

2. ウイルスと RNA サイレncing

峯 彰, 奥野 哲郎

京都大学大学院農学研究科
応用生物科学専攻

近年, 小さな RNA が遺伝子発現制御において大きな役割を担うことが明らかとなってきた. 小さな RNA が関わるこの機構は RNA サイレncingあるいは RNAi と呼ばれ, ウイルスなどの分子パラサイトに対する防御機構としても機能している. ウイルスは RNA サイレncingを誘導し, そのターゲットとなるが, 一方でウイルスは RNA サイレncingを抑制し, さらに利用する機構をもつことも分かってきた. 本稿では, RNA サイレncingを舞台としたウイルスと宿主との攻防について紹介したい.

はじめに

ウイルスは, ほぼすべての生物に感染する病原体である. そのため生物は, ウイルス感染に対するさまざまな防御機構を発達させてきた. その一つに RNA サイレncingという機構がある. この機構は, 形質転換植物で導入遺伝子の mRNA が細胞質で分解される転写後型遺伝子抑制機構 (post-transcriptional gene silencing) として初めて報告された^{40, 50}. 今日, RNA サイレncingは, 動物から植物にいたる多くの真核生物に共通して存在し, 21-24 塩基の小さな RNA を介した塩基配列特異的な RNA 分解あるいは翻訳抑制による遺伝子の発現制御機構として機能していることが知られている.

植物やショウジョウバエなどのウイルス感染細胞では, ウイルス由来の小さな RNA が蓄積し, RNA サイレncingが誘導される¹⁰. この防御機構に対抗するために, 多くのウイルスが RNA サイレncing抑制機構を持つことが近年明らかとなってきた. 本稿では, ウイルス防御機構としての RNA サイレncing, ウイルスによる RNA サイレncing

の抑制あるいは回避, さらにはウイルスによる RNA サイレncingの利用について紹介する.

RNA サイレncingのステップ

1) 小さな RNA の生成

RNA サイレncingは, 小さな RNA が生成されることから始まる. 小さな RNA は, small interfering RNA (siRNA), microRNA (miRNA) および Piwi-associated interfering RNA (piRNA) に大別できる. siRNA と miRNA は, RNaseIII 様 dsRNA 分解酵素 [動物では Dicer, 植物では Dicer-like タンパク質 (DCL)] による二本鎖 RNA (dsRNA) の切断によって生じる^{3, 19}. その産物は, 3' 末端で二塩基がオーバーハングした小さな dsRNA である⁴⁷. ただし, piRNA は, miRNA や siRNA とは違い, ショウジョウバエなどの生殖細胞に蓄積し, その生成は Dicer 非依存的である²⁰. piRNA に関する詳細は, 塩見の稿を参照されたい.

ヒトや線虫などの動物は一種の Dicer をコードしており, 一つの Dicer が miRNA と siRNA 両者の生成に関わる¹⁹. ショウジョウバエは二種の Dicer (Dcr1 と Dcr2) をコードしており, Dcr1 が miRNA の生成を, Dcr2 が siRNA の生成をそれぞれ担う¹⁹. 一方, モデル植物シロイヌナズナは4種の DCL (DCL1, DCL2, DCL3, DCL4) をコードしている. DCL1 は miRNA 前駆体から成熟 miRNA (21 塩基) の生成にいたるすべての過程に関わる^{3, 25}. DCL2 はストレス関連 mRNA の制御に関わる 24 塩基の natural-antisense siRNA (nat-siRNA) を生成するとともに⁵, ウイルス制御に関わる 22 塩基の siRNA の生成にも携わる (図

連絡先

〒

TEL :

FAX :

E-mail :

