

오이모자이크바이러스 외피단백질유전자 발현 담배의 바이러스 저항성 분석

손성한* · 김경환 · 박종석 · 황덕주 · 한장호 · 이광웅¹ · 황영수
농촌진흥청 농업과학기술원 생물자원부 생화학과, 서울대학교 자연과학대학 생물학과¹

Virus-Resistance Analysis in Transgenic Tobacco Expressing Coat Protein Gene of Cucumber Mosaic Virus

SOHN, Seong-Han* · KIM, Kyung-Hwan · PARK, Jong-Sug · HWANG, Duk-Ju · HAHN, Jang-Ho
LEE, Kwang-Woong¹ · HWANG, Young-Soo

Biochemistry Division, Department of Bioresources, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon, 441-707, Korea: and ¹Department of Biology, Seoul National University, Seoul, 151-742, Korea. *Corresponding author

Cucumber mosaic virus (CMV) leads to a cause of poor crop productivity and quality. To solve this problem, we attempted to develop a virus-resistance tobacco plants by using viral coat protein (CP) gene. Transgenic tobacco plants expressing CMV CP gene were analysed by the resistance upon CMV infection. The virus-resistance was measured in T₁ generation by the inhibition of plant growth and the expression of the mosaic symptoms infected with CMV. The transgenic lines were divided into four groups: highly resistant, resistant, moderate and susceptible based on their growth and symptom severity. Out of 39 transgenic lines, 16 lines showed significant virus-resistance. And of resistant lines, 2 lines were designated highly resistant based on the facts that they achieved similar plant height to that of non-infected tobacco plants and showed lower disease symptom than that of other lines. The steady state level of CP RNA and coat protein level were measured by northern blot and immunoblot analysis. The CP RNA was highly accumulated in most resistant and moderate lines but barely detected in susceptible lines. The coat protein was detected in most lines regardless of their resistance to CMV. From this result, virus-resistance appeared to correlate more with CP RNA level than the level of coat protein. However, in two highly resistant lines, CP RNA level was unexpectedly low. This unexpected phenomenon need to be further investigated.

Keywords: cucumber mosaic virus, coat protein gene, virus-resistance

오이모자이크바이러스(CMV: cucumber mosaic virus)는 온대와 열대지역에서 작물의 생산량과 품질저하를 유발하는 주요 바이러스이다. 바이러스 입자는 지름 30 nm의 구형(icosahedral, 정20면체)이고 tripartite genome의 형태로 되어 있다(Francki et al., 1979). CMV에 의한 병징은 기주에 따라 차이가 있으나 일반적으로 모자이크 증상외에 키가 왜소해지고 잎색깔의 변화(light/dark green) 등을 보이며(Kaper and Waterworth, 1981; Martelli and Russo, 1985), satellite RNA 유무에 따라 병징이 달라지기도 한다(Palukaitis, 1988). Sanford와 Johnson(1985)은 바이러스 유전자의 일부를 식물에 도입, 발현시킬 경우 유사한 계통의 바이러스에 대해 저항성을 보이는 현상(PDR, pathogen-derived resistance)

을 확인한 이래 최근까지 쌍자엽 식물에 20여종의 바이러스 CP유전자를 도입하여 바이러스병 억제효과를 관찰하였다(Tumer et al., 1987; Cuozzo et al., 1988; Namba et al., 1991; Quemada et al., 1991; Hull and Davies, 1992). CP유전자에 의한 저항성은 CP 유전자의 RNA transcripts level (Kaniewski et al., 1990; Kawchuk et al., 1991; De Haan et al., 1992; Smith et al., 1994) 또는 CP 단백질(Beachy et al., 1990; Fitchen and Beachy, 1993)에 의해 부여될 수 있다는 결과가 동시에 제시되어 현재로서는 정확한 저항성 메커니즘을 단정하기 어렵다. 그럼에도 불구하고 바이러스 유래 유전자인 CP유전자, replicase 등은 식물에 도입할 경우 바이러스 저항성 식물을 개발할 수 있는 유전자로 평가되고

있다. 본 연구는 원예작물에 오이모자이크 바이러스 저항성 부여 가능성을 확인하기 위한 기초연구로서 수행되었으며 바이러스 저항성 검정 재료로는 Sohn 등(1995)이 오이모자이크바이러스 외피단백질유전자를 도입한 담배형질전환계통을 가지고 수행하였다.

재료 및 방법

식물 재료 및 바이러스

본 연구에 사용된 담배(*Nicotiana tabacum* L.)는 한국인 삼연초연구원 수원경작시험장과 경북대학교 미생물학과에서 NC82와 Samsun 품종을 각각 분양받아 사용하였고 오이모자이크 바이러스(CMV, cucumber mosaic virus)는 ABI (Sohn et al., 1996)와 Q (PV-289, ATCC, USA) strain을 사용하였다.

