 함
 - 연구소에서는 농업인이나 외부의 연구요청자로부터 연구비를 받고 연구를 수행
- F₁ 품종은 인공교배로 육성하고 있음
- 절강성 내 재배품종 중 분홍색은 90%가 농과원 육성 품종이고
- 전체 재배 품종의 30%정도가 본인이 육성한 품종이 재배되고 있다고 함
- 육성품종의 로열티 중 60%는 연구소로 입금되어 연말 보너스에 반영되고, 40%는 판매상과 육종팀이 활용
- 토마토 재배시 병해 발생지역에서는 접목재배가 이루어지고 있고, 저항성 대목도 육성하여 보급하고 있다고 함
- 앞으로 토마토 접목재배 면적은 늘어날 전망이다
- 접목 묘는 주당 5위엔(약 680원, 한국 300-400원), 전문 육묘장 0.8위엔(110원 정도면 공급가능)
- 하루 한 사람이 접목할 수 있는 양이 800-1,000주 정도 가능
- 채소연구소 서기(공산당원)는 가지 육종 팀을 맡고 있음
- 시설채소 연구팀 면담 : Xuzhihao, 장성호, 조명철, 이해익(강원대)
- 팀원 : 서지호, 장성호박사, 남자 박사 2명, 여자 박사 1명 5명과 연구원 4명이 같이 일하고 있음

절강성 농과원 방문, 채소연구소 소장 면담



- 장성호 박사 계약조건 : 5년동안 국내논문 5편, SCI 1편, 연구비 1억원 확보하는 것
- 연구비는 연구원 각자가 확보하여 공동으로 활용하고 있음
- 원예연구소와 절강성 농과원과 MOU체결을 희망하였음
- 공동연구 과제 개발-장, 단기 과제, 공동 워크샵 개최 등
- 연구원 월급 : 기본급+등급별 직급비+ 연말보너스+연구비로 구성

2) 절강성 농과원 분석연구소

- 분석시료에 대해서는 접수-처리- 분석- 결과 통보의 순으로 진행되고 비용을 받고 분석을 하고 있음
- 농약잔류 검사 : G.C 5대 가동 중이고, 실험실 내는 청결하고 아주 단순화되어 있음
- 관능검사실이 준비되어 있고, 실험실별로 목적, 용도별로 잘 분류되어 있음
- 6층에는 GMO 분석실을 준비 중에 있고, 총 56명이 근무하는데, 정규직 40명, 임시직 16명
- 중국 내 76개 분석센터 중 시설은 최고라고 소개
- 인상적인 것은 연구실 안내를 받으면서 신발의 오염을 막기 위해 비닐 봉지로 신발을 감싸고 출입하도록 준비되어 있음



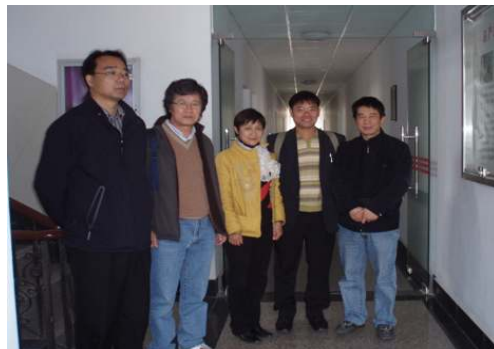
GC를 이용한 분석중



관능검사실 준비중

3) 절강성 농과원 식품연구소

- 소장이 직접안내, 여자소장 40대 중반 정도로 생각됨
- 저장, 가공관련 연구를 수행
- 2층 수확 후 생리 연구실 배치
- 3층 가공관련 연구실 배치
- 현재 연구소 내부를 리모델링 하여 실험 기자재가 정리가 안되어 있고 준비 중에 있음
- 현재 실험 기자재는 전국에서 가장 좋은 상태라고 함



4) 절강대학교 농과대학 채소연구실 방문

- 주준휘 교수(채소학 교수), 기능성 관련 연구수행, 지난해 서울 국제원예학회 참석, 독일에서 학위 취득
- 3-4년 전에는 Se, Ge 관련 연구를 수행하였고, 현재는 중국의 배추과 채소를 중심으로 Glucosinolate 관련 연구를 수행 중
- 현재 배추과 식물에서 2종의 기능성 물질을 탐색하였고
- Lycopene, β -Carotene, Leutine에 관심을 갖고 있음
- 현재 2명의 박사가 배추과 채소의 기능성 물질관련 연구로 학위취득
- 채소과의 유전공학 연구실 안내, 류경근 교수(중국 내 학술부분 2등상 수상, 이광식 과장 일본 유학동문) 면담