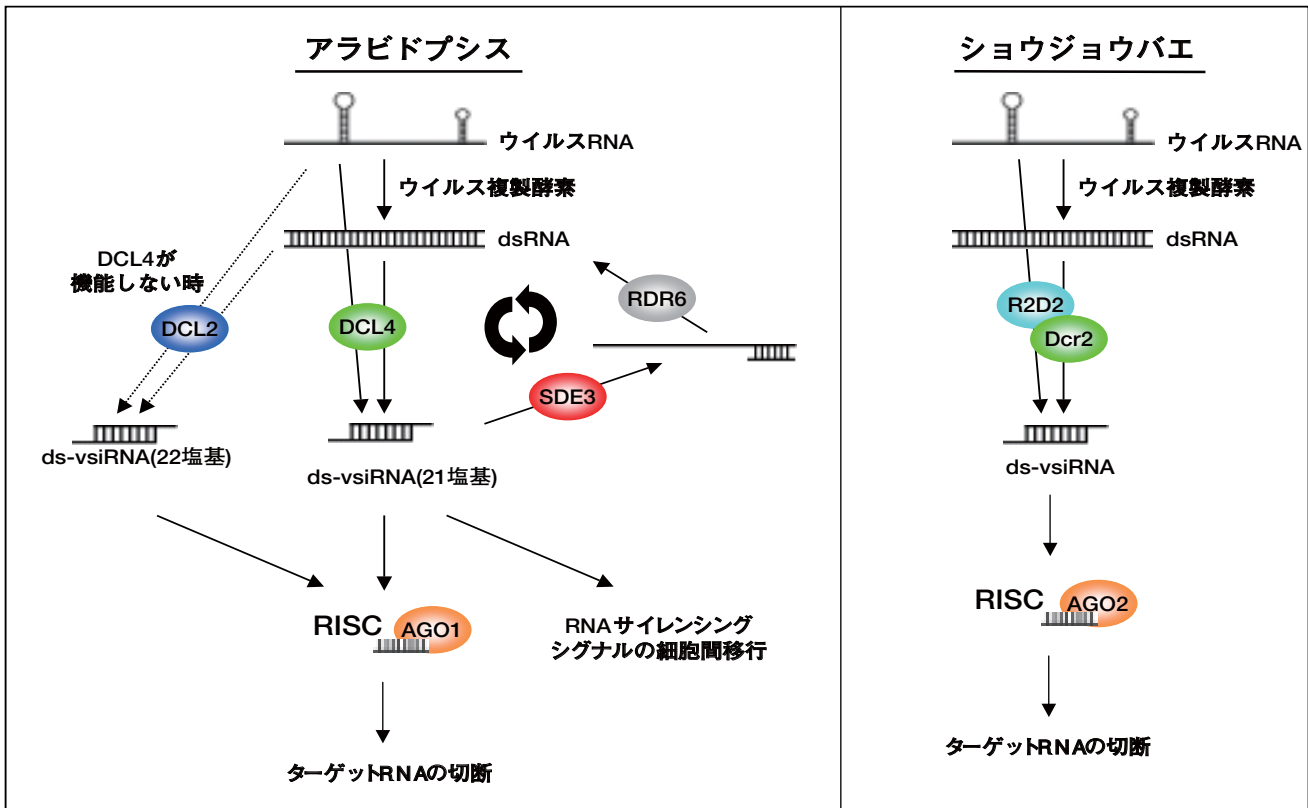


図1 ウイルス防御機構としてのRNAサイレンシング経路。

1)⁹⁾ DCL3はヘテロクロマチン修飾を介した転写型遺伝子サイレンシングに関わる24塩基のsiRNAを生成する⁵⁷⁾。DCL4は、miRNAとRNA依存RNA合成酵素RDR6(シロイヌナズナにコードされる6種のRNA依存RNA合成酵素(RdRP)の一つ)の介在で生じたdsRNAからトランスに作用する21塩基のtrans-acting siRNA (ta-siRNA)を¹³⁾、あるいはウイルスと導入遺伝子の制御に関わる21塩基のsiRNAを生成する(図1)^{6, 9)}。このように植物では4種のDCLが複雑で巧妙なsmall RNAネットワークを作っている⁵³⁾。

2) RNA誘導サイレンシング複合体(RISC)の形成と標的RNAの切断

DCLあるいはDicerによって作られたsiRNAとmiRNAは、次にArgonaute (AGO) familyタンパク質を含むRISCに取り込まれる。ただし、dsRNAの一方はAGOタンパク質のRNA切断活性によって切断され、標的RNAと相補結合する方のRNA(ガイドRNA)のみがRNA誘導サイレンシング複合体(RISC, RNA-Induced Silencing Complex)内に維持される。この機構は、ショウジョウバエで初めて報告されたが³³⁾、Cucumber mosaic virus (CMV)がコードする2bタンパク質のRNAサイレンシング抑制機構の詳

細な解析の結果から、植物においてもこの可能性が示唆されている⁵⁹⁾。RISCは、AGOタンパク質を介してガイドRNAが特異的に結合する標的RNAの中央を切断、あるいは標的mRNAの3'非翻訳領域に結合して翻訳を阻害する^{3, 19, 34)}。

ウイルス防御機構としてのRNAサイレンシング

1) ウイルス由来の小さなRNAの生成

植物や動物、ショウジョウバエでは、ウイルス感染に伴ってRNAサイレンシングが誘導され、ウイルス由来の小さなRNA(virus-derived small interfering RNA, vsiRNA)が蓄積する。RNAをゲノムとして持つウイルスは、その複製過程で必然的に生じるdsRNAおよびゲノムRNA分子内に生じるヘアピン構造などがRNAサイレンシングを誘導すると考えられる(図1)。例えば、Turnip mosaic virus (TuMV)感染植物において、ウイルスゲノムRNAのプラス鎖およびマイナス鎖RNA由来のvsiRNAがほぼ同じ比率で蓄積することが知られている²²⁾。Turnip crinkle virus (TCV)やCymbidium ring spot virus (CymRSV)感染植物においては、プラス鎖RNA内のヘアピン構造に由来するvsiRNAがおもに蓄積する^{22, 37)}。一方、一本鎖DNAをゲノムとして持つウイルスは、その複製過程で、複製DNA

から両方向に合成されるウイルス RNA 転写産物の重複する領域の相補結合により dsRNA が生じる⁵¹⁾。ジェミニウイルスではこのような dsRNA 構造が RNA サイレンシングを誘導すると考えられる。二本鎖 DNA をゲノムとして持つ *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) では、ウイルスの転写産物に存在する翻訳に重要な RNA 二次構造が RNA サイレンシングのターゲットとなる³⁶⁾。

