

인삼모상근의 성장과 Ginsenosides 생성에 미치는 Electron Acceptor, Electron Transport Inhibitors 및 Antioxidants의 효과

김용해 · 최규명 · 양덕춘* · 윤길영 · 양덕조#

충북대학교 자연과학대학 생명과학부, *한국인삼연구소
(1999년 10월 6일 접수)

Effect of Electron Acceptor, Electron Transport Inhibitors and Antioxidants on Growth and Ginsenosides Production in Hairy Root Cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer

Yong-Hae Kim, Kyu-Myung Choi, Deok-Chun Yang*,
Kil-Young Yun and Deok-Cho Yang#

School of Life Sciences, College of Natural Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, 361-763, Korea

*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea

(Received October 6, 1999)

Abstract : The growth of hairy roots were increased 69% by 0.1 mM DCPIP under light conditions. In these conditions, the contents of seven ginsenosides were none significant variation. The influence of electron inhibitors on growth and ginsenoside contents in ginseng hairy roots was tested. The growth was inhibited 71% and 22% respectively by CCCP and methylamine. The ginsenoside contents were as decreased above 45% in all treatment tested except triazine treatment. In antioxidants treatment, the growth of hairy roots was increased about 68% by propylgallic acid, about 23~25% by ascorbic acid or 2,5-dimethylfuran, while the contents of seven ginsenosides were none significant variation. The ginsenoside productivity was high when hairy roots were cultured in 1/2MS medium for 4 weeks and then transferred to 1/2MS medium with ascorbic acid or 2,5-dimethylfuran for 1 weeks in light conditions. It is suggested that ginsenoside productivity could be accelerated by some antioxidants in hairy root cultures of ginseng.

Key words : Electron acceptor, electron transport inhibitor, antioxidants, ginsenoside.

서 론

최근 인삼의 대표적인 생리활성 물질인 ginsenoside의 약리효능이 밝혀짐에 따라^{1,3)} ginsenoside를 기내에서 대량생산하려는 시도가 진행되고 있다.^{4,5)} 그 방안으로 식물호르몬 무첨가 배지에서 왕성한 생장이 가능한 인삼모상근을 대량배양하여 특정 ginsenoside의 생산을 시도하고 있으며, ginsenoside의 생산성 향상을 위

한 일련의 연구가 진행중에 있다.⁶⁾ Yang등⁵⁾은 인삼모상근의 성장과 ginsenoside 생성에 미치는 광의 효과에서 일반적으로 광도가 증가할수록 모상근의 생장은 감소하는 반면, 특정 광량까지는 하에서 ginsenoside 함량이 증가한다고 하였다. 또한 광상태하에서 배양된 인삼모상근 조직세포에서는 틸라코이드막(thylakoid membrane)이 stack된 형태의 온전한 엽록체가 발달됨을 확인하였다.⁷⁾ 광상태하에서 인삼모상근의 생장이 감소하는 것은 자리공 모상근의 성장에 미치는 광의 효과에서와 마찬가지로 강광하에서 생성된 많은 산화제들이 내성항산화제 및 항산화효소의 활성을 억제시킨 것이

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0431-261-2293; (팩스) 0431-261-2293
(E-mail) dcyang@pct.chungbuk.ac.kr

라고 하였다.^{8,9)} 이러한 결과는 Yang 등^{10,11)}의 엽소병 연구결과에서 인삼엽은 강광하에서 인삼 thylakoid membrane의 전자전달계가 포화되면 다량의 singlet oxygen이 생산되어 lipid peroxidation 및 생체 고분자의 활성이 억제되기 때문이라고 하였다. 그리고 엽록체가 발달된 인삼모상근에서 나타나는 높은 ginsenoside 생성율은 엽록체에서 많은 PGA(phosphoglyceric acid)의 생성과 높은 광도에 따른 stress작용이라고 하였다.⁵⁾ 따라서 본 연구는 광상태하에서 인삼모상근의 성장 및 ginsenoside의 생산성을 향상시키고자 엽록체의 전자전달을 조절할 수 있는 electron acceptor 및 electron transport inhibitor 그리고 엽록체에서 전자전달의 포화로 생성되는 산화제를 제거할 수 있는 항산화제의 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 식물재료

본 실험에 사용된 식물재료는 *Agrobacterium rhizogenes* A4 균주를 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 뿌리 절편에 접종하여 유기한 인삼모상근(GhrA4)을 사용하였다.⁵⁾ 실험에 사용된 모상근은 1/2MS 액체배지에 계대배양한 후 3주가 경과하여 새로 형성된 모상근의 선단부위를 1.5 cm로 균일하게 절단하여 사용하였다.

