

인삼 모상근의 성장 및 Ginsenosides 생성에 미치는 광의 효과

양덕조 · 최혜연 · 김용해 · 윤길영 · 양덕춘¹

충북대학교 자연과학대학 생명과학부, ¹한국인삼연초연구원
(1996년 11월 21일 접수)

Growth and Ginsenosides Production of Hairy Root (*Panax ginseng* C.A. Meyer) via Light Energy

Deok-Cho Yang, Hye-Yeon Choi, Yong-Hae Kim, Kil-Young Yun and Deok-Chun Yang¹

School of Life Sciences, College of Natural Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea

¹Korea Ginseng and Tobacco Reserch Institute, Taejon 305-345, Korea

(Received November 21, 1996)

Abstract : The effects of light on the growth and ginsenosides production were examined in the hairy roots of *Panax ginseng* C.A. Meyer induced by *Agrobacterium rhizogenes* A4. The growth of ginseng hairy roots in 1/2MS liquid medium was significantly decreased with an increment of light intensity (1,000~7,000 lux). The growth of hairy roots under 7,000 lux condition was decreased at 17% compared to the dark condition. The production of 7 ginsenosides in hairy root was very high in 3,500 lux condition. The production of ginsenoside-Rg₁ and Rf increased 3.3 and 2.4 times respectively as compared to dark condition. The growth of hairy roots was inhibited by blue light, while ginsenosides production was increased. The sucrose demands of hairy roots was examined in light condition(3,500 lux). The growth of hairy roots in 1/2MS liquid medium with various sucrose concentrations(1~4%) was high in 1% sucrose, while ginsenosides production was high in 3% sucrose condition. The growth and ginsenosides production were high when hairy roots were cultured in dark condition for 1 week and then transferred to light condition(3,500 lux) for 4 weeks. It is suggested that ginsenosides production could be accelerated by light intensity of specific wavelength in cultures of ginseng hairy roots.

Key words : Ginsenosides, hairy root, blue light, light period.

서 론

최근 생물공학 기술을 이용하여 생성된 유용한 2차 대사산물을 의약품, 화장품원료, 색소, 건강식품, 향신료 등으로 이용하려는 연구들이 활발히 진행되고 있으며¹⁻³⁾ 몇몇 식물에서는 실용화 단계에 있다. 기내에서의 물질생산에 관한 연구 보문을 종합해 보면 2차 대사산물의 생산을 높이기 위한 방법으로 식물 세포의 형질전환기술이 이용되고 있으며, 특히 증식 속도가 비교적 빠른 모상근을 이용한 2차 대사산물의 생산 가능성이 제시되고 있다.⁴⁾ 인삼은 한국의 대표

적인 약용식물로써 다양한 효능이 알려져 있을 뿐만 아니라, 인삼의 2차 대사산물은 사포닌으로 현재 약 29종의 사포닌이 존재한다고 보고 되어 있으며, 각 사포닌 종류 마다 그 효능이 밝혀 지고 있는 실정이다.⁵⁻¹⁴⁾ 하지만 인삼은 재배가 까다롭고, 연작이 불가능하며, 병충해 발생이 극심하여 수요를 충족시키지 못하는 실정이다. 따라서 이러한 문제점을 해결하려는 연구의 일환으로 인삼의 세포배양 및 모상근 배양을 통한 ginsenosides의 생산을 위한 연구가 수행되고 있다.¹⁵⁻¹⁷⁾

과거 인삼 효능에 대한 연구는 주로 인삼 식물체

및 saponin에 대한 효능 연구에 국한 되었으나 최근에는 홍삼, 백삼 및 수삼의 ginsenosides에 대한 연구가 활발히 진행되어 그 효능들이 보고되고 있다.¹⁸⁾ 인삼의 saponin은 크게 panaxadiol(PD)계 ginsenoside-Ra, Rb, Rc, Rd과 panaxtriol(PT)계 ginsenoside-Re, Rf, Rg, Rh로 구분되는데, PD계는 중추신경 진정효과가 있고, PT계는 콜레스테롤의 함량을 감소시키는 효과가 있으며,^{19, 21)} Rg₁은 항피로 효과를 나타내며 Re는 스트레스에 의한 콜레스테롤의 함량감소를 유의성 있게 억제하며, 유해반응에 의한 방어 및 회복효과가 입증되었다.^{22, 23)} 그밖에 Rf는 알콜손상되는 보호 활성이 있는 것으로 밝혀졌다.²⁴⁾ 이들 각각의 ginsenosides에 따른 효능이 특이 하기도 다르기 때문에 특정 ginsenosides의 대량생산을 위한 기초 연구가 절실히 요구되고 있다. 따라서 본 연구에서는 인삼 모상근 배양을 통하여 특정 ginsenosides의 대량생산을 위한 배양생리학적 기초연구로서 광(光)에 의한 인삼모상근의 성장 및 ginsenosides의 생성양상을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 모상근 유기

