

인삼 단백질획물이 일차배양한 계배의 뇌세포 및 DRG 에 미치는 영향

박미정 · 송진호 · 김선여 · 김영중

서울대학교 약학대학

(Received August 31, 1990)

Effects of the Protein Fraction of *Panax ginseng* on Primary Cultured Chicken Brain Cells and DRG

Mi Jung Park, Jin Ho Song, Sun Yeou Kim and Young Choong Kim

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, 151-842, Korea

Abstract □ The effects of the protein fraction of *Panax ginseng* on primary cultured chicken embryonic brain cells and DRG cultured with a deficient medium were studied. The protein fraction was further fractionated into four groups according to the molecular weight; larger than 10,000 dalton(fraction A), between 5,000 and 10,000 daltons(fraction B), between 1,000 and 5,000 daltons(fraction C), between 500 and 1,000 daltons(fraction D). All four protein fractions at the concentration of 100 μ g/ml significantly increased the number of the brain cells which promoted the neurite outgrowth. The activity of PDHC in the brain cells was elevated significantly by the protein fraction B at the concentration of 100 μ g/ml. It was noted that 100 μ g/ml protein fraction C and D significantly enhanced the synthesis of protein in the brain cells. At the concentration of 100 μ g/ml, the protein fraction B enhanced RNA synthesis and the protein fraction A significantly enhanced DNA synthesis in the brain cells. The protein fractions B, C, and D significantly promoted the neurite outgrowth of DRG at the concentration of 100 μ g/ml.

Key words □ *Panax ginseng*, Protein fraction, Primary culture, Chicken embryonic brain cells, DRG, PDHC, Protein synthesis, RNA synthesis, DNAsynthesis

인삼은 다양한 약리작용을 가지며 생체내의 여러 생리작용에 관여한다고 알려져 있다. 인삼의 약리작용을 규명하기 위하여 지금까지 수많은 연구가 수행되었으며,^{1,2)} 특히 중추신경계에 대한 인삼의 작용은 많은 연구자들의 관심의 대상으로 토끼, 흰쥐, 개구리 등의 실험동물을 이용하여 수면시간, 경련발작, 체온강하 및 대뇌피질에서의 산소소비량 등에 미치는 dammarane 계 glycosides 들의 효능에 대한 연구가 수행되었다.³⁻⁶⁾ 본 연구실에서는 인삼의 중추신경계에 대한 작용을 체계화하기 위한 연구의 일환으로 dammarane 계 glycosides 분획물이 비정상 상태로 유도배양한 계배의 뇌세포 및 척수세포

의 성장을 촉진시켰으며 뇌세포의 Pyruvate dehydrogenase complex (PDHC)의 활성을 증가시키는 것을 이미 밝힌 바 있다.⁷⁾ 최근에 인삼의 peptide 성분이 anti-lipolytic activity 를 가지며,⁸⁾ phenol 계 성분이 항산화작용을 나타낸다는 등^{9,10)} ginsenosides 이외의 성분들에 대한 관심이 고조화되고 있다.

이에 본 연구에서는 인삼의 단백질획물이 중추신경계와 감각신경계에 미치는 효과를 일차배양한 계배의 뇌세포 및 Dorsal root ganglia (DRG)를 이용하여 알아보았다.

실험방법 및 재료

재료 및 시약—본 실험에 사용한 인삼은 강화산 6년 근이며, 계배(chicken embryo)는 일령 10~12일된 것을 초원농장(서울, 내곡동)에서 구입하였다. 조직배양에 필요한 시약 및 기타 시약들은 Sigma Chemical Company(USA) 제품을 사용하였다. 방사성 동위원소 및 Aquasol은 NEN Research Products(USA)에서 구입하여 사용하였다.

인삼 단백질성분의 추출 및 분획—인삼을 증류수로 세척한 후 잘게 부수어 Okuda⁸⁾ 등의 방법을 약간 수정하여 4°C 이하에서 인산완충액(pH 8.0, ionic strength 0.05)을 사용하여 계속 교반하면서 24시간 동안 추출한 다음 여과하였다. 여과시킨 후의 잔사는 다시 상기와 같은 방법으로 2회 더 추출하여 여과한 다음 여액을 모두 합하였다. 여액은 한외여과장치(ultrafiltration apparatus: Amicon stirred cells, model 202)를 이용하여 분자량 500(UM05), 1,000(UM2), 5,000(YM5), 10,000(YM10)을 각각 분획할 수 있는 한외여과막(ultrafiltration membrane)을 사용하여 질소가스상에서 Scheme 1과 같이 분획하였다.

