

2. 植物のウイルス抵抗性遺伝子

石橋 和 大・石川 雅 之

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門
植物・微生物機能利用研究領域 植物微生物機能ユニット

植物はウイルスに対する多重の防御機構を備えており、ウイルスが植物にとって生存上の脅威であったことが推察できる。農作物の栽培では遺伝的に均質な植物の集団を密植するため、ウイルス病は壊滅的な被害をもたらす場合がある。一方、作物の近縁野生種等の遺伝的多様性に富んだ集団からは、一遺伝子でウイルス抵抗性を付与する「ウイルス抵抗性遺伝子」が見つかることがあり、これらの抵抗性遺伝子は耐病性農作物品種の育種に利用されてきた。これまでに20以上のウイルス抵抗性遺伝子がクローニングされたが、その半数以上が類似の一次構造を有しており、植物の自然免疫機構における受容体として働くことが示唆されている。一方、近年これとは異なる配列をもつ抵抗性遺伝子が相次いで同定されている。これらの遺伝子は配列も機能も多様であり、各植物種が比較的最近独自に獲得したものと考えられる。本稿では、これらの植物ウイルス抵抗性遺伝子が担う抗ウイルス防御機構の多様性について話題提供したい。

はじめに

1898年のBeijerinckによるタバコモザイクウイルスの発見を皮切りに、多くの植物ウイルスが農作物に被害を及ぼす病原体として同定された。生育不良や枯死を引き起こすウイルスの感染は植物の生存に不利に働くため、植物は幾重にもわたるウイルス防御機構を進化させてきた。RNAサイレンシングは植物のウイルス防御に重要な役割を果たす基礎的な防御機構であるが、その重要性を裏付けるように、ほとんどの植物ウイルスはRNAサイレンシングを抑制する機能を獲得している^{1,2)}。また、作物の近縁野生種等にはウイルス感染を許容しない個体が見つかることがあり、ウイルス抵抗性を支配する原因遺伝子は抵抗性

遺伝子と総称される。様々な植物において様々なウイルスに対する抵抗性遺伝子が発見されており、多くの抵抗性遺伝子が育種によって農作物に導入されて、ウイルス防除に貢献している。ウイルス抵抗性遺伝子は、優性（顕性）に遺伝するものと劣性（潜性）に遺伝するものに分けられ、優性ウイルス抵抗性遺伝子の多くは類似の一次構造（ヌクレオチド結合部位・ロイシンリッチ反復配列：NB-LRR）を有するタンパク質をコードしている（表1）。NB-LRR型抵抗性遺伝子は全ての植物種に見つかることから、進化的に起源が古い抵抗性機構と考えられる。一方、近年NB-LRRとは異なるタイプの抵抗性遺伝子の報告が相次いでいるが、これらは多様であり、植物が比較的最近獲得したものと考えられる。本稿では、これらの優性ウイルス抵抗性遺伝子による植物の多様な防御機構について紹介する。なお、劣性抵抗性遺伝子は、翻訳開始因子など、ウイルスが増殖に利用している宿主因子の変異型をコードするが、紙面の都合上本稿では割愛させていただくので他の総説を参照されたい^{3,4)}。

連絡先

〒305-8602
茨城県つくば市観音台2-1-2
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門
植物・微生物機能利用研究領域 植物微生物機能ユニット
TEL: 029-838-7009
FAX: 029-838-7009
E-mail: bashi@affrc.go.jp

1. NB-LRR 型抵抗性遺伝子

最初に同定された植物のウイルス抵抗性遺伝子は、タバコ (*Nicotiana tabacum*) の近縁野生種 *N. glutinosa* に由来するタバコモザイクウイルス (TMV; genus *Tobamovirus*, family *Virgaviridae*) 抵抗性遺伝子 *N* である。N タンパク

質はアミノ末端側にシヨウジョウバエの Toll および哺乳動物の interleukin-1 受容体と配列相同性をもつ領域 (TIR) および NB-LRR 配列を有していた (TIR-NB-LRR)⁵⁾。その後、NB-LRR 型遺伝子はシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) のゲノムに約 200 個存在し、ウイルスだけでなくカビや線虫も含む様々な病原体に対する抵抗性遺伝子として働いていることが報告された⁶⁾。興味深いことに、植物の NB-LRR タンパク質と動物の nucleotide-binding oligomerization domain (Nod)-like receptor は一次構造もその働きも類似しているにもかかわらず、それぞれ独立に進化したことが示唆されている⁷⁾。

