

pTi-12 를 함유한 한국산 *Agrobacterium tumefaciens* KU12 의 숙주범위

全 庚 雅 · 李 永 祿 · 沈 雄 燮
(고려대학교 생물학과)

Host Range of pTi-12 Contained *Agrobacterium tumefaciens* KU12 Isolated from Korea

Jun, Geoung-A, Yung Nok Lee and Woong Seop Sim

(Department of Biology, Korea University, Seoul)

ABSTRACT

In order to investigate the host range of *Agrobacterium tumefaciens* KU12 containing pTi-12, 28 species of dicotyledonous plants were infected with KU12, A136 without Ti plasmid and A348 containing pTi A6, respectively. KU12 and A348 induced tumor in 20 species and 14 species, respectively. This result showed that KU12 has a wide host range. Therefore, it was confirmed that KU12 and pTi-12 are very useful for developing plant vector system having a broad host range.

서 론

Agrobacterium tumefaciens 는 그람음성 토양세균으로서, 자신에게 알맞은 숙주식물체에서 종양을 유발하는 Ti plasmid 를 갖고 있다(DeCleene and Deloy, 1976).

종양형성 과정을 살펴보면 *Agrobacterium* 열색체내의 virulent 지역의 *chvA*, *chvB* (Douglas *et al.*, 1985), *pscA* (*exoC*) (Cangelosi *et al.*, 1987)에서 생성된 물질에 의하여 *Agrobacterium* 이 식물세포벽에 부착되고, 식물의 상처난 부위에서 분비되는 phenolic compound 가 *virA* protein 에 의해서 인식되든지 또는 bacteria 의 세포내로 운반되어 (Leroux *et al.*, 1987; Stachel and Zambryski, 1986) 들어감으로써 그 결과 *virG* protein 을 활성화시킨다 (Stachel and Zambryski, 1986). 활성화된 *virG* protein 은 *virA* 와 *virG* 를 포함하여 *virB*, *C*, *D*, *E*, *F* 등의 유전자를 발현시키고, *virD* protein 이 T-DNA 의 오른쪽 border 와 왼쪽 border 를 잘라 단일가닥 T-DNA 를 형성한다 (Yanofsky *et al.*, 1989). 이는 *virE* protein 과 결합하여 단일가닥 DNA-protein 복합체로 변환 후 식물세포내로 이동한다 (Christie *et al.*, 1988). 그 뒤 이 복합체가

식물체 DNA 의 adenine 과 thymine 이 풍부한 지역으로 삽입되면 (Gheysen *et al.*, 1987), TL DNA 의 *tmr* 에서 생성된 isopentenyl transferase 가 cytokinin 생합성을 촉진하고 (Akiyoshi *et al.*, 1984), *tms1* 의 산물은 tryptophan 을 indole-3-acetamide 로 전환시킨다 (Thomashow *et al.*, 1986). *tms2* 의 산물은 이를 indole-3-acetic acid (primary auxin) 로 전환시켜 (Inze *et al.*, 1984) 결국 auxin 과 cytokinin 에 의해 미분화된 상처난 조직세포가 분열하여 종양을 형성한다. TL DNA 의 *ocs* 에서 생성된 octopine synthase 가 pyruvate 와 arginine 의 reductive condensation 을 촉매하여 octopine 을 합성한다 (Kemp, 1982). *oms* 는 octopine 이 식물세포막을 통과할 수 있도록 매개해주는 운반 단백질을 만든다 (Messens *et al.*, 1985). 이 octopine 을 *Agrobacterium* 이 탄소와 질소원으로 이용한다 (Klapwijk *et al.*, 1978).

이상에서 설명한 특성을 가지고 식물에서 종양을 유발하는 Ti plasmid 는 고등식물의 형질전환에 관여하는 vector 로 개발될 수 있는데, vector 로 가치가 있으려면 wide host range 를 가져야 한다.