바이러스 저항성 검정

바이러스 저항성을 검정하기 위해 형질전환하지 않은 대조담배에 CMV-ABI, Q strain을 접종하여 성장량 억제와 잎모양 변화를 관찰하여 저항성 판정의 기준을 설정하였다. 저항성 검정에 사용될 담배 형질전환계통(Sohn et al., 1995)을 육성하기 위해 T₀세대의 각 계통 종자를 MS 기본배지(500 mg/L kanamycin)에서 발아시켜 kanamycin에 대해 강한 저항성을 보이는 형질전환개체(T₁)만을 계통당 10개체씩 선발, 온실에 이식하여 사용하였다. 바이러스 접종 시기는 담배 초장이 약 5 cm이고 잎이 5~6매 정도 출현했을 때 바이러스를 1~2매의 잎에 즙액감염시켰으며 계통내 반복으로 ABI, Q strain를 각각 3~4개체씩으로 하고 계통내 10개체중에서 남은 2~4개체는 무접종 대조로 사용하였다.

RNA gel blot

RNA 분리는 Prescott와 Martin (1987)의 방법을 변형하여 사용하였으며 분리된 RNA(20 µg)을 Seed(1982)의 방법에 따라 전기영동하고 전기영동된 RNA는 nylon membrane에 전이시키고 ³²P-dATP로 표지된 CP유전자 단편(960 bp)을 탐침으로 northern hybridization을 수행하였다.

Primer extension

담배에 도입된 CP유전자의 전사시작점을 확인하기 위하여 Sambrook 등(1989)의 방법에 따라 primer extension을 실시하였다. 전사시작점을 확인하기 위한 primer는 CP유전자 부위중 5'-말단 부위에 있는 PE primer (5'-CACAGACTC

TTAAGATCCAGT-3')를 합성하여 사용하였고 PE primer 표지는 DNA 5' end labelling system (Promega, U2010)을 사용하여 ³²P-γATP로서 표지하였다.

Western blot

식물체내 CP 단백질 생합성을 측정하기 위하여 형질전환된 담배를 바이러스에 노출되지 않도록 유지하여 단백질을 추출하고 western blot을 실시하였다. 담배 잎 1 g을 단백질 추출용액(50 mM Tris-HCl, pH 6.8, 1% β-mercaptoethanol, 0.13 mg/mL leupeptin)에서 마쇄하여, 원심분리(38,000 g, 20 분)한 후 100 µg의 총단백질을 15% SDS-PAGE에서 전기영동하였다. 전기영동된 gel은 10 mM CAPS완충용액(3-(cyclohexylamino)-1-propane sulfonic acid, pH 11.0, 10% (v/v) methanol)속에서 PVDF membrane (Bio-Rad, 162-0182)에 전이시키고 PVDF membrane에 CMV-ABI strain의 anti CP mouse polyclonal antibody (Ig), peroxidase conjugate (BM, 1-110-225)를 차례로 부착시킨다음, 발색액(peroxidase conjugate substrate kit, BM, 1-110-225)으로 CP단백질 생합성 여부를 확인하였다. 이때 대조는 pMAL-c2 (BioLabs, #800)에 CP유전자의 ORF만을 삽입시켜 생합성시킨 것을 proteinase factor Xa로 절단하여 사용하였다.

결 과

CMV 병징

CMV-ABI와 Q strain을 형질전환되지 않은 대조담배에 접종하여 성장량의 지표인 초장을 7일 간격으로 개화말기까지 측정한 결과(Fig. 1a), ABI와 Q strain에 감염되면 일반적으로 생장이 급격히 저하되었다.

그러나 Q strain에 감염된 개체의 생장은 점차 회복되어 대조초장의 80%에 육박하였으나 ABI strain는 병징도 심하고 생육을 계속적으로 저해하여 대조의 62%에 불과하였다(Fig. 1b). 성장억제효과외에 잎의 병징도 관찰하였는바, 병징의 강약에 따라 정상과 동일한 잎(A), 병징은 보이나 정상에 가까운 잎(B), 병징이 심하여 모양이 극도로 변형된 잎(C, D) 등 4 단계(Fig. 2)로 세분하여 전체 잎수중에서 각 잎모양의 비율을 확인하였다(Fig. 3). Q strain 감염시 정상에 가까운 A+B 잎의 비율이 전체 잎 수의 48%를 차지하나 ABI strain 감염시는 27%에 불과하였으며 더욱이 병징이 지극히 심한 D잎의 비율은 ABI strain 감염시가 38%에 달해 담배 생육저하 및 병징발현에 ABI strain이 더 심각한 피해를 주는 것을 확인할 수 있었다.