3년생 인삼(*Panax ginseng* C.A Meyer)근을 70% EtOH로 10분간 침지한 후 7% NaOCl에서 20분간 소독하였다. 소독된 인삼은 멸균수로 3회 세척하여 건조시킨 후, 멸균된 disc를 5 mm 두께로 절단하여, 모상근 유기 절편으로 사용 하였다. 모상근 유기를 위한 균주로 *A. rhizogenes* A4를 YEB 배지에서 배양하여 균의 O.D값이 600 nm에서 0.8일 때 인삼 절편에 접종하였다. 접종 10분 후 멸균된 여과지로 건조시킨 후 1,000 ppm carbenicillin이 첨가된 1/2MS (Murashige and Skoog)²⁵⁾ 배지에 치상하여 모상근을 유기하였다. 유기된 모상근은 500 ppm carbenicillin이 첨가된 1/2MS 배지에서 배양후, 모상근 근단을 1.5 cm 정도 크기로 세절하여 항생제 및 호르몬이 없는 1/2MS 배지에서 성장이 우수한 세포주(GhrA4)를 선발하여 본 실험에 사용하였다.

2. 형질전환체 확인

인삼 모상근으로부터 형질전환체 사용된 *A. rhizogenes* A4의 T-DNA상에 있는 rol C 유전자의 존재여부를 확인하기 위해서 PCR(Biometra TI 1, Ger-

many)을 수행하였다. PCR을 위한 DNA 추출은 Edwards 등³³⁾의 방법에 준하여 수행하였으며, PCR 조건은 96°C에서 2분간 pre-denaturation한 후, 94°C에서 30초, 60°C에서 30초, 72°C에서 2분으로 하여 36 cycle을 반응시켰으며, 이어서 72°C에서 2분간 post-extension시켰다. rol C 유전자의 절편(500bp)을 확인하기 위한 primer는 (주)바이오니아의 도움을 받아 합성하였으며, 반응액은 PreMix™(바이오니아)에 50 ng의 인삼모상근 DNA와 20 pM의 primer를 첨가하여 총 20 μl를 사용하였다. Primer의 염기서열은 각각 22 mer씩 5'-ATG-GCT-GAA-GAC-GAC-CTG-TGT-T-3'와 5'-TTA-GCC-GAT-TGC-AAA-CTT-GCA-C-3'를 사용하였다.

3. 모상근의 성장 및 ginsenosides 함량 측정

모상근의 성장은 1/2MS 액체배지 50 mL을 함유한 100 mL flask에 모상근의 root tip(1.5 cm) 10개씩을 접종하여 23°C에서 5주간 진탕배양(110 rpm)한 후, 냉동건조시켜 건조량으로 측정하였다. Ginsenosides 함량은 수포화 n-BuOH 추출법에 의해 추출하였다. 냉동건조시킨 분말시료 30 mg을 취하여 60°C 수욕조에서 80% MeOH 500 μL로 3회 추출하여 건조시킨후, 증류수로 용해시켜 ethyl ether, chloroform을 가하여 지질, 색소 등을 제거하였다. 수층을 n-BuOH로 3회 추출한후 증류수로 3회 세척한 뒤 butanol층을 건조시켜 HPLC로 분석하였다. Pump는 Pharmacia사의 LKB HPLC PUMP 2248을 사용하였고, column은 Lichrosorb-NH₂ column(5 μm, Merk), detector는 KNAUER differential refractometer를, solvent는 acetonitrile:H₂O:n-BuOH(80:20:10, v/v/v)를 사용하였으며, flow rate는 1.0 mL/min, attenuator 1X의 조건하에서 chromatogram의 각 peak를 표준품과 비교하여 ginsenosides의 함량을 peak height로 계산하였다.

