

植物ウイルス抵抗性の打破

ウイルス抵抗性の永続性を予測したり延長させたりできるだろうか?

誌名	日本植物病理學會報 = Annals of the Phytopathological Society of Japan
ISSN	00319473
著者名	小林, 括平 関根, 健太郎 西口, 正通
発行元	日本植物病理學會
巻/号	80巻
巻号補足	特集号
掲載ページ	p. 165-171
発行年月	2014年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



植物ウイルス抵抗性の打破：ウイルス抵抗性の永続性を予測したり 延長させたりできるだろうか？

小林 括平^{1*}・関根健太郎²・西口 正通¹

KOBAYASHI, K.^{1*}, SEKINE, K.-T.² and NISHIGUCHI, M.¹ (2014). Breakdown of plant virus resistance: can we predict and extend the durability of virus resistance?

Key words: plant virus, resistance gene, breakdown, durability, prediction, genetic background

植物ウイルス病害の防除には、既存の抵抗性遺伝子を交配育種によって導入した品種あるいは遺伝子組換えによって抵抗性を付与した品種の利用や、弱毒ウイルスを用いた交叉防御、あるいは媒介生物の化学的防除などさまざまな方法が用いられている。そのうち、天然の抵抗性遺伝子を持つ品種の利用は経済性、省力性および長年の利用経験からくる消費者の安心感などの点で最も有用な防除手段である。しかし、新しいウイルス系統の出現によって抵抗性が打破され、大きな被害が出る事例が数多く経験されている。ウイルス抵抗性が打破されず、持続的に有効な防除手段であり続ける性質を「durability (永続性)」と呼び、多くの植物病理学および育種学分野の研究者の関心を集めている。本総説では抵抗性打破の事例をいくつか示すとともに、抵抗性打破に関するリスク評価や永続性の延長を目指した最近の研究を紹介する。

1. 植物のウイルス抵抗性

ウイルスが植物細胞に感染すると、まず遺伝子を発現し、合成されたタンパク質を用いて複製し、さらに細胞間移行、植物体内での長距離移行および植物体間の移行によって感染を拡大させていく。それに対して植物は、それらの各ステップを抑制するさまざまなメカニズムの抵抗性を進化させてきた (高橋, 2004)。Table 1 に代表的な抵抗性遺伝子を示す。クラス 1 抵抗性遺伝子は、最も広範な植物で認め

られる、いわゆる免疫レセプターをコードする遺伝子であり、多くは過敏感応 (HR) を伴う抵抗性を支配する (Moffett, 2009)。このクラスの抵抗性遺伝子にコードされるタンパク質は、NB-ARC (nucleotide-binding adaptor shared by APAF-1, R proteins, and CED-4) ドメインおよび LRR (leucine-rich repeat) ドメインを持つことから NB-LRR タンパク質と呼ばれ、ウイルス以外の病原体に対する抵抗性タンパク質とも共通した構造を持つ (Dangl and Jones, 2001)。

クラス 2 抵抗性遺伝子はウイルスの感染サイクルに必要な宿主因子の劣性アレルであり、翻訳開始因子 eIF4E および eIF(iso)4E の遺伝子とその代表例である。これらの翻訳開始因子はポティウイルスの VPg と相互作用することが知られている (Robaglia and Caranta, 2006)。また、翻訳開始因子はキャップ構造を持つ RNA ウイルス (Yoshii *et al.*, 2004) およびこれを持たない RNA ウイルスとの相互作用にも関与する (Truniger *et al.*, 2008)。ウイルス複製に必須の宿主因子における突然変異 (Hagiwara *et al.*, 2003; Yamanaka *et al.*, 2002) も劣性のウイルス抵抗性遺伝子として有用と考えられるが、これまで翻訳開始因子のアレル以外に作物に導入されて利用されているものはない。ウイルスの宿主範囲を決定する要因として細胞間移行の成否がある (Furusawa and Okuno, 1978; Meshi *et al.*, 1987; Nishiguchi *et al.*, 1980)。その特異性を決定する宿主遺伝子もクラス 2 抵抗性遺伝子と見なせるが、これまで同定されていない。

¹ 愛媛大学農学部 (〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7) Faculty of Agriculture, Ehime University, Ehime 790-8566, Japan

² (公財) 岩手生物工学研究センター (〒024-0003 岩手県北上市成田 22-174-4) Iwate Biotechnology Research Center, Iwate 024-0003, Japan

*Corresponding author (E-mail: kappei@ehime-u.ac.jp)

この総説は先に Journal of General Plant Pathology の 80 巻 4 号の pp. 327 ~ 336 に掲載された総説 (<http://dx.doi.org/10.1007/s10327-014-0527-1>) の抄訳です。報文としてのプライオリティーは JGPP 掲載の総説にありますので、引用の際には本総説ではなく JGPP の総説を用いるようにご注意ください。

Table 1. Classification of natural plant virus resistance genes.