NB-LRR タンパク質は、細胞内で病原体を認識する受容体として働き、植物の防御機構を活性化することにより病原体の増殖を抑制すると考えられるが、詳細については未だ不明な点が多い。大まかには、NB-LRR タンパク質による病原体感染の認識、MAP キナーゼカスケードなどによる情報伝達、防御関連遺伝子の発現誘導を伴う防御反応の活性化などを介して病原体の増殖を抑制している⁸⁾。防御反応の誘導と全身への伝達にはサリチル酸などの植物ホルモンの産生が大きく関わっている。NB-LRR タンパク質による病原体の認識機構については、直接の相互作用を介するものと、間接的に病原体が引き起こした宿主細胞内の変化を検出するものが報告されており、一様ではない可能性がある⁹⁾。また、「防御反応」の実体についても明確ではなく、防御反応が活性化した植物細胞においてウイルスが増殖できなくなるしくみも不明である。N をはじめ多くの NB-LRR 型抵抗性遺伝子は、最初に感染した細胞におけるウイルスの複製は阻害せず、細胞間移行によって感染域が数細胞まで広がった後に拡大を停止させる。一方、ジャガイモ (*Solanum tuberosum*) のジャガイモ X ウイルス (PVX; genus *Potexvirus*, family *Alphaflexiviridae*) 抵抗性遺伝子 *Rx* は、プロトプラストにおけるウイルスの複製を抑制する¹⁰⁾。シロイヌナズナのキュウリモザイクウイルス (CMV; genus *Cucumovirus*, family *Bromoviridae*) 抵抗性遺伝子 *RCY1* は通常 CMV の増殖を数回の細胞間移行の後に停止させるが、*RCY1* を過剰発現する植物では発現量と相関してウイルス感染域の縮小が観察され、全くウイルスの増殖が検出できない個体もあった¹¹⁾。したがって NB-LRR タンパク質によるウイルス抵抗性における表現型の多様性は質的なものではなく、ウイルス感染がいつ認識され防御反応がどの段階で誘導されるかの違いによるものと考えられる。

2. 複製を阻害する抵抗性遺伝子: *Tm-1*, *JAX1*, *Scmv1*

Tm-1 はトマト (*Solanum lycopersicum*) のトマトモザイクウイルス (ToMV; genus *Tobamovirus*, family *Virgaviridae*) 抵抗性遺伝子で、野生種 *S. habrochaites* に由来する。筆者らは、*Tm-1* トマト細胞の抽出液より試験管内で ToMV

の複製を阻害するタンパク質を精製し、これが *Tm-1* 遺伝子産物であることを明らかにした¹²⁾。*Tm-1* と配列相同性を有する遺伝子は、植物のみならず細菌や古細菌にも保存されていたが、いずれも機能解析が行われておらず、アミノ酸配列からは機能に関する情報は得られなかった。その後の解析により、*Tm-1* タンパク質は ToMV の複製タンパク質と結合し、ウイルスゲノムの複製を阻害することがわかった。*Tm-1* は二つのドメインから成ると予想されたが、N 末端側のドメインのみで ToMV の複製阻害には十分であること¹³⁾ などから、全長 *Tm-1* タンパク質は ToMV の複製阻害とは異なる別の機能を有しており、たまたまウイルスタンパク質と結合する能力を獲得したのではないかと考えられた。*S. habrochaites* がもつ *Tm-1* 遺伝子の配列を調べたところ、一部の領域 (79 番目から 112 番目のアミノ酸残基をコードする) に顕著な正の選択を受けた痕跡が検出され、当該領域が ToMV に対抗して進化し、アミノ酸配列を変化させてきたことが示唆された¹⁴⁾。*Tm-1* および ToMV 複製タンパク質断片の結晶構造解析から、正の選択を受けた領域は *Tm-1* の分子表面に位置しており複製タンパク質との結合に直接関与していること、また抵抗性打破 ToMV 変異株は *Tm-1* との相互作用にかかわるアミノ酸残基に変異をもつことがわかり、ToMV と *Tm-1* はそれぞれ相互作用面を変化させることにより認識と回避を繰り返しながら共進化してきたと推測された¹⁵⁾。

ToMV 感受性トマトは *Tm-1* の対立遺伝子 *tm-1* を有していたが、*tm-1* タンパク質は ToMV の複製タンパク質とは結合しなかった。ToMV と近縁のタバコ微班モザイクウイルス (TMGMV; genus *Tobamovirus*, family *Virgaviridae*) やトウガラシ微班ウイルス (PMMoV; genus *Tobamovirus*, family *Virgaviridae*) はどのトマト品種にも感染しない (トマトを非宿主とする) ことが知られているが、*tm-1* は TMGMV および PMMoV の複製タンパク質と結合し複製を阻害した¹⁶⁾。*tm-1* との結合能が低下した TMGMV および PMMoV 変異株は、トマトに感染可能であったものの増殖の程度は低かったことから、トマトにおける TMGMV および PMMoV に対する非宿主抵抗性は多層的で *tm-1* による複製阻害はその一部を担っていると考えられた^{16, 17)}。これらの結果は、ウイルスが適応していない宿主には阻害的に作用する相互作用因子が存在し得ること、ToMV はトマトに適応するにあたり *tm-1* との阻害的な相互作用から逃れるよう進化してきたことを示唆しており、ウイルスと宿主の相互作用の新たな一面を顕在化させた。