계배추출물(chicken embryo extract: EE₅₀)의 제조—일령이 10일된 계배를 적출하여 Hank's balanced salt solution (HBSS)으로 세척한 후 주사기를 이용하여 원심분리관 속에 압출하고, 동량의 HBSS로 희석하였다.¹¹⁾ 실온에서 30분간 방치한 후, 4°C에서 18,000 rpm으로 25분간 원심분리하여서 그 상등액을 취하여 사용하였다.

계배의 DRG 조직 배양—일령 12일된 계배에서 DRG를 적출하여 collagen을 도포한 배양용기(Linbro dish, 35×10 mm) 중심에 배양액 1적을 떨어뜨려 넓게 편 후 적출한 DRG 3개씩을 이식하여 24시간 배양한 후 다시 배양액 1 ml을 첨가하여 배양하였다.¹²⁾ 배양액은 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM) 87.5%, 말 혈청 10%, 계배 추출물 2.5%, Penicillin 10,000 IU/100 ml, Streptomycin 10,000 μg/100 ml 및 Amphotericin B 500 μg/100 ml로 구성된 표준배양액과 이 배양액에서 세포성장에 필수성분인 계배추출물을 제거한 결핍배양액을 사용하였다.

계배의 뇌세포 배양—일령이 10일된 계배에서 뇌

를 적출한 후 결합조직을 제거하고 0.15% trypsin으로 조직을 연화시킨 후 세포상태로 분리하였다.¹³⁾ 이것을 collagen을 도포한 배양용기(Falcon, 15×24 mm)에 뇌세포가 5×10⁶ cells/ml이 되도록 이식하였다. 배양액은 DRG의 배양에 사용한 배양액을 사용하였다.

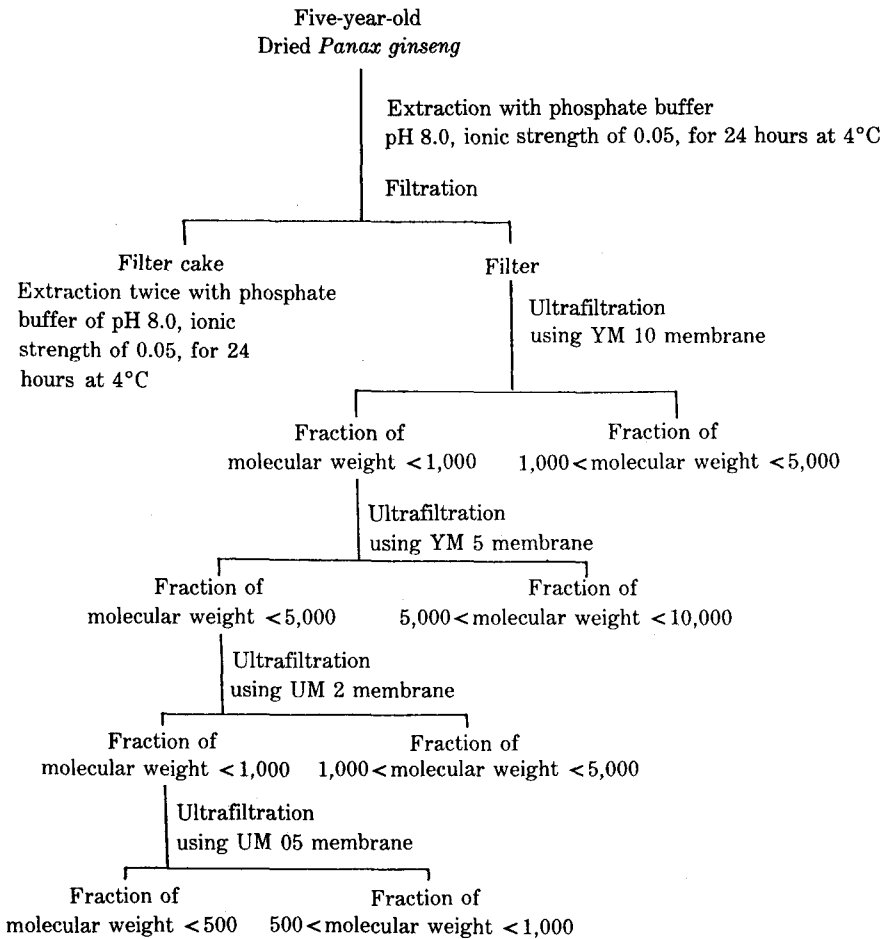
세포의 배양—일정한 습도(60%)를 유지하는 37°C 배양기(Water-Jacketed CO₂ Incubator: Forma scientific)에서 공기(95%)와 CO₂(5%)의 혼합기체를 계속 공급하면서 세포를 배양하였다.

