

转录后基因沉默与植物的病毒抗性

温孚江* 朱常香

(山东农业大学生命科学院 泰安 271018)

摘 要 转录后基因沉默(PTGS)是近 10 年发现的一种生物(特别是真核生物)细胞抵抗外来核酸入侵及保持生物自身基因组完整性的防御机制,特别是与生物的病毒抗性密切相关。PTGS 最初在植物内发现,近几年又分别在真菌、动物等生物细胞内发现。经过 10 年的研究,我们对 PTGS 的机制和特点有了相当的了解。这不但对深入地了解基因的表达调控机制意义重大,而且还可为人们如何调控和利用 PTGS 奠定了基础。本文从 PTGS 的特点、PTGS 与病毒抗性、PTGS 在真核生物内发生的广泛性等方面进行综述,并对 PTGS 发生的机制进行了讨论。

关键词 转录后基因沉默,转基因植物, RNA-介导的病毒抗性, RNA 干扰

中图分类号 Q756 文献标识码 C 文章编号 1000-3061(2001)03-0231-05

从上世纪 80 年代开始,科学家们试图利用基因工程技术来改良植物的性状,并获得了成功。随后在研究外源基因遗传和表达稳定性时发现,当将外源或经体外修饰后的内源基因(统称转基因, Transgene)导入植物后,转基因有时在当代或后代的表达不稳定或不进行表达。进一步的研究发现,大多数这类转基因植物内的转基因的完整性没有变化,转基因表达受阻并不是由于基因的缺失、突变、丢失等所致,而是一种基因沉默^[1]。当时这种现象的发现并没有引起广泛的关注和重视。经过近 10 年的研究,越来越多的科学家对这一现象表现出极大的研究兴趣,已成为分子生物学和分子病理学等领域的研究热点。基因沉默分为两类:转录基因沉默(Transcriptional gene silencing, TGS)和转录后基因沉默(Post-transcriptional gene silencing, PTGS)。TGS 是指基因在转录水平上的沉默,即基因不能被正常地转录,而 PTGS 是指基因能被正常地转录(甚至高速率转录),但所转录的 mRNA 在细胞质内积累量很低或根本检测不到^[2]。TGS 和 PTGS 在表现型上有许多共同之处。二者都是同源依赖性基因沉默(Homology-dependent gene silencing),即基因沉默是由于转基因与内源基因之间或多拷贝转基因之间的序列同源性造成的;二者都能以表型遗传(Epigenetic)的方式遗传给后代,即在每一代的基因沉默都要经过细胞的表型调节启动。尽管上述相似性,但二者的机制完全不同。现有的研究表明, TGS 可能由于转基因 DNA 的高度甲基化或转基因位点染色质变化等原因阻止了基因的转录。这种高度甲基化一般发生在转基因的启动子的 DNA 序列上^[3-4]。PTGS 的机制要复杂得多,在这一领域的研究也很多,是研究的热点。本文将重点对 PTGS 的研究进展进行综述。

1 PTGS 的发现及基本特点

PTGS 首先在转 CHS(Chalcone synthase)基因的矮牵牛中发现。1990 年, Napoli 等人将 CHS 基因导入到紫花矮牵牛中,旨在加深花的颜色。但出乎预料的是,有 42% 的转基因植株的花颜色不但没有加深,反而失去原有的紫色而变成白花或紫白相间。这一现象被称为共抑制(co-suppression)现象^[5]。van der Krol 等人在矮牵牛中发现类似的共抑制现象^[6]。共抑制现象的发生是由于导入的 CHS 基因与矮牵牛的内源 CHS 基因序列同源而发生的共抑制。此后,共抑制现象在多种转基因植物中发现。在这些研究中,具有同源性的转基因和内源基因在细胞核内转录速率很高,但在细胞质内无 mRNA 积累,是典型的 PTGS。研究还发现,在导入的转基因与植物内源基因无序列同源性的情况下,转基因自身也常常发生 PTGS。在这些表现 PTGS 的转基因植物内,转基因大多数以多拷贝的方式整合于植物染色体 DNA 中,这种多拷贝基因间的同源性导致 PTGS^[7]。