オオバコモザイクウイルス (PIAMV; genus *Potexvirus*, family *Alphaflexiviridae*) に抵抗性を示すシロイヌナズナエコタイプ (環境型) の解析から、ジャカリン様レクチンをコードする優性遺伝子 *JAX1* が同定された¹⁸⁾。後述するポティウイルスの全身移行を阻害するシロイヌナズナの抵抗性遺伝子 *RTMI* も同様にジャカリン様レクチンをコー

表 1. クローニングされた植物の優性ウイルス抵抗性遺伝子

| 植物種 | 抵抗性遺伝子 | 遺伝子産物* | 認識するウイルス** | 参考文献 |
|-----------------------------|-------------------------------|------------------|--------------|------|
| <i>Arabidopsis thaliana</i> | <i>HRT</i> | CC-NB-LRR | TCV | 32) |
| | <i>RCY1</i> | CC-NB-LRR | CMV | 33) |
| <i>Brassica campestris</i> | <i>BcTuR3</i> | TIR-NB-LRR | TuMV | 34) |
| <i>Capsicum annuum</i> | <i>L</i> | CC-NB-LRR | PMMoV | 35) |
| | <i>Pvr4</i> | CC-NB-LRR | PVY | 36) |
| <i>Capsicum chinense</i> | <i>Tsw</i> | CC-NB-LRR | TSWV | 36) |
| <i>Cucumis melo</i> | <i>Prv</i> | TIR-NB-LRR | PRSV | 37) |
| <i>Glycine max</i> | <i>Rsv1</i> | CC-NB-LRR | SMV | 38) |
| | <i>Rsv3</i> | CC-NB-LRR | SMV | 39) |
| <i>Nicotiana glutinosa</i> | <i>N</i> | TIR-NB-LRR | TMV | 5) |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> | <i>PvVTT1</i> | TIR-NB-LRR | BDMV | 40) |
| <i>Poncirus trifoliata</i> | <i>Ctv</i> | CC-NB-LRR | CTV | 41) |
| <i>Solanum peruvianum</i> | <i>Sw-5</i> | CC-NB-LRR | TSWV | 42) |
| | <i>Tm-2, Tm-2²</i> | CC-NB-LRR | ToMV | 43) |
| <i>Solanum tuberosum</i> | <i>Rx1</i> | CC-NB-LRR | PVX | 44) |
| | <i>Rx2</i> | CC-NB-LRR | PVX | 45) |
| | <i>Y-1</i> | TIR-NB-LRR | PVY | 46) |
| <i>Vigna mungo</i> | <i>CYR1</i> | CC-NB-LRR | MYMV | 47) |
| <i>Arabidopsis thaliana</i> | <i>JAX1</i> | Jacalin-like | potexviruses | 18) |
| | <i>RTM1</i> | Jacalin-like | TEV | 22) |
| | <i>RTM2</i> | Small HSP | TEV | 23) |
| | <i>RTM3</i> | MATH-CC | LMV | 24) |
| <i>Oryza sativa</i> | <i>STV11</i> | Sulfotransferase | RSV | 29) |
| <i>Solanum chilense</i> | <i>Ty-1, Ty-3</i> | RDR | TYLCV | 30) |
| <i>Solanum habrochaites</i> | <i>Tm-1</i> | TIM-barrel-like | ToMV | 12) |
| <i>Zea mays</i> | <i>Scmv1</i> | Thioredoxin | SCMV | 21) |

*CC: コイルドコイル, NB: スクレオチド結合部位, LRR: ロイシンリッチ反復配列, TIR: トール/インターロイキン1受容体, HSP: 熱ショックタンパク質, MATH: Meprin および TRAF 相同ドメイン, RDR: RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ

**TCV: Turnip crinkle virus, CMV: キュウリモザイクウイルス, TuMV: カブモザイクウイルス, PMMoV: トウガラシ微斑ウイルス, PVY: ジャガイモ Y ウイルス, TSWV: トマト黄化えそウイルス, PRSV: パパイア輪点ウイルス, SMV: ダイズモザイクウイルス, TMV: タバコモザイクウイルス, BDMV: Bean dwarf mosaic virus, CTV: カンキツトリステザウイルス, ToMV: トマトモザイクウイルス, PVX: ジャガイモ X ウイルス, MYMV: Mungbean yellow mosaic virus, TEV: Tobacco etch virus, LMV: レタスモザイクウイルス, RSV: イネ縞葉枯ウイルス, TYLCV: トマト黄化葉巻ウイルス, SCMV: サトウキビモザイクウイルス

ドするが, *JAX1* は PIAMV のプロトプラストにおける増殖を阻害したことから, 両者は異なる作用機構によりウイルス抵抗性を与えていると考えられた. *JAX1* は PIAMV に限らず, 広くポテックスウイルス属ウイルスの増殖を阻害した. ジャカリン様レクチンは動物の免疫に広く関わっているが, 植物免疫には *RTM1* および *JAX1* の2つのウイルス抵抗性遺伝子が関与することが知られるのみである. 植物免疫におけるレクチンの役割について今後の研究が待たれる. *JAX1* を打破するウイルス変異株が複製タン

パク質遺伝子に変異を持つことから, *JAX1* は複製タンパク質に作用してウイルスの複製を阻害することが示唆された¹⁹⁾. この作用機構は *Tm-1* と類似しており, *JAX1* も本来別の機能をもったタンパク質がたまたまポテックスウイルスの複製タンパク質と結合するよう進化したものである可能性も考えられる.

