

5. 植物の究極の共生ウイルス：エンドルナウイルス

福原 敏行

東京農工大学大学院農学研究院

健全な（病徴のない）イネやピーマンなどの植物（作物）から約 15 kbp（千塩基対）の直鎖状 2 本鎖 RNA が頻繁に検出される。これらの 2 本鎖 RNA は、宿主植物のゲノム DNA からの転写物ではなく、巨大な単一のオープンリーディングフレーム (ORF) をコードし、プラス鎖に切れ目（ニック）を有するユニークな 2 本鎖 RNA ウイルスであることが塩基配列および分子系統解析により判明し、新たなウイルスとして Endornaviridae 科 Endornavirus 属に分類された。これらのエンドルナウイルスは、一般的な 1 本鎖 RNA ウイルスとは異なり、全ての組織で一定の低コピー数（細胞あたり約 100 コピー）で検出され、宿主に明確な病徴を与えない。また、日本晴品種などの栽培イネから検出されるエンドルナウイルスでは、花粉や卵から 95% 以上の高率で次世代に伝播する。すなわち、一般的なウイルスが爆発的に増殖し宿主に病気を引き起こし水平感染するのに対し、エンドルナウイルスは、宿主植物と共生関係を保ち、宿主に病徴を与えず、花粉や卵から効率よく次世代に垂直伝播する究極の共生ウイルスといえる。

1. はじめに

ウイルスが植物（作物）に感染すると、宿主植物には矮化、黄化、モザイクなどの様々な症状（病徴）が顕れる。農作物にウイルス感染が広がると、収穫量や品質に悪影響を及ぼし、農家にとって甚大な被害を及ぼす。したがって、農学においては、作物に対するウイルス感染防除を目指して植物病理学分野を中心に精力的に研究が展開されてきた。

しかしながら、市場に流通している農作物に既にウイルスが潜在感染していることは、ほとんど知られていない。例えば、コシヒカリや日本晴など、普段日本人が食べているお米には、宿主に病気を引き起こさない 2 本鎖 RNA ウイルスが潜在感染している。また、市場に流通しているピーマンやメロンの多くの品種にも 2 本鎖 RNA ウイルスが潜在感染している。これらの 2 本鎖 RNA ウイルスが感染し

た作物には、全く病徴が無く、ウイルスが感染した植物体（果実や種子）と感染していない植物体は外見からは全く区別がつかない。もちろんウイルスが感染した作物（食物）を食しても全く健康に問題はない。

本総説では、これら宿主植物（作物）に潜在感染して病徴を与えない共生ウイルスであるエンドルナウイルス (Endornavirus) について紹介する。特に、コシヒカリや日本晴などの日本型イネ品種に高頻度に見出され、最も詳細に研究されてきたイネエンドルナウイルス (*Oryza sativa endornavirus*) の分子構造や遺伝様式等を中心に紹介し、究極の共生ウイルス・エンドルナウイルスの生存戦略について、これまでの知見をまとめて紹介したい。

2. 健全な（病徴のない）植物から 検出される 2 本鎖 RNA

健全な（病徴のない）イネ、オオムギ、インゲンマメ、ピーマンなどの作物から約 15 kbp（千塩基対）の 2 本鎖の RNA が検出されることが、1980 年代から報告されていた¹⁻⁸⁾。これらの 2 本鎖 RNA は、宿主植物のゲノム DNA からの転写物ではなく、宿主細胞に一定量存在し、宿主植物に対して病気を引き起こさず（病徴を与えず）、細胞外感染経路が認められず種子による垂直伝播のみが認められるといった一般的な植物ウイルスとは異なる特徴を有していた（図 1）。このような理由から、これらの 2 本鎖 RNA は、発見当時は、プラスミド様 2 本鎖 RNA (plasmid-like

連絡先

〒 183-8509

東京都府中市幸町 3-5-8

東京農工大学大学院農学研究院

TEL: 042-367-5627

FAX: 042-367-5627

E-mail: fuku@cc.tuat.ac.jp

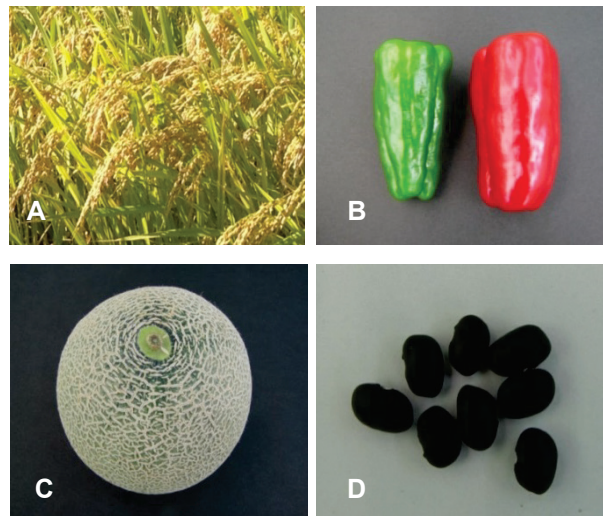


図1 エンドルナウイルスが潜在感染（共生）する宿主植物

A イネ（日本晴品種）、B ピーマン、C メロン、D インゲンマメ (BTS 品種) 全て病徴はない。A-C は市販のお米と野菜。

dsRNA)¹⁾、奇妙な2本鎖RNA (enigmatic dsRNA)^{4,9)}、内在性2本鎖RNA (endogenous dsRNA)¹⁰⁾ などと呼ばれていた。現在、分子生物学的解析技術が進歩し塩基配列情報が容易に得られるようになり、2本鎖RNAがコードするタンパク質のアミノ酸配列を用いた分子系統解析が行われた結果、これらの2本鎖RNAはウイルスに分類されている。これらの宿主植物に病徴を与えず潜在感染（共生）しているように思われる2本鎖RNAウイルスの研究は、農業上重要な病気を引き起こさないことから、宿主に病気を引き起こす通常のウイルスの研究に比べ非常に遅れていた。