Class	Gene products ^a	Inheritance ^b	Resistance ^c	Examples (gene names or protein names)
1	NB-LRR R-proteins	Dominant	HR ^d and ER ^e	<i>HRT</i> , <i>L</i> , <i>N</i> , <i>N'</i> , <i>RCY1</i> , <i>Rx</i> , <i>Sw-5</i> , <i>Tm-2</i> , <i>Tm-2²</i> , etc.
2	Essential host factors	Recessive	Gene expression	<i>Pvr1</i> , <i>mol</i> , <i>sbm1</i> , <i>isp-1</i> *, etc. (encoding eIF4E or eIF(iso)4E)
			Replication	<i>tom-1</i> *, <i>tom-2</i> *, <i>tom-3</i> *, etc.
others	Jacalin-type lectins	Dominant	LDM ^f , Replication	<i>RTM1</i> , <i>JAX1</i>
	Small heat shock-like	Dominant	LDM	<i>RTM2</i>
	Inhibitor of replication	Incompletely dominant	Replication	<i>Tm-1</i>

^a Protein products encoded by the natural resistance genes^b The mode of inheritance of the natural resistance genes^c Resistance phenotype or resistance target^d Hypersensitive reaction^e Extreme resistance^f Long-distance movement* These are mutants of *Arabidopsis thaliana* genes isolated after artificial mutagenesis and phenotypic screening.

RNAサイレンシングはウイルスに対する基礎的な防御機構として受け入れられている (Wang *et al.*, 2012). ウイルスはこれに対抗してサイレンシング抑制因子 (VSRs) を進化させたが, VSRs はクラス 1 抵抗性遺伝子の標的とされていることが多く, RNAサイレンシングとクラス 1 の抵抗性が植物とウイルスの進化上の軍拡競争に重要であることが示唆される (Moffett, 2009).

近年, クラス 1 および 2 に属さない抵抗性遺伝子に関する理解が進んでおり, シロイヌナズナのポティウイルス抵抗性を主導する複数の因子 (Cosson *et al.*, 2012), ポテックスウイルスに対する抵抗性に関わるレクチン様タンパク質 (Yamaji *et al.*, 2012), およびウイルスの複製酵素と複合体を形成して複製を阻害する宿主タンパク質 (Ishibashi *et al.*, 2012) などが知られている.

2. クラス 1 ウイルス抵抗性の打破

クラス 1 抵抗性遺伝子は, 植物とウイルスの間の軍拡競争によって進化してきたと考えられる植物病害抵抗性遺伝子ファミリーに属する (Jones and Dangl, 2006). 植物は病原体感染を受けた際, 病原体関連分子パターン (PAMPs) をパターン認識レセプターで認識し, PAMPs 誘導性免疫 (PTI) を活性化する (Boller and He, 2009). 一方, 病原体は PTI を打ち破るために病原因子として種々のエフェクターを進化させた (Göhre and Robatzek, 2008). 植物はエフェクターを非病原力 (Avr) 因子として認識する免疫レセプターを進化させ, エフェクター誘導性免疫と呼ばれるより強い抵抗性機構を持つに至った. RNAサイレンシングはウイルスに対する PTI に準ずるものと考えられ, その抑制因子である VSRs はウイルスの病原力エフェクターと考えられる. その

エフェクターを Avr 因子として認識するのがクラス 1 抵抗性遺伝子がコードする免疫レセプターである (Moffett, 2009).

細菌, および糸状菌などの真核生物である病原体では, エフェクターを失ったり, 新たなものを獲得したりすることによって抵抗性を打破することができる. しかし, ウイルスゲノムがコードできるタンパク質には限りがあり, さらに多くの場合, ウイルスタンパク質は多機能性で病原因子としての機能以外の重要な機能を担っていることが多い. そのため, ウイルス抵抗性の打破は, もっぱらウイルスタンパク質の変異によって起こる. たとえば, トマトのトマトモザイクウイルス (ToMV) 抵抗性遺伝子 *Tm-2* および *Tm-2²* は ToMV の細胞間移行因子 (MP) を認識するが, MP の変異によって打破されることが分かっている (Meshi *et al.*, 1989). 興味深いことに, より永続的な, すなわち打破されにくい *Tm-2²* を打破する ToMV 系統は特に低い病原性を示す (Lanfermeijer *et al.*, 2003). 同様に, トウガラシ徴斑ウイルス (PMMoV) の *L³* 抵抗性打破系統は, 非打破系統よりも適応度が低く (Sakamoto *et al.*, 2008), 抵抗性打破には感染能の低下が伴うと考えられる. しかし, それでも多くの抵抗性打破の事例が報告されている (García-Arenal and McDonald, 2003).

ジャガイモウイルス X (PVX) に対して抵抗性遺伝子 *Rx1* および *Rx2* は高度抵抗性 (ER) を示すが, HR をともなう抵抗反応を支配する抵抗性遺伝子と同様に NB-LRR 型の免疫レセプターをコードし, *Rx* の Avr 因子である PVX の外被タンパク質 (CP) と一過性発現系で共発現させると HR 様の細胞死を誘導する (Bendahmane *et al.*, 2000). このことから ER も HR をともなう抵抗性と同一シグナル伝達系に依存していることが示唆される. 事実, HR をともなう抵抗反応を

支配する抵抗性遺伝子を高発現させると ER を示す (Sekine *et al.*, 2008; Tomita *et al.*, 2011).

