

2. 植物ウイルスに対する翻訳開始因子を介した劣性抵抗性

藤本 祐司, 橋本 将典, 山次 康幸

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

絶対寄生性の病原体である植物ウイルスは、そのゲノムに極めて限られた数の遺伝子しかコードせず、その感染過程において宿主植物細胞の様々な因子を利用している。これらの宿主因子をコードする遺伝子は植物のウイルスに対する感受性に関与することから感受性遺伝子とよばれる。感染に必須な感受性遺伝子が欠損あるいは変異した植物はウイルスに対して抵抗性を示す。このような抵抗性形質は劣性遺伝する特徴があるため劣性抵抗性と呼ばれ、既知の栽培作物においてマッピングされたウイルス抵抗性遺伝子座の約半数を占める。最もよく知られている感受性遺伝子は、翻訳開始因子の一種である *eukaryotic translation initiation factor (eIF)4E* ファミリー遺伝子である。翻訳開始因子を介した植物ウイルスに対する劣性抵抗性に関する知見は数多く存在するが、それらの多くは抵抗性という現象の観察のみにとどまっており、翻訳開始因子の機能にまで迫っている研究は比較的限られている。本稿では翻訳開始因子を介した劣性抵抗性について、そのメカニズムが解明された研究に焦点をおいて総説する。

1. はじめに

植物ウイルスは絶対寄生性の病原体であり、ゲノムにコードされる遺伝子は極めて限られている。ウイルスは自身がコードするタンパク質の翻訳からゲノム複製、細胞間・全身移行へと至る植物ウイルスの各感染過程において、宿主植物細胞の様々な因子を利用していると考えられている。これらの宿主因子をコードする遺伝子は植物のウイルスに対する感受性に関与することから感受性遺伝子 (susceptibility gene) とよばれる^{1,2)}。感受性遺伝子が欠損あるいは変異した植物においては、ウイルスの感染が阻害され、結果的にその植物はウイルスに対して抵抗性を示すことになる。このような抵抗性形質は劣性遺伝する特徴があるため劣性抵抗性と呼ばれる。実際に、これまでに様々

な作物において数多くのウイルス抵抗性遺伝子座がマッピングされているが、それらの約半数は劣性遺伝子座であることから³⁾、植物ウイルスに対する抵抗性のかなりの部分がウイルス感染に重要な感受性遺伝子の変異により引き起こされると考えられる。

最もよく知られている感受性遺伝子は、翻訳開始因子の一種である *eukaryotic translation initiation factor (eIF)4E* ファミリー遺伝子である。植物においては *eIF4E* ファミリーには3種のアイソフォーム、*eIF4E*、*eIFiso4E* ならびに *novel cap binding protein (nCBP)* が存在することが知られているが、これら3種の *eIF4E* アイソフォーム遺伝子のいずれかに変異が入ることによって抵抗性が引き起こされる例が現在に至るまで数多く見出されており、そのうち *eIF4E* 遺伝子に変異が入ることによる劣性抵抗性としては、シロイヌナズナにおけるキュウリモザイクウイルス (cucumber mosaic virus; CMV) 抵抗性⁴⁾、オオムギにおけるオオムギ微斑ウイルス (barley mild mosaic virus) とオオムギ縞萎縮ウイルス (barley yellow mosaic virus) に対する抵抗性^{5,6)}、トウガラシにおけるジャガイモYウイルス (potato virus Y; PVY) と tobacco etch virus (TEV) に対する抵抗性^{3,7)}、メロンにおけるメロンネネ斑点ウイルス (melon necrotic spot virus; MNSV) 抵抗性⁸⁾、レタスにおけるレタスモザイクウイルス (lettuce mosaic virus; LMV)

連絡先

〒113-8657

東京都文京区弥生 1-1-1

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

TEL: 03-5841-5092

E-mail: ayyamaji@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

抵抗性⁹⁾、野生トマト (*Solanum habrochaites*) における PVY 抵抗性¹⁰⁾、エンドウにおけるインゲンマメ黄斑モザイクウイルス (bean yellow mosaic virus) 抵抗性¹¹⁾ などが知られている。一方、*eIFiso4E* 遺伝子への変異導入による抵抗性として、シロイヌナズナの TEV, LMV, カブモザイクウイルス (turnip mosaic virus; TuMV), ウメ輪紋ウイルス (plum pox virus) に対する抵抗性¹²⁻¹⁴⁾ などが知られている。

