

*Agrobacterium rhizogenes*에 의하여 형질전환된 인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 모상근 배양에 의한 Saponin 생산

黃 柏 · 高 庚 珉 · 黃 景 花 · 黃 聲 振 · 康 榮 燾*
(전남대학교 생물학과, *연세대학교 생물학과)

Production of Saponin by Hairy Root Cultures of Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) Transformed with *Agrobacterium rhizogenes*

Hwang, Baik, Kyeong Min Ko, Kyeong Hwa Hwang,
Sung Jin Hwang and Young Hee Kang*
(Department of Biology, Chonnam National University, Kwangju and
*Department of Biology, Yonsei University, Seoul)

ABSTRACT

Cultures of hairy root induced from ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) transformed with *Agrobacterium rhizogenes* (strain A₄, ATCC 15834) were established and morphologically two different hairy root strains (HB1, HB2) were obtained. To determine the optimum growth rate, the hairy root (HB2) was cultured in various liquid medium supplemented with or without plant growth hormone. The growth rate of hairy root cultured on MS medium was 1.3-3.1 times higher than those cultured on other media, and the optimum sucrose concentration and pH were 3-6%, 5.5-6.5, respectively. Also, the growth rate of hairy root was increased when 0.02 M ammonium nitrate, 1.2 mM potassium phosphate (monobasic) and 0.5 mg/l IBA were supplied to liquid medium. The saponin patterns and contents of hairy root (HB2) were determined by TLC and HPLC. The crude saponin contents were 4.67% and the total saponin contents were 1.0%, on dry weight basis.

서 론

식물의 2차 대사산물은 의약품, 식품, 화장품, 색소, 향신료 등의 원료 및 소재로서 이들의 대량생산에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다. 이러한 연구의 일환으로, 식물 조직배양 방법은 자연에서 야기되는 많은 제약들을 극복할 수 있으며 인위적 조절이 가능하기 때문에 연구자들의 관심의 대상이 되었으며, 특히 *Agrobacterium rhizogenes*를 이용하여 형질전환된 모상근 배양을 통한 2차 대사산물의

생산에 대한 연구결과, alkaloids (Kamada *et al.*, 1986; Knopp *et al.*, 1988; Chisten *et al.*, 1989; Hiroshi *et al.*, 1990), pigments (Hamill *et al.*, 1986; Hwang *et al.*, 1989), saponins (Yoshikawa and Furuya, 1987; Ko *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 1990) 등의 유용물질 생산이 보고되어 있다.

*Agrobacterium rhizogenes*는 agropine형 root inducing (Ri)-plasmid를 가지고 있으며 (Loopstra *et al.*, 1990), 이 plasmid 상에는 T_L-DNA와 T_R-DNA가 존재하고, T_R-DNA 상에 opine 합성에 관여하는 유전자와 auxin 합성 유전자가 위치하고 있다. 또한 T_L-DNA 상에는 rol A-D라 불리는 4개의 기능유전자가 존재하고 있으며, rol B, C, D 유전자 중 어느 하나가 불활성화 되면 모상근이 형성되지 않는 것으로 보고되어 있다 (Maarten *et al.*, 1985; Rech *et al.*,

본 연구는 한국과학재단의 기초(일반) 연구지원비(관리번호 911-0408-062-2)에 의해 수행되었습니다. 연구비 지원에 감사드립니다.

1988; Hwang *et al.*, 1989; Schmulling *et al.*, 1989; Kim *et al.*, 1990; Ko *et al.*, 1990).

건강식품 및 각종질환의 치료제로 각광을 받고 있는 고려인삼은 과학적인 약리효능을 인정받아 그 수요가 점차 증가되고 있는 실정이나 세대 기간이 길고 해가림이라는 특수한 시설 조건 하에서만 재배가 가능하여 생산성 향상에 어려움을 안고 있다(Lee *et al.*, 1988). 또한 인삼은 재배 지역, 재배환경, 근년별, 근부위에 따라 각각의 성분함량이 모두 차이가 있으며, 이 중에서도 주성분인 saponin은 인삼제품에 대하여 엄격하게 함유량의 기준을 규정해 놓고 있어서 특정 성분의 함량을 증진시키기 위한 다각적 연구가 진행되고 있다(Kim *et al.*, 1987). 이러한 연구에 부응하여, 본 연구에서는 Ri-plasmid를 이용하여 인삼의 뿌리로부터 형질전환된 모상근을 유도, 배양하였으며, 모상근의 생장율을 증진시키기 위한 여러 조건들을 조사하였다. 또한 배양중인 모상근으로부터 모근과 동일한 성분인 saponin을 생산하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 사용균주. 자경종 수삼(5년근)을 70% (v/v) ethanol로 10분, 7%(v/v) NaOCl 용액으로 18분간 표면 살균하고 무균수로 3회 세척한 후 potato extract 액체 배지에서 2-3일 배양한 균(strain A₄, ATCC 15834)을 절단면에 접종하여 hormone free MS 한천배지(Vancomycin 100-300 mg/l)로 옮겨 배양하였다.