クラス 1 抵抗性遺伝子産物は病原体を認識するレセプターであり、その打破は認識の回避によって起こる。完全に認識を回避して感受性病徴を発現する抵抗性打破変異ウイルスもある。しかし、認識の回避が不完全なものでは遅延型の抵抗反応が起こり、壊死性の病徴を発現させるため、被害は感受性品種を利用した場合よりも大きくなることもある。近年の研究から全身壊死は、HR 誘導と同じ分子機構によることが示され (Atsumi *et al.*, 2009; Komatsu *et al.*, 2010)、不完全に打破された抵抗性遺伝子によって起こることが示唆される (Sekine *et al.*, 2006)。それゆえ、クラス 1 抵抗性の打破に関するリスクについて注意が必要である。

3. クラス 2 ウイルス抵抗性の打破

クラス 2 抵抗性遺伝子はウイルスの感染サイクルに重要なプロセスに関与する宿主因子のアレルである。それゆえ、このクラスの抵抗性は宿主因子がウイルス側の因子と相互作用しないことに依存している。たとえば、翻訳開始因子 eIF4E/eIF(iso)4E とポティウイルス VPg との相互作用の重要性は、それらの物理的相互作用とウイルスの感染性との関係、およびシロイヌナズナの変異体を用いた遺伝学的解析によって示され、さらには、劣性のポティウイルス抵抗性が eIF4E/eIF(iso)4E のアレルであることが示された (Gao *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2005; Léonard *et al.*, 2004; Nicaise *et al.*, 2003; Ruffel *et al.*, 2005)。これによって、ウイルスの感染サイクルに重要なプロセスに関与する宿主因子のアレルが劣性の抵抗性遺伝子となるという概念が確立した。これまでに実用作物品種においてよく研究されているのは、クラス 2 では eIF4E/eIF(iso)4E だけであり、他のクラス 2 抵抗性の打破については言及しない。

eIF4E/eIF(iso)4E が抵抗性遺伝子として機能するメカニズムとして、単純に翻訳効率がウイルス感染の成否を決めていることが考えられる。キャップのある、あるいはキャップのない RNA をゲノムとして持つウイルスの場合はこの図式が成り立つようである (Truniger *et al.*, 2008; Yoshii *et al.*, 2004)。しかし、ポティウイルスと eIF4E/eIF(iso)4E の相互作用はそう単純ではない。確かに抵抗性のアレルにコードされる eIF4E/eIF(iso)4E は VPg と相互作用せず、抵抗性打破株の VPg に認められる変異は相互作用を回復させる (Charron *et al.*, 2008; Roudet-Tavert *et al.*, 2007; Yeam *et al.*, 2007)。しかし、他のポティウイルス遺伝子の変異も劣性のポティウイルス抵抗性の打破に寄与する (Abdul-Razzak *et al.*, 2009; Nakahara *et al.*, 2010; Tavert-Roudet *et al.*, 2012)。ダ

イズの *sbmI* 遺伝子は eIF4E をコードしており、ウイルスの感染拡大を抑制するが、最初に感染した細胞におけるウイルス RNA の翻訳にはあまり影響しない (Ashby *et al.*, 2011)。これらの結果から、eIF4E を介する抵抗性は単なる翻訳の低下によるものではなく、ウイルス感染サイクルのいずれかのステップにおける複雑な分子間相互作用によるものであることが示唆される。

クラス 1 のウイルス抵抗性と異なり、クラス 2 抵抗性遺伝子はその抵抗性メカニズムに細胞死は関与しないため、打破された場合にも全身壊死のような重篤な症状を示すリスクはない。そのため、クラス 2 抵抗性遺伝子はクラス 1 よりも抵抗性品種の育種に適していると言えるだろう。

4. 抵抗性打破リスクの評価

(1) インフォマティクスによる抵抗性打破リスクの評価

抵抗性打破は農業生産に大きな被害を与えうるため、抵抗性打破のリスクを評価しようとする研究が行われた。古典的な研究 (García-Arenal and McDonald, 2003) では、抵抗性の打破に関する膨大な資料を基に抵抗性打破リスクを評価する指標として「進化ポテンシャル」を以下の 3 つの基準で算定している。1) 次の宿主に感染しうるウイルスの有効ポピュレーションサイズ：宿主範囲が広いほど、伝搬効率が高いほど、また、ウイルスが安定であるほど高リスクである。2) 遺伝子流動性あるいはウイルスの伝搬能：ベクターや人間の活動の関与を問わず、ウイルスがどれだけの距離を移動しうるかによって評価され、大きいほど高リスクである。3) 複製機構：ウイルス系統間での遺伝情報を交換しうるかどうかによって評価され、高頻度であるほど高リスクである。この研究は抵抗性打破に関わる遺伝子変異について考慮しておらず、*Tm-1* および *Tm-2*² で見られるような同じ植物とウイルスの組合せにおける異なる抵抗性遺伝子の打破リスクの違いを説明できない。最近の研究では、抵抗性打破変異ウイルスの Avr 因子の変異による適応度の低下に注目したものがある (Janzac *et al.*, 2009)。彼らは、抵抗性打破変異株の適応度を評価するために抵抗性打破リスクと Avr 因子の多様性の関係を解析し、同義置換と非同義置換の比が抵抗性打破のリスクと相関することを見出し、ウイルスの Avr 因子の進化に対する制約によって抵抗性打破リスクを評価できると結論した。しかし、このアプローチも *Tm-1* および *Tm-2*² のように共通するウイルス Avr 因子を認識する抵抗性遺伝子の永続性の違いを説明できない。

