

5. 総合考察

5.1. 全身壊死反応は HR によるものである

第2章において、感受性の植物にウイルスが引き起こす病徴である全身壊死が、ウイルスに抵抗性の植物が示す HR の反応を伴っていることを示した。これまで、ウイルスに抵抗性の植物が示す反応についてはよく研究されているが、感受性の植物がウイルスの感染に対しどのような反応をするのかはあまりわかっていない。そのなかで、感受性の植物が示す最も劇的な病徴である全身壊死においては、植物が H_2O_2 の生成、カロースの沈着などの HR と同様の反応を起こしているという報告や (Xu *et al.*, 2003; Kurihara and Watanabe, 2004; Ehrenfeld *et al.*, 2005; Love *et al.*, 2005)、PCD が認められるという報告が少ないながらも存在する (Xu and Roossinck, 2000; Yao *et al.*, 2002)。これらの報告は、本研究の知見を含め、ウイルス感染による全身壊死が HR によるものであることを支持するものである。

さらに、近年の研究においては、全身壊死に限らず感受性の植物の病原体に対する反応が、抵抗性の植物のそれと類似しているという報告がなされてきている。モデル植物であるシロイヌナズナを用いたマイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った研究では、植物病原細菌である *Pseudomonas syringae* に対して抵抗性の植物において誘導される内在の遺伝子群と、同病原細菌に対して感受性の植物において誘導される遺伝子群とは、誘導される量やそのタイミングは異なるものの、遺伝子の種類は共通していることが示唆されている (Tao *et al.*, 2003)。また、ウイルスにおいても、抵抗性における HR の指標である *PR-1a* の発現は、量やタイミングが異なるものの、感受性の植物へのウイルスの感染によっても上昇するとの知見がある (Dempsey *et al.*, 1997; Dardick *et al.*, 2000; Whitham *et al.*, 2003)。これらの知見は、本研究の結果と合わせて考えると示唆に富んでいる。すなわち、従来別々な機構であるとされてきた、病原体に対して抵抗性および感受性の植物に示される細胞死が、非常に類似した反応であるという考えを強く示唆するものである。本研究における、ウイルスと感受性の植物との組み合わせである PIAMV-*N. benthamiana* の系は、第3章で用いた PIAMV と同じ属のウイルスと抵抗性の植物との組み合わせである PVX-Rx 形質転換 *N. benthamiana* の系との比較によって、ウイルスと感受性・抵抗性の植物との相互作用の共通点と相違点を明らかにしうる有益な系であると考えられる。

5.2. 全身壊死には既知の HR 誘導カスケードが関わる

第3章においては、従来感受性の植物が引き起こす病徴とされてきた全身壊死において、典型的な HR の反応が観察されるだけでなく、その誘導に HR と共通のカスケードが関わっていることが、VIGS 法による宿主因子のノックダウン実験により示唆された。全身壊死の誘導に関与していた宿主因子である SGT1 と RARI は、さまざまな R タンパク質依存的な HR の誘導に重要であることがこれまでに多くの研究で示されており (Peart *et al.*, 2002; Bieri *et al.*, 2004; Jones and Takemoto, 2004)、また全身壊死への関与も推測されていたが (Cawly *et al.*, 2005)、実際に両因子が感受性の植物における全身壊死病徴の発現に関わっていることを示したのは本研究がはじめてである。

また、第4章においては、PIAMV により引き起こされる全身壊死においては RdRp がエリシターとして働いており、単にウイルスの複製量が大きければ壊死が起こるわけではないことを示唆した。この結果は、ウイルス RNA の蓄積量には壊死との関連がないというこれまでの結果と一致している (Ozeki *et al.*, 2006)。

序章でも述べたように、抵抗性の植物が示す HR に比べ、感受性の植物が示す全身壊死の機構はほとんど研究されていない。しかし、本研究の結果より、これまで抵抗性・感受性として区別されて研究されてきた HR と全身壊死は、その反応も、関わる植物側の因子も共通である可能性が示唆された。

1.4 節で述べたように、これまで全身壊死は二つのケースに分かれると考えられてきた (Hull, 2002)。ユリを原宿主とする PIAMV-Li 分離株に感受性である検定植物 *N. benthamiana* においては、局所的に封じ込められる PIAMV 分離株が存在しない。また、*N. benthamiana* が壊死型の PIAMV を特異的に認識するような R 遺伝子をあらかじめ備えているとは想定しがたく、このことから、PIAMV が当宿主に引き起こすような全身壊死は、非特異的な全身壊死として捉えられ研究の対象にはなりづらかった。しかしながら本研究では、驚くべきことに、このように PIAMV に対する R 遺伝子を持たないと考えられる *N. benthamiana* における PIAMV の全身壊死反応が HR であり、さらに R タンパク質の安定性に深く関わる SGT1 や RARI がこの非特異的な全身壊死と考えられるケースに関与していることが示された。このことから、この PIAMV-*N. benthamiana* の全身壊死に関しても、PIAMV の侵入を認識し壊死を引き起こす R タンパク質が存在することが想定される。その場合、PIAMV-*N. benthamiana* による全身壊死は、R タンパク質依存的な抵抗性において HR が例

外的に全身に広がるケースと同様の機構により引き起こされている可能性がある。

以上のことから、本研究における系では全身壊死と HR はその反応もメカニズムも同じ現象であることが示され、他の研究が進んでいない全身壊死においても HR と同様の反応・メカニズムが働いている場合がある可能性が示唆された。今後、この両者に関しては、従来の「感受性」と「抵抗性」の区別を考え直し同じ枠組みで研究していくことで、壊死の誘導機構や、感染の成立・不成立を左右する機構について解析しうると考えられる。本研究により、全身壊死の研究にこのような視点を提供しえたことは非常に意義深い。

5.3. 全身壊死の分子機構に関する考察

PIAMV による全身壊死が HR による反応であり（2章）、HR と共通の誘導カスケードにより引き起こされ（3章）、PIAMV の RdRp がエリシターとして働いている（4章）という本研究の一連の結果は、全身壊死が、局所的に封じ込められない HR (systemic HR) であるとの考えによく合致している (Bendahmane *et al.*, 1999)。すなわち、前節でも論じたような、HR が例外的に全身壊死に至るケースは、本研究で示された PIAMV-*N. benthamiana* における全身壊死と同一のメカニズムによっている可能性がある。

ではなぜ、HRによりウイルスが局部に封じ込められる場合と、封じ込められずに全身壊死に至る場合があるのだろうか。Rタンパク質とエリシターが存在し両者の相互作用が想定されるにも関わらずウイルスが封じ込められない機構については、HRが例外的に全身壊死に至る現象について論じた過去の研究報告から、二つの可能性が考えられる。一つは、Rタンパク質もしくはエリシターの構造が変化することにより両者の相互作用が弱くなる可能性である。もう一つは、Rタンパク質もしくはエリシターの量が少なくなることにより、両者の相互作用が起こりづらくなる可能性である。

1.4.で論じた、TMVの1アミノ酸の変異により、*N*遺伝子を持つタバコにおけるHRが打破され全身壊死が生ずるとの報告や (Culver and Dawson, 1989)、TMVに対する*R*遺伝子である*N*にアミノ酸の変異を導入しタバコに形質転換すると、TMVが全身に広がり、全身壊死を起こす場合があるとの報告 (Dinesh-Kumar *et al.*, 2000) は前者の考えを支持するものである。一方で、インゲンマメモザイクウイルス (*Bean common mosaic virus*: BCMV) とインゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*) の系におけるHRは後者の可能性を示している。すなわち、BCMVに対して、*I* 座位を持つインゲンマメはHRを示しBCMVを初期感染細胞に封じ