따라서, 본 연구는 연구실에서 분리동정한 octopine

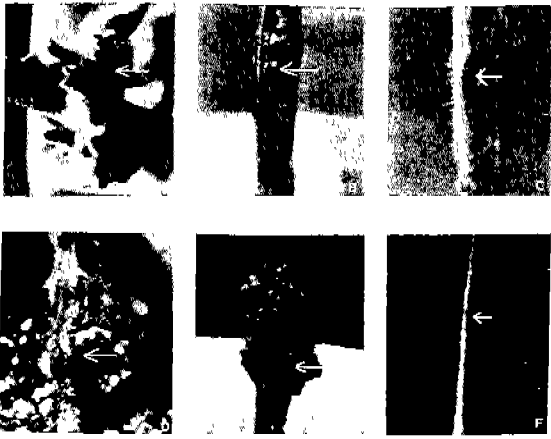


Fig. 1. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on Tobacco and Tomato. A, Tobacco which was grown for 40 days after inoculation of KU12 (pTi-12). B, Tobacco which was grown for 30 days after inoculation of A348 (pTi A6). C, Tobacco which was grown for 30 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). D, Tomato which was grown for 40 days after inoculation of KU12 (pTi-12). E, Tomato which was grown for 25 days after inoculation of A348 (pTi A6). F, Tomato which was grown for 30 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). Arrows indicated inoculation site and tumor.



Fig. 2. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on Potato and Lettuce. A, Potato which was grown for 40 days after inoculation of KU12 (pTi-12). B, Potato which was grown for 40 days after inoculation of A348 (pTi A6). C, Potato which was grown 40 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). D, Lettuce which was grown for 25 days after inoculation of KU12 (pTi-12). E, Lettuce which was grown for 25 days after inoculation of A348 (pTi A6). F, Lettuce which was grown for 25 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). Arrows indicated inoculation site and tumor.

type 인 한국산 *Agrobacterium tumefaciens* KU12 내에 있는 종양유발 plasmid 인 pTi-12를 식물체 형질전환 vector로 개발하기 위해 pTi-12를 함유한 KU12의 숙주 범위를 조사하였다.

재료 및 방법

식물체 생장. *Kalançõe daigremontiana*는 미국 Nester의 실험실에서 분양받았고, 담배(*Nicotiana tabacum*)는 KIST에서 분양받았다. 그밖의 Table 1의 식물체들은 중앙종묘상사, 아람종묘상사에서 씨를 구입하여 이들을 vermiculite : peat moss = 5 : 1로 섞은 토양에 파종하여 (Bonner and Galston, 1959), 항온실에서 광주기 16시간, 온도 $25 \pm 3^\circ\text{C}$ 에서 약 1달 정도 길러서 *Agrobacterium*으로 접종하는데 사용하였다.

균주배양. 본 연구실에서 분리동정한 octopine type 인 KU12(pTi-12)와 그의 실험대조구로써 Nester의 실험실에서 받은 A348(pTi A6), A136(without Ti plasmid)을 MG/L agar 배지 (Garfinkel and Nester, 1980)에서 약 16시간, 28°C , 암처에서 키운 뒤 곧바로 식물체에 접종하였다.

Tumor 형성. 멸균된 toothpick으로 뿌리와 본 잎사이의 줄기에 상처를 내었으며, *Kalançõe daigremontiana*는 잎이 두꺼우므로 잎에도 상처를 내었다. 그 후, 서로 다

른 멸균된 toothpick로 세균의 단일 colony를 따서 상처 부위에 접종하였다. 줄기가 특히 가는 식물체는 1ml 주사 바늘로 접종하였다.

접종한 뒤에는 상처부위에 물이 닿지 않도록 조심하여 급수하면서 약 10일 후부터 종양분열 상황에 따라 사진을 찍었다.

결 과

담배(*Nicotiana tabacum*)는 접종 후, 25일 이후부터 KU12로 접종한 곳의 종양세포에서 shoot가 나오기 시작하여 40일 이후에는 잎 모양이 갖추어졌다(Fig. 1A). 토마토(*Lycopersicon esculentum*)는 KU12로 접종한 것이 A348로 접종한 것보다 종양형성이 늦었다(Fig. 1D, E). 이는 70일 이상 두어도 별로 크지 않았다.

감자(*Solanum tuberosum*)의 줄기에서 KU12로 접종한 것은 A348로 접종한 것 만큼 종양이 돌출되지는 않았지만, A136으로 접종한 것보다 상처부위가 부풀어 올랐다(Fig. 2A, B, C). 이는 감자줄기에 T-DNA가 삽입되었기 때문이다. 상치(*Lactuca sativa*)에서는 KU12와 A348에 의한 종양의 크기와 발생시기가 비슷하였다(Fig. 2D, E).

