

자리공(*Phytolacca esculenta* van Houtte) 모상근배양에서 항산화효소의 활성에 미치는 광의 영향

양덕조* · 김용해 · 권진이 · 최철희¹ · 양덕춘²

충북대학교 자연과학대학 생물학과, ¹두산기술원, ²한국인삼연초연구원

Effects of Light on Activities of Antioxidative Enzymes in Hairy Root Cultures of *Phytolacca esculenta* van Houtte

Deok Cho YANG*, Yong Hae KIM, Ji Ni KWON, Chul Hi CHOI¹, and Deok Choon YANG²

Department of Biology, College of Natural Science, Chungbuk National

University, Cheongju, 350-763; ¹Doosan Technical Center, Yongin, 449-840; and

²Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejeon, 305-345. *Corresponding author.

The effects of light on the activities of several antioxidative enzymes, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), ascorbate oxidase (AO), and peroxidase (POD) were examined in the hairy root cultures of *Phytolacca esculenta* van Houtte induced by *Agrobacterium tumefaciens* A4T. Activities of CAT, SOD, and AO were significantly decreased with increasing light intensity (500-2,000 lx). The activity of AO under high light condition (2,000 lx) was decreased by 92% compared to the dark condition. The activities of glutathione peroxidase (GPO), ascorbate peroxidase (APO) and general POD were increased under lower light intensity below 500 lx. The activity of GPO under 2,000 lx was decreased by 85% compared to the dark condition. The activities of antioxidative enzymes were more decreased in blue light (400-500nm). The activities of antioxidative enzymes in blue light intensity were increased in lower light intensity below 30 lx, but decreased 21-70% under 200 lx. The activity of AO was decreased by 70% under 200 lx with increasing blue light intensity. Our results suggest that the activities of antioxidative enzymes in hairy roots might be inhibited by endogenous oxidants generated under the high blue light conditions.

Key words: betalain, blue light, catalase, peroxidase, superoxide dismutase.

자리공(*Phytolacca esculenta* van Houtte)에서 합성되는 betalain은 중심자목(Centrospermae)에서만 생성되는 천연색소로서 합성색소에 비하여 안정성이 낮기 때문에 열처리 약한 식품과 음료의 색소원으로 사용된다(Hwang et al., 1993). 세포배양을 통한 betalain 생산 연구는 자리공, *Beta vulgaris* 등에서 활발히 이루어지고 있다(Fugita et al., 1987; Taya et al., 1992; Yang et al., 1993a; Hwang et al., 1993). 자리공 betalain 합성은 광이 절대적으로 요구되며, 특히 청색파장이 가장 효과적인 파장으로 알려져 있다(Yang et al., 1993b, c). 그러나 광상태에서 모상근은 많은 양의 유해산소가 생성되어 모상근의 성장과 betalain 합성에도 영향을 준다(Yang et al., 미발표). 식물은 급격한 온도 및 수분의 변

화, 강한 광, 오존노출, 과도한 sulfur dioxide와 같은 불량 환경조건에서 singlet oxygen (1O_2), superoxide anion radical ($\cdot O_2^-$), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radicals ($\cdot OH$), hydroxyl anion (OH^-)과 같은 유해산소가 과도하게 생성되고 있음이 알려져 있다(Scandalios, 1993). 이들 유해산소는 지방, 지방산, 아미노산, 단백질, 색소, 핵산 등에 손상을 주어 결국 membrane damage, 세포 소기관의 기능 손상, 대사효율의 감소, electrolyte leakage, mutation을 유발한다(Scandalios, 1993).