2. 모상근의 성장률과 광처리조건

모상근의 성장은 1/2MS 액체배지 50 mL를 함유한 100 mL flask에 모상근의 root tip(1.5 cm) 10개씩을 접종하여 23°C에서 4~5주간 진탕배양(110 rpm)한 후, 동결건조 시켜 건조중량으로 측정하였다. 광처리에 사용된 광원은 형광등, 수은등 및 나트륨등을 조합하여 3,500 lux로 조절하였다.

3. Ginsenosides 함량 측정

Ginsenosides의 함량은 Yang 등⁵⁾의 방법과 동일하게 측정하였다.

4. Electron acceptor 및 electron transport inhibitor 처리

Electron acceptor는 2,6-dichlorophenolindophenol(DCPIP, 0.1 mM)이며, electron transport inhibitor는 dichlorophenyl dimethyl urea(DCMU, 50 μ M), potas-

sium cyanide(KCN, 50 μ M), dibromomethyl isopropylbenzoquinone(DBMIB, 10 μ M), triazine(0.5 mM), methylamine(50 μ M), carbonyl cyanide chlorophenylhydrazone(CCCP, 0.1 μ M)로서 배양초기부터 1/2MS 기본배지에 처리하고 암상태 및 광상태하에서 4주간 배양하였다.

5. 항산화제 처리

Ascorbic acid(5 μ M), sodium pyrosulfate(0.05 mM), propylgallic acid(5 μ M), 2,5-dimethylfuran(DMF, 0.5 mM), glutathion(GSH, 0.01 mM)등을 1/2MS 기본배지에 처리하고 암상태 및 광상태하에서 4주간 배양하였다. 또한 ascorbic acid(5 μ M) 및 DMF의 처리시기에 따른 효과를 조사하고자 모상근 접종 후 1주 간격으로 처리하여 5주간 배양하였다.

결과 및 고찰

인삼모상근의 성장에 미치는 electron acceptor 및 electron transport inhibitor의 효과를 조사한 결과 electron acceptor 처리구는 광상태에서 대조구보다 모상근의 성장이 증가되었으며, electron transport inhibitors

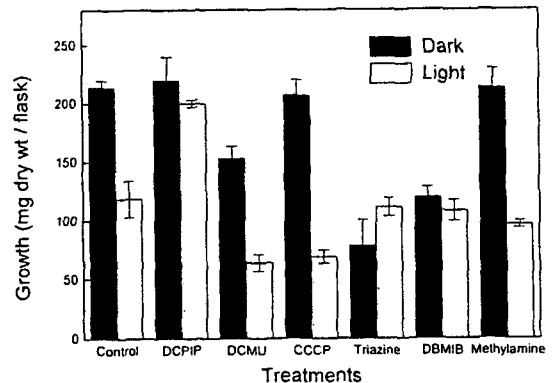


Fig. 1. Effect of electron acceptor and electron transport inhibitors on growth in hairy root cultures of *P. ginseng* C.A. Meyer. Hairy roots were cultured in hormone-free 1/2 MS liquid medium (3% sucrose, 40 ml medium/100 ml flask) at 23°C. The data represent the means \pm SE of triplicates measured after 4 weeks of culture. The initial inoculum was ten hairy root tips (1.5 cm) per treatment. DCPIP; 2,6-dichlorophenolindophenol, DCMU; dichlorophenyl dimethyl urea, CCCP; carbonyl cyanide chlorophenylhydrazone, TRI; triazine, DBMIB; dibromomethyl isopropylbenzoquinone.