강남콩(*Phaseolus vulgaris var. humilis*)은 KU12로 접종한 것만 종양을 형성했으며(Fig. 3. A). 갓(*Brassica juncea*)에서는 KU12와 A348 모두 미약한 종양을 유발

Table 1. Host range of *A. tumefaciens* in tested dicotyledons

No.	Tested host plants Scientific name (common name)	<i>A. tumefaciens</i> strains		
		KU12	A348	A136
1	<i>Nicotiana tabacum</i> (Tobacco)	++	+	-
2	<i>Lycopersicon esculentum</i> (Tomato)	+	++	-
3	<i>Solanum tuberosum</i> (Potato)	+	+	-
4	<i>Lactuca sativa</i> (Lettuce)	+	+	-
5	<i>Phaseolus vulgaris var. humilis</i> (Haricot)	+	-	-
6	<i>Brassica juncea</i> (Leaf mustard)	+	+	-
7	<i>Beta vulgaris var. cicla</i> (Red beet)	+	+	-
8	<i>Cucurbita moschata</i> (Pumpkin)	+	+	-
9	<i>Cucumis sativus</i> (Cucumber)	+	+	-
10	<i>Celosia argentea</i> (Cocks comb)	+	-	-
11	<i>Zinnia elegans</i> (Zinnia)	+	++	-
12	<i>Tagetes erecta</i> (French marigold)	+	++	-
13	<i>Portulaca grandiflora</i> (Ross moss)	-	-	-
14	<i>Petunia hybrida vilm</i> (Petunia)	+	++	-
15	<i>Calendula officinalis</i> (Calendula)	+	+	-
16	<i>Salvia splendens</i> (Scalet sage)	-	-	-
17	<i>Helianthus annuus</i> (Sunflower)	-	-	-
18	<i>Solanum melongena</i> (Eggplant)	-	-	-
19	<i>Artemisia princeps var. orientalis</i> (Mugwort)	-	-	-
20	<i>Kalancoe daigremontiana</i> (Mother-of-thousands)	+	++	-
21	<i>Ipomoea batatas</i> (Sweet potato)	-	-	-
22	<i>Gomphrena globosa</i> (Globe amaranth)	-	-	-
23	<i>Mirabilis jalapa</i> (Marvel-of-peru)	-	-	-
24	<i>Gossypium indicum</i> (Cotton)	+	-	-
25	<i>Cucumis melo var. makuwa</i> (Melon)	+	+	-
26	<i>Pharbitis nil</i> (Morning glory)	+	-	-
27	<i>Lagenaria leucantha var. gourda</i> (Calabash)	+	-	-
28	<i>Fagopyrum esculentum</i> (Buckwheat)	+	-	-

+ tumor, ++ large tumor, - No tumor.

했다(Fig. 3D, E).

근대 (*Beta vulgaris var. cicla*), 호박 (*Cucurbita moschata*), 오이 (*Cucumis sativus*)에서 KU12로 접종한 것은 약 15일 이후부터 종양이 돌출되었고 (Fig. 4A, B, C), A348로 접종한 것도 종양이 형성되었지만 자라는 제시하지 않았다.

개맨드라미 (*Celosia argentea*)는 KU12 접종 후 10일 쯤부터 종양형성이 시작되나 (Fig. 5A), A348로 접종한 것은 종양형성 흔적이 보이지 않았다 (Fig. 5B). 이들은 50일 이후에도 종양이 형성되지 않을 정도로 세포분열 상태가 미약했다. 백일홍 (*Zinnia elegans*)은 KU12로 접종한 것보다 A348로 접종한 것의 종양이 훨씬 크게 발달하였다 (Fig. 5D, E).

만수국 (*Tagetes erecta*)을 KU12로 접종한 것은 20일 경에 종양이 돌출되었지만, A348로 접종한 것은 10일경에 커다란 종양이 돌출되었다 (Fig. 6A, B). 채송화 (*Por-*

tulaca grandiflora)는 KU12와 A348에 의해서 종양이 형성되지 않았다 (Fig. 6D, E, F).

페튜니아 (*Petunia hybrida vilm*)를 KU12로 접종한 것은 30일경에 그리 크지 않은 종양이 형성되었으나 (Fig. 7A), A348로 접종한 것은 10일 경에 종양이 유발되어 30일 이후에는 상당히 크게 돌출되었다 (Fig. 7B). 금잔화 (*Calendula officinalis*)는 KU12와 A348 모두 종양의 크기 및 형성시기가 비슷했다 (Fig. 7D, E).