호기성 생물은 정상적인 대사 활동이나 외부 환경 스트레스에 의해 생성되는 유해산소의 중간대사 산물을 효율적으로 제거하며, 산화제로부터 자신을 보호할 수 있는

glutathione (GSH), cysteine, hydroquinone, mannitol, vitamin C와 vitamin E, flavonoids, β -carotene (Ames, 1983; Larson, 1988) 등과 같은 항산화제성 물질을 생성한다. 그리고 peroxidase (POD), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GR), ascorbate free radical reductase (AFR), ascorbate peroxidase (APO) 등과 같은 항산화적 방어기작을 가지고 있다. 항산화적 방어기작은 강한 광도로부터 유도된 free radicals에 대한 첫번째 방어기작이며, secondary antioxidant defense system은 DNA-repair system 뿐만 아니라 proteolysis와 lipolysis에 관여하는 효소계를 포함한다(Enrique, 1989). 본 연구는 강한 광에 의해 자리공 모상근의 성장이 억제되는 원인이 과다하게 생성되는 유해산소에 의한 것으로 생각되어 광처리에 따른 항산화효소의 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

식물 재료

자리공(*Phytolacca esculenta* van Houtte) 모상근은 *Agrobacterium rhizogenes* A4 균주의 pRiA4 plasmid를 *A. tumefaciens* C58 균주에 삽입한 *A. tumefaciens* A4T (Noda et al., 1987; Tanaka et al., 1985)를 접종하여 유기된 모상근 S₈ 세포주(Yang et al., 1993a)를 사용하였으며, 모상근은 SH (Schenk & Hilderbrandt, 1972) 배지에서 25°C, 암상태로 진탕배양(100 rpm)하였다. 실험에서는 계대배양 후, 7-8일이 경과하여 새로 나온 모상근의 선단부위를 1.5 cm로 균일하게 잘라 사용하였다. 모상근을 SH 액체배지에 옮기는 과정은 흐린 녹색광(dim green light)하에서 수행하였다.

모상근의 성장률과 betalain 함량

모상근의 성장률은 SH 기본배지 50 mL을 함유한 125 mL flask에 모상근의 선단(1.5 cm) 20개씩 접종하여 광상태(1,800 lx)와 암상태로 구분하여 25일간 배양한 후 모상근의 건조중량으로 측정하였다. Betalain 함량을 측정하기 위하여 모상근의 선단(1.5 cm) 20개를 85% acetone 4 mL로 마쇄하였다. 이를 4°C에서 12시간 방치한 후, 5,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 얻은 상등액을 분광계(Hitachi U-3400, Japan)을 이용하여 537.3 nm에서 흡광도를 측정하였다.

광처리 조건

백색광의 광도는 형광등, 수은등, 나트륨등을 조합하여 투

명 cellophane의 두께로 조절하였다. 사용한 filter는 blue (400-500 nm, XGB-400T filter: Giriffin Co., England + blue cellophane), Green (500-600 nm, R1SR-60 filter: Kenko, Japan) 그리고 Red (600-700 nm, IF550 filter: Olympus, Japan)이며 filter를 투과한 광도가 200 lx가 되게 조절하였으며, 청색파장의 광도는 blue cellophane의 두께로 조절하였다.

항산화효소의 추출

자리공 모상근 생체중 0.5 g을 5 mL 0.1 M K-phosphate buffer (pH 7.0)로 마쇄한 다음 3,500 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 mL당 0.2 mg 단백질 농도가 되도록 조절하여 POD, CAT, SOD의 조효소용액으로 사용하였다. 단백질 함량은 Lowry (1951) 방법으로 측정하였다. GR, GPO, AFR, APO, AO의 활성은 10 mM MgCl₂, 0.05% cystein이 포함된 5 mL 50 mM tricine-NaOH buffer (pH 7.8)로 추출한 다음 3,500 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 mL당 0.2 mg 단백질 농도가 되도록 조절하여 조효소 용액으로 사용하였다.

POD (EC 1.11.1.7)의 활성

Chance와 Maehly (1965)의 방법에 준하여 0.1 M K-phosphate buffer (pH 7.0), 0.311% guaiacol (v/v)과 조효소 용액이 포함된 반응액에 0.036% H₂O₂ (v/v)를 첨가하여 471.4 nm에서 흡광도 변화를 thermoelectric cell holder (25°C)가 장착된 분광계(Hitachi U-3400, Japan)로 측정하였다. POD의 1 unit는 1 mg 단백질(조효소)이 1분동안 guaiacol을 환원시킨 것을 471.4 nm에서 측정한 흡광도 변화($\Delta A_{471.4}/\text{mg protein}/\text{min}$)와 같다.

