

## Geminivirus L4 유전자 도입에 따른 형질전환 애기장대의 감염유사증상 분석

이석찬<sup>1</sup>, 이규배<sup>2</sup>, 박종범<sup>3\*</sup>

성균관대학교 유전공학과<sup>1</sup>, 조선대학교 생물교육학과<sup>2</sup>, 신라대학교 생명과학과<sup>3\*</sup>

### Pseudosymptom Analysis Induced by Geminivirus L4 Gene in Transgenic Arabidopsis

Sukchan Lee<sup>1</sup>, Kyu-Bae Lee<sup>2</sup>, Jong-Bum Park<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Genetic Engineering, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Educational Biology, Chosun University, Gwangju, 501-759, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Biological Science, Silla University, Busan 617-736, Korea

**ABSTRACT** The factors for symptom development caused by *Beet curly top virus* (BCTV) have been analyzed by using a molecular genetic approach based on expressing BCTV encoded proteins in transgenic plants. BCTV open reading frame (ORF) L4 expression in transgenic *Arabidopsis* resulted in abnormal plant development and the production of callus on inflorescence stems and bumpy trichomes, confirming that this gene alone is enough to initiate cell divisions in permissive cells. Results of these studies indicate that the BCTV ORF L4 is a primary symptom determinant. The L4 gene expression by northern hybridization in transgenic plants and a range of phenotypes were analyzed.

**Key words :** *Arabidopsis*, *Beet curly top virus*, BCTV L4, abnormal cell division

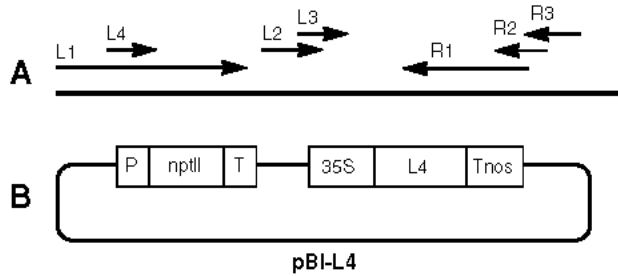
## 서 론

Single stranded DNA (ssDNA)를 genome으로 갖는 *Beet curly top virus* (BCTV)는 *Geminivirus genus*에 속하며 monopartite로서 게놈의 크기는 약 3 kb이다 (Stenger et al. 1990; Stanley 1991; Lazarowitz 1992). BCTV는 전형적인 icosahedral 모양의 외피 단백질을 가지고 있으며 전자현미경 관찰 시 twin-moon의 외부 형태를 보인다. BCTV는 1909년 Ball에 의하여 처음 발견된 뒤 (Bennett 1971), Stanley 등 (1986)에 의해 infectious clone의 DNA 염기서열이 분석되었다. BCTV는 약 26여 종이 속한 geminivirus group 중에서 기주범위가 가장 넓어 쌍자엽식물 약 44과, 300여 종의 식물을 감염시킬 수 있으며, 감염된 식물에서 왜소증과 줄기의 비틀림 증상

을 유도하여 식물의 생산성을 크게 떨어뜨린다 (Bennett 1971). 특히 BCTV는 주요작물들이 속한 십자화과, 가지과, 국화과, 명아주과와 콩과 등에 커다란 피해를 주고 있다.

1986년 BCTV California strain의 DNA 염기서열이 처음 보고된 후 (Stanley et al. 1986) 지난 10여 년간 BCTV에 관한 연구는 주로 DNA 염기서열 분석에 따른 바이러스 유전자에 대한 기능 분석이었다 (Stanley et al. 1992; Hormuzdi and Bisaro 1993; Stenger 1994). 지금까지 보고된 연구결과를 종합하면 BCTV는 7개의 ORFs를 가지고 있다 (Figure 1A). BCTV 게놈의 오른쪽 ORFs 3개 중 R1은 외피 단백질에 대한 유전자이고, R2는 DNA 복제과정 중 ssDNA-dsDNA로의 전환을 조절하고, R3는 R1과 같이 바이러스의 이동에 관여하며 감염증상의 발달에도 영향을 미치는 것으로 조사되었다. 왼쪽에는 4개의 ORFs가 있는데, L1은 바이러스 복제에, L2와 L3는 아직까지 그 기능이 분명하지는 않지만 transacting factor로 작용하는 것으로 보여진다. 그리고 가장 최근에 보고된 L4 ORF는 감염증상의 유도에 관여하는 것으로 조사되었다

\*Corresponding author Tel 051-309-5472 Fax 051-309-5176  
E-mail jbpark@silla.ac.kr



**Figure 1.** Genomic map of monopartite BCTV and vector construction for plant transformation. A, Physical map of the BCTV-Logan genome. Solid arrows denote locations and polarity of conserved ORFs; B, Physical map of pBI121-L4 genome.

