

3. 植物の RNA サイレンシングとウイルスの病徴誘導

志村 華子, 増田 税

北海道大学大学院農学研究院

RNA サイレンシングは植物のウイルス抵抗性に重要な役割を果たしている。多くの植物ウイルスはこれに対するカウンター攻撃として RNA サイレンシングサプレッサー (RSS) を生産する。最近の研究から、RNA サイレンシングは植物の病徴発現に深く関与することが明らかになってきた。例えば、植物の組織や器官の分化には miRNA による遺伝子発現制御が関わるが、この制御機構はウイルスの RSS によって乱され、ウイルス感染植物は奇形症状を現す。植物ウイルス病で典型的なモザイク症状は、RSS と宿主サイレンシングの攻防の結果として説明される。また、特殊な例として、ウイルス由来の siRNA が偶然に宿主の特定の遺伝子にサイレンシングを誘導し、それが病徴発現につながる場合もある。植物だけでなく動物においても、宿主とウイルスの相互作用 (病気の誘導) に果たす RNA サイレンシングの役割は注目されており、ウイルス防御戦略の構築へ導く重要なメカニズムとして考えられている。

はじめに

植物がウイルスに感染すると矮化、モザイク、黄化、葉巻、え死斑、奇形など様々な症状 (病徴) を現す。誰しものが経験する人に感染するウイルス病の症状とは異なり、植物のウイルス病は日々の生活になじみがなく見たことがないと思う人も少なくない。しかし、歴史上で植物のウイルス病が思いもよらない姿で表舞台に出てきたことがたびたびある。例えば、17 世紀のオランダで起きた「チューリップ狂時代」は、オランダの経済をバブル崩壊へと導いた縞模様 (病徴) の花をつけるチューリップに関わる話であり、このチューリップの球根に途方もない投機がなされた⁶⁾。この縞模様のチューリップは、珍しい模様をつけるチューリップの品種ではなく、*Tulip breaking virus* というウイルスに感染し縞模様 (病徴) の花をつけるようになったものである。これは伝染性のウイルス病だったため、ヨーロッ

パ社会を混乱に貶めることになった。また、世界最古の植物ウイルス病の記載は我国の万葉集の短歌に残っており、植物のウイルス病がいかに身近にあるのかを思い知る²⁵⁾。752 年、孝謙天皇が奈良で、葉脈が鮮やかに黄化したヒヨドリバナを見つけて、初夏であるにもかかわらず黄葉現象が起きていることに驚き、それを歌に詠んだと伝えられる。この黄葉は、ジェミニウイルスとそのサテライト DNA に感染したことによる病徴であったのだ。このような人の目を引く植物の葉や花の色、模様の変化が植物ウイルスの病徴としてどのように誘導されるのか、その分子メカニズムの解明が近年進んできている。この理由は、RNA サイレンシングの発見とともにその理解が進み、ウイルスの病原性を宿主の RNA サイレンシングとの関連で解析する試みが盛んに行われるようになってきたからである²¹⁾。本稿では、RNA サイレンシングが宿主植物とウイルスの相互作用にどのような役割を果たしているのか、そして病徴誘導にどのように関与しているのか最新の研究成果を紹介しながら、今後の植物ウイルス病の研究の方向を議論する。

連絡先

〒060-8589

北海道札幌市北区北 9 条西 9 丁目

北海道大学大学院農学研究院

TEL: 011-706-2807

FAX: 011-706-2483

E-mail: masuta@res.agr.hokudai.ac.jp

1. 植物の RNA サイレンシング経路と ウイルス感染に対する防御

植物ウイルスの遺伝子配列を発現するような形質転換植物は、そのウイルスに対して抵抗性を示す。この抵抗性はタンパク質レベルではなく、RNA によって誘導されることが示唆されていた¹⁸⁾。これは RNA サイレンシングとい

