

산삼배양근의 기내배양을 통한 고기능성 ginsenosides의 생산

인준교¹⁾, 이범수¹⁾, 김종학¹⁾, 김진주²⁾, 양덕춘^{2)*}
¹⁾(주)바이오피아, ²⁾경희대학교 한방재료가공학과

연구목적

본 연구에서는 산삼의 뿌리조직으로부터 부정근을 유도한 후 생물반응기를 이용하여 대량 배양함으로써 성분조성이 균일하고 안정적으로 년중 생산하는 배양시스템을 개발하였으며, 또한 특정 ginsenoside 생산이 뛰어난 세포주를 고정화하여 고기능성 G-Rg₃와 G-Rh₂를 대량생산할 수 있는 시스템을 확립하였다.

재료 및 방법

- 식물재료 : 100년 이상된 것으로 추정되는 야생산삼의 뿌리조직을 표면소독한 후 5 mg IBA가 첨가된 MS 고체배지에 치상하고 암배양하여 부정근을 유도하였으며, 2 mg IBA가 첨가된 MS 고체배지에 옮겨서 계대배양하였다. 액체배양계를 유도하기 위해서 부정근의 근단을 잘라서 2 mg IBA가 첨가된 MS 액체배지에 접종한 후 100 rpm의 shaking incubator에서 5주간 배양하였으며, 새로운 배지에 1 cm 크기로 잘라서 계대배양하여 세포주를 유지하면서 대량배양을 위한 seed로서 사용하였다. 대량배양은 플라스틱 재질의 18.3 L 생물배양기 시스템을 이용하였고, 접종 후 5주째에 수확하였다.

- 사포닌 분석 : Ginsenosides의 함량은 수포화 1-부탄올 추출법으로 추출하였다. 건조한 산삼배양근 5g을 취하여 80℃ 수욕조에서 80% 메탄올 30 ml로 3회 추출하여 건조시킨후 메탄올 엑기스를 얻은 다음 에테르로 추출하여 탈지시키고 수포화 1-부탄올로 3회 추출하여 1-부탄올층을 모두 합하여 증류수로 1회 세척한 후 수층은 버리고 1-부탄올층만 건조시킨후 HPLC용 메탄올 500 µ에 녹여 0.45 µm millipore syringe filter로 여과하여 10 µ를 High Performance Liquid Chromatograph (HPLC): (Waters)기에 주입하여 ginsenosides를 분리정량하였다.

결과 및 고찰

산삼은 예로부터 불로장생의 명약으로 취급되어 왔으며, 이를 재배화한 인삼의 경우에도 한방에서는 상약으로 취급되고 있다. 토양에서 재배하는 인삼은 최소 3년 이상의 재배기간을 필요로 하는데 국토가 좁은 우리나라의 경우 재배면적에 한계가 있다. 이러한 재배인삼은 재배지역이나 수확시기에 따라서 유효성분들에 차이가 있어 인삼제품의 표준화에 큰 걸림돌이 되고 있다.

기내 배양을 통하여 산삼의 유효한 성분을 대량생산하기 위해서 야생산삼의 뿌리조직으로부터 5 mg IBA처리를 통하여 산삼 부정근을 유도하였고, 이를 18 L 생물반응기를 이용하여 대량생산시스템을 구축하였다. 초기에 산삼배양근 100 g을 접종하여 5주간 배양한 결과 1 kg 이상의 배양근을 수확하였다. 생산된 산삼배양근을 수분함유량 10% 이하로 건조시킨 후 사포닌을 추출하여 ELSD detector를 이용하여 HPLC로 사포닌 성분분석을 실시하였다. 그 결과 Panax-diol계 사포닌으로 암세포 증식억제, 암세포 재분화 유도촉진, 암세포 침윤억제, 중앙증식 억제작용, 항암제의 항암활성 증대작용이 알려져 있는 Ginsenoside-Rh₂ 성분의 경우 홍삼보다 3배 이상 높게 검출이 되었으며, 암세포 전이억제, 혈소판 응집억제 및 항혈전작용, 간상해 억제, 항암제내성억제 및 혈관이완 작용이 있는 것으로 알려진 Ginsenoside-Rg₃도 비교적 다량으로 검출이 되었다.