4. 광처리 조건

백색광의 광원은 형광등, 수은등 및 나트륨 등을 조합하여 1,000, 1,700, 3,500 및 7,000 lux로 조절하였다. 광파장별 처리에 사용한 filter는 blue(400~500 nm, XGB-400T filter; Griffin Co., England+blue cellophane), green(500~550 nm, R,SR-60 filter; Kenko, Co. Japan), yellow(550~600 nm, yellow cellophane), 그리고 red(600~700 nm, IF 550 filter; Olympus, Co. Japan)이며, filter를 투과한 광도

는 200 lux가 되도록 조절하였다. 2단 배양에 사용한 광원은 백색광 3,500 lux를 사용하였다.

결과 및 고찰

광에 의한 인삼 모상근의 성장과 ginsenosides의 생성 양상을 조사하고자 암상태에서 배양된 인삼 모상근을 광도별(1,000, 1,700, 3,500, 7,000 lux)로 처리 하여 5주간 배양한 결과, 성장율은 광도가 증가할수록 점차 감소하는 경향을 나타내었다(Table 1). 암상태에서 모상근의 성장은 0.248 g 5 weeks⁻¹인 반면, 3,500 lux 처리구에서는 0.147 g · 5 weeks⁻¹로 암상태에 비하여 1.7배, 7,000 lux 처리구에서는 0.088 g · 5 weeks⁻¹로 2.8배 감소하였다(Table 1). 그러나 인삼의 대표적인 7종류의 ginsenosides 함량은 암상태 보다 광상태에서 증가하여 3,500 lux 처리구에서 대체로 함량이 높았으며, 7,000 lux 처리구에서 다소 감소하는 경향을 나타내었다(Table 1). 암상태에서 PT계 ginsenosides인 Rg₁, Rf의 함량은 각각 0.221 및 0.177 mg · g · dw⁻¹인 반면, 3,500 lux 처리구에서는 Rg₁은 0.741 mg · g · dw⁻¹로 암상태에 비하여 3.3배, Rf는 0.437 mg · g · dw⁻¹로 2.4배 높은 함량을 나타내었고, Re는 1,000 lux 처리구에서 암상태 보다 1.9배 높은 함량을 나타내었다. PD계 ginsenosides인 Rd, Rc, Rb₂, Rb₁의 함량 역시 3,500 lux에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 이와 같이 인삼 모상근의 성장이 광도가 증가할수록 감소하는 것은 Yang 등²⁶⁾의 자리공 모상근의 성장에 미치는 광의 효과에서와 마찬가지로 강광하에서 생성된 산화제들이 내성항산화제 및 항산화 효소의 활성을 억제시켜 생장이 감소되

는 것으로 사료된다. Yang 등^{27, 28)}의 인삼 엽소병 연구 결과 에서 인삼엽은 20,000 lux 이상의 강광하에서 인삼 thylakoid membrane의 전자 전달계가 포화되면 singlet oxygen이 다량생산되어 lipid peroxidation 및 생체 고분자의 활성을 억제시킨다는 보문을 종합해볼때, 광상태하에서 모상근의 성장이 억제되는 것은 산화제의 다량생산에 의한 것으로 사료된다. 광상태하에서 2차 대사산물의 생합성이 증가한다는 보문²⁹⁾이 있으며, 특히 인삼의 ginsenosides의 생합성 경로를 보면 Acetyl-CoA가 ginsenosides의 전구물질로 이용되고 있다. 이 Acetyl-CoA는 세포질의 glycolysis과정에서 생성되는 PGA-PEP-pyruvate를 거쳐 생성된다. 모상근을 암상태에서 배양하였을때, 이 경로를 통하여 생성된 Acetyl-CoA로부터 ginsenosides로 합성이 시작되나 광상태에서는 엽록체의 Calvin cycle과정에서 생성되는 PGA로부터 Acetyl-CoA가 생성되는 경로가 추가되므로 ginsenosides의 생성이 증가되는 것으로 생각된다. 또한 광도가 증가할수록 모상근의 성장이 감소하는 것을 볼 때, 1차 대사과정인 성장이 둔화되므로 인하여 높은 강도에 의한 stress작용으로 2차 대사과정인 ginsenosides의 생성이 촉진 되는 것으로 사료된다. 광에 의해 모상근의 성장이 억제되고 ginsenosides의 생성이 촉진되는 현상이 특정 파장에 의한 현상인지를 확인하기 위하여, 광파장별로 모상근의 성장 및 ginsenosides의 생성을 조사하였다. 모상근의 성장은 처리한 모든 파장에서 암상태 보다 감소하였고, ginsenosides의 생성은 청색파장에서 높은 양상을 나타내었다(Table 2). 그러나 청색파장에서 모상근의 성장은 0.166 g · 5 weeks⁻¹로 암상태의 0.249 g · 5 weeks⁻¹에 비하여

