



植物抗病毒分子机制

钱礼超, 刘玉乐*

清华大学生命科学学院, 北京 100084

* 联系人, E-mail: yuleliu@mail.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2014-09-07; 接受日期: 2014-09-21

国家转基因生物新品种培育重大专项(批准号: 2014ZX08009-003)资助项目

doi: 10.1360/052014-146

摘要 在与植物病毒的长期斗争中, 植物进化出多种抗病毒机制, 其中 RNA 沉默和 *R* 基因介导的病毒抗性是最受人们关注的两种机制. 一方面, RNA 沉默是植物抵抗病毒侵染的重要手段. 植物在病毒侵染过程中可形成病毒来源的双链 RNA, 经过 DCL 蛋白的切割、加工形成 sRNA, 与 AGO 蛋白结合形成 RISC 指导病毒 RNA 的沉默, 用于清除病毒. 相应地, 病毒在与植物的竞争中进化出 RNA 沉默抑制子, 抑制宿主 RNA 沉默系统以逃避宿主 RNA 沉默抗病毒反应, 增强致病能力. 另一方面, 植物也进化出 *R* 基因介导植物对包括病毒在内的多类病原的抗性. *R* 蛋白直接或间接识别病毒因子, 通过一系列的信号转导途径激活植物防御反应, 限制病毒的进一步侵染. 对植物抗病毒的研究有助于人们对植物抗病分子基础的理解, 有重要的科学意义和潜在应用价值. 本文综述了植物抗病毒分子机制的重要进展.

关键词

植物抗病毒

RNA 沉默

R 基因

植物-病毒互作

植物在生长和发育过程中受到病毒、细菌、真菌、卵菌、线虫等多种病原物的侵害. 一些病原物能够突破植物表面的角质层、蜡质层或细胞壁等物理屏障侵入植物; 一部分成功侵入植物的病原物能够战胜或逃避宿主的免疫防御, 在植物体内存活和复制, 引起植物病害, 威胁植物生存和农业生产. 自有农耕以来, 人类都在与植物病害斗争. 农业生产的现代化进程导致作物遗传多样性下降, 增加了作物感染病原物的机率. 目前, 植物病害每年在全球范围内导致 10%~30% 的农业损失^[1].

病毒是由核酸分子(DNA 或 RNA)与蛋白质构成的, 只能在活体细胞内增殖的生命体. 多数植物病毒依赖于昆虫作为媒介进行植物间的传播, 植物病毒在寄主细胞因子的帮助下在细胞内完成复制, 进一

步通过胞间连丝和维管组织扩散到邻近细胞和远端组织, 并与植物相互作用引起病症. 在与植物病毒的长期斗争中, 植物进化出多种机制抵抗病毒侵染. 一般认为植物免疫系统由两个层面的免疫反应组成: (i) 植物通过细胞表面的跨膜识别受体识别病原物相关分子 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 所产生的免疫, 称为病原物相关分子激发的免疫 (PAMP-triggered immunity, PTI); (ii) 植物体内的抗性基因 (resistance gene, *R* gene) 通过特异地识别病原物效应因子所产生的细胞内免疫反应, 称为效应因子激发的免疫 (effector-triggered immunity, ETI)^[2,3].

RNA 沉默介导的以及 *R* 基因介导的植物病毒抗性是目前研究最为清楚的两种植物抗病毒机制. 植物通过 RNA 沉默系统沉默病毒基因组从而抵抗病毒

引用格式: 钱礼超, 刘玉乐. 植物抗病毒分子机制. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 999–1009

Qian L C, Liu Y L, et al. Molecular mechanism of plant antiviral defense. SCIENTIA SINICA Vitae, 2014, 44: 999–1009, doi: 10.1360/052014-146

侵染是植物抗病毒的重要手段. 尽管目前对于植物是否存在针对病毒的 PTI 一直存在争议, 但病毒学家通常认为 RNA 沉默是植物针对病毒的 PTI. 目前 RNA 沉默已成为整个生物研究的热点. *R* 基因介导了植物对病毒、细菌、真菌甚至线虫等多类病原物的抗性. RNA 沉默和 R 蛋白如何接触并识别病毒, 引发一系列的信号转导从而抵御病毒侵染是近年来植物抗病毒机制研究的前沿问题. 本文将结合本实验室的研究背景, 阐述植物抗病毒的分子机制以及本研究领域的最新进展.

1 RNA 沉默介导的植物抗病毒机制

1.1 RNA 沉默现象概述

sRNA(small RNA, sRNA)介导的 RNA 沉默是在植物抗病毒研究中首先发现、在生物界普遍存在的有机体抵抗病毒侵染、维持基因组稳定、调控生长发育的重要机制. sRNA 主要通过指导与其互补的 mRNA 或病毒 RNA 的降解或翻译抑制、DNA 或组蛋白修饰等过程, 抑制靶基因的表达或翻译, 从而沉默靶基因、调控靶基因表达. RNA 沉默介导的植物抗病毒反应是植物抵抗病毒侵染的有效手段; 另一方面, 病毒在与植物漫长的竞赛中进化出 RNA 沉默抑制子抑制宿主 RNA 沉默系统, 从而逃避宿主的防御、增强致病能力. RNA 沉默机制的发现使人们对宿主防御和植物-病毒互作有了革命性的认识.

1.2 病毒 RNA 沉默现象的发现

为了得到颜色更深的矮牵牛花, Jorgensen 和 Stuitje 研究小组分别将与花色形成密切相关的查尔酮合酶(*CHS*)基因导入到开紫色花的野生型矮牵牛中, 意外地发现约有四分之一的转基因后代开白花或白紫相间花, 这些植株 *CHS* 基因的表达相比野生型显著下调. 他们推测外源导入的 *CHS* 基因抑制了植物内源 *CHS* 基因的表达. 随后, 大量研究表明在植物里表达病毒基因组片段的转基因植物同样可以通过某种干扰机制抵抗该种甚至相近病毒的侵染. 即后来我们所知的病毒 RNA 沉默现象^[4-6].

病毒 sRNA 介导基因沉默参与植物抗病毒反应, 这一重要机制的阐明起源于“恢复”现象和植物病毒协生现象的发现. 早在 1928 年, Wingard 观察到接种烟草环斑病毒(*Tobacco ringspot virus*)的烟草在接种

叶出现坏死斑, 而未接种病毒的上部新生叶片则没有出现病变症状并且对同种或相近病毒的二次侵染具有抗性. 科学家将这一现象称之为“恢复”^[7,8]. 植物病毒协生现象是指植物同时感染两种病毒比分别感染产生更严重的病症. 单独接种马铃薯 X 病毒(*Potato virus X*, PVX)或马铃薯 Y 病毒(*Potato virus Y*, PVY)的烟草都表现为轻微病症, 而同时接种 PVX 和 PVY 则产生严重病症, 共侵染时 PVX 的量比单独接种 PVX 时急剧增加, 扩散也更加迅速. 有趣的是, PVX 存在与否对 PVY 的量并没有显著影响. 这表明 PVY 增强了 PVX 的致病能力^[9,10]. 随着研究的深入, 我们知道恢复现象是植物针对病毒产生的 RNA 沉默防御反应的结果, 使宿主能够有效地阻断病毒的系统性侵染. 一方面, 植物加工病毒双链 RNA 成为 sRNA, 进而降解病毒 RNA 分子, 限制病毒在感染病毒本地叶的积累. 另一方面, 沉默信号沿着病毒潜在的运动轨迹扩散至整个植株, 激发迅速的、系统性的病毒抗性^[8,11-13]. 与此相反的, 植物病毒协生现象则是因为一种病毒编码的蛋白抑制了宿主的 RNA 沉默系统, 帮助另一种病毒更容易侵染植物, 产生比两种病毒单独侵染更为严重的病症. 这种抑制宿主 RNA 沉默系统的病毒蛋白即是病毒 RNA 沉默抑制子^[14].