개꽃 (*Salvia splendens*), 해바라기 (*Helianthus annuus*), 가지 (*Solanum melongena*), 쑥 (*Artemisia princeps var orientalis*)에서는 KU12, A348 모두 A136처럼 종양이 유발되지 않았다 (Fig. 8).

칼란코에 (*Kalancoe daigremontiana*)에는 종양유발 현상이 다른 식물체보다 빨라 5일경부터 종양을 관찰할 수 있었고 10일 이후에는 크게 돌출되었다. 줄기에 접종한 A348은 뿌리가 발생하였고 (Fig. 9E), KU12로 접종한

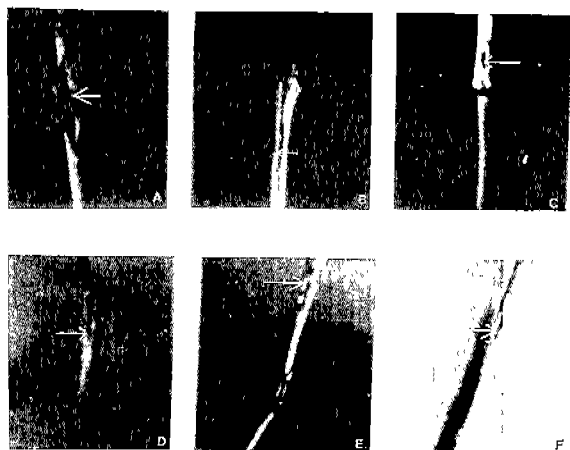


Fig. 3. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on Haricot and Leaf mustard. A, Haricot which was grown for 40 days after inoculation of KU12 (pTi-12). B, Haricot which was grown for 40 days after inoculation of A348 (pTi A6). C, Haricot which was grown for 40 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). D, Leaf mustard which was grown for 40 days after inoculation of KU12 (pTi-12). E, Leaf mustard which was grown for 40 days after inoculation of A348 (pTi A6). F, Leaf mustard which was grown for 40 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). Arrows indicated inoculation site and tumor.

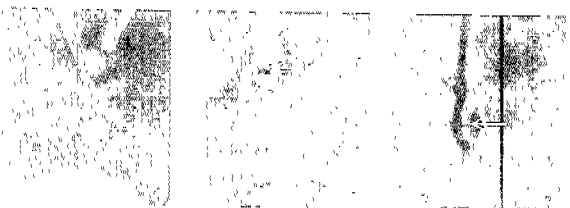


Fig. 4. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on plants which was grown for 30 days after inoculation of KU12. A, Red beet. B, Pumpkin. C, Cucumber. Arrows indicated inoculation site and tumor.

것은 발생하지 않았다(Fig. 9D).

고구마 (*Ipomoea batatas*), 천일홍 (*Gomphrena globosa*), 분꽃 (*Mirabilis jalapa*) 등은 50 일 이상 두어도 A348, KU12로 접종한 것에서 종양이 형성되지 않았다(Fig.10).

목화 (*Gossypium indicum*)는 KU12 접종 후 30 일경부터 종양이 형성되기 시작하여 50 일째는 돌출되었으나, A348로 접종한 것은 아무변화가 없었다(Fig.11A, B). 참외 (*Cucumis melo var. makuwa*)는 KU12와 A348로 접종한 것 모두 15 일경부터 종양이 유발되었다(Fig.11C, D).

나팔꽃 (*Pharbitis nil*)은 40 일경에 KU12로 접종한 식

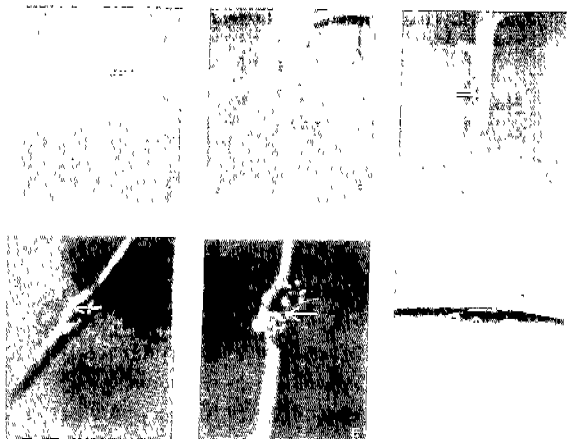


Fig. 5. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on Cockscomb and Zinnia. A, Cockscomb which was grown for 30 days after inoculation of KU12 (pTi-12). B, Cockscomb which was grown for 30 days after inoculation of A348 (pTi A6). C, Cockscomb which was grown for 30 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). D, Zinnia which was grown for 20 days after inoculation of KU12 (pTi-12). E, Zinnia which was grown for 20 days after inoculation of A348 (pTi A6). F, Zinnia which was grown for 20 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). Arrows indicated inoculation site and tumor.