Table 1. Effect of electron acceptor and electron transport inhibitors on ginsenosides production in hairy root cultures of *P. ginseng* C.A. Meyer

Treatments		Content of ginsenosides (mg/g dry wt.)							
		Total	Panaxatriol ginsenosides			Panaxadiol ginsenosides			
			Rg ₁	Rf	Re	Rd	Rc	Rb ₂	Rb ₁
Control	D	8.48	1.24±0.02*	0.25±0.01	1.76±0.03	1.31±0.05	0.55±0.08	1.33±0.04	2.04±0.16
	L	9.37	1.09±0.16	0.26±0.02	2.69±0.25	1.34±0.03	0.46±0.04	0.89±0.05	2.64±0.53
DCPIP(0.1 mM)	D	7.67	0.66±0.13	0.24±0.01	2.84±0.27	1.29±0.03	0.26±0.01	0.98±0.39	1.40±0.07
	L	9.40	0.82±0.13	0.26±0.01	3.20±0.09	1.45±0.06	0.50±0.13	1.17±0.12	2.00±0.27
DCMU(5 µM)	D	4.05	1.03±0.12	0.17±0.01	0.14±0.01	0.98±0.01	0.34±0.07	0.50±0.00	0.62±0.04
	L	5.09	1.66±0.70	0.16±0.01	0.16±0.03	0.87±0.03	0.62±0.12	0.99±0.47	0.63±0.16
CCCP(0.1 µM)	D	4.34	1.28±0.46	0.21±0.01	0.18±0.02	0.99±0.04	0.41±0.10	0.57±0.05	0.70±0.08
	L	4.36	0.27±0.30	0.18±0.01	0.53±0.03	0.92±0.03	0.83±0.18	0.75±0.21	0.88±0.16
TRI(0.5 mM)	D	7.33	0.62±0.04	0.12±0.01	1.56±0.13	1.21±0.01	0.65±0.05	1.17±0.12	2.00±0.27
	L	9.10	0.87±0.12	0.15±0.01	1.73±0.03	0.84±0.02	0.55±0.10	2.73±0.01	2.23±0.16
DBMIB(1 µM)	D	4.18	1.28±0.25	0.21±0.02	0.40±0.01	0.69±0.05	0.50±0.03	0.50±0.01	0.60±0.00
	L	4.12	0.84±0.22	0.16±0.01	0.43±0.06	0.82±0.03	0.55±0.02	0.66±0.03	0.66±0.03
Methylamine (50 µM)	D	4.48	1.35±0.04	0.14±0.01	0.76±0.07	0.56±0.03	0.66±0.06	0.47±0.01	0.54±0.07
	L	4.94	1.24±0.20	0.13±0.01	1.09±0.03	0.49±0.06	0.70±0.08	0.58±0.04	0.71±0.16

Culture conditions of hairy roots were same as Fig. 1. D; dark, L; Light, DCPIP; 2,6-dichlorophenolindolphenol, DCMU; dichlorophenyl dimethyl urea, CCCP; carbonyl cyanide chlorophenylhydrazone, TRI; triazine, DBMIB; dibromomethyl isopropylbenzowquinone. *: The data represent the means±SE of triplicates measured after 4 weeks of culture.

처리구에서는 광상태하에서 모상근의 생장이 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 1). Electron acceptor인 DCPIP 처리구에서 모상근의 생장은 암상태에서는 영향이 없는 반면, 광상태에서는 대조구의 118.5 mg dry wt/flask 보다 약 69% 정도 생장이 향상되었다(200 mg dry wt/flask). Electron transport inhibitors인 CCCP와 methylamine은 암상태하에서 모상근의 생장에 영향을 주지 않는 반면 광상태에서는 CCCP의 경우 71%, methylamine에서는 22% 감소하였다. DCMU, triazine 및 DBMIB는 암상태 및 광상태에서도 공히 모상근의 생장이 감소하는 경향을 나타내었다. DCMU 처리구의 경우 암상태에서 대조구보다 35%, 광상태에서 85%의 높은 억제력을 나타내었다(Fig. 1). 광상태하에서 DCPIP에 의한 모상근의 생장이 증가한 것은 엽록체 전자전달계에서 PSII에 위치한 PQ 및 PSI에 존재하는 FeSA 위치에서 전자가 DCPIP에 acceptor되어¹²⁾ 산화제의 생성을 감소시킨 결과라고 판단된다. 또한 electron transport inhibitor처리에 따른 모상근 생장의 감소는 DCPIP와는 반대로 DBMIB, triazine, DCMU 및 methylamine들은 PSII에서 전자전달을 억제하며,¹²⁾ CCCP는 물의 광분해를 저해함으로써¹²⁾ 활성화 산소의 생성을 촉진시키고 결국, 모상근의 생장이 억제된 것으로 보인다. 인삼모상근의 엽록체는 강광에 의하여 전자전달

계가 포화되어 많은 산화제의 생성으로 모상근의 생장이 억제된 것으로 판단된다. 이러한 결과는 온전한 인삼 식물체의 thylakoid membrane에 electron transport inhibitor를 처리하였을 때, singlet oxygen의 생성과 chlorophyll 파괴가 촉진된다는 Yang등의 보문과¹¹⁾ 일치하였다.