1.3 病毒 sRNA 的生成和抗病毒机制

RNA 沉默介导植物抗病毒反应主要包括 4 个步骤: 病毒来源的双链 RNA(dsRNA)的产生; dsRNA 经 DCL 蛋白切割, 加工成为 18~25 碱基的 sRNA; 成熟 sRNA 与 AGO 蛋白结合形成 RNA 诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC); RISC 指导与病毒 sRNA 互补的病毒基因组 RNA 的切割, 沉默靶基因^[15-17].

大多数植物病毒是 RNA 病毒, 在侵染过程中病毒基因组可在植物细胞中通过多种方式形成 dsRNA. 根据 dsRNA 产生方式的不同可将病毒来源的 sRNA 分为初级 sRNA、次级 sRNA 和发夹结构来源的 sRNA^[10]. 初级 sRNA 的生成依赖于病毒自身 RDRP(RNA dependent RNA polymerase, RDRP)合成 dsRNA. 单链 RNA 病毒在宿主细胞内通过复制产生 dsRNA 中间体, 这些长的 dsRNA 是形成病毒 sRNA 的主要原材料, 很多时候在受病毒侵染的植物细胞中, 正义 sRNA 和反义 sRNA 的积累几乎维持在同一水平^[18-20]. 产生次级 sRNA 所需的 dsRNA 则需要宿

主细胞内 RDRP 的参与, 值得一提的是大部分次级 sRNA 的产生需要初级 RNA 的引发. 发夹结构来源的 sRNA 依赖于具有发夹结构的病毒基因组或 mRNA(图 1).

拟南芥共编码 6 个 RDRP, 其中 RDR1 和 RDR6 被证明与植物抗病毒相关. 早在三十多年前植物病毒学家就发现当宿主感染病毒后 *RDRs* 基因被激活^[21,22]. *AtRDR6* 缺失突变体对黄瓜花叶病毒 (*Cucumber mosaic virus*, CMV) 等多种植物病毒敏感. 另外, *AtRDR6* 还通过参与 tasiRNA 的合成介导植物对外源基因的转基因沉默^[23~26]. 研究发现, *AtRDR6* 在本生烟草的同源基因 *NbRDR6* 在本生烟草感染 PVX 时响应系统沉默信号, 限制 PVX 的系统性迁移, 避免病毒侵入植物生长点和新生叶片^[27]. RDR1 对于植物基础抗性的维持是必需的. 水杨酸(salicylic acid, SA)处理或病毒感染都能够诱导拟南芥 *AtRDR1* 和普通烟草 *NtRDR1* 的表达, 并且分别影响拟南芥对 CMV 和烟草脆裂病毒(*Tobacco rattle virus*, TRV)的敏感性以及普通烟草对烟草花叶病毒(*Tobacco mosaic virus*, TMV)和 PVX 的敏感性. 有研究者对感

染 TMV 的拟南芥和烟草 *rdr1* 和 *rdr6* 突变体中 TMV sRNA 积累进行深度测序分析发现, 与野生型相比突变体 sRNA 的积累表现出整体性地下调, 表明 *RDR1* 和 *RDR6* 对 TMV sRNA 的生成具有重要作用^[28]. 本生烟草含有一个自然突变的、无功能的 *RDR1* 基因. 郭惠珊实验室将具有功能的普通烟草 *NtRDR1* 基因导入本生烟草中, 导致本生烟草对病毒的敏感性增加, 表型与 *NbRDR6* 基因沉默的本生烟草相似, 推测 RDR1 可能具有双重功能: (i) 增强 SA 介导的病毒抗性和(ii) 抑制 *RDR6* 介导的抗病毒 RNA 沉默. 本生烟草较普通烟草对病毒更加敏感, 面临更多的病毒压力, *RDR1* 的自然突变可能是其维持 *RDR6* 病毒抗性的结果^[29].

不同来源的 dsRNA 经 DCL 蛋白切割、加工形成病毒 sRNA, 病毒 sRNA 与 AGO 蛋白结合进入 RISC, 指导与其互补的 DNA 或 mRNA 发生转录水平或转录后水平的基因沉默, 从而抵抗病毒或外源基因的侵入. 另外, 这些可移动的沉默信号能够沿着病毒的潜在运动轨迹扩散至整个植株, 激发迅速的、系统性的病毒抗性(图 2). 沉默信号首先在感染病毒的细胞内

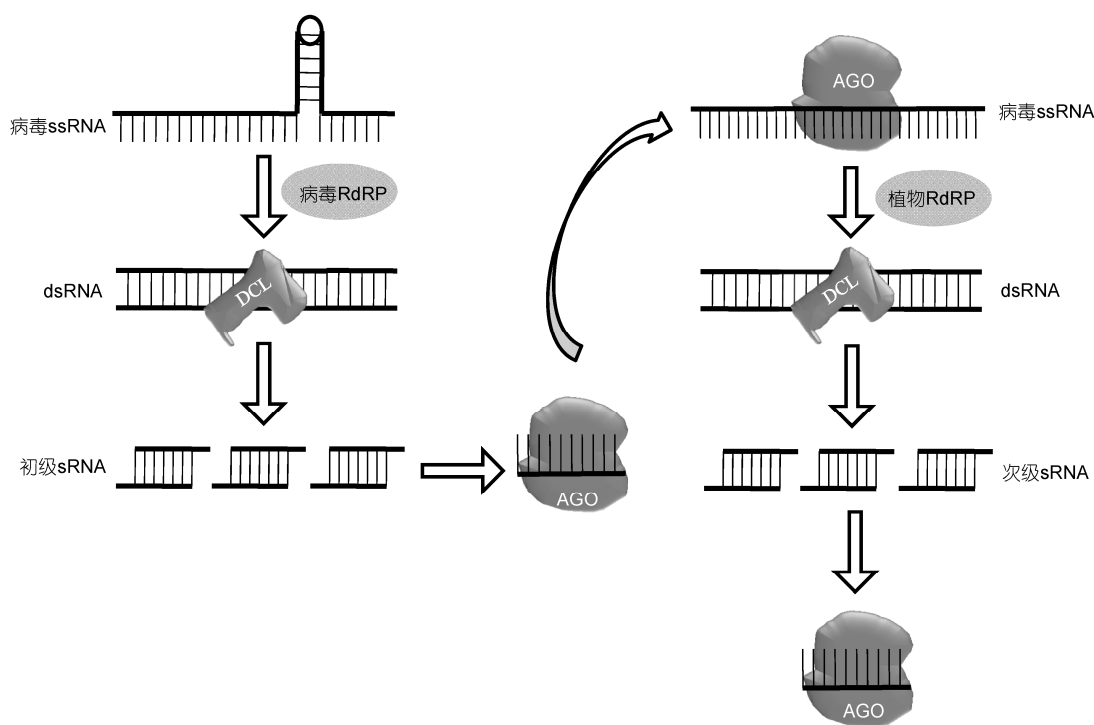


图 1 病毒 sRNA 的生成

单链 RNA 病毒依赖于病毒自身 RdRp 复制产生 dsRNA, 在 DCL 蛋白的切割下加工形成初级 sRNA. 初级 sRNA 与 AGO 蛋白结合形成 RISC, 指导 sRNA 介导的基因沉默. 另一方面, 初级 sRNA 以病毒 ssRNA 为模版利用宿主 RdRp 形成 dsRNA, 进而产生次级 sRNA^[10]