Table 1. Effects of light intensity on the ginsenosides production and growth from ginseng hairy roots cultured in 1/2MS liquid medium for 5 weeks at 23°C

Light intensity (Lux)	Growth (g · 5 weeks ⁻¹)	Content of ginsenosides (mg · g · dw ⁻¹)						
		Panaxatriol ginsenosides			Panaxadiol ginsenosides			
		Rg ₁	Rf	Re	Rd	Re	Rb ₂	Rb ₁
Dark	0.248±0.004*	0.221±0.071	0.177±0.003	0.887±0.081	-	-	0.096±0.006	0.276±0.023
1000	0.173±0.003	0.369±0.042	0.190±0.022	2.103±0.021	0.131±0.013	0.276±0.033	0.067±0.003	0.489±0.012
1700	0.161±0.012	0.320±0.024	0.231±0.021	1.760±0.044	0.160±0.022	0.275±0.005	0.103±0.001	0.569±0.071
3500	0.147±0.005	0.741±0.067	0.437±0.091	1.729±0.159	0.105±0.101	1.074±0.002	0.152±0.032	0.811±0.074
7000	0.088±0.007	0.333±0.021	0.203±0.012	1.659±0.091	-	-	0.102±0.007	0.536±0.066

The initial inoculum per treatment was 10 hairy root tips (size : 1.5 cm).

*Standard errors, - : Not detected.

Table 2. The ginsenoside production and growth of ginseng hairy roots cultured in 1/2MS liquid medium under various light qualities for 5 weeks at 23°C

Kind of Light	Growth (g · 5 weeks ⁻¹)	Content of ginsenosides (mg · g · dw ⁻¹)						
		Panaxatriol ginsenosides			Panaxadiol ginsenosides			
		Rg ₁	Rf	Re	Rd	Re	Rb ₂	Rb ₁
Dark	0.249±0.005*	0.536±0.011	-	0.885±0.043	0.114±0.049	0.508±0.051	0.047±0.076	0.277±0.031
Red	0.216±0.023	0.585±0.024	0.134±0.047	1.102±0.294	0.114±0.043	1.026±0.632	0.102±0.055	0.381±0.013
Yellow	0.183±0.003	0.479±0.192	0.292±0.013	1.137±0.262	0.073±0.028	1.189±0.723	0.056±0.044	0.346±0.152
Green	0.179±0.019	0.606±0.275	0.223±0.252	1.235±0.185	0.196±0.172	1.382±0.507	0.165±0.122	0.363±1.733
Blue	0.166±0.017	0.881±0.021	0.513±0.043	1.188±0.052	0.220±0.191	1.260±1.132	0.156±0.061	0.742±0.042
White	0.150±0.006	0.681±0.261	0.424±0.051	1.662±0.117	0.360±0.043	1.561±0.063	0.115±0.114	0.497±0.224

The initial inoculum was 10 hairy root tips (size : 1.5 cm).

*Standard errors, - : Not detected.