단백질 정량—배양한 세포의 단백질 함량은 Lowry 방법¹⁴⁾에 의하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

PDHC 정량—PDHC의 활성은 PDHC가 환원시킨 NADH의 양을 측정하여 정량하였다.¹⁵⁾ 균질화된 세포에 2.5 mM NAD, 0.2 mM thiamine pyrophosphate, 0.1 mM coenzyme A, 0.3 mM dithiothreitol, 5 mM pyruvate, 1 mM magnesium chloride, 1 mg/ml의 bovine serum albumin, 0.6 mM p-iodonitrotetrazolium 및 0.1 mg/ml lipamide dehydrogenase이 함유된 0.05 M potassium phosphate buffer (pH 7.8) 용액의 반응시약을 1분간 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

단백질 생합성 측정—단백질의 생합성은 [³H]-leucine을 배양액에 첨가하여 방사성 동위원소로 표지된 leucine이 배양세포의 단백질에 incorporation되는 정도를 측정하였다.¹⁶⁾ 뇌세포를 4일간 배양한 후 배양액에 [³H]-leucine(1 μCi/ml)을 투여하여 2시간 동안 배양하였다. 배양액을 제거한 후 HBSS로 3회 세척하고 10% trichloroacetic acid (TCA) 1 ml 가하여 단백질을 침전시켰다. Ethanol과 ether의 혼합용액(3:1) 1 ml로 잔존하는 TCA 용액을 제거한 후 1 N NaOH 200 μl로 단백질을 용해시켰다. 그 중 100 μl를 취하여 scintillation cocktail aquasol 5 ml에 가한 후 방사능을 측정하였다.

DNA 생합성 측정—DNA 생합성의 측정은 [³H]-leucine 대신 [³H]-thymidine을 사용하여 단백질 생합성 정도 측정 방법과 비슷한 방법으로 수행하였다.¹⁶⁾



Scheme 1—Procedures for the extraction and fractionation of protein constituents of dried *Panax ginseng* root.

RNA 생합성 측정—RNA 생합성의 측정은 [³H]-leucine 대신 [³H]-uridine 을 사용하여 단백질 생합성 정도 측정 방법과 비슷한 방법으로 수행하였다.¹⁶⁾

통계처리—통계적 유의성 검토는 대조치로부터의 변동을 “ANOVA” test 로 하였다. p 값이 5% 미만일 때는 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

계배의 뇌세포에 미치는 영향—인삼의 단백분획물은 인삼을 인산완충액 (pH 8.0, ionic strength 0.05) 으로 추출한 후 한외여과장치를 이용하여 Scheme 1에서와 같이 분획하였다. 즉 분자량에 따라 분자량이 500 이상 1,000 이하, 1,000 이상 5,000 이하,

5,000 이상 10,000 이하, 10,000 이상인 분획 등의 4군으로 크게 분획하였다.

인삼의 단백분획물이 중추신경계에 어떻게 작용하는지를 알아보기 위하여서는 정상 상태의 뇌세포에 서보다는 비정상 상태의 뇌세포에서 그 효과가 뚜렷할 것이므로 세포분화와 성장발달에 필수물질이라고 알려진 계배추출물을 함유하지 않은 결핍 배양액으로 뇌세포를 배양하여 뇌세포의 성장 및 발달을 제한시키면서 단백분획물들이 이들에 미치는 영향을 알아보았다. 비정상 상태로 유도된 뇌세포에 인삼의 4가지 단백분획물을 각각 10 µg/ml, 50 µg/ml 및 100 µg/ml 씩 투여하여 24시간 배양한 후, 이들 단백분획물이 신경세포의 신경축색돌기 (neurite)의 생성에 미치는 효과를 알아보았다. 정상 상태로 배양된 뇌세포에서는 신경세포로부터의 신경축색돌기