인삼모상근의 ginsenosides 함량에 미치는 electron acceptor 및 electron transport inhibitor의 영향을 조사한 결과는 Table 1에 제시하였다. DCPIP는 광 및 암상태에서 배양된 인삼모상근의 7종류 ginsenosides 함량에는 영향을 미치지 않았으며, ginsenoside-Re의 경우 암 및 광상태에서 대조구 보다 많은 양을 생성하는 특성을 나타내었다. Triazine처리구를 제외한 모든 electron transport inhibitor 처리구에서 ginsenosides의 생성은 암 및 광상태에서 공히 대조구보다 45% 이상 감소하는 특성을 나타내었다. 그리고 triazine 처리구는 ginsenosides의 생성 감소 폭이 적었는데 대조구와 비교하여 3~14% 정도였다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 DCPIP는 엽록체의 전자전달계에서 electron acceptor기능만 담당하고 ginsenoside 생합성에는 관여하지 않은 것으로 판단된다. 또한 electron transport inhibitor들에 의한 ginsenosides의 함량이 큰 폭으로 감소하는 결과를 미루어 볼 때, electron transport inhibitor는 엽록체

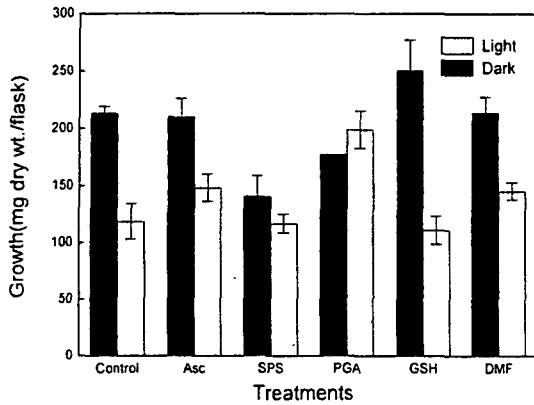


Fig. 2. Effect of antioxidants on growth in hairy root cultures of *P. ginseng* C.A. Meyer. Culture conditions of hairy roots were same as Fig. 1. Asc; ascorbic acid, SPS; sodium pyrosulfate, PGA; propylgallic acid, GSH; glutathion, DMF; 2,5-dimethylfuran. The data represent the means \pm SE of triplicates measured after 4 weeks of culture.

전자전달계의 전자전달을 차단하여 생성된 산화제에 의하여 ginsenosides의 대사과정에 직·간접적인 inhibitor로써 작용하는 것으로 생각된다.

인삼 모상근의 생장에 미치는 항산화제의 효과를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 광상태에서는 ascorbic acid, propylgallic acid, DMF 처리구에서 높은 생장을 나타내었는데, propylgallic acid 처리구는 199.9 mg dry wt/flask로 대조구의 118.5 mg dry wt/flask 보다

68%가 증가하였으며, ascorbic acid와 DMF 처리구에서는 약 23~25% 정도 증가하였다. 이러한 결과는 Yang등의 보문⁹⁾에서의와 같이 ascorbic acid에 의해 singlet oxygen이 제거되고, 엽록체 bleaching도 감소되었다는 결과로 미루어 볼 때,¹¹⁾ 본 연구에서 ascorbic acid, DMF 및 SPS처리구에서 모상근의 생장이 현저히 증가된 것은 강광하에서 생성되는 활성화 산소들을 제거하였기 때문인 것으로 생각된다.