50% 억제되었다. 청색과장에서 PT계 ginsenosides 인 Rg₁, Rf가 가장 많이 생성되었는데, Rg₁의 경우 암상태의 0.536 mg · g · dw⁻¹에 비하여 0.881 mg · g · dw⁻¹로 1.64배 높은 함량을 나타내었다. PD계 ginsenosides 함량 역시 청색과장에서 높게 나타났는데, Rb₁의 경우 암상태의 0.277 mg · g · dw⁻¹보다 0.742 mg · g · dw⁻¹로 2.67배 높은 함량을 나타내어 청색과장이 인삼 모상근의 성장을 가장 억제시키며, ginsenosides의 생성을 촉진시키는 과장으로 확인되었다(Table 2). 인삼모상근에서 엽록소 합성은 청색광이 가장 효과적이었는데³⁰⁾ 이러한 결과와 청색과장이 고등식물체에서 엽록체의 발달과 색소합성을 촉진시킨다는 보문⁴¹⁾을 종합하여 볼때, 청색과장에서 인삼 모상근의 성장이 억제되고 ginsenosides의 생성이 촉진되는 것은 청색광의 높은 광에너지에 의한 산화제의 생성에 따른 모상근 성장의 억제와 엽록체 발달에 따른 ginsenosides의 생합성 전구물질인 Acetyl-CoA의 충분한 공급에 의한 것으로 사료된다. 인삼 모상근은 광에 의해 정상적인 엽록체가 발달되는데,³⁰⁾ 이러한 엽록체가 정상적으로 광합성을 한다면 배지에 첨가 되는 탄소원인 sucrose의 요구도가 달라질 것으로 생각된다. 따라서 광상태에서 sucrose 농도에 따른 인삼 모상근의 성장과 ginsenosides의 함량변화를 조사하였다. 암상태에서는 인삼 모상근 배양을 위한 기본 배지인 3% sucrose가 첨가된 1/2MS 배지에서 가장 높은 성장을 나타내었다(Fig. 1). 반면, 광상태에서는 1% sucrose 처리구에서 가장 높은 성장을 보였으며, sucrose 농도가 증가할수록 모상근의 성장이 감소하였다(Fig. 2). 광상태 1%

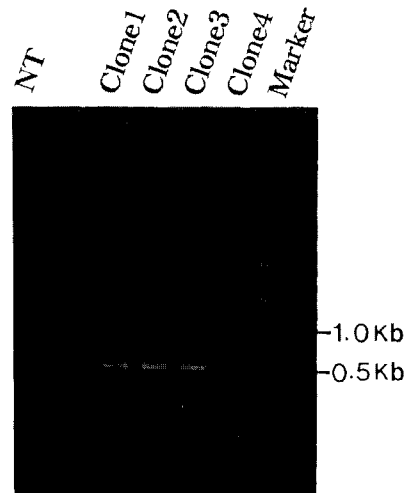


Fig. 1. Polymerase chain reaction analysis of ginseng hairy root clones transformed with *A. rhizogenes* A4. NT, normal root.

sucrose 처리구의 모상근의 성장은 0.242 g · 5 weeks⁻¹로 암상태의 3% sucrose 처리구 0.248 g · 5 weeks⁻¹과 큰 차이를 나타내지 않았으며, 광상태 3% sucrose 처리구에서 모상근의 성장은 암상태에서 보다 38% 억제되었다. 또한 1% sucrose 처리구에서 엽록소 합성이 촉진됨을 확인하였는데,³⁰⁾ 이는 담배 캘러스 배양시 sucrose의 농도를 1%로 낮출 경우 녹화가 촉진된다는 보문⁴²⁾을 종합해 볼 때, 인삼 모상근의 엽록체는 정상적으로 광합성을 수행하여 모상근의 생육에 필요한 탄소원을 충분히 공급하고 있음을 나타내주는 결과로 생각된다. 암상태에서 sucrose 농도에 따른 ginsenosides의 생성은 모상근의 성장이 가

장 저조한 4% sucrose 처리구에서 대체로 높은 함량을 나타내었으며, Rg₁은 1% sucrose 처리구에서 가장 높은 함량을 나타내었고, 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다(Table 3). Ginsenosides의 생성은 광상태 3% sucrose 처리구에서 높은 함량을 나타내었으며, Rf, Re, Rd는 4% sucrose 처리구에서 높은 함량을 나타내었다. 이와 같이 광상태에서 엽록소의 합성 및 모상근의 성장이 높은데도 불구하고 ginsenosides의 생성이 낮은 이유는 적은량의