CAT (EC 1.11.1.6)의 활성

CAT 활성은 Lueck (1965)의 방법에 준하여 50 mM K-phosphate buffer (pH 7.0)와 조효소용액이 포함된 반응액에 1.25 10^{-2} M H₂O₂ (v/v)를 첨가하여 240 nm에서 흡광도를 측정하였다. CAT의 1 unit는 1 mg 단백질(조효소)이 1분동안 H₂O₂을 분해시킨 것을 240 nm에서 측정한 흡광도 변화($\Delta A_{240}/\text{mg protein}/\text{min}$)와 같다.

SOD (EC 1.15.1.1)의 활성

SOD 활성은 Yang 등(1987)의 방법에 준하여 0.1 M K-phosphate buffer (pH 7.0), 8.56×10^{-5} M NBT, 1.86×10^{-4} M riboflavin 그리고 조효소용액이 포함된 반응액에 6.25 \times

10^{-2} M TEMED를 첨가한 후 5,000 lx의 광을 조사하면서 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD의 1 unit는 1 mg 단백질(조효소)이 1분동안 NBT 환원에 대한 억제율을 측정할 570 nm에서의 흡광도 변화($\Delta A_{570}/\text{mg protein}/\text{min}$)와 같다.

GR (EC 1.6.4.2)의 활성

Halliwell과 Foyer 등(1978)의 방법에 준하여 0.1 M tricine buffer (pH 7.8), 15 mM EDTA, 2.18 mM oxidized glutathione과 조효소용액이 포함된 반응액에 0.16 mM NADPH 첨가한 다음 340 nm에서 NADPH의 산화율을 측정하였다. GR의 1 unit는 1 mg 단백질(조효소)이 1분동안 산화된 NADPH량(mM NADPH/mg protein/min)과 같다.

GPO (EC 1.11.1.9)의 활성

GPO의 활성은 GR와의 coupling을 이용한 Paglia와 Valentine (1967)의 방법에 준하여 수행하였다. 0.1 M tricine buffer (pH 7.8), 0.15 mM NADPH, 1.5 U glutathione reductase, 0.25 mM reduced glutathione과 조효소용액이 포함된 반응액에 0.5 mM H_2O_2 를 첨가한 다음 340 nm에서 NADPH의 산화율을 측정하였다. GPO의 1 unit는 1 mg 단백질(조효소)이 1분동안 산화된 NADPH량(mM NADPH/mg protein/min)과 같다.

AFR (EC 1.6.5.4)의 활성

Arrigoni 등 (1981)의 방법에 따라 0.1 M tricine buffer (pH 7.8), 1 mM ascorbate, 0.5 U ascorbate oxidase와 조효소용액에 0.1 mM NADH를 첨가한 다음 340 nm에서 NADH의 산화율을 측정하였다. AFR 1 unit는 1 mg 단백질(조효소)이 1분동안 산화된 NADH량(mM NADH/mg protein/min)과 같다.

APO (EC 1.11.1.11)의 활성

Dalton 등(1987)의 방법에 준하여 0.1 M tricine buffer (pH 7.8), 0.1 mM ascorbate와 조효소용액이 포함된 반응액에 0.5 mM H_2O_2 를 첨가하여 265 nm에서 ascorbate의 산화율을 측정하였다. APO의 1 unit는 1 mg 단백질(조효소)이 1분동안 산화된 ascorbate량(oxidized ascorbate/mg protein/min)과 같다.