植物では、ウイルス感染に伴って 21, 22 あるいは 24 塩基の vsiRNA が蓄積する。vsiRNA の塩基数の違いと組合せは感染したウイルス種によって異なる。例えば、*Tobacco rattle virus* (TRV) に感染したシロイヌナズナでは 21 塩基と 24 塩基の vsiRNA が観察されるが、*Turnip crinkle virus* (TCV) の感染では 22 塩基の vsiRNA のみが蓄積する。このような vsiRNA の塩基数の違いは DCL 種における機能の重複と補完性、およびウイルスのサプレッサー機能の違いによることが分かってきた^{6, 9)}。TRV 感染野生型シロイヌナズナでは 22 塩基の vsiRNA の蓄積は見られないが、*dcl4* 変異シロイヌナズナが TRV に感染すると 21 塩基ではなく 22 塩基の vsiRNA が蓄積する。*dcl2-dcl4* の二重変異体では 21 塩基と 22 塩基の vsiRNA はいずれも蓄積しない。また、この二重変異体は *DCL4* 単独の変異体よりもウイルス感染に対して強い感受性を示す。22 塩基の vsiRNA の出現と 21 塩基の vsiRNA の消失は *dcl4* 変異と関連する⁹⁾。すなわち、*DCL4* が機能しないときには *DCL2* が *DCL4* に代わって機能すると考えられる (図 1)。

ショウジョウバエにおいては、おもに Dcr2 がウイルス dsRNA に作用して vsiRNA を生成する。dsRNA 結合タンパク質である R2D2 は、vsiRNA の生成に必須ではないが、ウイルスに対する抵抗性には関与することが知られている (図 1)⁵⁶⁾。

2) 抗ウイルス RISC の形成とウイルス RNA の切断

植物では、vsiRNA を取り込んだ AGO1-RISC がおもな抗ウイルス RISC として機能すると考えられている (図 1)。これは、*ago1* 変異体アラビドプシスがウイルス感染に対する感受性を増すこと³⁸⁾、ウイルス感染細胞の AGO1 免疫沈降画分に vsiRNA が存在すること⁵⁹⁾ などから支持される。さらに、近年になって RNA サイレンシング抑制能を欠損したトムブスウイルスを用いた研究から、vsiRNA を取り込んだ RISC がウイルス RNA を切断するという生化学的な証明がなされた。Pantaleo ら⁴³⁾ は、トムブスウイルス感染植物に miRNA を取り込んだ AGO1-RISC と vsiRNA を取り込んだ同じ大きさの RISC が存在することを示した。また、Omarov ら⁴¹⁾ は、トムブスウイルス感染植物から精製された RISC が *in vitro* でウイルス RNA を優先的に切断することを示した。

ショウジョウバエでは、AGO2 が抗ウイルス RISC の活性中心を担うと考えられている (図 1)。実際、*ago2* 変異体ショウジョウバエはウイルス感染に対して高い感受性を

示す^{49, 58)}。

3) RNA サイレンシング効果の増幅と移行

植物や線虫では、RNA サイレンシング効果は RdRp によって増幅され、誘導された部位から他の部位へ移行する⁵⁴⁾。モデル植物アラビドプシスのコードする RDR6 は、キャップを持たない異常な mRNA やウイルス RNA を鋳型として dsRNA を合成し、さらなる siRNA を作り出すことで RNA サイレンシング効果を増幅する¹⁴⁾。また、ヘリカーゼドメインをもつ SDE3 も RNA サイレンシング効果の増幅で重要な働きをする (図 1)⁵⁴⁾。

植物での RNA サイレンシング効果の移行は細胞間移行と師部組織を介した全身移行からなる。RNA サイレンシングの細胞間移行には *DCL4* により作られる 21 塩基の siRNA が関与する¹¹⁾。10-15 細胞の短距離移行には、RNA サイレンシングシグナルの増幅は必ずしも必要でないが、それ以上の細胞間移行には RDR6 が介在するシグナルの増幅が必要である²¹⁾。

ウイルスによる RNA サイレンシング抑制機構

ウイルスは RNA サイレンシングという宿主防御機構を乗り越えるため様々な機構を獲得し、進化してきたと考えられる。その一つが RNA サイレンシングサプレッサーである。それらは外被タンパク質、RNA 複製酵素成分タンパク質、細胞間移行タンパク質などウイルス増殖に必須のタンパク質である場合と増殖には必須ではないが病原性に関わるタンパク質の場合がある。ウイルスによっては複数の RNA サイレンシングサプレッサーをコードしている。例えば、*Citrus tristeza virus* (CTV) は RNA サイレンシング抑制活性を持つ 3 種のタンパク質 (p20, p22 と CP) をコードしている²⁹⁾。*Red clover necrotic mosaic virus* (RCNMV) の複製タンパク質は RNA サイレンシング抑制活性を示さないが、複製されるウイルス RNA が同時に存在したときに RNA サイレンシングを抑制する⁴⁶⁾。アデノウイルスではウイルス RNA が Dicer の機能を阻害し、RNA サイレンシングを抑制すると考えられる^{2, 31)}。このように、ウイルスの RNA サイレンシング抑制機構は多様である。

1) ds-siRNA に結合するサプレッサータンパク質

ウイルスサプレッサーの多くは ds-siRNA に結合し、RISC への siRNA の取り込みを阻害する²⁶⁾。ただし、その siRNA への結合様式はいくつかの点で異なる。トムブスウイルスの P19、ポティーウイルスの HC-Pro、クロステロウイルスの P21 では ds-siRNA への結合でサイズ特異性が見られる。例えば、P19 は 21 塩基の ds-siRNA に効率よく結合するが、それ以外の塩基数の ds-siRNA には効率よく結合できない⁵²⁾。一方、TCV の CP (p38) と *Pathos latent virus* (PLV) の P14 は ds-siRNA と同様に長い dsRNA にも結合し、サイズ特異性を示さない³⁵⁾。もう一つの違いは、結合における ds-siRNA 3'-二塩基のオーバーハングの要求