PTGS 的过程可分为启动、传导、保持三个过程。PTGS 的直接诱因是由于转基因与植物内源基因的同源性或多拷贝转基因间的同源性。同源度高,拷贝数多,发生 PTGS 的机率就高。多拷贝转基因的整合排列方式是影响 PTGS 的重要因素。当多拷贝转基因以重复的方式连接时,特别以反向重复的方式连接时容易诱发 PTGS。反义 RNA 也可有效诱导 PTGS。当同时将转基因以正、反方向(表达正义和反义 mRNA)导入植物内时,更易诱发 PTGS^[8-13]。PTGS 的发生可有两种形式。一种是转基因自身引发的 PTGS,另一种是诱导产生的 PTGS。在后一种情况下,转基因自身的转录尚不

收稿日期 2001-02-12, 修回日期 2001-02-28。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970485)。

* 通讯作者。Tel: 86-538-8242202; Fax: 86-538-8226399; E-mail: jiwen@sdau.edu.cn

能诱发 PTGS 转基因的 mRNA 在细胞内积累并翻译成相应的蛋白质,PTGS 的启动可用重复表达转基因序列的方式来诱导 PTGS。例如,当转基因是植物病毒的某一基因时,可用病毒(含有与转基因同源的序列)接种转基因植物来诱发 PTGS 的启动;当转基因是其它非病毒基因时,可在转基因植物的局部进行重复转化(瞬时表达同一转基因)或将转基因插入植物病毒(重组病毒)接种转基因植物,使转基因随着重组病毒的复制而扩增,从而诱发 PTGS 的启动。许多研究者利用报告基因(如 GUS 基因和绿色荧光蛋白 GFP 基因)为转基因对 PTGS 的诱导进行了研究。首先用报告基因转化植物,获得正常表达报告基因的转基因植物,然后将转基因(全部或部分序列)插入 Ti 质粒的双元载体或插入 PVX 病毒载体内,在转基因植株的下部叶片进行农杆菌注射转化(双元载体)或接种 PVX 重组病毒载体。在数天内,便可观察到接种(转化)叶片的报告基因的表达受阻(产生 PTGS),而且,由接种(转化)的下部叶片开始,自下而上地诱发整株植物产生 PTGS(报告基因表达受阻)。PTGS 还可经嫁接传导^[14-16]。这些结果表明,PTGS 的传导是通过某种特异的信号分子进行的。PTGS 一旦启动,植物的整个生育期都将保持 PTGS。

PTGS 具有高度的特异性。转基因引起的 PTGS 特异地抑制转基因自身转录的 mRNA 或带有同源序列基因的 mRNA 的积累。细胞核内高速率的转录和细胞质内低水平(或无)转基因 mRNA 的积累,说明 PTGS 启动了细胞质内一个特异的 mRNA 降解机制,使沉默靶基因的 mRNA 被迅速和特异地降解,这种 RNA 特异降解的诱因和过程正是 PTGS 机制的核心所在。PTGS 诱导实验结果表明,只有与转基因高度同源的核酸序列(大于 80%)才能有效地诱导 PTGS。诱导 PTGS 的核酸片段可以是完整的转基因,也可以是转基因的一部分。有证据表明,能够在转基因植物上诱导 PTGS 的同源片段为 60~200bp^[12],最短的为 23bp(MauLe AJ 私人通讯)。

2 PTGS 与植物的病毒抗性

利用病毒本身的一些基因导入植物从而获得抗病毒植株,是植物抗病毒基因工程常用的策略。自从 1986 年首次将烟草花叶病毒(TMV)的衣壳蛋白(CP)基因导入烟草,获得抗 TMV 侵染的转基因烟草以来,很多研究人员将病毒的不同基因(如复制酶基因、运转蛋白基因等)序列导入植物均获得抗病毒植株^[1]。在这些研究中,病毒基因的表达载体的构建都是以合成病毒基因编码的蛋白质为目的。尽管当时人们对这种病毒基因介导的抗病性的机制还不清楚,但几乎无人怀疑是表达病毒所编码的蛋白质所致。许多研究者试图增加病毒转基因的蛋白表达量来提高转基因植物的病毒抗性。尽管有一些这类研究的成功报道,但大多数的类似尝试都没达到预期的效果,即转基因植物对病毒的抗性并不与转基因蛋白质的积累量呈正相关^[1]。相反,在一些高度抗病的转基因植物内,转基因蛋白的表达量很低,甚至根本检测不到。当将病毒转基因的翻译起始密码子除去或在翻译起始