(Pascal et al. 1994).

일반적으로 바이러스는 자신의 기주식물 감염과 증식의 전 생활사를 통하여 여러 부분에서 숙주세포의 도움을 필요로 하는데, 숙주의 선택과 숙주와의 상호작용에 의하여 저항성 및 감염성 그리고 감염증상의 종류 및 정도가 결정된다. BCTV에 감염된 *Arabidopsis*에서 이제까지 어느 숙주식물에서도 보고되지 않은 매우 특이한 감염증상이 관찰되었다. BCTV에 감염된 몇몇 *Arabidopsis* ecotype에서 비정상적인 세포분열이 유도되었고, 이 감염증상이 계속 진행되어 캘러스로 발달하였다 (Lee et al. 1994; Lee 1995; Lee and Park 1996). 이 캘러스 형성에 대한 원인은 아직 명확히 조사된 바 없으나 바이러스 유도성 세포분열의 결과로 보여진다. 또 다른 분자생물학적인 연구가 BCTV 유전자 산물에 의해 바이러스 감염 후, 기주식물의 세포분열을 유도할 수 있다고 보고하였다 (Lee 1995). BCTV L4 유전자를 발현하는 형질전환 식물에서 바이러스 감염 후 관찰이 되는 증상과 비슷한 pseudosymptoms가 관찰되었고, 이 관찰을 토대로 바이러스 특정 유전자가 기주식물의 세포분열에 직접적으로 관여하는 것으로 보여진다. 바이러스-식물의 상호작용에 있어서 이와 같은 독특한 감염증상을 보여주는 BCTV-*Arabidopsis*를 이용함으로써 BCTV 바이러스 유전자에 대한 정확한 기능분석뿐만 아니라 식물세포의 독특한 생명현상 중의 하나인 세포분열에 대해서도 연구를 할 수 있을 것으로 기대된다.

본 연구는 BCTV ORF L4가 형질전환된 *Arabidopsis*의 형태적인 변화와 L4 유전자 전사의 양적인 차이가 과연 바이러스 병징의 중요한 요소로 작용하는지 조사 함으로서 바이러스 유전자의 기능을 분석하고 고등식물의 세포분열 유도 및 조절 기작에 대한 기초자료를 제공하는 것을 목적으로 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구의 실험재료로 사용한 식물인 *Arabidopsis thaliana* ecotype Sei-O는 미국 *Arabidopsis* Biological Resource Center

(ABRC, Ohio State University)에서 분양 받았으며 BCTV (Logan) L4 유전자가 형질전환된 *Arabidopsis*는 BCTV ORF L4를 PCR을 이용하여 분리한 뒤 (forward primer: CATATG-AAAATGGGGAACACATC, backward primer: CTCGAG-ATGCCTCTGCTGCAGCATCAT) 식물형질전환 벡터인 pBI121 (Clontech Co.)에 도입하여 이를 *Agrobacterium* mediated transformation 방법으로 제작하였다 (Figure 1B). 이들의 종자를 인조 흙 (Metro Mix 200, Hummert Seed Co. USA)에 파종하여 plastic cover를 씌워 3일 동안 4°C에서 저온 처리한 후, plant growth chamber에 옮겨서 배양하였다. 항온항습생장상 내의 환경조건은 14시간의 명처리와 10시간의 암처리로 조정된 광주기하에서 온도는 18~22°C로, 상대습도는 50~80%로 유지되도록 조절하여 주었다. 배양 약 2주 후면 싹이 나오는데, 이때 plastic cover를 제거하고 3~4일마다 계속 수분상태를 점검하여 적절한 습도가 유지되도록 수시로 물을 공급하여 주었다.