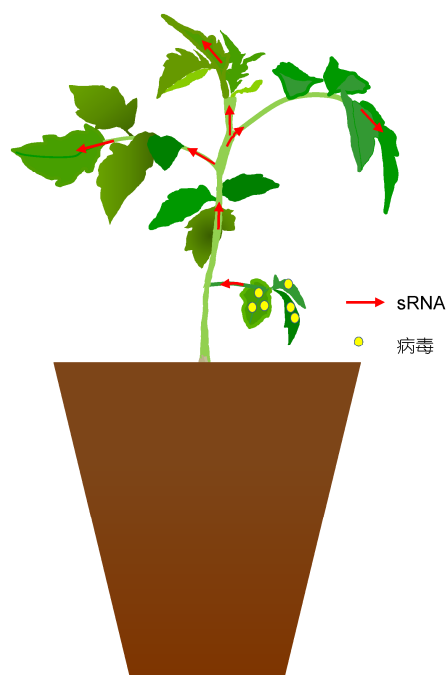


图2 病毒 sRNA 沉默介导系统性抗性模式图^[10]

植物在接种病毒的本地叶产生 sRNA 抵抗病毒侵染, 沉默信号沿着病毒潜在扩散途径迁移至整个植株, 引起系统性抗性

被激发, 沿着胞间连丝进行细胞间的扩散至邻近细胞, 之后沿着筛管进行长距离的迁移, 随后离开筛管, 到达未受病毒感染的系统性叶片细胞, 在这些细胞间沿着胞间连丝进行细胞间扩散, 在潜在的病毒感染前建立沉默信号, 实现系统性抗性^[12,30,31]。

1.4 病毒 RNA 沉默抑制子抑制宿主基因沉默系统

植物通过 RNA 沉默系统沉默病毒基因组以抑制其增殖, 抵抗病毒侵染。病毒在与植物漫长的互动中进化出 P1/HC-Pro, P38, 2b, β C1 等 RNA 沉默抑制子, 抑制宿主基因沉默系统以逃脱宿主的防御反应, 增加自身的存活机率。这些来自病毒的 RNA 沉默抑制子能够抑制包括 sRNA 的生成和功能在内的多个环节^[32,33]。

烟草蚀刻病毒(*Tobacco etch virus*, TEV)编码一个 HC-Pro 蛋白酶, HC-Pro 能够阻断 sRNA 生成而抑制宿主 RNA 沉默反应。HC-Pro 转基因植株与 sRNA 加工缺陷的突变体 *dcl1* 表型相似。PVY 同样编码一个 HC-Pro 蛋白。HC-Pro 抑制 RNA 沉默解释了 PVY 参与的植物病毒协生现象。当与 PVX 或 TEV 共同感染

植物时, HC-Pro 抑制宿主 RNA 沉默系统以逃避宿主防御反应, 使得一些原本不能侵染该植物的病毒因此而获得致病能力^[34-37]。除 HC-Pro 外, P38, P19 和 P122 等病毒 RNA 沉默抑制子也能够通过阻断 sRNA 生成过程而抑制宿主基因沉默系统。

病毒沉默抑制子也可以在 sRNA 功能环节发挥抑制作用。研究者发现, 某些病毒沉默抑制子并不影响 sRNA 的生成, 病毒 sRNA 的积累维持在正常水平, 说明 sRNA 的功能环节受到了抑制。这些病毒抑制子与 sRNA 双链结合阻止其进入 RISC, 使宿主丧失针对病毒的基因沉默功能^[38-41]。

病毒沉默抑制子还可以通过改变 sRNA 的生化结构来抑制宿主基因沉默系统。植物内源前体 sRNA 要经过 HEN1 蛋白的 3'-甲基化修饰才能成为成熟的有活性的 sRNA^[42,43]。病毒 sRNA 的成熟同样需要经过类似的修饰过程。一些病毒抑制子则可以抑制 sRNA 的甲基化修饰过程^[44,45]。尽管关于抑制子的研究大多集中在某个单一的抑制环节, 但是需要指出的是, 一些病毒抑制子能够在 RNA 沉默的多个环节发挥抑制作用。CMV 抑制子 2b 蛋白便是一个典型例子。早期研究表明 2b 能够阻断宿主系统性沉默信号的传递, 随后研究者发现 2b 与宿主 AGO1 蛋白直接互动而抑制 AGO1 蛋白的活性, 从而阻断 RISC 功能。也有研究表明, 2b 影响 SA 激活的 *RDR1* 活性而间接抑制宿主 SA 防御途径。

2 R 基因介导的植物抗病毒机制

2.1 R 基因介导的植物抗病毒反应概述

R 基因介导的疾病抗性涉及植物 R 基因直接或间接识别特定病原物的无毒基因, 进而激活植物防御反应, 在植物病原侵染点及其周边组织常引起程序性细胞死亡, 活性氧爆发, 细胞壁的加厚和增强, 新的蛋白磷酸化和去磷酸化以及一系列防御基因的激活, 随后整株植物出现非专一性的, 抗多种与起始侵染病原相关或不相关的植物病原的抗性, 称为系统获得性抗性(system acquired resistance, SAR)。在 SAR 过程中, SA 水平增加, 病原相关(PR)基因等防卫基因大量表达, 植物对各种病原的进一步侵染的抗性增强。除水杨酸外, 茉莉酸、乙烯、一氧化氮等在植物抗病中也起重要作用^[2,3,46]。

2.2 R 基因和 R 蛋白结构

目前大量参与植物抗病的 R 基因被克隆. 尽管这些 R 基因从不同的植物中被分离且抗不同的病原体, 但这些抗病毒、细菌、真菌、线虫等病害, 甚至抗蚜虫虫害的 R 基因编码的蛋白在结构上存在相似性. 目前发现的大多数 R 基因为 NBS-LRR 类型抗性基因, 编码的蛋白含有胞内核苷酸结合位点(NBS)和亮氨酸重复序列(LRR)^[47]. NBS-LRR 类型的抗性基因主要分两类: TIR-NBS-LRR 和 CC-NBS-LRR. TIR-NBS-LRR 类抗性基因编码的蛋白在 N 端含有一个类似于果蝇 Toll 和哺乳动物白介素-1 受体的结构域, 而 CC-NBS-LRR 类抗性基因编码的蛋白在 N 端含有一个 CC 结构域.