このように翻訳開始因子を介した植物ウイルスに対する劣性抵抗性に関する知見は急速に蓄積しており数多くの総説としてまとめられているが、それらの報告の多くは抵抗性という現象の観測のみにとどまっており、翻訳開始因子の機能にまで迫っている研究は比較的限られている。近年、実用作物へのウイルス抵抗性付与を目的としてゲノム編集技術などを利用してこれら *eIF4E* ファミリー遺伝子に変異を導入する試みがトレンドになりつつあるが¹⁵⁻¹⁹⁾、変異導入により自在に望みの抵抗性形質を得るためには、翻訳開始因子を介した劣性抵抗性のメカニズムを詳細に理解しておくことが重要である。そこで、本稿では翻訳開始因子を介した劣性抵抗性について、そのメカニズムが解明された研究に焦点をおいて総説する。

2. 真核生物の翻訳プロセスにおける翻訳開始因子の機能

真核生物の翻訳開始は、数多くのタンパク質、RNA およびそれらにより構成される複合体が関与する複雑なプロセスである。真核生物の mRNA は 5' キャップと 3' ポリ A 配列を持っており、一般的に翻訳はこれらの構造を起点として開始される²⁰⁾。真核生物の翻訳開始因子の一つである eIF4E は、5' キャップに結合し、他の翻訳開始因子を mRNA にリクルートする。続いて、eIF4E は eIF4G と相互作用し、eIF4G は eIF3 や 40S リボソームサブユニットといった他の因子や複合体が結合する足場となる^{21,22)}。一方、3' ポリ A 配列には poly(A)-binding protein (PABP) が結合し、PABP は eIF4G および eIF4E と相互作用する。このように eIF4E, eIF4G, PABP の働きによって、mRNA が環状ループ構造をとることが翻訳開始に必要であると考えられている^{21,23)}。

翻訳開始因子の中には、複数のアイソフォームをもつものが存在する。シロイヌナズナでは、eIF4E のアイソフォームとして eIFiso4E および nCBP が、eIF4G のアイソフォームとして eIFiso4G が存在する。eIF4E と eIFiso4E はそれぞれ eIF4G および eIFiso4G と特異的に相互作用する。nCBP は eIFiso4G と相互作用を示し、弱い翻訳開始活性を持つことが示されている²⁴⁾。

シロイヌナズナの *eIF4E* や *eIF4G* の変異体の生育は野生型と比較して大きな差がないことが知られている²⁵⁾。これは翻訳開始因子のアイソフォーム間には機能的な重複があり、欠損した一方のアイソフォームの機能をもう一方が

ある程度は補完しうるためであると推測されている。一方で、シロイヌナズナには eIFiso4G をコードする遺伝子が 2 コピー存在するがそれらの二重変異体では葉緑素の減少や生育の遅延が確認されている²⁶⁾。また、5' キャップを持たない、あるいはキャップを持ちながらも 5'UTR に特定の高次構造をもつ一部の mRNA は、eIF4E/4G 複合体のみが翻訳可能であり、eIFiso4E/iso4G 複合体は翻訳できないとする報告もあり²⁷⁾、生体内では eIF4E/4G 複合体と eIFiso4E/iso4G 複合体の間で一定の翻訳鑄型の使い分けがなされている可能性も考えられる。しかしながら、植物において eIF4E アイソフォームの機能的差異について詳細に解析した例は少なく、今後更なる解析が必要である。

3. 翻訳開始因子を介した劣性抵抗性のメカニズム

植物 RNA ウイルスが植物細胞内に侵入すると、まずウイルス粒子から外被タンパク質が脱落し、露出したゲノム RNA から複製酵素などのウイルスタンパク質が翻訳される。次いで、複製酵素は多数の宿主因子とともにゲノム RNA を鑄型に複製を行い、ウイルスゲノム RNA を増幅する。増幅されたウイルス RNA は移行タンパク質などにより隣接細胞に細胞間移行され、感染細胞が拡大する。最後に師管を通じた長距離移行によりウイルスは植物体全身に感染する。翻訳開始因子の欠損による抵抗性はこれらの感染ステップのいずれかが阻害されるためと考えられる。そこで、まず翻訳開始因子の欠損による抵抗性のメカニズムについて、作用すると考えられるウイルス感染ステップごとにこれまでに明らかになっている知見をまとめる。