別の研究では、感染過程の詳細な数学モデルを利用して (Fabre *et al.*, 2009)。この研究は、具体的なウイルス抵抗性の打破については何ら言及していないが、抵抗性打破

リスクと相関するいくつかのパラメーターを明確に示した。すなわち、抵抗性打破に必要な変異の数、それらの変異がトランジションかトランスバージョンかという特性、ウイルスの変異率、および変異ウイルスの適応度がどれほど低下したかの4点である。上述のように理論的な抵抗性打破リスクの予測は、すべての抵抗性遺伝子に適用できるわけではなかった。それに対し、この数学モデルから導き出された重要なパラメーターは、疫学調査あるいは実験による研究の結果から抵抗性打破のリスクを予測するのに役立つだろう。化学変異原処理やエラープロードン PCR などで変異を導入したウイルス集団を用いることで各パラメーターを実験的に決定し、より信頼性の高い抵抗性打破リスクの評価が可能になるだろう。

(2) 構造生物学的手法による抵抗性打破リスクの評価

クラス1および2、いずれのウイルス抵抗性においても、その分子レベルの基盤となるのはタンパク質間相互作用であり、それゆえ分子間相互作用の研究を進めることによって抵抗性打破に結びつくウイルスタンパク質の構造変化を予測できるかもしれない。クラス2の抵抗性に関しては、eIF4Eの立体構造はすでに決定され (Marcotrigiano *et al.*, 1997)、抵抗性に関与するアミノ酸残基の位置は三次構造中で決定されている (Ashby *et al.*, 2011; Yeam *et al.*, 2007)。しかし、ポティウイルスのVPgに関しては相同性にに基づく分子モデリングの報告があるだけで、実際の構造は決定されていない (Jebasingh *et al.*, 2011; Plochocka *et al.*, 1996)。VPgは不定形タンパク質であるとする報告もある (Grzela *et al.*, 2008; Rantalainen *et al.*, 2011)。それゆえ変異VPgがウイルス感染サイクルにおいて機能し得るかどうかをアミノ酸配列から予測することは困難であろう。

クラス1抵抗性遺伝子産物によるウイルス認識機構の研究に基づく抵抗性打破リスクの評価も困難だが、魅力的な研究分野である。これまでに多くのNB-LRR型の抵抗性タンパク質が遺伝子クローニングされた (Moffett, 2009)。抵抗性タンパク質による病原体認識機構は多様なものと考えられるが、ベイト・アンド・スイッチモデルと名付けられた包括的なモデルが提唱された (Collier and Moffett, 2009)。このモデルでは、NBのN末端側のドメインと相互作用する第三のタンパク質 (ベイト=罠に仕掛けるエサ) を想定するが、これが病原因子としてのエフェクターの標的またはそのデコイ (おとり) であり、これにおびき寄せられたエフェクターを抵抗性タンパク質が認識するというモデルである。これまでにいくつかのベイトとして働くたんぱく質が同定されているが、ウイルス抵抗性タンパク質に関しては、NRIP1とRanGAP2の二種類が知られているに過ぎない

(Caplan *et al.*, 2008; Sacco *et al.*, 2007)。ベイトタンパク質の病原体認識における重要性は明らかであるが、しかし、病原体認識の特異性を決定しているのはLRRドメインである。

LRRドメインが抵抗性タンパク質の特異性決定に重要であることはこれまでにたびたび示されている (Moffett, 2009)。PVX抵抗性遺伝子であるRxでは、ランダムな変異導入によって、認識できるウイルス系統およびウイルス種の範囲が広がったことが報告されている (Farnham and Baulcombe, 2006)。同様な認識範囲の拡大は進化の過程でも起こったと考えられる。トウガラシ属植物のタバモウイルス抵抗性L遺伝子には4種類のアレル、 L^1 、 L^2 、 L^3 および L^4 があり、これらはタバモウイルスのCPをAvrとして認識するが、その認識範囲は階層的に異なる (Tomita *et al.*, 2011)。 L^1 アレルよりも L^2 は多くのタバモウイルスを認識でき、さらに L^3 アレルおよび L^4 はより広範なタバモウイルスを認識できるが、 L^4 を打破するP_{1,2,3,4}病原型のPMMoVもすでに出現している (Genda *et al.*, 2007)。遺伝子クローニング、キメラ解析および変異解析によってL遺伝子の各アレルとタバモウイルスCPの階層的な相互作用がL抵抗性タンパク質のLRRドメインの複数の反復単位とCPとの相互作用によって成り立つことが示された (Tomita *et al.*, 2011)。*Nicotiana sylvestris*のN'遺伝子はタバコモザイクウイルス (TMV) 以外の広範なタバモウイルスに対する抵抗性を支配し、CPをAvrとして認識することからトウガラシ属のL遺伝子のパラログと考えられてきた (Culver, 2002)。キメラ解析によってN'およびL抵抗性タンパク質の認識特性はやはりLRRドメインが担っており、それらのアミノ酸配列は89.2%と高い類似性を示すがCPの認識様式は異なっていることが示された (Sekine *et al.*, 2012)。