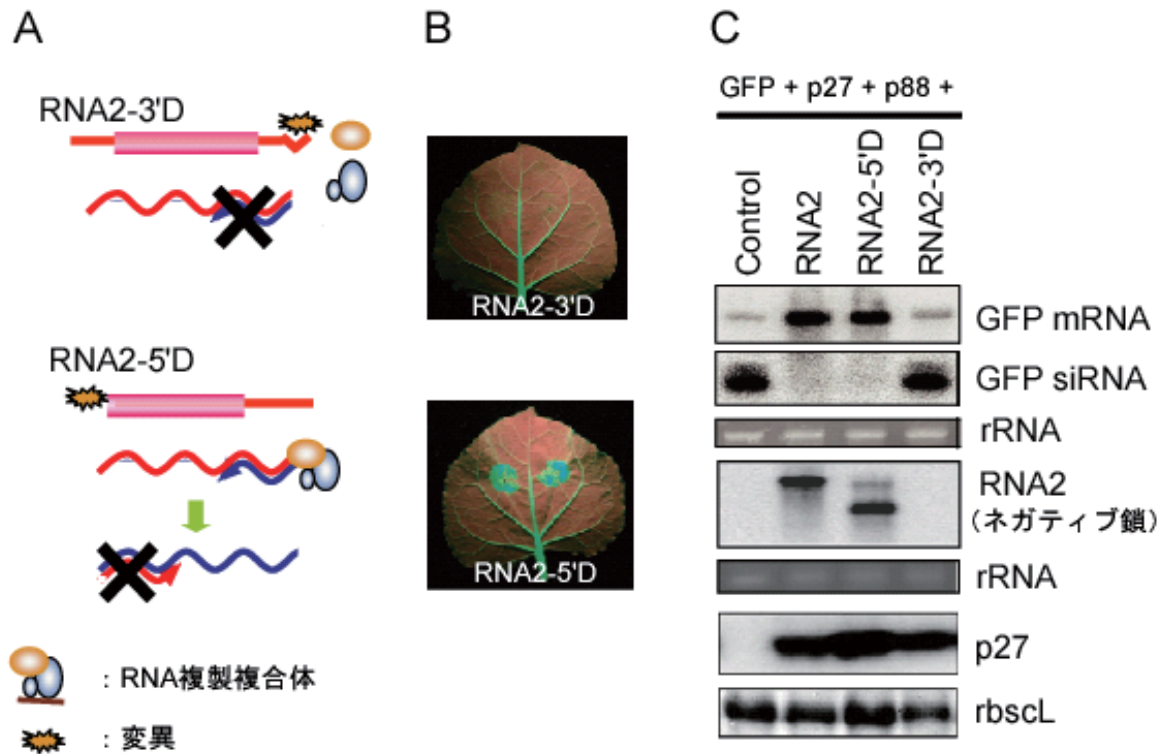


図2 RCNMVによるRNAサイレンシング抑制はウイルスRNA合成とリンクする。

- A) 5' と 3' 末端領域にそれぞれ変異を持つ RCNMV RNA2 の模式図。
 B) GFP mRNA, p27, p88 と RNA2-3'D (上) あるいは RNA2-5'D (下) をアグロバクテリウムを介して発現させたベンタミアーナタバコ葉の注入4日後におけるUV照射下での写真。p27 と p88 は RCNMV RNA 複製酵素成分タンパク質。
 C) アグロバクテリウム接種ベンタミアーナタバコ葉における GFP mRNA, GFP siRNA, ネガティブ鎖 RNA2, および p27 の蓄積。

性である。P19 はオーバーハングを必要とするが、HC-Pro と P21 は必要としない⁷⁾。また、P19, HC-Pro, P21 は、小さな2本鎖 miRNA (21塩基) にも結合し、miRNA の RISC への取り込みも阻害する^{7, 24, 26)}。ウイルス RNA サイレncing サプレッサーによる miRNA 機能の阻害は植物の形態形成などに影響すると考えられる。実際、P19, HC-Pro, あるいは P21 を発現する形質転換シロイヌナズナは、ウイルス病徴と類似した形態異常を示す⁵⁴⁾。

2) siRNA 生成を阻害するサプレッサータンパク質

長い dsRNA への結合は Dicer の dsRNA へのアクセスを阻害し、siRNA の生成を阻害すると考えられる。実際、動物ウイルスである *Flock house virus* (FHV) や *Nodamura virus* (NoV) の持つ B2 サプレッサータンパク質は、サイズ非依存的に dsRNA に結合し Dicer による dsRNA の切断を阻害する^{28, 30, 44)}。また、HC-Pro を発現する形質転換植物では、切断されない dsRNA が蓄積することから、HC-Pro は DCL による dsRNA の切断過程も阻害すると考えられる^{12, 32)}。一方、HC-Pro は細胞に内在する RNA サイレncing のネガティブ制御因子であるカルモジュリン関連タンパク質 (rgsCaM) の発現を誘導し、且つ、rgsCaM と相