サトウキビモザイクウイルス (SCMV; genus *Potyvirus*, family *Potyviridae*) はトウモロコシ (*Zea mays*) の重要病害である. ヨーロッパのトウモロコシ系統の中に

SCMV 抵抗性を示すものが見つかり、ポジショナルクローニングにより原因遺伝子 *Scmv1* が同定された²⁰⁾。*Scmv1* は h 型チオレドキシンをコードしており、SCMV 感受性のトウモロコシでは上流遺伝子発現調節領域の多型により、当該遺伝子の発現量が著しく低かった。*Scmv1* タンパク質は、通常のチオレドキシンにおいてジスルフィド結合の還元を司る WC(G/P)PC モチーフの2つのシステインがアスパラギンとセリンに置換しており、ジスルフィド結合の還元能を示さなかったが、分子シャペロン様活性を有していた。*Scmv1* はプロトプラストにおける SCMV の複製を阻害したことから、複製に関わるウイルスタンパク質に作用することによりウイルス増殖を妨げていることが示唆された。多くのウイルスにおいて複製には分子シャペロンが必要であることが示されており²¹⁾、*Scmv1* の作用機構をさらに詳細に解析することにより、ウイルス複製における分子シャペロンの役割についても新たな知見が得られるかもしれない。

3. 全身移行を阻害する抵抗性遺伝子：

RTM1, RTM2, RTM3

植物ウイルスは感染細胞での複製、プラズモデスマータ(原形質連絡)を介した細胞間移行を経た後、主に師管を介して全身に移行する。シロイヌナズナのエコタイプ Col-0 などでは、tobacco etch virus (TEV; genus *Potyvirus*, family *Potyviridae*) を含むいくつかのポティウイルス属ウイルスの複製および細胞間移行は正常に起こるが、全身移行が阻害される。全身移行を許容するエコタイプとの掛け合わせや変異原処理により、TEV の全身移行の阻害には少なくとも3つの優性遺伝子が関与することが明らかにされた。*RTM1*、*RTM2*、*RTM3* と名付けられたこれらの遺伝子のうち、いずれかの遺伝子の機能が欠損すると抵抗性は喪失した。各遺伝子はポジショナルクローニングにより同定され、*RTM1* はジャカリン様レクチンを²²⁾、*RTM2* は低分子量熱ショックタンパク質を²³⁾、*RTM3* は Meprin および TRAF 相同ドメイン (MATH ドメイン) をもつタンパク質を²⁴⁾ それぞれコードしていた。外被タンパク質に変異をもつウイルスが抵抗性を打破すること²⁵⁾、*RTM1* および *RTM2* は師部で発現すること²⁶⁾、*RTM3* は *RTM1* と相互作用すること²⁴⁾ などが報告されている。また、*RTM1*、*RTM2*、*RTM3* を有しているにもかかわらずウイルス感受性を示すエコタイプ Nd-1 の解析から、さらに2つの遺伝子 *RTM4* および *RTM5* の存在が示唆されている²⁷⁾。しかし、*RTM* 遺伝子群によるウイルス抵抗性の分子機構については不明な点が多い。*RTM3* を含む7個の類似遺伝子が第3染色体上にクラスターを形成しているが、ポティウイルスであるウメ輪紋ウイルスに対する劣性抵抗性遺伝子が同領域にマップされたことから、ポティウイルスは当該領域にコードされている MATH ドメインタンパク質を

利用して全身移行しており、*RTM3* はドミナントネガティブ変異体である可能性も指摘されている²⁸⁾。

4. 低レベルのウイルス増殖を許容する (トレランス)

