

인삼모상근 배양에서 Ginsenoside Rb₂ 및 Rc 생성과 무기이온 흡수

양덕조* · 윤길영 · 최규명 · 유승희
충북대학교 자연과학대학 생명과학부

Ginsenoside Rb₂ and Rc Formation and Inorganic Elements Uptake in Ginseng Hairy Roots Cultures

YANG, Deok Cho* · YUN, Kil Young · CHOI, Kyu Myeong · YOO, Seung Hui

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

ABSTRACT For the enhancement of ginsenoside production in hairy roots cultures of *Panax ginseng*, the uptake rate of inorganic elements and ginsenoside contents were investigated by different concentrations of about phosphorus (PO₄⁻) and nitrogen (NH₄⁺, NO₃⁻) sources. According to increased phosphorus and nitrogen sources, the uptake rate of Mg²⁺ and Fe²⁺ in ginseng hairy roots were significantly increased. The uptake rate of Fe²⁺ in 5.15 mM NH₄⁺ was higher at 47.5% than that in 20.6 mM, whereas that of Cu²⁺ in 10.3 mM were higher at 123.1% than that in 41.2 mM. These results indicated that phosphorus and nitrogen sources act not only elevated growth of hairy roots but also the uptake-enhancement of the irons and other ions. The optimum concentration of phosphorus and nitrogen sources for the contents of free sugars were different to kinds of free sugars. The optimum concentration of phosphorus and nitrogen sources for the ginsenoside formation in ginseng hairy roots cultures were highest at the most low concentration of all. The contents of ginsenoside-Rb₂ and -Rc in 0.31 mM PO₄⁻ were increased to 44.7% and 29.9% than that in 0.62 mM PO₄⁻, respectively. The contents of ginsenoside-Rb₂ and -Rc in 5.15 mM NH₄⁺ were increased to 21.7% and 31.9% than that in 10.30 mM NH₄⁺, respectively. The contents of ginsenoside-Rb₂ and -Rc in 4.7 mM NO₃⁻ were also increased to 17.6% and 25.5% than that in 9.4 mM NO₃⁻, respectively. These results indicate that enhancement of the ginsenoside formation in ginseng hairy roots was feasible by new medium modulation of concentration of phosphorus and nitrogen sources.

Key words : Ammonium, free sugars, ginsenosides, nitrate, phosphorus.

서 론

모상근 (hairy roots) 배양은 다양한 생리활성물질을 생산하기 위한 새로운 대안으로 제시되고 있다 (Granicher et al. 1992; Yang et al. 1993). 특히, 모상근은 표현형뿐만 아니라 유전적인 안전성을 가지고 있기 때문에 이온흡수 과정에서 나타나는 길항 및 상승효과와 같은 생리적 특성의 규명이 유리하고 (Yang et al. 1993), 이온 흡수 및 농도변화에 따른 2

차 대사산물의 생산에 관한 연구에 매우 적합함이 확인되었다 (Yang et al. 2000). 인삼의 약용성분인 ginsenoside는 인삼속 식물에만 함유된 triterpenoid의 dammarane 골격을 가진 배당체로서 약리효능으로 자양강장, 당뇨개선, 항암 및 면역증강 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다 (Huo et al. 1998; Joo 1990; Yamamoto et al. 1990). 또한 ginsenoside는 분자구조적 특성에 따라 panaxadiol (PD)계와 panaxatriol (PT)계로 구분되는데 PD계는 중추신경 진정효과가 있으며, PT계는 콜레스테롤의 함량을 감소시키는 효과가 있는 것으로 밝혀지고 있다 (Choi 1991; Kim 1998).

그러나 인삼은 재배가 까다롭고, 연작이 불가능하며, 병충해 발생 등으로 안정적인 생산이 어려워 수요를 충족시키지

*Corresponding author. Tel 043-261-2293

E-mail dcyang@pct.chungbuk.ac.kr

못하는 실정이다. 따라서 이러한 문제점을 해결하려는 연구의 일환으로 인삼의 세포배양 및 모상근 배양을 통해 ginsenoside의 생산을 위한 연구가 수행되고 있다 (Yang et al. 1996, 2000). 또한 최근에는 단일 ginsenoside의 특정한 생리적 효능을 이용한 음료, 식품 등 기능성 제품의 개발에 관심이 집중되고 있다 (Zhang and Li 1998; Kim et al. 1998). 특히 Rb₂는 암독소 호르몬에 대한 길항작용 및 중앙혈관 신생억제 작용 (Choi 1991)이 알려져 있다. Rc는 장내 세균에 의한 대사산물을 이용한 항암제 개발 가능성이 밝혀졌다 (Hideo et al. 1998). 따라서 특정 ginsenoside를 안정적이고 대량적으로 생산하기 위한 새로운 방법이 절실히 요구되고 있다. 이러한 연구의 일환으로 본 연구에서는 인삼모상근 배양에서 특정 ginsenoside의 생산을 증가시키고자 인산과 질소원의 농도 변화에 따른 이온흡수 특성과 ginsenoside 함량을 조사하였다.

재료 및 방법

모상근 배양

인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer) 뿌리에 *Agrobacterium rhizogenes* A₄ 균주를 접종하여 유도한 모상근 (GhrA₄)을 사용하였다 (Yang et al. 1996). 모상근은 250 mL 삼각플라스크에 100 mL의 1/2 MS (Murashige and Skoog 1962) 액체 배지를 넣어 암상태로 110 rpm의 진탕기에서 23°C로 3주간 배양하여 재료로 사용하였다.