込めることが知られている。しかし、このHRはI座位がホモでなくヘテロである場合には打破され、BCMVの全身感染と全身壊死が引き起こされる (Collmer *et al.*, 2000)。この例においては、Rタンパク質産物の量が少ないと、Rタンパク質とエリシターとの相互作用により誘導されるウイルスの封じ込め反応を不十分にしてしまうのではないかと考察されている。また、ウイルスの感染過程でエリシターのタンパク質の蓄積が遅いと、壊死は起こるもののRタンパク質との相互作用が不十分になり、封じ込めが起こらなくなることを示唆する報告もある (Bendahmane *et al.*, 1999)。しかし、これらの例においては、ウイルスの封じ込めは起こらなくなっているものの、全身壊死という名が示す通り「細胞壊死」は引き起こされている。このことから、Rタンパク質依存的なHRにおいては、細胞壊死とウイルスの「封じ込め」が異なる機構によるものであるとの知見が近年多く報告されている (Greenberg and Yao, 2004)。

以上の考察より、PIAMV-*N. benthamiana*における全身壊死の機構は以下のようなモデルが考えられる。本研究における、壊死型のPIAMVにより全身壊死が引き起こされる*N. benthamiana*にも、壊死型のPIAMVのRdRpを弱いながらも認識するRタンパク質が存在することが想定される。この想定されるRタンパク質は、細胞死とともに、ウイルスの蓄積量を減少させるような防御反応を伴う (3.2.3節、図3-6) ことから、PIAMVへのRタンパク質としての機能を持っていると考えられる。しかしながら、このRタンパク質はPIAMVのエリシターであるRdRpとの相互作用が弱い、もしくはPIAMVのRdRpの発現量が感染後期にならないと上昇しないために、PIAMVを初期感染細胞に封じ込めるほどの強さの「封じ込め」反応は起きず、そのために壊死型のPIAMVは*N. benthamiana*に全身感染し、全身壊死を引き起こしてしまうと考えられる。

以上の機構が実際に働いているかどうかは、Rタンパク質の同定と、エリシターとの相互作用の解析が必要である。さらに、本研究の結果からは、PIAMV-*N. benthamiana* 以外の、Rタンパク質依存的な抵抗性が関与していない非特異な壊死と考えられてきた全身壊死においても、Rタンパク質が関与するHRと同様の反応が起こり、同様の宿主因子が壊死に関わっている可能性が示唆される。最近、既に特定のウイルスに対しHRを誘導しうることが知られているR遺伝子を人工的に改変することにより、別種のウイルスにHRを誘導しうるR遺伝子を作成できることが報告された (Ferham and Baulcombe, 2006)。全身壊死においてもR遺伝子を特定し、人工的に改変することで抵抗性植物の作出が可能になるかもしれない。本研究の成果は植物病理学的に意義深い。

摘要

序論

植物とウイルスの間では、感染というイベントを巡り様々な相互作用が繰り広げられる。一般に、植物がウイルスの攻撃を受け感染しウイルスが病原性を示す場合、植物はウイルスに対して「感受性」であり、逆に植物にウイルスが感染できない場合、その植物はウイルスに対して「抵抗性」であるとして区別されてきた。ウイルスは「感受性」の植物に対し奇形、黄化、モザイクや枯死などの病徴を引き起こし作物に深刻な収量低下をもたらす。しかし、これまでは、農業生産上の重要性から、植物がウイルスに「抵抗性」を示す機構については多くの研究が行われてきたが、「感受性」の植物に病徴が引き起こされる機構はほとんど研究されてこなかった。

こうした「抵抗性」のうち最も研究が進んでいるのは、植物の持つ抵抗性 (R) タンパク質に依存した過敏感反応 (hypersensitive response; HR) による抵抗性機構である。HR によりウイルスの初期感染細胞には局所的な壊死が誘導され、これによりウイルスは局所的に封じ込められ全身感染しない。一方、ウイルスが「感受性」の植物に全身感染して示す特徴的な病徴である「全身壊死」は、植物への被害の大きさにも関わらずその機構はほとんど明らかではない。本研究では、日本でも花などに大きな被害を及ぼしている植物ウイルスであるオオバコモザイクウイルス (*Plantago asiatica mosaic virus*; PIAMV) に着目し (図 1)、本ウイルスの感染により *Nicotiana benthamiana* に引き起こされる全身壊死について、ウイルス側と植物側の双方からその分子機構の解析を行った。

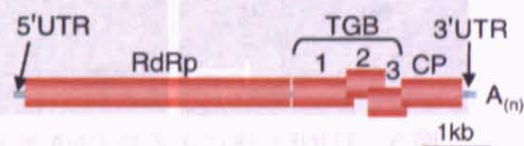


図 1 PIAMV のゲノム構造

1. PIAMV 感染による全身壊死は HR と同じ反応である

PIAMV 感染による全身壊死を簡便かつ再現性よく解析するため、ユリより分離された PIAMV 分離株に由来する 4 つのウイルスである Li1 (*N. benthamiana* の植物体に全身壊死を引き起こす)、Li1-1154Y (無病徴)、Li6 (無病徴)、Li6-1154C (全身壊死) について、アグロインフィルトレーション法により *N. benthamiana* の展開葉に接種し、接種領域における病徴を比較した。Li1 と Li6-1154C (「壊死型」) は接種 10 日後には接種領域全体が一樣に壊死したのに対し、Li6 と Li1-1154Y (「無病徴型」) の接種領域では 2 週間以上経過し

ても壊死は観察されなかった (図2)。

この PIAMV の接種領域を、核 DNA の断片化を検出する TUNEL 法によって解析したところ、無病徴型の Li6 では緑色の蛍光は検出されなかったが、壊死型の Li6-1154C では緑色の蛍光が検出され、プログラム細胞死 (programmed cell death; PCD) の特徴である核 DNA の断片化が確認された (図3)。また、細胞壊死を検出するトリパンブルー染色を行ったところ、壊死型の Li1 と Li6-1154C の接種領域は一

様に青色に染色され細胞壊死が認められたが、無病徴型の Li1-1154Y と Li6 の接種領域は染色されなかった。次に、HR における壊死に伴い生じるとされる H_2O_2 を DAB 染色により検出したところ、壊死型の PIAMV の接種領域は一様に茶褐色に染色され H_2O_2 の生成が

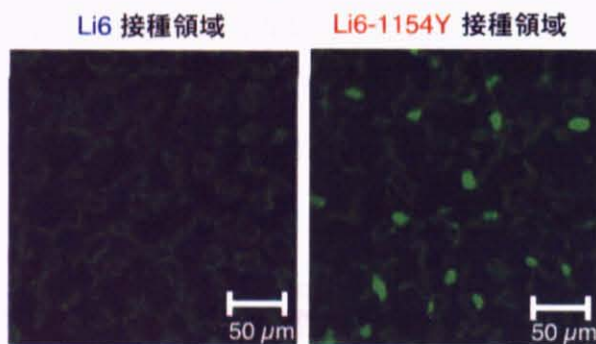


図3 TUNEL 法による核 DNA 断片化の検出。以降、壊死型の PIAMV を赤字で、無病徴型を青字で示す。

確認されたが、無病徴型の PIAMV の接種領域は染色されなかった。また、HR において蓄積することが知られているカロースをアニリンブルー染色により検出した結果、壊死型の PIAMV の接種領域は紫外光下で一様に白色の発光を呈しカロースの蓄積が認められたが、無病徴型の PIAMV では発光は認められなかった。また、細胞の崩壊に伴って認められるイオンリークの量は、壊死型の PIAMV の接種領域において増大していた。さらに、HR において発現が誘導されると報告されている防御関連遺伝子 (*PR-1a*, *hsr203j*, *HIN1*) の mRNA 量をノーザンブロット解析により調べた結果、壊死型の PIAMV の感染組織においては、非感染植物ならびに無病徴型の PIAMV 感染組織に比べて3種の防御関連遺伝子の発現が誘導されていることがわかった (図4)。

