

Víruseredetű köpenyfehérjének által közvetített rezisztencia transzgénikus növényekben. II. Hatásmechanizmusok, lehetséges kockázati tényezők

JÓZSA RITA–BALÁZS ERVIN
Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont,
Gödöllő

Összefoglaló

A növénytermesztésben jelentős mértékű károkat okozó növényi vírusok elleni védekezésben a leghatékonyabb megoldás a vírusrezisztens transzgénikus növények előállítása. Az elmúlt másfél évtizedben a molekuláris biológiai eszközök felhasználásával a világ különböző laboratóriumaiban vírusellenálló növényeket hoztak létre. A víruseredetű géneket transzgenként felhasználó módszerek közül legelterjedtebben alkalmazott a köpenyfehérjét tartalmazó konstrukciókkal történő növényi transzformáció. Számos növény-vírus kombinációban használták sikerrel ezt az eljárást.

Coat protein gene-mediated cross-protection in transgenic plants. II.

Mechanisms and potential risks

R. JÓZSA–E. BALÁZS
Agricultural Biotechnology Center,
Gödöllő

Summary

One of the most effective ways to protect cultivated crops from virus diseases is to produce virus-resistant transgenic plants. During the last fifteen years several virus-resistant plants have been produced by genetic engineering in different laboratories all over the world. Among the virus-originated transgene technologies constructs containing coat protein genes have been used for plant transformation on a wide scale. In several plant-virus combinations this technology has been successfully used. The review summarises the research and application data related to coat protein-mediated cross-protection in transgenic plants.

A köpenyfehérjén által indukált rezisztencia lehetséges hatásmechanizmusai

A vírusszekvenciákkal transzformált növények ellenállóságát előidézhetik fehérjék vagy víruseredetű nukleinsavak. A proteinek által közvetített rezisztencia általában széles spektrumú, azaz többféle vírussal szemben hatékony, azonban gyengébb hatékonyságú és

vírus nukleinsavval történő fertőzés esetén áttörhető. Az RNS-ek által közvetített ellenállóság nagy inokulumkoncentrációval szemben is hatékony, a növény korától független (fiatal növény esetében is működőképes). Az utóbbi nemcsak virionnal, hanem nukleinsavval történő fertőzést követően is megmarad, és protoplaszt-szinten is fennállhat, viszont sokkal inkább vírusspecifikus.

A köpenyfehérje által közvetített rezisztencia hatásmechanismusai

A CP által közvetített rezisztencia esetében egyenes arányosság áll fenn az ellenállóság mértéke és a proteínakkumuláció szintje között. A védettség intakt virionokkal történő fertőzést követően nyilvánul meg, vírus RNS-t használva inokulumként a rezisztencia áttörhető. Működésének magyarázatára számos hipotézis született, mivel a proteinek által közvetített rezisztencia valószínűleg többféle mechanizmus által fejt ki hatását a gazdavírus-transzgen kombinációtól függően. Előfordulhat, hogy a fertőző vírus RNS-ének egy ún. második becsomagolódája, enkapszidációját történik a transzgenről képződő CP-be, így gátolva annak terjedését. Lehetséges az is, hogy már a vírus dekapzidációját gátolt. Feltetelezték azt is, hogy a köpenyfehérje a vírus RNS replikációját befolyásolhatja (Baulcombe és English 1996), valamint gátolhatja a vírus RNS kötődését a riboszómákhoz (Clark et al. 1995). A legtöbb köpenyfehérje által indukált rezisztencia esetében fertőzést követően a szisztemikus tünetek nem fejlődnek ki, vagy kialakulnak, de késéssel. Ez a jelenség a vírus sejtről sejtre történő terjedésének, a szállítószövetrendszerbe és a nem inokulált levelekbe való bejutásának gátlásából adódhat, vagy a fertőzés kezdetének megakadályozásából (Beachy 1990, Wisniewski et al. 1990). Egyes vírusoknál, mint pl. a TMV, kimutatták a fehérjetermék szerepét a rezisztencia kiváltásában (Powell-Abel et al. 1986). Powell-Abel et al. (1990) AUG translációs start kodon nélküli TMV CP-t tartalmazó konstrukcióval transzformáltak növényeket, melyek fogékonyak bizonyultak TMV-fertőzéssel szemben, bizonyítva, hogy nem a mRNS a rezisztencia kiváltója, hanem a fehérjetermék. Van Dun et al. (1988) csonkított AIMV CP-t állítottak elő, amely nem volt alkalmas a rezisztencia kiváltására. A köpenyfehérjét expresszáló növényekből nyert protoplasztokkal végzett kísérletek alapján megállapították, hogy a transzgen által termelt CP a fertőző vírus kicsomagolódásába avatkozik be, így replikációs ciklusának kezdeti lépését gátolja. Ennek módja lehet a vírus szét- és összeszerelődési egyensúlyának eltolása az összeépülés irányába, de előfordul-