인삼 모상근의 ginsenosides함량에 미치는 항산화제의 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 모든 항산화제 처리구에서 인삼모상근의 7종류 ginsenosides 함량에는 큰 영향을 미치지 않았으며, 단지 ginsenoside-Re는 sodium pyrosulfate 및 GSH 처리구에서 특이적으로 증가되었다. 광상태에서 sodium pyrosulfate처리구의 ginsenoside-Re의 함량은 3.53 mg/g dry wt로서 대조구의 2.69 mg/g dry wt보다 31% 증가하였으며, 광상태의 GSH처리구에서도 역시 ginsenoside-Re의 함량이 32%가 증가되었다. 이러한 결과로 미루어 볼 때, 광상태하에서 엽록체가 발달된 인삼모상근 배양에서 항산화제는 엽록체 전자전달계의 광포화로 생성된 많은 산화제의 제거에는 직접적으로 관여하지만 인삼의 대표적인 7종류 ginsenosides 함량을 증대시키는 효과가 없는 것으로 확인되었다. 그러나 sodium pyrosulfate 및 GSH 처리구에서 ginsenosides의 높은 함량증대 결과를 미루어 볼 때, 적절한 항산화제의 처리로 특정 ginse-

Table 2. Effect of antioxidants on ginsenosides production in hairy root cultures of *P. ginseng* C.A. Meyer

Treatments		Content of ginsenosides (mg/g dry wt.)							
		Total	Panaxatriol ginsenosides			Panaxadiol ginsenosides			
			Rg ₁	Rf	Re	Rd	Rc	Rb ₂	Rb ₁
Control	D	8.48	1.24 \pm 0.02*	0.25 \pm 0.03	1.76 \pm 0.03	1.31 \pm 0.42	0.55 \pm 0.08	1.33 \pm 0.04	2.04 \pm 0.16
	L	9.37	1.09 \pm 0.16	0.26 \pm 0.02	2.69 \pm 0.25	1.34 \pm 0.21	0.46 \pm 0.04	0.89 \pm 0.05	2.64 \pm 0.53
Asc(5 μ M)	D	6.66	0.86 \pm 0.18	0.27 \pm 0.01	1.81 \pm 0.41	0.98 \pm 0.43	0.40 \pm 0.09	0.77 \pm 0.23	1.57 \pm 0.41
	L	10.27	0.83 \pm 0.10	0.32 \pm 0.01	2.82 \pm 0.40	1.54 \pm 0.41	0.41 \pm 0.07	0.88 \pm 0.27	3.47 \pm 1.20
SPS(0.05 mM)	D	9.66	1.49 \pm 0.07	0.22 \pm 0.03	2.51 \pm 0.18	1.22 \pm 0.31	0.59 \pm 0.02	1.91 \pm 0.49	1.72 \pm 0.06
	L	10.08	1.13 \pm 0.14	0.25 \pm 0.01	3.53 \pm 0.04	1.25 \pm 0.44	0.31 \pm 0.01	1.16 \pm 0.31	2.45 \pm 0.02
PGA(5 μ M)	D	6.57	0.90 \pm 0.09	0.19 \pm 0.03	1.44 \pm 0.10	0.99 \pm 0.41	0.46 \pm 0.01	1.15 \pm 0.28	1.44 \pm 0.12
	L	8.50	0.89 \pm 0.10	0.21 \pm 0.02	3.02 \pm 0.03	1.15 \pm 0.25	0.44 \pm 0.01	0.90 \pm 0.05	1.89 \pm 0.01
GSH(0.01 mM)	D	7.88	1.05 \pm 0.10	0.23 \pm 0.03	1.58 \pm 0.23	1.32 \pm 0.41	0.52 \pm 0.02	1.57 \pm 0.68	1.61 \pm 0.06
	L	9.38	1.00 \pm 0.03	0.25 \pm 0.02	3.57 \pm 0.07	1.39 \pm 0.16	0.36 \pm 0.03	1.04 \pm 0.06	2.22 \pm 0.14
DMF(0.3 mM)	D	7.90	1.27 \pm 0.22	0.28 \pm 0.01	1.20 \pm 0.09	1.56 \pm 0.47	0.36 \pm 0.04	1.18 \pm 0.05	2.05 \pm 0.11
	L	8.89	1.35 \pm 0.06	0.31 \pm 0.02	1.58 \pm 0.52	1.68 \pm 0.22	0.60 \pm 0.14	0.93 \pm 0.17	2.54 \pm 0.38

Culture conditions of hairy roots were same as Fig. 1. D; dark, L; Light, Asc; ascorbic acid, SPS; sodium pyrosulfate, PGA; propylgallic acid, GSH; glutathion, DMF; 2, 5-dimethylfuran. *: The data represent the means \pm SE of triplicates measured after 4 weeks of culture.

