식물조직배양학회지 제25권 제6호
Korean J. Plant Tissue Culture
Vol. 25, No. 6, 525~530 (1998)

고생장 인삼 모상근의 선발

양덕춘* · 김용해 · 양덕조[1] · 민병훈[2] · 신성련[3] · 최광태
한국인삼연초연구원 유전생리부, [1]충북대학교 생명과학부, [2]배재대학교 원예학과, [3]중부대학교 원예학과

Selection of Active Grow Hairy Root Lines in Ginseng

YANG, Deok Chun* · KIM, Yong Hae · YANG, Deok Cho[1] · MIN, Byung Hoon[2] · SHIN, Seong Lyon[3] · CHOI, Kwang Tae

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon, 305-345, Korea: [1]School of Life Sciences, College of Natural Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, 361-763, Korea: [2]Department of Horticulture, Paichai University, Taejon, 302-735, Korea: and [3]Department of Horticulture, Joongbu University, Kamsan, 312-940, Korea*Corresponding author.

These studies were carried out to select the active grow hairy root lines induced from various ginseng(*Panax ginseng* C. A. Meyer) parts. Hairy roots were induced in root explants, stem and petiole in vitro by *A. rhizogenes* R1000 or A. *rhizogenes* A_4. These hairy roots could be grown on the phytohormone free medium, and PCR analysis of rol C and vir C gene fragments confirmed that hairy roots were transgenic tissues. We have selected 11 hairy root lines with active growing characters among 300 hairy root lines selected based on growth and morphological characteristics on 1/2MS solid media with 250 mg/L carbenicillin. Morphological characteristics of selected 11 hairy root lines were thickness and thiness of main roots, and many projection for lateral roots, active grow of lateral roots. Among selected 11 hair root lines prominent characteristics of hairy roots with active growing characters were thiness of main roots and active grow of lateral roots. But characteristics of low growing hairy roots were thickness of main roots and low grow of lateral roots. Finally, we have selected actively growing hairy roots, KGHR-1, KGHR-5, KGHR-8 among 11 hairy root lines.

Key words: *Agrobacterium rhizogenes*, morphology, *Panax ginseng*

인삼은 한국의 대표적인 자원식물로 근래에 약리효능이 밝혀지면서(Park and Ko, 1998), 그 수요가 점차 증가되고 있는 실정이다. 최근 소비자층의 저변이 크게 확대되고 식생활 패턴도 바뀜에 따라 소비자층의 기호추세에 부합하는 여러 가지 타입의 인삼 단일제제 및 생약 복합제제가 개발되었으며, 건강식품 또는 의약품으로 등록되는 실정이고, 점차 그 범위가 확대되고 있다(Kim et al., 1998). 최근 ginsenosides의 약리기작이 밝혀지면서(Hong et al., 1998 ; Shin et al., 1998), 특정 ginsenosides 대량생산이 요구되고 있다. 그러나 인삼의 재배는 매년 경작지가 감소되고 있는 실정이어서 앞으로의 원료공급에 지장을 초래할 가능성이 있으며, 단일 ginsenosides의 대량생산을 위해서 많은 원료삼이 소비되기 때문에 경제성을 맞출 수가 없는 형편이다. 따라서 특정 ginsenosides의 대량생산을 위한 방안으로 형질전환된 모상근으로부터 생산하고자 하는 연구가 진행되고 있는데(Hwang et al., 1989 ; Yang et al., 1996 ; Yoshikawa and Furuya, 1987), 모상근은 유전적으로 안정하며, 호르몬이 없는 배지에서도 성장이 가능하기 때문에 대량배양이 가능한 것으로 알려지고 있다(Chilton et al., 1982: Inze et al., 1984). 따라서 본 연구는 인삼모상근을 유도하여 생장속도가 매우 빠른 모상근를 선발하고, 이 모상근을 활용하여 생리활성물질(anthocyanin, ginsenoside, polyacetylene)을 대량생산할 수 있는 체계를 갖추고자 우선 인삼 뿌리 절편, 줄기, 엽병으로부터 *Agrobacterium rhizogenes*에 의하여 형질전환된 모상근에서 고생장 모상근을 선발하고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 균주

식물재료는 3년생 인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)을 공시하였으며, 먼저 물에 침지된 인삼을 선발하고 조직의 표면을 조사하여 비교적 병원균의 감염이 적은 시료를 이용하였다. 모상근을 유도하기 위한 균주는 *A. rhizogenes* A_4(Jouanin et al., 1987)와 *A. rhizogenes* R1000(Nicoll et al., 1995)을 이용하였다.