AO (EC 1.10.3.3)의 활성

1 mL의 조효소용액과 동량의 0.1 M phosphate buffer (pH 5.6)를 잘 섞은 후 5,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 mL당 0.2 mg 단백질 농도가 되도록 조절하여 Bergmeyer 등(1983)의 방법에 따라 265 nm에서 ascorbate의 산화율로 측정하였다. 반응액은 10 mM phosphate buffer (pH 5.6)와 1 mM ascorbate, 그리고 효소 용액을 혼합하여 5분간 반응시킨 후 1.5 ml 0.4 N HCl을 첨가하여 반응을 정지시킨 다음 265 nm에서 ascorbate의 산화율을 측정하였다. AO의 1 unit는 1 mg 단백질(조효소)이 1분동안 산화된 ascorbate량(oxidized ascorbate/mg protein/min)과 같다.

결과 및 고찰

백색광의 광도에 따른 자리공 모상근의 생장률은 암상태에서 flask당 건조중량 0.737 g 보다 1,500 lx에서 0.139 g으로 5.2배, 2,000 lx에서 10배 정도 감소한 반면, betalain 합성은 광도가 증가할수록 직선적으로 증가하였다(Fig. 1). 백색광에 따른 일반적 POD의 활성(471.4 nm에서의 OD값의 변화)은 암상태의 6.127에서 1,000 lx까지 증가하다가 1,500 lx부터는 감소하기 시작하여, 2,000 lx에서 4.910으로 암상태보다 20% 감소하였다(Fig. 2).

CAT활성은 광도가 증가할수록 감소하는 경향이었는데, 암상태보다 2,000 lx에서 43% 감소하였다. SOD 활성 역시

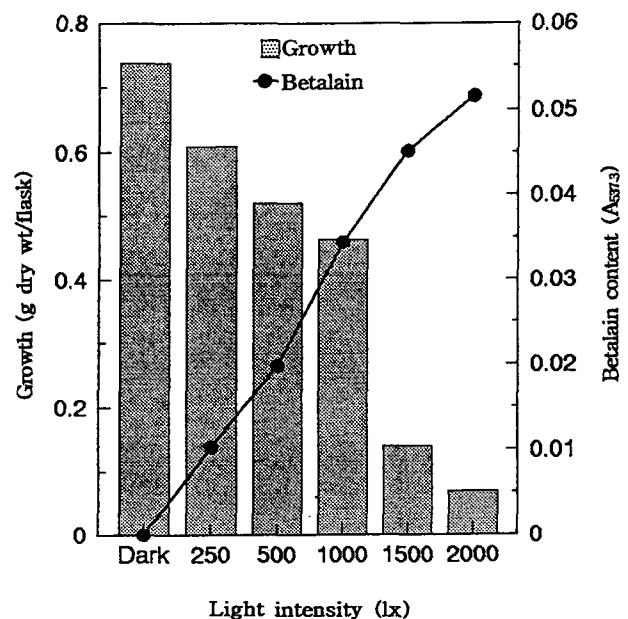


Figure 1. Effects of light intensity on growth and betalain production in hairy root cultures of *Phytolacca esculenta* van Houtte. The data was measured at 25 days after subculture and the initial inoculum was 20 hairy root tips (tip size: 1.5 cm).