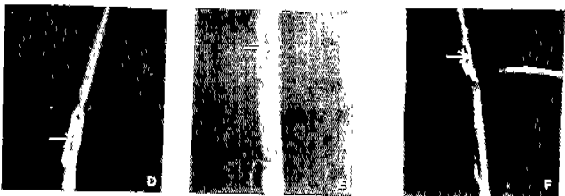
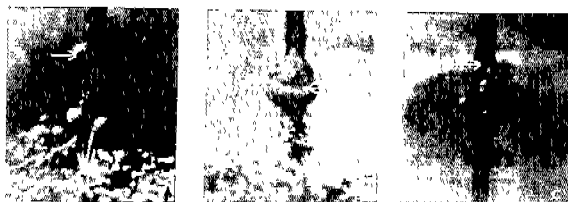


Fig. 6. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on French marigold and Rose moss. A, French marigold which was grown for 35 days after inoculation of KU12 (pTi-12). B, French marigold which was grown for 25 days after inoculation of A348 (pTi A6). C, French marigold which was grown for 35 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). D, Rose moss which was grown for 30 days after inoculation of KU12 (pTi-12). E, Rose moss which was grown for 30 days after inoculation of A348 (pTi A6). F, Rose moss which was grown for 30 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). Arrows indicated inoculation site and tumor.

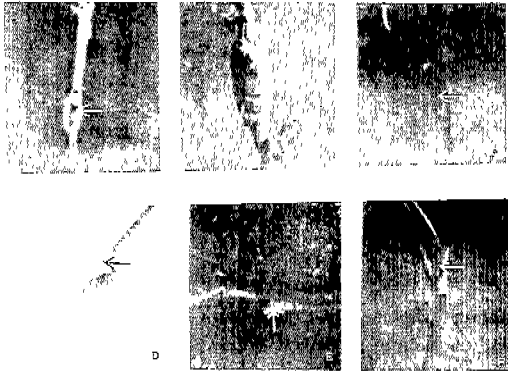


Fig. 7. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on Petunia and Calendula. A, Petunia which was grown for 40 days after inoculation of KU12 (pTi-12). B, Petunia which was grown for 40 days after inoculation of A348 (pTi A6). C, Petunia which was grown for 40 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). D, Calendula which was grown for 25 days after inoculation of KU12 (pTi-12). E, Calendula which was grown for 25 days after inoculation of A348 (pTi A6). F, Calendula which was grown for 25 days after inoculation of A136 (without Ti-plasmid). Arrows indicated inoculation site and tumor.

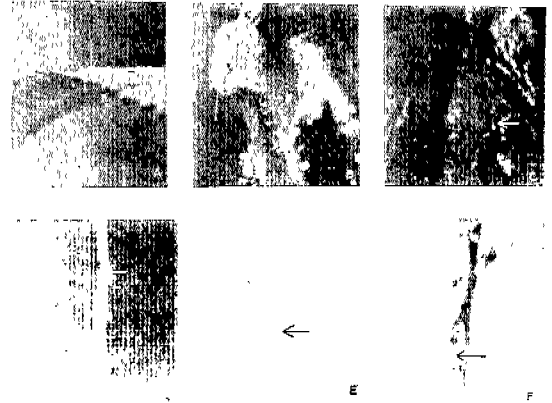


Fig. 9. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on *Kalanchoe daigremontiana*. A-C, 10 days after inoculation of KU12 containing pTH2 (A), A348 containing pTi A6 (B) and A136 (C). D-F, 20 days after inoculation of KU12 containing pTH2 (D), A348 containing pTi A6 (E) and A136 (F). Arrows indicated inoculation site and tumor.

