

Ferritin Light Heavy Chain 유전자가 도입된 인삼형질전환체의 단일배발생을 통한 식물체의 기내증식

윤영상, 김종학¹⁾, 김무성²⁾, 양덕춘²⁾

공주대학교 식물자원학과, ¹⁾(주)바이오피아, ²⁾경희대학교 한방재료가공학과

In vitro Propagation of Transgenic Ginsengs Introduced with Ferritin Light Heavy Chain Gene through Single Embryo Culture

Young-Sang Yoon, Jong-Hak Kim¹⁾, Moo-Sung Kim²⁾, and Deok-Chun Yang²⁾
College of Industrial Sciences, Kongju National University, Kongju 340-802, Korea
¹⁾Biopia Co., Ltd, Yeongi 339-813, Korea
²⁾College of Life Science, Kyung Hee University, Yongin, Chungnam 449-701, Korea

ABSTRACT

Optimal regeneration conditions of ginseng transformants were studied. It has been known that Ferritin Light Heavy Chain (FLHC) gene remove the several heavy metal by combination, store and transport. To obtain the ginseng tolerant to heavy metal, binary vector was introduced in *Agrobacterium* by tri-parental mating and then *Agrobacterium tumefaciens* MP90/FLHC was selected on the AB media and MS media containing kanamycin. Explants were co-cultured with *Agrobacterium tumefaciens* MP90/FLHC, which contained NPT II as a selectable marker, tadpole ferritin heavy chain (FLHC) gene and human ferritin light chain gene and then a number of embryos were induced. The induced embryo transferred to shooting media consisting of MS medium supplemented with GA 10 mg/L. As a result of examination that induced the normal growth of transformants, transformants showed the equivalent growth in both root and shoot on the media containing the 1/3 MS.

Key words : Embryo culture, binary vector. *Panax ginseng*.

서언

식물이 생활할 수 있는 가장 적당한 조건을 방해하는 외적인 요인을 환경 stress라 한다. 이러한 환경 stress중에는 식물이 생육하는데 불리한 조건을 갖는

토양도 해당된다. 토양의 pH가 지나치게 높거나 낮을 경우에는 무기이온흡수의 불균형을 초래하게 되어 영양결핍의 원인이 된다. 식물체는 이러한 환경 stress에 대한 저항성을 가지고 있는데 이러한 것을 장해저항성 또는 내성이라 한다. 인삼뿌리에서 나타

* 교신저자 : E-mail : dcyang@khu.ac.kr

나는 적변현상은 근권토양의 철이온에 의한 환경 stress의 일종이다 (오 등, 1979). 동일한 재식 포장에서도 적변삼과 건강삼이 동시에 출현하는 점을 감안하여 볼 때, 포장 조건변화에 대한 적응성 또는 내성의 결여에 의한 장애로 생각해 볼 수 있다.

식물유전공학기법의 발달로 유전자조작에 의한 많은 유전자들이 cloning되었으며, cloning된 유전자를 다시 강력한 promotor로 재조합 후 식물세포에 형질전환시킴으로서 새로운 식물체를 개발하고 있다. 염류관련 유전자는 methicillin resistant gene, dihydrolipoamide dehydrogenase, angiotansin I-converting enzyme gene 등이 개발되었으며 (Huraki *et al.*, 1993 ; Jolley *et al.*, 1996 ; York *et al.*, 1996; Hiraga *et al.*, 1996), 염류관련 유전자 중에서 중금속 등에 대항하는 방법으로 metallothionein, ferritin 등의 단백질을 합성하여 이들 단백질을 통하여 일부 중금속과 결합, 저장 및 운반하여 무독화시킬 수 있는 것으로 알려져 있다 (Laulhere *et al.*, 1988; Price *et al.*, 1983).