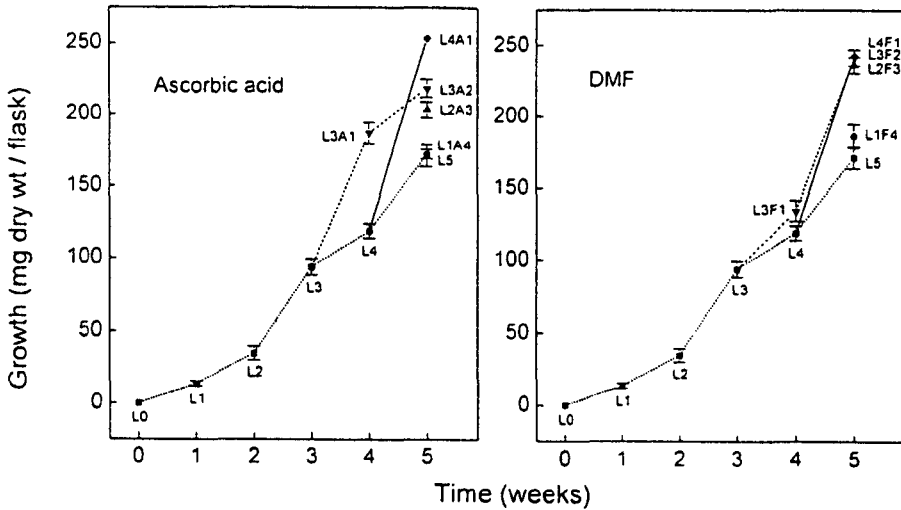


Fig. 3. Effect of ascorbic acid and 2,5-dimethylfuran on growth in hairy root cultures of *P. ginseng* C.A. Meyer. Culture conditions of hairy roots were same as Fig. 1. L; light, A; ascorbic acid, F; 2,5-dimethylfuran. The data represent the means \pm SE of triplicates measured after 5 weeks of culture.

Table 3. Effect of ascorbic acid (5 μ M) and 2, 5-dimethylfuran (3 mM) on growth and ginsenosides production in hairy root cultures of *P. ginseng* C.A. Meyer

Treatments	Ginsenoside productivity (mg/flask)	Growth (mg dry wt/flask)	Content of ginsenosides (mg/g dry wt.)							
			Total	Panaxatriol ginsenosides			Panaxadiol ginsenosides			
				R _{G1}	R _f	R _e	R _d	R _c	R _{b2}	R _{b1}
L1A4	1.19	172.3 \pm 8.1*	6.93	1.71 \pm 0.20	0.25 \pm 0.03	0.54 \pm 0.05	1.55 \pm 0.32	1.47 \pm 0.06	0.56 \pm 0.01	0.85 \pm 0.03
L2A3	1.48	203.5 \pm 10.2	7.27	1.75 \pm 0.01	0.21 \pm 0.02	0.67 \pm 0.02	1.75 \pm 0.06	1.49 \pm 0.07	0.58 \pm 0.01	0.82 \pm 0.02
L3A2	1.34	218.5 \pm 9.4	6.11	1.37 \pm 0.01	0.23 \pm 0.03	0.37 \pm 0.02	1.56 \pm 0.21	1.36 \pm 0.10	0.59 \pm 0.22	0.63 \pm 0.01
L4A1	1.94	253.8 \pm 12.1	7.49	1.40 \pm 0.03	0.24 \pm 0.01	0.42 \pm 0.02	1.76 \pm 0.17	2.39 \pm 0.28	0.58 \pm 0.05	0.70 \pm 0.07
L1F4	1.12	186.6 \pm 9.3	6.02	1.45 \pm 0.05	0.25 \pm 0.02	0.27 \pm 0.10	1.65 \pm 0.05	1.26 \pm 0.18	0.55 \pm 0.07	0.59 \pm 0.15
L2F3	1.37	238.2 \pm 11.2	5.74	1.36 \pm 0.02	0.24 \pm 0.03	0.47 \pm 0.05	1.49 \pm 0.04	1.03 \pm 0.19	0.51 \pm 0.08	0.64 \pm 0.11
L3F2	1.68	241.6 \pm 8.5	6.97	1.39 \pm 0.03	0.19 \pm 0.02	0.57 \pm 0.08	1.64 \pm 0.04	1.83 \pm 0.04	0.62 \pm 0.03	0.73 \pm 0.11
L4F1	1.69	243.3 \pm 10.2	6.96	1.36 \pm 0.01	0.24 \pm 0.02	0.49 \pm 0.04	1.71 \pm 0.03	1.87 \pm 0.13	0.57 \pm 0.01	0.72 \pm 0.04
L5	1.33	171.4 \pm 7.8	7.77	2.02 \pm 0.02	0.23 \pm 0.01	0.73 \pm 0.05	1.65 \pm 0.07	1.59 \pm 0.04	0.6 \pm 10.01	0.94 \pm 0.05