3. 植物の究極の共生ウイルス： エンドルナウイルス

筆者らは、「コシヒカリ」「日本晴」など日本国内で広く栽培されているほとんどの日本型（ジャポニカ）イネ品種（*Oryza sativa* L.）に、約14 kbpの2本鎖RNAが存在することを1990年代に見出した⁴⁾。この2本鎖RNAは、日本在来栽培イネ品種だけでなく、フィリピンの国際イネ研究所（IRRI）で収集された熱帯ジャポニカイネの複数の品種、さらに栽培イネの祖先とされる野生イネ（*O. rufipogon*）の1系統（W-1714系統）からも検出された。しかしながら東南アジアなどで広く栽培されている「カサラス」「IR26」などのインディカ型イネ品種からは検出されなかった⁴⁾。この2本鎖RNAは、筆者が所属する大学の農場で栽培されている健全で病徴のない多くのイネ個体（日本晴品種、愛知旭品種等）から検出され、イネの芽生え、胚（ヌカ）、根、葉、花など全ての組織および発生段階で検出された⁴⁾。

筆者らは、日本晴品種において、2本鎖RNAが検出さ

れる個体と2本鎖RNAが検出されない個体を見出した¹¹⁾。これらの植物体は外観からは全く区別ができなかった。また、大学農場の圃場（水田）において、2本鎖RNAを保持する個体と保持しない個体が混在していた。これらのことは、2本鎖RNAがイネの表現型に全く影響を与えていないことを意味している。実際、2本鎖RNAが、宿主イネ植物体に対して何らかの影響を与え米の収穫量等に変化があればイネの栽培・育種の農業現場で選別・淘汰されていたと容易に想像される。しかしながら、イネ育種の専門家も日本型イネ品種における2本鎖RNAの有無に全く気付いていなかったことは、2本鎖RNAの有無が宿主イネ植物体に全く影響を及ぼしていないことを強く支持している。

海外のグループでも、1980年～2000年代にかけて、ソラマメ（*Vicia faba*）^{5,12-14)}、インゲンマメ（*Phaseolus vulgaris*）^{6,9,15)}、ピーマン（*Capsicum annuum*）^{7,16)}、オオムギ（*Hordeum vulgare*）^{8,17)}、メロン（*Cucumis melo*）^{18,19)}等の多様な作物から、約14-17 kbpの2本鎖RNAが検出されることが報告されていた。これら、2本鎖RNAが検出される宿主植物は、全く病徴はあらわさないが、唯一の例外として、2本鎖RNAが検出されるソラマメの447系統は、細胞質雄性不稔の形質を示し、この2本鎖RNAは雄性不稔の原因因子と考えられている^{5,12-14)}。

4. エンドルナウイルスの分子構造

これらの2本鎖RNAは、電子顕微鏡観察から直鎖状であること、シヨ糖密度勾配遠心等を用いた細胞分画法により細胞質に存在することが報告されている。さらに、これらの2本鎖RNAの実体、通常のRNAウイルスとの関係・進化的な位置などを探るため、これらの2本鎖RNAの塩

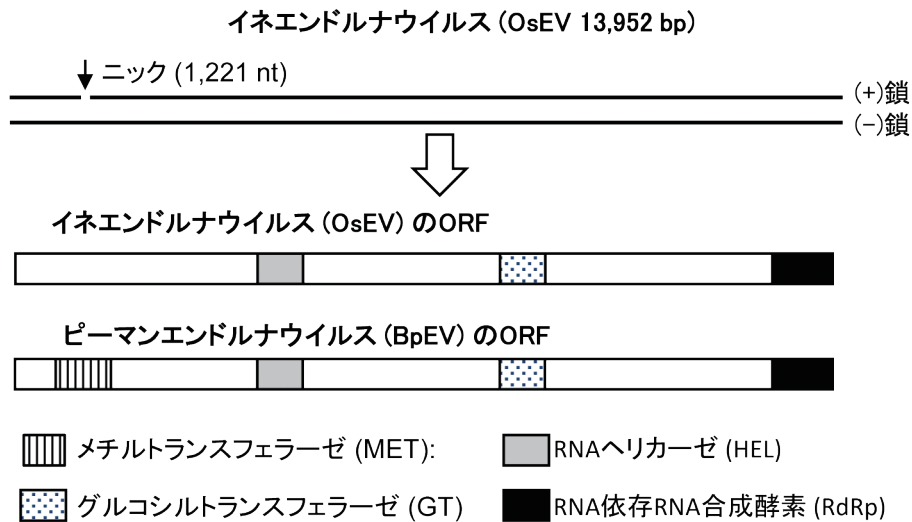


図2 エンドルナウイルスのゲノムおよび ORF の構造

表1 これまでに報告されているエンドルナウイルス

| | 宿主生物 | ウイルス名 | 略称 |
|-----------|--------------|---|---|
| 植物 | イネ | <i>Oryza sativa endornavirus</i> ²⁰⁾ | OsEV |
| | 野生イネ (W1714) | <i>Oryza rufipogon endornavirus</i> ¹⁰⁾ | OrEV |
| | ソラマメ (447) | <i>Vicia faba endornavirus</i> ²¹⁾ | VfEV |
| | インゲンマメ (BTS) | <i>Phaseolus vulgaris endornavirus</i> 1 ²²⁾ | PvEV1 |
| | インゲンマメ (BTS) | <i>Phaseolus vulgaris endornavirus</i> 2 ²²⁾ | PvEV2 |
| | ピーマン | <i>Bell pepper endornavirus</i> ²³⁾ | BpEV |
| | メロン | <i>Cucumis melo endornavirus</i> ¹⁸⁾ | CmEV |
| | ヒョウタン | <i>Lagenaria siceraria endornavirus</i> ⁴⁶⁾ | LsEV |
| | ツルムラサキ | <i>Basella alba endornavirus</i> ⁴⁷⁾ | BaEV |
| | アボカド | <i>Persea americana endornavirus</i> ⁴⁸⁾ | PaEV |
| | マテ (茶) | <i>Yerba mate endornavirus</i> ⁴⁹⁾ | YmEV |
| | 菌類 | 紫紋羽病菌 | <i>Helicobasidium mompa endornavirus</i> 1 ³²⁾ |
| トドマツ枝枯病菌 | | <i>Gremmeniella abietina</i> type B RNA virus XL ³³⁾ | GaBRV-XL |
| リゾクトニア属菌 | | <i>Rhizoctonia cerealis endornavirus</i> 1 ⁵⁰⁾ | RcEV1 |
| リゾクトニア属菌 | | <i>Rhizoctonia solani endornavirus</i> ³⁴⁾ | RsEV |
| 菌核病菌 | | <i>Sclerotinia sclerotiorum endornavirus</i> 1 ⁵¹⁾ | SsEV1 |
| 黒根病菌 | | <i>Chalara elegans endornavirus</i> 1 ⁵²⁾ | CeEV1 |
| アルテルナリア属菌 | | <i>Alternaria brassicola endornavirus</i> ⁵³⁾ | AbEV1 |
| トリュフ | | <i>Tuber aestivum endornavirus</i> ³⁵⁾ | TaEV |
| ブドウ内生菌 | | <i>Grapevine endophyte endornavirus</i> ³⁶⁾ | GEEV |
| 原生生物 | 疫病菌 | <i>Phytophthora endornavirus</i> 1 ³⁷⁾ | PEV1 |