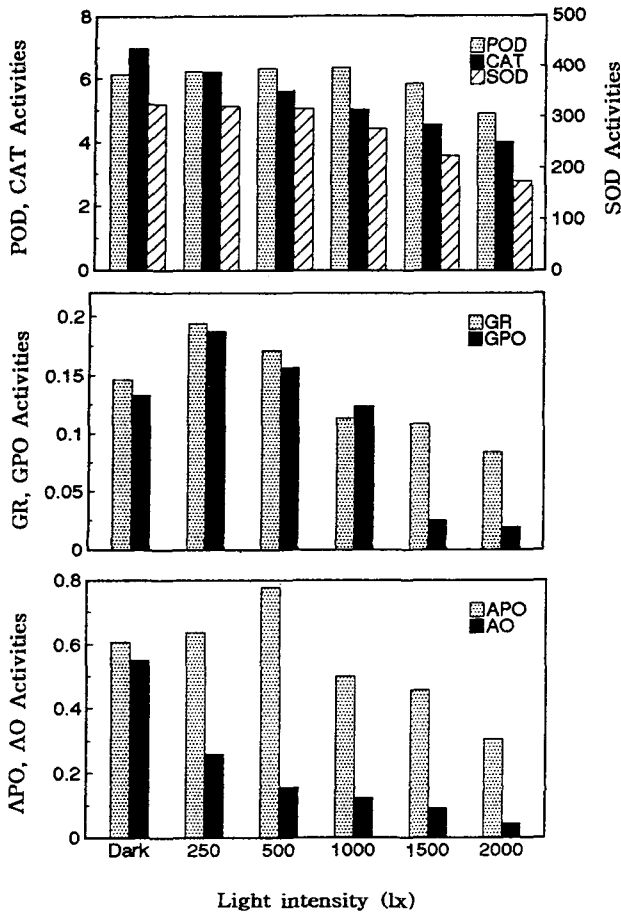


Figure 2. Effects of light intensity on activities of antioxidative enzymes in hairy root cultures of *Phytolacca esculenta* van Houtte.

광도가 증가할수록 감소하는 경향으로 암상태 보다 2,000 lx 에서 46%나 감소하였다(Fig. 2).

GR의 활성은 암상태에서 250 lx까지는 32% 증가하다가 그 이상 광도가 증가하면 활성이 점차 감소하여 2,000 lx에서는 42% 감소하였다. GPO 역시 GR활성과 비슷한 경향을 나타내었는데, 암상태에서는 250 lx까지 증가하다가 1,500 lx부터는 급격히 감소하여 2,000 lx에서는 85% 감소하였다 (Fig. 2). APO활성은 암상태에서 500 lx까지는 증가하다가 1,000 lx 이후에는 감소하기 시작하여 2,000 lx에서 50% 감소하였다. AO활성은 암상태에서 광도가 증가할수록 급격히 감소하는 경향을 나타내어 2,000 lx에서는 92% 감소하였다 (Fig 2). 위의 결과에서 CAT, SOD, AO의 활성은 광도가 증가할수록 감소하는 반면 다른 효소들은 낮은 광도하에서는 활성도가 증가하다가 높은 광도에서는 활성도가 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 강광에 의해 생성된 유해산소는 항산화효소의 활성을 억제시켜, 모상근에서 생성된 유해산소가 효율적으로 제거되지 못하고 있음을 제시하는 결과로 생각된다.

백색광의 높은 광도하에서는 생장률이 억제되고 betalain

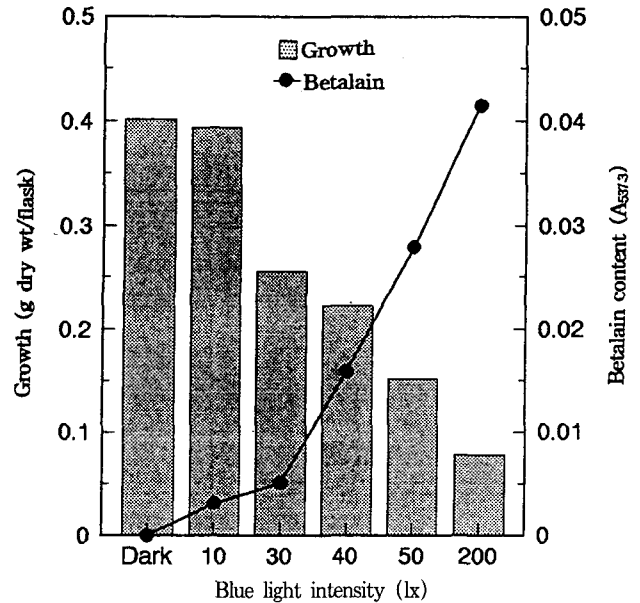


Figure 3. Effects of blue light intensity on growth and betalain production in hairy root cultures of *Phytolacca esculenta* van Houtte. The data was measured at 25 days after subculture and the initial inoculum was 20 hairy root tips (tip size: 1.5 cm).