互作用することから rgsCaM を介した阻害が考えられる¹⁾。さらに、HC-Pro は siRNA 3' 端のメチル化を阻害することから siRNA の安定化に影響し RNA サイレncing を阻害する可能性も考えられる⁷⁾。

3) RNA サイレncing シグナルの全身移行を阻害するサプレッサータンパク質

RNA サイレncing 効果の細胞間あるいは全身移行は、ウイルス感染の拡大を効率よく防ぐためウイルスにとっては大きな障害となる。*Potato virus X* (PVX) の細胞間移行タンパク質である p25 は RNA サイレncing シグナルの全身移行を阻害する⁵⁵⁾。また、病原性因子として同定された CMV の 2b も RNA サイレncing シグナルの全身移行を阻害する¹⁶⁾。

4) AGO タンパク質の働きを阻害するサプレッサータンパク質

ウイルスサプレッサータンパク質の中には、RISC の活性中心である AGO タンパク質に作用するものが存在する。例えば、CMV の 2b サプレッサータンパク質は AGO1 に結合し、その RNA 切断活性を阻害する⁵⁹⁾。また、ポレロウイルスの P0 サプレッサータンパク質は、ユビキチン化を

表 1 代表的なウイルス RNA サイレンシングサプレッサーの作用点

作用点	ウイルス属あるいは科 (ウイルス名, サプレッサー名)
ds-siRNA 結合	カルモウイルス (TEV, HC-Pro) インフルエンザウイルス* (Inf1, NS1)
dsRNA 結合 +ds-siRNA 結合	クロステロウイルス (BYV, P21) トムブスウイルス (TBSV など, P19)
dsRNA 結合	ノダウイルス* (FHV や NoV, B2)
サイレンシングシグナルの 長距離移行阻害	ククモウイルス (CMV, 2b) ポテックスウイルス (PVX, p25)
Dicer に結合	アデノウイルス (VA1 non-coding RNA)
AGO タンパク質の機能阻害	ボレロウイルス (PO) ククモウイルス (CMV, 2b)
サイレンシング因子の利用?	ダイアンソウイルス (RCNMV, p27+p88+ ウイルス RNA) レンチウイルス* (HIV-1, Tat)

*動物ウイルス

介して AGO タンパク質を分解してしまう⁴⁾。

5) RNA サイレンシング因子の利用による阻害

RCNMV による RNA サイレンシング抑制はウイルス RNA 複製とリンクしており, ウイルス RNA のネガティブ鎖合成が起こる条件で RNA サイレンシングを抑制することができる (図 2)。ウイルス RNA 合成では宿主タンパク質を含む RNA 複製酵素複合体が重要な役割を果たすことから, RCNMV は宿主の RNA サイレンシング因子を自らの RNA 複製に利用することで RNA サイレンシングを抑制している可能性が考えられる⁴⁶⁾。このような可能性は, ほぼ同時にエイズウイルス (HIV) でも報告された。HIV が増殖に必要とする trans-activating response RNA-binding protein (TRBP) は Dicer に結合し, TRBP-Dicer 複合体は AGO タンパク質 (AGO2) と相互作用する^{8, 18)}。すなわち, HIV は RNA サイレンシングで重要なタンパク質を自らの複製に転用し, RNA サイレンシングを抑制している可能性が考えられる。

6) RNA サイレンシングサプレッサーとして機能するウイルス RNA

動物アデノウイルスの VA1 non-coding RNA は報告がある唯一のサプレッサー RNA である。VA1 non-coding RNA は Dicer に結合してその機能を阻害し, RNA サイレンシングを抑制すると考えられる^{2, 31)}。RCNMV の RNA サイレンシング抑制活性は合成されたウイルス RNA の蓄積量に依存する (峯と奥野, 未発表) ことから, 合成された RNA 自身がサプレッサーとして機能している可能性も考えられる。

おもなウイルス RNA サイレンシングサプレッサーの作用点を表 1 にまとめた。

ウイルスと miRNA 経路

動物では, ウイルス感染に伴って PKR (Protein kinase RNA-activated) -インターフェロン経路が活性化し, 抗ウイルス因子が産生されてウイルス増殖を抑制する。そして, さらなる防御として RNA サイレンシング機構を利用すると考えられる。近年になって, さらに miRNA 経路が宿主とウイルスの攻防において重要な役割を担うことが分かってきた。例えば, ヒトやマウスがコードする miRNA にはウイルスをターゲットとし, ウイルス増殖を抑制するものが存在する^{27, 42)}。一方で, ウイルスが miRNA による防御機構を抑制するという報告もある。HIV はある miRNA クラスターの発現を抑制し, 効率よく複製を行う⁴⁸⁾。さらに, HIV を含む多くの動物ウイルスが miRNA をコードしていることが近年明らかとなってきた³⁹⁾。ウイルスがコードする miRNA は, ウイルス遺伝子の発現制御を行い⁴⁵⁾, 宿主 mRNA の翻訳に影響を与えて¹⁷⁾, ウイルスに都合の良い細胞環境に変える機能を持つと考えられる。例えば, Kaposi's-sarcoma-associated herpes virus (KSHV) がコードする miRNA は宿主のある miRNA と同一性が高く, 実際, その宿主 miRNA がターゲットとする mRNA の発現制御を行う¹⁵⁾。また, 肝臓に特異的に存在する miRNA が C 型肝炎ウイルス (HCV) の増殖に必須である²³⁾ など, ウイルスが miRNA 経路を利用するケースも見受けられる。植物ウイルスの RCNMV は *dcl1* 変異シロイヌナズナにおいて一細胞レベル (プロトプラスト) で効率よく複製できるが (岩橋と奥野, 未発表), 植物体レベルでは効率よく感染, 増殖できない⁴⁶⁾。RCNMV は植物体への感染に DCL1 が介在する miRNA 代謝系を必要とするのかもしれない。