식물에서도 최근 ferritin이 정제, 특성화되어 주로 철의 저장 및 운반, 그리고 중금속의 정화기능이 보고 되어 있다. 산화철(F(II), F(III))과 높은 결합특이성을 보이는 ferritin은 많은 양의 철과 결합하여 철을 필요로 하는 기관에 운반하여 재공급하는 기능과 세포에 여러 대사 작용에 필수적인 metal-binding protein (cytochromes, nitrogenase, ribonucleotide reductase, hemoglobin)등에 co-factor로 철을 공급하는 생리, 활성적인 측면과 세포내의 고도한 산화철에 의해 발생하는 OH⁻, O₂⁻ 등과 같은 radical 독성을 무독화 하는 데 중요한 기능을 수행한다 (Price *et al.*, 1983; Zhou *et al.*, 1981). 또한, ferritin은 Fe³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺, Cd²⁺, Be²⁺, Al³⁺ 등의 중금속 등과도 *in vivo* 와 *in vitro*에서도 결합할 수 있어 이들 중금속 이온들의 무독화제로서의 역할을 수행할 수 있을 것으로 보고 되고 있다 (Price *et al.*, 1983; Sczekan *et al.*, 1987). 또한 ferritin에 대한 기작 및 작용 등이 밝혀졌으며 (Price *et al.*, 1983), Maize, pea 및 soy bean의 종자로부터 ferritin이 분리되어 특성이 검정되었고 (Laulhere *et al.*, 1988; Sczekan *et al.*, 1989), Maize, pea

및 soy bean의 seed로부터 ferritin이 분리되어 특성이 검정되었으며 (Laulhere, 1988; Sczekan, 1989) Arabidopsis로부터 metallothionein 유전자가 cloning 되어 functional homology를 보고 (Zhou *et al.*, 1994) 하는 수준에 와 있다.

따라서 본 연구는 human ferritin light chain gene(HFLC)을 이용하여 인삼의 형질전환을 시도하고, 식물체의 기내증식을 함으로서 형질 전환된 인삼을 이용하여 Fe 이온 내성 유전자의 형질전환용 vector의 재조합, 형질전환 system의 확립 그리고 형질전환 체의 특성 검정 실험을 위한 기술을 확보하여 염류내성을 가지는 인삼의 선발, 육성, 유전자탐색 및 기내증식기술개발연구를 하여 염류농도가 높은 우리나라 인삼재배지에서 품질이 양호한 고려인삼을 안정적으로 생산하고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물형질전환용 운반체의 재조합

인삼 발현용 promoter는 가장 발현정도가 높은 35S/35S/AMV promoter와 단일 35S promoter를 사용하고 terminator는 Tnos를 사용하였다 (cassette vector). 식물세포 형질전환용 binary vector는 border sequence를 가지고 있는 pRD400 binary vector를 사용하였고, 인삼형질전환에 사용할 *Agrobacterium*은 disarmed Ti-vector를 가지고 있는 *Agrobacterium tumefaciens* MP 90을 사용하였다.

Binary vector에 의한 형질전환

인삼의 형질 전환율을 증대시키기 위해서 발아직전의 인삼자엽을 이용하여 식물 호르몬 무첨가배지와 2-D 1 mg/L가 첨가된 MS 배지에서 재분화능을 조사하여 이미 보고된 내용을 중심으로 하여 삼투제를 첨가하여 단일 배를 유도시켜 정상적인 뿌리를 가진 인삼으로 분화가능성을 조사하였다. 상기 재분화방법을 최대한 이용하여 인삼의 형질전환을 위해서 *Agrobacterium*을 이용하여 HFLC 유전자를 서로 다른 promoter를 이용하여 형질전환을 유도하였다.

Ferritin Light Heavy Chain 유전자가 도입된 인삼형질전환체의 단일배발생을 통한 식물체의 기내증식

인삼의 형질전환은 상기 재분화배지에 가나마이신과 carbenicillin을 첨가하여 형질 전환체를 선발하였고, 형질 전환된 인삼단일배의 기내발아 및 생장을 유도하기 위해서 지베렐린 및 GA를 처리하여 발아를 유도하여, 형질전환인삼의 뿌리생장을 위하여 질소원의 농도를 낮춘 각종 배지에서 형질전환식물체의 생장을 유도하였다.

Ferritin light heavy chain 유전자의 형질전환

수확직후 인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer) 종자를 모래에 약 3달간 층적처리하여 개갑 시킨 후 다시 4℃의 냉장고에 옮겨 저온 처리하여 휴면 타파시켰다. 인삼접합자배의 장축이 약 6mm이상으로 충분히 성숙하였을 때 배양재료로 사용하였다. 인삼종자를 약 70% 에틸알코올에 약 1분간 침지시킨 다음 2% 차아염소산 나트륨으로 약 30분간 멸균시킨 다음 멸균된 증류수로 수세하였다. 형질 전환할 배양 재료는 인삼접합자배의 자엽을 사용하였고 체세포배 유도를 위해서는 식물 호르몬을 첨가하지 않은 MS (Murashige and Skoog, 1962) 배지에 5% sucrose를 첨가한 고체 배지를 사용하였다.