인산의 농도와 무기이온 흡수

인삼모상근의 무기이온 흡수에서 인산 (PO₄⁻)의 효과를 알아보기 위해 1/2 MS 액체배지의 phosphorus의 농도를 0.31, 0.62, 1.25, 2.50, 5.00 mM로 조절하여 각각 1.5 cm 길이의 모상근을 10개 (5mg dry wt)씩 접종하여 4주간 암배양하였다. 배양된 모상근을 수거한 다음 동결건조하여 성장률을 측정하고, 조직 내의 무기이온 함량은 동결건조한 조직 1 g을 전기로에서 회화한 다음 HCl에 용해시켜 ICP (inductively coupled plasma, JY38 PLUS, France)로 분석하였다 (Yang et al. 1997a).

NH₄⁺/NO₃⁻의 농도와 무기이온 흡수

인삼모상근의 무기이온 흡수에서 ammonium (NH₄⁺)과 nitrate (NO₃⁻)의 효과를 알아보기 위해 1/2 MS 액체배지의 ammonium의 농도를 5.15, 10.3, 20.6, 41.2, 82.4 mM로 조절하고, nitrate는 4.7, 9.4, 18.8, 37.6, 75.2 mM로 조절하여 각각 1.5 cm 길이의 모상근을 10개 (5mg dry wt)씩 접종하여

4주간 암배양하였다. 배양된 모상근을 수거한 다음 동결건조하여 성장률을 측정하고, 조직 내의 무기이온 함량을 분석하였다.

유리당 및 Ginsenoside의 함량

모상근의 유리당 및 ginsenoside 함량은 수포화 *n*-BuOH 추출법에 의하여 추출하였다 (Yang et al. 1996). 동결건조한 조직 50 mg을 80% (v/v) MeOH로 추출하여 건조한 다음 ethyl ether와 chloroform으로 지질 및 색소를 제거하였다. 수층을 *n*-BuOH로 3회 추출한 후 수층은 유리당의 정량에 사용하였으며, *n*-BuOH층은 증류수로 3회 세척하여 ginsenoside 정량에 사용하였다. 유리당과 ginsenoside의 정량은 HPLC (Pharmacia, Sweden)를 이용하였다. Column은 Lichrosorbe-NH₂ (5 μm, Merk)를 사용하여 차등굴절기 (RI detector)를 이용하여 검출하였다. 유리당의 용매는 acetonitrile : distilled water (85 : 16, v/v)를, ginsenosides의 용매는 acetonitrile : distilled water : *n*-BuOH (80 : 20 : 10, v/v/v)를 사용하였다. 각각의 정량은 chromatogram의 retention time을 표준품과 비교하여 peak height로 계산하였다.

결과 및 고찰

인산 농도에 따른 인삼모상근의 무기이온 흡수와 생장

인삼모상근의 생장은 인산의 농도가 2.50 mM 까지 증가할 수록 점진적으로 증가하였다 (Figure 1). MS배지에 첨가되는 인산의 농도인 1.25 mM 보다 4배 높은 5.00 mM에서 인삼모상근의 생장은 1.78배 높은 증가를 나타내었다 (Figure 2A). 이와 같은 생장의 증가는 인산이 핵산 및 에너지원의 구성성분 그리고 효소 단백질 활성화에도 관여하여 (Shuman 1994) 물질대사를 촉진시키기 때문으로 판단된다. 배지의 인산 농도

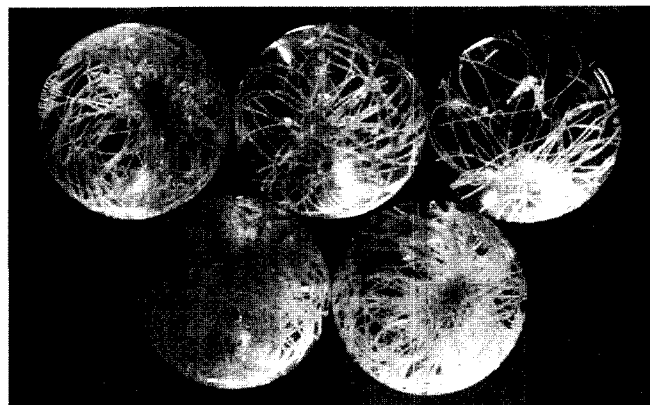


Figure 1. Influences of phosphorus (PO₄⁻) on growth in hairy roots of *P. ginseng*. The initial inoculum was 10 hairy root tips (5 mg dry wt) per treatment and cultured for 4 weeks.