基配列の解析が行われた。現在、栽培イネ (日本晴品種)²⁰⁾、野性イネ (W1714 系統)¹⁰⁾、ソラマメ (447 系統)²¹⁾、インゲンマメ (Black Turtle Soup (BST) 品種)²²⁾、ピーマン²³⁾ などから検出された 2 本鎖 RNA の全塩基配列が明らかにされている (表 1)。

いずれの 2 本鎖 RNA でも、片側の鎖 (プラス鎖) 全体にわたる巨大な 1 つのオープンリーディングフレーム (ORF) が見つかった。この ORF には、N 末端側にメチ

ルトランスフェラーゼ (MET)、中央付近に RNA ヘリカーゼ (Hel) とグルコシルトランスフェラーゼ (GT)、C 末端付近に RNA 依存 RNA 合成酵素 (RdRp) の保存モチーフが見つかった (図 2)。この巨大な ORF は、1 本鎖 RNA ウイルスのポチウイルス (potyvirus) 等がコードするタンパク質と同様、強大なタンパク質 (ポリプロテイン) をコードしており、ポリプロテインが翻訳後に自身がコードするタンパク質切断酵素により機能単位に切断されると推

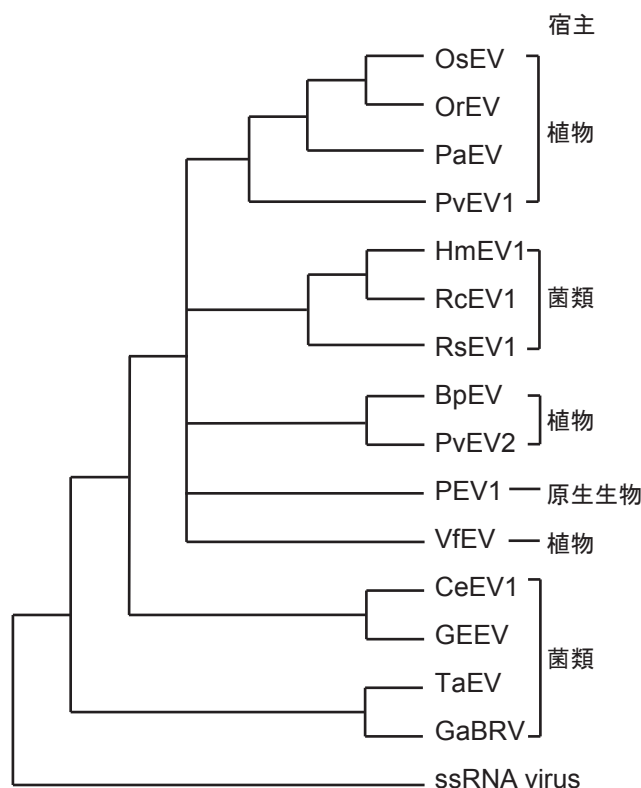


図3 種々のエンドルナウイルスの系統樹

Das らの論文³⁴⁾を改変. エンドルナウイルスの略称は表1を参照. ssRNA: 1本鎖RNA.

定された. しかしながら明瞭なタンパク質切断(分解)酵素のモチーフは見いだせていない. また, イネから検出される2本鎖RNAには, N末端側のMETのモチーフが見出せない.

これら2本鎖RNAがコードするORFのRdRp領域およびHel領域の塩基配列とアミノ酸配列を用い, 既報のRNAウイルスの配列と比較し分子系統解析を行った結果, これら2本鎖RNAは1つのクレードを形成し, トバモウイルス(タバコモザイクウイルス)やククモウイルス(キュウリモザイクウイルス)など多くの植物1本鎖RNAウイルスが含まれるアルファ様RNAウイルスのスーパーグループに分類されることが示された(図3)²⁴⁾. この分子系統解析の結果をふまえて, 筆者らは, これらの2本鎖RNAを, 新たなRNAウイルスの科(*Endornaviridae*), 属(*Endornavirus*)に分類することを提唱し, 国際ウイルス分類委員会(International Committee on Taxonomy of Viruses)に承認されている^{25,26)}. Endoは内在の意を表し, エンドルナウイルス(*Endornavirus*)は, 内在RNAウイルスという意味を表す. 現在では, 栽培イネから検出される2本鎖RNAはイネエンドルナウイルス(*Oryza sativa endornavirus*, OsEV), ピーマンから検出される2本鎖RNAはピーマンエンドルナウイルス(Bell

pepper endornavirus, BpEV)と命名されている.

他の植物RNAウイルスがコードするタンパク質との比較から, RdRpとHelは, ウイルスゲノムの複製, METは, ウイルスRNAの5'末端にCAP構造を付加するはたらきがあると推測された. また, 多くの既知の植物ウイルスに見られる外被タンパク質(CP), 移行タンパク質(MP), RNAサイレンシングサプレッサー(RSS)と相同性の高い領域は見出されていない. 図2より, エンドルナウイルスの巨大なORFには, 既知のタンパク質モチーフと相同性を示さない領域が広く残されており, 今後の解析により, タンパク質切断酵素等が明らかにされる可能性が残されている.