이러한 CMV의 외형적인 병징으로 볼 때 성장량의 결과인 초장과 병징정도가 저항성을 판정할 수 있는 기준으로

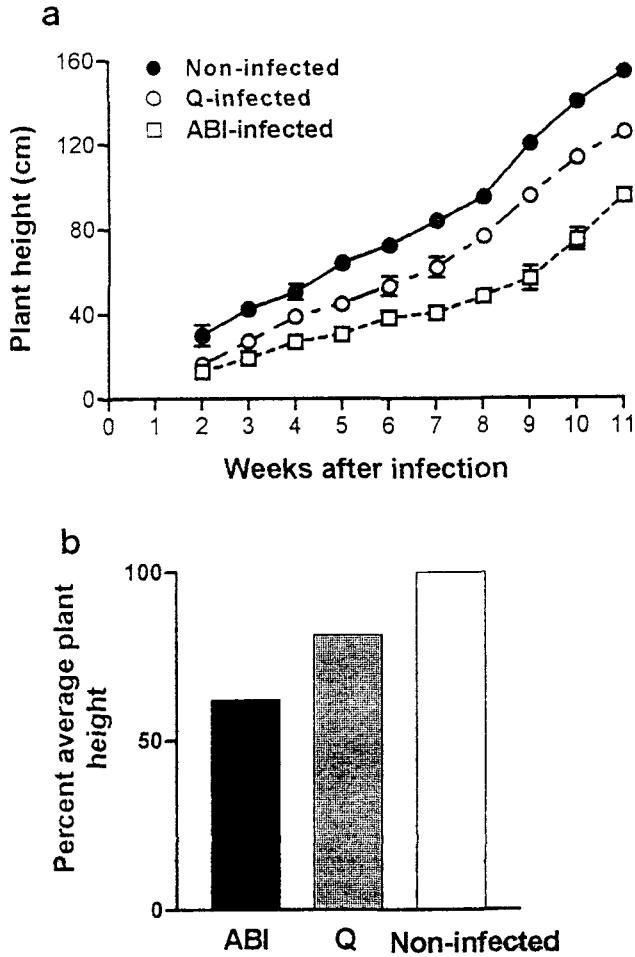


Figure 1. Effect of viral infection on tobacco (*N. tabacum* cv. NC) growth. Either cucumber mosaic virus strain ABI or Q was inoculated on tobacco leaf surface. After then plant growth was monitored continuously at 1 week interval by measuring plant height (a) and at 11 weeks after inoculation, percent plant heights infected with either ABI or Q were compared to the non-infected (b). Each point represents the mean \pm SD out of three samples.

사료되며 특히, 잎모양은 주관적인 판단이 개입될 수 있기 때문에 보충적인 결과로 이용하였다.

바이러스 저항성 검정

Samsun과 NC82 품종으로부터 유래한 39개 형질전환 계통(Sohn et al., 1995)의 T₁세대 개체에 Q와 ABI strain을 감염시킨후 개화 말기에서의 성장량을 평균초장으로 측정하여 그 분포를 보면 Table 1과 같다.

NC82 품종으로부터 유래한 T₁ 형질전환계통은 ABI strain을 감염시켰을 때, 성장량이 대조초장 대비 29%~84% 범위에 분포하여 Q strain을 감염시킨 경우(대조초장 대비 54%~97%)보다 성장억제가 심했고 Samsun품종에서 유래한 T₁ 형질전환계통에서도 ABI strain에 감염되었을때가 Q

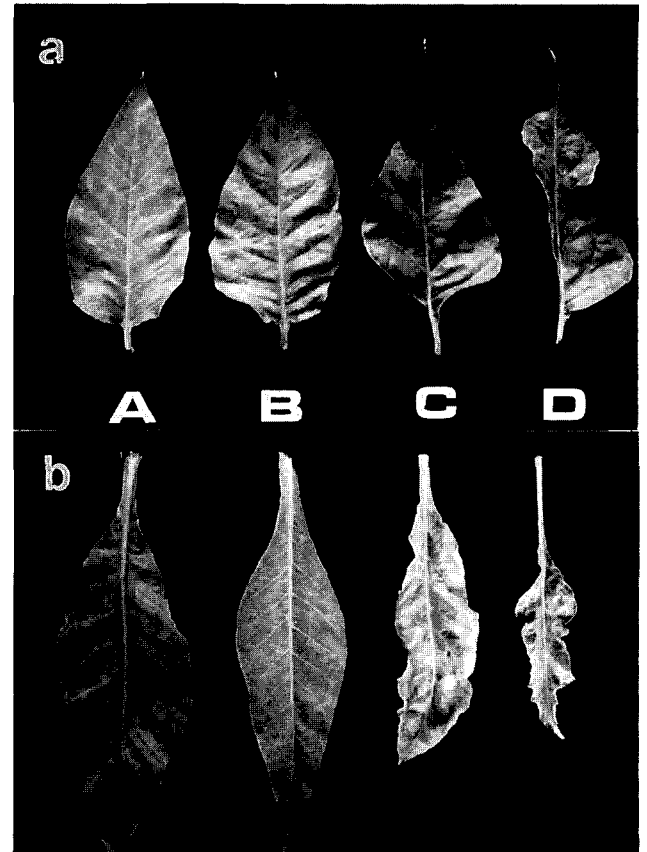


Figure 2. Photographic illustrations of tobacco leaves of two different cultivars infected with CMV. a, cultivar Samsun; b, cultivar NC: from A to D, tobacco leaves with increase in mosaic symptoms by CMV infection.