う現象が線虫やショウジョウバエで発見される以前のことであり、現在、植物のRNAサイレンシングの主要な役割はウイルスに対する抵抗性付与であると考えられている。植物のRNAサイレンシングには、ターゲットとなる遺伝子や silencing inducer となる RNA の違いによって、3つの経路が存在する^{2,9,20)}。すなわち、① siRNA 経路、② miRNA 経路、そして③ RNA 依存的 DNA メチル化 (RdDM) 経路である。RNA サイレncing では、共通して、細胞内で2本鎖 (ds) RNA が dsRNA 特異的分解酵素であるダイサー (Dicer) によって siRNA と呼ばれる 21 ~ 24 ヌクレオチド (nt) に切断される。Dicer にはいくつかの種類があり、*Arabidopsis* では DCL1 ~ DCL4 の4種が確認されている。Dicer はそれぞれ違う長さの siRNA を生成し、DCL2 が 22 nt siRNA を、DCL4 が 21 nt siRNA を生成する。植物 RNA ウイルス由来の dsRNA を分解するのは、主にこの2つの DCL であり、それぞれが補完的に働くことが分かっている^{30,31)}。ウイルスが複製する時や、外来遺伝子あるいは内在性遺伝子が過剰発現した場合に、RNA 依存型 RNA 複製酵素 (RDR, *Arabidopsis* には6つの RDR が存在する) の1つである RDR6 によって dsRNA が増幅される^{10,32)}。ウイルス RNA は自らがコードする複製酵素によっても複製中間体として dsRNA を生成する。これらの dsRNA はいずれも Dicer によって切断されて siRNA になり、RISC (RNA-induced silencing complex, RISC) と呼ばれるタンパク質複合体にとりこまれて、そこで1本鎖 RNA にほどかれて、片方の RNA (passenger strand) を放出する。RISC は保持する残りの siRNA 鎖に相補的な RNA を細胞内で探し出し、RISC を構成するスライサータンパク質である AGO によってそれを切断する。ウイルス RNA の切断に関与する AGO として AGO1 が主要な役割を果たしているが、AGO2 や AGO7 も関与することが報告されている。切断されて短くなった RNA [アバラント (aberrant) RNA と呼ばれる] は、RDR6 によって dsRNA に再度変換され、サイレンシング経路にまわされて siRNA 生成が増幅される。この RDR6 による siRNA の二次的な生成経路はトランジティビティー (transitivity) と呼ばれ、増幅された siRNA は secondary siRNA と呼ばれる。興味深いことに、RDR6 は植物と線虫で見つかるが、ショウジョウバエや哺乳類細胞では報告されていない。

miRNA 経路では、miRNA 遺伝子座から転写された miRNA の前駆体 (pri-miRNAs) が核内で DCL1 (HYL1 と複合体を作っている) によってステム・ループ構造の次の段階の前駆体 (pre-miRNA) にシェイプアップされ、その後 21-24 塩基の成熟 miRNA に変換される⁵⁾。植物では、動物とは異なり、siRNA や miRNA はすぐに HEN1 によって 3' end の 2'-O-メチル化修飾を受け (一部細胞質で起きる)、細胞内での分解に耐性となり安定化する³³⁾。この後、miRNA は核から HST の補助で細胞質に移動し、AGO1 に

取り込まれて、siRNA 経路と同様のメカニズムで RNA 分解を行う。動物細胞で見られる miRNA は、ターゲット mRNA の 3' end 非翻訳領域を主なターゲットとして機能するが、植物の miRNA は、mRNA のコード領域を主なターゲットとしてその領域で RNA 切断を行う。

DNA のメチル化が siRNA によって誘導されることが近年報告され、RdDM と呼ばれている^{13, 19)}。植物における RdDM の本来の機能は、主にトランスポゾンや繰り返し配列に対し働いており、これらの配列に転写型 RNA サイレncing (TGS) を誘導することでゲノムの安定化を維持していると考えられている。DNA メチル化で特筆しなければならないのは、次世代の同じ塩基配列にこのメチル化が伝達・維持されるということである。つまり、dsDNA の片鎖の配列に入ったメチル化はもう片鎖にも誘導され、これにより細胞分裂後もこの領域の DNA 配列のメチル化は維持されていく。RdDM のメカニズムの詳細は以下の通りである。まず、Pol IV によってメチル化 DNA から転写された mRNA が、RDR2 によって dsRNA に変換される。DCL3 がその dsRNA を認識し、24 塩基の siRNA を生成する。その siRNA は AGO4 に取り込まれて Pol V や DRM2 と複合体を作る。この複合体の siRNA の配列が核でマッチする DNA 配列を探し出し、DRM2 によって *do novo* のシトシンメチル化を誘導する。RdDM の経路はジェミニウイルスなどの DNA ウイルスに対する防御機構として機能することも知られている。