エンドルナウイルスの分子構造において, もう一つのユニークな特徴は, ゲノム2本鎖RNAのプラス(+)-鎖に部位特異的なニックが存在することである(図2)^{10,27)}. 例えば, イネエンドルナウイルスでは, (+)-鎖の5'末端から1,211塩基の位置にニックが存在する. このニックは, プラス鎖を分断するだけでなく巨大なORFをも分断しており, エンドルナウイルスの遺伝子発現や複製の調節機構としてはたらいっているのかもしれない. このような部位特異的なニックを持つRNAウイルスは報告がなく, エンドルナウイルスが, 一つのユニークなRNAウイルスのグルー

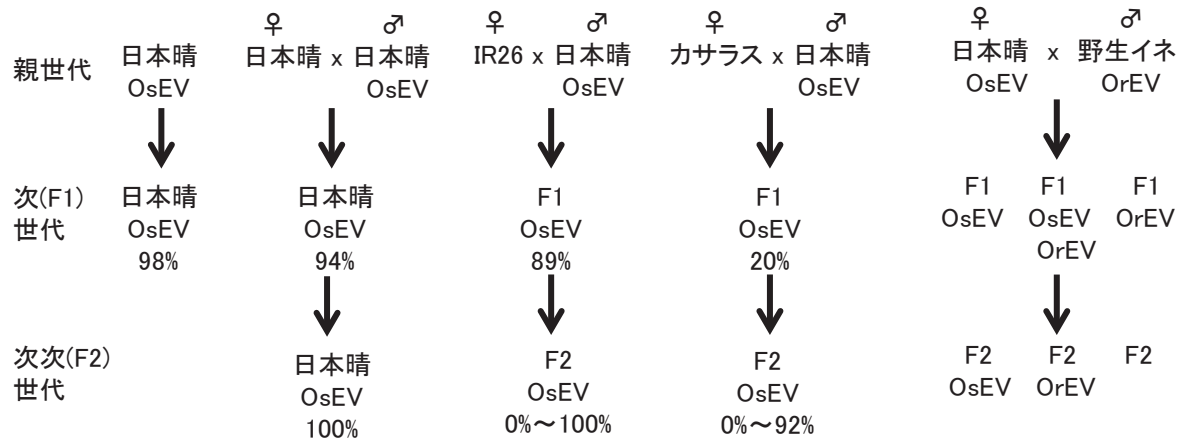


図4 イネエンドルナウイルス (OsEV) および野生イネエンドルナウイルス (OrEV) の遺伝様式

ブとして分類されうることを支持している。

5. 植物以外の生物に共生する エンドルナウイルス

カビやキノコなどの菌類から2本鎖RNAが検出されることは、1980年代から報告されていた^{28,29)}。2000年代になり、菌類には多様なウイルス(マイコウイルス)が高頻度に感染していることが明らかになってきた。さらに、菌類から検出される多くのウイルスが、2本鎖RNAをゲノムとし、細胞外感染経路を持たず、宿主細胞の増殖(分裂)に伴って増殖し、宿主菌の成長に影響を及ぼさないといった潜在感染性を示すことが報告されている^{30,31)}。菌類に見出される2本鎖RNAウイルスの多くが、現在、トチウイルス科(*Totiviridae*)、パルチチウイルス科(*Partitiviridae*)、クリソウイルス科(*Crysoviridae*)等に分類されている^{30,31)}。これらのウイルスは、1.5 kbp ~ 7 kbpの比較的低分子の2本鎖RNAをゲノムとし、30 ~ 40 nmの小球状のウイルス様粒子を伴っている。また、これらのウイルスは、植物や原生生物からも発見されるが、宿主植物は病徴を顕さず、潜在感染しているようである。しかしながら、これらのウイルスがウイルス様粒子を伴って検出されることから、エンドルナウイルスより細胞外感染経路を有するウイルスに近いと思われる。

2006年、日本のグループが、紫紋羽病菌(*Helicobasidium mompa*)から菌類ではじめてエンドルナウイルス(*Helicobasidium mompa endornavirus 1*, HmEV1)を発見し全塩基配列を報告した³²⁾。その後、トドマツ枝枯病菌(*Gremmeniella abietina*)³³⁾、リゾクトニア属菌(*Rhizoctonia solani*)³⁴⁾など種々の植物病原菌(菌類)からエンドルナウイルスが発見・報告されている(表1)。また、キノコ(トリュフ *Tuber aestivum*)³⁵⁾やブドウの内生菌³⁶⁾など植物病原菌以外の菌類からもエンドルナウイルスが報告されて

いる。最近、次世代シーケンサの利用などから容易に大量の塩基配列情報を得ることが可能になり、菌類からのエンドルナウイルスの報告例が増加している(表1)

疫病菌(*Phytophthora*)は、ジャガイモなどに重大な被害をもたらす植物病原菌である。かつては菌類とみなされていたが、現在では原生生物界の卵菌綱に分類されている。この疫病菌からもエンドルナウイルスが見つかり、*Phytophthora endornavirus 1* (PEV1)と命名されている³⁷⁾。これら植物以外の生物に感染するエンドルナウイルスも、ムラサキ紋羽病菌より見出されたHmEV1-670が宿主菌の生育を阻害する例³²⁾以外は、目立った影響を宿主菌に及ぼす例は報告されていない。

さらに、近年、モデル生物以外の多様な生物のゲノム塩基配列情報や網羅的な転写物(RNA)の塩基配列情報が、蓄積しつつある。多様な生物の膨大なRNA配列情報のin silico解析から、海水魚に寄生する節足動物(ウオジラミ, sea lice, *Caligus rogercresseyi*)から、エンドルナウイルス様の配列が見つかり、動物にもエンドルナウイルスが共生・潜在感染している可能性が示唆されている³⁸⁾。

6. イネエンドルナウイルス (OsEV) の遺伝様式

筆者らは、イネエンドルナウイルス(OsEV)が種々の日本型イネ品種に高頻度に検出される原因を探るため、OsEVの種子伝播(垂直伝播)率を調査した¹¹⁾。日本晴品種の場合、自家受粉した種子には98%(107個体/109個体)の高頻度でOsEVが伝播した(図4)。また、OsEV感染と非感染の日本晴品種植物を用いて人工交配実験を行い、卵および花粉から次世代へのOsEVの伝播率を調査した。OsEV非感染(♀) x OsEV感染(♂)の組み合わせの交配において、94%(58個体/62個体)の高効率でOsEVは次世代に伝播した(図4)¹¹⁾。ミトコンドリアや