抵抗性遺伝子：*STV11, Ty-1, Ty-3*

イネ縞葉枯ウイルス (RSV; genus *Tenuivirus*, family *Phenuiviridae*) はヒメトビウムカによって媒介されるマイナス鎖 RNA ウイルスで、国内を含む東アジアの稲作に壊滅的な被害を与えてきた。「コシヒカリ」など日本水稲の多くは RSV 感受性であるが、インド型品種や日本陸稲の中には RSV 抵抗性を示すものがあり、育種によって「むさしこがね」「あさひの夢」などの抵抗性品種が育成されている。現在国内で栽培されている RSV 抵抗性品種の多くは、パキスタンのインド型品種「Modan」に由来する *Stvb-i* 遺伝子をもつ。*Stvb-i* による抵抗性は、低レベルのウイルス増殖を許容するが病徴は示さない「トレランス」に位置付けられる。この *Stvb-i* の対立遺伝子あるいは近傍に座乗しているとされているインド型品種「Kasalath」由来の *STV11* 遺伝子がポジショナルクローニングにより同定され、スルフォトランスフェラーゼをコードしていると報告された²⁹⁾。抵抗性品種がもつ対立遺伝子 (*STV11-R*) の産物にはサリチル酸をスルホサリチル酸に変換する活性が認められたが、感受性品種の対立遺伝子 (*STV11-S*) の産物にはこの活性がなかったこと、抵抗性品種ではウイルス感染によってサリチル酸の蓄積が誘導されたこと、感受性品種のプロトプラストにサリチル酸あるいはスルホサリチル酸を与えるとウイルス複製が低下したことなどから、スルホサリチル酸の生成が RSV 抵抗性に重要であることが示唆された。*STV11* はウイルス感染を認識してスルホサリチル酸を合成し、植物の免疫機能を高めていると考えられるが、*STV11* と RSV がコードするタンパク質の間に直接の相互作用は認められておらず、*STV11* によるウイルス認識機構は不明である。また、多くの日本型イネ品種がもつ *STV11-S* は現在までのところ不活性型の酵素をコードすることしかわかっておらず、植物にとってこのような対立遺伝子をもつことにメリットがあったのかどうかについても興味深い。

トマト黄化葉巻ウイルス (TYLCV; genus *Begomovirus*, family *Geminiviridae*) はタバココナジラミによって媒介され、世界中のトマト産地に大きな被害をもたらしている。TYLCV に対する優性抵抗性遺伝子として、*Ty-1*、*Ty-3*、*Ty-4*、*Ty-6* が *S. chilense* から、*Ty-2* が *S. habrochaites* からそれぞれトマトに導入されている。*Ty-1* および *Ty-3* が最近クローニングされ、両者は対立遺伝子であり、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼをコードしていることが報告された³⁰⁾。植物がもつ RNA 依存性 RNA ポリメラーゼのうちいくつかは RNA サイレンシングの増幅に寄与し、ウイルスに対する防御機構の一翼を担っている。DNA ウ

イルスであるジェミニウイルスに対しては、RNAサイレンシング機構によるウイルスゲノムのメチル化がウイルス増殖を抑制することが知られているが、*Ty-1*をもつトマトにTYLCVを感染させるとTYLCV由来の小分子RNAが高蓄積してウイルスゲノムのメチル化が検出されたことから、*Ty-1*はTYLCVに対するRNAサイレンシングを誘導することによりウイルス抵抗性を付与していることが示唆された³¹⁾。*Ty-1*によるTYLCV抵抗性がキュウリモザイクウイルス(CMV)を共接種することにより弱まったことから、RNAサイレンシング機構が抵抗性の本体であり、CMVがもつRNAサイレンシングサプレッサーの働きにより抵抗性が弱められたと考えられた。*Ty-1*がどのようにTYLCVを認識しているのか、*Ty-1*によるサイレンシング誘導とそれに伴うDNAのメチル化はウイルスゲノムに特異的か、RNAサイレンシングを誘導するために*Ty-1*はどのような因子と協調して働いているのか等、作用機構については解明すべき点が多く残されている。

おわりに

本稿では植物がコードする優性ウイルス抵抗性遺伝子について紹介した。NB-LRR型以外の抵抗性遺伝子については、一部共通点をもつものもあるが、ほとんどは配列にも機能にも互いに関連がなく、各植物がウイルスに対抗して独自に進化させたものと考えられる。植物は、起源が古いRNAサイレンシングやNB-LRR型の抵抗性遺伝子によるウイルス抵抗性機構を土台として持ちつつ、これをすり抜けてくるウイルスに対して新たに対抗手段を講じるための進化を遂げてきたものと考えられる。各遺伝子の機能解析についてはまだまだ十分とは言えないが、植物のウイルス抵抗性機構の多様性は、ウイルス増殖の様々な段階が宿主の防御機構の標的となり得ることを示している。ウイルス病の制圧に向けて、自然に学ぶことはまだまだ多い。

謝 辞

*Tm-1*に関する一連の研究は多くの共同研究者のご協力を得て進めることができました。特に立体構造解析では農研機構高度解析センターの加藤悦子博士および立命館大学の松村浩由先生に、分子進化学解析では東京大学の岸野洋久先生および東北大学の宮下脩平先生に多大なご協力を頂きました。この場を借りて御礼申し上げます。