합성이 촉진된다는 Yang 등(1993a)의 결과와 마찬가지로 자리공 모상근의 생장은 녹색과 적색 파장에서는 암상태보다 억제율이 적은 반면 청색 파장에서는 대조구보다 48%나 감소되었다. 반면 betalain 합성은 청색 파장에서 가장 높았다 (Fig 3). 이는 모상근의 조직세포에 청색광을 수용하여 색소 형성을 유도하는 신호전달 체계가 존재하고 있음을 시사해 주고 있으나 이와 관련된 연구는 추후 수행되어야 하겠다.

광파장에 따른 항산화효소의 활성을 조사하였던 바, POD는 암상태에 비해 녹색 파장에서 1.1%, 적색 파장에서 9.9%, 청색 파장에서 20.1% 감소하여 청색 파장에서 가장 낮은 효소 활성도를 나타내었다. CAT, SOD 역시 청색 파장에서 다른 처리구보다 낮은 효소 활성도를 나타내었으며, 각각 20%, 33% 억제되었다. AFR의 활성은 암상태보다 청색광에서 85% 감소하였다. APO, AO 역시 청색 파장에서는 각각 18%, 24%로 감소되었다(Table 1). 위의 결과를 미루어 보아 청색 파장에서는 다른 광파장보다 많은 산화제가 생성되며, 생성된 산화제를 효과적으로 제거하지 못하기 때문에, 모상근의 생장이 억제 되는 것으로 생각된다.

자리공 모상근의 항산화효소 활성이 청색 파장에서 가장 많이 저해되므로 청색 파장의 광도에 따른 항산화효소의 활성을 조사하였던 바, POD활성은 암상태보다 청색광 30 lx까지 활성도가 증가하다가 그 이후의 광도에서는 점차 감소되어 200 lx에서 암상태보다 21% 감소하였다(Fig. 4). CAT활성도 마찬가지로 10 lx까지는 증가하다가 그 이후의 광도에서는 감소하여 200 lx에서는 34% 감소하였으며, SOD

Table 1. Effects of light wavelength on growth, betalain production and antioxidative enzymes activities in hairy root cultures of *P. esculenta* van Houtte.

	Light wavelength			
	Dark	Green	Red	Blue
Growth (g dry wt/flask)	0.900 ± 0.014	0.846 ± 0.018	0.791 ± 0.013	0.431 ± 0.012
Betalain content (A _{471.4})	none	0.015 ± 0.022	0.021 ± 0.021	0.042 ± 0.019
POD activity (ΔA _{471.4} /mg protein/min)	6.575 ± 0.175	6.503 ± 0.562	5.926 ± 0.612	5.255 ± 0.665
CAT activity (ΔA ₂₄₀ /mg protein/min)	4.473 ± 0.097	3.546 ± 0.050	3.956 ± 0.019	2.992 ± 0.013
SOD activity (ΔA ₅₇₀ /mg protein/min)	326.6 ± 41.2	324.3 ± 11.5	276.3 ± 19.6	274.7 ± 28.0
AFR activity (mM NADH/mg protein/min)	0.094 ± 0.009	0.085 ± 0.005	0.100 ± 0.008	0.086 ± 0.006
APO activity (oxidized ascorbate/mg protein/min)	1.233 ± 0.045	1.176 ± 0.105	1.141 ± 0.037	1.008 ± 0.028
AO activity (oxidized ascorbate/mg protein/min)	0.441 ± 0.017	0.544 ± 0.022	0.399 ± 0.015	0.335 ± 0.080

는 30 lx까지 증가하다가 그 이후 광도에서는 점차 감소하였다. GR은 10 lx, GPO는 30 lx까지 효소활성이 증가하다가 높은 광도에서는 점차 감소하였는데, 이는 각각 25%, 65% 감소하는 경향이었다. AFR과 AO는 30 lx까지 효소활성이 증가하다가 그 이상의 광도에서는 점차적으로 감소하는 경향을 나타내었으며 APO는 9.5% 감소하였고 AO는 백색광에서와 마찬가지로 청색 광파장에서도 광도가 증가할수록 감소하여 200 lx에서는 70%까지 감소되었다(Fig. 4).