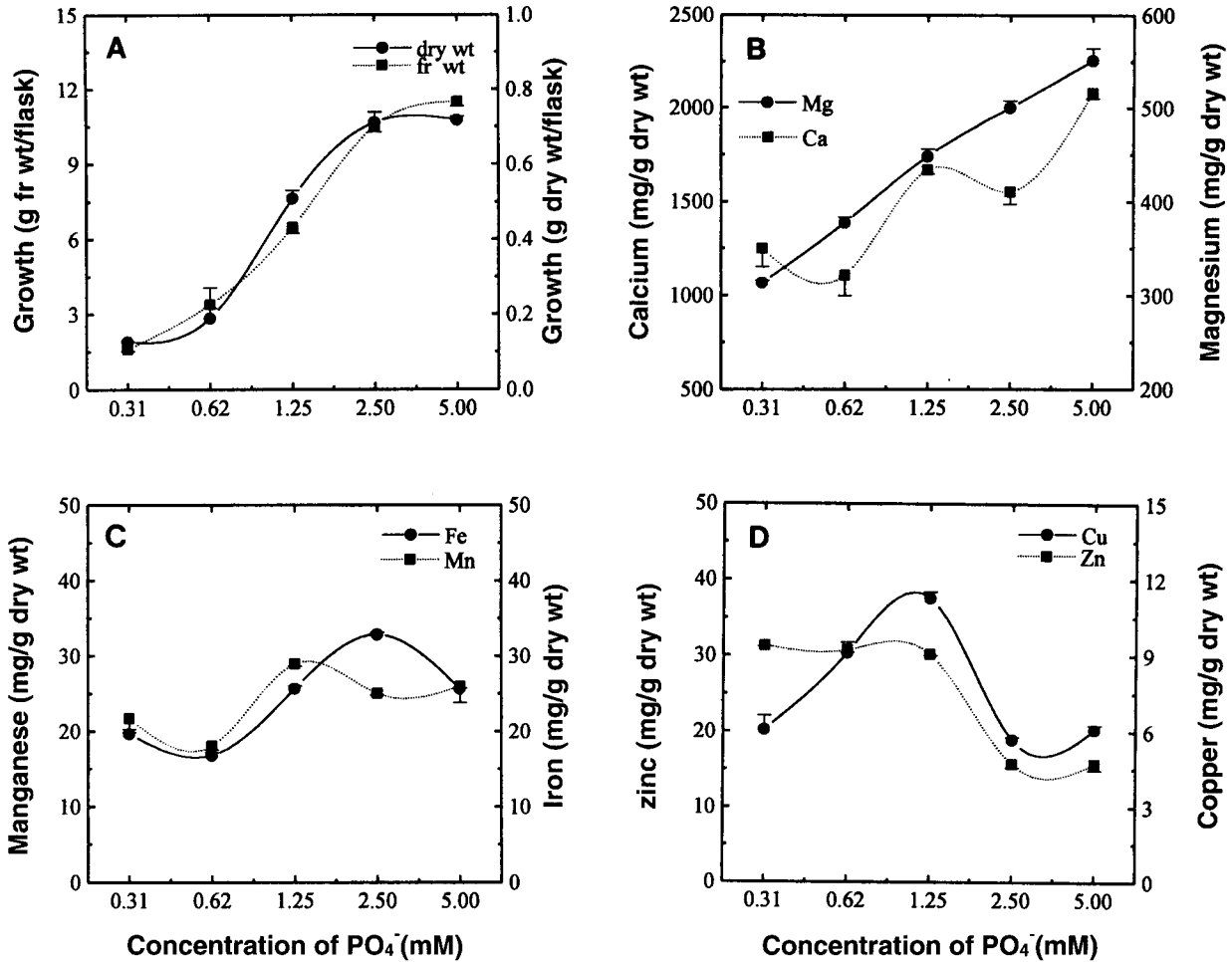


Figure 2. Influences of phosphorus (PO₄⁻) on growth and accumulation of inorganic elements in hairy roots of *P. ginseng*. The data represents the mean \pm SE of triplicates measured after 4 weeks of cultures. The initial inoculum was 10 hairy root tips (5 mg dry wt) per treatment.

증가에 따른 무기이온의 흡수 특성을 조사한 결과, 2가 양이온인 Ca²⁺와 Mg²⁺은 인산의 함량이 증가할수록 흡수가 증가하였다 (Figure 2B). 또한 Mn²⁺, Cu²⁺ 그리고 Zn²⁺는 MS 기본배지에 첨가되는 농도에서 가장 높은 흡수를 나타내었다. 그러나 Fe²⁺는 MS배지에 첨가되는 농도보다 2배 높은 2.50 mM에서 최대 흡수를 나타내었다 (Figure 2C, D). 이러한 결과는 인산이 Zn²⁺와 Cu²⁺의 흡수를 지연시킨다는 보고 (Shuman 1994)와 일치하는 것이다. 식물체의 물질대사과정에서 2차 대사산물의 생산과 생장에 요구되는 영양분의 종류와 농도가 서로 다르기 때문에 세포배양에서는 생장을 증가시키는 배지조성과 2차 대사산물의 함량을 증가시키기 위한 배지조성을 다르게 하는 다단계 배양방법이 수행되기도 한다. 산지 포장에서는 이러한 영양분의 조절이 배양배지에서보다 어려워 추가로 인산질 비료의 사용량을 증가시키면 인삼뿌리의 생산량이 증가 (Kim 1977)된다는 보고와도 일치하는 것이다.

NH₄⁺/NO₃⁻에 따른 인삼모상근의 무기이온 흡수와 생장

배양 세포의 질소원으로 사용되는 ammonium과 nitrate의 농도 변화에 따른 인삼모상근의 생장은 질소원의 형태에 따라 매우 큰 차이를 나타냈다. Ammonium 질소의 경우는 농도가 증가할수록 모상근 생장이 현저히 감소하여 MS 기본배지에 첨가되는 농도인 20.6 mM보다 현저히 낮은 농도인 5.15 mM이 첨가된 배지에서 1.44배 높은 생장을 나타내었다 (Figure 3A). 또한, nitrate 질소의 경우는 MS 기본배지에 첨가되는 농도인 18.8 mM을 기준으로 하여 낮은 4.7 mM에서 37.6 mM까지 생장에 유의차가 나타나지 않았다 (Figure 4A). 일반적으로 질소원으로 ammonium만을 사용한 경우 세포의 생장이 억제되는 원인 중의 하나는 배지의 pH 불균형과 빛의 세기 때문으로 알려져 있다. Ammonium은 배지의 pH를 낮추고 (Behrend and Mateles 1975; Martin et al. 1977), nitrate의 흡수를 억제하며 (Pare 1973), 수용성 암모니아에 의한 독성을 나타내기도 한다 (Wakiuchi et al. 1971; Bryne and Hasek 1979). 산지 포장에서도 토양중에 ammonium의