### 형질전환식물체로부터 내부구조 관찰

형질전환식물체의 내부구조는 파종 후 3~4주 정도 성장한 식물의 화경을 약 0.7~0.8 cm 크기로 절단하여 formalin-acetic acid-alcohol (FAA) 고정액으로 48시간 동안 4°C에서 고정하면서 탈기하였다. 고정이 끝난 재료는 알코올 상승농도 순으로 탈수하여 LR White (London Resin Co.)를 침투, 매물시켜 65°C에서 2일 동안 열중합 반응시켜 block을 만들었다. LR White block은 유리칼과 ultramicrotome을 사용하여 2~3 μm 두께로 절단하였다. 절단된 재료들은 0.05% toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰하고 사진 촬영하였다.

### 형질전환식물체로부터 RNA 분리 및 northern 분석

L4로 형질전환된 *Arabidopsis*로부터 잎과 화경조직을 채취하고 냉동보관 (-80°C)하여 RNA 분리에 사용하였다. 0.5 g의 조직을 액체질소에 급속 냉동시켜 아주 미세하게 파쇄하여 분말화한 후, 이 분말을 0.55 mL의 RNA 추출액 (0.2 M Tris-HCl, 0.4 M LiCl, 25 mM EDTA, 1% SDS, pH 9.0)과 0.55 mL의 phenol이 들어 있는 1.5 mL microcentrifuge tube에 넣고 잘 섞었다. 이 sample을 얼음에 보관한 뒤 모든 sample이 준비되면 10,000 rpm에서 2분 동안 원심 분리하였다. 얻어낸 수용액 층을 0.55 mL의 phenol과 chloroform상등액을 넣고 잘 섞었다. RNA를 diethylpyrocarbonate (DEPC)로 처리된 8 M LiCl와 섞은 뒤 얼음에서 3시간 이상 처리하였다. 침전된 RNA를 DEPC 처리된 물로 녹인 후 0.3 M sodium acetate (pH 5.2)와 ethanol을 사용하여 재침전시켰다. 원심분리 후 건조시킨 RNA를 DEPC 처리한 물로 다시 녹여 분광분석기를 사용하여 RNA 농도를 측정하였다 (Davis et al. 1991).

RNA 발현량을 비교 조사하기 위하여 northern hybridiza-

tion을 Davis 등 (1991)의 방법을 이용하여 수행하였다. 이때 사용한 probe는 BCTV L4 유전자를 PCR을 이용하여 TA cloning vector에 subclone한 후, RTS radprime DNA labeling system (Gibco-BRL)으로 제작하였다.

#### DNA의 분리 및 genomic Southern 분석

L4 형질전환 *Arabidopsis*로부터 rosette 잎을 채취하고 냉동 보관하여 DNA 분리에 사용하였다. Genomic DNA는 Lee 등 (1994)의 방법을 이용하여 분리하였으며 20 µg의 DNA를 *EcoRI*, *HindIII*와 *BamHI* 제한 효소를 처리한 뒤 1.0% agarose gel에서 전기영동한 후, Hybond membrane (Amersham Co.)에 전이시켰다. Probe는 BCTV L4 유전자를 PCR로 합성한 후 RTS radprime DNA labeling system (Gibco-BRL)으로 제작하였다.