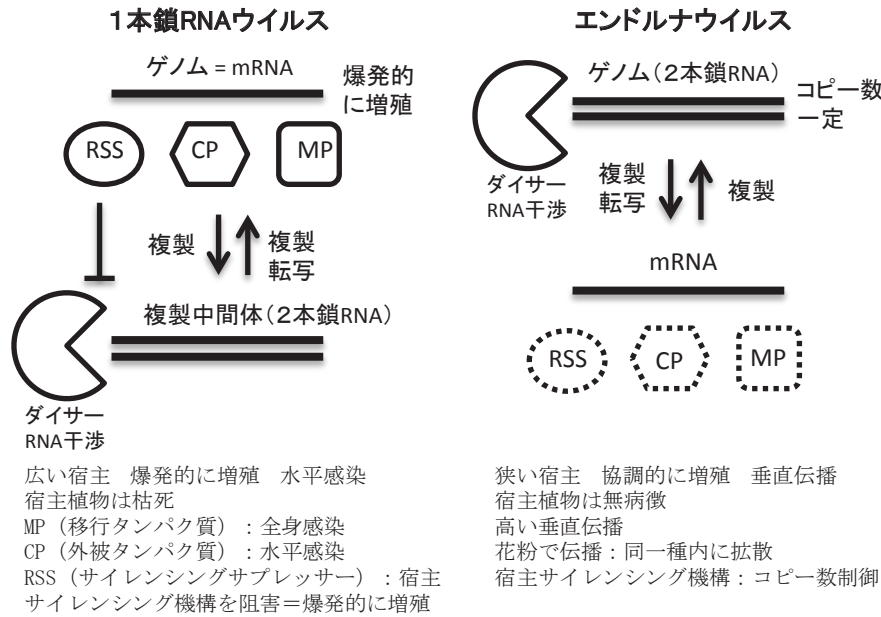


図5 1本鎖RNAウイルスとエンドルナウイルスの生存戦略(ライフサイクル)

葉緑体などの細胞小器官でさえ父系遺伝(花粉親からの伝播)しないとされていることから、細胞質に存在すると考えられるエンドルナウイルスの花粉親からの高い伝播率は非常に特徴的で興味深い。一般的な多くの植物ウイルスは、生長点や種子に侵入しないと報告されていることから、ウイルスの種子伝播率を調査した報告も多くない。このような高い種子伝播率、特に花粉親から次世代への高い伝播率のため、エンドルナウイルスが多くの日本型イネ品種に栽培イネの育種の過程で広がったと推測された。

さらに、インディカ型イネ品種からエンドルナウイルスが検出されない原因を探るために、OsEVが感染していないインディカ型イネ2品種(IR26, カサラス)とOsEVに感染している日本晴品種を用いて、交配をおこない、OsEVの次世代への伝播率を調査した(図4)³⁹⁾。IR26と日本晴との交配では、花粉親の日本晴から次(F1)世代へ89%の高効率でOsEVが伝播した。しかし、カサラスと日本晴との交配では、花粉親から次(F1)世代へのOsEV伝播は20%であった。また、その後のF2世代の解析でもOsEVが伝播しない株が多く観察された。IR26はカサラスよりも日本型に近い形態であることなども考慮して考察すると、インディカ型イネには、OsEVの複製・増殖を助ける宿主因子が欠損している、もしくはOsEVの複製・増殖を妨げる宿主因子が存在するなどの原因によりエンドルナウイルスが潜在感染できないということが推測された。

7. イネエンドルナウイルスのコピー数制御

イネエンドルナウイルス(OsEV)は、イネの芽生え、胚(ヌカ)、根、葉、花など全ての組織および発生段階で検出された¹¹⁾。また、イネの核ゲノムDNA(半数体当たり約430Mbp)との含量比較から、ほとんどの組織・発生段階で、細胞当たり約100コピー存在すると見積もられ、宿主細胞による厳密なコピー数制御機構の存在が示唆された。また、このコピー数制御機構により宿主に病徴が顕れないと推測された。しかしながら、イネの場合、種子胚から誘導した培養細胞(カルス)および花粉で、OsEVのコピー数が10倍もしくはそれ以上に増加した^{10,11)}。この花粉でのコピー数増加の原因や生物学的意味は、未だ不明であるが、OsEVが細胞質に局在するにもかかわらず94%の高率で花粉から次世代に伝播されることと関係があるかもしれない。細胞外感染経路を持たない可能性が高いOsEVは、体細胞ではコピー数を低く保ち宿主植物が生存に不利なることを回避しながら、生殖細胞(花粉)でコピー数を増加し種子伝播の効率を高めるような戦略を取っているのかもしれない。

前章で述べたエンドルナウイルスが花粉から効率よく次世代に伝播する性質を利用して、OsEVが潜在感染する日本晴品種イネとOryza rufipogon endornavirus(OrEV)が潜在感染する野生イネW-1714系統を交配し、進化的に近縁な2種類のエンドルナウイルスが次(F1)世代のイネ植物体で共存しうるか検討した⁴⁰⁾。複数のF1個体で、

2種類のエンドルナウイルスが共存（共感染）した。また、共存している OsEV と OrEV のコピー数は、合計で 100 コピー、それぞれが単独で潜在感染する個体と同じコピー数であった。さらに OsEV と OrEV が共存した F1 個体の次（F2）世代への伝播を調査したところ、F2 世代では、エンドルナウイルスが共存（共感染）した個体はなく、OsEV か OrEV いずれかを感染する個体のみになった（図 4）⁴⁰。これは、進化的に近縁な OrEV と OsEV が同一細胞内では同一のコピー数制御機構（同一の宿主因子）により制御されていること、進化的に近縁なエンドルナウイルスは、共存（共感染）できないことを示している。この現象は、大腸菌において進化的に近縁なプラスミドが共存できない現象（incompatibility）⁴¹ と類似の現象であり、エンドルナウイルスがプラスミド様の性質、言い換えると宿主と共生するウイルスであることの証拠の一つである。