以上より、壊死型の PIAMV の感染による *N. benthamiana* の全身壊死は、PCD であり、核 DNA の断片化、 H_2O_2 の生成、カロースの蓄積、防御関連遺伝子の発現などが認められ



図2 *N. benthamiana* の接種領域および植物体における PIAMV 分離株の病徴

確認されたが、無病徴型の PIAMV の接種領域は染色されなかった。また、HR において蓄積することが知られているカロースをアニリンブルー染色により検出した結果、壊死型の PIAMV の接種領域は紫外光下で一様に白色の発光を呈しカロースの蓄積が認められたが、無病徴型の PIAMV では発光は認められなかった。また、細胞の崩壊に伴って

たことから、抵抗性の植物に典型的に認められる HR によるものであることが示された。

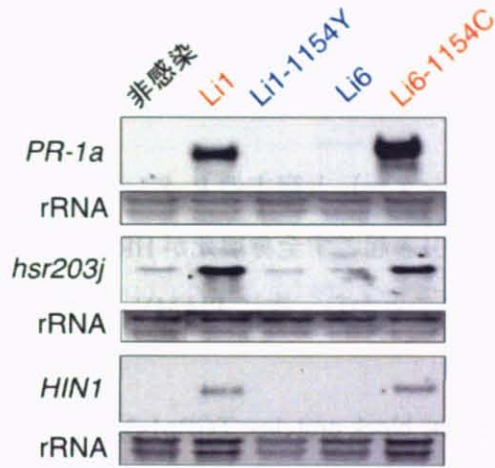


図4 防御関連遺伝子の発現解析

2. PIAMV 感染による全身壊死誘導メカニズムの解析

次に PIAMV 感染による全身壊死誘導メカニズムの解析を行うため、抵抗性植物における HR 誘導に重要

な因子である SGT1 と RARI の、TRV (*Tobacco rattle virus*) ベクターを利用した VIGS (virus-induced gene silencing) 法によるノックダウンを試みた。SGT1 および RARI の部分配列を含む TRV を接種3週間後に両因子の mRNA が減少していることを確認した。そこに壊死型の Li1 を接種したところ、接種6日後に、両因子のノックダウン植物では、Li1 による接種領域の壊死が抑制され、また接種領域における H_2O_2 の生成も認められなかった (図 5A)。一方、いずれの遺伝子をノックダウンした植物においても、無病微型の Li1-1154Y の接種領域には壊死および H_2O_2 の生成は認められなかった。また SGT1、RARI のノックダウンにより壊死が抑制された Li1 接種領域においては、壊死が認められたコントロールの植物における Li1 接種領域に比べてイオンリーク量が顕著に少なかった。

次に、壊死が顕著になる前の接種領域における両ウイルスの蓄積量をノーザンブロット解析により調べた結果、SGT1、RARI のノックダウン植物では、接種4日後において、コントロールの植物に比較して Li1 の蓄積量は増加したが、Li1-1154Y の蓄積量はコントロールと同程度であった (図 5B)。

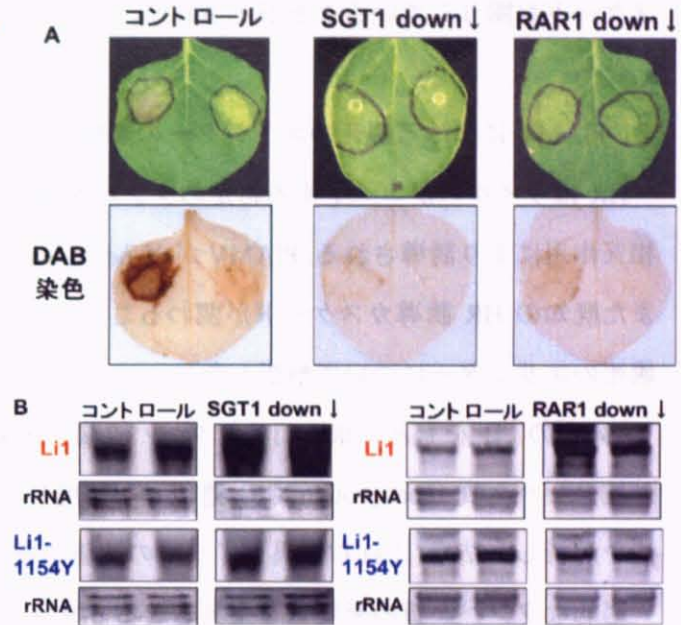


図5 SGT1、RAR1 のノックダウン解析

(A)壊死誘導・ H_2O_2 生成の観察。左半分には Li1 (壊死型) を、右半分には Li1-1154Y (無病微型) を接種した。

以上の結果から、PIAMV による壊死には、SGT1、RARI の関与する既知の HR 誘導カスケードが関与していることが示された。

3. PIAMV における壊死のエリシターの解析

HR はウイルスがコードする特定のタンパク質（エリシター）と宿主の R タンパク質の相互作用により誘導される。PIAMV が *N. benthamiana* に引き起こす全身壊死が HR であり、また既知の HR 誘導カスケードが関与することが示されたことから、次に PIAMV における壊死のエリシターについて解析した。

壊死型の Li1 をもとに細胞間移行タンパク質（triple gene block proteins; TGBp1-3）および外被タンパク質（coat protein; CP）遺伝子を発現しない変異ウイルスを構築しその壊死誘導能を解析した結果、これら変異ウイルスの接種領域では壊死が観察されなかった。しかし、一過的なタンパク質の発現量を上昇させる p19 タンパク質を共発現させると、これら変異ウイルスは全て接種 6 日後までに壊死を誘導した。一方、p19 のみの発現、および無病徴型の Li1-1154Y と p19 との共発現では壊死は観察されなかった。

次に、TGBp1-3 と CP をコードせず、5'末端非翻訳領域（5'UTR）と RdRp コード領域、

| | | 複製 | RdRp 発現 | 壊死 誘導 |
|--------------|--|----|------------|----------|
| 53U-RdRp1 | | + | + | + |
| 5U-RdRp1 | | - | + | + |
| 53U-RdRp1-fs | | - | - | - |

▶: 35S promoter ■: nos terminator

表 1 各種変異ウイルスの複製、RdRp 発現と壊死誘導能

および 3'末端非翻訳領域（3'UTR）のみを持つ変異ウイルス（53U-RdRp1）を構築したところ、その接種領域では明瞭な壊死が認められた。そこで 3'UTR を欠き複製が起これないと考えられる 5U-RdRp1 を構築し接種したところ、この変異ウイルスは p19 と共発現させた場合にのみ壊死を示した。この 5U-RdRp1 の接種領域からは mRNA の相補鎖は検出されず複製が起きていないと考えられたが、p19 を共発現した場合の RdRp の蓄積量は 53U-RdRp1 と同程度であった。さらにフレームシフトによって RdRp が発現しない 53U-RdRp1-fs を構築し p19 と共発現させたところ壊死は認められず、また本研究で作出した RdRp 抗体によるウエスタンブロット解析でも RdRp は検出できなかった（表 1）。このことから、PIAMV の RdRp のタンパク質が壊死のエリシターであり、PIAMV 感染による壊死を誘導していることが示唆された。

結論

本研究では、PIAMV の感染により「感受性」の植物に引き起こされる全身壊死が、PCD を伴い H_2O_2 の生成や防御関連遺伝子の発現誘導などが認められたことから、従来ウイルスに対して「抵抗性」の植物に典型的に認められる HR によるものであることを明らかにした。さらに、SGTI と RARI の関与する既知の HR 誘導カスケードが、全身壊死の誘導にも関与していることを初めて明らかにした。また、PIAMV の RdRp が *N. benthamiana* に壊死を誘導するエリシターとして働いていることが示された。