おわりに

ウイルスは、宿主の防御機構である RNA サイレンシングを誘導し、そのターゲットとなる。一方でウイルスは、この防御機構に対抗して様々な RNA サイレンシングサプレッサーを持っている。ウイルスのサプレッサーは自らの RNA をターゲットとする RNA サイレンシングを抑制するだけでなく、宿主の miRNA が関わる経路にも影響を及ぼす。さらには、miRNA 経路を利用するウイルスまで存在する。このようにウイルスの感染機構と RNA サイレンシング機構は切り離して語れないことが分かってきた。今後ウイルス研究が益々進展し、RNA サイレンシングを舞台としたウイルスと宿主の分子ネットワークを明らかとしていくことで、植物や動物とウイルスの関係、さらには様々な生命現象の解明と動物・植物の様々な病気のコントロール法の開発につながることを期待したい。

引用文献

- 1) Anandalakshmi R, Marathe R, Ge X, Herr JM, Mau C, Mallory A, Pruss G, Bowman L, Vance VB.: A calmodulin-related protein that suppresses posttranscriptional gene silencing in plants. *Science* 290: 142-144, 2000.
- 2) Andersson MG, Haasnot PCJ, Xu N, Berenjian S, Berkhout B, Akusjarvi G.: Suppression of RNA interference by adenovirus virus-associated RNA. *J Virol* 79: 9556-9565, 2005.
- 3) Bartel DP.: MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 116: 281-297, 2004.
- 4) Baumberger N, Tsai CH, Lie M, Havecker E, Baulcombe DC.: The polerovirus silencing suppressor PO targets ARGONAUTE proteins for degradation. *Curr Biol* 17: 1609-1614, 2007.
- 5) Borsani O., Zhu JH, Verslues PE, Sunkar R, Zhu JK.: Endogenous siRNAs derived from a pair of natural cis-antisense transcripts regulate salt tolerance in Arabidopsis. *Cell* 123: 1279-1291, 2005.
- 6) Bouche N, Lauressergues D, Gasciolli V, Vaucheret H.: An antagonistic function for Arabidopsis DCL2 in development and a new function for DCL4 in generating viral siRNAs. *EMBO J* 25: 3347-3356, 2006.
- 7) Chapman EJ, Prokhnevsky AI, Gopinath K, Dolja VV, Carrington JC.: Viral RNA silencing suppressors inhibit the microRNA pathway at an intermediate step. *Genes Dev* 18: 1179-1186, 2004.
- 8) Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, Norman J, Cooch N, Nishikura K, Shiekhattar R.: TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature* 436: 740-744, 2005.
- 9) Deleris A, Gallego-Bartolome J, Bao JS, Kasschau KD, Carrington JC, Voinnet O.: Hierarchical action and inhibition of plant Dicer-like proteins in antiviral defense. *Science* 313: 68-71, 2006.
- 10) Ding SW, Voinnet O.: Antiviral immunity directed by small RNAs. *Cell* 130: 413-426, 2007.
- 11) Dunoyer P, Himber C, Voinnet O.: DICER-LIKE 4 is required for RNA interference and produces the 21-nucleotide small interfering RNA component of the plant cell-to-cell silencing signal. *Nat Genet* 37: 1356-1360, 2005.
- 12) Dunoyer P, Lecellier CH, Parizotto EA, Himber C, Voinnet O. Probing the microRNA and small interfering RNA pathways with virus-encoded suppressors of RNA silencing. *Plant Cell* 16: 1235-1250, 2004.
- 13) Gasciolli V, Mallory AC, Bartel DP, Vaucheret H. Partially redundant functions of Arabidopsis DICER-like enzymes and a role for DCL4 in producing trans-acting siRNAs. *Curr Biol* 15: 1494-1500, 2005
- 14) Gazzani S, Lawrenson T, Woodward C, Headon D, Sablowski R. A link between mRNA turnover and RNA interference in Arabidopsis. *Science* 306: 1046-1048, 2004.
- 15) Gottwein, E, Mukherjee N, Sachse C, Frenzel C, Majoros WH, Chi JTA, Braich R, Manoharan M, Soutschek J, Ohler U, and Cullen BR.: A viral microRNA functions as an orthologue of cellular miR-155. *Nature* 450: 1096-1099, 2007.
- 16) Guo HS, Ding SW.: A viral protein inhibits the long range signaling activity of the gene silencing signal. *EMBO J* 21: 398-407, 2002.
- 17) Gupta A, Gartner JJ, Sethupathy P, Hatzigeorgiou AG, Fraser NW. Anti-apoptotic function of a microRNA encoded by the HSV-1 latency-associated transcript. *Nature* 442: 82-85, 2006.
- 18) Haase AD, Jaskiewicz L, Zhang HD, Laine S, Sack R, Gagnon A, Filipowicz W.: TRBP, a regulator of cellular PKR and HIV-1 virus expression, interacts with Dicer and functions in RNA silencing. *EMBO Rep* 6: 961-967, 2005.
- 19) Hammond SM.: Dicing and slicing - The core machinery of the RNA interference pathway. *FEBS Lett* 579: 5822-5829, 2005.
- 20) Hartig JV, Tomari Y, Forstemann K.: piRNAs - the ancient hunters of genome invaders. *Genes Dev* 21: 1707-1713, 2007.
- 21) Himber C, Dunoyer P, Moissiard G, Ritzenthaler C, Voinnet O.: Transitivity-dependent and -independent cell-to-cell movement of RNA silencing. *EMBO J* 22: 4523-4533, 2003.
- 22) Ho T, Pallett D, Rusholme R, Dalmay T, Wang H. A simplified method for cloning of short interfering RNAs from Brassica juncea infected with Turnip mosaic potyvirus and Turnip crinkle carmovirus. *J Virol Methods* 136: 217-223, 2006.
- 23) Jopling CL, Yi MK, Lancaster AM, Lemon SM, Sarnow P.: Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA. *Science* 309: 1577-1581, 2005.
- 24) Kasschau KD, Xie ZX, Allen E, Llave C, Chapman EJ, Krizan KA, Carrington JC.: P1/HC-Pro, a viral suppressor of RNA silencing, interferes with Arabidopsis development and miRNA function. *Dev Cell* 4: 205-217, 2003.
- 25) Kurihara Y, Takashi Y, Watanabe Y.: The interaction between DCL1 and HYL1 is important for efficient