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) Ding S-W, Voinnet O: Antiviral immunity directed by small RNAs. *Cell* 130:413-426, 2007.
- 2) Pumplin N, Voinnet O: RNA silencing suppression by plant pathogens: defence, counter-defence and counter-counter-defence. *Nat Rev Microbiol* 11:745-760, 2013.
- 3) Sanfaçon H: Plant translation factors and virus resistance. *Viruses* 7:3392-3419, 2015.
- 4) Hashimoto M, Neriya Y, Yamaji Y, Namba S: Recessive resistance to plant viruses: potential resistance genes beyond translation initiation factors. *Front Microbiol* 7:1695, 2016.
- 5) Whitham S, Dinesh-Kumar SP, Choi D, Hehl R, Corr C, Baker B: The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: similarity to toll and the interleukin-1 receptor. *Cell* 78:1101-1115, 1994.
- 6) Meyers BC, Kozik A, Griego A, Kuang H, Michelmore RW: Genome-wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in Arabidopsis. *Plant Cell* 15:809-834, 2003.
- 7) Urbach JM, Ausubel FM: The NBS-LRR architectures of plant R-proteins and metazoan NLRs evolved in independent events. *Proc Natl Acad Sci USA* 114:1063-1068, 2017.
- 8) Lee H-A, Yeom S-I: Plant NB-LRR proteins: tightly regulated sensors in a complex manner. *Brief Funct Genomics* 14:233-242, 2015.
- 9) Kourelis J, van der Hooft RAL: Defended to the nines: 25 years of resistance gene cloning identifies nine mechanisms for R protein function. *Plant Cell* 30:285-299, 2018.
- 10) Kohm BA, Goulden MG, Gilbert JE, Kavanagh TA, Baulcombe DC: A potato virus X resistance gene mediates an induced, nonspecific resistance in protoplasts. *Plant Cell* 5:913-920, 1993.
- 11) Sekine KT, Kawakami S, Hase S, Kubota M, Ichinose Y, Shah J, Kang HG, Klessig DF, Takahashi H: High level expression of a virus resistance gene, *RCY1*, confers extreme resistance to *Cucumber mosaic virus* in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant Microbe Interact* 21:1398-1407, 2008.
- 12) Ishibashi K, Masuda K, Naito S, Meshi T, Ishikawa M: An inhibitor of viral RNA replication is encoded by a plant resistance gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:13833-13838, 2007.
- 13) Kato M, Ishibashi K, Kobayashi C, Ishikawa M, Katoh E: Expression, purification, and functional characterization of an N-terminal fragment of the tomato mosaic virus resistance protein Tm-1. *Protein Express Purif* 89:1-6, 2013.
- 14) Ishibashi K, Mawatari N, Miyashita S, Kishino H, Meshi T, Ishikawa M: Coevolution and hierarchical interactions of *Tomato mosaic virus* and the resistance gene *Tm-1*. *PLoS Pathog* 8:e1002975, 2012.
- 15) Ishibashi K, Kezuka Y, Kobayashi C, Kato M, Inoue T, Nonaka T, Ishikawa M, Matsumura H, Etsuko K: Structural basis for the recognition-evasion arms race between *Tomato mosaic virus* and the resistance gene