형질 전환을 위해서는 FLHC 유전자를 함유하고 있는 *Agrobacterium tumefaciens* MP90/FLHC을 인삼 자엽과 MS 액체배지에서 24시간 공동 배양한 다음 인삼 자엽을 멸균된 필터 페이퍼에 올려놓아 잔여 배지를 제거한 다음 성장조절제가 첨가되지 않고 5% sucrose가 첨가된 MS 기본배지에 3일간 전 배양하였다. 전 배양 후 선발 배지로서 MS 기본 배지에 250 mg/l 세포탁심과 100 mg/l 가나마이신을 첨가한 고체배지에 인삼자엽을 옮겼다. 약 14일 간격으로 계대배양한 후에 인삼자엽으로부터 형질전환 된 체세포배의 발생률을 조사하였다.

형질 전환되었다고 추정되는 체세포배의 자엽 일부 또는 초기 성장시 정상적인 식물체로 전환되지 않을 것 같은 체세포배는 다시 이로부터 이차배를 유도하였다. 효과적인 이차배의 유도를 위해서는 배양 재료를 원형질 분리 전 처리하는 방법이 있는데, 즉 1몰의 고농도 sucrose 용액에 약 24시간 동안 담가 둔 다음 1/2 희석 sucrose 용액으로 서서히 회복시킨

다음 체세포배 유도시와 같은 MS 기본 배지에 배양하였다. 이로부터 얻어진 다수의 체세포 배를 발아시키기 위해서 지베렐린 1 mg/l, 또는 -2~4℃에서 저온 처리하여 발아시켰다. 발아된 체세포배로부터 식물체의 생장을 촉진시키기 위해서 1/2, 또는 1/3 MS 배지에 옮겼다.

Ferritin light heavy chain 유전자 확인

형질 전환된 인삼식물체에서 NPTII 유전자의 존재 여부를 확인하기 위해서 PCR을 수행하였다. PCR을 위한 DNA추출방법은 Edwards 등 (1991)의 방법에 준하여 수행하였으며 PCR조건은 96℃에서 2분간 pre-denaturation 한 후, 94℃에서 30초, 60℃에서 30초, 72℃에서 2분으로 하여 36cycle을 반응시켰으며 이어서 72℃에서 15분간 post-extension 시켰다. 이때 사용한 primer의 염기서열은 5' - GTGGAGAGGCTATTCGGCTA-3' 와 5' - CCACCATGATATTCGGCAAG-3' 을 사용하였다.

결과 및 고찰

Ferritin light heavy chain(FLHC)유전자의 형질전환용 운반체 재조합

인삼에서 염류관련 유전자를 cloning하는데 시간이 다소 소요되므로 기존에 보고된 염류관련 유전자 중에서 인삼에 도입하기 위하여 우선 FLHC 유전자를 이용하여 인삼을 형질 전환시키고자 형질전환용 vector를 재조합 하였다. 사용한 FLHC 유전자는 식물 발현용 promoter인 35S promoter를 사용하고 terminator는 Tnos를 사용하였으며 식물세포형질전환용 binary vector는 상기 cassette vector가 재조합이 매우 양호하며 border sequence를 가지고 있는 pRD400 binary vector를 사용하여 최종적으로 가나마이신 내성유전자(NPT II gene)와 tadpole ferritin heavy chain gene 및 human ferritin light chain gene를 함유하고 있는 binary vector를 재조합하였다. Binary vector의 *Agrobacterium*에 도입은 tri-parental mating 방법에 의하여 수행하여 AB배지 및 가나마이신 함

Table 1. Frequency of putative transgenic somatic embryo formation according to with/without co-cultivation on the media with growth regulator from cotyledon explants of ginseng after *Agrobacterium*-mediated transformation on selection medium with 100 mg/l kanamycin

Treatment	Somatic embryo formation from total explants	No. of somatic embryo per explant
without co-cultivation	0	0
With co-cultivation	12	2
Re-culture of putative transformants on the kanamycin medium	66	12

유 배지에서 disarmed Ti-vector를 가지고 있는 *Agrobacterium tumefaciens* MP90/FLHC 을 선발하였다.