密码子之后加上终止密码子(不合成蛋白质)时,转基因植物仍然可以高度抗病毒,有的甚至近乎免疫^[17,18]。在这些研究中,病毒的抗性不是由蛋白质介导的,而是由 RNA 介导。这种病毒抗性称为 RNA 介导的抗性。进一步的研究表明,RNA 介导的病毒抗性与共抑制相似,也是一种 PTGS。

一般来说,只有以病毒的编码区 DNA 或 cDNA(完整的基因或基因的一部分,特别是基因的 3'端)为转基因时容易发生 PTGS。与前面所述的转基因 PTGS 相似,病毒转基因的 PTGS 也分为两个类型。一是病毒转基因自身诱发的 PTGS,二是接种病毒诱导的 PTGS。用不能翻译的病毒基因转化植物,所获得的转基因植物对病毒的抗性有 3 种表现型:高抗(免疫型)、恢复型和感病型。一般来说,大多数的转基因植株都是感病的,只有少部分植株是高抗型和恢复型,这与病毒转基因整合的拷贝数、排列方式以及插入位点等因素的影响有关。表现高抗型(近似免疫)的植株一般在接种病毒之前便启动了 PTGS,也就是说,这种 PTGS 是由于病毒转基因本身诱发的。所以,当接种病毒后,细胞内某种(些)酶能特异识别侵入的病毒基因组 RNA 并将其降解,转基因植株表现出高度抗病,植株无病毒侵染的症状,也检测不到病毒。恢复型是指接种病毒后,转基因植株开始表现症状,病毒能在植株内增殖和运转,但经过一段时间后,新长出的叶片症状开始减轻,甚至完全不表现症状。对随后再接种也表现出高度抗病。在这些新长出的无症状叶片内也检测不到病毒的增殖^[17]。恢复型的植株在接种病毒前并未表现 PTGS,PTGS 是由于接种病毒后诱导产生的。

在自然情况下,有些病毒(如 Nepoviruses, Tabraviruses, Caulimoviruses 等)侵染植物后也可发生与上面描述的相关似的恢复现象。经过多方面的对比研究后 Baulcombe 等人认为,PTGS 可能是植物抵抗病毒侵染的一种自然(本能)反应^[19]。对一种病毒而言,大多数的植物是非寄主,即这些植物对这种病毒表现“非寄主抗性”。非寄主抗性可能是病毒侵染植物后诱发的 PTGS 的极端反应。如果这种推测是正确的,为什么有的病毒可成功地侵染某些特定的植物呢?是否这些病毒能编码某种特异抑制寄主植物 PTGS 的蛋白质呢?最近的研究证明这种蛋白质是存在的,称为 PTGS 的抑制子(Suppressor)。目前已在多种病毒中发现能编码抑制植物 PTGS 的蛋白质,而且这些蛋白质一般都是致病决定因子(表 1),PTGS 抑制子可能存在不同的作用方式,有的抑制 PTGS 的启动(如 CMV 的 2b 蛋白),有的则抑制 PTGS 的保持(如 PVY 的 HcPro 蛋白)^[16,20]。有研究表明,CMV 的 2b 蛋白质是被运转到细胞核内而起作用的^[21]。我们早就知道两种病毒混合侵染植物后有时发生协同作用(Synergism),即产生的症状和损害大大重于两种病毒单独侵染植物造成的损害之和。这可能是其中一种病毒编码的抑制子蛋白抑制了 PTGS 所致。植物与病毒之间的这种关系可能是协同进化的结果。PTGS 可能是植物抵抗病毒侵染的一种本能反应,一种病毒如果不能抑制植物的 PTGS,这种植物就有可能是这一病毒的“非寄主植物”。此外,病毒的复制速度、运转速度以及植物的 PTGS 启动的快慢等也可影响病毒与植物之间的关系^[14,16]。