一方、インゲンマメの Black Turtle Soup (BST) 品種には、古くから 2 種類の高分子 2 本鎖 RNA が存在することが報告されており、塩基配列解析の結果、進化的に離れた 2 種類のエンドルナウイルス（Phaseolus vulgaris endornavirus1 & 2, 図 3）が安定に共存（共感染）していた²²。進化的に離れた 2 種類のエンドルナウイルスは、それぞれが異なった宿主因子により複製・増殖していると考えられ、何世代にもわたって安定に共存（共感染）・垂直伝播しているようである⁴²。

8. エンドルナウイルスの生存戦略 (RNA 干渉機構との関係)

2 本鎖 RNA を細胞に導入すると、導入した 2 本鎖 RNA の塩基配列と相同な配列を有する mRNA の切断が誘導され、遺伝子発現を特異的に抑制することができる。この現象を RNA 干渉（RNA サイレンシング）とよび、真核生物に広く保存された遺伝子発現調節機構である。さらに、抗体を持たない植物や昆虫・菌類などにおいては、RNA 干渉機構は、ウイルス感染に対する宿主の主要な防御機構として機能する⁴³。

植物に感染するウイルスの多くは 1 本鎖 RNA ウイルスであるが、1 本鎖 RNA ウイルスであっても、複製時には必ず一過的に 2 本鎖 RNA の状態（複製中間体）を経由することから、宿主細胞の RNA 干渉（RNA サイレンシング）機構の標的となると考えられている（図 5）⁴³。したがって、多くの植物 1 本鎖 RNA ウイルスは、宿主のウイルス防御機構から逃れるために RNA サイレンシングサプレッサー（RSS）⁴⁴ をコードし、RSS により宿主植物のウイルス防御機構から逃れ爆発的なスピードで複製（増殖）し、移行タンパク質（MP）により宿主植物体全身に広がり、やがて宿主を死に至らしめると共に外被タンパク質（CP）により他の植物に水平感染するという生存戦略（ライフサイクル）をとっていると考えられる（図 5）。

一方、2 本鎖 RNA をゲノムにもつエンドルナウイルスに対しては宿主細胞のウイルス防御（RNA サイレンシング）機構が効率的にはたらいっていると考えることができる（図 5）。宿主植物は、ウイルス防御（RNA サイレンシング）機構を用いて細胞内のウイルスの増殖を制御する。そのウイルス防御（RNA サイレンシング）機構にうまく適応（利用）し低コピー数を保って宿主と協調して複製するのがエンドルナウイルスで、通常の（1 本鎖）RNA ウイルスは、その機構に対して自身が持つ RSS により宿主の防御機構から逃れて宿主細胞（植物）が死ぬまで爆発的に増殖するのかもしれない。

筆者らは、RNA 干渉（RNA サイレンシング）機構とエンドルナウイルスの関係を調べるために、RNA 干渉機構に必須なダイサー（DCL）や RNA 依存 RNA 合成酵素（RDR）遺伝子をノックダウンしたイネでの OsEV のコピー数や種子伝播率を調査した⁴⁵。その結果、ダイサー（OsDCL2）遺伝子をノックダウンしたイネでは、OsEV のコピー数が減少し、種子伝播率が下がった。このことから、RNA 干渉にはたらくダイサー（OsDCL2）が、エンドルナウイルスの複製・増殖に関係することが示唆された。一般的には、RNA 干渉は、宿主植物のウイルス防御機構と考えられているが、エンドルナウイルスのような宿主と共生関係を保っているようなウイルスでは、RNA 干渉を利用してコピー数を一定に保ちつつ効率よく宿主細胞に伴って増殖しているのかもしれない。

2 本鎖 RNA 分子がトリガーとなる RNA 干渉（RNA サイレンシング）現象が、動物、植物、菌類、原生生物と真核生物全体に普遍的に存在することと、エンドルナウイルスをはじめとする潜在感染（共生）的な生活環をとる 2 本鎖 RNA ウイルスがそれら 4 生物界に普遍的に存在することの関連があるのかもしれない。

9. エンドルナウイルスの起源と進化

エンドルナウイルスの複製酵素（RdRp）を用いた分子進化系統解析から、エンドルナウイルスは、タバコモザイクウイルスなど多くの植物 1 本鎖 RNA ウイルスが属するアルファ様ウイルスのスーパーグループと進化的起源は同じであった²⁴。1 本鎖 RNA ウイルスと 2 本鎖 RNA（エンドルナ）ウイルスの生活環を比較すると、どちらも 1 本鎖（プラス鎖）RNA の状態と 2 本鎖 RNA の状態を繰り返している（図 5）。1 本鎖 RNA ウイルス場合、1 本鎖 RNA（プラス鎖）の状態が長い複製時には一過的に 2 本鎖 RNA（複製中間体）の状態を経由する。逆に、2 本鎖 RNA（エンドルナ）ウイルスの場合は、2 本鎖 RNA の状態が長い、一過的に 1 本鎖 RNA（プラス鎖）の状態を経るに違いない。

宿主植物との関係を考えると、1 本鎖 RNA ウイルスのように、時には宿主植物を死に至らしめ、水平感染する生

存戦略の方がリスクが大きく、宿主と安定な共生関係を築き垂直伝播により効率よく次世代の宿主植物に伝わるエンドルナウイルスの生存戦略の方が優れているように思われる。そのような観点からは、宿主植物に病気を引き起こす1本鎖RNAウイルスは、エンドルナウイルスのような宿主に潜在感染（共生）する2本鎖RNAウイルスの中から宿主との共生関係が壊れた（増殖速度が向上した）変異体として出現したのかもしれない。