(1) 翻訳阻害

翻訳開始因子を介した劣性抵抗性の対象ウイルスとして最も知見が蓄積されているのは *Potyvirus* 属ウイルスである。*Potyvirus* 属ウイルスのゲノム RNA の 5' 末端には、キャップではなく、viral protein genome linked (VPg) とよばれるウイルス由来のタンパク質が結合していることが知られている。VPg を植物細胞内で強制的に発現させると、宿主 mRNA がもつキャップと競合して mRNA からの翻訳が阻害されることから、VPg がキャップと同様に翻訳開始に関与することが明らかになっている^{28,29)}。TuMV がコードする VPg が eIFiso4E と結合することが示され³⁰⁾、また VPg 遺伝子への変異導入実験によりこの結合がウイルス感染に重要であることが明らかにされた³¹⁾。さらに wheat germ extract を用いた *in vitro* 翻訳実験により eIF4E が VPg と複合体を形成し、TEV 由来の RNA の翻訳を活性化することが示された³²⁾。またルシフェラーゼ発光を用いた *in vivo* の系でも eIF4E と potato virus A の VPg の結合がウイルス由来 RNA の翻訳活性化に重要であることが示された²⁹⁾。以上のことから、*Potyvirus* 属ウイルスに対する劣性抵抗性の原因として *eIF4E* の欠損によるウイルスタンパク質の翻訳阻害が示されている。*Carmovirus* 属の

MNSV に対する劣性抵抗性においてもウイルスタンパク質の翻訳阻害が示唆されている。MNSV に対するメロンの劣性抵抗性遺伝子 *nsv1* は *eIF4E* の劣性変異遺伝子であることが明らかにされた⁸⁾が、この劣性抵抗性の打破系統として単離された MNSV 変異体には、3' 非翻訳領域に変異が存在していた³³⁾。その後、この変異を含む領域が cap 非依存的に翻訳を促進する領域 (3' cap-independent translation enhancer elements, 3'CITE) であることが明らかにされた³⁴⁾。さらに 3'CITE が eIF4E・eIF4G 複合体と結合することが示され、MNSV に対する劣性抵抗性は、本来は 3'CITE に結合して翻訳を促進する機能をもつ eIF4E の欠損により、ウイルスタンパク質の翻訳が阻害されることで引き起こされると考えられた³⁵⁾。

(2) 複製

翻訳開始因子を介した劣性抵抗性のメカニズムとして、翻訳以外のウイルス感染ステップへの関与も指摘されている。*Potyvirus* 属ウイルスである TuMV 感染細胞中では小胞体由来のウイルス感染特異的な小胞様構造が形成され、マイクロフィラメントに沿って移動することが明らかになっており、ウイルスの細胞内複製の場であると考えられている^{36, 37)}。TuMV はシロイヌナズナにおいて eIFiso4E の変異による劣性抵抗性を受けるが¹³⁾、細胞内局在観察により eIFiso4E が VPg の前駆体である 6K-VPg-Pro タンパク質とともに、TuMV の細胞内複製の場である小胞様構造に局在する様子が観察された³⁸⁾。また、*eIF4E* と同様に感受性遺伝子として知られる *eIF4G* についても解析が行われており、シロイヌナズナの *eIF4G* の変異体 (*cum2*) のプロトプラストで *Carmovirus* 属の turnip crinkle virus (TCV) の RNA 蓄積が抑制されたことから、TCV に対する劣性抵抗性においてはウイルス複製が阻害されることが示唆された⁴⁾。これらのことから、eIF4E あるいは eIF4G は幾つかのウイルスにおいては複製で重要な役割を果たしていると考えられている。

(3) 細胞間移行・全身移行

Potyvirus 属の pea seed-borne mosaic virus (PSbMV) に対するエンドウの劣性抵抗性遺伝子 *sbm1* は *eIF4E* への点変異が原因であるが、*sbm1* 変異体に GFP で可視化した PSbMV を接種すると細胞間移行が顕著に阻害されることから³⁹⁾、eIF4E の作用点としてウイルスの細胞間移行が想定されている。また、シロイヌナズナの *eIF4E* と *eIF4G* の変異体 (それぞれ *cum1* と *cum2*) は *Cucumovirus* 属の CMV に対する劣性抵抗性を示すことが明らかにされているが、*cum1* 変異体では CMV のプロトプラストレベルでの複製が影響を受けないことから、細胞間移行が阻害されることが示唆されている⁴⁾。*cum1* 変異体や *cum2* 変異体においては RNA3 にコードされた 3a の蓄積が低下することから、移行タンパク質である 3a の発現抑制による細胞間移行阻害の可能性が指摘されている。さらに、シロイヌ