모상근 유도

인삼 뿌리절편을 70% ethanol에 10분간 침적하고 7% sodium hypochlorite 용액에서 20분간 표면 멸균한 후, 멸균증류수로 3회 세척하였다(Yang, et al., 1998). *A. rhizogenes* R1000과 A_4를 2YT배지(16g tryptone, 10g yeast extract, 5g NaCl, 1L H_2O, pH 7.0)에서 2일간 현탁배양한 후, 600nm에서 optical density가 0.8(cell density 10^9/mL)이 되도록 조절하여, 2시간 동안 clean bench에서 건조시킨 인삼 뿌리 절편과 24시간 공동배양하였다. 뿌리 절편은 멸균된 filter paper에서 1시간 건조시킨 후 cefotaxime이 500mg/L 첨가된 1/2MS (Murashige and Skoog, 1962) 배지(3% sucrose, 0.8% agar)에 치상하여 모상근을 유도하였다. 또한 줄기 및 엽병에서 모상근 유기는 포장에 식재된 3년근 인삼의 줄기와 엽병을 상처내어 탈지면으로 싼 후, 균주 500μL씩 접종 하였다. 배양 4주후 뿌리 절편으로 부터 유기되는 모상근 근단을 절단하여 carbenicillin이 250 mg/L 첨가된 1/2MS배지에서 모상근에 남아 있는 균을 완전히 제거하였다.

PCR에 의한 *rolC* 및 *virC* gene의 확인

유도된 인삼 모상근으로 부터 형질전환시 사용된 *A. rhizogenes* R1000 및 *A. rhizogenes* A_4의 T-DNA상에 있는 *rolC* 유전자의 존재여부를 확인하기 위하여 PCR(Thermal cycler, Perkin Elmer Cetus)를 사용하였다. 모상근으로 부터 DNA의 추출은 Edwards 등(1991)의 방법에 준하였으며, Taq polymerase, dNPT, $MgCl_2$, buffer, dye등이 혼합되어 있는 Premix(Bioneer, Korea)에 추출한 DNA 50ng, primer 20pmol을 첨가하여 총량을 20μL로 하였다. PCR을 위한 반응 조건은 Yang 등(1998)의 방법에 준하였으며, PCR 반응시 사용한 primer는 *rolC* 유전자의 증폭을 위하여 Oono 등(1993)이 사용한 5'-ATGGCTGAAGACGACCTGTT-3', 5'-TTAGCCGATTGCAAACTTGCAC-3' 등 각각 22mer를 사용하였고, *virC* 유전자의 증폭을 위하여 5'-ATCATTTGTAGCGACT-3', 5'-AGCTCAAACCTGCTTC-3' 등 각각 16mer(Sawada, 1995)를 사용하였다. 합성된 DNA밴드는 1.2% agarose gel에서 1Kb ladder와 함께 전기영동하여 합성된 DNA의 크기를 확인하였다.

선발된 세포주의 특성

인삼 뿌리 절편으로부터 유도된 모상근을 균을 제거한 후 근단으로부터 1.5cm 크기로 절단하여 MS 액체배지로 암상태 23℃에서 6주간 배양하여 생장이 빠른 모상근을 선발하였다. 선발된 모상근은 4주 단위로 측근 5개(1.5cm)을 5회 이상 계대배양하여 세포주를 고정하였다. 선발된 인삼 모상근의 생장 특성을 조사하고자 MS 및 MS배지에 B5 배지(Gamborg et al., 1968)의 비타민을 첨가한 MS/B5 배지에서 생체중 1g 인삼 모상근을 암상태에서 4주간 배양하여, 생체중과 건물중을 조사하였으며, 또한 모상근의 굵기, 측근의 형성 및 생장을 조사하였다. 측근의 굵기는 1차 측근의 경우 기부 및 근단에서 1cm 되는 위치에서, 2차 측근은 기부에서 1cm되는 위치에서만 측정 하였다.