- 유전공학연구실에서는 제주도 난지연구소와 국제공동 연구 수행 중
- 토마토, 수박의 형질전환 연구-Lycopene 함량 2배 높임
- 채소과 논문발표 및 게재 : SCI만 27편
- 원예학과 교수 45명, 채소학과 10명, 학부생 15명, 대학원생 18명
- 주준휘 교수는 생리 전공이고, 일주일 2과목-대학원생 강의하고 있음
- 절강 농업대와 절강 대학이 통폐합되어 5개 캠퍼스, 5개 병원, 1만 여명 교수가 재직하고 있음, 농대만 1천명의 교수진 재직
- 2년 후에 외곽으로 이사하여 한곳으로 모을 예정임



절강대학교 정문 및 내부



주준휘 교수와 연구동향 논의

5) 항주 Transfar 생물기술유한공사 방문

- 주소 : 浙江 杭州 庸山經濟技術開發區, 0571-82645588-8339, Molly YH Mu, 연구개발 부장
- 시설의 규모는 총 4ha정도이고 유리온실에서 안스리움, 심비디움, 기타 서양란을 생산하여 중국 국내시장 및 일부를 수출하고 있음.
- 총 경리는 여자분이고, 연구 개발부장도 여자분이 맡고 있고, 사무실에는 컴퓨터만 놓여 있고 서류가 없는 것이 신선하였음
- 육묘용 시설은 파종기, 발아실, 재배실이 분리되어 첩단으로 갖추어져 있어 한국의 우수한 육묘장과 같은 수준을 갖추고 있음

- 지난해 방문 했을 때와 큰 차이는 없고, 한국을 한번 방문하여 안내를 하여서인지 더 반갑게 맞이해줌
- 한국과의 수출, 수입을 지속적으로 희망하고 있음
- 인건비 월 12-15만원 수준, 현재는 수박 접목묘 일부와 화훼류 육묘중임, 수박 접목묘는 일본에 일부 수출을 했으나 일본 농민들의 반대로 수출상 애로가 있고, 묘의 품질은 낮은 수준이고 주당 1위엔(135원 수준)
- 육묘 중인 화훼류는 도심의 화단용으로 판매 예정이라고 함
- 현재 생산중인 아스리움은 정식한지 5년째로 교체 예정이고, 현재 분화가 많이 준비되어 있음
- 설날 전후하여 난 화분 하나에 400위엔(6-7만원 수준)에 판매하였으나 현재는 200위엔(3-4만원 수준)에 거래되고 있음
- 조직 배양실에는 50명이 함께 작업이 가능하고, 작업자는 25세 이하의 사람만 채용, 생장점 배양을 위해 눈이 나쁘면 안 된다고 판단
- 하루 1인당 800-1,000병 배양
- 한국으로 작년에 수출을 하면서 품질에 문제가 있었는데 이유는 서로의 연락에 문제가 있었던 것으로 판단됨
 - 작년 수출 시 부족분은 상해의 시장에서 구입하여 선적
- 수출시 상품에 문제가 있으면 언제든지 개선의 여지가 있다고 함





TRANSFAR 회사 방문

6) 항주시내의 중앙도매 시장 및 채소 중요상 현황

- 중앙도매시장의 규모는 크지만 아직도 위생이나 여건은 열악하였음.
- 특히 호박의 유통량이 많았고, 온갖 종류의 채소류를 다 판매
- 저장 시설이 너무나 열악했지만 어느 정도 갖추고 판매를 하는 상회도 있음
- 대형 마트 2곳을 방문하여 조사하였는데 상품의 수준은 아직도 많이 떨어지는 수준이나 가격 경쟁력이 있음
- 종자 상회별로 수준의 차이가 많았음
 - 상당히 발전되어 있는 상회는 컴퓨터를 활용하여 모든 영수증 처리를 해주고, 재고관리가 가능한 집도 있고
 - 아직도 손으로 써서 영수증을 처리해 주는 상회까지 수준의 차이가 있음
- 놀랄만한 사실은 대부분 유통되는 종자가 일대잡종이고, 한국의 품종들도 눈에 띄게 전 시대에 나열되어 있었다는 사실이었음