ナズナの *eIFiso4E* の変異体における TEV に対する抵抗性においてウイルスの全身感染が抑制される一方で、ウイルスタンパク質の翻訳や接種葉におけるウイルスの蓄積には大きな影響がないことから、ウイルスの全身移行が作用点であることが示唆されている⁴⁰⁾。

以上のように *eIF4E* や *eIF4G* の欠損による劣性抵抗性の作用点として、翻訳、複製、細胞間移行、全身移行など幅広い感染ステップが指摘されているが、これらがそれぞれ異なるメカニズムによると捉えるかどうかについては注意を要する。例えば、複製、細胞間移行、全身移行に関与するウイルスタンパク質の翻訳が阻害されればそれらの感染ステップは必然的に阻害されるものであり、以下述べるように実際にそのような例が見出されてきている。

4. mRNA 型ゲノムをもつウイルスへの劣性抵抗性

ここまで翻訳開始因子の欠損による劣性抵抗性の対象となってきたのは、少なくとも 5' キャップまたは 3' ポリ A 配列のどちらかを欠く、すなわち通常の mRNA とは異なるゲノム RNA 構造をもつウイルスに限られていた。それでは mRNA 型のゲノム RNA を持つウイルスには翻訳開始因子による劣性抵抗性は有効ではないのであろうか。この点を明らかにするため、著者らの研究グループは 5' キャップと 3' ポリ A 配列を兼ね備えた mRNA 型の植物ウイルスを対象として劣性抵抗性に関する研究を行った⁴¹⁾。オオバコモザイクウイルス (*plantago asiatica mosaic virus*; PIAMV) は *Alphaflexivirus* 科 *Potexvirus* 属に属するウイルスで、全長約 6.2kb のプラス 1 本鎖 RNA をゲノムに持つ。ゲノムの 5' 末端にはキャップ構造が、3' 末端にはポリ A 配列を持つ mRNA 型の植物ウイルスの 1 つである。ゲノムには、5 つの open reading frame (ORF) がコードされている。ORF は 5' 末端側からそれぞれ複製酵素 (RNA dependent RNA polymerase; RdRp)、移行タンパクである triple gene block protein (TGBp)1、TGBp2、TGBp3、外被タンパク (coat protein; CP) をコードしている。5 つのタンパクの翻訳型となる RNA はゲノム RNA (gRNA) と 3 種類のサブゲノム RNA (sgRNA) が想定されており、gRNA からは RdRp が、sgRNA1 からは TGBp1 が、sgRNA2 からは TGBp2、TGBp3 が、sgRNA3 からは CP が翻訳されていると考えられている⁴²⁾。

PIAMV を *eIF4E*、*eIFiso4E*、*nCBP* のそれぞれを欠損したシロイヌナズナ変異体に接種したところ、*nCBP* 変異体においてのみウイルス蓄積量が顕著に低下した。植物体から抽出したプロトプラストにウイルスを接種しウイルス RNA 量を定量したところ、野生型と変異体に明確な差はなかった。一方、GFP を発現する PIAMV をボンバードメント法により *nCBP* 変異体および野生型植物に接種し、その移行能を経時的に解析したところ、*nCBP* 変異体においてはウイルスの移行に伴い拡大する蛍光斑の大きさが顕著

に低下した。以上の結果より、*ncbp* 変異体において PIAMV に対する劣性抵抗性が認められること、またその阻害が細胞間移行レベルであることを示した。さらに、ウイルス接種葉におけるウイルスタンパク質の蓄積量を評価したところ、複製酵素や外被タンパクの蓄積量に変化がなかったのに対して、移行タンパク質の一部である TGBp2 および TGBp3 の蓄積量が *ncbp* 変異体において大きく低下していた。従って、*nCBP* の欠損により移行タンパク質 TGBp2 と TGBp3 の蓄積が抑制されることにより、ウイルスの細胞間移行が阻害され、ウイルスの蓄積量が低下していることが示唆された。