모상근의 배양. 위의 배양 조건에서 유도된 모상근을 절취하여 항생제가 첨가되어 있지 않는 동일한 배지로 옮겨 30-60일간 배양한 후, 생장이 활발한 모상근을 선별하여 동일한 액체배지로 옮겨 회전 진탕기(50 rpm)에서 암 배양(26°C)하였다. 아울러 성장 속도와 외부 형태의 차이에 의해 선별된 strain(HB1, HB2라 명명함)은 각각 20일과 10일 간격으로 새로운 배지를 첨가하여 steristops(porous cellulose stoppers)를 사용한 250 ml 삼각플라스크에서 배양하였다.

배지별 모상근의 성장 효과. 모상근의 성장에 미치는 여러 가지 배지의 효과를 알아보기 위해 HB1에 비하여 성장 속도가 빠른 모상근(HB2)을 3%의 sucrose(pH 5.8)가 첨가된 hormone free MS(Murashige and Skoog, 1962), RCM(White and Nester, 1980), N6(Chu *et al.*, 1976), GM(Li and Murai, 1986) 배지(각각을 MSO, RCMO, N6O, GMO로 표시하였음)에 접종한 후 10일 간격으로 모상근의 생장율을 측정하였다.

모상근의 성장에 따른 배지별 용존 산소량 측정. 모상근의 성장에 따르는 요구 산소량을 조사하여 연속적인 산소공급의 필요성을 검토하기 위하여 Oxygen meter(YSI

Model 51B, Yellow Springs Instrument Co., USA)를 사용하여 새로운 배지 첨가 후 1일 간격으로 10일 동안의 배지별 용존 산소량을 측정하였다.

모상근의 성장에 미치는 sucrose와 pH의 영향. MS 기본 배지에 모상근을 접종한 후 sucrose 농도를 2-8%, pH 2-8까지 변화시켜 35일 동안의 생장을 변화를 측정하였다.

Nitrogen과 phosphorus 조합에 의한 모상근의 성장 효과. MS 기본 배지의 질소원으로서 NH₄NO₃, 인산원으로서 KH₂PO₄의 비율을 아래와 같이 조합하여 10일 간격으로 생장율을 측정하였다.

- NH₄NO₃ (0.02 M), KH₂PO₄ (1.2 mM)
- NH₄NO₃ (0.01 M), KH₂PO₄ (2.4 mM)
- NH₄NO₃ (0.04 M), KH₂PO₄ (0.6 mM)

IBA 첨가에 의한 모상근의 성장 효과. MS 배지에 IBA 농도를 각각 0.5-2.0 mg/l 처리하여 10일 간격으로 생장율을 측정하였다.

Crude saponin의 추출. Crude saponin은 수포화 n-butanol 추출방법(Ko *et al.*, 1989)으로 추출, 분리하였다. 건조 분말시료 3g씩을 취하여 70-75°C 수욕조에서 80% methanol 50 ml로 5회 추출하여 여과, 농축 후 50 ml의 증류수로 2회 세척하고 ethyl ether를 가하여 지질 등을 제거한 다음, 수층을 수포화 n-butanol로 4회 추출하여 n-butanol 층을 모두 합하여 이 n-butanol 용액을 다시 증류수로 2회 세척한 후 수층을 버리고, n-butanol 용액만을 감압 농축시켜 증량법으로 crude saponin 함량을 측정하였다.

TLC 분석. 수포화 n-butanol 추출 방법으로 추출된 crude saponin을 silica gel plate(Art. 5554, Merck Co.)에 5 μl 점적하여 CHCl₃:MeOH:H₂O(65:35:10)으로 전개시킨 후 30%-sulfuric acid(v/v)을 분무하여 105°C의 건조기에서 발색시켰다.

HPLC 분석. Crude saponin을 약 5%(w/v)되도록 HPLC용 methanol에 녹여 0.45 μm millipore filter로 여과한 후 20 μl을 HPLC기(Waters Associates Model 244)에 주입하여 saponin 함량을 분석하였다. 이 때 사용한 acetonitrile과 n-butanol은 E. Merck 회사의 HPLC용 용매류를, ginsenoside 표준품은 한국인삼연조연구소에서 분리한 표준품을 사용하였으며 분석조건은 다음과 같다. [Lichrosorb-NH₂ column(Merck, 5 μm, 25×0.46 cm I.D.), RI-401 (differential refractometer) detector, Acetonitrile/H₂O/n-Butanol(80:20:15) solvent, 1.0 ml/min. flow rate, Attenuator 8x, Data module, 1.0 cm/min, chart speed] 또한 chromatogram의 각 peak는 표준화 saponin의 chromatography에 의하여 동정하고 각 ginsenoside의 함량은 peak height로 계산하였다.