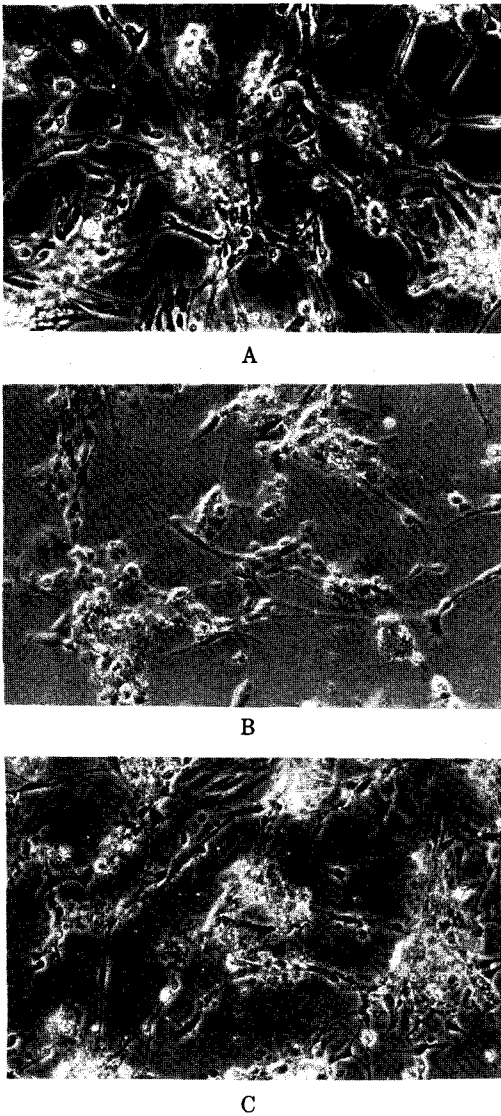


Fig. 1—The effect of protein fractions of *Panax ginseng* on the growth of chicken embryonic brain cells cultured for 48 hours. ($\times 200$)

- A: Brain cells were cultured with a standard medium.
 B: Brain cells were cultured with a deficient medium.
 C: Brain cells were cultured with a deficient medium in the presence of 100 $\mu\text{g/ml}$ protein fraction of *Panax ginseng* ranging from 5,000 to 10,000 dalton.

의 생성 및 발달이 활발하여 길고 두꺼우며 그물망처럼 엉킨 신경축색돌기를 형성한 것을 현미경하에

Table I—The effect of protein fractions of *Panax ginseng* on the number of chicken embryonic brain cells cultured with a deficient medium for 24 hours.

Substance	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Number of brain cells with neurite outgrowth
Control	0	20 ± 5
Protein fraction larger than 10,000 dalton	10	20 ± 5
	50	23 ± 2
	100	$42 \pm 6^{**}$
5,000 dalton < protein fraction	10	28 ± 6
	50	$35 \pm 2^{**}$
	100	$37 \pm 3^{**}$
1,000 dalton < protein fraction	10	$32 \pm 2^*$
	50	32 ± 7
	100	19 ± 2
500 dalton < protein fraction	10	21 ± 3
	50	26 ± 4
	100	$37 \pm 7^*$

A count was performed on randomly selected five fields in each well.

Results are expressed as mean \pm S.D. of 3 separate determinations.

Significantly different with respect to control: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

서 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 비정상 상태로 유도배양된 뇌세포에서 살아 있는 신경세포의 수도 현저히 감소하였을 뿐만 아니라 신경축색돌기의 생성 발달도 미미하였으나(Fig. 1B), 단백분획물을 투여하였을 때는 그 정도가 정상상태의 뇌세포에 미치지 못하지만 살아 있는 세포의 수가 크게 증가하였으며 신경축색돌기 또한 잘 발달된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1C). 각각의 배양용기 중 임의로 선택한 다섯 부위에서 신경축색돌기를 생성하는 신경세포의 수를 측정된 결과, 단백분획물들은 각기 다른 농도에서 신경축색돌기를 생성하는 신경세포의 수를 유의성 있게 증가시킴을 확인할 수 있었다(Table I).

이러한 현미경으로 관찰된 단백분획물의 뇌세포에 대한 작용을 밝히기 위하여 뇌세포에 존재하는 효소 중에서 뇌에서의 에너지 대사에 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 acetyl CoA를 생성시켜 신경전달물질인 acetylcholine의 생합성 전구체를 제공하여 주

Table II—The effect of protein fractions of *Panax ginseng* on the activity of PDHC in chicken embryonic brain cells cultured for 4 days.

Substance	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Activity of PDHC (nmol/min/mg protein)
Control	0	2.71 \pm 0.28
Control + EE ₅₀	0	8.75 \pm 1.63
Protein fraction larger than < 10,000 dalton	100	5.08 \pm 0.36***
5,000 dalton < protein fraction < 10,000 dalton	100	4.52 \pm 0.42**
1,000 dalton < protein fraction < 5,000 dalton	100	2.84 \pm 0.75
500 dalton < protein fraction < 1,000 dalton	100	3.23 \pm 0.63

Results are expressed as mean \pm S.D. of 3 separate determinations.