- Tm-1*. Proc Natl Acad Sci USA 111:E3486-E3495, 2014.
- 16) Ishibashi K, Naito S, Meshi T, Ishikawa M: An inhibitory interaction between viral and cellular proteins underlies the resistance of tomato to nonadapted tobamoviruses. Proc Natl Acad Sci USA 106:8778-8783, 2009.
 - 17) Mizumoto H, Morikawa Y, Ishibashi K, Kimura K, Matsumoto K, Tokunaga M, Kiba A, Ishikawa M, Okuno T, Hikichi Y: Functional characterization of the mutations in *Pepper mild mottle virus* overcoming tomato *tm-1*-mediated resistance. Mol Plant Pathol 15:479-487, 2014.
 - 18) Yamaji Y, Maejima K, Komatsu K, Shiraishi T, Okano Y, Himeno M, Sugawara K, Neriya Y, Minato N, Miura C, Hashimoto M, Namba S: Lectin-mediated resistance impairs plant virus infection at the cellular level. Plant Cell 24:778-793, 2012.
 - 19) Sugawara K, Shiraishi T, Yoshida T, Fujita N, Netsu O, Yamaji Y, Namba S: A replicase of *Potato virus X* acts as the resistance-breaking determinant for JAX1-mediated resistance. Mol Plant Microbe Interact 26:1106-1112, 2013.
 - 20) Liu Q, Liu H, Gong Y, Tao Y, Jiang L, Zuo W, Yang Q, Ye J, Lai J, Wu J, Lübberstedt T, Xu M: An atypical thioredoxin imparts early resistance to sugarcane mosaic virus in maize. Mol Plant 10:483-497, 2017.
 - 21) Nagy PD, Wang RY, Pogany J, Hafren A, Makinen K: Emerging picture of host chaperone and cyclophilin roles in RNA virus replication. Virology 411:374-382, 2011.
 - 22) Chisholm ST, Mahajan SK, Whitham SA, Yamamoto ML, Carrington JC: Cloning of the *Arabidopsis RTM1* gene, which controls restriction of long-distance movement of tobacco etch virus. Proc Natl Acad Sci USA 97:489-494, 2000.
 - 23) Whitham SA, Anderberg RJ, Chisholm ST, Carrington JC: *Arabidopsis RTM2* Gene is necessary for specific restriction of tobacco etch virus and encodes an unusual small heat shock-like protein. Plant Cell 12:569-582, 2000.
 - 24) Cosson P, Sofer L, Le QH, Léger V, Schurdi-Levraud V, Whitham SA, Yamamoto ML, Gopalan S, Le Gall O, Candresse T, Carrington JC, Revers F: *RTM3*, which controls long-distance movement of potyviruses, is a member of a new plant gene family encoding a mepripin and TRAF homology domain-containing protein. Plant Physiol 154:222-232, 2010.
 - 25) Decroocq V, Salvador B, Sicard O, Glasa M, Cosson P, Svanella-Dumas L, Revers F, Garcia JA, Candresse T: The determinant of potyvirus ability to overcome the RTM resistance of *Arabidopsis thaliana* maps to the N-terminal region of the coat protein. Mol Plant Microbe Interact 22:1302-1311, 2009.
 - 26) Chisholm ST, Parra MA, Anderberg RJ, Carrington JC: *Arabidopsis RTM1* and *RTM2* genes function in phloem to restrict long-distance movement of tobacco etch virus. Plant Physiol 127:1667-1675, 2001.
 - 27) Cosson P, Schurdi-Levraud V, Le QH, Sicard O, Caballero M, Roux F, Le Gall O, Candresse T, Revers F: The RTM resistance to potyviruses in *Arabidopsis thaliana*: natural variation of the *RTM* genes and evidence for the implication of additional genes. PLoS ONE 7:e39169, 2012.
 - 28) Pagny G, Paulstephenraj PS, Poque S, Sicard O, Cosson P, Eyquard J-P, Caballero M, Chague A, Gourdon G, Negrel L, Candresse T, Mariette S, Decroocq V: Family-based linkage and association mapping reveals novel genes affecting *Plum pox virus* infection in *Arabidopsis thaliana*. New Phytol 196:873-886, 2012.
 - 29) Wang Q, Liu Y, He J, Zheng X, Hu J, Liu Y, Dai H, Zhang Y, Wang B, Wu W, Gao H, Zhang Y, Tao X, Deng H, Yuan D, Jiang L, Zhang X, Guo H, Cheng X, Wu C, Wang H, Yuan L, Wan J: *STV11* encodes a sulphotransferase and confers durable resistance to rice stripe virus. Nat Commun 5:4768, 2014.
 - 30) Verlaan MG, Hutton SF, Ibrahim RM, Kormelink R, Visser RGF, Scott JW, Edwards JD, Bai Y: The tomato yellow leaf curl virus resistance genes *Ty-1* and *Ty-3* are allelic and code for DFDGD-class RNA-dependent RNA polymerases. PLoS Genet 9:e1003399, 2013.
 - 31) Butterbach P, Verlaan MG, Dullemans A, Lohuis D, Visser RGF, Bai Y, Kormelink R: Tomato yellow leaf curl virus resistance by *Ty-1* involves increased cytosine methylation of viral genomes and is compromised by cucumber mosaic virus infection. Proc Natl Acad Sci USA 111:12942-12947, 2014.
 - 32) Cooley MV, Pathirana S, Wu H-J, Kachroo P, Klessig DF: Members of the *Arabidopsis HRT/RPP8* family of resistance genes confer resistance to both viral and oomycete pathogens. Plant Cell 12:663-676, 2000.
 - 33) Takahashi H, Miller J, Nozaki Y, Sukamoto, Takeda M., Shah J, Hase S, Ikegami M, Ehara Y, Dinesh-Kumar SP: *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, 2002.
 - 34) Ma JF, Hou XL, Xiao D, Qi L, Wang F, Sun F, Wang Q: Cloning and characterization of the *BcTuR3* gene related to resistance to turnip mosaic virus (TuMV) from non-heading chinese cabbage. Plant Mol Biol Rep 28:588-596, 2010.
 - 35) Tomita R, Sekine K-T, Mizumoto H, Sakamoto M, Murai J, Kiba A, Hikichi Y, Suzuki K, Kobayashi K: Genetic basis for the hierarchical interaction between *Tobamovirus* spp. and *L* resistance gene alleles from different pepper species. Mol Plant Microbe Interact 24:108-117, 2011.
 - 36) Kim SB, Kang WH, Huy HN, Yeom SI, An JT, Kim S, Kang MY, Kim HJ, Jo YD, Ha Y, Choi D, Kang BC: Divergent evolution of multiple virus-resistance genes from a progenitor in *Capsicum* spp. New Phytol 213: 886-899, 2017.
 - 37) Brotman Y, Normantovich M, Goldenberg Z, Zvirin Z, Kovalski I, Stovbun N, Doniger T, Bolger AM, Troader C, Bendahmane A, Cohen R, Katzir N, Pitrat M, Dogimont C, Perl-Treves R: Dual resistance of melon to *Fusarium oxysporum* races 0 and 2 and to *Papaya*