2. ウイルス感染における宿主 miRNA の役割

植物ウイルスの大半はプラスセンスの1本鎖 (ss) RNA あるいは dsRNA ウイルスであり、この点、多くの dsDNA ウイルスが存在する動物ウイルスとは異なっている。dsDNA ウイルスは核の中で宿主細胞の DNA 複製機構を使用して増殖するが、RNA ウイルスは核の DNA 複製機構を使用しないため、細胞質内で複製する。siRNA が関わる RNA サイレncing 経路が細胞質で機能することを考えると、植物細胞は、ssRNA ウイルスをターゲットとして RNA サイレncing を進化させたと考えられる。植物では、siRNA 経路は RNA ウイルスに、RdDM 経路は DNA ウイルスに対する防御機構としての役割をもつと考えられている。ところで、miRNA 経路はどうだろうか。植物の miRNA 経路で主要な役割を果たす DCL1 が、ウイルスの siRNA を生成するという証拠はない。しかし、siRNA 経路の DCL4 と RdDM 経路の DCL3 は DCL1 によって負の制御を受けるという報告²³⁾があり、DCL4 や DCL3 は宿主の miRNA によって発現が制御されている可能性がある。この場合、miRNA 経路も間接的にウイルス防御に関与していると言える。宿主細胞が特定の RNA ウイルスに対する防御のために miRNA 遺伝子座をもっているというアイデアは合理的ではない。その理由の1つとして、

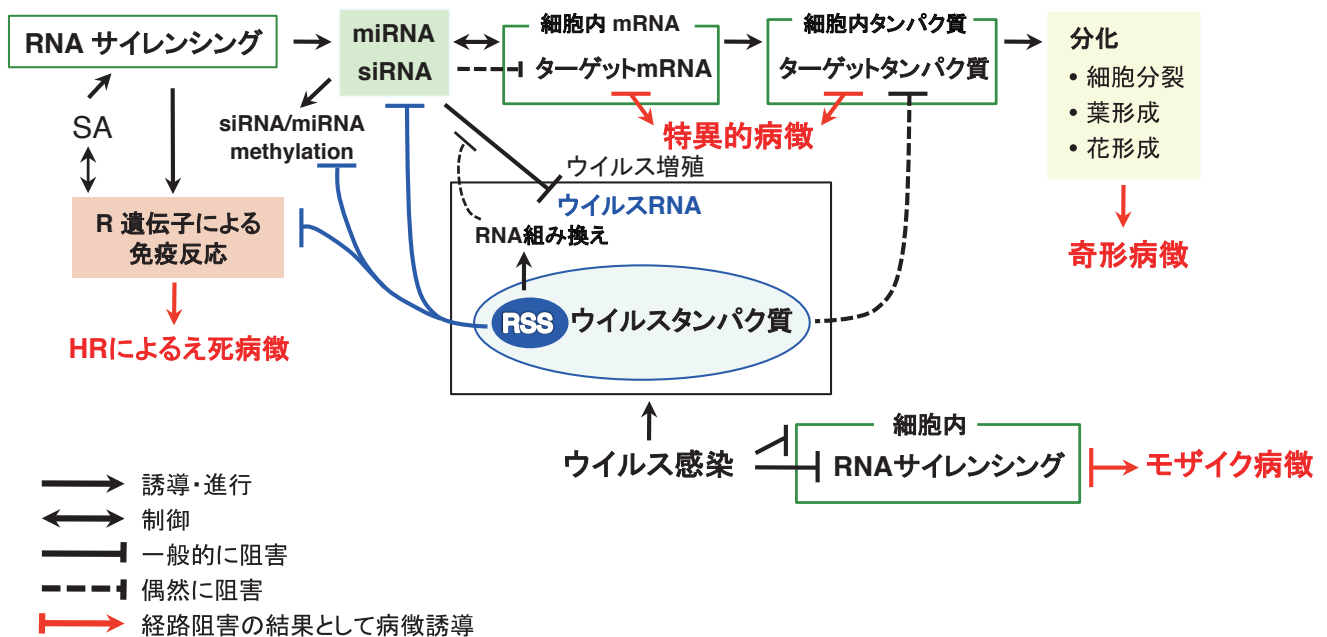


図1 植物ウイルスによる病徴誘導機構

宿主のRNAサイレンシングとウイルスのRSSの分子攻防によって様々な病徴が誘導される。ウイルスから生成したsiRNAが偶然に宿主遺伝子の特定のmRNAをターゲットとしてしまうことがまれに起きる。また、RSSを宿主が認識してHRなどの抵抗反応を誘導することがある。