表 1 几种植物病毒编码的 PTGS 抑制子

Table 1 PTGS suppressors encoded by viruses

Virus group	Virus	Suppressor (protein)	Other known functions
Cucumovirus	CMV	2b	Virus long-distance movement
Geminivirus	ACMV	DC2	Viral gene expression and regulation
Potexvirus	PVX	P25	Virus long-distance movement, etc.
Potyvirus	PVY/TEV	HcPro	Aphid-specific transmission, etc.
Sobemovirus	RYMV	P1	Virus long-distance movement
Tombivirus	TBSV	19k	Virus long-distance movement, etc.

3 PTGS 的发生机制

PTGS 是植物在自然条件下对外来核酸(如病毒等)的一种防卫反应,PTGS 的结果启动了细胞内的 RNA 降解机制,使外来核酸降解。在转基因植物内,外源基因(转基因)自身在一定条件下可引起 PTGS。病毒侵入植物(转基因或未转基因)后,病毒的基因组核酸也可诱发 PTGS。在这种情况下,病毒既是 PTGS 的诱导因子,同时又是 PTGS 的降解对象。尽管人们对 PTGS 的确切机制尚不清楚,但近十年来的研究已使其初见端倪。

对表现 PTGS 的转基因植物的研究发现,这些植物一般均含有多拷贝重复(特别是反向重复)排列的转基因^[8-12]。在大多数情况下,这些多拷贝的转基因都不同程度地存在甲基化现象。甲基化大多发生在基因的编码区的 G 和 C 碱基上。引起甲基化的因素很多,主要包括位置效应(外源基因整合到本来就甲基化的 DNA 位点而导致转基因甲基化)、重复序列诱导的 DNA 甲基化以及 RNA 介导的甲基化(过量的 RNA 与同源 DNA 配对而导致甲基化)^[22-24]。一般认为高度甲基化(特别是在启动子区域)是转录水平基因沉默(TGS)的主要原因。但甲基化可能不是 PTGS 的必要条件,因为表现 PTGS 植物的转基因的甲基化程度有很大差异,甚至在不能进行甲基化的生物内也可发生 PTGS^[25]。尽管甲基化在 PTGS 中不是必要的条件,但甲基化可促进产生变异 RNA(aberrant RNA, abRNA)来强化 PTGS。abRNA 是由于基因表达的表型变异而产生的一些异常 RNA(转录提前终止的小分子 RNA 等)。abRNA 的产生可能是转基因 PTGS 发生的关键步骤之一,与转基因甲基化和过量表达有关。在转基因尚未达到一定水平(mRNA 积累量尚未达到一个临界值)的情况下,可通过接种具有同源序列的病毒或重复导入具有同源序列的 DNA 片段来诱发 abRNA 的产生。abRNA 还可通过多拷贝转基因重复序列之间的互作(如异位配对)产生^[11,19,26-29]。abRNA 可能与细胞内依赖 RNA 的 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRP)特异识别,并且 RdRP 以 abRNA 为模板合成双链 RNA(double-stranded RNA, dsRNA)。现在认为 dsRNA 可能是一种 PTGS 的信号分子,它诱导产生 RNA 的特异降解^[30]。植物病毒一般都自身编码 RdRP,因而病毒在细胞内可形成 dsRNA 结构,这种 dsRNA 可引起植物的 PTGS。这与 PTGS 是植物抵抗病毒侵染的自然反应的假说相一致。目前,已在多种植物内发现类似编码 RdRP 的基因,

这些基因直接参与 PTGS,如在矮牵牛、拟南芥等植物中发现 *sgs* 系列基因,在烟草、拟南芥等内发现 *sds* 系列基因^[31-33]。在植物内发现 RdRP 基因是 PTGS 研究的一个里程碑,为深入探讨 PTGS 机制奠定了基础。