Significantly different with respect to control:

*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

고 tricarboxylic acid cycle 에 관여함으로써 이 cycle 의 생산물이며 신경전달물질인 glutamate 의 생성에 영향을 미치는¹⁷⁻¹⁹⁾ PDHC 의 활성을 측정 하였다 (Table II). 분자량 5,000 dalton 이상인 단백질분획물 100 $\mu\text{g/ml}$ 을 비정상 상태로 유도배양된 뇌세포에 투여하였을 때, 비정상 상태로의 유도로 인하여 억제된 PDHC 의 활성이 유의성있게 단백질분획물을 투여하지 않았을 때의 1.8배로 증가되었다. 이러한 단백질분획물의 효과는 인삼의 dammarane 계 glycosides 를 비정상 상태의 뇌세포에 30~70 $\mu\text{g/ml}$ 을 투여하였을 때, PDHC 의 활성이 2배 정도 증가된 사실⁷⁾과 관련지어 검토하여 보면 glycosides 에 못지 않은 것으로서 인삼의 중추신경계에 대한 작용에 단백질분획물 또한 중요한 역할을 하는 것으로 추측된다. PDHC 는 뇌의 정상적인 기능을 위하여 반드시 필요한 효소로서 신경질환인 Leigh disease,²⁰⁾ Huntington disease,²¹⁾ Alzheimer's disease^{21,22)} 등에서 결핍이 보고되고 있어

PDHC 의 결핍은 중추신경계의 기능에 커다란 장애를 가져옴을 알 수 있다. 따라서 단백질분획물이 PDHC 의 활성화에 미치는 효과는 그 의미가 클 것으로 사료된다.

단백질분획물이 비정상 상태로 유도배양된 계배의 뇌세포에서 신경축색돌기의 생성 및 발달을 촉진, 강화시키는 작용을 이해하기 위하여 뇌세포에서의 단백질, RNA 및 DNA 합성에 미치는 단백질분획물의 효과를 알아보았다. 단백질분획물 중에서 분자량 5,000 dalton 이하의 분획물 100 $\mu\text{g/ml}$ 을 비정상 상태로 유도배양된 뇌세포에 투여하였을 때 단백질의 합성이 유의성있게 증가되었으며, 분자량 10,000 dalton 이상인 단백질분획물 100 $\mu\text{g/ml}$ 을 투여시에는 DNA 의 합성이 유의성있게 증가되었다 (Table III). 또한, 분자량이 5,000 dalton 이상 10,000 dalton 이하인 분획물 100 $\mu\text{g/ml}$ 을 투여하였을 때는 RNA 합성이 유의성있게 증가되었다. 이와 같은 단백질분획물의 단백질, RNA 및 DNA 합성에 미치는 효과는 galactosamine 으로 상해를 입힌 흰 쥐의 간세포에서도 확인할 수 있었다.²³⁾ 지금까지 인삼의 약리작용의 기전을 밝히기 위한 수많은 연구 결과로 인삼의 총추출물 및 dammarane 계 glycosides 는 여러 장기에서의 단백질, RNA 및 DNA 합성을 촉진시킨다고 알려졌다¹⁾ 본 연구로 단백질분획물도 뇌세포에서의 단백질, RNA 및 DNA 합성을 촉진시키는 것을 알 수 있었다.

연구에 사용한 단백질분획물들 모두 비정상 상태의 뇌세포에서 신경축색돌기의 생성 및 발달을 촉진시키는 것으로 미루어 볼 때, 단백질분획물은 중추신경계의 기능에 이상이 있을 때 어느 정도 회복시키는 작용이 있는 것으로 사료되나, 분자량에 따라 분획한 각각의 단백질분획물에 따라 다소 다른 양상을 나타내므로 이러한 현상을 이해하기 위하여서는 이에 대한 생화학적인 연구가 뒤따라야 할 것이다.

계배의 DRG 에 미치는 영향—단백질분획물이 계배의 감각신경기관인 DRG 에 어떻게 작용하는 지를 알아보기 위하여 일령이 12일된 계배의 DRG 를 적출하여 결핍 배양액으로 체외에서 배양하여 비정상 상태로 유도하면서 단백질분획물들을 각각 10 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 씩 투여하여 그 효과를 현미경하에서 알아보았다.

DRG 를 계배추출물을 함유하는 배양액으로 24시

Table III—The effects of protein fractions of *Panax ginseng* on the syntheses of protein, RNA and DNA in chicken embryonic brain cells cultured for 4 days.