Ferritin light heavy chain 유전자에 의한 인삼의 형질전환

인삼 자엽을 FLHC 유전자를 함유하고 있는 *Agrobacterium* 공동배양한 후 체세포배가 유도될 수 있는 MS기본배지에 약 3일간 전배양한 다음 250 mg/l 세포탁심과 100 mg/l 가나마이신을 첨가한 배지에 옮겨 체세포배의 발생을 조사하였다. 공동 배양하지 않은 자엽의 경우는 100% 모두 갈변되었고 체세포배가 발생되지 않았으며, 간혹 초기에 어린단계의 체세포배가 발생되더라도 계속 성장하지 못하고 갈변되었다. 그런데 공동 배양한 자엽의 경우 약 12%의 인삼자엽에서 형질전환 체세포배가 발생되었으며(Table 1), 이들 형질전환 체세포배를 다시 한번 가나마이신이 첨가된 새로운 배지에 옮겨 생존여부를 조사한 결과 약 66%가 정상적으로 생존되었다(Table 1). 그러나 형성된 체세포배는 식물호르몬이 첨가된 배지에서 형성되었기 때문에 대부분 뿌리를 형성하지 못하여 이로부터 식물호르몬 무첨가 배지에서 이차배발생을 통한 체세포배의 유도가 필요하였다. 따라서 식물호르몬이 첨가된 배지에서 유도한 형질전환 체세포배의 자엽일부, 또는 정상적인 식물체로 전환되지 못하는 비정상적인 체세포배로부터 다시 FLHC 유전자가 함유된 이차배를 유도하여 많은 수의 체세포배를 생산하였다.



Fig. 1. Transformants induced from the binary vector containing ferritin light heavy chain gene on the medium supplemented with GA₃ 10 mg/L.

위의 실험에서 선발된 FLHC 유전자 함유 *Agrobacterium tumefaciens* MP90/FLHC를 이용하여 인삼의 형질전환 체세포배를 유도하였으며 유도된 embryo들은 GA 10 mg/L가 첨가된 배지에 지상부를 유도하였다 (Fig. 1).

FLHC 유전자의 형질전환 embryo를 대량으로 유도하기 위해서 우선 지난해 7-8월에 종자를 채취하여 11월 까지 3-4개월간 개갑 처리된 종자를 형질전환용 재료로 사용하였으며, GA 10 mg/L가 첨가된 배지에서 1주일간 배 배양하여 자엽이 약 5mm정도 크기가 되었을 때 채취하여 다시 식물호르몬 무첨가 MS 배지에 250 mg/l의 세포탁심과 100 mg/L의 가나마이신을 첨가하여 FLHC 유전자 도입된 식물형질전환용 binary vector를 함유한 *Agrobacterium*을 이용하여 동시배양에 의해서 인삼형질전환을 유도하였