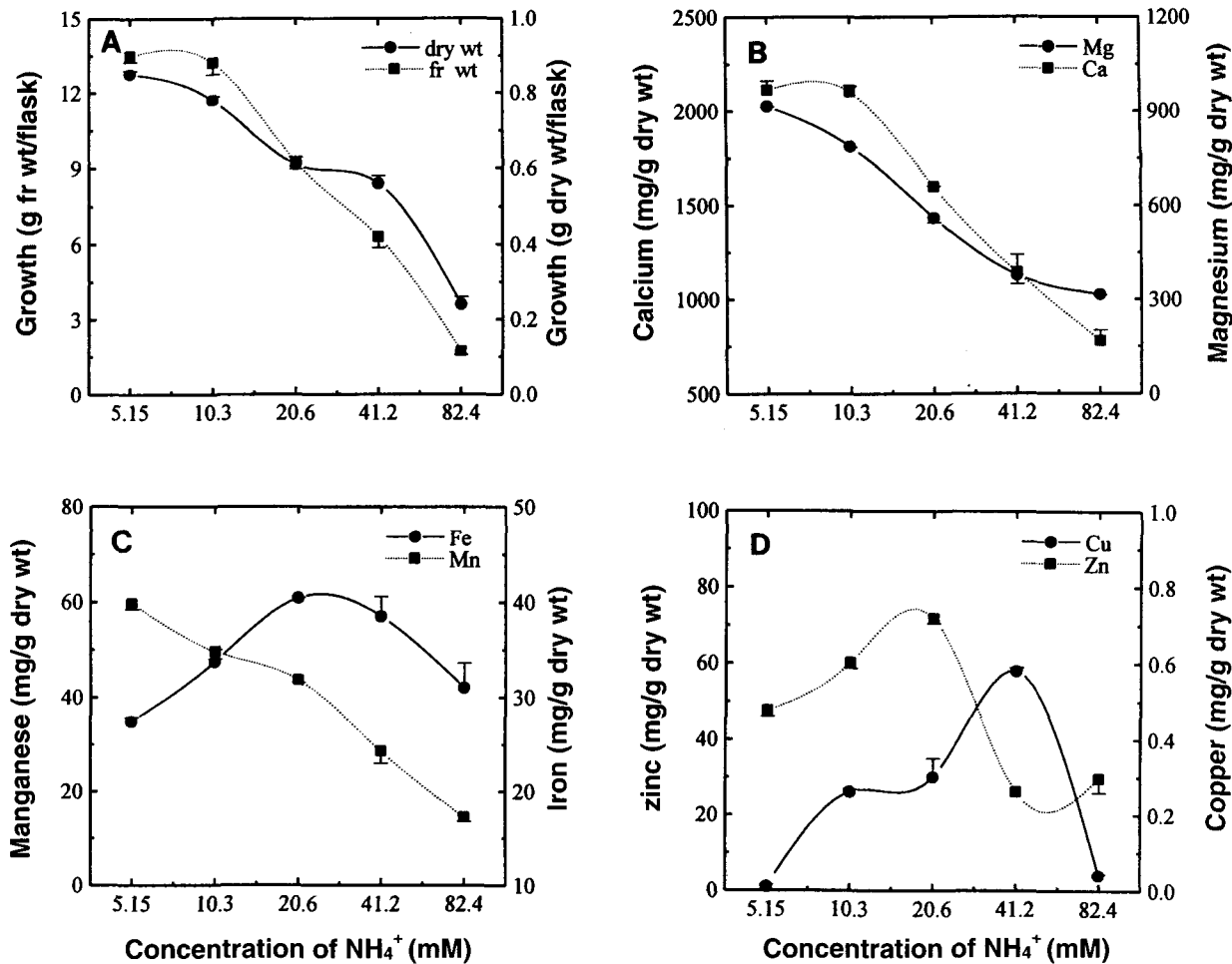


Figure 3. Influences of ammonium (NH₄⁺) on growth and accumulation of inorganic elements in hairy roots of *P. ginseng*. The data represents the mean ± SE of triplicates measured after 4 weeks of cultures. The initial inoculum was 10 hairy root tips (5 mg dry wt) per treatment.

농도가 높으면 인삼이 조기 낙엽되고 수량이 감소하며, 인삼의 결주율 및 생장이 억제된다 (Lee et al. 1998).

또한, 인삼모상근에서는 ammonium의 농도가 증가됨 (5.15 → 82.4 mM)에 따라 Ca²⁺, Mg²⁺ 그리고 Mn²⁺의 흡수가 현저히 감소하였다. Fe²⁺와 Zn²⁺의 흡수는 MS 기본배지에 첨가되는 NH₄⁺ 농도에서 가장 높았으며, Cu²⁺는 MS 기본배지보다 2배 높은 37.6 mM NH₄⁺에서 가장 높은 흡수를 나타내었다 (Figure 3B, C, D). 이러한 결과는 ammonium의 농도가 높아져 pH가 낮아지고 철이온의 mobilization이 증가되었기 때문으로 판단된다. 반면에, nitrate의 경우는 농도가 증가함 (4.7 → 75.2 mM)에 따라 Ca²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺의 흡수가 공히 감소하였으나 (Figure 4B, C, D), Fe²⁺흡수는 MS 기본배지의 농도보다 2배 높은 NO₃⁻ 농도 (37.6 mM)에서 가장 높았다 (Figure 4C). 이러한 이온흡수 양상의 차이는 질소 및 무기이온의 흡수과정에서 길항 또는 상승작용뿐만 아니라 탄수화물의 함량과 같은 내부요인과 온도, 산소, 근권의 pH와 같은 외부요인에 따라 흡수도가 변화 (Leidi et al. 1991)하였기 때문으로 판단된다.