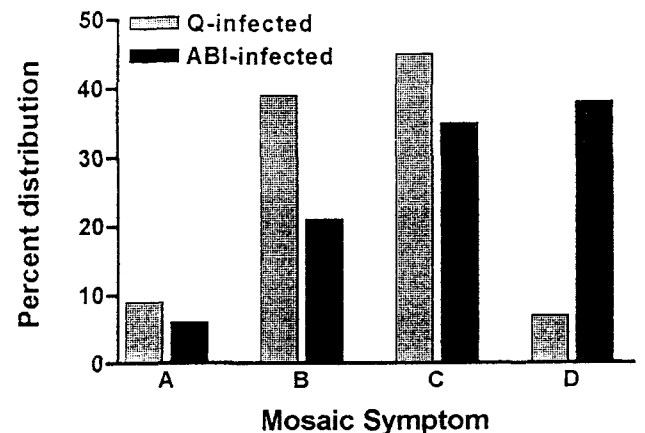


Figure 3. Distribution of mosaic symptoms on tobacco leaves infected either CMV-Q or ABI strain. Percent distribution represents the ratio of number of tobacco leaves with each disease symptoms illustrated in Fig. 2 to total number of tobacco leaves counted. Three plants at the same developmental stage were inoculated with either Q or ABI strain.

Table 1. Analysis of transgenic lines to determine virus resistance based on plant growth and disease symptoms

Transformant line ^a	Copy No.	Relative growth ^b		Resistant leaves(%) ^c		Resistance ^d
		ABI	Q	ABI	Q	
SS-7	2	95	100	71	93	HR
SS-2	1-2	88	100	64	ND	R
SS-11	1	85	100	50	90	R
SS-7R	1-2	84	95	55	70	R
SS-4	3	83	97	67	78	R
SS-8R	1	80	93	65	100	R
SS-5	2	85	95	49	76	M
SS-9	3	72	100	69	ND	M
SS-3	2	83	85	48	66	S
SS-3R	1	79	94	40	56	S
SS-28	2	74	68	61	56	S
SS-27	ND	73	88	40	57	S
SS-4R	3	71	ND ^e	62	ND	ND
NC610-1	1	80	97	55	60	HR
NC616-16	2	84	97	30	58	R
NC524-6	1	83	91	46	60	R
NC3	3	81	94	42	65	R
NC616-20	2	76	96	45	76	R
NC616-8	1	73	86	73	59	R
NC616-10	1	72	86	55	72	R
NC616-23	2	72	70	63	60	R
NC616-13	2	72	81	55	64	R
NC616-19	1	69	86	58	64	R
NC607-14	1	91	91	38	51	M
NC616-4	2	79	96	40	58	M
NC607-1	1	76	90	40	55	M
NC616-6	ND	73	88	40	57	M
NC2	2	58	79	42	65	M
NC4	1	70	76	38	42	S
NC616-17	1	67	88	37	43	S
NC524-9	1	66	83	36	56	S
NC607-16	2	64	82	37	53	S
NC616-1	1	61	85	52	41	S
NC607-3	1	61	79	46	55	S
NC607-15	1	60	93	47	52	S
NC616-2	2	60	87	42	63	S
NC616-21	ND	46	69	18	66	S
NC616-5	1	42	69	20	36	S
NC524-8	ND	29	54	28	72	S

^a The second generation transformants that were self-fertilized in the first generation (T₂).
^b Relative growth represents relative plant height of CMV infected transgenic tobacco compared to that of the non-infected.
^c The ratios of the resistant leaves were calculated using the equation $\{((A+B)/(A+B+C+D)) \times 100\}$
^d Viral resistance were scored as highly resistant (HR), resistant (R), moderate (M) and susceptible (S) based on the analysis of plant growth and disease symptoms (%).
^e Not determined

strain보다 생장억제가 심해 ABI strain이 담배 생장억제에 미치는 효과가 큰 strain으로 나타났다. 또한 병징발현도 ABI strain이 Q strain보다 NC82나 Samsun계통 공히 심하게 나타나 저항성을 판정하는때는 초장억제와 병징이 심한 ABI strain을 판정 바이러스로 사용하고 담배의 형질로는 정량적인 값인 초장과 보완적인 기준으로 A+B잎 모양의

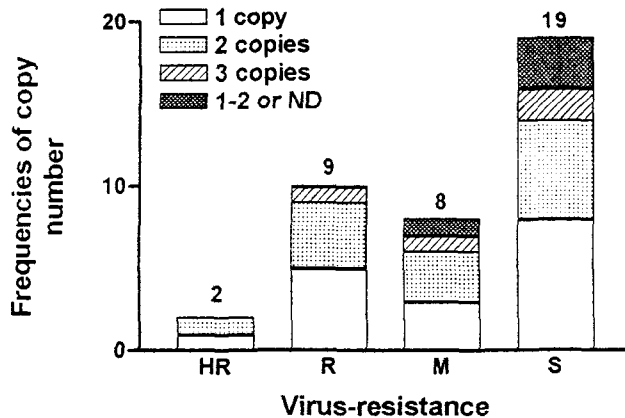


Figure 4. Relationship between virus resistance and transgene copy number of tobacco transgenic lines. HR, highly resistant; R, resistant; M, intermediate; S, susceptible; 1-2 or ND, the transgenic line containing 1-2 transgenes or not determined. The number shown at the top of each bar represents the total number of transgenic lines showing a designated viral resistancy.

비율을 이용하였다.