질강성 중앙도매시장





절강성 중앙도매시장

제 7 장 참고문헌

- Abrams, J.J., H. Ginsberg, and S.M. Grundy. 1982. Metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in nonketotic diabetes mellitus. *Diabetes* 31:903-910.
- Ansano N., K. Oseki, H. Kizu, and K. Matsui. 1994. Nitrogen-in-the-ring pyranoses and furanoses; Structural basis of inhibition of mammalian glycosidase. *J. Med. Chem.* 37:3701-3706.
- Bosland PW. 1994. Chiles: History, cultivation, and uses, spices, herbs and edible fungi, G. Charalambous(Ed).
- Caspary, W.F. 1978. Sucrose malabsorption in man after ingest ion of α -glucoside hydrolase inhibitor. *Lancet.* 1:1231-1233.
- Chun, H.S., H.B. Chang, Y.I. Kwon, and H.C. Yang. 2001. Characterization of an α -glucosidase inhibitor produced by *Streptomyces* sp. CK-4416. *J.Microbiol Biotechnol.* 11:389-393.
- Corry, D.B., and M.L. Tuck. 2000. Protection from vascular risk in diabetic hypertension. *Cur. Hypertens. Rep.* 2:154-160.
- De Fronzo RA. 1999. Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Annals of*

- Internal Medicine. 131:281–303.
- FAO. 2008. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>
- Franco, O.L., D.J. Rigden, F.R. Melo, J.C. Bloch, C.P. Silva, and M.F. Grosside. 2000. Activity of wheat α -amylase inhibitors towards bruchid α -amylases and structural explanation of observed specificities. *Eur. J. Biochem.* 267:1466–1473.
- Govindarajan 1986. Capsicum—production, technology, chemistry, and quality. part III. chemistry of the color, aroma, and pungency stimuli, *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 24:245–355.
- Gray DM. 1995. Carbohydrate digestion and absorption role of small intestine. *New England Journal of Medicine.* 29:1225–1230.
- Hansawasdi C., J. Kawabata, and T. Kasai. 2000. α -Amylase inhibitors from Roselle(*Hibiscus sabdarina* Linn.) tea. *Bioscienci. Biotechnol. Biochem.* 64:1041–1043.
- 한국농촌경제연구원. 2008. 농업전망 2008(Ⅱ) 809–820.
- Honda, M. and Y. Hara. 1993. Inhibition of rat small intestinal sucrose and α -glucosidase activities by tea polyphenols. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57:123–124.
- Hyvonen L, and Koinvistoninen P. 1982. Food technological evaluation of xylitol. *Adv. Food. Res.*, 28:373–403
- Jurenitsch J, Kubelka W, and Jentzsci K. 1979. Identification of cultivated YAXA of capsicum—taxonomy, anatomy and composition of pungent principles. *plant. Med. Plant RES.* 35:174–181.
- Kim, K.J., Y.J. Yang, and J.K. Kim. 2002. Production of α -glucosidase inhibitor by β -glucosidase inhibitor-producing *Bacillus lentimorbus* B-60. *J.Microbiol. Biotechnol.* 12(6)895–900
- Kim, O.K., E.B. Lee, and S.S. Kang. 1993. Anti hyperglycemic constituent of *Aralia elata* root bark(1). *Kor. J. Pharmacon* 24:213–218.
- King H., R.E. Aubert, and W.H. Herman. 1998. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care.* 21:1414–1431.
- Kim HG. 2006. Situation of domestic functional food. *Kor. J. Sci. Technol.* 24:33–44.
- Kim KJ, Yang YJ, and Kim JK. 2002. Production of α -Glucosidase inhibitor by β -Glucosidase inhibitor-producing *Bacillus lentimorbus* B-6. *J. Microbiol. Biotechnol.* 12:895–900.
- Kim SH, Kim KS, Lee JH, Chung EK, Park YS, Park YJ, and Lee HY. 1997. Comparision of glucose-lowering activity of the extracts from Kangwon-do mountain mulberry leaves(*Moli foliam*) and silk worm. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25:391–395.
- Kim SK, Kim YM, Hong MJ, and Rhee HI. 2005. Studies on the inhibitory effect of *Eugenia*