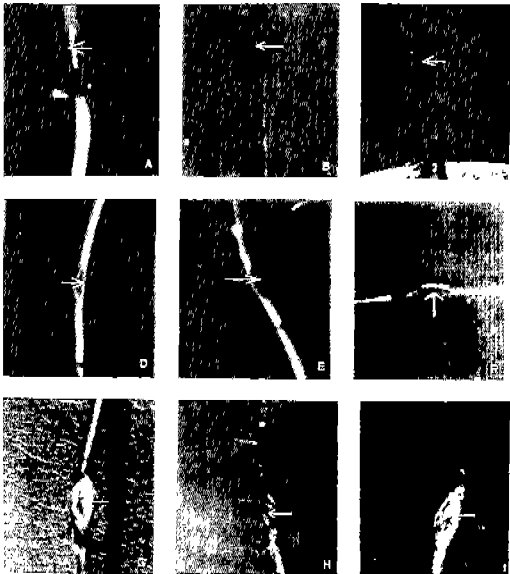


Fig. 8. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on Scalet sage, Sunflower and Eggplant. A-C, Scalet sage which was grown for 40 days after inoculation of KU12 containing pTi-12 (A), A348 containing pTi A6 (B), and A136 (C). D-F, Sunflower which was grown for 40 days after inoculation of KU12 containing pTi-12 (D), A348 containing pTi A6 (E) and A136 (F). G-I, Eggplant which was grown for 30 days after inoculation of KU12 containing pTi-12 (G), A348 containing pTi A6 (H) and A136 (I). Arrows indicated inoculation site and tumor.

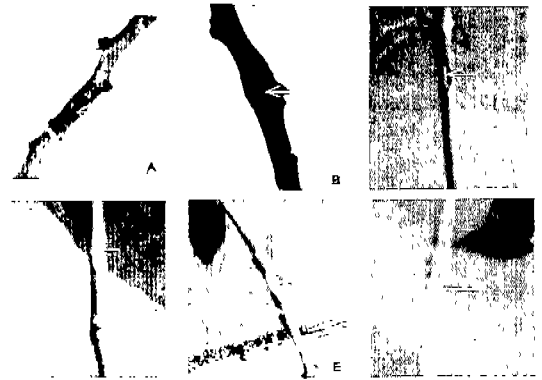


Fig. 10. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on Sweet potato, Marvel-of-Peru and Globe amaranth. A,B, Sweet potato which was grown for 40 days after inoculation of KU12 (A) and A348 (B). C,D, Marvel-of-Peru which was grown for 40 days after inoculation of KU12 (C) and A348 (D). E,F, Globe amaranth which was grown for 50 days after inoculation of KU12 (E) and A348 (F). Arrows indicated inoculation site and tumor.

물체에서 미약한 종양세포 유발현상을 보였고, A348로 접종한 것은 아무 징후도 보이지 않았다(Fig.12A, B). 표주박(*Lagenaria leucantha* var. *gourda*)도 KU12로 접종한 것이 20 일경에는 종양이 형성되었으나, A348로 접종한 것은 유발되지 않았다(Fig.12C, D). 메밀(*Fagopyrum esculentum*) 역시 30 일경에 KU 12로 접종한 것에서 종양이 유발되었고 A348은 유발현상이 없었다(자료제시 안했음).

이상 28종의 쌍자엽 식물체에서 종양형성을 관찰한 결과

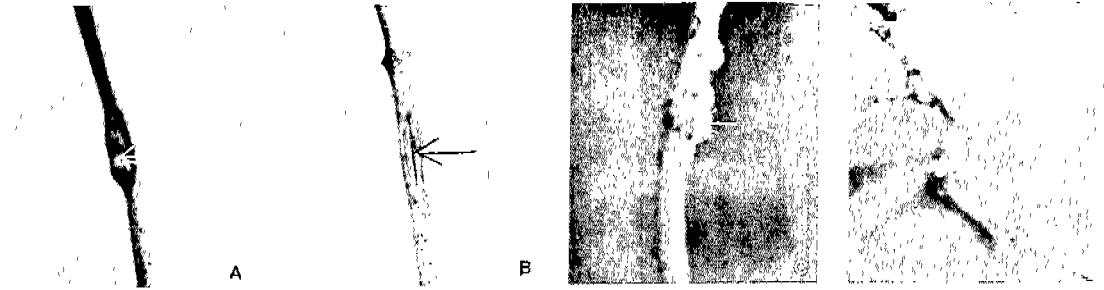


Fig. 11. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on Cotton plant and Melon. A,B, Cotton plant which was grown for 50 days after inoculation of KU12 containing pTi-12(A) and A348 containing pTi A6 (B). C,D, Melon which was grown for 20 days after inoculation of KU12 containing pTi-12(A) and A348 containing pTi A6 (D).