以上を要するに、本研究によって、ウイルスに「感受性」の植物において認められる病徴である「全身壊死」が、ウイルスに「抵抗性」の植物に典型的に認められる HR によるものであることを明らかにし、「全身壊死」の誘導機構に関する基盤的知見が得られた。今後、この知見をもとに本メカニズムの全容が明らかになることが期待される。

引用文献

- Abbink, T.E.M., Tjernberg, P.A., Bol, J.F., and Linthorst, H.J.M. (1998). Tobacco mosaic virus helicase domain induces necrosis in *N* gene-carrying tobacco in the absence of virus replication. *Mol. Plant Microbe Interact.* **11**, 1242-1246.
- An, G., Ebert, P.R., Mitra, A., and Ha S.B. (1988). Binary Vectors. *Plant Mol Biol Manual* **A3**,1-19
- Angell, S.M., Davies, C., and Baulcombe, D.C. (1996). Cell-to-cell movement of potato virus X is associated with a change in the size-exclusion limit of plasmodesmata in trichome cells of *Nicotiana clevelandii*. *Virology* **216**, 197-201.
- Annamalai, P., and Rao, A.L. (2005). Replication-independent expression of genome components and capsid protein of brome mosaic virus in planta: a functional role for viral replicase in RNA packaging. *Virology* **338**, 96-111.
- Austin, M.J., Muskett, P., Kahn, K., Feys, B.J., Jones, J.D.G., and Parker, J.E. (2002). Regulatory role of *SGTI* in early *R* gene-mediated plant defenses. *Science* **295**, 2077-2080.
- Baulcombe, D. (2005). RNA silencing. *Trends Biochem Sci.* **30**, 290-293.
- Bayne, E.H., Rakitina, D.V., Morozov, S.Y., and Baulcombe, D.C. (2005). Cell-to-cell movement of *Potato Potexvirus X* is dependent on suppression of RNA silencing. *Plant J.* **44**, 471-482.
- Beck, D.L., Guilford, P.J., Voot, D.M., Andersen, M.T., and Forster, R.L.S. (1991). Triple gene block proteins of white clover mosaic potexvirus are required for transport. *Virology* **183**, 695-702.
- Bendahmane, A., Kohm, B.A., Dedi, C., and Baulcombe, D.C. (1995). The coat protein of potato virus X is a strain-specific elicitor of *Rx*-mediated virus resistance in potato. *Plant J.* **8**, 933-941.
- Bendahmane, A., Kanyuka, K., and Baulcombe, D.C. (1999). The *Rx* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. *Plant Cell* **11**, 781-791.
- Bieri, S., Mauch, S., Shen, Q.H., Peart, J., Devoto, A., Casais, C., Ceron, F., Schulze, S., Steinbib, H.H., Shirasu, K., and Schulze-Lefert, P. (2004). *RAR1* positively controls steady state levels of barley *MLA* resistance proteins and enables sufficient *MLA6* accumulation for effective resistance. *Plant Cell* **16**, 3480-3495.
- Burgyan, J., Hornyik, C., Szittyá, G., Silhavy, D., and Bisztray, G. (2001). The ORF1 products of tombusviruses play a crucial role in lethal necrosis of virus-infected plants. *J. Virol.* **74**, 10873-10881.
- Canto, T., Uhrig, J.F., Swanson, M., Wright, K.M., and MacFarlane, S.A. (2006). Translocation of Tomato bushy stunt virus p19 protein into the nucleus by *ALY* proteins compromises its silencing suppressor activity. *J. Virol.* **80**, 9064-9074.
- Cawly, J., Cole, A.B., Kiraly, L., Qiu, W. and Schoelz, J.E. (2005). The plant gene *CCD1* selectively blocks cell death during the hypersensitive response to cauliflower mosaic virus infection. *Mol. Plant Microbe Interact.* **18**, 212-219.
- Chapman, S., Kavanagh, T., and Baulcombe, D.C. (1992). Potato virus X as a vector for gene expression in plants. *Plant J.* **2**, 549-557.
- Chapman, E.J., Prokhnovsky, A.I., Gopinath, K., Dolja, V.V., and Carrington, J.C. (2004). Viral RNA silencing suppressors inhibit the microRNA pathway at an intermediate step. *Genes Dev.* **18**, 1179-1186.
- Chen, X., Liu, J., Cheng, Y., and Jia, D. (2002). *HEN1* functions pleiotropically in *Arabidopsis* development and acts in C function in the flower. *Development* **129**, 1085-1094.
- Cheng, C.P., and Tsai, C.H. (1999). Structural and functional analysis of the 3' untranslated region of bamboo

- mosaic potexvirus genomic RNA. *J. Mol. Biol.* **288**, 555-565.
- Cheng, J.H., Ding, M.P., Hsu, Y.H., and Tsai, C.H. (2001). The partial purified RNA-dependent RNA polymerases from bamboo mosaic potexvirus and potato virus X infected plants containing the template-dependent activities. *Virus Res.* **80**, 41-52.
- Chiba, M., Reed, J.C., Prokhnovsky, A.I., Chapman, E.J., Mawassi, M., Koonin, E. V., Carrington, J.C., and Dolja, V. V. (2006). Diverse suppressors of RNA silencing enhance agroinfection by a viral replicon. *Virology* **346**, 7-14.
- Chivasa, S., Murphy, A.M., Naylor, M., and Carr, J.P. (1997). Salicylic acid interferes with tobacco mosaic virus replication via a novel salicylhydroxamic acid-sensitive mechanism. *Plant Cell* **9**, 547-557.
- Cole, A.B., Kiraly, L., Ross, K., and Schoelz, J.E. (2001). Uncoupling resistance from cell death in the hypersensitive response of *Nicotiana* species to *Cauliflower mosaic virus* infection. *Mol. Plant Microbe Interact.* **14**, 31-41.
- Collmer, C.W., Marston, M.F., Taylor, J.C., and Jahn, M. (2000). The *I* gene of bean: a dosage-dependent allele conferring extreme resistance, hypersensitive resistance, or spreading vascular necrosis in response to the potyvirus *Bean common mosaic virus*. *Mol. Plant Microbe Interact.* **11**, 1266-1270.
- Cornelissen, B.J., van Huijsduijnen, R.A., Van Loon, L.C., and Bol, J.F. (1986). Molecular characterization of messenger RNAs for 'pathogenesis-related' proteins 1a, 1b and 1c, induced by TMV infection of tobacco. *EMBO J.* **5**, 37-40.
- Culver, J.N., and Dawson, W.O. (1989). Point mutations in the coat protein gene of tobacco mosaic virus induce hypersensitivity in *Nicotiana sylvestris*. *Mol. Plant Microbe Interact.* **2**, 209-213.
- Dangl, J.L., and Jones, J.D.G. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* **411**, 826-833.
- Dardick, C.D., Golem, S., and Culver, J.N. (2000). Susceptibility and symptom development in *Arabidopsis thaliana* to *Tobacco mosaic virus* is influenced by virus cell-to-cell movement. *Mol. Plant Microbe Interact.* **13**, 1139-1144.
- Davenport, G.F., and Baulcombe, D.C. (1997). Mutation of the GKS motif of the RNA-dependent RNA polymerase from potato virus X disables or eliminates virus replication. *J. Gen. Virol.* **78**, 1247-1251.
- Dawson, W.O., Bubrick, P., and Grantham, G.L. (1988). Modification of the tobacco mosaic virus coat protein gene affecting replication movement and symptomatology. *Phytopathology* **78**, 783-789.
- del Pozo, O., and Lam, E. (1998). Caspases and programmed cell death in the hypersensitive response of plants to pathogens. *Curr. Biol.* **8**, 1129-1132.
- del Pozo, O., and Lam, E. (2003). Expression of the baculovirus p35 protein in tobacco affects cell death progression and compromises *N* gene-mediated disease resistance response to *tobacco mosaic virus*. *Mol. Plant Microbe Interact.* **16**, 485-494.
- Dempsey, D.A., Pathirana, M.S., Wobbe, K.K., and Klessig, D.F. (1997). Identification of an *Arabidopsis* locus required for resistance to turnip crinkle virus. *Plant J.* **11**, 301-311.
- DeYoung, B.J., and Innes, R.W. (2006). Plant NBS-LRR proteins in pathogen sensing and host defense. *Nat. Immunol.* **7**, 1243-1249.
- Dijkstra, J., Bruin, G.C.A., Burgers, A.C., Vanloon, L.C., Ritter, C., Vandesanden, P.A.C.M., and Wieringabrants, D.H. (1977). Systemic infection of some *N*-gene-carrying *Nicotiana* species and cultivars after inoculation with tobacco mosaic virus. *Neth. J. Plant. Pathol.* **83**, 41-59.
- Dinesh-Kumar, S.P., Tham, W.H., and Baker, B.J. (2000). Structure-function analysis of the tobacco mosaic virus resistance gene *N*. *Proc Natl Acad Sci USA.* **97**, 14789-14794.