抗不同病原的抗性基因编码的蛋白具有结构相似性暗示不同 R 基因介导的抗病信号传导途径可能相似或重叠, 如大多数 TIR-NBS-LRR 类抗性基因介导抗性要求 EDS1 和 PAD4, 大多数 CC-NBS-LRR 类抗性基因介导抗性要求 NDR1, 众多的 R 基因介导抗性要求 SGT1, Rar1 和 Hsp90 等, 然而也有一些 CC-NBS-LRR 类抗性基因介导抗性要求 EDS1^[47-49].

2.3 植物病毒抗性及其植物病毒抗性基因

植物抗病毒的机制多种多样, 一方面, 植物可能缺乏病毒复制或运动所必需的基因而导致病毒不能成功侵染(这类基因介导的病毒抗性常为隐性), 如抗 PVY 的翻译起始因子 eIF4E 等^[50]; 另一方面, 植物所具有的基础抗性常足以阻止很多病毒的侵染, 如植物细胞壁可以阻挡植物病毒及其介体的侵染, 植物用 RNA 沉默机制降解病毒 RNA 或阻止其翻译, 从而抵御病毒侵染^[51]. 一些学者将 RNA 病毒诱发植物产生的 RNA 沉默类比为植物对非病毒病原的 PTI^[52]. 此外, 植物也存在依赖 BAK1 的病毒基础抗性^[53]. 更进一步, 植物也进化出 R 基因介导的病毒抗性, 在病毒侵染植物后, 植物的 R 基因编码的蛋白能直接或间接识别病毒的特定产物, 激活植物防卫反应, 诱导系统获得性抗性的产生. 尽管 R 基因介导的病毒抗性常伴随超敏反应的产生, 在病原侵染点出现细胞死亡, 然而超敏反应并不是抗性所必需的, 如马铃薯 *Rx1* 基因介导的对 PVX 的抗性以及番茄 *Tm-2*² 基因介导的抗性均不出现肉眼可见的超敏反应^[54,55].

目前共有 10 个典型的病毒抗性基因被克隆^[52](图 1), 它们分别为从烟草分离的抗 TMV 基因 *N*, 马

铃薯抗 PVX 基因 *Rx*, *Rx2*, 马铃薯抗 PVY 基因 *Y-1*, 从番茄分离的抗番茄花叶病毒(*Tomato mosaic virus*, ToMV)和 TMV 的 *Tm-2*² 和 *Tm-2* 基因, 番茄抗番茄斑点枯萎病毒(*Tomato spotted wilt virus*)基因 *Sw5*, 大豆抗大豆花叶病毒(*Soybean mosaic virus*)的 *Rsv1* 基因, 拟南芥抗 CMV 基因 *RCY1*, 拟南芥抗芜菁皱缩病毒(*Turnip crinkle virus*)基因 *HRT*, 从黑吉豆分离的抗绿豆黄花叶病毒(*Mungbean yellow mosaic virus*)基因 *CRY1*. 此外, 还克隆了几个非典型的病毒抗性基因, 包括拟南芥抗 TEV 基因 *RTM1*, *RTM2* 和 *RTM3*; 番茄黄花曲叶病毒(*Tomato yellow leaf curl virus*)抗性基因 *Y-1/Y-3*(编码依赖 RNA 的聚合酶 RDR γ), 抑制病毒复制的番茄抗 ToMV 基因 *Tm-1* 等^[52,56,57]. 在克隆的典型病毒抗性基因中, *N* 基因和抗 PVY 基因 *Y-1* 为 TIR-NBS-LRR 类病毒抗性基因, 其余均为 CC-NBS-LRR 类抗性基因.

2.4 R 基因介导的病毒抗性信号转导

目前对这些 R 基因介导的抗病毒信号转导的了解十分有限. 在这些抗病毒的 R 基因中, 对 *N* 基因介导的抗 TMV 病毒信号转导研究得最为深入. *N* 基因是 TIR-NBS-LRR 类病毒抗性基因, *N* 蛋白与 TMV 螺旋酶间接相互作用, 诱发超敏反应及病毒抗性, 将 TMV 限制在病毒侵染点^[58]. *N* 蛋白的 TIR 域涉及 TMV 的识别, *N* 蛋白进入细胞核对病毒抗性是必需的^[59]. *N* 基因编码两个转录物 NL 和 NS, 对病毒完全的抗性都是必需的^[60]. SA 和一氧化氮(NO)在 *N* 基因介导的抗病毒中有重要作用, 我们发现茉莉酸(JA)和乙烯信号途径中的关键基因 *COI1* 和 *CTR1* 在 *N* 基因介导的抗病毒信号转导中有关键作用^[61]. 另外, *N* 基因介导的 TMV 抗性也涉及多氮代谢^[62]. 我们鉴定了大量的基因涉及 *N* 基因介导的抗 TMV 信号转导, 已知 SGT1, RAR1, NPR1, EDS1 对 *N* 基因介导的抗 TMV 是必需的, 进一步发现与 SGT1 相互作用的 SCF 泛素蛋白连接酶复合体和 COP9 信号体在 *N* 基因介导的抗 TMV 中起重要作用^[61, 63-65]; 我们发现分子伴侣 HSP90 与 SGT1, RAR1 和抗性蛋白 *N* 相互作用并涉及植物抗病信号转导^[65]. MAPK(SIPK, WIPK, NTF6), MAPKK (NtMEK1, NtMEK2), MAPKKK (NPK1), 转录因子 MYB1, WRKY1, 2, 3 对 *N* 基因介导的抗 TMV 是必需的^[61, 66, 67]. 特别值得一提的是, 一个 CC-NBS-LRR 类 R 基因 *NRG1* 对 *N* 基因介导的抗 TMV

表 1 已克隆的 *R* 基因, *Avr* 和沉默抑制子^[52]

<i>R</i> 基因	植物	<i>R</i> 蛋白结构	病毒	<i>Avr</i>	沉默抑制子
<i>N</i>	<i>Nicotiana</i> sp.	TIR-NBS-LRR	烟草花叶病毒 <i>Tobacco mosaic virus</i>	复制蛋白	复制蛋白
<i>Rx1</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	CC-NBS-LRR	马铃薯 X 病毒 <i>Potato virus X</i>	外壳蛋白	p25
<i>Rx2</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	CC-NBS-LRR	马铃薯 X 病毒 <i>Potato virus X</i>	外壳蛋白	p25
<i>HRT</i>	<i>Arabidopsis</i> Dijon-17	CC-NBS-LRR	芜菁皱缩病毒 <i>Turnip crinkle virus</i>	外壳蛋白	外壳蛋白
<i>RCY1</i>	<i>Arabidopsis</i> C24	CC-NBS-LRR	黄瓜花叶病毒 <i>Cucumber mosaic virus</i>	外壳蛋白	2b
<i>Sw-5</i>	<i>Solanum</i> <i>lycopersicum</i>	CC-NBS-LRR	番茄斑点枯萎病毒 <i>Tomato spotted wilt virus</i>	复制酶	NSs
<i>Y-1</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	TIR-NBS-LRR	马铃薯 Y 病毒 <i>Potato virus Y</i>	?	HC-Pro
<i>Tm-2</i>	<i>Solanum</i> <i>lycopersicum</i>	CC-NBS-LRR	烟草花叶病毒 <i>Tobacco mosaic virus</i>	运动蛋白	复制蛋白
<i>Tm-2²</i>	<i>Solanum</i> <i>lycopersicum</i>	CC-NBS-LRR	烟草花叶病毒 <i>Tobacco mosaic virus</i>	运动蛋白	复制蛋白
<i>CYR1</i>	<i>Vigna mungo</i>	CC-NBS-LRR	绿豆黄花叶病毒 <i>Mungbean yellow mosaic virus</i>	?	转录激活因子 (AC2)