目前虽然从不同的角度对 PTGS 的机制提出了多种假说模式,但这些模式并不互相矛盾^[26,31,34-36]。PTGS 的机制可用图 1 表示。由于上面所述的原因,转基因在细胞质内转录产生 mRNA 的同时,还转录产生 abRNA(步骤 1)。abRNA 在 RdRP 的作用下产生小分子 dsRNA(2),dsRNA 解链成为单链 RNA(single-stranded RNA, ssRNA),其反义 ssRNA(anti-sense RNA, asRNA)与转基因的 mRNA 互补的部分杂交成 dsRNA(3)。这种部分双链结构的 RNA 在 RdRP 和 helicase(解旋酶)的作用下形成更长的 dsRNA(4),并在细胞内 dsRNase 和 ssRNase 等核酸酶的作用下,分别被降解成小分子 dsRNA 和 ssRNA(5)。小分子 dsRNA 解链成为 ssRNA,分子大小约为 21~25nt(6)^[37,38]。一方面,这些小分子 RNA 中的 asRNA 又可与转基因的 mRNA 杂交形成局部双链结构(7),重复步骤(4)~(6)的 RNA 降解的过程,使 PTGS 放大、增强;另一方面,这些小分子 dsRNA 及 asRNA 可作为 PTGS 的信号分子,与某些蛋白(酶)一起运转到其它细胞诱发系统的 PTGS(8)。

PTGS 作为植物自然抵抗病毒侵染的一种本能反应,在适当的条件下,非转基因植物对病毒侵染也可表现出 PTGS,从而表现对病毒的抗性(如前面所提的恢复现象)。如图 1 所示,植物病毒在自身编码的 RdRP 以及植物编码的 RdRP 酶的作用下,合成 dsRNA(9)。这些 dsRNA 在核酸酶(dsRNase 及 ssRNase)的作用下,特异地将整个 RNA 分子降解成小分子 RNA(21~25nt)(10)。这些小分子 RNA 反过来又可与病毒 RNA 杂交形成更多的双链结构,使 PTGS 放大增强(11)。如果该植物是转病毒基因的植物,则在第三步所形成的 asRNA

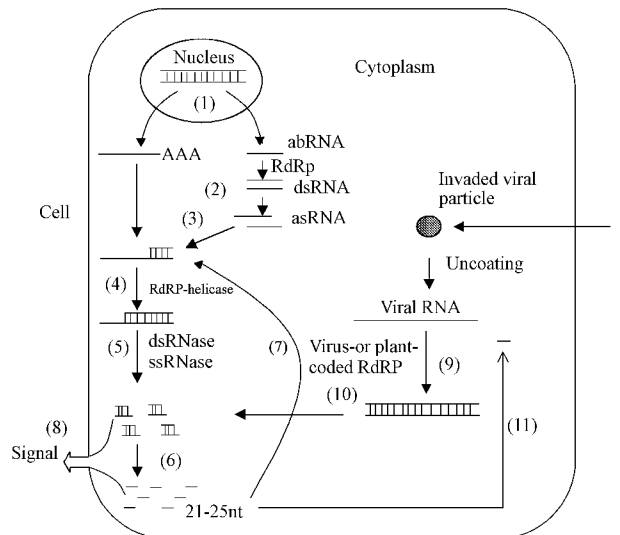


图 1 转录后基因沉默和 RNA 介导的病毒抗性机制模式图

Fig. 1 Predicted model for post-transcriptional gene silencing and RNA-mediated virus resistance in transgenic plant

不但可与转基因的 mRNA 杂交形成双链结构,而且也可与入侵的病毒 RNA 相互补的部分形成双链结构,从而使转基因 mRNA 和病毒基因组 RNA 都进入 RNA 降解程序^[16]。如果转基因植物由于某种原因未能够产生足够的 asRNA 或 dsRNA,病毒的侵入可产生 asRNA(dsRNA)来弥补植物细胞内 asRNA 或 dsRNA 的不足,从而使细胞内 PTGS 启动或得到加强。