NB-LRR型の抵抗性タンパク質による病原体認識におけるLRRドメインの重要性にもかかわらず、LRRとAvr因子の分子間相互作用についてはほとんど分かっていない。*Nicotiana glutinosa*由来のタバモウイルス抵抗性N遺伝子は、Avr因子であるp50と直接相互作用することが報告されているが、LRRだけでは相互作用することはできず、NB-LRRの形でのみp50と相互作用する (Ueda *et al.*, 2006)。以上のことを総合すると、現時点では抵抗性タンパク質とAvr因子の構造から抵抗性打破のリスクを評価するのは技術的に困難と考えられる。分子構造に基づく論理的な抵抗性打破リスク評価と永続的な抵抗性を合理的に設計するためには、抵抗性タンパク質の高次構造や分子間相互作用についてさらに研究を進める必要がある。

クラス1抵抗性遺伝子に共通した特徴に温度感受性がある (Richael and Gilchrist, 1999; Wang *et al.*, 2009; Whitham *et*

al., 1996). 抵抗性品種が高温にさらされると抵抗性遺伝子が機能しなくなり病原体が増殖するが、温度が下がると増殖した病原体は抵抗性遺伝子による選択圧を受ける。このような増殖と選択の繰り返しは、抵抗性打破のリスクを増大するであろう。トウガラシ属のトバモウイルス抵抗性遺伝子、*L* 遺伝子には高温機能性のアレル、*L^{la}* が知られている (Sawada *et al.*, 2004)。この高温機能性のメカニズムを明らかにすれば、永続的な抵抗性を開発する一助となるだろう。

5. 抵抗性遺伝子の永続性を高める方法

クラスに関わらず、それぞれの抵抗性遺伝子はその永続性において千差万別である。新規の抵抗性遺伝子を発見することや既知の抵抗性遺伝子の永続性を高めることは容易ではないので、抵抗性遺伝子の永続性を高めるには別の方法を考えなければならない。抵抗性遺伝子の永続性に対する遺伝的背景の効果に関する最近の研究は非常に示唆に富む。遺伝的背景とは病害抵抗性に関与する量的遺伝子座 (QTLs) の有無を指す。病害抵抗性に関与する QTLs は、いわゆる抵抗性遺伝子のように病原体を完全に抑制することはできないが、病害の程度を抑制することができるもので、QRLs (quantitative resistance loci; Poland *et al.*, 2009) とも呼ばれる。QRLs があると、ウイルス、糸状菌および線虫に対する抵抗性遺伝子が打破を免れることが示された (Brun *et al.*, 2010; Fournet *et al.*, 2013; Palloix *et al.*, 2009)。QRLs による永続性の向上のメカニズムに関する研究では、QRLs の存在によって打破に必要な病原体の変異数が増えることが示された (Quenouille, *et al.*, 2013)。これらの研究は、たとえ個々の遺伝子の効果は小さくとも、それらを組み合わせて使用することは、持続的な病害防除に有用であることを強く示唆する。

おわりに

ウイルス抵抗性遺伝子の打破は不可避であり、世界中で農業生産の脅威であり続ける。それゆえ我々は植物病理学 100 年の歴史からより多くを学び、永続的な病害防除のための基礎および応用研究を推進しなければならない。抵抗性主働遺伝子の永続性に対する遺伝的背景の効果に関する洞察に富む研究を紹介したが (Palloix *et al.*, 2009; Quenouille *et al.*, 2013)、これらの研究は抵抗性遺伝子を組み合わせて使用することの有用性に加え、さまざまな防除戦略を組み合わせる用いることの重要性を想起させる。既知の病害に対しても有用な新規抵抗性遺伝子を発見するのは容易ではないため、抵抗性が打破された場合には、遺伝子組換えによる抵抗性を利用する可能性も排除すべきではない。一方、新興病害に対しては、抵抗性主働遺伝子と並行して QRLs の探索に

も取り組むべきであろう。ゲノム科学の発展によって、QTLs の同定や育種系統にそれらを導入するピラミッディングも困難ではなくなっているが、それでも新規抵抗性品種の開発には時間がかかる。これらの新しい技術と従来からある耕種の防除技術を組み合わせて使用することで、持続的な病害防除への道が開かれるだろう。