Culture conditions of hairy roots were same as Fig. 1. L; light, A; ascorbic acid, F; 2, 5-dimethylfuran. *: The data represent the means \pm SE of triplicates measured after 5 weeks of culture.

nosides의 생성이 증대될수 있을 것으로 판단된다.

인삼엽록체 전자전달계의 광포화로 다량의 singlet oxygen이 생성되어 인삼 엽소병이 발생한다는 보문¹¹⁾ 과 본 연구에서 singlet oxygen의 specific quencher인 ascorbic acid 및 DMF에 의하여 광상태에서 배양된 인삼모상근의 성장증대 효과를 감안해 볼 때, 광상태에서 인삼모상근을 배양하면 많은 singlet oxygen이 생성되는 것으로 판단된다. 따라서 광상태에서 5주간 배양한 대조구(L5) 보다 ascorbic acid를 첨가한 후 주기별로 배양하였을 때, 모상근의 생장은 증가하였으며 ascorbic

acid의 처리기간이 짧아질수록 모상근의 생장은 증가하는 양상을 나타내었다(Fig. 3, Table 3). 특히, 1/2MS기 본배지에서 4주간 배양한 후, 5 μ M ascorbic acid가 첨가된 1/2MS기본배지로 옮겨 1주간 배양했을 때 (L4A1) 모상근의 생장은 현저하게 증가하였으며, 대조구(L5)의 171.4 mg dry wt/flask보다 253.8 mg dry wt/flask로 48% 증가하였다.

인삼 모상근의 생장에 미치는 항산화제인 DMF 처리 시기에 따른 효과를 조사한 결과 모상근의 생장은 모든 처리구에서 대조구보다 높게 나타났다(Fig. 3, Table

3). 특히 기본 배지에서 4주간 배양한 후 0.5 mM DMF가 첨가된 1/2MS기본배지로 옮겨 1주 배양했을 때 (L4F1) 243.3 mg dry wt/flask로서 대조구 보다 1.41배 높았으며, DMF를 1~3주간 처리하였을 때 모상근의 생장은 유사한 경향을 나타내었다. 이러한 결과를 미루어 볼 때 singlet oxygen quencher인 ascorbic acid와 DMF를 적절한 시기에 처리함으로써 모상근의 생장을 증대시킬 수 있다고 생각된다.