결과 및 고찰

인삼 모상근 유도

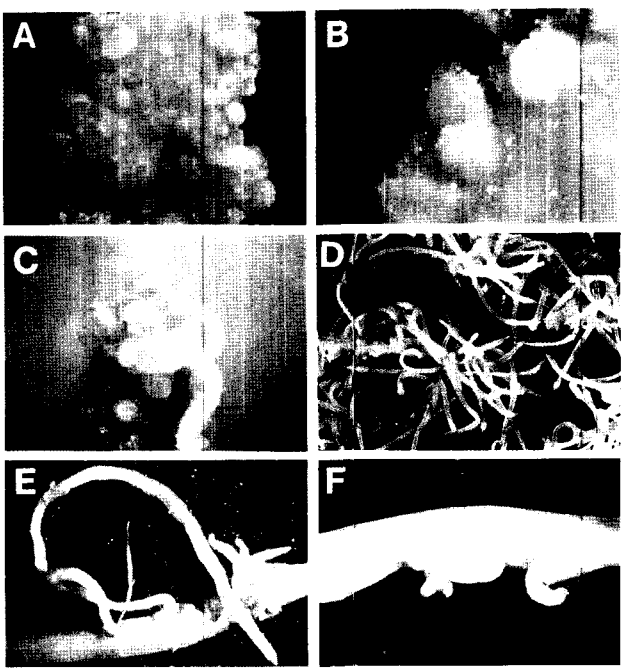

Figure 1. Hairy roots induced from root explants by *A. rhizogenes* R1000 in *Panax ginsneg* C. A. Meyer. A ; Callus after 3 weeks culture, B ; Hairy root tips after 4 weeks culture, C ; Hairy roots after 5-6 weeks culture. D ; Hairy roots cultured in hormone-free 1/2MS solid medium(3% sucrose) for 4 weeks on dark condition. E ; Hairy roots induced on stem by *A. rhizogenes* R1000, F ; Hairy roots induced on petiole by *A. rhizogenes* R1000.

Agrobacterium rhizogenes R1000 및 A4를 인삼의 뿌리절편에서 유도된 모상근은 Figure 1과 같다. 뿌리절편을 *Agrobacterium*과 공동배양한 후 500mg/L cefotaxime이 첨가된 1/2MS 고체배지에 치상한지 3주후 부터 형성층 부위에서 callus가 형성되기 시작하였다(Figure 1A). 뿌리 절편에서 callus가 형성되기 시작한 후 부터 약 1주일이 지나서 뿌리돌기가 형성되기 시작하였으며(Figure 1B), 뿌리 돌기가 형성된 후 1-2주가 지나면 뿌리형태가 뚜렷한 모상근으로 분화된 것을 관찰 할 수 있었다(Figure 1C). 분화된 모상근을 250 mg/L carbenicillin이 첨가된 1/2MS 고체배지에서 남아있는 균을 완전히 제거한 후, 항생제 및 식물호르몬이 첨가되지 않은 1/2MS 배지에서 배양하였던 바, 모상근의 성장이 매우 왕성하였으며, 모상근의 특징인 굴지성이 결여된 상태로 높은 성장을 보였다(Figure 1D). 이러한 결과는 Yang 등(1998)이 제시한 모상근을 유도하기 위한 최적조건의 결과와 일치하였다.

인삼 줄기 및 엽병에서 모상근을 유도하고자 뿌리절편에서 모상근 유도와 같은 방법으로 줄기 및 엽병절편과 *Agrobacterium*를 공동배양하여 모상근을 유도하고자 하였으나 NaOCl에 의한 조직의 손상과 오염이 심하여 유도하지 못하였다. 그래서 포장에 심어져 있는 3년생 인삼의 줄기 및 엽병에 *Agrobacterium*을 접종하여 모상근을 유도하였다(Figure 1E, 1F). 줄기 및 엽병에서의 모상근 유도는 뿌리절편에서보다 빨리 유도되었는데, 접종후 3주가 지나면 완전한 뿌리형태의 모상근으로 성장하였다. 줄기와 엽병에서 유도된 모상근을 250mg/L carbenicillin이 첨가된 1/2MS 고체배지에서 균을 제거하려고 하였으나, 오염이 심하여 계대배양에 성공하지 못하였다. 그러나 인삼 뿌리절편 뿐만 아니라, 인삼의 줄기 및 엽병에서도 모상근 유도가 가능함을 확인였고, 뿌리에서 보다 빨리 모상근 유도가 되기 때문에 줄기 및 엽병 절편에서 모상근 유도를 위한 방안이 개선된다면, 인삼으로부터 모상근 유도하기 위한 재료로 손상이 없을 것으로 판단된다.