- Dinesh-Kumar, S.P. Anandalakshmi, R., Marathe, R., Shiff, M., and Liu, Y. (2003). Virus-induced gene silencing. *Meth Mol Biol.* **236**, 287-294.
- Diveki, Z., Salanki, K., and Balazs, E. (2004). The necrotic pathotype of the cucumber mosaic virus (CMV) ns strain is solely determined by amino acid 461 of the 1a protein. *Mol. Plant Microbe Interact.* **17**, 837-845.
- Dodds, P.N., Lawrence, G.J., Catanzariti, A.M., The, T., Wang, C.I.A., Ayliff, M.A., Kobe, B., and Ellis, J.G. (2006). Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. *Proc Natl Acad Sci USA.* **103**, 8888-8893.
- Doronin, S.V., and Hemenway, C. (1996). Synthesis of Potato virus X RNAs by membrane-containing extracts. *J. Virol.* **70**, 4795-4799.
- Ehrenfeld, N., Canon, P., Stange, C., Medina, C., and Arce-Johnson P. (2005). *Tobamovirus* coat protein CPCg induces an HR-like response in sensitive tobacco plants. *Mol. Cells* **19**, 418-427.
- Epple, P., Mack, A.A., Morris, V.R.F., and Dangl, J.L. (2003). Antagonistic control of oxidative stress-induced cell death in *Arabidopsis* by two related, plant-specific zinc finger proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 6831-6836.
- Erickson, F.L., Holzberg, S., Calderon-Urrea, A., Handley, V., Axtell, M., Corr, C., and Baker, B. (1999). The helicase domain of the TMV replicase proteins induces the *N*-mediated defence response in tobacco. *Plant J.* **18**, 67-75.
- Fernandez, I., Candresse, T., Le Gall, O., and Dunez, J. (1999). The 5' noncoding region of grapevine chrome mosaic nepovirus RNA-2 triggers a necrotic response on three *Nicotiana* spp. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **12**, 337-344.
- Fernham, G., and Baulcombe, D.C. (2006). Artificial evolution extends the spectrum of viruses that are targeted by a disease-resistance gene from potato. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 18828-18833.
- Flor, H.H. (1956). The complementary genetic systems in flax and flax rust. *Adv. Genet.* **8**, 29-54.
- Forster, R.L.S., Bevan, M.W., Harbison, S.A., and Gardner, R.C. (1988). The complete nucleotide sequence of the potexvirus white clover mosaic virus. *Nucleic Acids Res.* **16**, 291-303.
- Fujii, H., Chiou, T.J., Lin, S.I., Aung, K., and Zhu, J.K. (2005). A miRNA involved in phosphate-starvation response in *Arabidopsis*. *Curr Biol.* **15**, 2038-2043.
- Gopalan, S., Wei, W., and He, S.Y. (1996). *hrp* gene induction of *HIN1*, a plant gene activated rapidly by both harpins and the *avrPto* gene-mediated signal. *Plant J.* **10**, 591-600.
- Gopinath, K., Dragnea, B., and Kao, C. (2005). Interaction between brome mosaic virus proteins and RNAs: effects on RNA replication, protein expression, and RNA stability. *J. Virol.* **79**, 14222-14234
- Greenberg, J.T., and Yao, N. (2004). The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cell. Microbiol.* **6**, 201-211.
- Guilford, P.J., Beck, D.L., and Forster, L.S. (1991). Influence of the poly(A) tail and putative polyadenylation signal on the infectivity of white clover mosaic potexvirus. *Virology* **182**, 61-67.
- Heath, M.C. (2000). Hypersensitive response-related death. *Plant Mol. Biol.* **44**, 321-334.
- Hellens, R.P., Edwards, E.A., Leyland, N.R., Bean, S., and Mullineaux, P.M. (2000). pGreen: a versatile and flexible binary Ti vector for *Agrobacterium*-mediated transformation. *Plant Mol. Biol.* **42**, 819-832.
- Hughes, P.L., Harper, F., Zimmerman, M.T., and Scott, S.W. (2005). Nandida mosaic virus is an isolate of *Plantago asiatica* mosaic virus. *Eur J Plant Pathol.* **113**, 309-313.

- Huisman, M.J., Linthorst, H.J.M., Bol, J.F., and Cornelissen, B.J.C. (1988). The complete nucleotide sequence of potato virus X and its homologies at the amino acid level with various plus-stranded RNA viruses. *J Gen Virol.* **69**, 1789-1798.
- Hull, R. (2002). In Matthews' Plant Virology: 4th ed. Academic Press, London.
- Johansen, L.K., and Carrington, J.C. (2001). Silencing on the spot. Induction and suppression of RNA silencing in the *Agrobacterium*-mediated transient expression system. *Plant Physiol.* **126**, 930-938.
- Jones, D.A., and Takemoto, D. (2004). Plant innate immunity – direct and indirect recognition of general and specific pathogen-associated molecules. *Curr. Opin. Immunol.* **16**, 48-62.
- Jones, J.D.G., and Dangl, J.L. (2006). The plant immune system. *Nature* **444**, 323-329.
- Kachroo, P., Yoshioka, K., Shah, J., Dooner, H.K., and Klüssig, D.F. (2000). Resistance to turnip crinkle virus in *Arabidopsis* is regulated by two host genes and is salicylic acid dependent but NPR1, ethylene, and jasmonate independent. *Plant Cell* **12**, 677-690.
- Kaminaka, H., Nake, C., Epple, P., Dittgen, J., Schütze, K., Chaban, C., Holt III, B.F., Merkle, T., Schafer, E., Harter, K., and Dangl, J.L. (2006). bZIP10-LSD1 antagonism modulates basal defense and cell death in *Arabidopsis* following infection. *EMBO J.* **25**, 4400-4411.
- Kapila, J., de Rycke, R., van Montagu, M., and Angenon, G. (1997). An *Agrobacterium*-mediated transient gene expression system for intact leaves. *Plant Sci.* **122**, 101-108.
- Kiba, A., Tomiyama, H., Takahashi, H., Hamada, H., Ohnishi, K., Okuno, T., and Hikichi, Y. (2003). Induction of resistance and expression of defense-related genes in tobacco leaves infiltrated with *Ralstonia solanacearum*. *Plant Cell Physiol.* **44**, 287-295.
- Kim, C.H., and Palukaitis, P. (1997). The plant defense response to cucumber mosaic virus in cowpea is elicited by the viral polymerase gene and affects virus accumulation in single cells. *EMBO J.* **16**, 4060-4068.
- Kim, C.Y., and Zhang, S. (2004). Activation of a mitogen-activated protein kinase cascade induces WRKY family of transcription factors and defense genes in tobacco. *Plant J.* **38**, 142-131.
- Kim, K.H., and Hemenway, C. (1996). The 5' nontranslated region of potato virus X RNA affects both genomic and subgenomic RNA synthesis. *J Virol.* **70**, 5533-5540.
- Kiraly, L., Cole, A., Bourque, J., and Schoelz, J. (1999). Systemic cell death is elicited by the interaction of a single gene in *Nicotiana glauca* and gene VI of cauliflower mosaic virus. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **12**, 919-925.
- Koch, E., and Slusarenko, A. (1990). *Arabidopsis* is susceptible to infection by a downy mildew fungus. *Plant Cell* **2**, 437-445.
- Koenig, R., and Lesemann, D.E. (1978). Potexvirus group. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No.200
- Kurihara, Y., and Watanabe, Y. (2004). A TMV-Cg mutant with a truncated coat protein induces cell death resembling the hypersensitive response in *Arabidopsis*. *Mol. Cells* **17**, 334-339.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
- 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.
- Li, H.W., Lucy, A.P., Guo, H.S., Li, W.X., Ji, L.H., Wong, S.M., and Ding, S.W. (1999). Strong host resistance targeted against a viral suppressor of the plant gene silencing defence mechanism. *EMBO J.* **18**, 2683-2691.