인삼모상근의 유리당과 Ginsenoside의 함량

인삼의 농도가 5.00 mM까지 증가함에 따라 인삼모상근에서 측정된 모든 유리당의 함량이 증가하였다 (Table 1). 특히 glucose의 함량은 MS 기본배지에 첨가되는 농도보다 2배 높은 2.50 mM까지 현저한 증가를 나타내었다. 이러한 결과는 인삼이 고에너지 형태로 물질대사 과정에 관여할 뿐만 아니라 탄수화물 대사, sucrose translocation에도 관여하기 (Shuman 1994) 때문으로 생각된다. 이와는 반대로 ammonium과 nitrate의 경우에는 질소원의 농도가 증가할수록 arabinose를 제외한 fructose, galactose, glucose 그리고 sucrose의 함량은 감소하였다 (Table 1). 두 질소원에 따른 유리당의 함량은 arabinose를 제외하고 모두 감소하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 차이는 ginsenoside의 배당체에 결합된 당류가 추출과정에서 유리당으로 가수분해되지만 이들 유리당이 amino-carbonyl 반응에 관여하는 조건과 정도의 차이(Choi et al. 1981)에 따라 유리당의 종류와 함량에서 차이를 나타내는 것으로 판단된다.

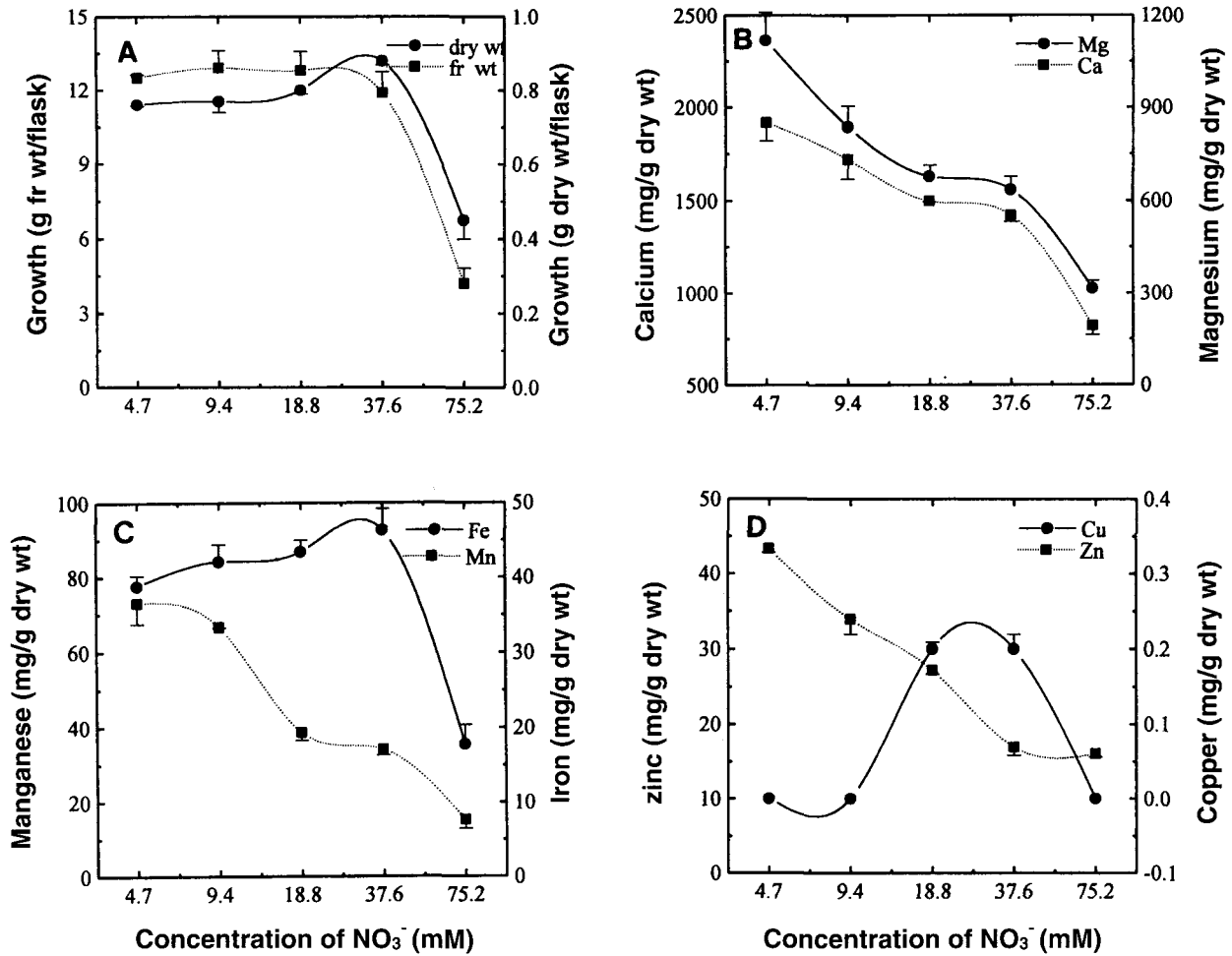


Figure 4. Influences of nitrate (NO_3^-) on growth and accumulation of inorganic elements in hairy roots of *P. ginseng*. The data represents the mean \pm SE of triplicates measured after 4 weeks of cultures. The initial inoculum was 10 hairy root tips (5 mg dry wt) per treatment.

Table 1. Influences of phosphorus and nitrogen sources on the free sugars contents in hairy roots (GhrA4) of *P. ginseng* C.A. Meyer.