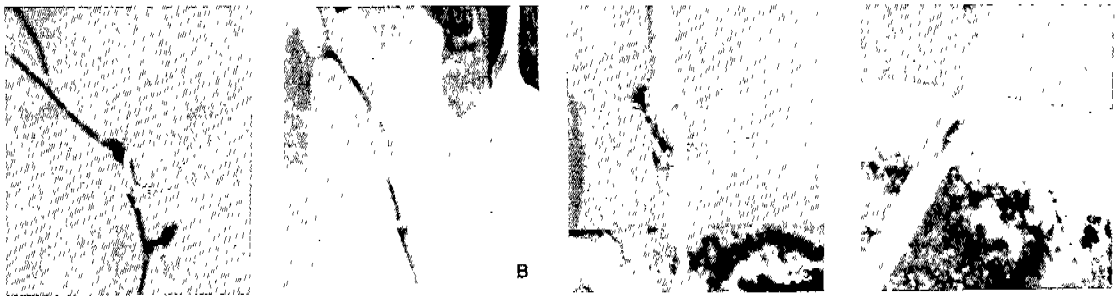


Fig. 12. Oncogenesis by various *Agrobacterium* strains on Morning glory and Calabash. A,B, Morning glory which was grown for 40 days after inoculation of KU12 containing pTi-12 (A) and A348 containing pTi A6 (B). C,D, Calabash which was grown for 20 days after inoculation of KU12 containing pTi-12 (C) and A348 containing pTi A6 (D). Arrows indicated inoculation site and tumor.

를 요약하면, KU12는 20종에서, A348은 14종에서 종양을 유발하였다(Table 1). 종양의 크기나 발생시기는 A348보다 작고, 느리지만 한국산 *A. tumefaciens* KU12의 숙주범위가 넓다는 것이 증명되었다.

고찰

한국산 *Agrobacterium tumefaciens* KU12 내에 있는 종양유발 plasmid 인 pTi-12로 고등식물체의 형질전환에 이용하기 위한 vector system을 개발하기 위해 쌍자엽 식물체의 숙주범위를 조사하였다. 총 28종 중 20종의 쌍자엽 식물체에서 종양이 형성되었으므로 숙주범위가 넓다는 것이 증명되었다(Table 1). 관찰결과, A348(pTi A6)과 KU12(pTi-12)에 의한 종양의 발생시기, 형태, 크기 등이 달랐다. KU12는 A348보다 종양세포 발생시기가 5-10일 정도 느리고, 돌출상태도 비교적 작았다. 즉, 종양세포 유발현상이 같은 식물체라 해도 *Agrobacterium* strain과 Ti plasmid 종류에 따라 다르고, 같은 *Agrobacterium* 과 Ti plasmid라 해도 식물체에 따라 다르다. KU12(pTi-12)는 가지, 깨꽃, 해바라기, 쑥, 고구마, 채송화, 천일홍, 분꽃에서, A348(pTi A6)은 개맨드라미, 강남콩, 가지, 깨꽃, 해바라기, 채송화, 쑥, 메밀, 포주박, 나팔꽃,

고구마, 천일홍, 분꽃, 목화에서 종양을 유발시키지 못했다. 이렇게 숙주범위가 다른 이유는 여러 요인이 작용한다. 세균이 식물세포벽에 부착하는 능력이 없는 경우와 virulence 지역의 발현유도물질(phenolic compounds)이 없거나, 있어도 유도가 충분히 되지않아 vir 유전자의 발현이 잘 안되는 경우에는 T-DNA가 숙주세포로 전달이 안되거나, 전달되어도 숙주 DNA 분자내로의 통합이 불충분하게 될 수 있기 때문으로 사료된다. 또한, 삽입된 T-DNA의 발현이 잘 안되거나, 발현된 여러 산물에 대한 식물세포의 반응이 맞지않아 종양이 형성되지 않을 수도 있다(Binns and Thomashow, 1988)

이상의 여러 요인들은 *A. tumefaciens*의 chromosome, Ti plasmid의 T-DNA, vir region 등에 있는 여러 유전자들에 의해 결정되기 때문에 특정 식물체에서 종양을 유발하지 못하는 이유를 규명하여 유발능력을 증가시켜주기 위해서는 계속적인 연구가 필요하다.