### 결과 및 고찰

#### L4 형질전환 *Arabidopsis* 선발 및 외부형태

BCTV L4 유전자가 도입된 형질전환식물체는 pBI121 기본 벡터에 BCTV L4 유전자를 subcloning한 뒤 *Agrobacterium* GV3101를 이용하여 vacuum infiltration 방법 (Bechtold and Pelletier 1998)으로 제작하였다. 이 형질전환 식물체의 T<sub>1</sub> 종자를 kanamycin이 첨가된 MS 배지에서 선발한 뒤 각각의 line을 흙으로 옮겨 외부형태를 조사하였으며 T<sub>2</sub> 및 T<sub>3</sub> line을 외부형태 및 유전자 분석에 사용하였다. Wild type *Arabidopsis*와 비교하여 형질전환 식물체의 획득형질은 부분적으로 왜소증을 보인 식물군과 함께 식물의 지상부에서 줄기 정단부위의 구부러짐 (curling)과 부풀림 현상 (hyperplasia) 등이 관찰된 것들을 중심으로 분석하였다 (Figure 2). 일부의 T<sub>2</sub> line에서는 뿌리에서도 hyperplasia와 curling 현상이 관찰되기도 하였다. 이와 같이 형질전환 식물체에서 나타난 hyperplasia는 BCTV L4 유전자의 도입에 의한 것으로 조사되었으며 이와 비슷한 현상이 토마토에서 *Tomato leaf curl virus* (TLCV)의 C4 유전자에 의해서도 관찰되었다 (Rigden et al. 1994). 이 연구보고에 의하면 TLCV 바이러스 C4 유전자에 의해 식물의 cell cycle 관련 유전자들이 직접 또는 간접적으로 발현이 유도되어 나타난 현상으로 조사되었으며, 특히 ssDNA를 유전자로 갖는 또 다른 geminivirus인 *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) rep 단백질의 경우는 식물의 cell cycle에서 중요한 역할을 수행하는 retinoblastoma 단백질과 결합할 수 있는 domain을 가지고 있음이 보고되었다 (Rigden et al. 1994). 이와 같이 BCTV L4 유전자가 도입된 형질전환식물체에서 관찰된 획득형질은 L4 유전자의 도입으로 인해 새로이 나타난 것임을 확인할 수 있었다.

L4 형질전환식물의 줄기에서 보여진 외형상 특징으로 장방형과 hyperplasia에 의한 enation 현상은 캘러스 형성의 초기 과정으로써 BCTV-*Arabidopsis*, 그리고 BCTV-L4 단백질과 *Arabidopsis* system에서만 관찰이 되는 매우 특이적인 형질이다 (Figure 2). 이와 같은 표현형은 담배와 토마토에서 TLCV나 BCTV-California L4 유전자를 도입한 형질전환 식물체에서도 비슷한 형태로 관찰되기는 하지만 (Rigden et al. 1994), 그 기작에 대해서는 아직까지 명확히 보고된 바 없다. 그러나 이러한 결과를 종합하면 BCTV 감염 후 관찰되는 기주식물의 세포분열 유도현상이 BCTV에 의한 또는 BCTV 특정 유전자에 의한 현상으로 보여지며, TGMV의 감염과 TGMV Rep 단백질을 발현하는 담배의 경우 DNA 중합효소의 중요한 요소 중의 하나인 proliferation cell nuclear antigen (PCNA)를 축적하는 것이 보고 (Rigden et al. 1994)되었으며, 또한 *Wheat dwarf virus* (WDV)의 경우는 감염 후, Rep 단백질이 cell cycle의 조절에 관여하는 retinoblastoma와 매우 안전한 complex를 형성하는 것이 보고되었다 (Rigden et al. 1994). 이로써 BCTV의 L4 역시 이와 비슷한 관점에서 볼 때 세포학적으로 세포분열을 유도하고 분자생물학적으로 cell cycle marker gene의 발현을 촉진하는 것으로 보아 그 작용 기작은 아직 명확하지는 않지만 L4 유전자 산물이 *Arabidopsis*의 세포분열 조절 기작과 매우 밀접한 관계를 갖고 있는 것으로 보여진다.