- Li, Y.I., Cheng, Y.M., Huang, Y.L., Tsai, C.H., Hsu, Y.H., and Meng, M. (1998). Identification and characterization of the *Escherichia coli*-expressed RNA-dependent RNA polymerase of Bamboo mosaic virus. *J. Virol.* **72**, 10093-10099.
- Llave, C., Xie, Z., Kasschau, K.D., and Carrington, J.C. (2002). Cleavage of Scarecrow-like mRNA targets directed by a class of Arabidopsis miRNA. *Science* **297**, 2053-2056.
- Longstaff, M., Brigneti, G., Boccoard, F., Chapman, S., and Baulcombe, D. (1993). Extreme resistance to potato virus X infection in plants expressing a modified component of the putative viral replicase. *EMBO J.* **12**, 379-386.
- Lopez-Solanilla, E., Bronstein, P.A., Schneider, A.R., and Collmer, A. (2004). HopPtoN is a *Pseudomonas syringae* Hrp (type III secretion system) cysteine protease effector that suppresses pathogen-induced necrosis associated with both compatible and incompatible plant interactions. *Mol. Microbiol.* **54**, 353-365.
- Love, A.J., Yun, B.W., Laval, V., Loake, G.J., and Milner, J.J. (2005). *Cauliflower mosaic virus*, a compatible pathogen of Arabidopsis, engages three distinct defense-signaling pathways and activates rapid systemic generation of reactive oxygen species. *Plant Physiol.* **139**, 935-948.
- Lu, R., Malcuit, I., Moffett, P., Ruiz, M.T., Peart, J., Wu, A.J., Rathjen, J.P., Bendahmane, A., Day, L., and Baulcombe, D.C. (2003a). High throughput virus-induced gene silencing implicates heat shock protein 90 in plant disease resistance. *EMBO J.* **22**, 5690-5699.
- Lu, R., Martin-Hernandez, A.M., Peart, J.R., Malcuit, I., and Baulcombe, D.C. (2003b). Virus-induced gene silencing in plants. *Methods.* **30**, 296-303.
- Mackey, D., Belkhadir, Y., Alonso, J.M., Ecker, J.R., and Dangl, J.L. (2003). Arabidopsis RIN4 is a target of the type III virulence effector AvrRpt2 and modulates RPS2-mediated resistance. *Cell* **112**, 379-389.
- Maule, A., Leh, V., and Lederer, C. (2002). The dialogue between viruses and hosts in compatible Interactions. *Curr Opin Plant Biol.* **5**, 279-284.
- Mestre, P., Brigneti, G., and Baulcombe, D.C. (2000). An *Ry*-mediated resistance response in potato requires the intact active site of the NIa proteinase from potato virus Y. *Plant J.* **23**, 653-661.
- Meyers, B.C., Kozik, A., Griego, A., Kuang, H., and Michelmore, R.W. (2003). Genome-wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in *Arabidopsis*. **15**, 809-834.
- Miller, E.D., Plante, C.A., Kim, K.H., Brown, J.W., and Hemenway, C. (1998). Stem-loop structure in the 5' region of potato virus X genome required for plus-strand RNA accumulation. *J. Mol. Biol.* **284**, 591-608.
- Minskaya, L.A., Novikov, V.K., and Kostin, V.D. (1977). Physical and chemical properties of virus affecting the *Plantago asiatica* L. in the Soviet Far East. *Virusy i Virusnye Bolezni Rastenij Dalnego Vostoka.* **48**, 61-69. (in Russian)
- Mitsuhara, I., Ugaki, M., Hirochika, H., Ohshima, M., Murakami, T., Gotoh, Y., Katayose, Y., Nakamura, S., Honkura, R., Nishimiya, S., Ueno, K., Mochizuki, A., Tanimoto, H., Tsugawa, H., Otsuki, Y., and Ohashi, Y. (1996). Efficient promoter cassettes for enhanced expression of foreign genes in dicotyledonous and monocotyledonous plants. *Plant Cell Physiol.* **37**, 49-59.
- Mitsuhara, I., Malik, K.A., Miura, M., and Ohashi, Y. (1999). Animal cell-death suppressors Bcl-x(L) and Ced-9 inhibit cell death in tobacco plants. *Curr Biol.* **9**, 775-778.
- Moore, C.J., Sutherland, P.W., Forster, R.L., Gardner, R.C., and MacDiarmid, R.M. (2001). Dark green islands in plant virus infection are the results of posttranscriptional gene silencing. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **14**, 939-946.
- Morozov, S.Y., Zakchariev, V.M., Chernow, B.K., Prasolov, V.S., Kozlov, Y.V., Atabekov, J.G., and Skryabin, K.G. (1983). The analysis of the primary structure and localization of the coat protein gene on the genomic RNA

of potato virus X. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **271**, 211-215. (in Russian)

Morozov, S.Y., and Solovyev, A.G. (2003). Triple gene block: modular design of a multifunctional machine for plant virus movement. *J Gen Virol*. **84**,1351-1366.

Nakagami, H., Pitzschke, A., and Hirt, H. (2005). Emerging MAP kinase pathways in plant stress signaling. *Trends Plant Sci*. **10**, 339-346.

Nam, M., Yun, S., Domier, L.L., Bent, A.F., Park, J.M., Choi, D., Kim, H.G., Hur, Y.K., and Moon, J.S. (2006). *RTR1* induces systemic necrosis in *Tobacco ringspot virus*-infected *Arabidopsis* plants and possibly acts as dominant negative regulator. *Jpn. J. Phytopathol.* **72**, 296.

Navarro, L., Dunoyer, P., Jay, F., Arnold, B., Dharmasiri, N., Estelle, M., Voinnet, O., and Jones, J.D.G. (2006). A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. *Science* **312**, 436-439.

Naylor, M., Murphy, A.M., Berry, J.O., and Carr, J.P. (1998). Salicylic acid can induce resistance to plant virus movement. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **11**, 860-868.

Ozeki, J., Takahashi, S., Komatsu, K., Kagiwada, S., Yamashita, K., Mori, T., Hirata, H., Yamaji, Y., Ugaki, M., and Namba, S. (2006). A single amino acid in the RNA-dependent RNA polymerase of *Plantago asiatica* mosaic virus contributes to systemic necrosis. *Arch. Virol.* **151**, 2067-2075.