RNAウイルスのRNA組換えや突然変異の頻度が極めて高いことがあげられる。仮に、進化の過程で宿主がウイルスに対するmiRNA遺伝子座を偶然に獲得したとしても、高頻度に塩基配列を変化させていくRNAウイルスに、それは長期間有効であろうか。しかし、動物ウイルスでは植物における状況とは異なっている。人の細胞がHIVをターゲットにしたmiRNAを生産し、HIVの複製を阻害するという報告¹⁾やレトロウイルスであるprimate foamy virus (PFV-1)が宿主細胞の作るmiRNAによって抑制されるという報告¹⁷⁾がある。さらには、細胞の作るmiRNAによってhepatitis C virusの複製が促進されるという報告もあり、miRNAはウイルスに対する防御として働くだけではなく、むしろウイルスの感染拡大に利用されている可能性も指摘されている。このようなmiRNAの役割は動物のレトロウイルスに特異的な現象かもしれないが、今後、植物ウイルスにおいても同様なmiRNAの機能が発見される可能性も否定できない。このような動物ウイルスと植物ウイルスの感染細胞内のmiRNAの機能の違いがあることは興味深い研究課題である。

3. RNAサイレンシングサプレッサーとR遺伝子

植物はウイルスに対する防御機構としてRNAサイレンシングを進化させたが²⁸⁾、これに対するカウンター攻撃として多くの植物ウイルスはRNAサイレンシングサプレッサー(RSS)を生産し、宿主のRNAサイレンシング

経路の特異的なステップを阻害する^{3,8,14,24)}。報告されている大半のRSSはRNAサイレンシング経路がまわる上で重要なdsRNAやsiRNAに直接に結合することができる。このRSSとdsRNAやsiRNAの結合は、DCLによるdsRNAの切断阻害やAGOによるsiRNAの取り込みの阻害につながる。この他にもいくつかのウイルスのRSSがDCL、AGO、DRB4などのサイレンシング経路の構成タンパク質に結合することが報告されており、様々なRSSによる多様なサイレンシングの阻害様式が存在する。しかし、宿主植物のウイルス防御戦略はウイルスが作るRSSによって粉碎されてしまったわけではない。例えば、Turnip crinkle virus (TCV)のコートタンパク質(CP)はTCVのRSSとしての機能も備えているが、TCVの宿主植物となるカブはこのCPをHRT遺伝子(抵抗性遺伝子; R遺伝子)によって認識し、強い抵抗反応を誘導する⁴⁾。この場合の抵抗性は、過敏反応死(HR)と呼ばれる植物が備えるもう一つの強力なウイルス防御機構である。HRは動物細胞で観察されるアポトーシスと同じ現象で、ウイルスが感染した細胞が速やかに自殺する現象である。HRがうまく機能すると、ウイルスは感染点で死滅し、せいぜい局部病斑を作る程度の病徴を示すにとどまる。しかし、時々、ウイルスの系統と植物の品種の組合せによってはこのHRは暴走し、全身え死症状に発展することがある。すなわち、抵抗性を誘導するはずが、植物体を枯死させる皮肉な結果になってしまうのである。この例として、アブ



図2 キュウリモザイクウイルス (CMV) の Y-sat によるタバコ黄化病徴

CMV 単独感染だと緑色モザイク症状を示すが (右), CMV と Y-sat が感染すると鮮やかな黄色モザイク症状を示す (左).

ラナ科植物の *Arabidopsis* やナタネに *Turnip mosaic virus* が感染したときに観察される全身え死があり, この全身え死は, 実は HR 抵抗性が暴走した結果であることが報告されている^{15,16)}. このように, 植物は RNA サイレンシングと R 遺伝子によるウイルス防御の 2 大戦略を巧みに使い分けて, ウイルスとの攻防戦を有利に展開しているものと考えられる. 図 1 は, 宿主の RNA サイレンシングとウイルスの RSS の分子攻防, さらにその結果としての病徴誘導のクロストークを説明する模式図である.

4. ウイルス由来の siRNA (miRNA) による病徴誘導

(1) *Cucumber mosaic virus* の Y サテライト RNA によるタバコ黄化誘導

RNA ウイルスの増殖量は極めて高いので, それに比例するようにウイルス感染細胞内ではウイルス由来の siRNA も大量に生成される. この siRNA 中に偶然, 宿主遺伝子にホモロジーや相補性のあるものが存在した場合, その遺伝子の mRNA をターゲットにしたサイレンシングが誘導されることがあっても不思議ではない. ウイルス感染によって細胞内の RNA サイレンシング機構は活性化されるので, 同時に宿主遺伝子に対するサイレンシングをも促進してしまうことになるのである. 特に RDR6 による secondary dsRNA の合成は, 細胞内で低レベルに起きている宿主遺伝子のサイレンシングを増幅してしまうかもしれない. 筆者らは, 昨年, ウイルス siRNA が偶然にクロロフィル合成系の遺伝子に対して RNA サイレンシングを誘導し, ウイルスの病徴を著しく変化させる現象のメカニズムについて報告している^{26,27)}. CMV のサテライト RNA (satRNA) は, その複製を CMV (satRNA のヘルパーウ