是必需的^[68]; 转录因子 SPL6、叶绿体蛋白 NRIP1 与 N 蛋白互作并参与 TMV 抗性^[69-71]。尽管 *N* 介导的 TMV 抗性涉及 N 蛋白核质穿梭^[59], 定位于质膜的激酶 IRK1 也参与 *N* 介导的 TMV 抗性, 并且其稳定性受内质网定位的分子伴侣调控^[70]。此外, miRNA 参与 *N* 基因介导的抗性^[72]; 最近, 我们发现 J-domain 蛋白 MIP1 涉及 *N* 基因介导的 TMV 抗性^[73]。另外一些基因涉及 *N* 基因介导的超敏反应, 如 caspase-like 活性的液泡蛋白酶 VPE 对 *N* 基因介导超敏反应是必需的^[74], 另外, 细胞自噬对限制免疫相关的细胞死亡的扩散是必需的^[75]。

在拟南芥 *HRT* 基因介导的 TCV 抗性中, *HRT* 涉及超敏反应的产生, 但病毒抗性必须由另一未知的隐性基因 *RRT* 参与^[76]。 *HRT* 介导的抗性依赖于 SA, 脂肪酸, 但不依赖于 JA 和乙烯, 在 EDS1, EDS5, PAD4, SID2 功能缺失突变体中, SA 积累受影响, *HRT* 介导的 TCV 抗性丧失^[77]; *HRT* 基因虽为 CC-NBS-LRR 类 *R* 基因, 它介导的 TCV 抗性不依赖 NDR1 而依赖 EDS1^[48]。像 *N* 基因一样, *HRT* 介导的抗性也依赖于光^[78]。拟南芥 ATPase CRT1 与包括 HTR 和 Rx 等多个抗病蛋白互作, 并参与多种疾病抗性^[79,80]。最近发现双链 RNA 结合蛋白 DRB4 对 *HRT* 基因介导的 TCV 抗性是必需的^[81]。虽然拟南芥 *HRT* 基因与拟南芥 *RCY1* 基因为等位基因, 二者蛋白有 90% 的同源性, 它们对应的无毒基因(TCV CP 和

CMV CP)在蛋白水平无任何同源性; *RCY1* 介导的 CMV 抗性仅部分依赖于 SA 和 EDS5, 也部分依赖于乙烯, 但不依赖于 JA^[82,83]。有意思的是 *RCY1* 转移到茄科植物本生烟中仍然抗 CMV^[84]。在马铃薯 *Rx1* 基因介导的 PVX 抗性中没有肉眼可见的超敏反应, 抗性依赖于 SGT1, HSP90, 但不依赖于 RAR1 和 EDS1^[85-87], MAPKKKalpha 涉及 *Rx1* 介导的 HR, 但不涉及 *Rx1* 介导的抗性^[87]。Rx 各结构域间互作, 并且 CC 结构域涉及识别, 而 NBS 结构域涉及信号发生, 单独表达 NBS 即可诱导 HR 的发生^[88]; RanGAP2 与 Rx 互作, 参与 Rx 的核质穿梭, 并涉及 Rx 介导的抗性^[89,90]。进一步, 通过人工进化的方式, 用 Rx 可以产生对新的病原的抗性^[91]。拟南芥 *RTM1* 和 *RTM2* 基因不是典型的 *R* 基因, 它们介导的 TEV 抗性不涉及植物防卫基因的诱导, 它们阻断 TEV 的长距离运动^[91]。

Tm-2² 基因通过识别 ToMV 运动蛋白(MP)而诱发抗病反应, ToMV MP 是 *Tm-2²* 对应的无毒蛋白^[92]。 *Tm-2²* 属于 CC-NBS-LRRs 类的抗性蛋白, 由 861 个氨基酸组成^[93]。研究表明, LRR 结构域决定了 *Tm-2²* 对病毒识别的特异性^[94,95]。SA 涉及 *Tm-2²* 抗性, 在表达降解 SA 的 *NahG* 基因的番茄中, *Tm-2²* 对 ToMV 的抗性表现为系统坏死^[96]。我们研究发现, *Tm-2²* 介导的抗性是由其表达水平决定的, 高表达导致极端抗性, 中表达导致典型的具有 HR 的抗性, 低表达导致植物系统坏死型抗性^[97]; 叶绿体蛋白 Rubisco 小亚基

对 *Tm-2²* 介导的极端抗性是必需的, 基因沉默导致极端抗性的丧失, 出现典型的超敏反应^[98]; 进一步我们鉴定了既与无毒蛋白 ToMV MP 互作又与抗性蛋白 *Tm-2²* 互作的一组 J 蛋白 MIP1. 发现 MIP1 不仅对病毒侵染是必需的, 而且对 *Tm-2²* 介导的植物抗病毒也是必需的^[73]; 进一步发现 MIP1 对多种寄主抗性和非寄主抗性也是必需的, 是目前发现的最重要的植物抗病信号分子之一. 我们发现 MIP1 与 SGT1 一起作为辅助伴侣分子通过帮助病毒蛋白和植物抗病蛋白的正确折叠和成熟而参与病毒侵染和植物抗病反应^[73].

3 展望

本文对植物抗病毒的两条重要途径: RNA 沉默和 R 基因介导的病毒抗性的分子机制作了简要综述. 目前在植物抗病毒机制方面仍有许多重大问题等待解决. 例如, R 蛋白如何识别病毒 Avr 决定因子, 其动力学变化如何实现? 还有哪些重要分子参与 R 蛋白介导的植物抗病毒信号转导? 关于植物 RNA 沉默的加工过程和生物学功能同样有许多值得深究的问题.

RNA 沉默信号在受病毒侵染的本地叶扩散至系统叶片, 引起系统性抗性. 然而这些系统性沉默信号分子的本质是什么? 它们是如何生成的? 另外, 关于 sRNA 在维持植物自身基因组稳定性、调控生长发育进程以及生物和非生物应激反应的研究正在如火如荼的进行, 成为生命科学领域的一大热点. 除 RNA 沉默和 R 基因介导的植物病毒反应外, 植物还存在多种机制抵抗病毒入侵, 如植物凝集素介导的细胞水平的病毒抗性^[99]; 植物也可能存在 dsRNA 依赖的蛋白激酶 PKR 依赖的病毒抗性^[100]; 目前没有发现植物抗 DNA 病毒的基因为 NBS-LRR 类型的 R 基因, 相反, 最近发现 RdRP 涉及植物双生病毒的抗性^[101,102], 暗示这类抗性涉及 RNAi 的扩增. 此外, 一些植物侵染所必需的寄主因子如 eIF4E 等可产生对病毒的隐性抗性^[103], 这些仍待进一步深入研究. 由于病毒有着与其他病原不同的侵染方式和增殖方式, 植物抗病毒机制又有其特殊性, 对植物病毒抗性机制的研究不仅可加深我们对植物抗病毒的分子基础的理解, 也有助于加深对整个植物抗病甚至整个生物系统的信号传导的理解, 不仅具有重要的科学意义, 也具有重要的潜在应用价值.