次いで、*nCBP* の欠損が PIAMV 以外の植物ウイルスの感染に影響するか解析するため、さまざまな植物ウイルスを *ncbp* 変異体に接種し、接種葉におけるウイルス蓄積量を定量した。その結果、*ncbp* 変異体において *Alphaflexivirus* 科 *Potexvirus* 属の *alternanthera mosaic virus* および *cymbidium mosaic virus*, *Alphaflexivirus* 科 *Lolavirus* 属の *lolium latent virus*, *Betaflexivirus* 科 *Carlavirus* 属の *potato virus M* のそれぞれの蓄積量が顕著に減少した。従って、*nCBP* の欠損によって、*Alphaflexivirus* 科および *Betaflexivirus* 科の植物ウイルスの感染が阻害されることが明らかとなった。一方で、他の科に属する *Potyvirus* 属の *TuMV* や、*Tobamovirus* 属の *youcai mosaic virus* の蓄積量は、*ncbp* 変異体においても影響を受けなかった。従って、*ncbp* 変異体において *Alphaflexivirus* 科および *Betaflexivirus* 科のウイルスの感染が特異的に阻害されることが示された。

これまで *eIF4E* の3つのアイソフォーム遺伝子の中で劣性抵抗性遺伝子として同定され、機能が解析されてきたのは *eIF4E* あるいは *eIFiso4E* のみであり、残るアイソフォームである *nCBP* についての報告はなかった。しかし、今回の結果により *nCBP* が *Alphaflexivirus* 科、*Betaflexivirus* 科ウイルスに対する劣性抵抗性遺伝子として働くことが示され、全ての *eIF4E* のアイソフォーム遺伝子が植物ウイルスに対する劣性抵抗性に関与していることが明らかになった。また、今回の結果により、従来劣性抵抗性が知られていなかった mRNA 型ウイルスに対しても翻訳開始因子の欠損による劣性抵抗性が機能していることが明らかとなり、さらにその分子メカニズムの一端も明らかになった。

なお、最近の CRISPR/Cas9 によるゲノム編集を利用した研究によって、他にも *nCBP* が劣性抵抗性遺伝子として働く例が報告されている¹⁹⁾。Cassava brown streak disease (CBSD) は *Potyvirus* 科 *Ipomovirus* 属の *cassava brown streak virus* (CBSV) および Ugandan cassava brown streak virus (UCBSV) により引き起こされるキャッサバの重要病害であるが、キャッサバの *nCBP* と CBSV および UCBSV の VPg との間に相互作用が確認され、またキャッサバ *nCBP* への変異導入により CBSV の感染が遅延し、病徴が低減された。先に述べたとおり、著者らの研究グループが

シロイヌナズナの *ncbp* 変異体に *Potyvirus* 科 *Potyvirus* 属の *TuMV* を接種した際には影響を受けないことを明らかにしている。そのため、当該研究で見出された CBSV に対する抵抗性と著者らのグループが見出したフレキシウイルスに対する抵抗性の分子機構が同様のものであるか、異なるものであるかについては興味を持たれる。

5. おわりに

翻訳開始因子を介した劣性抵抗性は現象としては広く知られており、その抵抗性が標的とするウイルス感染ステップは翻訳、複製、細胞間移行、全身移行と多様である。本稿で述べたように、その分子メカニズムも徐々にではあるが明らかにされつつある。これまでに明らかになった範囲では、細胞間移行を阻害するケースにおいてはそれぞれのウイルスの細胞間移行に関与する移行タンパク質の翻訳阻害の可能性が示唆されている。翻訳開始因子の機能面から考えても、複製や移行に関わるウイルスタンパク質の翻訳にそれらが特異的に関わることにより、複製や移行が阻害されると考えるのは妥当である。一方で、翻訳開始因子は翻訳以外の機能を持つことが知られている。例えば、*eIF4E* は核内での mRNA の輸送に関わり、*eIFiso4G* は細胞骨格に結合する⁴³⁻⁴⁵⁾。これらのことから、翻訳開始因子が翻訳以外の機能によりウイルスの複製や移行に関与する可能性も依然として残されている。今後はウイルス感染時における翻訳開始因子の機能解析がさらに進むことが期待されるが、なぜ特定の翻訳開始因子アイソフォームがウイルスの感染に特異的に関与するのかを明らかにすることで翻訳開始因子のクリティカルな作用点が判明すると期待される。一方で、ゲノム編集技術などを利用し、翻訳開始因子を介した劣性抵抗性を作物に応用展開する研究も行われ始めており、CRISPR-Cas9 を利用してイネ、キャッサバ、キュウリなど重要作物にウイルス抵抗性を付与する試みが報告されている¹⁷⁻¹⁹⁾。以上、基礎・応用研究両面の有機的展開により、実用的なウイルス抵抗性品種が生み出されることが強く期待される。