イルス) に依存しているが, CMV との間に塩基配列のホモロジーや相補性はない低分子 RNA である. また, satRNA はタンパク質を全くコードしていない. satRNA が増殖すると CMV の増殖は抑制され, CMV の病徴も軽減される. したがって, satRNA は CMV に寄生する RNA として理解され, ウイルスとは区別して, “サブウイルス” の一つとして分類されている. CMV satRNA の中で Y-satRNA (Y-sat) はタバコに感染すると CMV による緑色モザイクを鮮やかな黄色モザイクに変化させる (図 2). 筆者らは, この原因を Y-sat 由来の siRNA が, クロロフィル合成系の最重要酵素である Mg プロトポルフィリンキレーターゼサブユニット I (*ChlI*) 遺伝子の mRNA に対して偶然にサイレンシングを誘導した結果であることを分子レベルで証明することに成功した. Y-sat 分子中には, 宿主 *ChlI* mRNA に対して結合することができる連続した 22 塩基の部位 (SYR) がある. 細胞内で, Y-sat の増殖に伴い生成される Y-sat 由来の siRNA のうち, この SYR を有するものが, *ChlI* mRNA に対してサイレンシングを誘導する (図 3). すなわち, Y-sat siRNA は RISC の成分である AGO1 に取り込まれ, *ChlI* mRNA の SYR が結合する部分 (YR) において, AGO1 のスライサー活性により特異的な切断が起きる. この Y-sat によるタバコ黄化病徴誘導は, 植物ウイルス (サブウイルスを含む) の病徴の中に, 宿主遺伝子に対する特異的な RNA サイレンシングが関与することを分子レベルで証明するに至った最初の例である.