rolC 및 *virC* gene의 확인

인삼 뿌리 절편으로부터 유도된 모상근중 선별된 모상근이 확실한 형질전환체인지, 아니면 제거되지 않은 *Agrobacterium*이 남아 있는지를 PCR을 통한 *rolC* 및 *virC* 유전자의 존재 여부를 확인한 결과, Figure 2와 같은 결과를 나타내었다. 형질전환시 식물체내로 도입되는 *rolC*의 경우 인삼뿌리, 줄기, 엽병에서 유도된 모상근에서 약 540bp 위치에 밴드가 형성되었으나 (Figure 2, lanes 6-8), 대조구로 사용한 뿌리, 줄기, 엽병에서는 전혀 밴드를 관찰할 수가 없었다(Figure, lanes 4-6). 반면 *rolC* 유전자 등을 식물세포로 전이시키는 역할만 할뿐 직접 식물세포로 도입 되지 않은 *virC*의 경우에는 대조구 뿐만 아니라 유도된 모상근에서도

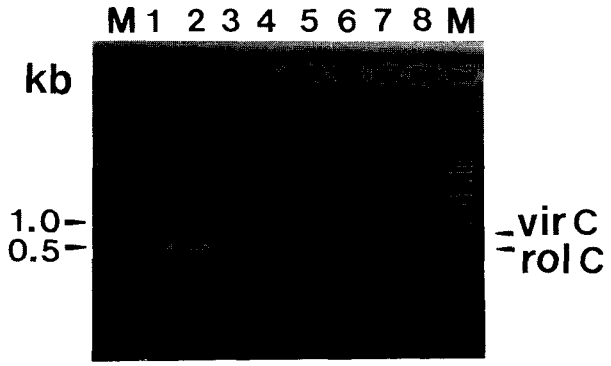

Figure 2. PCR products of rol C(540 bp) and *vir* C(730 bp) from *Agrobacterium*, normal and hairy root of *Panax ginseng* C.A. Meyer. M ; Maker, Lane 1 ; *A. rhizogenes* R1000, Lane 2 ; *A. rhizogenes* A4, Lane 3-5 ; normal roots, 6-8 ; hairy roots.

전혀 관찰되지 않았다 (Figure 2, lanes 3-8). 그러나 모상근 유도에 사용한 *Agrobacterium rhizogenes* R1000 및 A4에서는 *rolC*(540 bp) 및 *virC*(730bp) 유전자가 확인되었다(Figure 2, lanes 1-2). 따라서 유도된 인삼 모상근은 *rolC* 유전자가 확인되어 확실한 형질전환체로 생각되며, *virC*유전자가 나타나지 않은 것으로 미루어 보아 *Agrobacterium*이 완전히 제거된 것으로 판단된다.

선발된 모상근의 형태적 특성

뿌리 절편에서 유도된 모상근을 250mg/L에서 균을 제거한 후 항생제 및 식물 호르몬이 첨가되지 않은 1/2MS액체배지에서 배양하여 모상근의 생장이 왕성한 300 세포주를

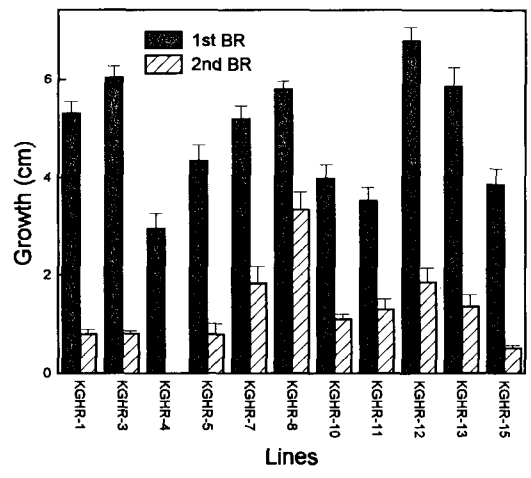

Figure 3. Growth of branching in hairy roots cultures of *P. ginseng* C. A. Meyer. Hairy roots were cultured in hormone-free MS/B5 medium(3% sucrose, 40mL/100mL flask) at 23℃ for 4 weeks in dark conditions. BR ; branching roots. Bars shown are means± standard errors of eight replicates of actively growing branching roots per treatments .