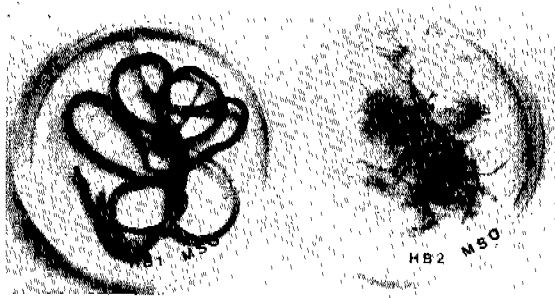


Fig. 1. Morphological differences of hairy root cultured on hormone free MS liquid medium. HB1: thick, slowly branching hairy root; HB2: thin, vigorously branching hairy root.

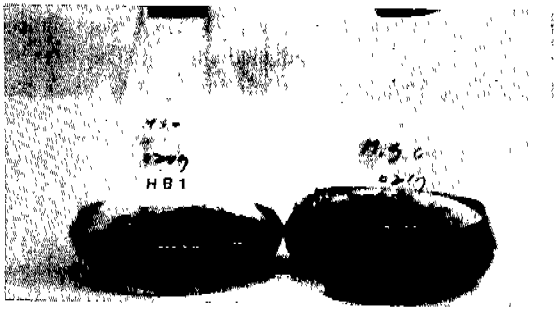


Fig. 2. Hairy root grown in hormone free MS liquid medium.

결과 및 고찰

모상근 strain의 선별. 균 접종 후 12주가 경과하여 형성층 부위로부터 유도된 모상근을 MS 배지에 배양하였을 때, 외부 형태상 명확하게 구분되는 두 가지 strain(HB1, HB2로 명명함)을 얻을 수 있었다(Figs. 1 and 2). HB1은 지금까지 보고된 여러 식물종으로부터 유도된 모상근과는 다르게 근단을 제외한 모든 부위가 비후되었고(직경, 3-4 mm) branch 형성율이 매우 빈약하였으며, HB2는 전형적인 모상근의 성장 특징을 나타내어 많은 branch를 형성하여 활발히 성장중인 근단을 제외한 다른 부위의 비후 정도(직경, 1-2.5 mm)가 HB1에 비하여 뒤떨어졌다. Fig. 3은 두 가지 strain을 MSO 배지(sucrose 3%, pH 5.8h)에 배양하여 시간의 경과에 따른 성장율을 측정된 것으로, HB1에 비하여 HB2가 3.7배의 성장을 증가를 보였다.

배지별 모상근의 성장 효과. 배지에 따른 모상근(HB2)의 성장율을 조사하기 위하여 40일 동안 각각의 배지에서 배양한 결과, 모상근의 성장율이 MSO>N6O>RCMO>GMO 배지의 순서로 나타났으며, MSO 배지에서 성장하는 모상근의 경우에는 N6O에 비해 1.3배, RCMO에 비해, 1.8

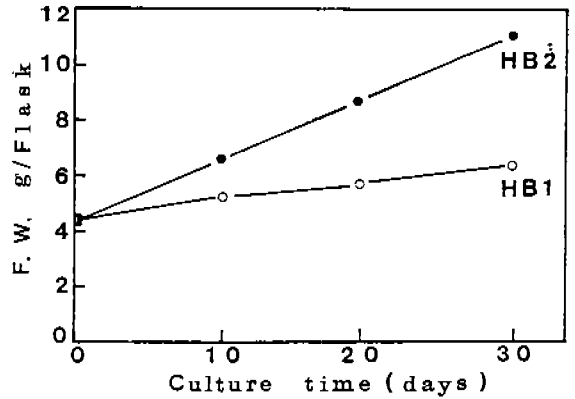


Fig. 3. Growth rate of two different hairy root strains in hormone free MS liquid medium at 250 ml flask. Initial fresh weight of hairy root for each passage was 4.4 g×3. Data for each culture time indicated is an average fresh weight of hairy root.

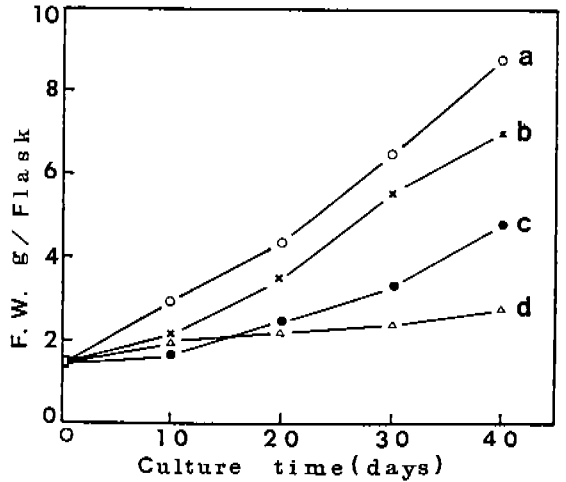


Fig. 4. Effect of various media on growth of hairy root in hormone free liquid culture at 250 ml flask. Initial fresh weight of hairy root for each passage was 1.5 g×3. Data for each culture time indicated is an average fresh weight of hairy root.