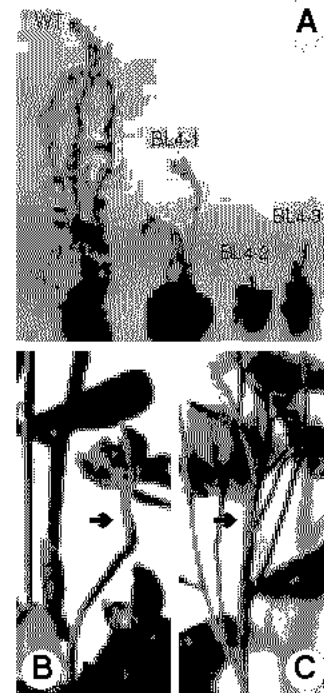


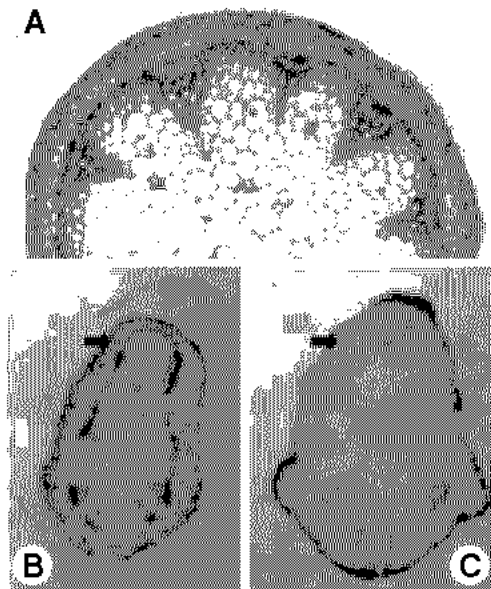
Figure 2. The BCTV L4 protein inducible altered growth and development of *Arabidopsis*. A, The external structure of wild type inflorescence stem showing a lateral branch, a curline leaf and an axillary bud; B, Callus-like structure developing on the inflorescent stem of BL4-1; C, Swollen bolt developing on the inflorescent stem of BL4-1.

L4 발현 *Arabidopsis* 형질전환체의 내부형태

L4 형질전환 *Arabidopsis*의 형태와 BCTV 감염 *Arabidopsis*의 감염증상을 조직수준에서 비교 분석하기 위하여 이들 식물체의 내부구조를 LR White를 매질로 이용한 microtechniques를 수행하였다. Wild type인 경우는 전형적인 쌍자엽식물의 유관속 배열을 보여주나 L4 발현 *Arabidopsis*의 경우는 화경을 횡단절단하였을 때, partial vascular cambium ring을 형성하며 (Figure 3), 특히 interfascicular parenchyma 조직에서는 부가적인 세포분열이 많이 관찰되었고 이들 분열세포들이 사관으로 분화하는 것으로 보여진다 (Figure 3B). 또한 일부의 형질전환식물체에서는 조직배양을 이용한 캘러스 유도과정 동안 관찰이 되는 독립된 유관속형성층이 피층에서 관찰되기도 하였다 (Figure 3C). 전반적으로 L4 형질전환식물체는 원형의 줄기를 갖는 것이 아니라 유관속형성층 부위의 세포분열 촉진 현상으로 타원형이나 장방형의 줄기 형태를 갖는다 (Figure 3B, 3C). 이에 대한 세포화학적 연구는 더 많은 시료를 이용하여 확인할 필요가 있지만 전체적으로 종합해 볼 때 BCTV에 감염되었을 때의 *Arabidopsis*와 L4 발현 *Arabidopsis*는 비정상적인 세포분열의 결과로 인한 조직분화가 공통적으로 관찰됨을 확인할 수 있었다.

L4 형질전환 *Arabidopsis*의 표현형과 L4 유전자의 발현 양 분석

BCTV L4 형질전환식물체에서 발현되는 L4 유전자의 전사



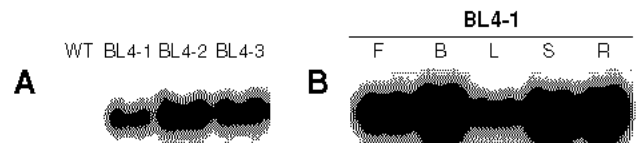
**Figure 3.** BCTV L4 protein inducible cell divisions and secondary growths. A, Transverse section of mock inoculated inflorescence stem showing typical internal structures of herbaceous dicotyledon plant (X 100); B, Transverse section of L4 transgenic inflorescence stem showing partial cambium ring (X 40); C, Transverse section of L4 transgenic inflorescence stem showing isolated vascular bundle on cortex tissue (X 40).