(2) RNA サイレンシングを介した植物ウイルス病の間接的証拠

最近のディープシーケンシングやバイオインフォマティ

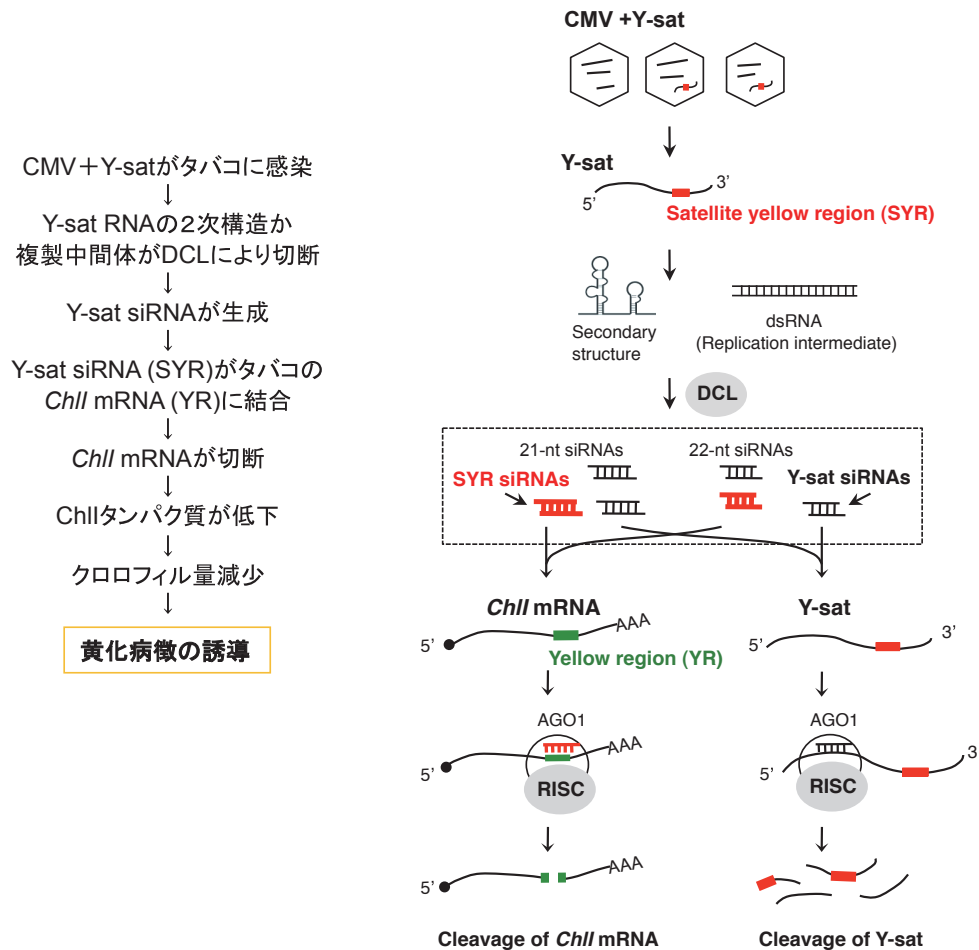


図3 Y-sat によるタバコでの黄化病徴誘導機構

クス技術の発展により，ウイルス由来の siRNA の網羅的な解析が可能となった．例えば，*Tobacco mosaic virus* の Cg 系統 (TMV-Cg) 由来の siRNA を解析したところ，これら siRNA の中に CPSF30 と TRAPa の 2 つの遺伝子をターゲットするものがあることが示唆された²²⁾．実際に，この 2 つの遺伝子の mRNA は siRNA の存在によって切断されることも示されている．しかし，これら遺伝子と TMV による病徴誘導との関連は不明のままである．

また，satRNA と同様にサブウイルスに分類されるウイロイドの siRNA が宿主遺伝子をターゲットとしている可能性については複数の報告がある^{7,29)}．ウイロイドはタンパク質をコードしない核酸のみの病原体であり，多量の siRNA を生成することから，RNA サイレンシングとウイロイドの病徴発現の関連性を疑う研究者は多い．さらには，ウイロイドの複製が，葉の分化に必要な転写因子 (TCP 遺伝子ファミリー) をターゲットにする miRNA (miR319) を減少させるという報告もある．しかしいずれの場合も，候補遺伝子の同定やメカニズムの証明に至っていない．

(3) 動物ウイルスがコードする miRNA

植物ウイルスとは異なり，動物ウイルスの複製は，ウイルス由来の siRNA の生成と必ずしも連動しない．しかし，いくつかのほ乳類ウイルスは宿主の遺伝子発現を制御し，病気を誘発する miRNA をもっていることがわかっている．例えば，Kaposi's-sarcoma-associated herpes virus (KSHV) は，細胞のもっている miR-155 に極めて類似の miR-K12-11 を作り，本来 miR-155 がコントロールしている細胞増殖に関する宿主 mRNA をターゲットにして，最終的に B 細胞に腫瘍を誘導する¹²⁾．また human cytomegalovirus (hCMV) は，miR-UL112 や miR-US25-1 をもっており，前者は，ナチュラルキラー細胞によるウイルス感染細胞の捕捉をかわすために，後者は，細胞周期に関わる遺伝子の mRNA をターゲットに，アポトーシスを回避するために機能している¹¹⁾．しかし，ウイルス病の誘導において，動物ウイルス由来の miRNA による宿主遺伝子への RNA サイレンシングが動物ウイルスで一般的な現象ととらえるには，さらなる証拠の積み重ねが必要である．

おわりに

動植物を問わず、ウイルス病の病気（病徴）誘導や宿主特異性に関して、その分子メカニズムの詳細がわかっているものは多くない。最近のRNAサイレンシングに関する発見や技術の進歩は、我々がウイルス病の発現メカニズムを理解するために重要な局面をもたらした。植物ウイルスでは、宿主のRNAサイレンシングそのものが抗ウイルスメカニズムとして認知されており、ウイルスはこれに対抗するためにRSSを生産するなど様々なカウンター攻撃を進化させたと考えられる。また、動物ウイルスにおいても宿主とウイルスの相互作用（主に病気の発現）にRNAサイレンシングは重要な役割を果たしていることがわかってきている。しかし、RNAサイレンシングと宿主特異性の関連については依然として不明のままである。動物ウイルスが植物に感染しない理由やその反対の理由などはRNAサイレンシングの関連において今後解明されるべき課題である。昆虫ウイルスには、動物と植物を往復するものがあるため、RNAサイレンシングがウイルスの宿主特異性に果たす役割を解き明かすミッシングリンクとして魅力的な研究対象になるかもしれない。