利益相反開示について

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) Garcia-Ruiz H: Susceptibility genes to plant viruses. *Viruses* 10:484-503, 2018.
- 2) Gallois JL, Moury B, German-Retana S: Role of the genetic background in resistance to plant viruses. *Int J MolSci* 19:2856-2875, 2018.
- 3) Kang BC, Yeam I, Jahn MM. Genetics of plant virus resistance. *Annu Rev Phytopathol* 43:581-621, 2005.
- 4) Yoshii M, Nishikiori M, Tomita K, Yoshioka N, Kozuka

- R, Naito S, Ishikawa M: The Arabidopsis cucumovirus multiplication 1 and 2 loci encode translation initiation factors 4E and 4G. *J Virol* 78:6102–6111, 2004.
- 5) Kanyuka K, Druka A, Caldwell DG, Tymon A, McCallum N, Waugh R, Adams MJ: Evidence that the recessive bymovirus resistance locus *rym4* in barley corresponds to the eukaryotic translation initiation factor 4E gene. *Mol Plant Pathol* 6:449–458, 2005.
 - 6) Stein N, Perovic D, Kumlehn J, Pelli B, Stracke S, Streng S, Ordon F, Graner A: The eukaryotic translation initiation factor 4E confers multiallelic recessive Bymovirus resistance in *Hordeum vulgare* (L.). *Plant J* 42:912–922, 2005.
 - 7) Ruffel S, Dussault MH, Palloix A, Moury B, Bendahmane A, Robaglia C, Caranta C: A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E). *Plant J* 32:1067–1075, 2002.
 - 8) Nieto C, Morales M, Orjeda G, Clepet C, Monfort A, Sturbois B, Puigdomènech P, Pitrat M, Caboche M, Dogimont C, Garcia-Mas J, Aranda MA, Bendahmane A: An eIF4E allele confers resistance to an uncapped and non-polyadenylated RNA virus in melon. *Plant J* 48:452–462, 2006.
 - 9) Nicaise V, German-Retana S, Sanjuán R, Dubrana MP, Mazier M, Maisonneuve B, Candresse T, Caranta C, LeGall O: The eukaryotic translation initiation factor 4E controls lettuce susceptibility to the Potyvirus Lettuce mosaic virus. *Plant Physiol* 132:1272–1282, 2003.
 - 10) Ruffel S, Gallois JL, Lesage ML, Caranta C: The recessive potyvirus resistance gene *pot-1* is the tomato orthologue of the pepper *pvr2- eIF4E* gene. *Mol Genet Genomics* 274:346–353, 2005.
 - 11) Bruun-Rasmussen M, Madsen CT, Jessing S, Albrechtson M: Stability of Barley stripe mosaic virus-induced gene silencing in barley. *Mol Plant Microbe Interact* 20:1323–1331, 2007.
 - 12) Lellis AD, Kasschau KD, Whitham SA, Carrington JC: Loss-of-susceptibility mutants of *Arabidopsis thaliana* reveal an essential role for eIF(iso)4E during potyvirus infection. *Curr Biol* 12:1046–1051, 2002.
 - 13) Duprat A, Caranta C, Revers F, Menand B, Browning KS, Robaglia C: The Arabidopsis eukaryotic initiation factor (iso)4E is dispensable for plant growth but required for susceptibility to potyviruses. *Plant J* 32:927–934, 2002.
 - 14) Decroocq V, Sicard O, Alamillo JM, Lansac M, Eyraud JP, García JA, Candresse T, Le Gall O, Revers F: Multiple resistance traits control Plum pox virus infection in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant Microbe Interact* 19:541–549, 2006.
 - 15) Nieto C, Piron F, Dalmais M, Marco CF, Moriones E, Gómez-Guillamón ML, Truniger V, Gómez P, Garcia-Mas J, Aranda MA, Bendahmane A: EcoTILLING for the identification of allelic variants of melon eIF4E, a factor that controls virus susceptibility. *BMC Plant Biol* 7:34–42, 2007.