즉, 담배 형질전환계통에 ABI strain에 감염되었을 때 Samsun계통은 대조초장 대비 80% 이상인 계통을, NC82계통에서는 70% 이상 계통을 저항성(R, resistant)으로 이하일 때는 감수성(S, susceptible)으로 일차적으로 판정한 후 A+B잎의 비율을 가미하여 초장과 잎모양이 공히 우수한 계통을 저항성으로 판정하였다. 이때 초장은 우수하나 A+B잎의 비율이 낮은 계통을 중간성(M, moderate)으로 세분하였다. 이와같은 기준으로 각 계통의 저항성을 판정한 결과는 Table 1과 같으며 전체의 39개 계통중 41%에 달하는 16개 계통을 저항성으로 판정할 수 있었다. 특히 초장 및 저항성잎의 비율이 동시에 우수한 계통(SS-7, NC610-1)을 고도저항성(HR, highly resistant)으로 부여하여 일반적인 저항성 계통(R)과 구분하였다.

바이러스 감염시 나타나는 생장과 병징으로 판단한 저항성과 Sohn 등(1995)이 T₀세대의 종자를 500 mg/L kanamycin 함유 배지에서 발아시켜 측정할 CP유전자 갯수를 서로 비교하면 CP 유전자의 갯수에 따른 저항성 차이는 인정할 수 없었다(Fig. 4). 즉, CP유전자 개수가 증가하더라도 저항성이 비례적으로 증대하는 관계는 확인할 수 없었다.

RNA gel blot을 통한 CP유전자 발현 확인

담배에 도입된 CP유전자가 단백질을 생합성할 수 있는 구조로 전사가 이루어지는 지 확인하기 위하여 형질전환 계통인 SS-8의 총 RNA로 primer extension을 실시하였다(Fig. 5). Primer extension한 결과 CP RNA의 전사 시작점은 35S promoter의 TATAA box로부터 27 bp 떨어진 base A인

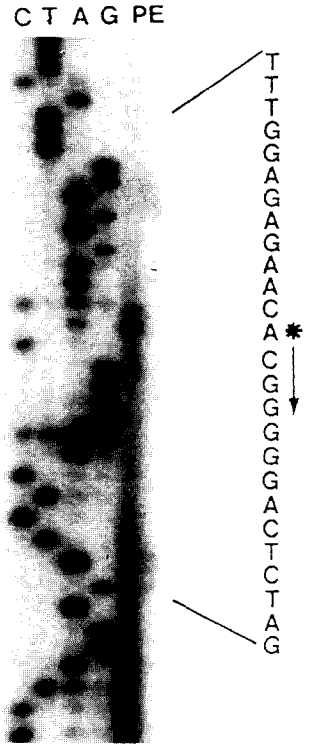


Figure 5. Determination of the transcription start site for CMV-ABI coat protein gene. Primer extension analysis was done with total RNA isolated from transgenic line (SS-8). The 3'-terminus sequence of CaMV 35S promoter was mapped at left and the primer extension product was located at right. The asterisk indicates a major transcription start site.

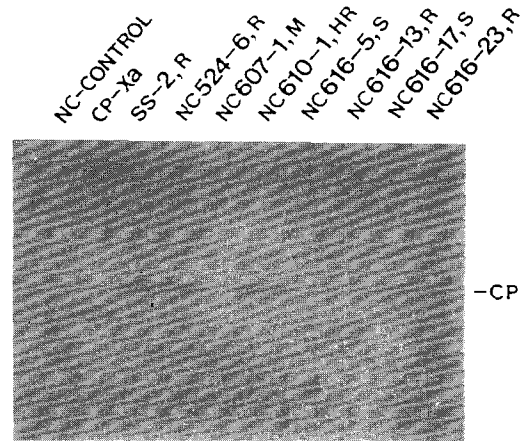


Figure 7. Western blot analysis of T₁ transgenic lines transformed with coat protein gene. Leaf soluble protein (100 µg/lane) of wild type (NC-CONTROL) and some transgenic lines were analysed by western blot using anti-CMV CP mouse antibody. CP-Xa represents coat protein cleaved by protease Xa.

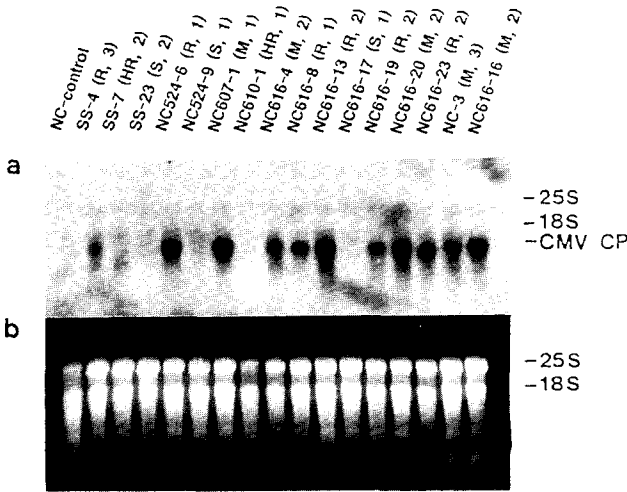


Figure 6. Analysis of steady state levels of coat protein RNA in transgenic tobacco lines. Equal amounts (20 µg/lane) of total RNA were electrophoresed on formaldehyde agarose gel, blotted onto Hybond-N⁺ membrane and hybridized with ³²P-labelled CP probe. Virus-resistance and transgene number of each transgenic line were indicated in parenthesis successively. HR, highly resistant; R, resistant; M, intermediate; S, susceptible.