인삼 모상근의 ginsenosides 합성에 미치는 ascorbic acid 및 DMF의 처리시기에 따른 효과는 Table 3과 같다. Ascorbic acid 처리구에서 total ginsenosides의 함량은 모든 처리구에서 대조구보다 적은 함량을 나타내었지만 ginsenoside-Rc의 함량은 대조구보다 1.5배 높은 함량을 나타내었다. Ginsenosides 생산성에서는 모상근의 생장이 가장 높았던 L4A1 처리구에서 1.94 mg/flask의 함량을 나타내어 대조구 보다 46% 증가한 생산성을 나타내었다. DMF 처리구에서 total ginsenoside 함량은 모든 처리구에서 대조구 보다 낮은 함량을 나타낸 반면, ginsenosides 생산성에서는 L3F2 및 L4F1 처리구에서 유사한 경향을 나타내었으며 대조구보다 약 26% 높은 생산성을 나타내었다. 이상의 결과에서 ascorbic acid 및 DMF 처리시기가 늦을 수록 높은 효과를 나타내는 것은 인삼모상근의 엽록체 발달과 관계가 있다고 판단된다. 즉, 인삼 모상근을 4주정도 광상태하에서 배양하였을 때 완전한 형태의 엽록체(chloroplast)가 형성됨을 감안할 때,⁷⁾ 이때부터 엽록체의 전자전달계는 강광하에서 포화되어 다량의 활성화산소가 생성되므로 이때 ascorbic acid 및 DMF같은 항산화제가 활성화 산소에 의한 광합성 기구의 파괴가 방지되고, 원활한 전자흐름으로 ATP 및 NADPH2생성을 촉진하는 것으로 생각된다. 그리고, 합성된 ATP는 에너지원으로, NADPH2는 환원력으로 calvin cycle의 환원반응에 관여함으로써, 결국 생장을 현저히 촉진하는 것으로 보여진다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 인삼모상근으로부터 ginsenosides의 생산성 향상은 적절한 항산화제의 개발과 엽록체 발달시기를 고려하여 적절한 항산화제의 처리를 통하여 가능하리라 생각된다.

요 약

전자수용체인 DCPIP 처리구에서 모상근의 생장은 광상태에서 대조구 보다 약 69%정도 향상되었으나 7종

류의 ginsenosides 함량에는 영향을 미치지 않았다. 반면, 전자전달 저해제(electron transport inhibitors) 처리구에서 CCCP와 methylamine은 광상태에서 모상근의 생장을 각각 71%, 22% 감소시켰다. 그러나 traizine 처리구를 제외한 모든 처리구에서 7종류의 ginsenosides 함량은 오히려 암 및 광상태에서 대조구보다 45% 이상 감소 하였다. 항산화제 처리구에서 propylgallic acid는 광상태하에서 인삼모상근의 생장을 대조구보다 68% 증가시켰으며, ascorbic acid와 DMF 처리구에서는 각각 23~25% 정도 증가하였다. 모든 항산화제 처리구에서는 7종류의 ginsenoside 함량 변화에 영향을 미치지 않았다. 인삼모상근의 생장 및 ginsenosides 생산성 향상에 효과적인 ascorbic acid와 DMF의 처리시기는 1/2MS배지에서 4주간 배양한 후 1주간 처리하였을 때 가장 양호하였다. 따라서 인삼모상근으로부터 ginsenosides 생산성을 향상을 위해서는 적절한 항산화제의 개발이 요구된다.

인 용 문 헌

1. Park, H. J. and Ko, S. R. : *J. Ginseng Res.* **22**, 140 (1998).
2. Hong, H. Y., Yoo, G. S. and Choi, J. K. : *J. Ginseng Res.* **22**, 133 (1998).
3. Shin, Y. H., Jeong, O. K., Nah, J. J., Yoon, S. R., Nam, K. Y., Kim, S. K., Kim, S. C. and Nah, S. Y. : *J. Ginseng Res.* **22**, 43 (1998).
4. Hwang, B. and Ko, K. M. : *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **4**, 288 (1989).
5. Yang, D. C., Choi, H. Y., Kim, Y. H., Yun, K. Y. and Yang, D. C. : *Korean J. Ginseng Sci.* **20**, 318 (1996).
6. Yoshikawa, T. and Furuya, T. : *Plant Cell Rep.* **6**, 449 (1987).
7. Yang, D. C., Choi, H. Y., Kim, Y. H., Yun, K. Y. and Yang, D. C. : *Korean J. Ginseng Sci.* **21**, 28 (1997).
8. Yang, D. C., Kim, Y. H., Choi, H. Y., Choi, C. H. and Yang, D. C. : *Korean J. Plant Tissue Culture* **22**, 65 (1995).
9. Yang, D. C., Kim, Y. H., Kwon, J. N., Choi, C. H. and Yang, D. C. : *Korean J. Plant Tissue Culture* **22**, 65 (1995).
10. Yang, D. C. : *Korean J. Ginseng Sci.* **14**, 135 (1990).
11. Yang, D. C., Chae, Q., Lee, S. J., Kim, Y. H. and Kang, Y. H. : *Korean J. Ginseng Sci.* **14**, 57 (1990).
12. Hader, D. P. and Tevini, M. : *General Photobiology*, Pergamon Press, p. 142 (1987).