 - 16) Pyott DE, Sheehan E, Molnar A: Engineering of CRISPR/Cas9-mediated potyvirus resistance in transgene-free Arabidopsis plants. *Mol Plant Pathol* 17:1276–1288, 2016.
 - 17) Chandrasekaran J, Brumin M, Wolf D, Leibman D, Klap C, Pearlsman M, Sherman A, Arazi T, Gal-On A: Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. *Mol Plant Pathol* 17:1140–1153, 2016.
 - 18) Macovei A, Sevilla NR, Cantos C, Jonson GB, Slamet-Loedin I, Čermák T, Voytas DF, Choi IR, Chadha-Mohanty P: Novel alleles of rice eIF4G generated by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis confer resistance to Rice tungro spherical virus. *Plant Biotechnol J* 16:1918–1927, 2018.
 - 19) Gomez MA, Lin ZD, Moll T, Chauhan RD, Hayden L, Renninger K, Beyene G, Taylor NJ, Carrington JC, Staskawicz BJ, Bart RS: Simultaneous CRISPR/Cas9-mediated editing of cassava eIF4E isoforms nCBP-1 and nCBP-2 reduces cassava brown streak disease symptom severity and incidence. *Plant Biotechnol J* 17:421–434, 2019.
 - 20) Kawaguchi R, Bailey-Serres J: Regulation of translational initiation in plants. *Curr Opin Plant Biol* 5:460–465, 2002.
 - 21) Wells SE, Hillner PE, Vale RD, Sachs AB: Circularization of mRNA by eukaryotic translation initiation factors. *Mol Cell* 2:135–140, 1998.
 - 22) Gallie DR: Protein-protein interactions required during translation. *Plant Mol Biol* 50:949–970, 2002.
 - 23) Wei CC, Balasta ML, Ren J, Goss DJ: Wheat germ poly(A) binding protein enhances the binding affinity of eukaryotic initiation factor 4F and (iso)4F for cap analogues. *Biochemistry* 37:1910–1916, 1998.
 - 24) Ruud KA, Kuhlow C, Goss DJ, Browning KS: Identification and characterization of a novel cap-binding protein from *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* 273:10325–10330, 1998.
 - 25) Nicaise V, Gallois JL, Chafiai F, Allen LM, Schurdi-Levraud V, Browning KS, Candresse T, Caranta C, Le Gall O, German-Retana S: Coordinated and selective recruitment of eIF4E and eIF4G factors for potyvirus infection in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* 581:1041–1046, 2007.
 - 26) Lellis AD, Allen ML, Aertker AW, Tran JK, Hillis DM, Harbin CR, Caldwell C, Gallie DR, Browning KS: Deletion of the eIFiso4G subunit of the Arabidopsis eIFiso4F translation initiation complex impairs health and viability. *Plant Mol Biol* 74:249–263, 2010.
 - 27) Gallie DR, Browning KS: eIF4G functionally differs from eIFiso4G in promoting internal initiation, cap-independent translation, and translation of structured mRNAs. *J Biol Chem* 276:36951–36960, 2001.
 - 28) Miyoshi H, Suehiro N, Tomoo K, Muto S, Takahashi T, Tsukamoto T, Ohmori T, Natsuaki T: Binding analyses for the interaction between plant virus genome-linked protein (VPg) and plant translational initiation factors. *Biochimie* 88:329–340, 2006.
 - 29) Eskelin K, Hafrén A, Rantalainen KI, Mäkinen K: Potyviral VPg enhances viral RNA Translation and inhibits reporter mRNA translation in planta. *J Virol*