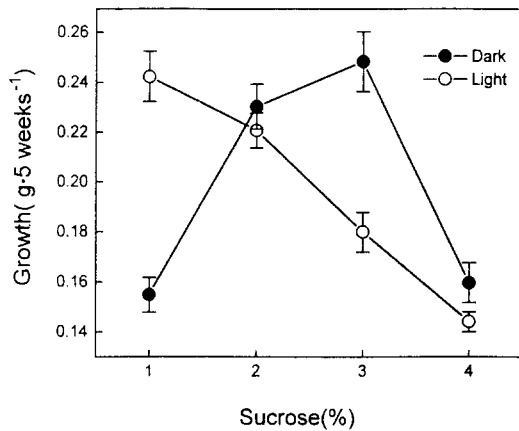


Fig. 2. Effects of sucrose concentration on the growth of ginseng hairy roots cultured in 1/2MS liquid medium. The data indicate the mean±SE of triplicates measured after 5 weeks of culture and initial inoculum per treatment was 10 hairy root tips (tip size; 1.5 cm). Light condition: 3500 lux.

sucrose와 엽록체의 광합성으로 생성된 탄소원은 1차대사에 소모되어 2차 대사가 억제된 것으로 사료되며, 1% 처리구보다 다소 성장이 억제된 3% 처리구에서는 ginsenosides의 생합성이 촉진된 것으로 사료된다. 이상의 결과로 미루어 볼때, 인삼모상근에서 ginsenosides의 생성은 모상근의 성장과 엽록체 발달이 매우 밀접한 관계가 있는 것으로 사료되어, 모상근의 성장을 암상태 및 광상태에서 주기별로 5주간 배

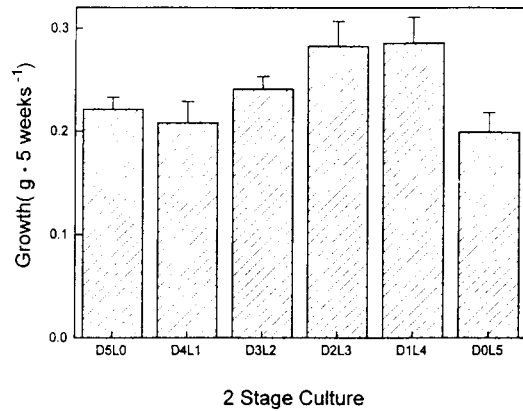


Fig. 3. Effects of 2 stage culture on the growth of ginseng hairy roots cultured in 1/2MS liquid medium. The data indicate mean±SE of triplicates measured after 5 weeks of culture and initial inoculum per treatment was 10 hairy root tips (tip size; 1.5 cm). D: Dark condition, L: 3500 lux condition. 0~5: culture periods (weeks).

Table 3. The ginsenosides production of ginseng hairy roots cultured in 1/2MS liquid medium with various sucrose concentration for 5 weeks at 23°C

Sucrose conc. (%)		Content of ginsenosides (mg · g · dw ⁻¹)						
		Panaxatriol ginsenosides			Panaxadiol ginsenosides			
		Rg ₁	Rf	Re	Rd	Re	Rb ₂	Rb ₁
1	dark	0.191±0.081*	0.625±0.074	0.848±0.018	0.090±0.011	0.495±0.011	0.047±0.093	0.136±0.081
	light	0.628±0.022	1.663±0.001	1.403±0.061	0.107±0.152	2.714±0.061	0.020±0.012	0.355±0.051
2	dark	0.126±0.056	0.413±0.022	0.699±0.022	0.070±0.015	0.470±0.032	0.075±0.021	0.239±0.064
	light	0.616±0.037	0.161±0.011	1.255±0.044	0.220±0.077	1.410±0.034	0.075±0.042	0.561±0.066
3	dark	0.043±0.052	0.792±0.036	0.552±0.056	0.220±0.029	2.011±0.037	0.047±0.033	0.148±0.027
	light	0.758±0.032	2.009±0.017	1.625±0.047	0.262±0.023	1.736±0.072	0.075±0.005	0.439±0.082
4	dark	0.080±0.111	1.496±0.032	0.811±0.152	0.311±0.032	2.614±0.031	0.047±0.131	0.148±0.071
	light	0.499±0.112	0.776±0.091	1.690±0.181	0.330±0.101	1.260±0.031	0.047±0.023	0.290±0.033

The initial inoculum was 10 hairy root tips (size : 1.5 cm). *Standard errors.