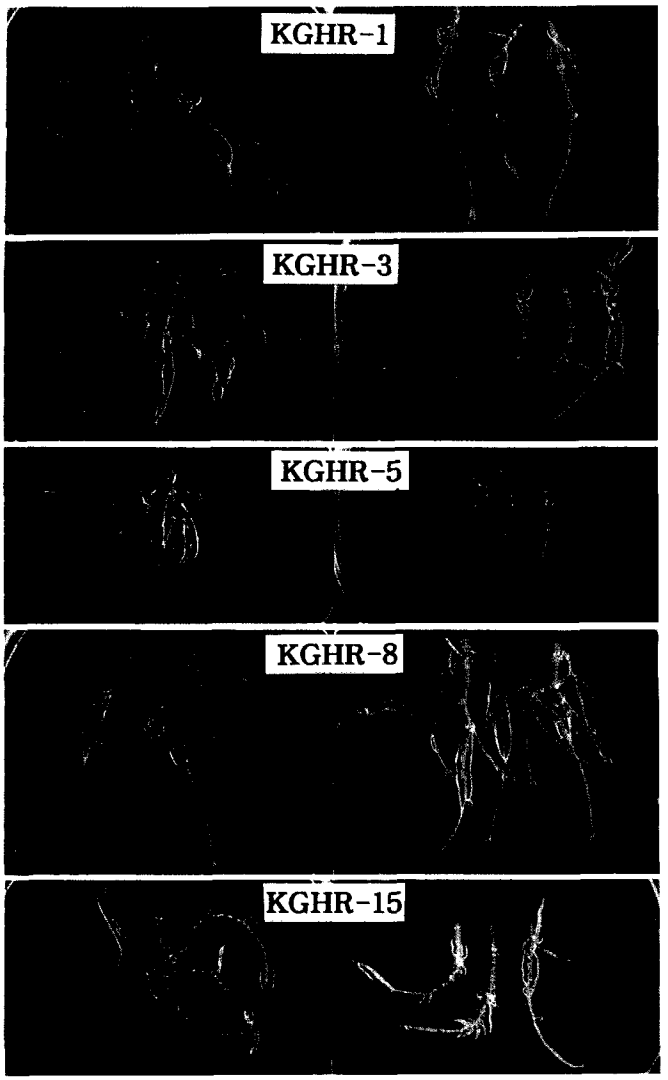

Figure 4. Morphological characteristics of hairy root lines cultured in hormone-free MS/B5 liquid medium(3% sucrose, 40mL/100mL flask) at 23℃ for 4 weeks in dark conditions.

선발하였다. 이중 모상근의 성장이 우수하고 형태적 차이가 뚜렷한 15 모상근을 선발하여 KGHR-1에서 KGHR-15까지 명명하였고 이중에서 고정화된 11종의 형태적 특성은 Table 1과 같다. 이들 모상근들은 여러 가지의 형태적인 특징, 측근형성 및 생장정도가 매우 다양 하였으며 (Figure 3, 4), 모상근의 특징은 주근이 비후된 것, 주근이 가는 것, 측근의 돌기가 많은 것, 측근의 생장이 양호한 특징을 나타내었다 (Figure 3, 4). 주근의 비후가 높은 모상근은 KGHR-3, KGHR-10번 모상근으로 3.2-3.3 mm까지 비후하였으며, KGHR-5 모상근은 주근의 굵기가 1.5mm로 다른 모상근에 비하여 비교적 가는 모상근이었다. 1차 측근의 기부 및 근단에서 1cm되는 위치의 굵기를 조사하였던 바, 선발된 모상근에서 기부의 굵기는 약 0.6-1.4mm 정도 였으며, 근단 부위의 굵기는 약 0.35-0.76mm 범위였다. 특히 주근의 굵기가 가장 적은 KGHR-5 모상근의 굵기는 1.5mm로 가장 가는 특징을 나타내었다. 모상근의 측근 형성을 조사하였던 바, 주근에서 1차 측근의 형성이 왕성한 모상근이 있는가 하면, 1차 측근의 형성은 낮은 반면 1차 측근에서 2차 측근의 형성이 높은 특징을 나타낸 모상근이 있었다. 1차 측근의 형성이 높은 모상근은 KGHR-1, KGHR-8, KGHR-15 모상근이었다.

세포주의 1, 2차 측근의 생장도 다양하였는데 선발된 모상근중 1차 측근의 생장은 약 3.5-6.8cm 정도 였으며, 2차 측근의 생장도 0.5-3.4cm 였다. 1차 측근의 생장이 높은 모상근은 KGHR-3, KGHR-12 모상근으로 약 6.0-6.8cm 까지 생장하였고, 2차 측근의 생장이 높은 모상근은 KGHR-8번 모상근으로 3.4cm까지 생장하였으며, KGHR-4번 모상근은 2차 측근의 형성이 되지 않은 특징을 나타내었다(Figure 3). 이러한 결과에서 인삼 모상근의 생장은 선발된 인삼 모상근에서 1, 2차 측근의 길이 생장은 7cm 이상은 넘지 않았다.