4 PTGS 可能是真核生物普遍发生的现象

继在植物内发现 PTGS 现象以后,在其它真核生物中也相继发现类似植物 PTGS 的现象。首先,在转基因真菌中发现基因沉默现象,并证明是 PTGS^[39-41]。特别是在真菌 *Neurospora crassa* 中发现的沉默现象(Quelling),当导入与真菌同源的基因后发生“重复区诱导的点突变”,即基因沉默。Fire 等人将体外合成的与线虫内源基因同源的小分子 dsRNA 注射到线虫 *Caenorhabditis elegans* 体内,发现 dsRNA 可沉默与其同源的内源基因^[42]。这一现象被称为 RNA 干扰(RNAi)现象。RNAi 现象不但在沉默转基因起作用,而且在沉默转座子方面起重要作用^[43]。这种 RNAi 现象随后在其它无脊椎动物(如果蝇、蜗牛、水螅、锥虫)以及脊椎动物(斑纹鱼和小鼠)内发现^[33]。进一步的研究发现, RNAi 现象与植物的 PTGS 极为相似,并且在真菌和动物内已经发现类似植物 RdRP 的基因,这些 RdRP 酶直接参与 RNAi。

5 结 语

自从发现 PTGS 至今的 10 年中,PTGS 已经引起了越来越多的科学家的重视,并在整个真核生物开辟了一条崭新的研究领域。对 PTGS 的研究不但使我们增加对生物基因表达调控机制的认识,而且还可为 PTGS 的应用奠定理论基础。目前认为,PTGS 可能是生物界(特别是真核生物)普遍发生的一种保持生物基因组的完整性和抵御外来核酸(病毒或转座子)入侵的一种 RNA 降解机制,而 dsRNA 在序列特异性 RNA 降解和 PTGS 过程中起关键性作用,每个细胞内平均有两个 dsRNA 分子便可有效地启动 PTGS。早期的研究认为,转基因的 mRNA 过量表达和积累可能是导致 PTGS 的重要因子。目前一般认为,dsRNA 可能比转基因 mRNA 的表达量更为重要,后者可能也是通过促进 dsRNA 的产生而对 PTGS 的启动起作用的。对 PTGS 的研究除具有重要的理论意义之外,还具有重要的实践意义。例如,对一般转基因生物或医学上的基因治疗来说,我们将某些转基因导入生物基因组内,使其表达产生相应的蛋白,以达到改变生物性状或基因治疗的目的。但 PTGS 的存在使得这些基因的表达不稳定或受阻,因此 PTGS 给转基因技术提出了更高要求,即如何有效地避免转基因的 PTGS,从而使转基因正常表达。^[25]另一方面,我们也可以利用 PTGS,特别是在抗病毒基因工程方面,我们可利用这一机制培育抗病毒动、植物等,特别是利用 PTGS 培育能同时抗多种病毒植物^[44]。PTGS 还为我们功能基因组的研究提供了一个崭新的方法,我们可以通过瞬时表达与生物内源基因同源的 DNA 片段来失活该基因,也可

将体外合成的与内源基因同源的 dsRNA 注射到组织内来失活该基因(Knocking out)^[45,46]。我们相信,随着对 PTGS 研究的深入,我们将找到控制和利用 PTGS 更有效的途径和方法。

REFERENCES(参考文献)