배, GMO에 비해 3.1배의 성장율을 보여 MSO 배지가 모상근의 성장에 매우 적합함을 알 수 있었다(Fig. 4). 또한 위의 배지에서 성장중인 모상근의 가시적 구분으로 MSO와 N6O 배지에서는 모상근의 전형적인 특징을 보이나, GMO 배지의 경우 근단 부분이 두꺼워지며 생장이 둔화되었고, RCMO 배지의 경우 전체적으로 매우 가늘게 성장하였다. Hiroshi 등(1990)은 *Lobelia inflata* L.의 모상근을 배양시 배지조건이 성장율과 형태 형성에 많은 영향을 주어 MS,

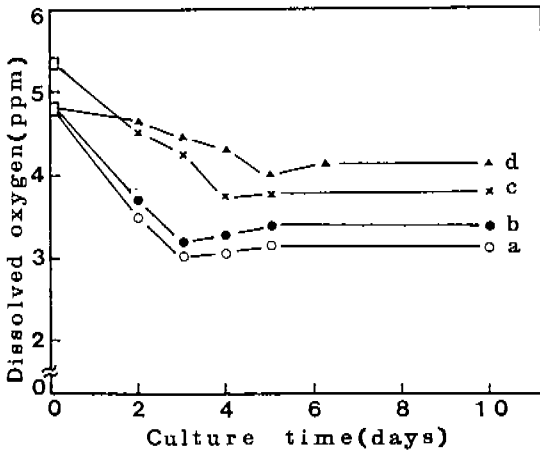


Fig. 5. Concentration of dissolved oxygen on hairy root growing in 50 ml various media at 250 ml flask. The stopper was steristops (porous cellulose stoppers).

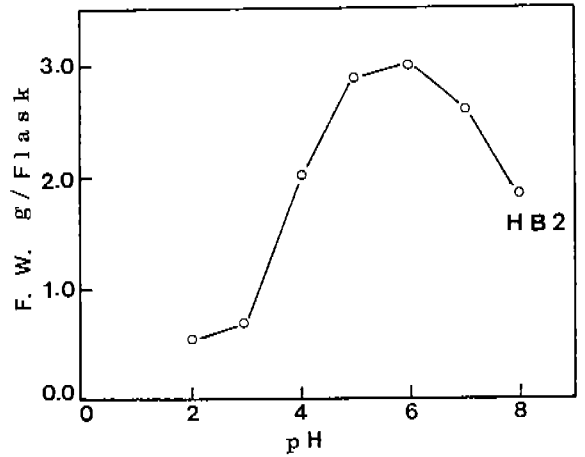


Fig. 7. Effect of pH on growth of hairy root cultured on hormone free MS liquid medium in 100 ml flask for 35 days. Initial fresh weight of hairy root for each passage was 500 mg \times 3. Data for each pH indicated is an average fresh weight of hairy root.

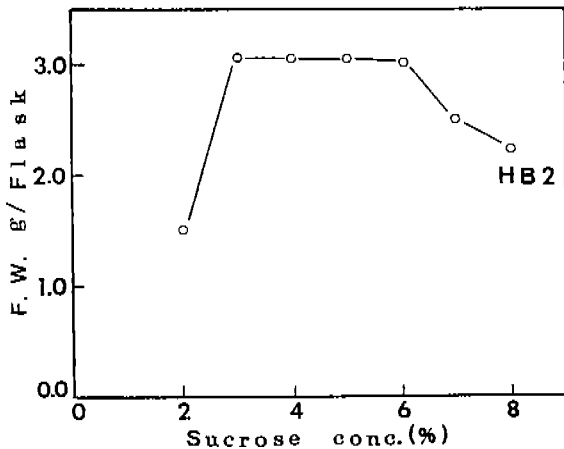


Fig. 6. Effect of sucrose concentration on growth of hairy root cultured on hormone free MS liquid medium in 100 ml flask for 35 days. Initial fresh weight of hairy root for each passage was 500 mg \times 3. Data for each sucrose concentration indicated is an average fresh weight of hairy root.

1/2 MS, B5 배지에서 배양한 모상근의 경우 많은 branch를 형성하여 생장율이 높고, 반면에 NN 배지에서 배양한 모상근의 경우 branch 형성이 빈약하여 생장율이 1/3 정도 뒤떨어진다고 하였으며, Hwang 등(1989)과 Kim 등(1990)은 carrot과 ballon flower의 경우 AA와 MS 배지에서 모상근의 생장율이 가장 양호하다고 하였는데, 본 실험결과 이와 매우 일치하는 경향을 나타내었다.

모상근의 생장에 따른 배지별 용존 산소량 측정. 뿌

리의 생장에 있어 산소의 공급은 필수적으로 작용하기 때문에 배양 용기내의 통기는 매우 중요한 의미를 갖는다. Fig. 5는 배지별 모상근의 생장에 따른 용존 산소량을 측정할 것으로, 모상근의 생장이 가장 왕성한 MSO와 N60 배지의 경우 배양 3일째 배지내의 용존 산소량이 처음에 비해 1.5-1.8 ppm 정도 감소하였다. 또한 배양 용기의 마개로서 steristops가 아닌 aluminum foil을 사용하였을 경우는 배지내의 용존 산소량이 처음에 비해 2.5 ppm 이상 감소하였으며 생장 속도도 떨어졌다(자료 미제시). Park 등(1990)은 생물 반응기를 이용한 모상근의 배양에 있어서 반응기내의 용존 산소는 초기 50.8%에서 16일 배양시 27.5%까지 떨어져서 지속적 산소 공급이 필요성을 암시하였는데, 본 실험결과 이와 같은 용존 산소량의 감소는 모상근의 생장에 따르는 산소요구량 증가로 판단되며, 초기 산소량에 비해 1.5-1.8 ppm 정도의 감소는 모상근의 생장에 영향을 미치지 못할을 암시하였다. 한편, 3일 이후 약간 증가하는 용존 산소량은 통기를 허용하는 배양 용기의 마개 때문으로 사료되었다.