Paape, M., Solovyev, A.G., Erokhina, T.N., Minina, E.A., Schepetilnikov, M.V., Lesemann, D.E., Schiemann, J., Morozov, S.Y., and Kellmann, J.W. (2006). At-4/1, an interactor of the *Tomato spotted wilt virus* movement protein, belongs to a new family of plant proteins capable of directed intra- and intercellular trafficking. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **19**, 874-883.

Palanichelvam, K., Cole, A.B., Shababi, M., and Schoelz, J.E. (2000). Agroinfiltration of *Cauliflower mosaic virus* gene VI elicits hypersensitive response in *Nicotiana* species. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **13**, 1275-1279.

Palatnik, J.F., Allen, E., Wu, X., Schommer, C., Schwab, R., Carrington, J.C., and Weigel, D. (2003). Control of leaf morphogenesis by microRNAs. *Nature* **425**, 257-263.

Pasqualini, S., Piccioni, C., Reale, L., Ederli, L., Torre, G.D., and Ferranti, F. (2003). Ozone-induced cell death in tobacco cultivar Bel W3 plants. The role of programmed cell death in lesion formation. *Plant Physiol.* **133**, 1122-1134.

Peart, J.R., Lu, R., Sadanandom, A., Malcuit, I., Moffett, P., Brice, D.C., Schausser, L., Jaggard, D.A.W., Xiao, S., Coleman, M.J., Dow, M., Jones, J.D.G., Shirasu, K., and Baulcombe, D.C. (2002). Ubiquitin ligase-associated protein SGT1 is required for host and nonhost disease resistance in plants. *Proc Natl Acad Sci USA.* **99**, 10865-10869.

Pillai-Nair, N., Kim, K.H., and Hemenway, C. (2003). Cis-acting regulatory elements in the potato virus X 3' non-translated region differentially affect minus- and plus-strand RNA accumulation. *J. Mol. Biol.* **326**, 701-720.

Plante, C.A., Kim, K.H., Pillai-Nair, N., Osman, T.A.M., Buck, K.W., and Hemenway, C. (2000). Soluble, template-dependent extracts from *Nicotiana benthamiana* plants infected with potato virus X transcribe both plus- and minus-strand RNA templates. *Virology* **275**, 444-451.

Pontier, D., Godiard, L., Marco, Y., and Roby, D. (1994). *hsv203J*, a tobacco gene whose activation is rapid, highly localized and specific for incompatible plant/pathogen interactions. *Plant J.* **5**, 507-521.

Pontier, D., Tronchet, M., Rogowsky, P., and Roby, D. (1998). Activation of *HSR203J*, a plant gene expressed during incompatible plant-pathogen interactions, is correlated with programmed cell death. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **11**, 544-554.

Pontier, D., Gan, S., Amasino, R.M., Roby, D., and Lam, E. (1999). Markers for hypersensitive response and senescence show distinct patterns of expression. *Plant Mol. Biol.* **39**, 1243-1255.

- Pooggin, M.M., and Skryabin, K.G. (1992). The 5'-untranslated leader sequence of potato virus X RNA enhances the expression of a heterologous gene *in vivo*. *Mol. Gen. Genet.* **234**, 329-331.
- Que, Q., Qang, H.Y., English, J.J., and Jorgensen, R.A. (1997). The frequency and degree of cosuppression by sense chalcone synthase transgenes are dependent on transgene promoter strength and are reduced by premature nonsense codons in the transgene coding sequence. *Plant Cell* **9**, 1357-1368.
- Rate, D.N., Cuenca, J.V., Bowman, G.R., Guttman, D.S., and Greenberg, J.T. (1999). The gain-of-function *Arabidopsis acd6* mutant reveals novel regulation and function of the salicylic acid signaling pathway in controlling cell death, defenses, and cell growth. *Plant Cell* **11**, 1695-1708.
- Ratcliff, F., Martin-Hernandez, A.M., and Baulcombe, D.C. (2001). Technical Advance. Tobacco rattle virus as a vector for analysis of gene function by silencing. *Plant J.* **25**, 237-245.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989). *In Molecular Cloning: A laboratory manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- Santa Cruz, S., Chapman, S., Rovers, A.G., Roberts, I.M., Prior, D.A., and Oparka, K.J. (1996). Assembly and movement of a plant virus carrying a green fluorescent protein overcoat. *Proc Natl Acad Sci USA.* **93**, 6286-6290.
- Sarmiento, C., Gomez, E., Meier, M., Kavanagh, T.A., and Truve, E. (2006). *Cocksfoot mottle virus* P1 suppresses RNA silencing in *Nicotiana benthamiana* and *Nicotiana tabacum*. *Virus Res.* **123**, 95-99.
- Schoelz, J.E., Wiggins, B.E., Wintermantel, W.M., and Ross, K. (2006). Introgression of a tomosvirus resistance locus from *Nicotiana edwardsonii* var. Columbia to *N. clevelandii*. *Phytopathology* **96**, 453-459.
- Schubert, D., Lechtenberg, B., Forsbach, A., Gils, M., Bahadur, S., and Schmidt, R. (2004). Silencing in *Arabidopsis* T-DNA transformants: the predominant role of a gene-specific RNA silencing mechanism versus position effects. *Plant Cell* **16**, 2561-2572.
- Seo, S., Seto, H., Yamanaka, H., and Ohashi, Y. (2001). Transient accumulation of jasmonic acid during the synchronized hypersensitive cell death in *Tobacco mosaic virus*-infected tobacco leaves. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **14**, 261-264.
- Seo, Y.S., Rojas, M.R., Lee, J.Y., Lee, S.W., Jeon, J.S., Ronald, P., Lucas, W.J., and Gilbertson, R.L. (2006). A viral resistance gene from common bean functions across plant families and is up-regulated in a non-virus-specific manner. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 11856-11861.
- Silhavy, D., Molnar, A., Lucioli, A., Szitty, G., Hornyik, C., Tavazza, M., and Burgyan, J. (2002). A viral protein suppresses RNA silencing and binds silencing-generated, 21- to 25-nucleotide double-stranded RNAs. *EMBO J.* **21**, 3070-3080.
- Smirnyagina, E.V., Morozov, S.Y., Rodionova, N.P., Miroshnichenko, N.A., Solovov, A.G., Fedorkin, O.N., and Atabekov, J.G. (1991). Translational efficiency and competitive ability of mRNAs with 5'-untranslated alpha beta-leader of potato virus X RNA. *Biochimie.* **73**, 587-598.
- Smith, M.M., and McCully, M.E. (1978). Enhancing aniline blue fluorescent staining of cell wall structures. *Stain Technol.* **53**, 79-85.
- Solovyev, A.G., Novikov, V.K., Merits, A., Savenkov, E.I., Zelenina, D.A., Tyulkina, L.G., and Morozov, S.Y. (1994). Genome characterization and taxonomy of *Plantago asiatica* mosaic Potexvirus. *J Gen Virol.* **75**, 259-267.
- Sonenberg, N., Shatkin, A.J., Ricciardi, R.P., Rubin, M., and Goodman, R.M. (1978). Analysis of terminal structures of RNA from potato virus X. *Nucleic Acids Res.* **5**, 2501-2512.
- Soosaar, J.L.M., Burch-Smith, T.M., and Dinesh-Kumar, S.P. (2005). Mechanisms of plant resistance to viruses. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 789-798.
- Takahashi, H., Miller, J., Nozaki, Y., Sukamoto, Takeda, M., Shah, J., Hase, S., Ikegami, M., Ehara, Y., and