- ring-spot virus* is controlled by a pair of head-to-head-oriented NB-LRR genes of unusual architecture. *Mol Plant* 6:235-238, 2013.
- 38) Hayes AJ, Jeong SC, Gore MA, Yu YG, Buss GR, Tolin SA, Saghai-Maroo MA: Recombination within a nucleotide-binding-site/leucine-rich-repeat gene cluster produces new variants conditioning resistance to soybean mosaic virus in soybeans. *Genetics* 166:493-503, 2004.
 - 39) Tran P-T, Widyasari K, Seo J-K, Kim K-H: Isolation and validation of a candidate Rsv3 gene from a soybean genotype that confers strain-specific resistance to soybean mosaic virus. *Virology* 513:153-159, 2018.
 - 40) Seo YS, Jeon JS, Rojas MR, Gilbertson RL: Characterization of a novel Toll/interleukin-1 receptor (TIR)-TIR gene differentially expressed in common bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Othello) undergoing a defence response to the geminivirus *Bean dwarf mosaic virus*. *Mol Plant Pathol* 8:151-162, 2007.
 - 41) Rai M: Refinement of the Citrus tristeza virus resistance gene (*Ctv*) positional map in *Poncirus trifoliata* and generation of transgenic grapefruit (*Citrus paradisi*) plant lines with candidate resistance genes in this region. *Plant Mol Biol* 61:399-414, 2006.
 - 42) Brommonschenkel SH, Frary A, Frary A, Tanksley SD: The broad-spectrum tospovirus resistance gene *Sw-5* of tomato is a homolog of the root-knot nematode resistance gene *Mi*. *Mol Plant Microbe Interact* 13:1130-1138, 2000.
 - 43) Lanfermeijer FC, Dijkhuis J, Sturre MJ, de Haan P, Hille J: Cloning and characterization of the durable tomato mosaic virus resistance gene *Tm-2(2)* from *Lycopersicon esculentum*. *Plant Mol Biol* 52:1037-1049, 2003.
 - 44) Bendahmane A, Kanyuka K, Baulcombe DC: The *Rx* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. *Plant Cell* 11:781-791, 1999.
 - 45) Bendahmane A, Querci M, Kanyuka K, Baulcombe DC: *Agrobacterium* transient expression system as a tool for the isolation of disease resistance genes: application to the Rx2 locus in potato. *Plant J* 21:73-81, 2000.
 - 46) Vidal S, Cabrena H, Andersson RA, Fredriksson A, Valkonen JPT: Potato gene *Y-1* is an *N* gene homolog that confers cell death upon infection with *potato virus Y*. *Mol Plant Microbe Interact* 15:717-727, 2002.
 - 47) Maiti S, Paul S, Pal A: Isolation, characterization, and structure analysis of a non-TIR-NBS-LRR encoding candidate gene from MYMIV-resistant *Vigna mungo*. *Mol Biotechnol* 52:217-233, 2012.

Virus resistance genes in plants

Kazuhiro ISHIBASHI, Masayuki ISHIKAWA

Institute of Agrobiological Sciences, NARO
2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, JAPAN

Plants defend themselves from virus infection by RNA silencing and resistance (*R*) gene-mediated mechanisms. Many dominant *R* genes encode nucleotide-binding site and leucine-rich repeat (NB-LRR)-containing proteins. NB-LRR proteins are also encoded by *R* genes against bacteria or fungi, suggesting a similar mechanism underlies defense systems to diverse pathogens. In contrast, several non-NB-LRR-type *R* genes have recently been cloned, each of which differs from others in sequences and functions. In this review, we introduce a diversity of *R* gene-mediated plant defense systems against viruses. *Tm-1*, *JAX1*, and *Scmv1*, resistance genes against tomato mosaic virus, potexviruses, and sugarcane mosaic virus, respectively, inhibit virus multiplication at a single cell level. The *RTM1*, *RTM2*, *RTM3* genes of *Arabidopsis thaliana* inhibit systemic transport of potyviruses through the phloem. *STV11* of rice against rice stripe virus and *Ty-1* and *Ty-3* genes of tomato against tomato yellow leaf curl virus allow low level virus multiplication and confer tolerance. The wide diversity of plant defense systems against viruses implies their recent emergence. We suggest that plants evolved new defense systems to counter infection by viruses that had overcome pre-existing defense systems (RNA silencing and NB-LRR-type *R* gene-mediated systems).