Table 4. The ginsenosides production of ginseng hairy roots cultured in 1/2MS liquid medium at various light periods for 5 weeks at 23°C

Light periods (weeks)	Content of ginsenosides (mg · g · dw ⁻¹)						
	Panaxatriol ginsenosides			Panaxadiol ginsenosides			
	Rg ₁	Rf	Re	Rd	Re	Rb ₂	Rb ₁
D5L0	0.363±0.047*	0.290±0.823	1.322±0.164	0.070±0.031	1.248±0.411	0.075±0.111	0.510±0.134
D4L1	0.618±0.036	0.558±0.252	1.247±0.153	0.186±0.256	1.561±0.204	0.183±0.314	0.613±0.182
D3L2	0.531±0.032	0.235±0.102	1.270±0.092	0.134±0.517	1.419±0.633	0.110±0.063	0.725±0.411
D2L3	0.699±0.012	0.290±0.251	1.768±0.061	0.116±0.124	1.736±0.292	0.332±0.192	0.467±0.143
D1L4	0.550±0.022	1.328±0.086	1.270±0.411	0.145±0.042	2.188±0.081	0.156±0.071	0.749±0.395
D0L5	0.462±0.015	0.513±0.137	1.388±0.044	0.945±0.083	1.059±0.052	0.032±0.012	0.433±0.052

The initial inoculum was 10 hairy root tips (size : 1.5 cm), *Standard errors, D : dark, L : light.

양하여 모상근의 성장을 높이면서 엽록체의 발달을 촉진시키고자 하였다. 그 결과 모상근의 성장은 암상태에서 1~2주간 배양한후 광상태에서 3~4주간 배양한 처리구[D1L4, D2L3]에서 가장 높은 모상근의 성장을 나타내었다(Fig. 3). 암상태에서 1주간 배양후, 4주간 광상태에서 배양한 처리구[D1L4]의 모상근 성장은 0.283 g · 5 weeks⁻¹으로 암상태의 0.221 g · 5 weeks⁻¹ 보다 1.29배 높았다. 2단계 배양에 따른 ginsenosides의 함량 역시 D1L4, D2L3 처리구에서 가장 높은 함량을 나타내었고, Rf는 암주기보다 광주기가 증가한 처리구[D0L5]에서 높은 함량을 나타내었다(Table 4). 또한 D1L4, D2L3 처리구에서 엽록소의 함량도 가장 높았는데, 이러한 결과를 종합해 볼 때 인삼모상근에서 ginsenosides의 생성은 모상근의 성장 및 엽록체의 발달과 매우 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다. 앞으로 인삼 모상근 배양을 통한 ginsenosides 대량생산을 위해서는 적절한 광조절이 요구되며 특정 ginsenosides의 생성에 있어서 광파장에 의한 생산도 고려해 볼 수 있을 것이다.

요 약

1/2MS 배지에서 성장이 우수한 인삼 모상근 세포주를 선발하여, 모상근의 성장과 ginsenosides의 생성에 미치는 광의 효과를 조사하였다. 광도가 증가할수록 모상근의 성장은 감소하였고 7,000 lux에서 암상태에서 보다 17% 감소하였다. 광도에 따른 7종류의 ginsenosides의 함량은 3,500 lux 처리구에서 대체로 높았으며, Rg₁은 암상태에서 보다 3.3배, Rf는 2.

4배 높은 함량을 나타내었다. 광질에 따른 모상근의 성장은 청색과장 처리구에서 억제되었으나, ginsenosides의 함량은 높았다. 광상태에서 인삼모상근의 sucrose 요구도를 조사하기 위하여, sucrose 농도별로 처리한 결과, 1% sucrose 처리구에서 모상근의 성장이 가장 높았으나 ginsenosides의 함량은 3% sucrose 처리구에서 가장 높았다. 인삼 모상근의 성장과 ginsenosides의 함량을 동시에 높이기 위한 방법으로 암상태와 광상태에서 2단계 배양을 한 결과, 암상태에서 1주 처리후 광상태에서 4주간 배양한 처리구에서 모상근의 성장 및 ginsenosides의 함량이 가장 높게 나타났다. 따라서 인삼 모상근 배양을 통한 ginsenosides의 대량생산 및 특정 ginsenosides 생산을 위해서는 적절한 파장의 광도가 필요할 것으로 사료된다.