것으로 확인되었다. Base A위의 minor band는 그 위치가 base C보다 약간 낮은 것을 고려할 때 primer extension시 RNA의 이차구조에 의하여 파생된 것으로 추정되며 진정한 전사시작점은 base A로 사료된다.

저항성과 감수성 계통의 일부를 대상으로 세포내 CP RNA 발현 수준을 확인하였다(Fig. 6). 대조담배(NC-control)에서는 CP유전자에 해당하는 위치의 RNA가 검출되지 않았으나 16개의 형질전환 계통중 저항성(R)인 SS-4, NC524-6, NC616-8, NC616-13, NC616-19, NC616-23과 중간성(M)인 NC607-1, NC616-4, NC616-20, NC-3, NC616-16 등 11 계통에서는 약 1 kb 정도의 CP RNA가 확인되었다(Fig. 6a). 그러나, 감수성(S)인 SS-28, NC524-6, NC616-17 등 3 계통과 고도저항성(HR)인 SS-7, NC610-1은 CP RNA가 거의 검출되지 않은 것으로 나타났다.

형질전환담배의 외피단백질 생합성

형질전환 담배에서 외피단백질 생합성 여부를 확인한 결과(Fig. 7) 대부분의 형질전환체에서 뚜렷한 CP 단백질 생산을 인정할 수 있었다. CP 단백질이 검출된 계통은 고도저항성(HR)계통으로 NC610-1, 저항성(R)계통으로 SS-2, NC524-6, NC616-23, 중간성(M)계통으로 NC607-1, 감수성(S)계통으로 NC616-5, NC616-17 등 7계통에서 CP단백질 합성을 확인할 수 있었다. 그러나 대조(NC-control)와 저항성(R)계통인 NC616-13은 외피단백질이 검출되지 않았다. CP 단백질 대조(CP-Xa)의 분자량이 형질전환 계통의 CP 단백질보다 낮게 나타난 것은 maltose-binding protein을 절단하기 위해 proteinase factor Xa 처리시 CP 단백질 일부도 절단된 것으로 생각된다.

고찰

ABI strain의 병징 특성

CMV-ABI strain이 담배에 감염되면 접종후 6~8일이 지나면서 접종 상위엽부터 모자이크 증상과 퇴록반점이 나타나기 시작하고 점차 잎면적 축소와 발육부진 등이 관찰되었다(Fig. 2). 이러한 현상은 Shintaku 등(1992)의 결과와 일치하였다. 또한 병징이 순환적으로 발현되고 억제되는 현상이 관찰되었는데 이는 초장이 억제되고 회복되는 시기와 일치하였다. 이러한 병징의 순환적인 발현은 Citovsky(1993)의 제안으로 설명되어질 수 있다. 즉, 바이러스가 왕성하게 복제하는 시기에는 병징이 심하여 잎의 발달 및 생장이 억제되거나 복제말기에 바이러스 입자가 재조합되어 다른 부위로 이동한 후 복제가 다시 시작되기까지는 병징이 약화되는 현상으로 설명이 가능하다.

또한, 본 연구에서 ABI와 Q strain의 병원성을 비교하였는 바, 담배 생장억제(Fig. 1)와 잎모양 구성비(Fig. 3)로 판단할 때 ABI strain이 Q strain보다 병원성이 강한 CMV임을 확인할 수 있었다.

바이러스 저항성 계통 선발 기준

본 연구에서 저항성계통을 선발하는 기준은 담배잎의 생산량과 깊은 관련이 있는 형질인 성장량 및 병징발현 정도를 이용하였다. 이와 유사한 예는 항바이러스성과 내병성 작물을 선발하기 위해 작물의 수확량, 건물중(Om et al., 1985; Cordrey and Bergman, 1979), 초장, 잎무게(Agrios and Walker, 1984) 등의 형질을 이용한 연구를 참조하여 적용하였다.

즉, 선발기준을 설정하기 위하여 바이러스에 감염된 형질 전환계통의 평균초장분포를 관찰하였고 또한 병징발현에 따른 잎모양의 변화를 확인하였다. 또한 바이러스 strain별 병원성을 검정하여 저항성 판정시 비교적 적합한 strain을 선정하였다. 이러한 결과를 종합하면 ABI strain이 저항성 판정에 유리하고 성장량의 지표인 초장을 주 기준으로 이용하며 잎모양은 주관적인 판정의 소지와 객관성을 상실할 우려가 있기 때문에 판정한 결과에 대한 보완적인 기준으로만 이용하는 것이 타당하리라 생각된다.

상기의 기준으로 판정한 결과(Table 1), 39개의 계통중에서 41%에 해당하는 16개 계통이 저항성으로 판정되었고 이중 두 개의 계통은 대조에 버금가는 초장을 보이고 잎모양도 다른 저항성계통보다 비교적 우수하여 고도저항성으로 구분하기에 충분하였다. 사실 이러한 판정결과는 현실적으로 논란의 여지가 있을 수 있으나 단순히 초기병징의 유무에만 의존하지 않고 담배의 전생육기간에 걸쳐 성장량과 병징발현을 관찰하는 방법이 저항성 판정에 좀더 적합하다

고 생각된다.