Elements	mM	Free sugars contents (mg/g dry wt)				
		Arabinose	Fructose	Galactose	Glucose	Sucrose
PO_4^-	0.31	2.04 \pm 0.31	4.41 \pm 0.33	0.44 \pm 0.02	2.70 \pm 0.42	4.47 \pm 0.28
	0.62	3.06 \pm 0.21	8.41 \pm 0.31	0.80 \pm 0.07	5.18 \pm 0.83	5.11 \pm 0.27
	1.25	4.05 \pm 0.44	8.75 \pm 0.50	1.12 \pm 0.08	7.01 \pm 0.72	6.16 \pm 0.19
	2.50	5.23 \pm 0.06	7.97 \pm 0.63	2.29 \pm 0.34	8.87 \pm 0.62	6.80 \pm 0.46
	5.00	5.85 \pm 0.38	7.51 \pm 0.32	3.67 \pm 0.62	7.80 \pm 0.78	7.32 \pm 0.35
NH_4^+	5.15	1.81 \pm 0.10	6.97 \pm 0.09	2.91 \pm 0.08	9.12 \pm 0.15	9.08 \pm 0.14
	10.30	3.93 \pm 0.05	6.24 \pm 0.18	1.70 \pm 0.25	6.20 \pm 0.61	9.40 \pm 0.51
	20.60	3.74 \pm 0.12	5.07 \pm 0.09	1.61 \pm 0.37	4.63 \pm 0.21	6.11 \pm 0.16
	41.20	3.73 \pm 0.26	4.98 \pm 0.09	0.54 \pm 0.47	4.53 \pm 0.19	6.48 \pm 0.21
	82.40	3.57 \pm 0.21	3.83 \pm 0.32	1.61 \pm 0.13	2.78 \pm 0.09	5.87 \pm 0.08
NO_3^-	4.70	1.61 \pm 0.10	7.35 \pm 0.16	3.25 \pm 0.14	8.61 \pm 0.24	9.87 \pm 0.21
	9.40	3.94 \pm 0.14	6.45 \pm 0.32	2.15 \pm 0.20	6.56 \pm 0.26	9.45 \pm 0.33
	18.80	6.29 \pm 0.14	5.64 \pm 0.18	0.03 \pm 0.00	5.58 \pm 0.17	8.97 \pm 0.48
	37.60	7.91 \pm 0.18	4.98 \pm 0.02	ND*	4.98 \pm 0.29	6.98 \pm 0.56
	75.20	7.25 \pm 0.64	3.99 \pm 0.32	ND	2.87 \pm 0.17	0.28 \pm 0.45

The data represents the mean \pm SE of triplicates measured after 4 weeks of cultures. The initial inoculum was 10 hairy root tips (5 mg dry wt) per treatment. * ND : Not detection.

한편, Ginsenoside 함량은 인삼모상근의 생장 양상과 다르게 인산의 농도가 가장 낮은 처리구 (0.31 mM)에서 가장 높게 나타났다 (Table 2). 또한 ginsenosides 함량을 증가시키기 위해 일반적으로 사용하는 1/2 MS 배지와 MS 배지 사이에서는 큰 유의차를 나타내지 않았다. Ammonium 및 nitrate의 경우에도 가장 낮은 농도 (NH_4^+ ; 5.15 mM, NO_3^- ; 4.7 mM)에서 가장 높은 ginsenoside 함량을 나타내었다 (Table 3, 4). 인산과 질소원 모두 panaxatriol (PT)계보다는 panaxadiol (PD)의 생합성에 더 효과적이었다. 특히, 항암제로 개발 가능성이 보고 (Choi 1991; Hideo et al. 1998)되어 있는 Rb_2 와 Rc 의 경우에는 인산의 농도가 1/2 MS 배지에 첨가되는 농도

보다 낮은 0.31 mM에서 44.7%와 29.9%의 증가를 나타냈다. 또한, ammonium은 1/2 MS보다 낮은 5.15 mM에서 21.7%와 31.9% 그리고 nitrate도 가장 낮은 4.7 mM에서 17.6%와 25.5%로 생산성 증가를 나타냈다. Vezina와 Longlosis (1989)는 완두 seedling에서 nitrate 사용시 nitrate reductase와 glutamine synthetase의 활성은 증가하는 반면 ammonium은 증가를 나타내지 않았다고 하였다. 이러한 결과는 ammonium을 이용하는 glutamine synthetase는 낮은 농도에서 ammonia 합성 대사에 관여하고 고농도에서는 활성이 떨어지기 때문이라 하였다. 인삼모상근의 경우 ammonium의 농도가 증가할수록 생장은 감소하였으며, ginsenoside 함량에

Table 2. Effects of phosphorus (PO_4^-) on the ginsenoside contents in hairy roots (GhrA4) of *P. ginseng* C.A. Meyer.

PO_4^- (mM)	Ginsenoside contents (mg/g dry wt)								PT/PD	Total
	PT			PD						
	Rg_1	Re	Sum	Rc	Rb_2	Rb_1	Sum			
0.31	2.84 ± 0.04	3.64 ± 0.05	6.48	1.00 ± 0.02	0.68 ± 0.01	1.64 ± 0.08	3.32	1.05	9.80	
0.62	1.70 ± 0.02	2.51 ± 0.15	4.21	0.77 ± 0.04	0.47 ± 0.01	0.81 ± 0.03	2.04	0.06	6.25	
1.25	1.65 ± 0.01	2.36 ± 0.05	4.01	0.94 ± 0.07	0.51 ± 0.04	0.83 ± 0.04	2.28	1.76	6.28	
2.50	1.47 ± 0.04	2.27 ± 0.05	3.74	0.82 ± 0.04	0.43 ± 0.03	0.52 ± 0.02	1.77	2.11	5.51	
5.00	1.07 ± 0.01	1.56 ± 0.01	2.63	0.52 ± 0.03	0.33 ± 0.01	0.23 ± 0.02	1.08	2.44	3.71	

The data represents the mean ± SE of triplicates measured after 4 weeks of cultures. The initial inoculum was 10 hairy root tips (5 mg dry wt) per treatment. PT: panaxatriol, PD: panaxadiol.