인 용 문 헌

1. Fujita, Y., Hara, Y., Suga, C. and Morimot, T. : *Plant Cell Reports.*, **1**, 61 (1981).
2. Fujita, Y., Tabata, M., Mishi, A. and Yamada, Y. : *Plant Tissue. ed.*, p. 399 (1982).
3. Hahlbrock, K., Lamb, C. J., Purwin, C., Ebel, J., Fautz, E. and Schafer, E. : *Plant Physiol.*, **67**, 768 (1981).
4. Mano, Y., Ohkawa, H. and Yamada, Y. : *Plant Science*, **59**, 191 (1989).
5. Ko, K. M., Ahn, J. C., Hwang, S. J., Kang, Y. H. and Hwang, B. : *Korean J. Plant Tissue Culture*, **20**, 41 (1993).

6. Yang, D. C., Lee, S. J., Yun, K. Y. and Kang, Y. H. : *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **8**, 89 (1993).
7. Ahn, J. C., Jung, B. G., Paek, Y. W. and Kim, Y. J. : *Korean J. Bot.*, **36**, 225 (1993).
8. Yoshikawa, T. and Furuya, T. : *Plant Cell Reports*, **6**, 449 (1987).
9. Kaku, T., Miyata, T., Uruno, T., Sako, I. and Kinoshita, A. : *Drug Res.*, **25**, 539 (1975).
10. Jaenicke, B., Kim, E. J., Ahn, J. W. and Lee, H. S. : *Arch. Pharm. Res.*, **14**, 25 (1991).
11. Yoshimura, H. and Kimura, N. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **14**, 171 (1990).
12. Saito, H. : *Intl. Ginseng Seminar*, Tokyo, p. 27 (1989).
13. Saito, H., Tsuchiya, M., Naka, S. and Takagi, K. : *Jpn. J. Pharmacol.*, **27**, 509 (1977).
14. Zhang, J. T., Qu, Z. W., Liu, Y. and Deng, H. L. : *Chin. Med. J.*, **103**, 932 (1990).
15. Hwang, B. and Ko, K. M. : *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **4**, 3 (1989).
16. Ko, K. S., Heo, I. O., Koh, J. S. and Lee, W. J. : *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **5**, 3 (1990).
17. Yoshikawa, T. and Furuya, T. : *Plant Cell Reports*, **6**, 449 (1987).
18. 한국인삼연초연구원 : 인삼효능 제품연구결과 요약집(제1집), 한국인삼연초연구원, 대전, p. 177 (1993).
19. Han, B. H., Park, Y. N., Han Y. N. and Shin, S. C. : *Ann. Rep. Nat. Res. Ins. Korea*, 73 (1984).
20. Kim, M. W., Choi, K. J., Cho, M. H. and Hong, S. K. : *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **23**, 173 (1980).
21. Tagaki, K., Saito, H. and Nabata, H. : *Jpn. J. Pharmacol.*, **22**, 245 (1972).
22. Shim, S. C. and Chang, S. K. : *Bull. Korean Chem. Soc.*, **8**, 272 (1987).
23. Matsunga, M., Katano, M., Yamamoto, H., Mori, M. and Tagata, K. : *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1279 (1989).
24. Okamura, N., Kobayashi, K., Akaike, A. and Yagi, A. : *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 270 (1994).
25. Murashige, T. and Skoog, F. : *Physiol. Plant.*, **15**, 473 (1962).
26. Yang, D. C., Kim, Y. H., Kwon, J. N., Choi, C. H. and Yang, D. C. : *Korean J. Plant Tissue Culture*, **22**, 71 (1995).
27. Yang, D. C., Chae, Q., Lee, S. J., Kim, Y. H. and Kang, Y. H. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **14**, 57 (1990).
28. Yang, D. C., Kim, M. W., Lee, S. J. and Yun, K. Y. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **15**, 139 (1990).
29. Sauerwein, M., Yoshimatsu, K. and Shimomura, K. : *Plant Tissue Culture Letters*, **9**, 1 (1992).
30. Yang, D. C., Choi, H. Y., Kim, Y. H., Yun, K. Y. and Yang, D. C. : *Korean J. Ginseng Sci.* (submitted).
31. Shropshire, W. and Mohr, H. : *Encycl. Plant Physiol.* NS 16 A & B. Berlin (1983).
32. Chandler, M. T., Marsac, N. T. and Kouchkovsky, Y. : *Can. J. Bot.*, **50**, 2285 (1972).
33. Edwards, K., Johnston, C. and Thompson, C. : *Nucleic Acids Res.*, **19**, 1349 (1991).