- aromaticum* extract on pancreatic lipase. *Agric. Chem. Biotechnol.* 48(2):84–88.
- Kim YM, Jeong YK, Wang MH, Lee WY, and Rhee HI. 2005. Inhibitory effect of pine extract on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition.* 21:756–761.
- Krentz AJ and Bailey CJ. 2005. Oral antidiabetic agents: Current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs.* 65:385–411.
- Kwon YI, Vatter DA and Shetty K. 2006. Clonal herbs of Lamiaceae species against diabetes and hypertension. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition.* 15:107–118.
- Lebovitz, H.E. 1998. α -Glucosidase inhibitors as agents in the treatment of diabetes. *Diabetes Rev.* 6:132–145.
- Lee, H.S., K.S. Chung, S.Y. Kim, K.S. Ryu, and W.C. Lee. 1998. Effect of several sericultural products on blood glucose lowering for alloxan induced hyperglycemic mice. *Kor. J. Seric. Sci.* 40:38–42.
- Levovitz HE. 1992. Oral antibiotic agents. *Drugs.* 44:21–24.
- Lim, Y.S., K.N. Park, M.J. Bae, S.H. Lee. 2001. Antimicrobial effects of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. Extracts on pathogenic microorganisms. *Kor. J. Postharvest Sci. Technol.* 8:462–468.
- MAF. 2000. UPOV Test Guideline for Pepper.
- MAF. 2004. Regeneration of vegetable genetic resource and evaluation of their utilization characteristics. 78–82.
- McCue P and Shetty K. 2004. Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase in vitro. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition.* 13:101–106.
- Mega JA. 1975. Capsicum, *CRC Crit. Rrv. Food Sci. Nutr.* 6:177.
- Moore FW. 1970. Food habits in non-industrial societies, in *Dimensions of Nutrition*. Dupnt. J. Ed. Colorado Associated University press.
- Mueller, L. and W. Puls. 1987. Pharmacology of α -glucosidase inhibitors. pp. 281–300. In W. F. Caspary(ed.). *Structure and function of the Small Intestine*. Excerpta Medica, Amsterdam, The Netherlands.
- Nelson, R.W., J. Robertson, E.C. Feldman, and C. Briggs. 2000. Effect of the α -glucosidase inhibitor acarbose on control of glycemia in dogs with naturally acquired diabetes mellitus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 15:1265–1269.
- NSO. 2005. Annual Report on the cause of death statistics “Deaths and death rates by cause”.
- Oki, T., T. Matsui, and Y. Osajima. 1999. Inhibitory effect of α -glucosidase inhibitor varies according to its origin. *J. Agric. Food Chem.* 47:550–553.
- Pickersgill B. 1969. The domestication of chilli peppers, in the domestication and exploitation of plants and animals, In: Ucko B., J and Dimbleby G. W(Eds). London: Duckworth. 443–450.

- Puls HP, Krause L, Muller H, Schutt R, and Thomas G. 1984. Inhibitors of the rate of carbohydrate and lipid absorption by the intestine. *Int. J. Obesity*. 8:181–190.
- Puls W and Keup U. 1973. Influence of an α -amylase inhibitor(Bay d7791) on blood glucose, serum insulin and NEFF in starch loading tests in rats, dogs and man. *Diabetologia*. 9:97–101.
- Qian, M., V. Nahoum, J. Bonicel, H. Bisho, B. Henrissat, and F. Payan. 2001. Enzyme-catalyzed condensation reaction in a mammalian α -amylase. High resolution structural analysis of an enzyme inhibitor complex. *Biochemistry* 40:7700–7709.
- Rury RH, Robert CT, and Carole AC. 1999. A randomized double-blind trial of Acarbose in type 2 diabetes shows improved glycaemic control over 3 years (U.K. Prospective Diabetes Study 44). *Diabetes Care*. 22:960–964.
- Saito N, Sakai H, Sekihara H, and Yajima Y. 1998. Effect of a α -glucosidase inhibitor(Voglibose), in combination with sulphonylureas, on glycaemic control in type 2 diabetes patients. *J. Int. Med. Res.* 26:219–232.
- Singh RK. 1994. Research direction for food engineering. *J. Food Eng.*, 23:491–499.
- Stratton, I.M., A.I. Adler, H.A. Neil, D.R. Matthews, S.E. Manley, C.A. Cull, D. Hadden, R.C. Turner, and R.R. Holman. 2000. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 321: 405–421.
- Tattersall R. 1993. α -glucosidase inhibition as an adjunct to the treatment of type I diabetes. *Diabetic medicine*. 10:668–672.
- Toeller M, Klischan A, Heitkamp G, Schumacher W, Milne R, Buyken A, Karamanos B, Gries FA., and the EURODIAB IDDM Complications Study Group. 1996. Nutritional intake of 2868 IDDM patients from 30 cent res in Europe. *Diabetologia*. 39:929–939.
- Yoo, S.K., M.J. Kim, J.W. Kim, and S.J. Rhee. 2002. Effect of YK-209 mulberry leaves on disaccharidase activities of small intestine and blood glucose-lowering in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci.Nutr.* 31:1071–1077.
- Wattnberg, L.W. 1983. Inhibition of neoplasia by minor dieatary constituents. *Cancer Res.* 43:2448–2453.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.