고생장 모상근의 선발 및 특성

모상근은 T-DNA가 무작위로 도입되기 때문에 도입된 유전자의 수와 삽입된 위치에 따라 특성이 다르며, 변이가 심하게 나타난다. 따라서 많은 변이주를 선발할 수 있는 반면, 세포주로서의 고정이 절대로 필요하므로 여러번의 계배배양을 통하여 배양기마다 성장이 일정하게 성장하는 모상근으로 고정하였다. 1차 선발된 11 모상근중 고생장 인삼 모상근을 선발하고자 MS배지와 MS/B5배지에서 4주간 배양한 후 모상근의 생체중과 건물중을 조사하였던 바, 고생장 모상근은 KGHR-1, KGHR-5, KGHR-8 모상근으로 생체중은 7.55-9.44 g fresh wt/flask였으며, 건물중은 0.38-0.47 g dry wt/flask였고(Table 2), 대체로 MS배지보다는 MS/B5배지에서 다소 높은 생장을 나타내었다. 선발된 인삼모상근의 생장은 최적의 생장조건이 갖추어 진다면 더 좋은 생장이 가능 할 것으로 생각된다. 이와같이 모상근의 생장이 좋은 모상근은 주근이 비교적 가늘며, 측근의 발달과 생장이 양호한 모상근(KGHR-1, KGHR-5, KGHR-8)였다. 이중 가장 높은 건중량을 보인 KGHR-5 모상근은 2차 측근의 형성 및 생장은 낮지만 1차 측근의 형성이 매우 높고 가늘게 생장하는 특징을 나타내었으며, KGHR-8 모상근은 1, 2차 측근의 발달 및 생장이 매우 높은 모상근으로 생체중이 가장 높은 모상근이었다. 이러한 결과에서 고생장 세포주의 특징을 보면 생체중에 대한 건물중의 비율이 대체로 낮은 특징을 나타내었는데, KGHR-1, KGHR-8은 4.0-4.6%이였으며, 특이하게 KGHR-5 모상근은 5.2-5.4%로 고생장 모상근 KGHR-1, KGHR-5, KGHR-8중 높은 건물중 비율을 나타내었다. 이것은 Hwang 등(1991)의 보문에서 근단을 제외한 모든 부위가 비후 되고, 측근의 형성이 빈약한 모상근이 상대적으로 측근의 발달이 왕성한 모상근보다 생장이 낮다는

Table 1. Thickness and number of branching in hairy root lines of *Panax ginseng* C. A. Meyer transformed with *Agrobacterium rhizogenes* strains.

Hairy root lines	*Agrobacterium* strains	Root thickness				No. of BR	
		Main root	1st BR		2nd BR	1st BR	2nd BR
			Basal	Tip			
KGHR-1	*A. rhizogenes* R1000	2.80±0.14	0.75±0.02	0.60±0.02	0.63±0.02	++	10.75±1.79
KGHR-3	*A. rhizogenes* R1000	3.30±0.12	0.70±0.02	0.52±0.02	0.62±0.02	+++	2.67±0.67
KGHR-4	*A. rhizogenes* R1000	2.00±0.14	0.90±0.01	0.74±0.02	-	+++	-
KGHR-5	*A. rhizogenes* R1000	1.50±0.11	0.60±0.02	0.42±0.03	0.40±0.01	+++	3.00±0.40
KGHR-7	*A. rhizogenes* A_4	2.70±0.09	1.10±0.01	0.54±0.03	0.41±0.01	++	4.66±0.88
KGHR-8	*A. rhizogenes* A_4	2.80±0.14	1.00±0.03	0.72±0.02	0.62±0.02	++	15.12±1.00
KGHR-10	*A. rhizogenes* A_4	3.20±0.16	1.00±0.04	0.35±0.01	0.33±0.01	+++	4.21±0.36
KGHR-11	*A. rhizogenes* A_4	2.70±0.08	1.10±0.03	0.71±0.03	0.35±0.02	+	0.33±0.10
KGHR-12	*A. rhizogenes* A_4	2.30±0.11	1.40±0.04	0.52±0.02	0.60±0.01	+	4.32±1.00
KGHR-13	*A. rhizogenes* A_4	3.00±0.15	1.00±0.05	0.76±0.01	0.62±0.01	++	5.14±0.57
KGHR-15	*A. rhizogenes* A_4	2.70±0.14	0.80±0.03	0.41±0.02	0.65±0.03	+	10.66±1.76