参考文献

- 1) Brown GG, Finnegan PM.: RNA plasmids. *Int. Rev. Cytol.* 117:1-56, 1989.
- 2) Boccardo G, Lisa V, Luisini E, Milne RG.: Cryptic plant viruses. *Adv. Virus Res.* 32:171-214, 1987.
- 3) Dodds JA, Morris TJ, Jordan RL.: Plant viral double-stranded RNA. *Annu. Rev. Phytopathol.* 22: 151-168, 1984.
- 4) Fukuhara T, Moriyama H, Pak JK, Hyakutake T, Nitta T.: Enigmatic double-stranded RNA in Japonica rice. *Plant Mol. Biol.* 21:1121-1130, 1993.
- 5) Grill LK, Garger SJ.: Identification and characterization of double-stranded RNA associated with cytoplasmic male sterility in *Vicia faba*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:7043-7046, 1981.
- 6) Wakarchuk DA, Hamilton RI.: Cellular double-stranded RNA in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Mol. Biol.* 5:55-63, 1985.
- 7) Valverde RA, Nameth S, Abdallah O, Al-Musa O, Desjardins P, Dodds JA.: Indigenous double-stranded RNA from pepper (*Capsicum annuum*). *Plant Sci.* 67:195-201, 1990.
- 8) Zabalgogezcoa IA, Gildow FE.: Double-stranded ribonucleic acid in 'Barsoy' barley. *Plant Sci.* 83: 187-194, 1992.
- 9) Wakarchuk DA, Hamilton RI.: Partial nucleotide sequence from enigmatic dsRNAs in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Mol. Biol.* 14, 637-639, 1990.
- 10) Moriyama H, Horiuchi H, Koga R, Fukuhara T.: Molecular characterization of two endogenous double-stranded RNAs in rice and their inheritance by interspecific hybrids. *J Biol. Chem.* 274:6882-6888, 1999.
- 11) Moriyama H, Kanaya K, Wang JZ, Nitta T, Fukuhara T.: Stringently and developmentally regulated levels of a cytoplasmic double-stranded RNA and its high-efficiency transmission via egg and pollen in rice. *Plant Mol. Biol.* 31:713-719, 1996.
- 12) Turpen T, Garger SJ, Grill LK.: On the mechanism of cytoplasmic male sterility in the 447 line of *Vicia faba*. *Plant Mol. Biol.* 10:489-497, 1988.
- 13) Lefebvre A, Scalla R, Pfeiffer P.: The double-stranded RNA associated with the '447' cytoplasmic male sterility in *Vicia faba* is packaged together with its replicase in cytoplasmic membranous vesicles. *Plant Mol. Biol.* 14:477-490, 1990.
- 14) Pfeiffer P, Jung JL, Heitzler J, Keith G.: Unusual structure of the double-stranded RNA associated with the '447' cytoplasmic male sterility in *Vicia faba*. *J. Gen. Virol.* 74:1167-1173, 1993.
- 15) Mackenzie SA, Pring DR, Bassett MJ.: Large double-stranded RNA molecules in *Phaseolus vulgaris* L. are not associated with cytoplasmic male sterility. *Theor. Appl. Genet.* 76:59-63, 1988.
- 16) Valverde RA, Fontenot JF.: Variation in double-stranded ribonucleic acid among pepper cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116:903-905, 1991.
- 17) Zabalgogezcoa IA, Cox-Fostre DC, Gildow FE.: Pedigree analysis of the transmission of a double-stranded RNA in barley cultivars. *Plant Sci.* 91:45-53, 1993.
- 18) Coutts RHA.: First report of an endornavirus in the *Cucurbitaceae*. *Virus Genes* 31:361-362, 2005.
- 19) Fukuhara T, Koga R, Aoki N, Yuki C, Yamamoto N, Oyama N, Udagawa T, Horiuchi H, Miyazaki S, Higashi Y, Takeshita M, Ikeda K, Arakawa M, Matsu-moto N, Moriyama H.: The wide distribution of endornaviruses, large double-stranded RNA replicons with plasmid-like properties. *Arch. Virol.* 151:995-1002, 2006.
- 20) Moriyama H, Nitta T, Fukuhara T.: Double-stranded RNA in rice: a novel RNA replicon in plants. *Mol. Gen. Genet.* 248:364-369, 1995.
- 21) Pfeiffer P.: Nucleotide sequence, genetic organization and expression strategy of the double-stranded RNA associated with the '447' cytoplasmic male sterility in *Vicia faba*. *J. Gen. Virol.* 79:2349-2358, 1998.
- 22) Okada R, Yong CK, Valverde RA, Sabanadzovic S, Aoki N, Hotate S, Kiyota E, Moriyama H, Fukuhara T. Molecular characterization of two evolutionally distinct endornaviruses co-infecting common bean (*Phaseolus vulgaris*). *J. Gen. Virol.* 94:2191-2199, 2013.
- 23) Okada R, Kiyota E, Sabanadzovic S, Moriyama H, Fukuhara T, Saha P, Roossinck MJ, Severin A, Valverde RA.: Bell pepper endornavirus: molecular and biological properties and occurrence in the genus *Capsicum*. *J. Gen. Virol.* 92:2664-2673, 2011.
- 24) Gibbs MJ, Koga K, Moriyama H, Pfeiffer P, Fukuhara T.: Phylogenetic analysis of some large double-stranded RNA replicons from plants suggests they evolved from a defective single-stranded RNA virus. *J. Gen. Virol.* 81:227-233, 2000.
- 25) Fukuhara T, Moriyama H.: Endornaviruses. In "Encyclopedia of Virology", 3rd ed. Mahy BWJ, van Regenmortel MHV, ed. Elsevier, Oxford, pp.109-116, 2008.
- 26) Fukuhara T, Gibbs MJ.: Family *Endornaviridae*. In "Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses". King AMQ, ed. Elsevier, pp.519-521, 2012.
- 27) Fukuhara T, Moriyama H, Nitta T.: The unusual structure of a novel RNA replicon in rice. *J. Biol. Chem.* 270:18147-18149, 1995.
- 28) Nuss DL, Koltin Y.: Significance of dsRNA genetic elements in plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28:37-58, 1990.
- 29) Ghabrial SA.: New developments in fungal virology. *Adv. Virus Res.* 43:303-388, 1994.
- 30) Ghabrial SA, Suzuki N.: Viruses of plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47:353-384, 2009.