- and precise processing of pri-miRNA in plant microRNA biogenesis. *RNA* 12: 206-212, 2006.
- 26) Lakatos L, Csorba T, Pantaleo V, Chapman EJ, Carrington JC, Liu YP, Dolja VV, Calvino LF, Lopez-Moya JJ, Burgyan J.: Small RNA binding is a common strategy to suppress RNA silencing by several viral suppressors. *EMBO J* 25: 2768-2780, 2006.
 - 27) Lecellier CH, Dunoyer P, Arar K, Lehmann-Che J, Eyquem S, Himber C, Saib A, Voinnet O. A cellular MicroRNA mediates antiviral defense in human cells. *Science* 308: 557-560, 2005.
 - 28) Lingel A, Simon B, Izaurralde E, Sattler M.: The structure of the flock house virus B2 protein, a viral suppressor of RNA interference, shows a novel mode of double-stranded RNA recognition. *EMBO Rep* 6: 1149-1155, 2005.
 - 29) Lu R, Folimonov A, Shintaku M, Li WX, Falk BW, Dawson WO, Ding SW.: Three distinct suppressors of RNA silencing encoded by a 20-kb viral RNA genome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 15742-15747, 2004.
 - 30) Lu R, Maduro M, Li F, Li HW, Broitman-Maduro G, Li WX, Ding SW.: Animal virus replication and RNAi-mediated antiviral silencing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 436: 1040-1043, 2005.
 - 31) Lu SH, Cullen BR.: Adenovirus VA1 noncoding RNA can inhibit small interfering RNA and microRNA biogenesis. *J Virol* 78: 12868-12876, 2004.
 - 32) Mallory AC, Ely L, Smith TH, Marathe R, Anandalakshmi R, Fagard M, Vaucheret H, Pruss G, Bowman L, Vance VB.: HC-Pro suppression of transgene silencing eliminates the small RNAs but not transgene methylation or the mobile signal. *Plant Cell* 13: 571-583, 2001.
 - 33) Matranga C, Tomari Y, Shin C, Bartel DP, Zamore PD.: Passenger-strand cleavage facilitates assembly of siRNA into Ago2-containing RNAi enzyme complexes. *Cell* 123: 607-620, 2005.
 - 34) Meister G, Tuschl T.: Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature* 431: 343-349, 2004.
 - 35) Merai Z, Kerenyi Z, Molnar A, Barta E, Valoczi A, Bisztray G, Havelda Z, Burgyan J, Silhavy D.: Aureusvirus P14 is an efficient RNA silencing suppressor that binds double-stranded RNAs without size specificity. *J Virol* 79: 7217-7226, 2005.
 - 36) Moissiard G, Voinnet O.: RNA silencing of host transcripts by cauliflower mosaic virus requires coordinated action of the four *Arabidopsis* Dicer-like proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 19593-19598, 2006.
 - 37) Molnar A, Csorba T, Lakatos L, Varallyay E, Lacomme C, Burgyan J.: Plant virus-derived small interfering RNAs originate predominantly from highly structured single-stranded viral RNAs. *J Virol* 79: 7812-7818, 2005.
 - 38) Morel JB, Godon C, Mourrain P, Beclin C, Boutet S, Feuerbach F, Proux F, Vaucheret H.: Fertile hypomorphic ARGONAUTE (*ago1*) mutants impaired in post-transcriptional gene silencing and virus resistance. *Plant Cell* 14: 629-639, 2002.
 - 39) Nair V, Zavolan M.: Virus-encoded microRNAs: novel regulators of gene expression. *Trends Microbiol* 14: 169-175, 2006.
 - 40) Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R.: Introduction of a Chimeric Chalcone Synthase Gene into *Petunia* Results in Reversible Co-Suppression of Homologous Genes in trans. *Plant Cell* 2: 279-289, 1990.
 - 41) Omarov RT, Ciomperlik JJ, Scholthof HB.: RNAi-associated ssRNA-specific ribonucleases in Tombusvirus P19 mutant-infected plants and evidence for a discrete siRNA-containing effector complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 1714-1719, 2007.
 - 42) Otsuka M, Jing Q, Georgel P, New L, Chen JM, Mols J, Kang YJ, Jiang ZF, Du X, Cook R, Das SC, Pattnaik AK, Beutler B, Han JH.: Hypersusceptibility to vesicular stomatitis virus infection in *Dicer1*-deficient mice is due to impaired miR24 and miR93 expression. *Immunity* 27: 123-134, 2007.
 - 43) Pantaleo V, Szittya G, Burgyan J.: Molecular bases of viral RNA targeting by viral small interfering RNA-programmed RISC. *J Virol* 81: 3797-3806, 2007.
 - 44) Sullivan CS, Ganem D.: A virus-encoded inhibitor that blocks RNA interference in mammalian cells. *J Virol* 79: 7371-7379, 2005.
 - 45) Sullivan CS, Grundhoff AT, Tevethia S, Pipas JM, Ganem D.: SV40-encoded microRNAs regulate viral gene expression and reduce susceptibility to cytotoxic T cells. *Nature* 435: 682-686, 2005.
 - 46) Takeda A, Tsukuda M, Mizumoto H, Okamoto K, Kaido M, Mise K, Okuno T.: A plant RNA virus suppresses RNA silencing through viral RNA replication. *EMBO J* 24: 3147-3157, 2005.
 - 47) Tomari Y, Zamore PD.: Perspective: machines for RNAi. *Genes Dev* 19: 517-529, 2005.
 - 48) Triboulet R, Mari B, Lin YL, Chable-Bessia C, Benasser Y, Lebrigand K, Cardinaud B, Maurin T, Barbry P, Baillat V, Reynes J, Corbeau P, Jeang KT, Benkirane M.: Suppression of microRNA-silencing pathway by HIV-1 during virus replication. *Science* 315: 1579-1582, 2007.
 - 49) van Rij RP, Saleh MC, Berry B, Foo C, Houk A, Antoniewski C, Andino R.: The RNA silencing endonuclease Argonaute 2 mediates specific antiviral immunity in *Drosophila melanogaster*. *Genes Dev* 20: 2985-2995, 2006.
 - 50) Van der krol AR, Mur LA, Beld M, Mol JNM, Stuitje AR.: Flavonoid genes in *petunia*: addition of a limited number of gene copies may lead to a suppression of gene expression. *Plant Cell* 2: 291-299, 1990.
 - 51) Vanitharani R, Chellappan P, Fauquet CM.: Gemiviruses and RNA silencing. *Trends Plant Sci* 10: 144-151, 2005.
 - 52) Vargason JM, Szittya G, Burgyan J, Hall TMT.: Size selective recognition of siRNA by an RNA silencing suppressor. *Cell* 115: 799-811, 2003.
 - 53) Vaucheret H.: Post-transcriptional small RNA pathways in plants: mechanisms and regulations. *Genes Dev* 20: 759-771, 2006.
 - 54) Voinnet O.: Induction and suppression of RNA silencing: Insights from viral infections. *Nat Rev Genet* 6: 206-220, 2005.
 - 55) Voinnet O, Lederer C, Baulcombe DC. A viral move-