参考文献

- Herman M, Williams M E. Fighting for their lives: plants and pathogens. *Plant Cell*, 2012, 24: 1–15
- Jones J D, Dangl J L. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444: 323–329
- Schwessinger B, Ronald P C. Plant innate immunity: perception of conserved microbial signatures. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63: 451–482
- Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell*, 1990, 2: 279–289
- Van der Krol A R, Mur L A, Beld M, et al. Flavonoid genes in petunia: addition of a limited number of gene copies may lead to a suppression of gene expression. *Plant Cell*, 1990, 2: 291–299
- Eamens A, Wang M B, Smith N A, et al. RNA silencing in plants: yesterday, today, and tomorrow. *Plant Physiol*, 2008, 147: 456–468
- Wingard S A. Hosts and symptoms of ring spot, a virus disease of plants. *J Agric Res*, 1928, 37: 127–153
- Baulcombe D. RNA silencing in plants. *Nature*, 2004, 431: 356–363
- Rochow W, Ross A F. Virus multiplication in plants doubly infected by *Potato viruses X* and *Y*. *Virology*, 1955, 1: 10–27
- Mlotshwa S, Pruss G J, Vance V. Small RNAs in viral infection and host defense. *Trends Plant Sci*, 2008, 13: 375–382
- Ratcliff F, Harrison B D, Baulcombe D C. A similarity between viral defense and gene silencing in plants. *Science*, 1997, 276: 1558–1560
- Voinnet O, Baulcombe D C. Systemic signalling in gene silencing. *Nature*, 1997, 389: 553
- Voinnet O, Vain P, Angell S, et al. Systemic spread of sequence-specific transgene RNA degradation in plants is initiated by localized introduction of ectopic promoterless DNA. *Cell*, 1998, 95: 177–187
- Anandalakshmi R, Pruss G J, Ge X, et al. A viral suppressor of gene silencing in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 13079–13084
- Voinnet O. Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. *Cell*, 2009, 136: 669–687
- Carthew R W, Sontheimer E J. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, 2009, 136: 642–655
- Ding S W. RNA-based antiviral immunity. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10: 632–644
- Hamilton A J, Baulcombe D C. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 1999, 286:

- 950–952
- 19 Ho T, Wang H, Pallett D, et al. Evidence for targeting common siRNA hotspots and GC preference by plant Dicer-like proteins. *FEBS Lett*, 2007, 581: 3267–3272
- 20 Ho T, Rusholme Pilcher R L, Edwards M L, et al. Evidence for GC preference by monocot Dicer-like proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368: 433–437
- 21 Romaine C, Zaitlin M. RNA-dependent RNA polymerases in uninfected and *Tobacco mosaic virus*-infected tobacco leaves: viral-induced stimulation of a host polymerase activity. *Virology*, 1978, 86: 241–253
- 22 Dorssers L, Zabel P, van Der Meer J, et al. Purification of a host-encoded RNA-dependent RNA polymerase from *Cowpea mosaic virus*-infected cowpea leaves. *Virology*, 1982, 116: 236–249
- 23 Dalmay T, Hamilton A, Rudd S, et al. An RNA-dependent RNA polymerase gene in *Arabidopsis* is required for posttranscriptional gene silencing mediated by a transgene but not by a virus. *Cell*, 2000, 101: 543–553
- 24 Mourrain P, Béclin C, Elmayan T, et al. *Arabidopsis* *SGS2* and *SGS3* genes are required for posttranscriptional gene silencing and natural virus resistance. *Cell*, 2000, 101: 533–542
- 25 Yang S J, Carter S A, Cole A B, et al. A natural variant of a host RNA-dependent RNA polymerase is associated with increased susceptibility to viruses by *Nicotiana benthamiana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 6297–6302
- 26 Qu F, Ye X, Hou G, et al. RDR6 has a broad-spectrum but temperature-dependent antiviral defense role in *Nicotiana benthamiana*. *J Virol*, 2005, 79: 15209–15217
- 27 Schwach F, Vaistij F E, Jones L, et al. An RNA-dependent RNA polymerase prevents meristem invasion by *Potato virus X* and is required for the activity but not the production of a systemic silencing signal. *Plant Physiol*, 2005, 138: 1842–1852
- 28 Qi X, Bao F S, Xie Z. Small RNA deep sequencing reveals role for *Arabidopsis thaliana* RNA-dependent RNA polymerases in viral siRNA biogenesis. *PLoS One*, 2009, 4: e4971
- 29 Ying X B, Dong L, Zhu H, et al. RNA-dependent RNA polymerase 1 from *Nicotiana tabacum* suppresses RNA silencing and enhances viral infection in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell*, 2010, 22: 1358–1372
- 30 Mlotshwa S, Voinnet O, Mette M F, et al. RNA silencing and the mobile silencing signal. *Plant Cell*, 2002, 14: S289–S301
- 31 Kalantidis K, Schumacher H T, Alexiadis T, et al. RNA silencing movement in plants. *Biol Cell*, 2008, 100: 13–26
- 32 Ding S W, Voinnet O. Antiviral immunity directed by small RNAs. *Cell*, 2007, 130: 413–426
- 33 Cui X, Li G, Wang D, et al. A begomovirus DNA β -encoded protein binds DNA, functions as a suppressor of RNA silencing, and targets the cell nucleus. *J Virol*, 2005, 79: 10764–10775
- 34 Vance V, Vaucheret H. RNA silencing in plants-defense and counterdefense. *Science*, 2001, 292: 2277–2280
- 35 Kasschau K D, Carrington J C. Long-distance movement and replication maintenance functions correlate with silencing suppression activity of potyviral HC-Pro. *Virology*, 2001, 285: 71–81
- 36 Kasschau K D, Xie Z, Allen E, et al. P1/HC-Pro, a viral suppressor of RNA silencing, interferes with *Arabidopsis* development and miRNA function. *Dev Cell*, 2003, 4: 205–217
- 37 Garcia-Ruiz H, Takeda A, Chapman E J, et al. *Arabidopsis* RNA-dependent RNA polymerases and dicer-like proteins in antiviral defense and small interfering RNA biogenesis during *Turnip mosaic virus* infection. *Plant Cell*, 2010, 22: 481–496
- 38 Silhavy D, Burguán J. Effects and side-effects of viral RNA silencing suppressors on short RNAs. *Trends Plant Sci*, 2004, 9: 76–83
- 39 Mérai Z, Kerényi Z, Kertész S, et al. Double-stranded RNA binding may be a general plant RNA viral strategy to suppress RNA silencing. *J Virol*, 2006, 80: 5747–5756
- 40 Hemmes H, Lakatos L, Goldbach R, et al. The NS3 protein of *Rice hoja blanca tenuivirus* suppresses RNA silencing in plant and insect hosts by efficiently binding both siRNAs and miRNAs. *RNA*, 2007, 13: 1079–1089
- 41 Kurihara Y, Inaba N, Kutsuna N, et al. Binding of tobamovirus replication protein with small RNA duplexes. *J Gen Virol*, 2007, 88: 2347–2352
- 42 Li J, Yang Z, Yu B, et al. Methylation protects miRNAs and siRNAs from a 3'-end uridylation activity in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2005, 15: 1501–1507
- 43 Yu B, Yang Z, Li J, et al. Methylation as a crucial step in plant microRNA biogenesis. *Science*, 2005, 307: 932–935
- 44 Csorba T, Bovi A, Dalmay T, et al. The p122 subunit of *Tobacco mosaic virus* replicase is a potent silencing suppressor and compromises both small interfering RNA- and microRNA-mediated pathways. *J Virol*, 2007, 81: 11768–11780
- 45 Akbergenov R, Si-Ammour A, Blevins T, et al. Molecular characterization of geminivirus-derived small RNAs in different plant species. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: 462–471
- 46 Kachroo A, Kachroo P. Salicylic acid-, jasmonic acid- and ethylenemediated regulation of plant defense signaling, *Genet Eng(NY)*, 2007, 28: 55–83