Substance (100 µg/ml)	Protein [³ H]-Leucine incorporation (dpm/5 × 10 ⁵ cells)	RNA [³ H]-Uridine incorporation (dpm/5 × 10 ⁵ cells)	DNA [³ H]-Thymidine incorporation (dpm/5 × 10 ⁵ cells)
Control	3,111 ± 187	11,391 ± 152	19,315 ± 1,319
Control + EE ₅₀	7,368 ± 236	68,323 ± 5,299	42,812 ± 1,622
Protein fraction larger than 10,000 dalton	3,744 ± 760	10,508 ± 2,099	24,549 ± 2,183***
5,000 dalton < protein fraction <10,000 dalton	3,167 ± 119	16,275 ± 400*	16,170 ± 2,306
1,000 dalton < protein fraction <5,000 dalton	4,271 ± 197*	11,493 ± 246	18,435 ± 228
500 dalton < protein fraction <1,000 dalton	3,983 ± 1,153*	17,281 ± 5,960*	19,921 ± 3,099

Results are expressed as mean ± S.D. of 3 separate determinations.

Significantly different with respect to control: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

Table IV—The effect of protein fractions of *Panax ginseng* on the size of cultured chicken embryonic DRG.

Substance	Concentration (µg/ml)	Size of DRG (mm)			
		24 hours	48 hours	72 hours	144 hours
Control	0	0.530 ± 0.111	1.227 ± 0.121	1.435 ± 0.192	2.059 ± 0.286
Control + EE ₅₀	0	0.762 ± 0.180	1.849 ± 0.236	2.892 ± 0.136	4.624 ± 0.832
Protein fraction larger than 10,000 dalton	10	0.624 ± 0.126	1.326 ± 0.014	2.080 ± 0.159*	2.596 ± 0.124
	50	—	—	—	—
	100	—	—	—	—
5,000 dalton < protein fraction <10,000 dalton	10	0.624 ± 0.087	1.300 ± 0.143	1.820 ± 0.134	3.900 ± 0.197**
	50	0.650 ± 0.093	1.560 ± 0.102	2.366 ± 0.165*	2.860 ± 0.191
	100	0.468 ± 0.169	1.144 ± 0.147	1.625 ± 0.536	1.863 ± 0.141
1,000 dalton < protein fraction <5,000 dalton	10	0.676 ± 0.090	1.248 ± 0.098	1.560 ± 1.103	2.730 ± 0.216
	50	0.299 ± 0.117	1.637 ± 0.018*	1.820 ± 0.043	3.120 ± 1.103
	100	0.715 ± 0.092*	1.638 ± 0.160*	2.217 ± 0.271**	3.575 ± 0.577
500 dalton < protein fraction <1,000 dalton	10	0.806 ± 0.260	1.807 ± 0.349*	2.405 ± 0.276**	3.380 ± 0.005**
	50	0.780 ± 0.140	1.755 ± 0.460*	2.795 ± 0.092***	4.680 ± 0.368***
	100	—	—	—	—

Results are expressed as mean ± S.D. of 3 separate determinations.

Significantly different with respect to control: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