参考文献

- 1) Ahluwalia, J. K., Khan, S. Z., Soni, K., Rawat, P., Gupta, A., Hariharan, M., Scaria, V., Lalwani, M., Pillai, B., Mitra, D., and Brahmachari, S. K. 2008. Human cellular microRNA hsa-miR-29a interferes with viral nef protein expression and HIV-1 replication. *Retrovirology* 5: 117.
- 2) Baulcombe, D. 2004. RNA silencing in plants. *Nature* 431:356-363.
- 3) Burgyn, J., and Havelda, Z. 2011. Viral suppressors of RNA silencing. *Trends Plant Sci.* 16: 265-72.
- 4) Choi, C.W., Qu, F., Ren, T., Ye, X., and Morris, T. J. 2004. RNA silencing-suppressor function of Turnip crinkle virus coat protein cannot be attributed to its interaction with the Arabidopsis protein TIP. *J. Gen. Virol.* 85: 3415-3420.
- 5) Cuperus, J.T., Fahlgren, N., and Carrington, J.C. 2011. Evolution and functional diversification of MIRNA genes. *Plant Cell* 23: 431-442.
- 6) Dekker, E. L., Derks, F. L. M., Asjes, C. J., Lemmers, M. E. C., Bol, J. F., and Langeveld, S. A. 1993. Characterization of potyviruses from tulip and lily which cause flower-breaking. *J. Gen. Virol.* 74: 881-887.
- 7) Diermann, N., Matousek, J., Junge, M., Riesner, D., and Steger, G. 2010. Characterization of plant miRNAs and small RNAs derived from potato spindle tuber viroid (PSTVd) in infected tomato. *Biol. Chem.* 391: 1379-1390.
- 8) Ding, S.W., and Voinnet, O. (2007). Antiviral immunity directed by small RNAs. *Cell* 130: 413-426.
- 9) Eamens, A. L., Wang, M.-B., Smith, N. A., and Waterhouse, P. M. 2008. RNA silencing in plants: yesterday, today and tomorrow. *Plant Physiol.* 147: 456-468.
- 10) Garcia-Ruiz, H., Takeda, A., Chapman, E. J., Sullivan, C. M., Fahlgren, N., Bremmelis, K. J., and Carrington, J. C. 2010. Arabidopsis RNA-dependent RNA polymerases and dicer-like proteins in antiviral defense and small interfering RNA biogenesis during Turnip Mosaic Virus infection. *Plant Cell* 22: 481-496.
- 11) Grey, F., Tirabassi, R., Meyers, H., Wu, G., McWeeney, S., Hook, L., and Nelson, J.A., 2010. Aviral microRNA down-regulates multiple cell cycle genes through mRNA 5' UTRs. *PLoS Pathog.* 6: e1000967.
- 12) Gottwein, E., Mukherjee, N., Sachse, C., Frenzel, C., Majoros, W. H., Chi, J.-T. A., Braich, R., Manoharan, M., Soutschek, J., Ohler, U., and Cullen, B.R. 2007. A viral microRNA functions as an orthologue of cellular miR-155. *Nature* 450: 1096-1101.
- 13) Haag, J. R., and Pikaard, C. S. 2011. Multisubunit RNA polymerases IV and V: purveyors of non-coding RNA for plant gene silencing. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 12: 483-492.
- 14) Hohn, T., and Vazquez, F. 2011. RNA silencing pathways of plants: silencing and its suppression by plant DNA viruses. *Biochim. Biophys.* 1809: 588-600.
- 15) Jenner, C.E., Wang, X., Tomimura, K., Ohshima, K., Ponz, F., and Walsh, J.A. (2003). The dual role of the potyvirus P3 protein of Turnip mosaic virus as a symptom and avirulence determinant in brassicas. *Mol. Plant Microbe Interact.* 16: 777-784.
- 16) Kaneko, Y., Inukai, T., Suehiro, N., Natsuaki, T., and Masuta, C. 2004. Fine genetic mapping of the TuNI locus causing systemic veinal necrosis by Turnip mosaic virus infection in Arabidopsis thaliana. *Theor. Appl. Genet.* 110: 33-40.
- 17) Lecellier, C. H., Dunoyer, P., Arar, K., Lehmann-Che, J., Eyquem, S., Himber, C., Saib, A., and Voinnet, O. 2005. A cellular microRNA mediates antiviral defense in human cells. *Science* 308: 557-560.
- 18) Lindbo, J. A., Silva-Rosales, L., Proebsting, W. M., and Dougherty, W. G. 1993. Induction of a highly specific antiviral state in transgenic plants: implications for regulation of gene expression and virus resistance. *Plant Cell* 5: 1749-1759.
- 19) Matzke, M., Kanno, T., Daxinger, L., Huettel, B., and Matzke, A. J. 2009. RNA-mediated chromatin-based silencing in plants. *Curr. Opin. Cell Biol.* 21:367-376.
- 20) Meister, G., and Tuschl, T. 2004. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature* 431: 343-349.
- 21) Pallas, V., and Garcia, A. 2011. How do plant viruses induce diseases? Interactions and interference with host components. *J. Gen. Virol.* 92: 2691-2705.
- 22) Qi, S., Bao, F.S., and Xie, Z. 2009. Small RNA deep sequencing reveals role for Arabidopsis thaliana RNA-dependent RNA polymerases in viral siRNA biogenesis. *PLoS One* 4: e 4971.
- 23) Qu, F., Ye, X., and Morris, T.J. 2008. Arabidopsis DRB4, AGO1, AGO7, and RDR6 participate in a DCL4-initiated antiviral RNA silencing pathway negatively regulated by DCL1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 14732-