引用文献

- Abdul-Razzak, A., Guiraud, T., Peypelut, M., Walter, J., Houvenaghel, M.C., Candresse, T., Le Gall, O. and German-Retana, S. (2009). Involvement of the cylindrical inclusion (CI) protein in the overcoming of an eIF4E-mediated resistance against Lettuce mosaic potyvirus. *Mol. Plant Pathol.* 10: 109–113.
- Ashby, J.A., Stevenson, C.E.M., Jarvis, G.E., Lawson, D.M. and Maule, A.J. (2011). Structure-based mutational analysis of eIF4E in relation to *sbm1* resistance to pea seed-borne mosaic virus in pea. *PLoS One* 6: e15873.
- Atsumi, G., Kagaya, U., Kitazawa, H., Nakahara, K.S. and Uyeda, I. (2009). Activation of the salicylic acid signaling pathway enhances *Clover yellow vein virus* virulence in susceptible pea cultivars. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 22: 166–175.
- Bendahmane, A., Querci, M., Kanyuka, K. and Baulcombe, D.C. (2000). *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.
- Boller, T. and He, S.Y. (2009). Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. *Science* 324: 742–744.
- Brun, H., Chèvre, A.M., Fitt, B.D.L., Powers, S., Besnard, A.L., Ermel, M., Huteau, V., Marquer, B., Eber, F., Renard, M. and Andrivon, D. (2010). Quantitative resistance increases the durability of qualitative resistance to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. *New Phytol.* 185: 285–299.
- Caplan, J.L., Mamillapalli, P., Burch-Smith, T.M., Czymbek, K. and Dinesh-Kumar, S.P. (2008). Chloroplastic protein NRIP1 mediates innate immune receptor recognition of a viral effector. *Cell* 132: 449–462.
- Charron, C., Nicolai, M., Gallois, J.L., Robaglia, C., Moury, B., Palloix, A. and Caranta, C. (2008). Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant eIF4E and potyviral VPg. *Plant J.* 54: 56–68.
- Collier, S.M. and Moffett, P. (2009). NB-LRRs work a “bait and switch” on pathogens. *Trends Plant Sci.* 14: 521–529.
- Cosson, P., Schurdi-Levraud, V., Le, Q.H., Sicard, O., Caballero, M., Roux, F., Le Gall, O., Candresse, T. and Revers, F. (2012). 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.
- Culver, J.N. (2002). Tobacco mosaic virus assembly and disassembly: determinants in pathogenicity and resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 287–308.
- Dangl, J.L. and Jones, J.D.G. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411: 826–833.
- Fabre, F., Bruchou, C., Palloix, A. and Moury, B. (2009). Key determinants of resistance durability to plant viruses: insights from