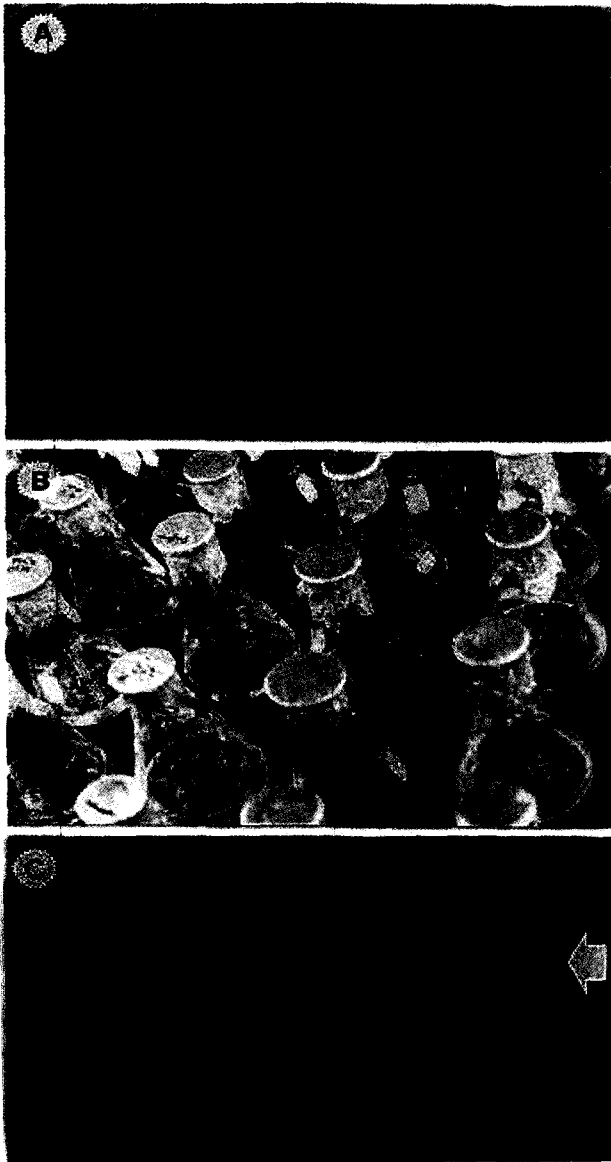


Fig. 2. Transgenic ginseng plantlets in the soil. (A) FLHC gene transgenic ginseng plantlet developed normal shoot and root. (B) Multiple propagation of plantlet. (C) Plantlet transferred to the soil. Arrow indicated plantlet was undergone water stress *in vitro* previously.

다. 약 2달 후 형성된 체세포배로부터 발아를 유도하기 위해서 MS배지에 10 mg/l GA₃가 첨가된 배지에 옮겼다. 형질 전환체식물체의 정상적인 성장을 유도하기 위해 배지의 종류 및 조성을 달리하여(MS, 1/2 MS, 1/3 MS, 1/5 MS, MS-NH₄NO₃) 최적의 배양조건을 조사하였는데 비교적 1/3MS배지에서 뿌리의 생

장과 지상부의 생장이 균일하게 성장하는 경향을 보여, 발아된 식물체를 1/3 MS 배지를 담은 100 ml 삼각 플라스크에 옮겨 식물체의 성장과 뿌리의 발육을 유도하여, 뿌리와 줄기가 잘 발달된 약 7cm의 유식물체 (Fig. 2A)를 대량으로 증식하여(Fig. 2B), 모래와 흙이 1:1로 혼합된 토양에 옮겼다. 특히 형질전환 인삼유식물체의 광 독립영양을 촉진시킬 수 있도록 설탕이 제거된 배지, 토양의 급작스런 습도에 적응하기 위해, 토양에 이식하기 전에 기내에서 뚜껑을 열어 수분에 대한 스트레스를 준 후 토양에 이식하였다(Fig. 2C). 그러나 토양에 이식된 식물체는 생존 상태가 매우 좋지 않아 지속적인 실험과 연구가 요구된다.

FLHC 유전자도입 인삼형질전환 단일배의 발생증대

형질전환 실험에서 유도된 약 50여개의 형질전환 인삼 체세포배를 곧바로 식물체로 재생시키지 않고, 이들 체세포배의 일부를 다시 배양하여 다수의 체세포배를 유도하려고 시도하였다. 인삼 체세포배가 식물체로 재생되지 않는 가장 큰 원인은 배발생중에 발생된 체세포배가 접합자배와 같이 단일배로 형성되지 않고 비정상적으로 여러 개가 융합된 다배가 형성되는 원인으로 해석된 바 있다(최등, 1998). 따라서 다배의 발생률을 낮추고 인삼 접합자배와 같은 형태를 지닌 정상적인 단일배의 발생률을 높이기 위해서는 원형질분리처리 방법이 개발된 바 있어서 이 방법을 시도하였다. 즉 발아직전의 형질전환 되었다고 추정되는 인삼 체세포배의 자엽을 1 M sucrose용액에 1일간 원형질분리 처리 후 회복시키고 나서 MS 기본배지에 배양할 경우 거의 모든 자엽(88%)에서 이차배가 발생되었으며 자엽 한 개당 약 10개에서 50여개의 고빈도의 배가 발생되었다(Table 2). 또한 발생된 배가 대부분 접합자배와 같은 단일배로 발생되었다. 따라서 기내에서 형질전환 인삼의 대량 생산방법의 기본적인 조건을 확립할 수 있었다.