이상의 결과를 미루어 보아 자리공 모상근의 항산화효소들은 과도한 청색광하에서 억제될 뿐만 아니라, 특히 청색광에 의해 생성된 유해산소에 의하여 효소의 활성이 저해될 것으로 생각된다. 따라서 항산화효소의 활성을 증가시키는 방안과 강광하에서 유해산소의 생성을 저해하거나 또는 생성되는 유해산소를 효과적으로 제거할 수 있는 항산화제가 개발된다면 높은 광도에서도 모상근의 성장을 유지시키면서 betalain의 합성을 유도할 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

자리공 모상근에서 광처리에 따른 항산화효소의 활성을 조사하였다. Catalase, superoxide dismutase, ascorbate oxidase (AO)의 활성은 광도가 2,000 lx까지 증가할수록 감소하였으며, 특히 AO활성은 2,000 lx에서 암상태보다 92% 감소하였다. Glutathione reductase, glutathione peroxidase (GPO),

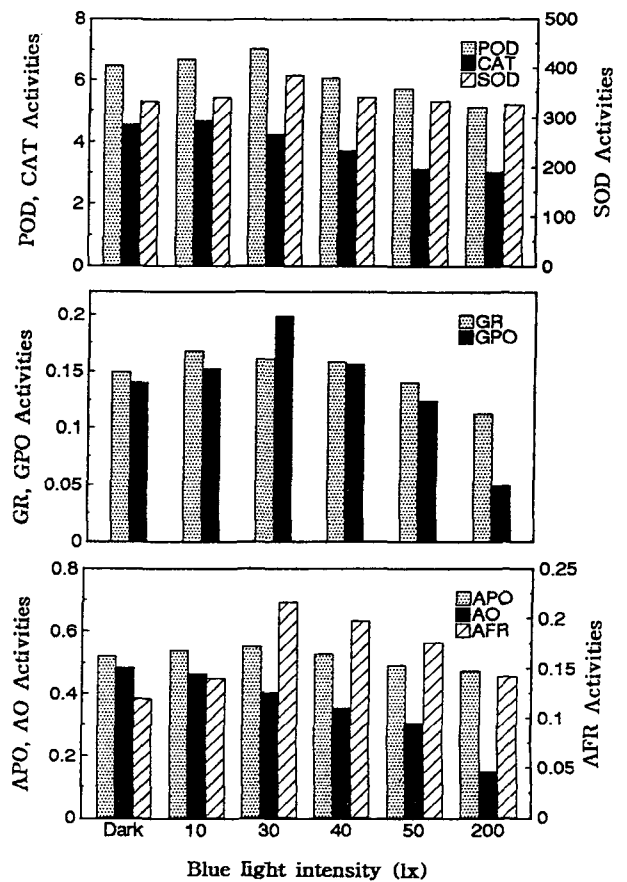


Figure 4. Effects of blue light intensity on activities of antioxidative enzymes in hairy root cultures of *Phytolacca esculenta* van Houtte.

ascorbate peroxidase 그리고 peroxidase의 활성도는 500 lx까지는 광도가 높아질수록 증가하였으나 그 이상의 높은 광도에서는 현저하게 감소하였다. GPO의 활성은 AO처럼 2,000 lx에서 암상태보다 85% 감소하였다. 광파장에 따른 항산화효소의 활성은 청색광의 파장에서 가장 많이 억제되었으며, AO의 활성은 25%까지 감소하였다. 청색광 파장의 광도에 따른 항산화효소의 활성도는 30 lx까지는 증가하다가 200 lx에서는 암상태보다 21-71%까지 감소하는 경향을 나타내었다. AO의 활성은 청색 파장의 광도(300-200 lx)가 증가할수록 급격히 감소하여 200 lx에서는 70%까지 억제되었다. 자리공 모상근의 항산화효소 활성은 청색광 파장의 높은 광도에서 주로 생성된 유해산소 의하여 억제되고 있음을 확인하였다. 광상태하에서 모상근의 성장과 betalain 합성을 향상시키기 위해서는 모상근에서 생성되는 산화제의 효율적인 제거가 요구됨이 시사되었다.

