

## Elicitation에 의한 인삼 모상근의 성장 및 이차 대사산물 생산

정귀택<sup>1</sup>, 이광연<sup>2</sup>, 황백<sup>3</sup>, 우제창<sup>4</sup>, 박돈희<sup>1,5</sup>전남대학교 화학공학부<sup>1</sup>, 동아인제대학<sup>2</sup>, 전남대학교 생명과학부<sup>3</sup>,목포대학교 생물학과<sup>4</sup>, 전남대학교 생물산업기술연구소<sup>5</sup>

전화 (062) 530-1841, FAX (062) 530-1849

## Abstract

The effects of biotic elicitors, organic acids, and environmental changes on the growth of *Panax ginseng* hairy roots were investigated in the shaking flask culture. Among the organic acid tested, gluconic acid was found to be the most efficient in the hairy roots growth. And citric and succinic acid were facilitated the growth of hairy roots.

## 서론

식물로부터 얻어지는 많은 유용한 이차 대사산물들은 의약품, 식품첨가물, 천연색소, 향료, 농약, 화학원료 등 다양한 용도로 이용되고 있으며, 수요는 계속 증가하고 있다. 반면에 적정 식물 자원은 그 한계를 나타내고 있는 실정이다. 이러한 수요에 부합하고자 식물세포(조직) 배양기술을 이용하여 유용 물질의 산업화에 의한 대량 생산의 시도가 활발히 진행되고 있다. 그러나 식물세포 배양의 산업화에는 식물세포(조직)의 낮은 성장속도, 배양의 불안정성, 생리·생화학적인 지식부족 등의 문제점이 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위해서는 고생산성의 세포주 개발, 배지조성 및 배양조건 최적화, 유인제 및 전구체 물질의 처리 등을 시도해 오고 있다.

각각의 식물세포(조직)는 성장과 대사산물 생산에 있어 특유의 대사기작을 수행하고 있다. 식물에서 생산되는 유용한 이차 대사산물들은 환경스트레스에 반응하여 특이한 발달 단계에서 특정형태의 세포에 축적되는 경향이 있다. 따라서 식물 배양 세포도 어떠한 환경적 스트레스에 노출되거나 특이한 세포배양 환경에 노출되면 많은 양의 이차 대사물질들을 축적하게 된다. 이러한 특징을 이용하여 식물세포 배양 시 인위적으로 외부의 스트레스를 가하여 유용 물질의 생산능 증가를 유도하는 연구가 수행되고 있다.

본 연구에서는 형질전환된 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 모상근의 성장과 대사산물의 생산능을 향상시키고자, 여러 가지 유도제와 환경적 스트레스에 의한 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

본 실험에 사용한 인삼(*P. ginseng* C.A. Meyer) 모상근은 23℃의 진탕배양기에서 1/2 MS 배지(호르몬 무첨가, 3% sucrose)를 사용하여 3주 간격으로 계대배양하면서 실험에 사용하였고, 배양 20일 후에 유기산(gluconic acid, citric acid, succinic acid, oxalic acid, malic acid, lactic acid 등)을 0.5mM의 농도로 첨가하였고, 유도제로서 yeast extract와 *Agrobacterium rhizogenes*를 처리·첨가하여 모상

근의 성장과 대사산물의 생산을 조사하였다. 또한 배양기간 중 환경변화의 스트레스를 가하여 실험을 수행하였다.

배양방법은 100mL의 배지가 함유된 250mL 플라스크에 인삼 모상근 1g(생체량)을 접종하여 진탕배양기에서 70rpm, 23°C에서 일정기간 동안 배양하면서 생체량, 건조중량, 그리고 대사산물 함량 등을 측정하였다. 모상근의 생체량은 멸균된 티슈를 이용하여 충분히 수분을 제거한 후 중량을 측정하였고, 건조중량은 60°C로 고정된 건조 오븐에서 항량이 되도록 충분히 건조하여 건조중량을 측정하였다. 모상근 세포내 탄수화물 측정은 시료 분말을 증류수로 현탁하여 초음파 분쇄하여 세포내 탄수화물을 방출하여 페놀·황산법을 사용하여 정량하였다. Crude saponin 함량은 분말 시료에 수포화-butanol법으로 추출하여 측정하였다.

### 결과 및 고찰

배양 기간 중에 유기산의 첨가가 인삼 모상근의 성장과 대사산물 생산에 미치는 영향을 알아보기 위하여 1/2 MS 배지에 유기산(gluconic acid, citric acid, succinic acid, oxalic acid, malic acid, lactic acid 등)을 0.5mM의 농도로 배양 20일 후에 첨가하여 28일간 배양한 결과(Figure 1), gluconic acid를 첨가한 경우에서 대조구에 비하여 약 1.1배의 성장을 보였고, succinic acid와 citric acid를 처리한 시험구에서도 나은 성장을 보였다. 그리고 나머지 대부분의 시험구에서 대조구와 비슷한 성장을 보였다. 그러나 1% EtOH를 첨가한 시험구에서는 높은 성장 저해를 보여주었다.

### 참고문헌

1. Heike Dornenburg and Dietrich Knorr (1995), Strategies for the improvement of secondary metabolite production in plant cell cultures, *Enzyme Microb. Technol.*, **17**, 674-684
2. Sandra I. Pitta-Alvarez, Tatiana C. Spollansky, Ana M. Giulietti (2000), The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*, *Enzyme Microb. Technol.*, **26**, 252-258

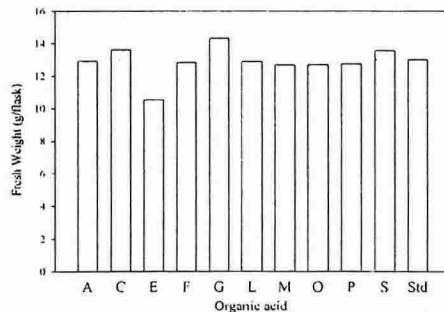


Figure 1. Effect of organic acids on growth of *P. ginseng* hairy roots cultured for 28 days in 250 mL flask.

A: Sodium acetate, C: Citric acid, E: 1% EtOH, F: Fumaric acid, G: Gluconic acid, L: Lactic acid, M: Malic acid, O: Oxalic acid, P: Sodium pyruvate, S: Succinic acid, Std: Standard.