모상근의 생장에 미치는 sucrose와 pH의 영향. Figs. 6과 7은 모상근의 생장에 미치는 sucrose 함량과 pH 변화를 조사한 것이다. MS 기본배지의 3%와 비교하였을 때, 4-6%는 비슷한 생장율을 나타내었고, 특히 이 범위에서는 sucrose 농도가 증가함에 따라 전체적으로 비후되는 경향으로 생장하였으며, 2.5% 이하와 7% 이상의 농도에서는 생장율이 감소하였다. 또한 pH의 변화에 의한 모상근의 생장율은 pH 2-8까지의 범위 중에서 pH 5.5-6.5에서 최대

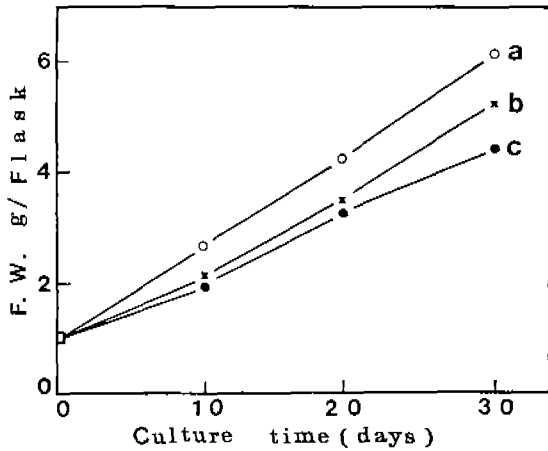


Fig. 8. Effect of nitrogen and phosphorus combination on growth of hairy root in hormone free MS liquid medium at 250 ml flask. Initial fresh weight of hairy root for each passage was 1g×3. Data for each culture time indicated is an average fresh weight of hairy root.

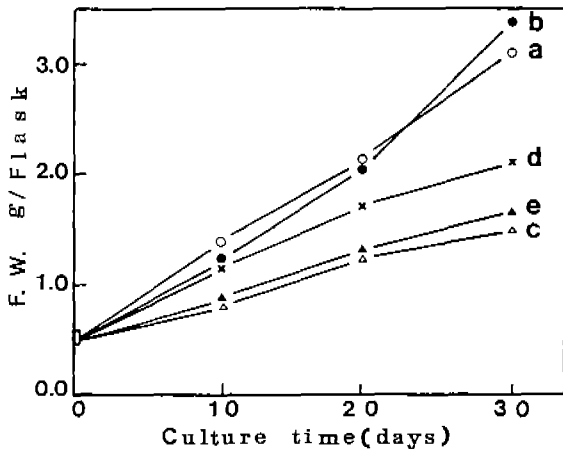


Fig. 9. Effect of IBA on growth of hairy root in MS liquid medium at 250 ml flask. Initial fresh weight of hairy root for each passage was 500 mg×3. Data for each culture time indicated is an average fresh weight of hairy root.

생장을 나타냈다. Hwang 등(1989)과 Kim 등(1990)에 의하면 carrot 모상근의 경우에는 sucrose 5%, pH 4-8, balloon flower의 경우 sucrose 6%, pH 5-6에서 모상근의 최적 생장을 보였으며, Mano 등(1986)은 *Scopolia japonica*의 모상근 배양시 pH 7에서 최적 생장을 나타낸다고 하였는데, 본 실험결과 식물종에 따라 최적 sucrose의 농도와 pH가 서로 다를 수 있음을 알 수 있었다.

Nitrogen과 phosphorus 조합에 의한 모상근의 성장 효과.

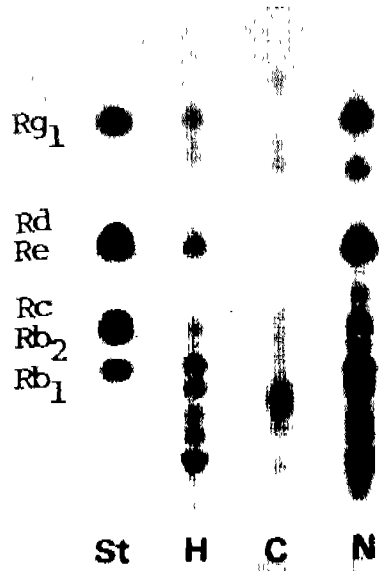


Fig. 10. Thin layer chromatograms for saponin components of callus, hairy root and ginseng native root. Lane St, standard saponin; Lane H, hairy root (HB2); Lane C, ginseng callus; Lane N, native root.