- Dinesh-Kumar, S.P. (2002). *RCY1*, an *Arabidopsis thaliana* RPP8/HRT family resistance gene, conferring resistance to cucumber mosaic virus requires salicylic acid, ethylene and a novel signal transduction mechanism. *Plant J.* **32**, 655-667.
- Takahashi, Y., Berberich, T., Yamashita, K., Uehara, Y., Miyazaki, A., and Kusano, T. (2004). Identification of tobacco *HIN1* and two closely related genes as spermine-responsive genes and their differential expression during the Tobacco mosaic virus-induced hypersensitive response and during leaf- and flower-senescence. *Plant Mol. Biol.* **54**, 613-622.
- Tao, Y., Xie, Z., Chen, W., Glazebrook, J., Chang, H.S., Han, B., Zhu, T., Zou, G., and Katagiri, F. (2003). Quantitative nature of *Arabidopsis* responses during compatible and incompatible interactions with the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*. *Plant Cell* **15**, 317-330.
- Teraporewala, Z.F., and Culver, J.N. (1997). Structural and functional conservation of the tobamovirus coat protein elicitor active site. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **10**, 597-604.
- Thordal-Christensen, H., Zhang, Z., Wei, Y., and Collinge, D.B. (1997) Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant J.* **11**, 1187-1194.
- Valleau, W.D. (1946). Breeding tobacco varieties resistant to mosaic. *Phytopathology* **36**, 412.
- Valli, A., Martin-Hernandez, A.M., Lopez-Moya, J.J., and Garcia, J.A. (2006). RNA silencing suppression by a second copy of the PI serine protease of *Cucumber Vein Yellowing Ipomovirus*, a member of the family *Potyviridae* that lacks the cysteine protease HCPro. *J. Virol.* **80**, 10055-10063.
- Van der Hoorn, R.A.L., Laurent, F., Roth, R., and De Wit, P.J.G.M. (2000). Agroinfiltration is a versatile tool that facilitates comparative analyses of *Avr9/Cf-9*-induced and *Avr4/Cf-4*-induced necrosis. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **13**, 439-446.
- Vaucheret, H., Beclin, C., and Fagard, M. (2001). Post-transcriptional gene silencing in plants. *J Cell Sci.* **114**, 3083-3091.
- Vaucheret, H. (2006). Post-transcriptional small RNA pathways in plants: mechanisms and regulations. *Genes Dev.* **20**, 759-771.
- Verchot-Lubicz, J. (2005). A new cell-to-cell transport model for *Potexvirus*. *Mol Plant-Microbe Interact.* **18**, 283-290.
- Vlot, A.C., Neeleman, L., Linthorst, H.J.M., and Bol, J.F. (2001). Role of the 3'-untranslated regions of alfalfa mosaic virus RNAs in the formation of a transiently expressed replicase in plants and in the assembly of virions. *J. Virol.* **75**, 6440-6449
- Vlot, A.C., Menard, A., and Bol, J.F. (2002). Role of the alfalfa mosaic virus methyltransferase-like domain in negative-strand RNA synthesis. *J. Virol.* **76**, 11321-11328
- Voinnet, O., Pinto, Y.M., and Baulcombe, D. (1999). Suppression of gene silencing: a general strategy used by diverse DNA and RNA viruses of plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 14147-14152.
- Voinnet, O. (2001). RNA silencing as a plant immune system against viruses. *Trends Genet.* **17**, 449-459.
- Voinnet, O., Rivas, S., Mestre, P., and Baulcombe, D. (2003). An enhanced transient expression system in plants based on suppression of gene silencing by the p19 protein of tomato bushy stunt virus. *Plant J.* **33**, 949-956.
- Voinnet, O (2005). Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections. *Nat. Rev. Genet.* **6**, 206-219.
- Weber, H., Schultze, S., and Pflüger, A.J.P. (1993). Amino acid substitutions in the tomato mosaic virus 30-kilodalton movement protein confer the ability to overcome the *Tm-2²* resistance gene in tomato. *J. Virol.* **67**,

6432-6438.

Whitham, S.A., Quan, S., Chang, H.S., Cooper, B., Estes, B., Zhu, T., Wang, X., and Hou, Y.M. (2003). Diverse RNA viruses elicit the expression of common sets of genes in susceptible *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant J.* **33**, 271-283.

Xin, H.W., and Ding, S.W. (2003). Identification and molecular characterization of a naturally occurring RNA virus mutant defective in the initiation of host recovery. *Virology* **317**, 253-262.

Xu, P., and Roossinck, M.J. (2000). Cucumber mosaic virus D satellite RNA-induced programmed cell death in tomato. *Plant Cell* **12**, 1079-1092.

Xu, P., Blancaflor, E.B., and Roossinck, M.J. (2003). In spite of induced multiple defense responses, tomato plants infected with cucumber mosaic virus and D satellite RNA succumb to systemic necrosis. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **16**, 467-476.

Yamaji, Y., Kagiwada, S., Nakabayashi, H., Ugaki, M., and Namba, S. (2001). Complete nucleotide sequence of *Tulip virus X* (TVX-J): the border between species and strains within the genus *Potexvirus*. *Arch Virol.* **146**, 2309-2320.

Yang, S., Feng, Z., Zhang, X., Jiang, K., Jin, X., Hang, Y., Chen, J.Q., and Tian, D. (2006). Genome-wide investigation on the genetic variations of rice disease resistance genes. *Plant Mol. Biol.* **62**, 181-193.

Yao, N., Imai, S., Tada, Y., Nakayashiki, H., Tosa, Y., Park, P. and Mayama, S. (2002). Apoptotic cell death is a common response to pathogen attack in oats. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **15**, 1000-1007.

Ye, K., Malinina, L., and Patel, D.J. (2003). Recognition of small interfering RNA by a viral suppressor of RNA silencing. *Nature* **426**, 874-878.

Zelenina, D.A., Kulaeva, O.I., Smirnyagina, E.V., Solovyev, A.G., Miroshnichenko, N.A., Fedorkin, O.N., Rodionova, N.P., Morozov, S.Y., and Atabekov, J.G. (1992). Translation enhancing properties of the 5'-leader of potato virus X genomic RNA. *FEBS Lett.* **296**, 267-270.

鍵和田聡 (2004) . ジャガイモ X ウイルスの病徴決定因子に関する研究. 東京大学新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 博士論文

山下一夫、福井要子、菅野善明 (2003) . ユリオよびプリムラから分離されたポテックスウイルスについて. 日本植物病理学会報 **69**: 32.

竹内徹、佐々木純 (2003) . ユリエそ病の病原となる Potexvirus は *Plantago asiatica mosaic virus* (PIAMV) の I 系統である. 日本植物病理学会報 **69**: 329.

光原一朗、高畠令王奈、瀬尾茂美、安藤裕子、津田新哉、大橋祐子 (2006). 過敏感細胞死におけるミトコンドリア機能不全と MAPK カスケードの関係. 日本植物病理学会報 **72**: 296.

謝辞

本研究を行うにあたり、また本論文を作成するにあたり、研究環境を整え、日々親身にご指導くださった東京大学大学院 農学生命科学研究科 生産・環境生物学専攻 植物病理学研究室 難波成任教授に心から感謝いたします。また、本論文の作成にあたり貴重なアドバイスと励ましをくださった東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 資源生物創成学分野 資源生物創成学研究室 宇垣正志教授、同 鈴木匡助教授に深く感謝いたします。さらに、本論文の作成ならびに平素の研究に多大なご協力をいただいた、東京大学大学院 農学生命科学研究科 生産・環境生物学専攻 植物病理学研究室 山次康幸助手、日本学術振興会特別研究員 柿澤茂行博士に深く感謝いたします。

また、本研究の材料であるオオバコモザイクウイルスを分譲してくださった青森県農林総合研究センター 山下一夫氏に深く御礼申し上げます。最後に、当研究室で日々一緒に研究を送り、貴重な助言および多大な協力をして頂いた大学院生および非常勤職員の諸氏に感謝いたします。