- ment protein prevents spread of the gene silencing signal in *Nicotiana benthamiana*. *Cell* 103: 157-167, 2000.
- 56) Wang XH, Aliyari R, Li WX, Li HW, Kim K, Carthew R, Atkinson P, Ding SW.: RNA interference directs innate immunity against viruses in adult *Drosophila*. *Science* 312: 452-454, 2006.
- 57) Xie ZX, Johansen LK, Gustafson AM, Kasschau KD, Lellis AD, Zilberman D, Jacobsen SE, Carrington JC.: Genetic and functional diversification of small RNA pathways in plants. *PLoS Biol* 2: 642-652, 2004.
- 58) Zambon RA, Vakharia VN, Wu LP.: RNAi is an antiviral immune response against a dsRNA virus in *Drosophila melanogaster*. *Cell Microbiol.* 8: 880-889, 2006.
- 59) Zhang XR, Yuan YR, Pei Y, Lin SS, Tuschl T, Patel DJ, Chua NH.: Cucumber mosaic virus-encoded 2b suppressor inhibits Arabidopsis Argonaute1 cleavage activity to counter plant defense. *Genes Dev* 20: 3255-3268, 2006.

Viruses and RNA silencing

Akira MINE and Tetsuro OKUNO

Laboratory of Plant Pathology, Graduate School of Agriculture,
Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto, 606-8502, Japan

Small RNAs play a critical role in the regulation of gene expression in diverse cellular processes. This mechanism, termed RNA silencing or RNAi, also functions as a defense mechanism against molecular parasites such as virus and transposon. Whereas RNA silencing is triggered by viral infection, viruses suppress RNA silencing to establish infection, and sometimes even exploit it for their infection. In this mini review, we describe intimate interactions between viruses and host organisms in RNA silencing.