Fig. 8은 모상근의 생장에 미치는 nitrogen과 phosphorus의 효과를 조사하기 위하여 MS 기본 배지의 NH_4NO_3 와 KH_2PO_4 의 농도를 조합하여 생장율을 비교한 것이다. MS 기본 배지의 농도에서 (a), NH_4NO_3 의 농도를 2배로 증가시키고 KH_2PO_4 의 농도를 1/2로 감소시킨 경우와 (c), NH_4NO_3 의 농도를 1/2로 감소시키고 KH_2PO_4 의 농도를 2배로 증가시킨 경우 (b)는 모두 MS 기본배지의 농도 조합에 비하여 생장율이 떨어졌다. Salisbury와 Ross(1978)에 의하면 뿌리의 생장에 있어서 nitrogen과 phosphorus는 서로 상보적으로 작용하여 N이 과다하면 뿌리의 생장이 억제되며, P가 과다하면 뿌리의 생장이 촉진된다고 하였는데, 본 실험결과 P와 N의 적절한 농도 조합이 모상근의 생장에서도 촉진효과를 나타내는 것으로 사료되었다.

IBA 첨가에 의한 모상근의 성장 효과. Fig. 9는 모상근의 생장에 미치는 IBA의 영향을 살펴본 것으로, IBA 무첨가 배지에 비하여 IBA 0.5 mg/l 첨가 배지에서 생장이 다소 촉진되었으며 IBA 1 mg/l 이상의 농도에서는 근단 부위에 별 모양의 돌기가 형성되고 생장이 둔화되는 경향을 나타내었다. Hwang 등(1989)은 carrot 모상근의 경우 2,4-D 10^{-4} mg/l에서 모상근의 생장이 상당히 증가를 보인다고 하였으며, Yoshikawa와 Furuya(1987)는 인삼 칼투스에서 유도된 모상근의 경우 IBA 2 mg/l, Kinetin 0.1 mg/l에서 가장 높은 생장율을 보인다고 하였는데, 본 실험 결과에

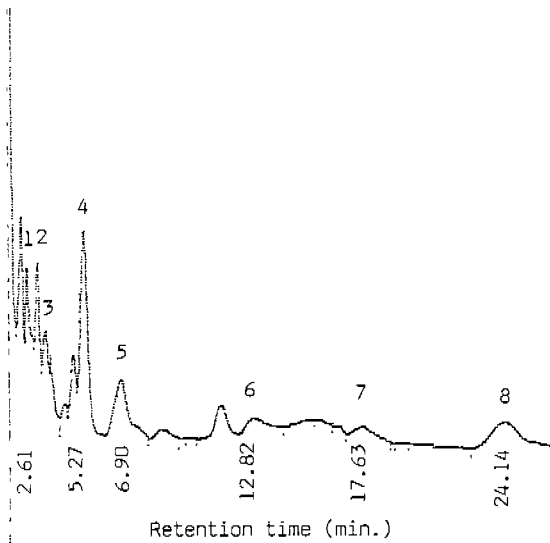


Fig. 11. HPLC chromatograms for ginsenosides in ginseng hairy root (HB2) cultured for 6 months. Peaks, 1-Rg2; 2-Rg1; 3-Rf; 4-Re; 5-Rd; 6-Rc; 7-Rb2; 8-Rb1.

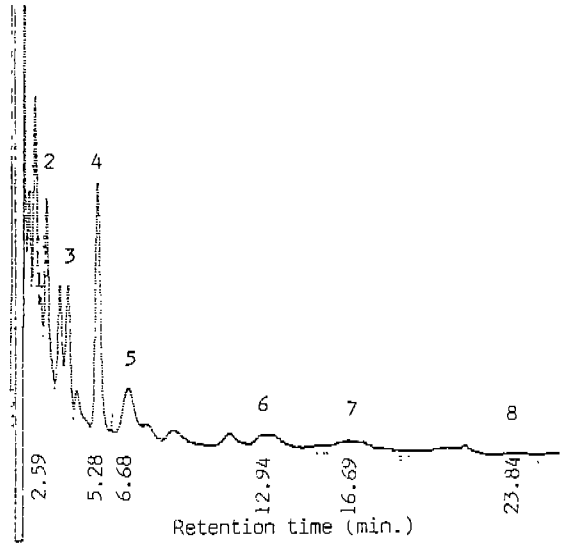


Fig. 12. HPLC chromatograms for ginsenosides in ginseng callus cultured for 6 months. Peaks, 1-Rg2; 2-Rg1; 3-Rf; 4-Re; 5-Rd; 6-Rc; 7-Rb2; 8-Rb1.

서도 저농도의 IBA 첨가시 생장이 다소 촉진되었으며, 인삼 모상근의 초기 성장속도 증진에는 저농도의 IBA가 요구되는 것으로 사료되었다. 또한 성장 속도를 지속적으로 증가시키기 위해서는 배양 기간과 IBA의 농도를 더욱 세분하여 장기간에 걸쳐 조사해야 할 필요성이 있다고 판단된다.