저항성 메카니즘 연구

본 연구 결과로 바이러스 저항성 메카니즘을 해석하기에는 부족한 측면이 있다. 그러나 현재까지 제시된 가설과 비교하면 RNA-mediated resistance와 protein-mediated resistance중에서 좀더 가까운 메카니즘을 확인할 수 있다.

본 연구의 결과를 볼 때, 바이러스 저항성 및 중간성계통에서는 CP RNA가 다량 검출되었으나 감수성계통에서는 CP RNA가 검출되지 않아 CP RNA와 저항성간에 밀접한 관련을 보였다. 그러나 CP단백질 생성은 저항성이나 감수성계통간에 특별한 관계를 보이지 않은 것으로 CP RNA 발현량이 저항성과 좀더 밀접한 것으로 추측된다. RNA에 의한 저항성 메카니즘은 식물세포가 바이러스 RNA를 분해하는 능력을 획득하거나(Lindbo et al., 1993; Smith et al., 1994)과 식물세포내 특정인자에 의한 바이러스 RNA 전사 억제와 같은 gene silencing (Mueller et al., 1995)에 의하여 바이러스 life cycle를 방해한다는 가설 등으로 대표된다.

즉, 저항성계통(R)에서는 형질전환된 CP유전자의 RNA 발현량에 침입한 바이러스 RNA가 합해져 식물세포내 CP RNA양이 지나치게 높아져 CP RNA가 특이적으로 분해되기 시작하거나 전사가 억제되어 감염 초기 병징이 보이더라도 점차 저항성으로 발전하는 현상으로 설명될 수 있다. 만약 형질전환된 CP유전자의 RNA 발현량이 지극히 높으면 바이러스가 침입하지 않더라도 식물세포내 CP RNA가 분해되기 시작하여 바이러스가 침입하더라도 즉각적인 저항성을 보일 수 있는데 이와 유사한 양상이 본 연구의 고도저항성 계통(HR)에서도 나타났다. 본 연구의 고도저항성 계통은 감수성 계통처럼 CP RNA가 검출되지 않거나(Fig. 6, NC610-1), CP RNA가 분해된 것 같은 흔적도 나타났다(Fig. 6, SS-7).

이와같은 결과를 종합할 때 바이러스 유래 유전자에 의한 저항성은 바이러스 단백질에 의한 저항성(Beachy et al., 1990; Fitchen and Beachy, 1993) 가능성 보다 RNA 발현량에 의해 좌우되는 것으로 추측할 수 있으나 정확한 메카니즘을 확인하기 위해서는 좀더 깊이있는 연구가 요구된다.

적요

오이모자이크바이러스(CMV, cucumber mosaic virus)는 작물의 생산량과 품질에 심각한 피해를 주기 때문에 외피단백질 유전자(CP, coat protein gene)를 도입하여 저항성 작물을 개발하고자 하였다. CMV CP유전자가 도입된 형질전환 담배 39 계통을 대상으로 오이모자이크바이러스 저항성을 검정하였다. 바이러스 저항성은 바이러스 감염으로 인한 생

장 억제정도, 병징발현에 따른 잎모양의 변화로서 고도저항성, 저항성, 중간성, 감수성 등으로 판정하였고 39개 계통중 16 계통이 뚜렷한 바이러스 저항성을 보였다. 특히, 저항성 계통중 2 계통은 성장량과 잎모양에서 다른 저항성 계통보다 우수하여 고도저항성으로 세분하였다. 각 형질전환계통에서 CP단백질과 CP RNA 생성량을 조사하였는데, CP단백질 생합성은 대부분의 저항성과 감수성계통에서 검출되어 저항성과 특별한 관련을 인정할 수 없었으나 CP RNA는 대부분의 저항성 및 중간성 계통에서 다량 축적되는 경향을 보여 CP RNA가 저항성에 좀더 밀접함을 알수 있었다. 그러나 고도저항성 계통에서는 CP RNA가 검출되지 않아 저항성의 근원을 파악하기 위해서는 계속적인 연구가 요구된다.