사 사-본 연구는 1994년도 한국과학재단 '94핵심전문연구과제(941-0500-028-2)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Ames B (1983) Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* **221**: 1256-1264
- Arrigoni O, Dipierro S, Borracno G (1981) Ascorbate free radical reductase, a key enzyme of the ascorbic acid system. *FEBS Letters* **125**: 242-244
- Bergmeyer HU, Graßl M (1983) Ascorbate oxidase. In Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Graßl M, eds, *Methods of enzymatic analysis*, Ed 3 Vol 2. Verlag Chemie, Weinheim, pp157-158
- Chance B, Maehly AC (1955) Assay of catalase and peroxidase. In Colowick SP, Kaplan NO, eds, *Method in enzymol*, vol 2. Academic press, New York, pp 764-788
- Dalton D (1987) Purification, properties, and distribution of ascorbate peroxidase in legume root nodules. *Plant physiology* **83**: 789-794
- Enrique C (1989) Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* **58**: 79-110
- Fugita Y, Hara Y, Morimoto T (1987) Production of shikonin derivatives by cell suspension cultures of *Lithospermum erythrorhizon*. V. Differences in the production between callus and suspension cultures. *Plant Cell Reports* **6**: 8-11
- Halliwell B, Foyer CH (1978) Properties and physiological function of a glutathione reductase purified from Spinach leaves by affinity chromatography. *Planta* **139**: 9-17
- Hwang B, Paek YW, Ahn JC, Jung BG, Kim SU (1993) Betalain production by hairy root cultures of red beet (*Beta vulgaris* L.). *Korean J Plant Tissue Culture* **20**: 159-165
- Larson RA (1988) The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* **27**: 969-978
- Lowry DH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 256-275
- Lueck H (1965) Catalase. In HU Bergmeyer, *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, New York, pp 885-894
- Noda T, Tanaka N, Mano Y, Nabeshima S, Ohkawa H, Mastui C (1987) Regeneration of horseradish hairy roots incited by *A. rhizogenes* infection. *Plant Cell Reports* **7**: 309-312
- Paglia DE, Valentine WN (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* **70**: 158-169
- Scandalios JG (1993) Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiology* **101**: 7-12
- Schenk RU, Hildebrandt AC (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can J Botany* **50**: 199-204
- Tanaka N, Hayakawa M, Mano Y, Ohkawa H, Matsui C (1985) Infection of turnip and radish storage roots with *A. rhizogenes*. *Plant Cell Reports* **4**: 74-77
- Taya M, Koji M, Masahiro KO, Setsuji T, Takahito I (1992) Production and release of pigments by culture of transformed hairy root of red beet. *J Fermentation and Bioengineering* **73**: 31-36
- Yang DC, Kim MS, Lee SJ (1987) The detection of superoxide dismutase and isozyme pattern of Panax ginseng C.A. Meyer leaves. *Korean J Ginseng Sci* **11**: 24-31
- Yang DC, Lee SJ, Yun KY, Kang YH (1993a) Suspension culture of betalain producing cell-line and characteristics of hairy root of *Phytolacca esculenta* v. Houtte. *Korean J Biotechnol Bioeng* **8**: 89-94
- Yang DC, Lee SJ, Yun KY, Quae C (1993b) Blue light-dependent betalain synthesis in hairy root: I. Model system for the study on the photo-signal transduction. *Korean J Plant Tissue Culture* **20**: 35-40
- Yang DC, Lee SJ, Yun KY, Quae C (1993c) Blue light-dependent betalain synthesis in hairy root: II. Influences of the activator/inhibitor of signal transduction on the betalain synthesis. *Korean J Plant Tissue Culture* **20**: 63-70