- [1] Prins M, Goldbach R. RNA-mediated virus resistance in transgenic plants. *Arch Virology*, 1996, **141**: 2259 ~ 2276
- [2] Ratcliff FG, MacFarlane SA, Baulcombe DC. Gene silencing without DNA: RNA-mediated cross-protection between viruses. *Plant Cell*, 1999, **11**: 1207 ~ 1215
- [3] Jones AL, Thomas CL, Maule AJ. De novo methylation and co-suppression induced by a cytoplasmically replicating plant RNA virus. *The EMBO*, 1998, **17**: 6385 ~ 6393
- [4] Jones AL, Hamilton AJ, Voinnet O *et al.* RNA-DNA interactions and DNA methylation in post-transcriptional gene silencing. *The Plant Cell*. *Plant Cell*, 1999, **11**: 2291 ~ 2302
- [5] Napoli CD, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous gene in trans. *Plant Cell*, 1990, **2**: 279 ~ 289
- [5] van der Krol AR, Mur LA, Beld M, Mol JN, Stuitje AR. 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 ~ 229
- [7] Vaucheret H, Beclin C, Elmayan T *et al.* Transgene induced gene silencing in plants. *Plant J*, 1998, **16**: 651 ~ 659
- [8] Kooter JM, Matxke MA, Meyer P. Listening to the silent genes: Transgene silencing research identifies new mechanisms of gene regulation and pathogen control. *Trends Plant Sci*, 1999, **4**: 340 ~ 347
- [9] Que QD, Wang HY, English JJ, Jorgensen RA. The frequency and degree of co-suppression by sense chalcone synthase transgenes are dependent on transgene promoter strength and are reduced by premature nonsense codons in the transgene coding sequence. *Plant Cell*, 1997, **9**: 1357 ~ 1368
- [10] Kunz C, Schub H, Stam M *et al.* Developmentally regulated silencing and reactivation of tobacco chitinase genes. *Plant J*, 1996, **10**: 437 ~ 450
- [11] Stam M, De Bruin R, Kenter S *et al.* Posttranscriptional silencing of chalcone synthase in *Petunia* by inverted transgene repeats. *Plant J*, 1997, **12**: 63 ~ 82
- [12] Sijen T, Wellink J, Hiriart JB *et al.* RNA-mediated virus resistance: Role of repeated transgenes and delineation of targeted regions. *Plant Cell*, 1996, **8**: 2277 ~ 2294
- [13] Bautista L, Aleksenko A. Antisense silencing of the creA gene in *Aspergillus nidulans*. *Appl Environ. Microbiol.*, 2000, **66**: 4579 ~ 4581
- [14] Voinnet O, Vain P, Angel 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
- [15] Voinnet O, Pinto YM, Baulcombe DC. Suppression of gene silencing: a general strategy used by diverse DNA and RNA viruses of plants. *PNAS*, 2000, **96**: 14147 ~ 14152
- [16] Voinnet O, Lederer C, Baulcombe DC. A viral movement protein prevents spread of the gene silencing signal in *Nicotiana benthamiana*. *Cell*, 2000, **103**: 157 ~ 167
- [17] Guo XQ(郭兴启), Wen FJ(温孚江) *et al.* RNA-mediated virus resistance in transgenic plants. *Life Science(生命科学)*, 2000, **12**: 166 ~ 169
- [18] Guo XQ(郭兴启), Wen FJ(温孚江) *et al.* Expression of translatable and untranslatable potato virus Y(PVY^N) coat protein(CP) genes in tobacco and resistance comparison between the transgenic plants. *Chinese Journal of Virology(病毒学报)*, 2001(accepted)