인용문헌

- Agrios GN, Walker ME (1984) Effect of cucumber mosaic virus inoculation at successive weekly intervals on growth and yield of pepper (*Capsicum annuum*) plants. *Plant Disease* 69: 52-55.
- Beachy RN, Loesch-Fries S, Tumer NE (1990) Coat protein-mediated resistance against virus infection. *Ann. Rev. Phytopathol.* 28: 451-474.
- Citovsky V (1993) Probing Plasmodesmal Transport with Plant virus. *Plant Physiol.* 102: 1071-1076.
- Cordrey TD, Bergman EL (1979) Influence of cucumber mosaic virus on growth and elemental composition of susceptible and resistant peppers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104: 505-510.
- Cuozzo M, O'Connell K, Kaniewski W, Fang RX, Chua NH, Tumer NE (1988) Viral protection in transgenic tobacco plants expressing the cucumber mosaic virus coat protein or its antisense RNA. *Bio/Technology* 6: 549-557.
- De Haan P, Gielen JJJ, Prins M, Wijkamp IG, Van Schepen A, Peter D, Van Grinsven MQJM, Goldbach R (1992) Characterization of RNA-mediated resistance to tomato spotted wilt virus in transgenic tobacco plants. *Bio/Technology* 10: 1133-1137.
- Fitch JH, Beachy RN (1993) Genetically engineered protection against viruses in transgenic plants. *Annu. Rev. Microbiol.* 47: 739-763.
- Francki RIB, Mossop DW, Hatta T (1979) Cucumber mosaic virus. CMI ABB descriptions of plant virus, No 213.
- Hull R, Davies JW (1992) Approaches to nonconventional control of plant virus diseases. *Crit. Rev. Plant Sci.* 11: 17-33.
- Kaniewski W, Lawson C, Sammons B, Haley L, Hart J, Delannay X, Tumer NE (1990) Field resistance of transgenic Russet Burbank potato to effect of infection by potato virus X and potato virus Y. *Bio/Technology* 8: 750-754.
- Kaper JM, Waterworth HE (1981) Infections and Comparative Diagnosis. In "Handbook of plant virus" E. Kurstak (ed.) Elsevier/North-Holland. New York. pp. 257-332.
- Kawchuk LM, Martin RR, McPherson J (1991) Sense and antisense RNA-mediated resistance to potato leafroll virus in Russet Burbank potato plants. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 4: 247-253.
- Lindbo JA, Dougherty WG, Smith HA, Parks TD, Swaney S, Proebsting WM (1993) RNA-mediated virus resistance in transgenic plants: Exploitation of a cellular pathway possibly involved in RNA degradation. *Mol Plant-Microbe Interactions* 7: 544-552.
- Martelli GP, Russo M (1985) Polyhedral virions with tripartite genomes. In *The Plant Viruses*, vol. 1: R.L.B. Francki (ed.). Plenum. New York. pp. 163-205.
- Mueller E, Gilbert J, Davenport G, Brigneti G, Balcombe C (1995) Homology-dependent resistance transgenic virus resistance in plants related to homology-dependent gene silencing. *Plant J.* 7: 1001-1013.
- Namba S, Ling K, Gonsalves C, Gonsalves D, Slightom JL (1991) Expression of the gene coding the coat protein of cucumber mosaic virus (CMV) strain WL appears to provide protection to tobacco plants against infection by several different CMV strains. *Gene* 107: 181-188.
- Om YH, Choi KS, Lee CH (1985) A new hybrid "Sinhong-gochu" in pepper. *Res. Rept. RDA* 27: 88-90.
- Palukaitis P (1988) Pathogenicity regulation by satellite RNAs of cucumber mosaic virus: minor nucleotide sequence changes alter host responses. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1: 175-181.
- Prescott A, Martin C (1987) A rapid method for the quantitative assessment of levels of specific mRNAs in plants. *Plant Mol. Biol. Rep.* 4: 219-224
- Quemada H, Gonsalves D, Slightom JL (1991) CMV-C coat protein gene expression in tobacco; Protection against infection by CMV strains transmitted mechanically or by aphids. *Phytopathology* 81: 794-802
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) Analysis of RNA by primer extension. In *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd edition. J. Sambrook et al.(eds). Cold Spring Harbor Publishers, New York. pp. 7.79-7.83
- Sanford JC, Johnston SA (1985) The concept of parasite-derived resistance-deriving resistance genes from the parasite's own genome. *J. Theor. Biol.* 113: 395-405.
- Seed B (1982) Attachment of nucleic acids to nitrocellulose and diazonium-substituted supports. In *Genetic engineering: Principles and methods*. J.K. Setlow and A. Hollaender(eds). Plenum, New York. vol 4. pp. 91-99
- Shintaku MH, Zang L, Palukaitis P (1992) A single amino acid substitution in the coat protein of cucumber mosaic virus induces chlorosis in tobacco. *Plant Cell* 4: 751-757
- Smith HA, Swaney SL, Parks TD, Wernsman EA, Dougherty G (1994) Transgenic plant virus resistant mediated by untranslatable sense RNAs: expression, regulation and fate of nonessential RNAs. *Plant Cell* 6: 1441-1453

Sohn SH, Kim KH, Hwang DJ, Park JS, Lee KW, Hwang YS (1996)
Phylogenetic analysis of a Korean isolate of cucumber mosaic virus using coat protein gene. RDA. J. Agri. Sci. 38: 234-239.

Sohn SH, Kim KH, Kim YT, Park JS, Lee KW, Hwang YS (1995)
Isolation of coat protein gene from cucumber mosaic virus and its introduction into tobacco. Korean J. Plant Tissue Culture 22: 149-155.

Turner NE, O'Connell KM, Nelson RS, Sanders PR, Beachy RN, Faley

RT, Shah DM (1987) Expression of alfalfa mosaic virus coat protein gene confers cross-protection in transgenic tobacco and tomato plants. EMBO J. 6: 1181-1188

(1997년 4월 10일 접수)

농과원 승인번호 : 97-2-3-37