Hairy roots were cultured in hormone-free MS/B5 medium(3% sucrose, 40ml/100ml flask) at 23℃ for 4 weeks in dark conditions. Data shown are means±standard errors of five replicates per hairy roots lines. BR: Branching root. +++:very high, ++:high, +: low, -: no data

Table 2. The effect of media on the growth in hairy roots cultures of *P. ginseng* C. A. Meyer.

Hairy root lines	Media	Fresh wt. (g / flask)	Dry wt. (g / flask)	Dry wt. Fresh wt. (%)
KGHR-1	MS	8.87 ± 0.55	0.38 ± 0.02	4.28
	MS/B5	8.80 ± 0.66	0.40 ± 0.02	4.55
KGHR-3	MS	6.10 ± 0.29	0.36 ± 0.02	5.90
	MS/B5	6.03 ± 0.71	0.35 ± 0.03	5.80
KGHR-4	MS	3.75 ± 0.11	0.24 ± 0.01	6.40
	MS/B5	3.77 ± 0.19	0.24 ± 0.01	6.37
KGHR-5	MS	9.03 ± 0.52	0.47 ± 0.01	5.20
	MS/B5	7.55 ± 0.39	0.41 ± 0.03	5.43
KGHR-7	MS	4.88 ± 0.11	0.30 ± 0.01	6.15
	MS/B5	4.38 ± 0.46	0.25 ± 0.02	5.71
KGHR-8	MS	8.45 ± 0.23	0.38 ± 0.03	4.50
	MS/B5	9.44 ± 0.40	0.38 ± 0.02	4.03
KGHR-10	MS	5.40 ± 0.16	0.29 ± 0.01	5.37
	MS/B5	5.68 ± 0.36	0.30 ± 0.02	5.28
KGHR-11	MS	5.58 ± 0.10	0.34 ± 0.02	6.09
	MS/B5	5.65 ± 0.20	0.33 ± 0.02	5.84
KGHR-12	MS	4.52 ± 0.31	0.29 ± 0.01	6.42
	MS/B5	5.35 ± 0.33	0.30 ± 0.01	5.61
KGHR-13	MS	4.36 ± 0.22	0.28 ± 0.01	6.42
	MS/B5	5.03 ± 0.36	0.31 ± 0.01	6.16
KGHR-15	MS	5.64 ± 0.20	0.35 ± 0.01	6.21
	MS/B5	6.98 ± 0.63	0.36 ± 0.02	5.16

Hairy roots were cultured in hormone-free MS/MS-B5 liquid media(3% sucrose, 40ml/100ml flask) at 23°C for 4 weeks in dark conditions. Amount of inoculum was 1g fresh weight. Data shown are means±standard errors of five replicates per treatments.

결과와 일치한다. 또한 인삼의 모상근은 다른 식물과 비교하였을 때(Hoshino and Mii, 1998; Maldonado-Mendoza and Loyola-Vargas, 1995) 상대적으로 주근이 매우 굵고, 측근의 발달이 낮은 편이다. 이와같은 결과를 종합하여 볼 때, 고생장 인삼 모상근은 주근이 가늘며, 측근의 발달과 생장이 높은 모상근이 고생장 인삼 모상근으로 적절할 것으로 판단된다. 본 연구에서는 인삼 뿌리절편으로부터 선발한 모상근 중 주근이 가늘면서 측근의 발달과 생장이 양호한 고생장 모상근 KGHR-1, KGHR-5, KGHR-8을 선발, 고정하여, 생리활성물질 고생산 모상근 선발등에 이용될 수 있을 것이다.