- 85, 9210-92221, 2011.
- 30) Wittmann S, Chatel H, Fortin MG, Laliberté JF: Interaction of the viral protein genome linked of turnip mosaic potyvirus with the translational eukaryotic initiation factor (iso) 4E of *Arabidopsis thaliana* using the yeast two-hybrid system. *Virology* 234, 84-92, 1997.
- 31) Léonard S, Plante D, Wittmann S, Daigneault N, Fortin MG, Laliberté JF: Complex formation between potyvirus VPg and translation eukaryotic initiation factor 4E correlates with virus infectivity. *J Virol* 74, 7730-7737, 2000.
- 32) Khan MA, Miyoshi H, Gallie DR, Goss DJ: Potyvirus genome-linked protein, VPg, directly affects wheat germ *in vitro* translation: interactions with translation initiation factors eIF4F and eIFiso4F. *J Biol Chem* 283:1340-1349, 2008.
- 33) Díaz JA, Nieto C, Moriones E, Truniger V, Aranda MA: Molecular characterization of a Melon necrotic spot virus strain that overcomes the resistance in melon and nonhost plants. *Mol Plant Microbe Interact* 17:668-675, 2004.
- 34) Truniger V, Nieto C, González-Ibeas D, Aranda M: Mechanism of plant eIF4E-mediated resistance against a Carmovirus (Tombusviridae): cap-independent translation of a viral RNA controlled in cis by an (a)virulence determinant. *Plant J* 56:716-727, 2008.
- 35) Miras M, Truniger V, Querol-Audi J, Aranda MA: Analysis of the interacting partners eIF4F and 3'-CITE required for Melon necrotic spot virus cap-independent translation. *Mol Plant Pathol* 18:635-648, 2017.
- 36) Cotton S, Grangeon R, Thivierge K, Mathieu I, Ide C, Wei T, Wang A, Laliberté JF: Turnip mosaic virus RNA replication complex vesicles are mobile, align with microfilaments, and are each derived from a single viral genome. *J Virol* 83:10460-10471, 2009.
- 37) Grangeon R, Agbeci M, Chen J, Grondin G, Zheng H, Laliberté JF: Impact on the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus of turnip mosaic virus infection. *J Virol* 86:9255-9265, 2012.
- 38) Beauchemin C, Boutet N, Laliberté JF: Visualization of the interaction between the precursors of VPg, the viral protein linked to the genome of turnip mosaic virus, and the translation eukaryotic initiation factor iso 4E in *Planta*. *J Virol* 81:775-782, 2007.
- 39) Gao Z, Johansen E, Evers S, Thomas CL, Noel Ellis TH, Maule AJ: The potyvirus recessive resistance gene, sbm1, identifies a novel role for translation initiation factor eIF4E in cell-to-cell trafficking. *Plant J* 40:376-385, 2004.
- 40) Contreras-Paredes CA, Silva-Rosales L, Daròs JA, Alejandri-Ramírez ND, Dinkova TD: The absence of eukaryotic initiation factor eIF(iso)4E affects the systemic spread of a Tobacco etch virus isolate in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant Microbe Interact* 26:461-470, 2013.
- 41) Keima T, Hagiwara-Komoda Y, Hashimoto M, Neriya Y, Koinuma H, Iwabuchi N, Nishida S, Yamaji Y, Namba S: Deficiency of the eIF4E isoform nCBP limits the cell-to-cell movement of a plant virus encoding triple-gene-block proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Sci Rep* 7:39678-39690, 2017.
- 42) Verchot J, Angell SM, Baulcombe DC: *In vivo* translation of the triple gene block of potato virus X requires two subgenomic mRNAs. *J Virol* 72:8316-8320, 1998.
- 43) Wang A, Krishnaswamy S: Eukaryotic translation initiation factor 4E-mediated recessive resistance to plant viruses and its utility in crop improvement. *Mol Plant Pathol* 13:795-803, 2012.
- 44) Bokros CL, Hugdahl JD, Kim HH, Hanesworth VR, van Heerden A, Browning KS, Morejohn LC: Function of the p86 subunit of eukaryotic initiation factor (iso)4F as a microtubule-associated protein in plant cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:7120-7124, 1995.
- 45) Hugdahl JD, Bokros CL, Morejohn LC: End-to-end annealing of plant microtubules by the p86 subunit of eukaryotic initiation factor-(iso)4F. *Plant Cell* 7:2129-2138, 1995.

Recessive resistance to plant viruses by the deficiency of *eukaryotic translation initiation factor* genes.

Yuji FUJIMOTO, Masayoshi HASHIMOTO, Yasuyuki YAMAJI

Department of Agricultural and Environmental Biology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences,
The University of Tokyo

Plant viruses, obligate parasitic pathogens, utilize a variety of host plant factors in the process of their infection due to the limited number of genes encoded in their own genomes. The genes encoding these host factors are called susceptibility genes because they are responsible for the susceptibility of plants to viruses. Plants lacking or having mutations in a susceptibility gene essential for the infection of a virus acquire resistance to the virus. Such resistance trait is called recessive resistance because of the recessive inherited characteristics. Recessive resistance is reported to account for about half of the plant viral resistance loci mapped in known cultivated crops. *Eukaryotic translation initiation factor (eIF) 4E* family genes are well-known susceptibility genes. Although there are many reports about *eIF4E*-mediated recessive resistance to plant viruses, the mechanistic insight of the resistance is still limited. Here we review focusing on studies that have elucidated the mechanism of *eIF4E*-mediated recessive resistance.