TLC 분석. Fig. 10은 6개월간 배양한 모상근과 칼루스, 그리고 자경종 수삼(5년근)을 재료로 각각 crude saponin을 추출하여 TLC plate에서 전개한 것이다. CHCl₃: MeOH: H₂O(65:35:10)을 전개용매로 사용하여 분리한 바, 5년근 수삼과 형질 전환된 모상근에서는 standard와 같은 ginsenoside patterns를 보이고 있으나, 칼루스에서는 상이한 양상을 나타내었다. Yoshikawa와 Furuya(1987)는 형질 전환조직인 모상근이 정상조직과 동일한 ginsenoside

patterns을 보인다고 하였는데, 본 실험 결과도 이와 일치함을 알 수 있었다.

HPLC에 의한 saponin 정량. 인삼 saponin은 미량 saponin 성분(ginsenoside-Ro, Ra₁, Ra₂, Ra₃, Rf, Rh₁, Rh₂ 등)들 까지도 화학구조가 규명되어 백삼에서 총 22종의 saponin 성분이 보고되었다(Ko *et al.*, 1989). Figs. 11과 12는 6개월간 배양한 모상근과 칼루스의 개별 ginsenoside patterns을 비교하여 본 것으로, 조성 patterns이 다소 차이를 나타냄을 알 수 있었다. 또한 crude saponin 함량에 있어서도 모상근의 경우 4.72%, 칼루스의 경우 3.06%로 상당한 차이를 나타내며, total saponin 함량에서도 모상근(1.0%)이 칼루스(0.73%)에 비하여 높게 나타났다(Table 1). 또한 TLC에 의해서는 뚜렷하게 나타나지 않았던 칼루스의 ginsenoside patterns이 HPLC 분석결과 PT 계열을

Table 1. Crude saponin and ginsenoside content of callus and hairy root cultured for 6 months in *Panax ginseng*

| Tissue | Contents of ginsenosides(%) per 3g Dry wt. | | | | | | | | | PD/PT ²⁾ | Crude saponin |
|----------------------|--|------|------|------|------|------|------|------|-------------------|---------------------|---------------|
| | Rb1 | Rb2 | Rc | Rd | Re | Rf | Rg1 | Rg2 | T.G ¹⁾ | | |
| HR ³⁾ | 0.16 | 0.08 | 0.08 | 0.09 | 0.22 | 0.14 | 0.11 | 0.12 | 1.00 | 0.70 | 4.72 |
| Callus ⁴⁾ | — | — | 0.04 | 0.06 | 0.26 | 0.17 | 0.13 | 0.07 | 0.73 | 0.16 | 3.06 |

¹⁾Total ginsenosides quantified with HPLC. ²⁾PD (panaxadiol ginsenosides), Rb1+Rb2+Rc+Rd; PT (panaxatriol ginsenosides), Re+Rf+Rg1+Rg2. ³⁾Hairy root cultured on hormone free MS liquid medium (sucrose 3%). ⁴⁾Ginseng callus cultured on MS agar medium (2,4-D 3 mg/l, sucrose 3%).

중심으로 검출되었으며, 인삼 모근의 주 성분인 ginsenoside-Re가 모상근과 칼루스에서 주성분으로 확인되었다. Ko 등(1990)과 Yoshikawa와 Furuya(1987)에 의하면 인삼 모상근 배양에 의한 saponin 생산은 배지 조건이나 strain에 따라 0.35-1.18%의 함량 차이를 나타내었는데, 본 연구 결과는 HB2를 6개월간 MSO 배지에 배양하여 1.0%의 함량을 보였으며, 현재 보유하고 있는 HB2는 활발히 성장중인 부위를 제외하고 다른 모든 부위가 최대 2.5 mm 까지, HB1은 3-4 mm까지 비후되므로 지속적인 연구를 통해 단위 그램당 saponin 함량을 증가시킬 수 있는 조건들을 조사한다면 더 좋은 성과를 거둘 수 있으리라 사료되며, 이러한 연구는 진행 중에 있다.

적 요

자경종 수삼(5년근)뿌리 절편에 *Agrobacterium rhizogenes*를 접종하여 모상근을 유도하였고, 유도된 모상근의 배양조건과 saponin 함량을 조사하였다. 유도된 모상근을 hormone free MS 배지에 배양하였을 때, 외부 형태상 명확하게 구분되는 두 가지 strain(HB1, HB2)을 얻을 수 있었으며, 모상근(HB2)의 배지별 성장율은 다른 배지에 비하여 MS 배지에서 1.3-3.1배 높았고, 최적 sucrose 농도와 pH는 각각 3-6%, 5.5-6.5로 나타났다. 또한 질소원과 인산원의 조합에 의한 모상근의 성장율은 0.02 M NH_4NO_3 와 1.2 mM KH_2PO_4 에서 가장 높았으며, MS 액체 배지에 IBA 0.5 mg/l을 첨가하였을 때 생장율이 다소 증가하였다. TLC 분석 결과 모상근의 ginsenoside patterns은 인삼 모근과 동일하였으며, 정량분석 결과 모상근(HB2)에서의 crude saponin 함량은 4.67%, total saponin 함량은 1.0%로 나타났다.