본 실험결과 FLHC유전자에 형질전환된 인삼식물체가 유도된다면 환경스트레스에 의해서 많은 수량감소를 나타내고 있는 현 상황을 감안한다면 꼭

Table 2. Effect of plasmolyzing preagreement (1 M sucrose for 24 hours) on secondary somatic embryo formation from cotyledon explants of transgenic ginseng somatic embryos

Sucrose pretreatment (1 M)	Frequency of secondary embryo formation (%)	No. of secondary embryo per explant
No treatment	47	9
Treatment	88	25

필요한 신품종일 것으로 생각된다. 특히 식물에서도 ferritin이 정제, 특성화되어 주로 철의 저장 및 운반, 그리고 중금속의 정화기능이 보고 되어 있다. 인삼은 타식물에 비해 장기간 생장이 가능한 대표적인 다년생식물이지만 영양의 요구도가 매우 낮은 작물이다. 또한, ferritin은 Fe³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺, Cd²⁺, Be²⁺, Al³⁺ 등의 중금속 등과도 *in vivo*와 *in vitro*에서도 결합할 수 있어 이들 중금속 이온들의 무독화제로서의 역할을 수행할 수 있을 것으로 보고 되고 있다 (Price *et al.*, 1983 ; Sczekan *et al.*, 1987). 또한 척추동물의 경우에 철은 serumtransferrin, lactotransferrin, ovotransferrin과 같은 transferrins에 착합되어 있다. 이 transferrins는 glycoprotein으로 그 분자량은 약 80 kDa이며, 2개의 2가 철 분자와 결합이 가능하다. 이 transferrins의 주요기능은 세포내에 철을 흡착하거나 공급하는 역할을 한다. 철 이온은 세포벽의 plasmamembrane에 있는 특수한 receptor 단백질에 결합된 후 transferrin-complex 형태로 세포내에 들어간다. 이 transferrin receptor는 세포내의 철의 농도에 따라 조절된다 (Streu *et al.*, 2000). 철은 세포내로 흡수되는데 이러한 철의 흡수는 pH에 의해 좌우되며, 세포내로 흡수된 철은 proton motive force에 의하여 cytoplasm까지 이동된다. 그 후 철이 결합된 단백질 분자는 다시 transferrins의 매개에 의해 철을 흡수하기 위한 새로운 순환을 시작하게 된다. 만약 free iron이 세포내에 존재하면 이것은 hydroxyl기를 야기시켜 세포에 대단히 유독한 성분이 된다. 그러므로 철이 세포내에 방출되면 가용성의 유독하지 않은 형태로 공급되어야 한다. 포유동물에서는 이 방출된 철이온의 일부가 haemoglobin내의 haem에 결합되며, 대부분의 나머지 철분은 세포내의 철 저장 단백질인 ferritin에 저장된다. 이 ferritin 한 분자는 4500개의 철

원자와 결합할 수 있는 능력이 있으며, 바로 이 ferritin은 세포내로 철을 가용성의 독성이 없는 형태로 공급해 주는데 매우 중요한 역할을 한다 (Price *et al.*, 1983). 결론적으로 FLHC 유전자는 토양에 이온 상태로 존재하는 높은 농도의 중금속을 식물체가 흡수, 저장 할 수 있는 기능을 한다. 따라서 토양의 중금속 오염제거 뿐 아니라 중금속토양에서의 생존할 수 있는 기능을 제공한다. 인삼의 경우는 환경 stress 특히 토양의 염류에 민감한 특성을 지녀서 특수한 토양에서만 자랄 수 있고, 염류과다 토양에서는 염류장해 등 각종 피해를 입는다. 따라서 올챙이 (tadpole) 및 사람에서 추출한 중금속관련유전자인 FLHC 유전자를 형질전환기법을 이용하여 인삼식물체에 도입하여 기내에서 대량으로 식물체를 생산하여 보급함으로써 그 동안 적변 및 염류과다에 의해서 생산성이 감소된 것을 예방할 수 있을 것으로 사료된다.

적요

Ferritin light heavy chain (FLHC) gene는 일부 중금속과 결합, 저장 및 운반하여 무독화 시킬 수 있는 것으로 알려져 있다. Fe 관련 유전자인 FLHC유전자를 식물 발현용 promoter인 35S promoter와 Tnos를 사용하여 식물 형질전환용 vector를 재조합하였다. 식물 세포형질전환용 binary vector는 상기 cassette vector가 조립이 매우 양호하며 border sequence를 가지고 있는 pRD400 binary vector를 사용하여 최종적으로 가나마이신 내성유전자 (NPT II gene)와 tadpole ferritin heavy chain gene 및 human ferritin light chain gene를 함유하고 있는 binary vector를 재조합하였다.