- 47 Martin G B, Bogdanove A J, Sessa G. Understanding the functions of plant disease resistance proteins. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54: 23–61
- 48 Venugopal S C, Jeong R D, Mandal M K, et al. Enhanced disease susceptibility 1 and salicylic acid act redundantly to regulate resistance gene-mediated signaling. *PLoS Genet*, 2009, 5: e1000545
- 49 Elmore J M, Lin Z J, Coaker G. Plant NB-LRR signaling: upstreams and downstreams. *Curr Opin Plant Biol*, 2011, 14: 365–371
- 50 Truniger V, Aranda M. Recessive resistance to plant viruses. *Adv Virus Res*, 2009, 75: 119–231
- 51 Mandadi K K, Scholthof K B. Plant immune responses against viruses: how does a virus cause disease? *Plant Cell*, 2013, 25: 1489–1505
- 52 Zvereva A S, Pooggin M M. Silencing and innate immunity in plant defense against viral and non-viral pathogens. *Viruses*, 2012, 4: 2578–2597
- 53 Kørner C J, Klauser D, Niehl A, et al. The immunity regulator *BAK1* contributes to resistance against diverse RNA viruses. *Mol Plant Microbe Interact*, 2013, 26: 1271–1280
- 54 Bendahmane A, Kanyuka K, Baulcombe D C. The *Rx* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. *Plant Cell*, 1999, 11: 781–791
- 55 Li B, Hu F, Zhang Q, et al. A cellular gene as a double surveillance agent for plant to combat pathogen. *Plant Signal Behav*, 2013, 8: e26817
- 56 Cosson P, Schurdi-Levraud V, Le Q H, et al. The RTM resistance to potyviruses in *Arabidopsis thaliana*: natural variation of the *RTM* genes and evidence for the implication of additional genes. *PLoS One*, 2012, 7: e39169
- 57 Gururani M A, Venkatesh J, Upadhyaya C P, et al. Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiol Mol Plant Pathog*, 2012, 78: 51–65
- 58 Abbink T E, Tjernerberg P A, Bol J F, et al. *Tobacco mosaic virus* helicase domain induces necrosis in *N* gene-carrying tobacco in the absence of virus replication. *Mol Plant Microbe Interact*, 1998, 11: 1242–1246
- 59 Burch-Smith T M, Schiff M, Caplan J L, et al. A novel role for the TIR domain in association with pathogen-derived elicitors. *PLoS Biol*, 2007, 5: e68
- 60 Dinesh-Kumar S, Baker B J. Alternatively spliced *N* resistance gene transcripts: their possible role in *Tobacco mosaic virus* resistance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 1908–1913
- 61 Liu Y, Schiff M, Dinesh-Kumar S. Involvement of MEK1 MAPKK, NTF6 MAPK, WRKY/MYB transcription factors, *COI1* and *CTR1* in *N*-mediated resistance to *Tobacco mosaic virus*. *Plant J*, 2004, 38: 800–809
- 62 Yamakawa H, Kamada H, Satoh M, et al. Spermine is a salicylate-independent endogenous inducer for both tobacco acidic pathogenesis-related proteins and resistance against *Tobacco mosaic virus* infection. *Plant Physiol*, 1998, 118: 1213–1222
- 63 Liu Y, Schiff M, Dinesh-Kumar S. Virus-induced gene silencing in tomato. *Plant J*, 2002, 31: 777–786
- 64 Liu Y, Schiff M, Serino G, et al. Role of SCF ubiquitin-ligase and the COP9 signalosome in the *N* gene-mediated resistance response to *Tobacco mosaic virus*. *Plant Cell*, 2002, 14: 1483–1496
- 65 Liu Y, Burch-Smith T, Schiff M, et al. Molecular chaperone Hsp90 associates with resistance protein *N* and its signaling proteins SGT1 and Rar1 to modulate an innate immune response in plants. *J Biol Chem*, 2004, 279: 2101–2108
- 66 Jin H, Axtell M J, Dahlbeck D, et al. NPK1, an MEKK1-like mitogen-activated protein kinase kinase kinase, regulates innate immunity and development in plants. *Dev Cell*, 2002, 3: 291–297
- 67 Jin H, Liu Y, Yang K Y, et al. Function of a mitogen-activated protein kinase pathway in *N* gene-mediated resistance in tobacco. *Plant J*, 2003, 33: 719–731
- 68 Peart J R, Mestre P, Lu R, et al. NRG1, a CC-NB-LRR protein, together with *N*, a TIR-NB-LRR protein, mediates resistance against *Tobacco mosaic virus*. *Curr Biol*, 2005, 15: 968–973
- 69 Pumplin N, Voinnet O. RNA silencing suppression by plant pathogens: defence, counter-defence and counter-counter-defence. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11: 745–760
- 70 Caplan J L, Mamillapalli P, Burch-Smith T M, et al. Chloroplastic protein NRIP1 mediates innate immune receptor recognition of a viral effector. *Cell*, 2008, 132: 449–462
- 71 Padmanabhan M S, Ma S, Burch-Smith T M, et al. Novel positive regulatory role for the SPL6 transcription factor in the *N* TIR-NB-LRR receptor-mediated plant innate immunity. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003235
- 72 Li F, Pignatta D, Bendix C, et al. MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 1790–1795
- 73 Du Y, Zhao J, Chen T, et al. Type I J-domain NbMIP1 proteins are required for both *Tobacco mosaic virus* infection and plant innate immunity. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003659
- 74 Hatsugai N, Kuroyanagi M, Yamada K, et al. A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. *Science*,