Table 3. Effects of ammonium (NH_4^+) on the ginsenoside contents in hairy roots (GhrA4) of *P. ginseng* C.A. Meyer.

NH_4^+ (mM)	Ginsenoside contents (mg/g dry wt)								PT/PD	Total
	PT			PD						
	Rg_1	Re	Sum	Rc	Rb_2	Rb_1	Sum			
5.15	2.56 ± 0.03	3.66 ± 0.03	6.22	0.95 ± 0.06	0.73 ± 0.03	1.56 ± 0.08	3.24	1.92	9.46	
10.3	1.34 ± 0.14	3.12 ± 0.17	4.46	0.72 ± 0.04	0.60 ± 0.01	1.09 ± 0.10	2.41	1.85	6.87	
20.6	3.12 ± 0.07	4.00 ± 0.12	7.12	0.72 ± 0.03	0.61 ± 0.02	1.04 ± 0.04	2.37	3.00	9.49	
41.2	2.19 ± 0.10	3.54 ± 0.09	5.73	0.58 ± 0.01	0.55 ± 0.01	0.97 ± 0.03	2.10	2.73	7.83	
82.4	0.75 ± 0.06	2.34 ± 0.06	3.09	0.32 ± 0.03	0.39 ± 0.02	0.50 ± 0.02	1.21	2.55	4.30	

The data represents the mean ± SE of triplicates measured after 4 weeks of cultures. The initial inoculum was 10 hairy root tips (5 mg dry wt) per treatment. PT: panaxatriol, PD: panaxadiol.

Table 4. Effects of nitrate (NO_3^-) on the ginsenoside contents in hairy roots (GhrA4) of *P. ginseng* C.A. Meyer.

NO_3^- (mM)	Ginsenoside contents (mg/g dry wt)								PT/PD	Total
	PT			PD						
	Rg_1	Re	Sum	Rc	Rb_2	Rb_1	Sum			
4.7	2.73 ± 0.09	3.64 ± 0.11	6.37	0.69 ± 0.04	0.60 ± 0.02	1.13 ± 0.06	2.42	2.63	8.79	
9.4	2.16 ± 0.11	3.04 ± 0.02	5.20	0.55 ± 0.01	0.51 ± 0.03	0.86 ± 0.03	1.92	2.71	7.12	
18.8	1.93 ± 0.07	2.92 ± 0.03	4.85	0.46 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.76 ± 0.03	1.66	2.92	6.51	
37.6	1.62 ± 0.04	2.79 ± 0.08	4.41	0.56 ± 0.01	0.51 ± 0.02	0.90 ± 0.02	1.97	2.24	6.38	
75.2	0.71 ± 0.05	1.74 ± 0.12	2.45	0.25 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.96	2.55	3.41	

The data represents the mean ± SE of triplicates measured after 4 weeks of cultures. The initial inoculum was 10 hairy root tips (5 mg dry wt) per treatment. PT: panaxatriol, PD: panaxadiol.

서는 41.20 mM까지는 큰 유의차가 없었다. 이러한 결과는 ammonia에 의한 세포 독성 및 물질대사 효소의 활성 감소로 판단된다. 또한 식물세포 배양에서 생장과 2차 대사산물의 함량은 부의상관계가 있다는 보고 (Yang et al. 1997b)와도 일치하는 것이다. 이러한 결과로 미루어 볼 때, 인삼모상근의 생장과 ginsenosides 생산을 촉진하기 위해서는 인산과 질소원의 조화로운 농도 조절이 중요하다. 또한, 특정 ginsenoside의 생산에 의한 제품개발은 배지의 무기이온 조성에 의해 생산을 증가시킬 것으로서 촉진될 수 있음이 확인되었다.

적 요

인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 뿌리로부터 유도한 인삼모상근을 이용한 무기이온 흡수과정의 상승 및 길항작용에서 phosphorus (PO₄⁻)와 nitrogen source (NH₄⁺, NO₃⁻)의 증가는 조직 내에 Mg²⁺ 및 Fe²⁺의 흡수를 증가시키는 원인으로 확인되었다. 특히, ammonium의 농도를 4배 높일 경우 Fe²⁺의 흡수는 13 mg/L, Cu²⁺의 흡수는 0.32 mg/L이 증가하여 각각 47.5%와 123.1%로 현저한 이온흡수의 상승효과를 초래하였다. 이러한 결과는 인삼포장에서 인산과 질소원의 과도한 시비는 생장을 다소 증가시키고 뿌리의 철이온과 2가 무기이온 흡수도 증가시킬 수 있다. 유리당의 함량은 유리당의 종류에 따라 인산과 질소원의 최적 농도가 다르게 나타났다. 반면에 ginsenoside 함량은 인산과 질소원 모두 가장 낮은 농도에서 가장 높았다. 인산의 경우에는 1/2 MS 배지의 농도 (0.62 mM)보다 낮은 0.31 mM에서 Rb₂는 44.7%, Rc는 29.9%가 높았다. Ammonium은 1/2 MS 배지 (10.30 mM)보다 낮은 5.15 mM에서 Rb₂와 Rc를 각각 21.7%와 31.9% 그리고 nitrate 역시 1/2 MS 배지 (9.4 mM)보다 낮은 4.70 mM에서 각각 17.6%와 25.5%의 뚜렷한 함량증가를 나타냈다. 질소원에 따른 ginsenoside 함량 증가에서는 NH₄⁺가 NO₃⁻보다 다소 효과적이었다. 따라서 인삼모상근의 ginsenoside 생산을 높이기 위해서는 인산과 질소원의 농도를 조절된 새로운 배지가 적합한 것으로 확인되었다.