Binary vector의 아그로박테리움에 도입은 tri-parental mating 방법에 의하여 수행하여 AB배지 및 가나마이신 함유 배지에서 disarmed Ti-vector를 가지고 있는 *Agrobacterium tumefaciens* MP90/FLHC 을 선별하였다. FLHC 유전자 도입된 식물형질전환용 binary vector를 이용하여 형질전환방법을 변형하여 많은 embryo를 유도하였으며 유도된 embryo들은 GA 10 mg/L가 첨가된 배지에 지상부를 유도하였다. 형질전환체식물체의 정상적인 성장을 유도하기 위해 최적의 배양조건을 조사하였던 바, 비교적 1/3 MS배지에서 뿌리의 성장과 지상부의 성장이 균일하게 성장하는 경향을 보였으며, 뿌리와 줄기가 잘 발달된 약 7cm의 유식물체를 대량으로 증식하여, 모래와 흙이 1:1로 혼합된 토양에 옮겨다.

감사의 글

본 연구는 농진청 Biogreen 21사업의 특용작물사업단의 일부 연구지원금에 의해서 수행되었으며 이에 대해 심심한 감사를 표하는 바이다.

인용문헌

Edwards A, 1991. Genetic marker technology. *Curr Opin Biotechnol.* 2(6):818-22.

Hiraga, H., T. Oshima, M. Ishida, and G. Kajiyama. 1996. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and salt sensitivity in essential hypertension. *Hypertension* 27:569-572.

Huraki, C. K., K. Taishi, S. Yamashita, and Kagawa. 1993. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using PCR and non-radioactive DNA probes. *Rinsho Byori* 41:1159-66.

Jolley, K. A., E. Rapaport, D.W. Hough, and M. J. Danson. 1996. Dihydrolipoamide dehydrogenase from the halophilic archaeon *Haloferax volcanii* : homology over expression of the cloned gene. *J.*

Ferritin Light Heavy Chain 유전자가 도입된 인삼형질전환체의 단일배발생을 통한 식물체의 기내증식

Bacteriol 178:3044-3048.

Laulhere J. P., A. M. Lescure, and J. F. Briat. 1988. Purification and Characterization of ferritins from maize, pea, and soybean seeds. *The J. of Biol. Chem.* 263(21):10289-10294.

Lee, J. M., and W. S Kwon. 1997. Changes of Cytokinins and Gibberellin Contents During Low Temperature Storage of Dehisced Ginseng. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science* 38(2):111-116.

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

Price, D. J., and J. G. Joshi. 1983. Ferritin-binding of beryllium and other divalent metal ions. *The J. of Biol Chem* 258(18):10873-10880.

Szczekan, S. R, and J.G. Joshi. 1987. Isolation and Characterization of ferritin from soyabean(*Glycine max*). *The J. of Biol. Chem.* 262(28): 13780-13788.

Streu, A., U. Jeschke, D. U. Richter, H. Muller, V. Briese, and K. Friese. 2000. Human amniotic fluid transferrin stimulates progesterone production by human trophoblast cells *in vitro* *Zentralbl Gynakol.* 122(8):407-412.

York, M. K., L. Gibbs, F. Chehab, and G. F. Broohs. 1996. Comparison of PCR detection of *mecA* with standard susceptibility testing methods to determining methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J. Clin Microbiol* 34:249-253.

Zhou, J., and P. B. Goldsbrough. 1994. Function homologs of fungal metallothionein genes from Arabidopsis. *The plant cell* 6:875-884.

Zhou, J.P., E.J. Roth, W. Terzaghi and K.G. Lark. 1981. Isolation of sodium dependent variants from haploid soybean cell culture. *Plant Cell Report* 1:48-51.

오승환, 박창석, 김영인. 1979. 적변삼 원인연구. 인삼연구보고서(재배분야). 고려인삼연구소. p3-15.

이종철, 천성기, 김요태. 1982. 인삼생육의 최적광량에 관한 연구. 제3보. 광도가 다른 조건하에서의

상면피복이 인삼생육에 미치는 영향. 고려인삼학회지 6(2):154-161.

최광태, 박지창, 김갑식, 임용표, 김남원, 양덕춘, 안인옥, 박성원, 이청호, 손종현. 1988, 식물유전공학기술개발. 한국인삼연초연구소(유전공학분야):104-122.

최광태, 박지창, 김갑식, 임용표, 김남원, 양덕춘, 안

인옥, 박성원, 이청호, 손종현, 강영희. 1988. 식물유전공학기술개발, 한국인삼연초연구소(유전공학분야): 176-187.

(접수일 2004. 5. 02)

(수락일 2004. 5. 31)