- 14737.
- 24) Roth, B. M., Pruss, G. J., and Vance, V. B. 2004. Plant viral suppressors of RNA silencing. *Virus Res.* 102: 97-108.
 - 25) Saunders, K., Bedford, I.D., Yahara, T., and Bedford, I.D. 2003. The earliest recorded plant virus disease. *Nature* 422: 831.
 - 26) Shimura, H., Pantaleo, V., Ishihara, T., Myojo, N., Inaba, J., Sueda, K., Burgyán, J., and Masuta, C. 2011. A viral satellite RNA induces yellow symptoms on tobacco by targeting a gene involved in chlorophyll biosynthesis using the RNA silencing machinery. *PLoS Pathog.* 7(5): e1002021.
 - 27) Smith, N. A., Eamens, A. L., and Wang, M. B. 2011. Viral small interfering RNAs target host genes to mediate disease symptoms in plants. *PLoS Pathog.* 7:e1002022.
 - 28) Vionnet, O. 2005. Induction and suppression of RNA silencing: Insights from viral infections. *Nat. Rev. Genet.* 6: 206-220.
 - 29) Wang, M.-B., Bian, X.-Y., Wu, L.-M., Liu, L.-X., Smith, N.A., Isenegger, D., Wu, R.-M., Masuta, C., Vance, V. B., Watson, J. M., Rezaian, A., Dennis, E. S., and Waterhouse, P. M. 2004. On the role of RNA silencing in the pathogenicity and evolution of viroids and viral satellites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 3275-3280.
 - 30) Wang, X. B., Jovel, J., Udomporn, P., Wang, Y., Wu, Q., Li, W. X., Gascioli, V., Vaucheret, H., and Ding, S. W. 2011. The 21-nucleotide, but not 22-nucleotide, viral secondary small interfering RNAs direct potent antiviral defense by two cooperative argonautes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 23: 1625-1638.
 - 31) Wang, X. B., Wu, Q., Ito, T., Cillo, F., Li, W. X., Chen, X., Yu, J. L., and Ding, S. W. 2010. RNAi-mediated viral immunity requires amplification of virus-derived siRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 484-489.
 - 32) Ying, X. B., Dong, L., Zhu, H., Duan, C. G., Du, Q. S., Lv, D. Q., Fang, Y. Y., Garcia, J. A., Fang, R. X., and Guo, H. S. 2010. RNA-dependent RNA polymerase 1 from *Nicotiana tabacum* suppresses RNA silencing and enhances viral infection in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell* 22: 1358-1372.
 - 33) Yu, B., Yang, Z., Li, J., Minakhina, S., Yang, M., Padgett, R. W., Steward, R., and Chen, X. 2005. Methylation as a crucial step in plant microRNA biogenesis. *Science* 307: 932-935.

RNA silencing and viral disease induction in plants

Hanako SHIMURA and Chikara MASUTA

Graduate School of Agriculture, Hokkaido University

RNA silencing plays an important role in plant resistance against viruses. As a counter-defense against RNA silencing, plant viruses have evolved RNA silencing suppressors (RSSs). RNA silencing is likely to play a major role in disease development. For example, RSSs have been found to disturb the gene expression controlled by miRNAs in plant tissue and organ development, resulting in plant malformation. Mosaic symptoms, which are typical in virus-infected plants, are actually a consequence of local arms race between host RNA silencing and viral RSSs. In addition, recent studies revealed that viral siRNAs could induce RNA silencing even against a certain host gene and thus a disease symptom through a complementary (homologous) sequence coincidentally found between virus and host gene. RNA silencing is the principal mediator of viral pathogenicity and disease induction and therefore should be exploited as a powerful tool for engineering virus resistance in plants as well as in animals.