- 2004, 305: 855–858
- 75 Liu Y, Schiff M, Czymmek K, et al. Autophagy regulates programmed cell death during the plant innate immune response. *Cell*, 2005, 121: 567–577
- 76 Chandra-Shekara A, Navarre D, Kachroo A, et al. Signaling requirements and role of salicylic acid in *HRT*- and *rrt*- mediated resistance to *Turnip crinkle virus* in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2004, 40: 647–659
- 77 Chandra-Shekara A, Venugopal S C, Barman S R, et al. Plastidial fatty acid levels regulate resistance gene-dependent defense signaling in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 7277–7282
- 78 Chandra-Shekara A, Gupte M, Navarre D, et al. Light-dependent hypersensitive response and resistance signaling against *Turnip crinkle virus* in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2006, 45: 320–334
- 79 Kang H G, Kuhl J C, Kachroo P, et al. CRT1, an *Arabidopsis* ATPase that interacts with diverse resistance proteins and modulates disease resistance to *Turnip crinkle virus*. *Cell Host Microbe*, 2008, 3: 48–57
- 80 Kang H G, Choi H W, von Einem S, et al. CRT1 is a nuclear-translocated MORC endonuclease that participates in multiple levels of plant immunity. *Nature Commun*, 2012, 3: 1297
- 81 Zhu S, Jeong R D, Lim G H, et al. Double-stranded RNA-binding protein 4 is required for resistance signaling against viral and bacterial pathogens. *Cell Rep*, 2013, 4: 1168–1184
- 82 Kachroo P, Yoshioka K, Shah J, et al. Resistance to *Turnip crinkle virus* in *Arabidopsis* is regulated by two host genes and is salicylic acid dependent but *NPR1*, ethylene, and jasmonate independent. *Plant Cell*, 2000, 12: 677–690
- 83 Takahashi H, Miller J, Nozaki Y, et al. *RCY1*, an *Arabidopsis thaliana* *PPP8/HRT* family resistance gene, conferring resistance to *Cucumber mosaic virus* requires salicylic acid, ethylene and a novel signal transduction mechanism. *Plant J*, 2002, 32: 655–667
- 84 Takahashi H, Shoji H, Ando S, et al. *RCY1*-mediated resistance to *Cucumber mosaic virus* is regulated by LRR domain-mediated interaction with CMV(Y) following degradation of *RCY1*. *Mol Plant Microbe Interact*, 2012, 25: 1171–1185
- 85 Lu R, Malcuit I, Moffett P, et al. High throughput virus-induced gene silencing implicates heat shock protein 90 in plant disease resistance. *EMBO J*, 2003, 22: 5690–5699
- 86 Botër M, Amigues B, Peart J, et al. Structural and functional analysis of SGT1 reveals that its interaction with HSP90 is required for the accumulation of Rx, an R protein involved in plant immunity. *Plant Cell*, 2007, 19: 3791–3804
- 87 Komatsu K, Hashimoto M, Ozeki J, et al. 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*, 2010, 23: 283–293
- 88 Rairdan G J, Collier S M, Sacco M A, et al. The coiled-coil and nucleotide binding domains of the potato Rx disease resistance protein function in pathogen recognition and signaling. *Plant Cell*, 2008, 20: 739–751
- 89 Tameling W I, Baulcombe D C. Physical association of the NB-LRR resistance protein Rx with a Ran GTPase-activating protein is required for extreme resistance to *Potato virus X*. *Plant Cell*, 2007, 19: 1682–1694
- 90 Tameling W I, Nooijen C, Ludwig N, et al. RanGAP2 mediates nucleocytoplasmic partitioning of the NB-LRR immune receptor Rx in the Solanaceae, thereby dictating Rx function. *Plant Cell*, 2010, 22: 4176–4194
- 91 Harris C J, Slootweg E J, Goverse A, et al. Stepwise artificial evolution of a plant disease resistance gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 21189–21194
- 92 Weber H, Pfitzner A J. *Tm-2²* resistance in tomato requires recognition of the carboxy terminus of the movement protein of *Tomato mosaic virus*. *Mol Plant Microbe Interact*, 1998, 11: 498–503
- 93 Lanfermeijer F C, Dijkhuis J, Sturre M J, et al. Cloning and characterization of the durable *tomato mosaic virus* resistance gene *Tm-2²* from *Lycopersicon esculentum*. *Plant Mol Biol*, 2003, 52: 1039–1051
- 94 Lanfermeijer F C, Warmink J, Hille J. The products of the broken *Tm-2* and the durable *Tm-2²* resistance genes from tomato differ in four amino acids. *J Exp Bot*, 2005, 56: 2925–2933
- 95 Kobayashi M, Yamamoto-Katou A, Katou S, et al. Identification of an amino acid residue required for differential recognition of a viral movement protein by the *Tomato mosaic virus* resistance gene *Tm-2²*. *J Plant Physiol*, 2011, 168: 1142–1145
- 96 Brading P A, Hammond-Kosack K E, Parr A, et al. Salicylic acid is not required for Cf-2-and Cf-9-dependent resistance of tomato to *Cladosporium fulvum*. *Plant J*, 2000, 23: 305–318
- 97 Zhang H, Zhao J, Liu S, et al. *Tm-2²* confers different resistance responses against *Tobacco mosaic virus* dependent on its expression level. *Mol Plant*, 2013, 6: 971–974
- 98 Zhao J, Liu Q, Zhang H, et al. RuBisCO small subunit is involved in Tobamovirus movement and *Tm-2²*-mediated extreme resistance. *Plant Physiol*, 2012: 374–383
- 99 Yamaji Y, Maejima K, Komatsu K, et al. Lectin-mediated resistance impairs plant virus infection at the cellular level. *Plant Cell*, 2012, 24: 778–793

- 100 Bilgin D D, Liu Y, Schiff M, et al. P58IPK, a plant ortholog of double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR inhibitor, functions in viral pathogenesis. *Dev Cell*, 2003, 4: 651–661
- 101 Verlaan M G, Hutton S F, Ibrahim RM, et al. 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*, 2013, 9: e1003399
- 102 Li F, Huang C, Li Z, Zhou X. Suppression of RNA silencing by a plant DNA virus satellite requires a host calmodulin-like protein to repress *RDR6* expression. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1003921
- 103 Ruffel S, Dussault M H, Palloix A, et al. A natural recessive resistance gene against *Potato virus Y* in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E). *Plant J*, 2002, 32: 1067–1075

Molecular Mechanism of Plant Antiviral Defense

QIAN LiChao & LIU YuLe

School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China

During a long coevolutionary arms race between plants and viruses, plants have evolved various antiviral defense mechanisms. Among them, RNA silencing and *R* gene-mediated virus resistance attract more attention. On the one hand, RNA silencing plays an important role in plant resistance against viruses. During virus infection, virus-derived double stranded RNAs can be formed and processed into small RNAs to target viral RNAs for destruction. Accordingly, viruses have evolved to produce RNA silencing suppressors to overcome host RNA silencing and enhance virus infection. On the other hand, plants have also evolved *R* gene-mediated resistance to various pathogens including viruses. Research on plant antiviral defense will help understanding of the molecular basis of plant disease resistance, and will have important scientific significance and potential application value. This manuscript reviews the important advances in molecular plant antiviral defense mechanisms.

virus resistance, RNA silencing, resistance gene, plant-virus interaction

doi: 10.1360/052014-146