- a model linking within- and between-host dynamics. *Virus Res.* 141: 140–149.
- Farnham, 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. U S A* 103: 18828–18833.
- Fournet, S., Kerlan, M.C., Renault, L., Dantec, J.P., Rouaux, C. and Montarry, J. (2013). Selection of nematodes by resistant plants has implications for local adaptation and cross-virulence. *Plant Pathol.* 62: 184–193.
- Furusawa, I. and Okuno, T. (1978). Infection with BMV of mesophyll protoplasts isolated from five plant species. *J. Gen. Virol.* 40: 489–491.
- Gao, Z., Johansen, E., Eysers, S., Thomas, C.L., Noel Ellis, T.H. and Maule, A.J. (2004). 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.
- García-Arenal, F. and McDonald, B.A. (2003). An analysis of the durability of resistance to plant viruses. *Phytopathology* 93: 941–952.
- Genda, Y., Kanda, A., Hamada, H., Sato, K., Ohnishi, J. and Tsuda, S. (2007). Two amino acid substitutions in the coat protein of *Pepper mild mottle virus* are responsible for overcoming the *L⁴* gene-mediated resistance in *Capsicum* spp. *Phytopathology* 97: 787–793.
- Göhre, V. and Robatzek, S. (2008). Breaking the barriers: microbial effector molecules subvert plant immunity. *Annu. Rev. Phytopathol.* 46: 189–215.
- Grzela, R., Szolajska, E., Ebel, C., Madern, D., Favier, A., Wojtal, I., Zagorski, W. and Chroboczek, J. (2008). Virulence factor of potato virus Y, genome-attached terminal protein VPg, is a highly disordered protein. *J. Biol. Chem.* 283: 213–221.
- Hagiwara, Y., Komoda, K., Yamanaka, T., Tamai, A., Meshi, T., Funada, R., Tsuchiya, T., Naito, S. and Ishikawa, M. (2003). Subcellular localization of host and viral proteins associated with tobamovirus RNA replication. *EMBO J.* 22: 344–353.
- Ishibashi, K., Mawatari, N., Miyashita, S., Kishino, H., Meshi, T. and Ishikawa, M. (2012). Coevolution and hierarchical interactions of *Tomato mosaic virus* and the resistance gene *Tm-1*. *PLoS Pathog.* 8: e1002975.
- Janzac, B., Fabre, F., Palloix, A. and Moury, B. (2009). Constraints on evolution of virus avirulence factors predict the durability of corresponding plant resistances. *Mol. Plant Pathol.* 10: 599–610.
- Jebasingh, T., Jose, M., Kasin Yadunandam, A., Bachiyarani, S., Srividhya, K.V., Krishnaswamy, S. and Usha, R. (2011). Molecular modeling and conformational analysis of native and refolded genome-linked protein of Cardamon mosaic virus. *Indian J. Biochem. Biophys.* 48: 336–340.
- Jones, J.D.G. and Dangl, J.L. (2006). The plant immune system. *Nature* 444: 323–329.
- Kang, B.C., Yeam, I., Frantz, J.D., Murphy, J.F. and Jahn, M.M. (2005). The *pvr1* locus in *Capsicum* encodes a translation initiation factor eIF4E that interacts with *Tobacco etch virus* VPg. *Plant J.* 42: 392–405.
- Komatsu, K., Hashimoto, M., Ozeki, J., Yamaji, Y., Maejima, K., Senshu, H., Himeno, M., Okano, Y., Kagiwada, S. and Namba, S. (2010). Viral-induced systemic necrosis in plants involves both programmed cell death and the inhibition of viral multiplication, which are regulated by independent pathways. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23: 283–293.
- Lanfermeijer, F.C., Dijkhuis, J., Sturre, M.J.G., de Haan, P. and Hille, J. (2003). Cloning and characterization of the durable tomato mosaic virus resistance gene *Tm-2²* from *Lycopersicon esculentum*. *Plant. Mol. Biol.* 52: 1037–1049.
- Léonard, S., Viel, C., Beauchemin, C., Daigneault, N., Fortin, M.G. and Laliberté, J.F. (2004). Interaction of VPg-Pro of *Turnip mosaic virus* with the translation initiation factor 4E and the poly(A)-binding protein *in planta*. *J. Gen. Virol.* 85: 1055–1063.
- Marcotrigiano, J., Gingras, A.C., Sonenberg, N. and Burley, S.K. (1997). Cocystal structure of the messenger RNA 5'cap-binding protein (eIF4E) bound to 7-methyl-GDP. *Cell* 89: 951–961.
- Meshi, T., Watanabe, Y., Saito, T., Sugimoto, A., Maeda, T. and Okada, Y. (1987). Function of the 30 kd protein of tobacco mosaic virus: involvement in cell-to-cell movement and dispensability for replication. *EMBO J.* 6: 2557–2563.
- Meshi, T., Motoyoshi, F., Maeda, T., Yoshiwoka, S., Watanabe, H. and Okada, Y. (1989). Mutations in the tobacco mosaic virus 30-kD protein gene overcome *Tm-2* resistance in tomato. *Plant Cell* 1: 515–522.
- Moffett, P. (2009). Mechanisms of recognition in dominant *R* gene mediated resistance. *Adv. Virus Res.* 75: 1–33.
- Nakahara, K.S., Shimada, R., Choi, S.H., Yamamoto, H., Shao, J. and Uyeda, I. (2010). Involvement of the P1 cistron in overcoming eIF4E-mediated recessive resistance against *Clover yellow vein virus* in pea. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23: 1460–1469.
- Nicaise, V., German-Retana, S., Sanjuán, R., Dubrana, M.P., Mazier, M., Maisonneuve, B., Candresse, T., Caranta, C. and LeGall, O. (2003). The eukaryotic translation initiation factor 4E controls lettuce susceptibility to the Potyvirus *Lettuce mosaic virus*. *Plant Physiol.* 132: 1272–1282.
- Nishiguchi, M., Motoyoshi, F. and Oshima, N. (1980). Further investigation of a temperature-sensitive strain of Tobacco mosaic virus: Its behaviour in tomato leaf epidermis. *J. Gen. Virol.* 46: 497–500.
- Palloix, A., Ayme, V. and Moury, B. (2009). Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytol.* 183: 190–199.
- Plochocka, D., Welnicki, M., Zielenkiewicz, P. and Ostoj-Zagórski, W. (1996). Three-dimensional model of the potyviral genome-linked protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 93: 12150–12154.
- Poland, J.A., Balint-Kurti, P.J., Wisser, R.J., Pratt, R.C. and Nelson, R.J. (2009). Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci.* 14: 21–29.
- Quenouille, J., Montarry, J., Palloix, A. and Moury, B. (2013). Farther, slower, stronger: how the plant genetic background protects a major resistance gene from breakdown. *Mol. Plant Pathol.* 14: 109–118.
- Rantalainen, K.I., Eskelin, K., Tompa, P. and Mäkinen, K. (2011). Structural flexibility allows the functional diversity of potyvirus genome-linked protein VPg. *J. Virol.* 85: 2449–2457.
- Richael, C. and Gilchrist, D. (1999). The hypersensitive response:

- A case of hold or fold? *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55: 5–12.
- Robaglia, C. and Caranta, C. (2006). Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection. *Trends Plant Sci.* 11: 40–46.
- Roudet-Tavert, G., Michon, T., Walter, J., Delaunay, T., Redondo, E. and Le Gall, O. (2007). Central domain of a potyvirus VPg is involved in the interaction with the host translation initiation factor eIF4E and the viral protein HcPro. *J. Gen. Virol.* 88: 1029–1033.
- Ruffel, S., Gallois, J.L., Lesage, M.L. and Caranta, C. (2005). The recessive potyvirus resistance gene *pot-1* is the tomato orthologue of the pepper *pvr2-eIF4E* gene. *Mol. Genet. Genomics* 274: 346–353.
- Sacco, M.A., Mansoor, S. and Moffett, P. (2007). A RanGAP protein physically interacts with the NB-LRR protein Rx, and is required for Rx-mediated viral resistance. *Plant J.* 52: 82–93.
- Sakamoto, M., Tomita, R., Hamada, H., Iwadate, Y., Munemura, I. and Kobayashi, K. (2008). A primer-introduced restriction analysis-PCR-based method to analyse *Pepper mild mottle virus* populations in plants and field soil with respect to virus mutations that break *L³* gene-mediated resistance of *Capsicum* plants. *Plant Pathol.* 57: 825–833.
- Sawada, H., Takeuchi, S., Hamada, H., Kiba, A., Matsumoto, M. and Hikichi, Y. (2004). A New tobamovirus-resistance gene, *L^{1a}*, of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 73: 552–557.
- Sekine, K.T., Ishihara, T., Hase, S., Kusano, T., Shah, J. and Takahashi, H. (2006). Single amino acid alterations in *Arabidopsis thaliana* RCY1 compromise resistance to *Cucumber mosaic virus*, but differentially suppress hypersensitive response-like cell death. *Plant Mol. Biol.* 62: 669–682.
- Sekine, K.T., Kawakami, S., Hase, S., Kubota, M., Ichinose, Y., Shah, J., Kang, H.G., Klessig, D.F. and Takahashi, H. (2008). 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.
- Sekine, K.T., Tomita, R., Takeuchi, S., Atsumi, G., Saitoh, H., Mizumoto, H., Kiba, A., Yamaoka, N., Nishiguchi, M., Hikichi, Y. and Kobayashi, K. (2012). Functional differentiation in the leucine-rich repeat domains of closely related plant virus-resistance proteins that recognize common avr proteins. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 25: 1219–1229.
- 高橋英樹 (2004) 分子レベルから見た植物の耐病性 (島本功ほか編). pp. 182–193, 秀潤社, 東京.
- Tavert-Roudet, G., Abdul-Razzak, A., Doublet, B., Walter, J., Delaunay, T., German-Retana, S., Michon, T., Le Gall, O. and Candresse, T. (2012). The C terminus of lettuce mosaic potyvirus cylindrical inclusion helicase interacts with the viral VPg and with lettuce translation eukaryotic initiation factor 4E. *J. Gen. Virol.* 93: 184–193.
- Tomita, R., Sekine, K.T., Mizumoto, H., Sakamoto, M., Murai, J., Kiba, A., Hikichi, Y., Suzuki, K. and Kobayashi, K. (2011). 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.
- Truniger, V., Nieto, C., González-Ibeas, D. and Aranda, M. (2008). 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.
- Ueda, H., Yamaguchi, Y. and Sano, H. (2006). Direct interaction between the tobacco mosaic virus helicase domain and the ATP-bound resistance protein, N factor during the hypersensitive response in tobacco plants. *Plant Mol. Biol.* 61: 31–45.
- Wang, M.B., Masuta, C., Smith, N.A. and Shimura, H. (2012). RNA silencing and plant viral diseases. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 25: 1275–1285.
- Wang, X., Goregaoker, S.P. and Culver, J.N. (2009). Interaction of the Tobacco mosaic virus replicase protein with a NAC domain transcription factor is associated with the suppression of systemic host defenses. *J. Virol.* 83: 9720–9730.
- Whitham, S., McCormick, S. and Baker, B. (1996). The *N* gene of tobacco confers resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 93: 8776–8781.
- Yamaji, Y., Maejima, K., Komatsu, K., Shiraishi, T., Okano, Y., Himeno, M., Sugawara, K., Neriya, Y., Minato, N., Miura, C., Hashimoto, M. and Namba, S. (2012). Lectin-mediated resistance impairs plant virus infection at the cellular level. *Plant Cell* 24: 778–793.
- Yamanaka, T., Imai, T., Satoh, R., Kawashima, A., Takahashi, M., Tomita, K., Kubota, K., Meshi, T., Naito, S. and Ishikawa, M. (2002). Complete inhibition of tobamovirus multiplication by simultaneous mutations in two homologous host genes. *J. Virol.* 76: 2491–2497.
- Yeam, I., Cavatorta, J.R., Ripoll, D.R., Kang, B.C. and Jahn, M.M. (2007). Functional dissection of naturally occurring amino acid substitutions in eIF4E that confers recessive potyvirus resistance in plants. *Plant Cell* 19: 2913–2928.
- Yoshii, M., Nishikiori, M., Tomita, K., Yoshioka, N., Kozuka, R., Naito, S. and Ishikawa, M. (2004). The *Arabidopsis cucumovirus multiplication 1* and *2* loci encode translation initiation factors 4E and 4G. *J. Virol.* 78: 6102–6111.