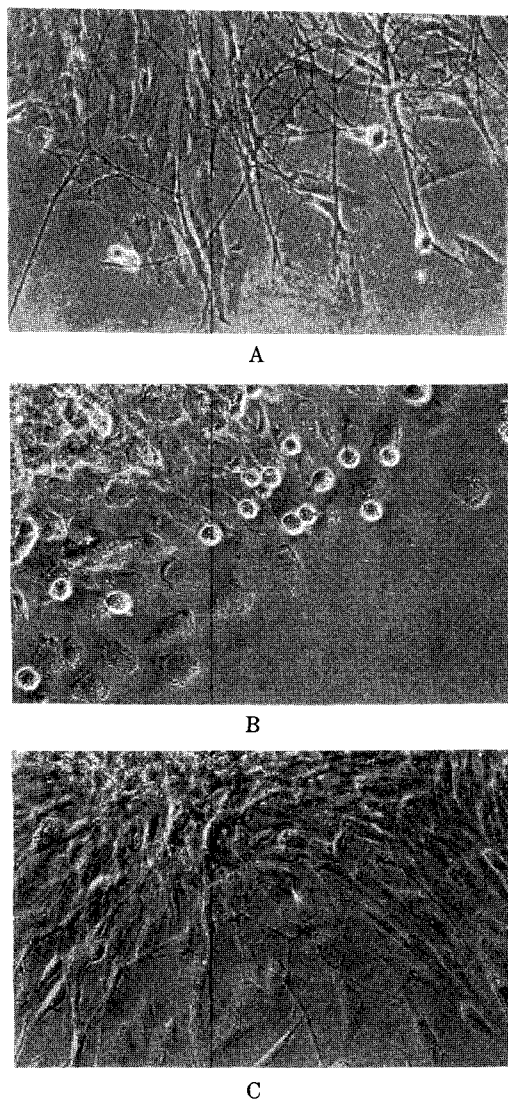


Fig. 2—The effect of the protein fraction of *Panax ginseng* on the neurite outgrowth of chicken embryonic DRG cultured for 48 hours. (×200)
 A: DRG were cultured with a standard medium.
 B: DRG were cultured with a deficient medium.
 C: DRG were cultured with a deficient medium in the presence of 100 µg/ml protein fraction of *Panax ginseng* ranging from 1,000 to 5,000 dalton.

간 동안 배양하였을 때에는 아주 건강한 DRG로 성장 발달하면서 DRG로부터 신경축색돌기를 생성하고 잘 발달된 그물망을 형성하였으며 (Fig. 2A), 계배추출물을 함유하지 않은 결핍 배양액으로 배양하

였을 때는 DRG 자체가 건강하지 못한 것은 물론 신경축색돌기의 생성도 아주 미미한 것을 현미경하에서 인지할 수 있었다 (Fig. 2B). 그러나 분자량이 10,000 dalton 이하인 분획물들을 비정상 상태의 DRG에 투여하였을 때, DRG 성장 및 신경축색돌기의 생성 및 발달을 촉진시키는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2C). 분자량 10,000 dalton 이상인 분획물은 DRG의 성장 및 신경축색돌기의 발달에 아무런 영향을 미치지 못하였다 (Fig. 2D). 이와 같은 현미경 관찰 결과를 뒷받침하기 위하여 DRG의 축색돌기가 가장 길게 뻗어나간 양쪽 끝을 시간에 따라 측정하여 단백질분획물의 시간에 따른 효과를 살펴 보았다 (Table IV). 비정상 상태의 DRG에 단백질분획물을 투여하였을 때, 분자량 5,000 dalton 이하인 분획물은 DRG를 배양한지 48시간 안에 DRG의 성장 및 발달 역제를 유의성 있게 회복시켜 주었으며 분자량이 5,000 dalton 이상 10,000 dalton 이하인 분획물은 72시간 지난 후에야 효과가 나타났으나 분자량이 10,000 dalton 이상인 분획물은 특이할만한 효과를 나타내지 못하였다.

이상에서와 같이 인삼의 단백질분획물들은 그 분자량에 따라서 비정상 상태의 DRG에도 뇌세포에서와 같이 각기 다르게 작용하는 것을 관찰할 수 있었다.

결 론

1. 인삼 단백질분획물들은 비정상 상태로 유도배양시켰을 때 생존세포의 수를 증가시키고 신경축색돌기의 생성 및 발달을 촉진시켰다.
2. 분자량 5,000 dalton 이상인 단백질분획물 100 µg/ml을 비정상 상태로 유도배양한 뇌세포에 투여하였을 때, 비정상 상태로의 유도로 인하여 억제된 PDHC의 활성이 유의성 있게 단백질분획물을 투여하지 않았을 때의 1.8배로 증가되었다.
3. 단백질분획물 중에서 분자량 5,000 dalton 이하의 분획물 100 µg/ml을 비정상 상태로 유도배양된 뇌세포에 투여하였을 때 단백질의 합성이 유의성 있게 증가되었으며, 분자량 10,000 dalton 이상인 단백질분획물 100 µg/ml을 투여시에는 DNA의 합성이 유의성 있게 증가되었다. 또한, 분자량이 5,000 dalton 이상 10,000 dalton 이하인 분획물 100 µg/

mI을 투여하였을 때는 RNA 합성이 유의성있게 증가되었다.

4. 비정상 상태의 DRG에 단백분획물을 투여하였을 때, 분자량 5,000 dalton 이하인 분획물은 DRG를 배양한지 48시간 안에 DRG의 성장 및 발달 억제에 유의성 있게 회복시켜 주었으며 분자량이 5,000 dalton 이상 10,000 dalton 이하인 분획물은 72시간이 지난 후에야 효과가 나타났으나 분자량이 10,000 dalton 이상인 분획물은 별다른 효과를 나타내지 않았다.

감사의 말씀

본 연구에 소요된 경비의 일부는 한국과학재단의 연구비로 충당되었으며 이 연구비 지원에 깊이 감사하는 바이다.