적 요

인삼의 뿌리절편, 줄기, 엽병에 *Agrobacterium*을 접종하여 고생장 모상근을 선발하고자 수행하였다. 인삼 뿌리 절편에서 *A. rhizogenes* R1000과 *A. rhizogenes* A_4에 의하여 모상근이 유도되었으며, 인삼의 줄기 및 엽병에서도 모상근이 유도되었다. 유도된 모상근은 *rolC* 및 *virC* DNA절편의 확인으로 형질전환체임을 확인하였으며, 균이 제거된 모상근을 선발하였다. 선발된 모상근 300 세포주중 성장과 형태적 특징이 뚜렷한 11 모상근을 선발하였다. 이들 모상근은 주근이 비후된 것, 주근이 가는 것, 측근의 돌기가 많은 것, 측근의 생장이 높은 것 등의 특징을 나타내었다. 이들 11 모상근중 주근이 가늘고 측근의 생장이 왕성한 형태가 모상근의 생장이 좋았으며, 주근이 비후되고 측근의 돌기가 많은 형태는 생장이 낮았다. 본 연구에서 인삼 뿌리절편으로부터 고생장 모상근인 KGHR-1, KGHR-5, KGHR-8을 선발하였다.

인 용 문 헌

Chilton MD, Tepfer DA, Petit A, Tempe J (1982) *Agrobacterium rhizogenes* inserts T-DNA into the genome of the host plant root cells. Nature (Lond) **295**: 432-434

Edwards KC, Johnson C, Thompson C (1991) A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. Nucleic Acids Res **19**: 1349

Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. Exp Cell Res **50**: 151-158

Hong HY, Yoo GS, Choi JK (1998) Studies on the activation mechanism of c-src protein tyrosine kinase by ginsenoside-Rg_1. J Ginseng Res **22**: 133-139

Hoshino Y, Mii M (1998) Bialaphos stimulates shoot regeneration from hairy roots of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) transformed by *Agrobacterium rhizogenes*. Plant Cell Reports **17**: 256-261

Hwang B, Ko KM (1989) Induction and culture of hairy roots from ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) roots discs by *A. rhizogenes*. Kor J Biotechnol Bioeng **4**: 288-292

Inze D, Lijsebettens MV, Simoens C, Genebello C, Montagu MV, Schell J (1984) Genetic analysis of the individual T-DNA genes of *Agrobacterium tumefaciens*: further evidence that two genes are involved in indole-3-acetic acid synthesis. Mol Gen Genet **194**: 265-274

Jouanin L, Vilaine F, Tourneur J, Tourneur C, Pautot V, Muller JF, Caboche, M (1987) Transfer of a 4.3-kb fragment of the TL-DNA of *Agrobacterium rhizogenes* strain A4 confers the pRi transformed phenotype to regenerated tobacco plants. Plant Sci **53**: 53-63

Kim, NH, Lee HM, Choi JH, Lim SK (1998) Clinical effects of korean red ginseng on osteoporosis. J Ginseng Res **22**: 114-121

Maldonado-Mendoza IE, Loyola-Vargas VM (1995) Establishment and characteriztion of photosynthetic hairy root cultures of *Datura stramonium*. Plant Cell Tissue and Organ Culture **40**: 197-208

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant **15**: 473-479

Nicoll SM, Brigham LA, Wen F, Hawes MC (1995) Expression of transferred genes during hairy root development in pea. Plant Cell Tissue and Organ Culture **42**: 57-66

Oono Y, Suzuki T, Toki S, Uchimiya H (1993) Effects of the over-expression of the rol C gene on leaf development in transgenic periclinal chimeric plants. Plant Cell Physiol **34**: 745-752

Park HJ, Ko, SR (1998) Inhibititory effects of water- or petroleum ether-extract from red ginseng on serotonin release from human platelets (Comparative study between 6-year and 4-year old of red ginseng). J Ginseng Res **22**: 140-146

Sawada H, Ieki H, Matsuda I (1995) PCR detection of Ti and Ri plasmids from phytopathogenic *Agrobacterium* strains. Appl Environ Microbiol **61**: 828-831

Shin YH, Jeong OK, Nah JJ, Yoon SR, Nam KY, Kim SK, Kim SC, Nah SY (1998) Ginsenosides that show antinociception in writhing and formalin tests. Korean J Ginsneg Sci **22**: 43-50

Yang DC, Kim YH, Yang DC, Choi KT (1998) The optimum conditions for induction of ginseng hairy roots. Korean J Plant Res (in submitted)

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**: 318-324

Yang DC, Park TE, Yoon ES, Min BH, Chung HJ (1998) Growth characteristics of transgenic potato using wild-type *Agrobacterium* spp. Korean J Plant Res **11**: 179-187

Yoshikawa T, Furuya T (1987) Saponin production by cultures of *Panax ginseng* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*. Plant Cell Rep **6**: 449-453

(1998년 10월 28일 접수)