- 31) Ghabrial SA, Castón JR, Jiang D, Nibert ML, Suzuki N.: 50-plus years of fungal viruses. *Virology* 479-480: 356-368, 2015.
- 32) Osaki H, Nakamura H, Sasaki A, Matsumoto N, Yoshida K.: An endornavirus from a hypovirulent strain of the violet root rot fungus, *Helicobasidium mompa*. *Virus Res.* 118:143-149, 2006.
- 33) Tuomivirta TT, Kaitera J, Hantula J.: A novel putative virus of *Gremmeniella abietina* type B (Ascomycota: Helotiaceae) has a composite genome with endornavirus affinities. *J. Gen. Virol.* 90:2299-2305, 2009.
- 34) Das S, Falloon RE, Stewart A, Pitman R.: Molecular characterization of an endornavirus from *Rhizoctonia solani* AG-3PT infecting potato. *Fungal Biol.* 118:924-934, 2014.
- 35) Stielow B, Klenk HP, Menzel W.: Complete genome sequence of the first endornavirus from the ascocarp of the ectomycorrhizal fungus *Tuber aestivum* Vittad. *Arch. Virol.* 156:343-345, 2011.
- 36) Espach Y, Maree HJ, Burger JT.: Complete genome of a novel endornavirus assembled from next-generation sequence data. *J. Virol.* 86:13142, 2012.
- 37) Hacker CV, Brasier CM, Buck KW.: A double-stranded RNA from a *Phytophthora* species is related to the plant endornaviruses and contains a putative UDP glycosyltransferase gene. *J. Gen. Virol.* 86:1561-1570, 2005.
- 38) Liu H, Fu Y, Xie J, Cheng J, Ghabrial SA, Li G, Yi X, Jiang D.: Discovery of novel dsRNA viral sequences by *in silico* cloning and implications for viral diversity, host range and evolution. *PLoS One* 7:e42147, 2012.
- 39) Horiuchi H, Moriyama H, Fukuhara T.: Inheritance of *Oryza sativa* endornavirus in F1 and F2 hybrids between japonica and indica rice. *Genes Genet. Syst.* 78:229-234, 2003.
- 40) Moriyama H, Horiuchi H, Nitta T, Fukuhara T.: Unusual inheritance of evolutionarily-related double-stranded RNAs in interspecific hybrid between rice plants *Oryza sativa* and *Oryza rufipogon*. *Plant Mol. Biol.* 39:1127-1136, 1999.
- 41) Tomizawa J, Itoh T.: Plasmid ColE1 incompatibility determined by interaction of RNA I with primer transcript. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:6096-6100, 1980.
- 42) Khankhum S, Valverde RA, Pastor-Corrales MA, Osorno JM, Sabanadzovic S.: Two endornaviruses show differential infection patterns between gene pools of *Phaseolus vulgaris*. *Arch. Virol.* 160:1131-1137, 2015.
- 43) Baulcombe D.: RNA silencing in plants. *Nature* 431:356-363, 2004.
- 44) Csorba T, Kontra L, Burgyán J.: Viral silencing suppressors: Tools forged to fine-tune host-pathogen coexistence. *Virology* 479-480:85-103, 2015.
- 45) Urayama S, Moriyama H, Aoki N, Nakazawa Y, Okada R, Kiyota E, Miki D, Shimamoto K, Fukuhara T.: Knock-down of *OsDCL2* in rice negatively affects maintenance of the endogenous dsRNA virus, *Oryza sativa* endornavirus. *Plant Cell Physiol.* 51:58-67, 2010.
- 46) Kwon S-J, Tan S, Vidalakis G.: Complete genome sequence and genome organization of an endornavirus from bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) in California, U.S.A. *Virus Genes* 49:163-168, 2014.
- 47) Okada R, Kiyota E, Moriyama H, Fukuhara T, Valverde RA.: A new endornavirus species infecting Malabar spinach (*Basella alba* L.). *Arch. Virol.* 159:807-9, 2014.
- 48) Villanueva F, Sabanadzovic S, Valverde RA, Navas-Castillo J.: Complete genome sequence of a double-stranded RNA virus from avocado. *J. Virol.* 86:1282-1283, 2012.
- 49) Debat HJ, Grabiale M, Aguilera PM, Bubillo R, Zapata PD, Marti DA, Ducasse DA.: The complete genome of a putative endornavirus identified in yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Virus Genes* 49:348-350, 2014.
- 50) Li W, Zhang T, Sun H, Deng Y, Zhang A, Chen H, Wang K.: Complete genome sequence of a novel endornavirus in the wheat sharp eyespot pathogen *Rhizoctonia cerealis*. *Arch. Virol.* 159:1213-1216, 2014.
- 51) Khalifa ME, Pearson MN.: Molecular characterization of an endornavirus infecting the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. *Virus Res.* 189:303-309, 2014.
- 52) Chen X, Punja ZK.: Characterization of a novel dsRNA endornavirus in the plant pathogenic fungus *Thielaviopsis basicola*. *Mycology* 5:10-15, 2014.
- 53) Shang HH, Zhong J, Zhang RJ, Chen CY, Gao BD, Zhu HJ.: Genome sequence of a novel endornavirus from the phytopathogenic fungus *Alternaria brassicicola*. *Arch. Virol.* 160:1827-1830, 2015.

Unique symbiotic viruses in plants: Endornaviruses

Toshiyuki Fukuhara

Department of Applied Biological Sciences, Tokyo University of Agriculture and Technology

Linear double-stranded RNAs (dsRNAs) of about 15 kbp in length are often found from healthy plants, such as bell pepper and rice plants. Nucleotide sequencing and phylogenetic analyses reveal that these dsRNAs are not transcribed from host genomic DNAs, encode a single long open reading frame (ORF) with a viral RNA-dependent RNA polymerase domain, and contain a site-specific nick in the 5' region of their coding strands. Consequently the International Committee on Taxonomy of Viruses has approved that these dsRNAs are viruses forming a distinct taxon, the family *Endornaviridae* the genus *Endornavirus*. Endornaviruses have common properties that differ from those of conventional viruses: they have no obvious effect on the phenotype of their host plants, and they are efficiently transmitted to the next generation via both pollen and ova, but their horizontal transfer to other plants has never been proven. Conventional single-stranded RNA viruses, such as cucumber mosaic virus, propagate hugely and systemically in host plants to sometime kill their hosts eventually and transmit horizontally (infect to other plants). In contrast, copy numbers of endornaviruses are low and constant (about 100 copies/cell), and they symbiotically propagate with host plants and transmit vertically. Therefore, endornaviruses are unique plant viruses with symbiotic properties.