

**쇠무릎(*Achyranthes japonica*)의 모상근 배양을 통한 achyranthes saponin 생산**  
 작물과학원 목포시험장 : 김광수\*, 김유선, 김용범, 장영석, 방진기

**Production of achyranthes saponin through *Achyranthes japonica* hairy root culture**

Mokpo Experiment Station, NICS, RDA, Muan, Korea

Kwang-Soo Kim\*, Yu-sun Kim, Yong-Bum Kim, Young-Seok Jang, Jin-Ki Bang

**실험목적**

쇠무릎의 모상근 배양을 통하여 유용성분인 saponin의 기내생산 가능성을 알아보기 위하여, 선발된 모상근의 배양환경 구명 및 배양환경에 따른 achyranthes saponin 합성 변화 여부를 확인하고자 하였다.

**재료 및 방법**

○ 실험재료

*Agrobacterium rhizogenes* ATCC 15834를 이용하여 유도된 모상근 중 생장이 빠르고 achyranthes saponin을 다량생산하는 모상근 AJ3를 실험재료로 사용하였다.

○ 실험방법

모상근의 생장에 적합한 배양조건을 규명하기 위해, 선발된 모상근 AJ3을 대상으로 1/2 MS, MS, 1/2SH, SH, RCM, B5 등의 배지를 이용하여 적정 배지를 규명하였고, 1/2 MS 액체배지를 기준으로 pH, 질소원인  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 의 비율 및 인산의 농도, 탄소원의 종류 및 농도(1-7%) 등의 화학적인 요인과 광조건( $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), 암조건 및 배양온도(15, 20, 25, 30°C)등의 물리적인 변화가 모상근의 생장에 미치는 영향을 조사하였다. Achyranthes saponin의 합성여부는 HPLC로 분석하였으며, 분석조건은 Waters사의 injector(600), detector(486 Tunable absorbance) 및 integrator(Autochro-WIN, Young)를 사용하였으며 고정상으로 TSK-GELODS 120A column( $0.46 \times 25 \text{ cm}$ ), 이동상으로 MeOH-H<sub>2</sub>O-AcOH (82:18:0.2 v/v)를 사용하였고, 유속은 0.8 ml/min으로 하여 207 nm에서의 자외선 흡광도로 화합물을 검출하였다.

**실험결과**

선발된 모상근 중 생장율이 가장 빠른 AJ3를 재료로 하여 적정 배양조건을 조사한 결과, 2%의 sucrose, 질소원으로는 10.3 mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ / 9.4 mM  $\text{KNO}_3$ , 인산의 농도는 0.62 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 가 함유된 1/2 MS 액체배지에서 배양하였을 때 생장율이 가장 좋았고 명배양고 암배양의 차이점은 없었으며, pH 5 - 6, 온도는 20°C에서 생장율이 가장 좋았다. 유용성분 합성능을 증가시키기 위해, 1/2MS배지에서 2주간 배양한 모상근을 다시 B5 배지에서 다시 2주간 배양하는 2단계 배양 실험구에서의 achyranthes saponin 생산능을 조사한 결과, 생장율은 1/2 MS배지 연속배양 결과를 1로 했을 때 B5배지 연속배양은 0.37이었고 2단계 배양실험구에서는 0.70였지만, 총 saponin 생산에서는 1/2MS배지 연속배양에 비해 1.5배 정도 의 생산증가를 보여 모상근 배양을 통한 유용물질의 기내생산 가능성을 확인하였다.

주저자 연락처 (Corresponding author) : 김광수 E-mail : ajuga@rda.go.kr Tel : 061-450-0133

\* 시험성적

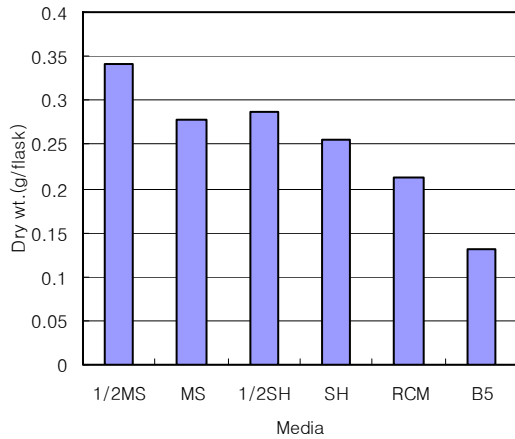


Fig. 1. Effect of various media on the growth of *A. japonica* hairy root AJ3 after 2 weeks culture.

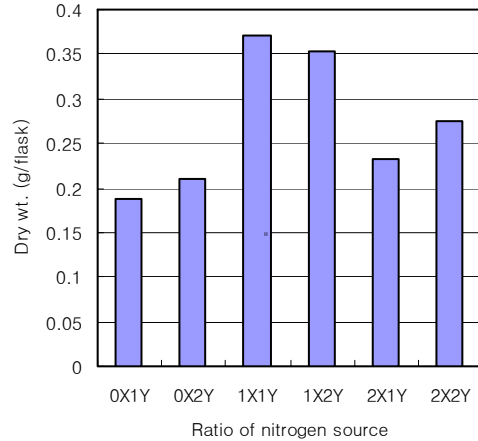


Fig. 2. Effect of nitrogen sources on the growth of *A. japonica* hairy root AJ3 after 2 weeks culture.

Table 1. Effect of two-step culture on the major achyranthes saponin production of *A. japonica* hairy root AJ3 after 4 weeks culture. Each medium containing 2% sucrose. Initial inoculum; each three root tips(about 1 cm long)

Medium	Growth <sup>1</sup>	Content of saponin(%)			Total saponin(%)
		MG <sup>a</sup>	CIVM <sup>b</sup>	CVM <sup>c</sup>	
1/2MS	5.237	0.161	0.284	0.165	0.610
B5	1.943	0.451	0.578	0.369	1.399
1/2MS+ B5	3.648	0.424	0.553	0.298	1.275

<sup>1</sup>g/flask (dry wt.); <sup>a</sup>Methyleanolate  $\beta$ -D-glucopyranoside; <sup>b</sup>Chikusetsusaponin IVa methyl ester; <sup>c</sup>Chikusetsusaponin V methyl ester; <sup>d</sup>Natural root; <sup>e</sup>Hairy root clone