문헌

- 1) Korean ginseng Research Institute, Korean Ginseng, Republic of Korean, pp. 115-187 (1978).
- 2) 박찬웅, 약리적인 측면에서 본 인삼의 효능 연구, 생화학뉴스, 4, 37(1984).
- 3) 정영상, 인삼 saponin이 rat 대뇌피질절편 산소소비량 및 Na⁺, K⁺ 소비에 미치는 영향, 대한약리학잡지, 5, 29(1969).
- 4) Cho, H.Y.: Pharmacological activities of ginseng, *Kor. J. Pharmacogn.*, 3, 81 (1972).
- 5) Nabata, H., Saito, H. and Takagi, K.: Pharmacological studies of neutral saponin of *Panax ginseng* root, *Japan J. Pharmacol.*, 23, 29 (1973).
- 6) Brekhman, I.I. and Dardymov, I.V.: New substance of plant origin which increase nonspecific resistance, *Ann. Rev. Pharm.*, 9, 419 (1969).
- 7) Park, M.J., Song, J.H. and Kim, Y.C.: The effect of dammarane glycosides of *Panax ginseng* on primary cultured chicken brain cells, *Yakhak Hoeji*, 33, 1 (1989).
- 8) Ando, T., Muraoka, T., Yamasaki, N. and Okuda, H.: Preparation of anti-lipolytic substance from *Panax ginseng*, *Planta Medica*, 38, 18 (1980).
- 9) Han, B.H., Park, M.H., Woo, L.K., Woo, W.S. and Han, Y.N.: Studies on the antioxidant components of korean ginseng, *Korean Biochem. J.*, 12, 33 (1979).
- 10) Han, B.H., Park, M.H. and Han, Y.N.: Studies on the antioxidant components of korean ginseng (V): The mechanism of antioxidant activity of maltol and phenolic acid, *Korean Biochem. J.*, 18, 337 (1985).
- 11) White, P.R.: The cultivation of animal and plant cells, The Ronald Press Company, New York, pp. 66 (1963).
- 12) Kim, Y.C. and Kim, E.K.: Studies on the effect of ginseng extract on chick embryonic nerve and muscle cells, *Yakhak Hoeji*, 24, 143 (1980).
- 13) Kim, Y.C., Han, D.S., Huh, H., Ahn, S.M. and Koo, H.J.: Studies on the effect of the protein constituents of *Panax ginseng* root on cultured chick embryonic brain, spinal cord and skeletal muscle cells, *Yakhak Hoeji*, 27, 2 (1983).
- 14) Lowry, O.H., Resebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folinphenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951).
- 15) Lois, M.H., John, P.B.: An NADH-linked spectrophotometric assay for pyruvate dehydrogenase complex in crude tissue homogenates, *J. Biol. Chem.*, 256, 65 (1981).
- 16) Markelonis, G., Oh, T.H., and Derr, D.: Stimulation of protein synthesis in cultured skeletal muscle by a trophic protein form sciatic nerves, *Exp. Neurol.*, 60, 598 (1980).
- 17) Tucke, S. and Cheng, S.C.: Provenance of acetyl group of acetylcholine and compartmentation of acetyl-CoA and Krebs cycle intermediates in the brain *in vivo*, *J. Neurochem.*, 22, 893 (1974).
- 18) Lefresne, P., Beaujouan, J.C. and Glowinski, J. Evidence for extramitochondrial pyruvate dehydrogenase involved in acetylcholine synthesis in nerve endings, *Nature*, 273, 3, 490 (1978).
- 19) Bibson, G.E., Jope, R. and Blass, J.P.: Decreased synthesis of acetylcholine accompanying impaired oxidation of pyruvic acid in rat brain minces, *Biochem. J.*, 148, 17 (1975).
- 20) Sandro, S. and John, P.B.: Abnormal activation of pyruvate dehydrogenase in Leigh disease fibroblast, *Neurology*, 32, 555 (1982).
- 21) Sandro, S., Edward, D.B. and John, P.B.: Decreased pyruvate dehydrogenase complex activity in Huntington and Alzheimer brain, *Ann. Neurol.*, 13, 72

- (1983).
- 22) Kwan, F.R.S., Young, T.K., John, R.B. and Marc, E.W.: An immunochemical study of the pyruvate dehydrogenase deficit in Alzheimer's disease brain, *Ann. Neurol.*, **17**, 144 (1985).
- 23) Song, J.H., Park, M.J., Kim, E. and Kim, Y.C.: Effects of *Panax ginseng* on galactosamine-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes, *Yakhak Hoeji* (in press).