- Current Biology*, 1999, **9**: R599 ~ R601
- [20] Llave C, Kasschau KD, Carrington J. Virus-encoded suppressor of posttranscriptional gene silencing targets a maintenance step in the silencing pathway. *PNAS* 2000 **97**: 13401 ~ 13406
- [21] Lucy AP, Guo HS, Li WX *et al.* Suppression of post-transcriptional gene silencing by a plant viral protein localized in the nucleus. *The EMBO* 2000 **19**: 1672 ~ 1680
- [22] Linn F. Epigenetic changes in the expression of the maize A1 gene in *Petunia* hybrid: role of number of integrated gene copies and state of methylation. *Mol Gen Genet*, 1990, **222**: 329 ~ 336
- [23] Dorer DR, Henikoff S. Transgene repeat arrays interfere with distant heterochromatin and cause silencing in cis and trans. *Genetics*, 1997, **147**: 1181 ~ 1190
- [24] Wassenaar M. RNA-directed DNA methylation. *Plant Mol Biol*, 2000, **43**: 203 ~ 220
- [25] Bestor TH. Gene silencing as a threat to the success of gene therapy. *The Journal of Clinical Investigation*, 2000, **105**: 409 ~ 411
- [26] Dougherty WG, Parks TD. Transgenes and gene suppression: Telling us something new? *Current Opin.* *Cell Biol.*, 1997, **7**: 399 ~ 405
- [27] English JJ, Mueller E, Baulcombe DC. Suppression of virus accumulation in transgenic plants exhibiting silencing of nuclear genes. *Plant Cell*, 1996, **8**: 179 ~ 188
- [28] Grant SR. Dissecting the mechanism of posttranscriptional gene silencing: Divide and conquer. *Cell*, 1999, **96**: 303 ~ 306
- [29] Baulcombe DC, English JJ. Ectopic pairing of homologous DNA and posttranscriptional silencing in transgenic plants. *Curr Opin Biotech*, 1996, **7**: 173 ~ 180
- [30] Sijen T, Kooter JM. Post-transcriptional gene silencing: RNAs on the attack or on the defense? *BioEssays*, 2000, **22**: 520 ~ 531
- [31] Dalmay T, Hamilton A *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
- [32] Mourrain P, Beclin 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
- [33] Cogoni C, Macino G. Post-transcriptional gene silencing across kingdoms. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2000, **10**: 638 ~ 643
- [34] Montgomery MK, Fire A. Double-stranded RNA as a mediator in sequence-specific genetic silencing and co-suppression. *Trends Genet*, 1998, **14**: 255 ~ 258
- [35] Aubourg S, Kreis M, Lechamy A. The DEAD box RNA helicase family in *Arabidopsis thaliana*. *Nucl Acids Res*, 1999, **27**: 628 ~ 636
- [36] Bass BL. Double-stranded RNA as a template for gene silencing. *Cell*, 2000, **101**: 235 ~ 238
- [37] Hamilton A, Baulcombe DC. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 1999, **286**: 950 ~ 952
- [38] Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA *et al.* RNAi: Double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21-23 nucleotide intervals. *Cell*, 2000, **101**: 25 ~ 33
- [39] Cogoni C, Macino G. Conservation of transgene-induced post-transcriptional gene silencing in plants and fungi. *Trends Plant Sci*, 1997, **2**: 438 ~ 443
- [40] Elmayan T, Vaucheret H. Expression of single copies of a strongly expressed 35S transgene can be silenced posttranscriptionally. *Plant J*, 1996, **9**: 787 ~ 797
- [41] Faugeron G. Diversity of homology-dependent gene silencing strategies in fungi. *Curr Opin in Microbiology*, 2000, **3**: 144 ~ 148
- [42] Fire A, Xu S, Montgomery MK *et al.* Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998, **391**: 806 ~ 811
- [43] Ketting RF, Haverkamp THA *et al.* mut-7 of *C. elegans*, required for transposon silencing and RNA interference, is a homolog of Werner syndrome helicase and RNaseD. *Cell*, 1999, **99**: 133 ~ 141
- [44] Jan FJ, Fagoaga C, Pang SZ *et al.* A single chimeric transgene derived from two distinct viruses confers multi-virus resistance in transgenic plants through homology-dependent gene silencing. *J Gen Virol*, 2000, **81**: 2102 ~ 2109
- [45] Romano N, Macino G. Quelling: Transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences. *Mol Microbiol*, 1992, **6**: 3343 ~ 3353
- [46] Tavernarakis N, Wang SL, Dorovkov M *et al.* Heritable and inducible genetic interference by dsRNA. *Nat Genet*, 2000, **24**: 180 ~ 183

Post-transcriptional Gene Silencing and Virus Resistance

WEN Fu-Jiang ZHU Chang-Xiang

(Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract Post-transcriptional gene silencing (PTGS) is a defense mechanism of plants against foreign nucleic acids, such as virus infection. The mechanism results in sequence-specific degradation of nucleic acids, including endogenous mRNA, transgene mRNA and virus RNA. PTGS was first discovered in transgenic plants, and since then, similar mechanism has been found in fungi and animals. It appears that PTGS is initiated by aberrant RNA and double-stranded RNA in the cell. An enzyme similar to RNA-dependent RNA polymerase has been identified in various plants, which plays a key role in the PTGS process. It is hypothesized that PTGS might be the natural mechanism of plants against virus infection. To support this hypothesis, scientists from several laboratories have discovered PTGS suppressors encoded by virus genomes, and the suppressors identified so far are all viral pathogenicity determinants, such as viral movement protein.

Key words post-transcriptional gene silencing, transgenic plants, RNA-mediated viral resistance, RNA interference

Received February 12 2001

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (39970485)

* Corresponding author. Tel 86-538-8242202, Fax 86-538-8226399, E-mail fjwen@sdau.edu.cn

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>