량을 northern hybridization을 이용하여 비교 분석하였다. T<sub>1</sub> line을 병징의 정도에 따라 왜소증과 뒤틀림 증상이 심한 것과 증상이 심한 식물에 비하여 상대적으로 증상이 약한 형질전환 식물체를 각각 선발하여 T<sub>2</sub> 및 T<sub>3</sub> line을 확보하였고 이들을 이용하여 유전자 분석실험을 수행하였다. 실험 결과 모든 line에서 L4 유전자의 발현을 확인하였고 병징의 증상에 따라서 BCTV ORF L4 유전자의 발현양에 약간 차이가 있음을 확인하였으나 그 발현양의 차이는 크지 않았다 (Figure 4A). 이 실험 결과 형질전환 식물체 각각의 line에서 보여주는 다양한 바이러스 감염과 유사한 증상은 BCTV ORF L4 유전자의 발현양에 직접적으로 기인한다기 보다는 바이러스 유전자의 도입에 따른 효과로 보여진다.

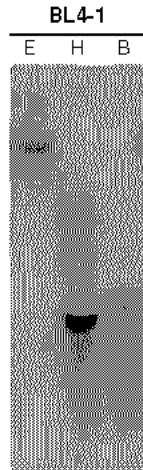
BL4-1의 기관별 BCTV L4 유전자의 발현양상은 기관에 따라 다소 차이를 보여주었으며 특히 rosette 잎의 경우에는 다른 부위 (꽃, 화경, siliques, 뿌리)에 비하여 발현양이 적었다 (Figure 4B). 이는 바이러스가 감염된 식물에서도 같은 양상이 나타났는데 식물의 중심축에 해당하는 꽃, 화경과 뿌리에서 특히 많은 바이러스가 검출되었다. Rosette 잎에서는 바이러스에 의한 증상뿐만 아니라 바이러스의 증식도 상대적으로 적게 관찰되는데 이는 BCTV가 식물체 내에서 사부를 통해서만 이동하며 사부에서만 관찰되는 것과 연관이 있는 것으로 보여진다 (Lee et al. 1994).

본 실험에 사용한 형질전환용 벡터는 pBI121로서 BCTV L4 유전자의 발현은 35S promoter의 영향 아래에 있어 개체에 따라서 또는 기관에 따라서 많은 변화를 보여주지는 않았다. 하지만 형질전환 개체간에 나타나는 병징 유사증상의 차이는 BCTV 병징의 주된 요인이 BCTV L4 유전자의 기능에 기인하는 것으로 BCTV 뿐만이 아니라 BCTV와 유사한 바이러스에서도 관찰된 바 있다 (Rigden et al. 1994). BCTV L4 유전자의 발현량과 BCTV L4 유전자와 반응하는 식물의 host factors와의 상호작용에 의하여 나타날 수 있기에 BCTV에 의한 바이러스 병징의 분석을 위해서는 BCTV L4 유전자와 반응하는 host factor의 분리 및 이 단백질의 기능 분석이 필요하다. 이는 앞으로의 연구에서 규명되어야 할 분야이며 예비실험 결과에 의하면 L4 유전자 산물과 광합성 관련 단백질과의 상호작용이 있음이 조사된 예가 있다.

형질전환식물체의 개체에 따른 차이가 BCTV L4 유전자의



**Figure 4.** BCTV L4 expression from L4 transgenic *Arabidopsis*. A, RNA was isolated from whole plants for L4 expression. Lane 1, wild type; Lane 2, BL4-1; Lane 3, BL4-2; Lane 4, BL4-3 showing pseudosymptoms on inflorescence stems; B, RNA was isolated from each organs of BL4-1. Lane 1, flowers; Lane 2, bolts; Lane 3, rosette leaves; Lane 4, siliques; Lane 5, roots.



**Figure 5.** BCTV L4 integration in *Arabidopsis* (E, *EcoRI*; H, *HindIII*; B, *BamHI*). 20  $\mu$ g of genomic DNA isolated from transgenic *A. thaliana* was digested to completion with the following restriction endonucleases: Lane 1, *EcoRI*; Lane 2, *HindIII*; and Lane 3, *BamHI*. The digested DNA was run on 1.0% agarose gel. Following electrophoresis, the DNA was blotted to a nylon membrane and hybridized with the radiolabeled BCTV L4 cDNA.