적요

pTi-12를 함유한 *Agrobacterium* KU12의 숙주범위를 조사하기 위하여 28종의 쌍자엽 식물체에 KU12와 pTi A6을 함유한 A348, 그리고 Ti plasmid가 없는 A136을

접종하였다. 그 결과 KU12는 20종에서, A348은 14종에서 중앙을 유발시켰다. 이는 KU12의 숙주범위가 넓은 것을 의미하므로 KU12와 pTi-12는 plant vector system을 개발하는데 이용될 수 있음이 확인되었다.

참 고 문 헌

- Akiyoshi, D.E., H. Klee, R.M. Amasino, E.W. Nester and M.P. Gordon. 1984. T-DNA of *Agrobacterium tumefaciens* encodes an enzyme of cytokinin biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 5994-5998.
- Binns, A.N. and M.F. Thomashow. 1988. Cell biology of *Agrobacterium* infection and transformation of plants. *Ann. Rev. Microbiol.* **42**: 575-606.
- Bonner, J. and A.W. Galston. 1959. In, principles of plant physiology, W.H. Freeman (ed.). Sanfrancisco. 55 pp.
- Cangelosi, G.A., L. Hung, V. Duvanesarajah, G. Stacey and D.A. Ozga. 1987. Common loci for *Agrobacterium tumefaciens* and *Rhizobium meliloti* exopolysaccharide synthesis and their roles in plant interaction. *J. Bacteriol.* **169**: 2086-2091.
- Christie, P.J., J.E. Ward, S.C. Winans and E.W. Nester. 1988. The *Agrobacterium tumefaciens* vir E2 gene product is a single-stranded DNA-binding proteins that associates with T-DNA. *J. Bacteriol.* **170**: 2659-2667.
- De cleene, M. and J. Deloy. 1976. The host range of crown gall. *Bot. Rev.* **42**: 389-466.
- Douglas, C.J., R.J. Staneloni, R.A. Rubin and E.W. Nester. 1985. Identification and genetic analysis of an *Agrobacterium tumefaciens* chromosomal virulence region. *J. Bacteriol.* **161**: 850-860.
- Garfinkel, D.J. and E.W. Nester. 1980. *Agrobacterium tumefaciens* mutants affected in crown gall tumorigenesis and octopine catabolism. *J. Bacteriol.* **144**: 732-743.
- Gheysen, G., M. Van. Montagu and P. Zambryski. 1987. Integration of *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA involves rearrangements of target plant DNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**: 6169-6173.
- Inze, A., A. Follin, C. Van. Lijsebettens, C. Simoens and C. Genetello. 1984. Genetic analysis of individual genes of *Agrobacterium tumefaciens*: Further evidence that two genes are involved in indole-3-acetic acid synthesis. *Mol. Gen. Genet.* **194**: 265-274.
- Kemp, J.D. 1982. Enzymes in octopine and nopaline metabolism. In, Molecular Biology of Plant Tumors. G. Kahl and J. Schell (eds.), pp. 461-474.
- Klapwijk, P.M., T. Schilperoot and R.A. Schilperoot. 1978. Coordinated regulation of octopine degradation and conjugative transfer of Ti plasmids in *Agrobacterium tumefaciens*: Evidence for a common regulatory gene and separate operons. *J. Bacteriol.* **136**: 755-785.
- Leroux, B., M.F. Yanofsky and S.C. Winans. 1987. Characterization of the vir A locus of *Agrobacterium tumefaciens*: a transcriptional regulator and host range determinant. *EMBO J.* **6**: 849-856.
- Messens, E., A. Lenaerts, M. van. Montagu and R.W. Hegges. 1985. Genetic basis for opine secretion from crown gall tumor cells. *Mol. Gen. Genet.* **199**: 344-348.
- Stachel, S.E. and P.C. Zambryski. 1986. vir A and vir G control the plant induced activation of the T-DNA transfer process of *A. tumefaciens*. *Cell* **46**: 325-333.
- Thomashow, M.F., S. Hugly, W.G. Buchholz and L.S. Thomashow. 1986. Molecular basis for the auxin-independent phenotype of crown gall tumor tissue. *Science* **231**: 616-618.
- Yanofsky, M.F., S.G. Porter, C. Young, L.M. Albright and M.P. Gordon. 1989. The vir D operon of *Agrobacterium tumefaciens* encodes a site specific endonuclease. *Cell* **47**: 471-477.

(1990. 2. 26 接受)