인용문헌

- Behrend J, Mateles IR (1975) Nitrogen metabolism in plant cell suspension cultures. *Plant Physiol* **56**:584-589
- Bryne TG, Hasek RF (1979) Poinettia leaf injury associated with NH₄⁺ fertilization and low soil pH. *Flor Rev* **165**:65-68
- Choi JH, Jang JG, Park KD, Park MH, Oh SK (1981) High performance liquid chromatographic determination of free sugars in ginseng and its products. *Kor J Food Sci Technol* **13**(2):107-113
- Choi KJ (1991) The constituent of material ginseng and management of quality. *Korean J Ginseng Sci* **15**(3):247-256
- Granicher F, Christen P, Kapetanidis I (1992) High-yield production of valepotriates by hairy root cultures of *Valeriana officinalis* L. var. *Sambucifolia* Mikan. *Plant Cell Rep* **11**:339-342
- Huo Y, Zhao L, Utsuyama M, Hirokawa K (1998) Effects of ginseng saponin on the immunity of young and old mice. *Proceeding of the 7th International Symposium on Ginseng, The Korean Society of Ginseng*, pp.281-288
- Hideo H, Seong JH, Yasatosi M, Masamori W, Hur JD (1998) Metabolites of ginseng saponin by enterobacteria and anticancer substance include it's useful constituent. *Korea Patent No.* 10-164266-0000
- Joo CN (1990) Some physiological and biochemical aspects of saponin fraction of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Korean J Ginseng Sci* **14**(2):143-156
- Kim JH (1977) On the budget of mineral nutrients of ginseng plant. *Kor J Ginseng Sci* **2**(1):59-66
- Kim YW (1998) Glucocorticoid receptor-induced down-regulation of metallo proteinase-9 (MMP-9) by ginseng components, panaxdiol (PD) and panaxatriol (PT), contributes to inhibition of the invasive capacity of HT1080 human fibrosarcoma cells. *Proceeding of the 7th International Symposium on Ginseng, The Korean Society of Ginseng*, pp 224-230
- Kim YC, Kim SR, Markelonis GJ, Oh TH (1998) Ginsenosides Rb₁ and Rg₃ attenuate glutamate-induced neurotoxicity in primary cultures of rat corical cells. *Proceeding of the 7th International Symposium on Ginseng, The Korean Society of Ginseng*, pp 47-56
- Leidi EO, Silberbush M, Lips SH (1991) Wheat growth as affected by nitrogen type, pH and salinity. I. Biomass production and mineral composition. *J Plant Nutr* **14**:235-246
- Lee JC, Ahn DJ, Byen JS, Jo JS (1998) Relationships between growth characteristics as well as mineral contents of ginseng seedlings and yield of ginseng roots. *J Ginseng Res* **22**(4):294-298
- Martin SM, Rose D, Hul V (1977) Growth of plant cell suspension cultures with ammonium as the sole source of nitrogen. *Can J Bot* **55**:2838-2843
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**:473-479
- Pare JS (1973) Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. *Soil Biol Biochem* **5**:109-119
- Shuman LM (1994) Mineral nutrition. In : Wilkinson RE, (ed), *Plant-Environment Interaction*. Marcel Dekker Inc., New York, pp 149-182
- Vezina LP and Longlosis JR (1989) Tissue and cellular distribution of glutamine synthetase in root of pea (*Pisum sativum*) seedlings. *Plant Physiol* **90**:1129-1133

- Wakiuchi N, Matsumoto H, Takahashi E** (1971) Changes of some enzyme activities of cucumber during ammonium toxicity. *Plant Physiol* **24**:248-253
- Yamamoto H, Kutano M, Matsunaga H** (1990) Anti-tumor substance from *Panax ginseng* roots. *Korean J Ginseng Sci* **14**(2):244-252
- Yang DC, Lee SJ, Yun KY, Kang YH** (1993) Suspension culture of betalain producing cell-line and characteristics of hairy root of *Phytolacca esculenta* V. Houtte. *Korean J Biotechnol Bioeng* **8**(1):89-94
- Yang DC, Choi HY, Kim YH, Yun KY, Yang DC** (1996) Growth and ginsenosides production of hairy root (*Panax ginseng* C.A. Meyer) via light energy. *Korean J Ginseng Sci* **20**(3): 318-324
- Yang DC, Kim YH, Yun KY, Lee SS, Kwon JN, Kang HM** (1997a) Red-colored phenomena of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) root and soil environment. *Kor J Ginseng Sci* **21**(2):91-97
- Yang DC, Kang HM, Lee KS, Kim YH, Yang DC** (1997b) Growth and tropane alkaloid production of hairy roots of *Datura stramonium* var. *tatula* Torr. transformed by *Agrobacterium* spp. *Kor J Plant Tiss Cult* **24**(3): 137-142
- Yang DC, Yun KY, Kim YH and Yang DC** (2000) Physiological responses of hairy roots of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) to iron status and pH change. *Kor J Plant Tiss Cult* **27**(1):31-37
- Zhang J, Li J** (1998) Ginsenoside Rg₁ is an anti-apoptotic agent. *Proceeding of the 7th International Symposium on Ginseng*, The Korean Society of Ginseng, pp 12-20

(접수일자 2000년 10월 16일)