발현양과 함께 이 유전자의 복제 수 및 염색체내 위치에 따른 차이를 조사하고자 genomic Southern 실험을 수행하였다. 형질전환식물체 각각으로부터 DNA를 분리하고 이들을 각각 *HindIII*와 *BamHI*으로 처리하여 BCTV L4 유전자를 이용하여 혼성화 하였을 때 3개의 line에서 모두 single copy로 도입된 것으로 나타났다 (Figure 5). 이로써 T<sub>2</sub> 형질전환식물체에서 보여진 병징 유사증상의 차이는 BCTV L4 유전자의 염색체내 복제 수나 발현양의 차이에서 기인하는 것이 아니라 도입된 유전자와 함께 상호 작용하는 host factor와의 관계, 또는 BCTV L4 유전자 산물에 의한 식물체 내 호르몬의 변화에 의한 것으로 보여진다.

## 적 요

BCTV에 의해 유도되는 감염증상의 원인을 분석하기 위하여 BCTV 유전자를 식물에 발현시키는 분자생물학적인 방법을 사용하였다. BCTV L4 유전자가 발현된 형질전환 애기장대에서 비정상적인 발생, 화경에서 캘러스의 유도 그리고 울퉁불퉁한 모용의 발생이 관찰되었으며, 이러한 현상은 BCTV L4 유전자에 의해 새롭게 유도된 결과로 보여진다. 이 연구 결과는 BCTV L4 유전자가 유사 감염 병징 유도에 직접적으로 관여함을 보여주며, 형질전환식물체에서 BCTV L4 유전자의 발현과 유사감염 증상과의 관계를 분석하였다.

사 사 - 이 연구는 2001년도 신라대학교 연구비로 이루어졌습니다.

## 인용문헌

- Bechtold N, Pelletier G (1998) In planta *Agrobacterium*-mediated transformation of adult *Arabidopsis thaliana* plants by vacuum infiltration. *Methods Mol Biol* 82: 259-66
- Bennett CW (1971) The curly top disease of sugarbeet and other plants. St. Paul, Minnesota, Am Phytopathol Soc
- Davis KR, Schott E, Ausubel FM (1991) Virulence of selected phytopathogenic pseudomonads in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant-Microbe Interact* 4: 477-488
- Homuzdi SG, Bisaro DM (1993) Genetic analysis of beet curly top virus: Evidence for three virion sense genes involved in movement and regulation of single- and double-stranded DNA levels. *Virology* 193: 900-909
- Lazarowitz SG (1992) Geminiviruses: Genome structure and gene function. *Crit Rev Plant Sci* 11: 327-349
- Lee S (1995) Genetic and molecular analysis of interactions between *Arabidopsis* and beet curly top virus. PhD thesis, The Ohio State University, Columbus
- Lee S, Stenger DC, Bisaro DM, Davis KR. (1994) Identification of loci in *Arabidopsis* that confer resistance to geminivirus infection. *Plant J* 6: 525-535
- Lee S, Park JB (1996) Auxin effects on symptom development of beet curly top virus infected *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Biol* 39: 449-456
- Pascal E, Sanderfoot AA, Ward BM, Medville R, Turgeon R, Lazarowitz SG (1994) The geminivirus BR1 movement protein binds single-stranded DNA and localizes to the cell nucleus. *Plant Cell* 6: 995-1006
- Rigden JE, Krake LR, Rezainan MA, Dry IB (1994) ORF C4 of Tomato Leaf Curl Geminivirus is a determinant of Symptom Severity. *Virology* 204: 847-850
- Stanley J (1991) The molecular determinants of geminivirus pathogenesis. *Sem Virol* 2: 139-149
- Stanley J, Latham JR, Pinner MS, Bedford I, Markham PG (1992) Mutational analysis of the monopartite geminivirus beet curly top virus. *Virology* 191: 396-405
- Stanley J, Markham PG, Callis RJ, Pinner MS (1986) The nucleotide sequence of an infectious clone of the geminivirus beet curly top virus. *EMBO J* 5: 1761-1767
- Stenger DC (1994) Complete nucleotide sequence of the hyper-virulent CFH strain of beet curly top virus. *Mol Plant-Microbe Interact* 7: 2211-2215
- Stenger DC, Carbonaro D, Duffus JE (1990) Genomic characterization of phenotypic variants of beet curly top virus. *J Gen Virol* 71: 2211-2215

(접수일자 2003년 3월 26일, 수리일자 2003년 4월 21일)