참 고 문 헌

Christen, P., M.F. Roberts, J.D. Phillipson and W.C. Evans. 1989. High-yield production of tropane alkaloids by hairy root cultures of a *Datura candida* hybrid. *Plant Cell Reports* 8: 75-77.

Chu, C.C., C.C. Wang, C.S. Sun, C. Hsu, C.K. Yin, C.Y. Chu and F.Y. Bi. 1976. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen source. *Sci. Sinica* 18: 659-668.

Hamill, J.D., A.J. Parr, R.J. Robins and M.J.C. Rhodes. 1986. Secondary product formation by cultures of *Beta vulgaris* and *Nicotiana rustica* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Cell Reports* 5: 111-114.

Hiroshi, Y., K. Shimomura, M. Satake, S. Mochida, M. Tanaka, T. Endo and A. Kaji. 1990. Lobeline production by hairy root culture of *Lobelia inflata* L. *Plant Cell*

Reports 9: 307-310.

Hwang, B., J.C. An and J.H. Lee. 1989. Physiological studies on the formation of hairy root by the *Agrobacterium rhizogenes*; IV. Culture of hairy root and survey of the culture condition. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 4: 246-252.

Kamada, H., N. Okamura, M. Satake, H. Hirada and K. Shimomura. 1986. Alkaloid production by hairy root cultures in *Atropa belladonna*. *Plant Cell Reports* 5: 239-242.

Kim, M.W., S.R. Ko, K.J. Choi and S.C. Kim. 1987. Distribution of saponin in various sections of *Panax ginseng* root and changes of its contents according to root age. *Korean J. Ginseng Sci.* 11: 10-16.

Kim, B.R., J.H. Lee and B. Hwang. 1990. Culture of hairy roots induced by *Agrobacterium rhizogenes* in *Platycodon grandiflorum* DC. *Korean J. Bot.* 33: 183-188.

Knopp, E., A. Strauss and W. Wehrli. 1988. Root induction on several Solanaceae species by *Agrobacterium rhizogenes* and the determination of root tropane alkaloid content. *Plant Cell Reports* 7: 590-593.

Ko, K.S., I.O. Heo, J.S. Ko and W.J. Lee. 1990. Ginsenoside production by hairy root cultures of *Panax ginseng* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 5: 263-268.

Ko, S.R., K.J. Choi, S.C. Kim and M.W. Kim. 1989. Contents of crude saponin and ginsenosides in white ginsengs. *Kor. J. Pharmacol.* 20: 170-174.

Lee, J.C., D.J. Ahn and J.S. Byen. 1988. Studies on the growth and change of mineral nutrient contents in ginseng (*Panax ginseng*) plant during the growing process. *Kor. J. Crop Sci.* 32: 471-475.

Li, Z. and N. Murai. 1990. Efficient plant regeneration from rice protoplast in general medium. *Plant Cell Reports* 9: 216-220.

Loopstra, C.A., A.N. Stomp and R.R. Sederoff. 1990. *Agrobacterium*-mediated DNA transfer in sugar pine. *Plant Mol. Biol.* 15: 1-9.

Maarten, H.R., M.E. Tate and A. Kerr. 1985. Virulence properties of strains of *Agrobacterium* on the apical and basal surfaces of carrot root discs. *Plant Physiol.* 77: 215-221.

Mano, Y., S. Nabehsima, C. Masui and H. Ohkawa. 1986. Production of tropane alkaloids by hairy root cultures of *Scopolia japonica*. *Agricul. Biol. Chem.* 50: 2715-2722.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.

Park, S.H., D.H. Park, J.H. Kim, B.K. Hur and Y.I. Toe. 1990. Basic studies on cultivation of transformed plant tissue in bioreactor. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 5: 207-214.

Rech, E.L., T.J. Golds, N. Hammatt, B.J.J. Mulling and M.R. Davey. 1988. *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation of the wild soybeans *Glycine canescens* and *G.*

- clandestina*: production of transgenic plants of *G. canescens*. *J. Exp. Bot.* **39**: 1275-1285.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross 1978. Nutrient deficiency symptoms. *In*, Plant Physiology, F.B. Salisbury and C.W. Ross (eds.). Wadsworth Publishing Company, Inc., Belmont, California. pp.88-91.
- Schmulling, T., J. Schell and A. Spena. 1989. Promoters of the *rol* A, B, and C genes of *Agrobacterium rhizogenes* are differentially regulated in transgenic plants. *Plant Cell* **1**: 665-670.
- White, F.F. and E.W. Nester. 1980. Hairy root; plasmid encodes virulence traits in *A. rhizogenes*. *J. Bacteriol.* **141**: 1134-1141.
- Yoshikawa, T. and T. Furuya. 1987. Saponin production by cultures of *Panax ginseng* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Cell Reports* **6**: 449-453.
(1991. 10. 26 接受)