hat, hogy a sejten belüli vírus partikulum szét-szerelődéséhez szükséges speciális helyek vagy receptorok lekötöttségében bekövetkezett változások okozzák a kicsomagolódásgátlást. A transzgen eredetű CP alegységek víruszerű partikulumokat (VLP) képezve elfoglalják ezeket a helyeket, így megakadályozzák a fertőzést (Lomonosoff 1995). Éppen ezért a CP által indukált rezisztencia függ a CP termelésétől az elsődlegesen fertőzött epidermális sejtekben (Reimann-Philip és Beachy 1993). Ezt bizonyították olyan kísérletekkel, melyek során a levél mezofillumsejtekben expresszáltatták a CP-t specifikus promóterrel, rezisztencia kialakulása nélkül. A CP által indukált rezisztencia kialakításához általában vad típusú CP-t használnak, azonban Bendahmane et al. (1997) olyan mutáns TMV CP konstrukciókkal transzformáltak növényeket, melyek közötti kölcsönhatások eltérőek voltak. TMV fertőzés esetén azok a növényi vonalak bizonyultak rezisztenseknek, melyek transzgenjéről expresszáldó mutáns CP-alegységek közötti kölcsönhatás erős volt, ugyanis képesek voltak víruszerű partikulumokat létrehozni, ezáltal elfoglalni a fertőző vírus szét-szerelődéséhez szükséges receptorhelyeket. Az így kialakult rezisztencia nagyobb fokú volt, mint a vad típusú CP-k által kiváltott. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a köpenyfehérje által indukált rezisztencia kialakításában fontos szerepet játszanak az endogén és a fertőző vírus eredetű köpenyfehérje-alegységek közötti kölcsönhatások.

Az RNS-ek által közvetített rezisztencia hatásmechanismusai

A köpenyfehérje által közvetített rezisztencia tanulmányozásában számos olyan példa található, amelyekben a rezisztencia a transzgenről származó fehérjetermék hiányában is kialakul. Ilyenkor a transzgenikus növényekben a védettséget maga a transzgen vagy az erről átíródott transzkriptum váltja ki. A jelenséget megfigyelték TSWV köpenyfehérjéjénel való transzformációkor De Haan et al. (1992), PVY esetében Van der Vlugt et al. (1992) és TEV-nél Lindbo és Dougherty (1992b). Az RNS által közvetített rezisztencia többféleképpen nyilvánulhat meg, de jellemzően kis vagy nem detektálható transzgen-expresszióval jár együtt. Mechanizmusának

kutatását előremozdította a „recovery” jelenség felfedezése és vizsgálata (Lindbo és Dougherty 1992a, Lindbo et al. 1993b). TEV-vel inokulált transzgenikus növények kezdetben mutatták a fertőzés tüneteit, majd 3–5 héttel később a fiatal, fejlődő levelek tünet- és vírusmentesek voltak. A felépült növények a későbbi TEV-fertőzéssel szemben is ellenállóak voltak. Az aktuális alapállapotú transzgen RNS szint 5–22-szeresre csökkent, annak ellenére, hogy a transzkripció aktivitás nem változott, tehát azonos volt a felépült és nem inokulált transzgenikus növényekben. Az antiszensz konstrukciókkal kiváltott rezisztencia gyakran nagyobb hatékonyságú, mint ugyanaz a szekvencia szensz orientációban (Smith et al. 1995). Előfordulhat az RNS replikáció megakadályozása vagy a már replikálódott RNS-szál translációjának gátlása. Az RNS által közvetített rezisztenciátípus homológiáfüggő rezisztenciának nevezik, mivel kialakulása a transzgen és a target szekvencia (vírus RNS) közötti homológiától függ (Sonoda et al. 1999). A jelenség működésének magyarázatára egy kvantitatív és egy kvalitatív modellt állítottak fel. A kvantitatív modell szerint, ha a transzgen eredetű RNS-szint meghalad egy küszöbértéket, aktiválódik egy citoplazmatikus RNS degradáló mechanizmus, mely lebontja az endogén és az ezzel homológ exogén vírus RNS-eket. Ezzel a modellel magyarázták a felépülési jelenséget is. A küszöbérték átlépéséhez azonban nagy transzkripció aktivitás vagy nagyobb beépülési kópiaszám szükséges (Lindbo et al. 1993a, Smith et al. 1994, Goodwin et al. 1996). A kvalitatív jellegű modell alapeleme a normál poliadenilált transzkriptumoktól eltérő, ún. aberráns RNS-ek képződése, melyek egy szekvensspecifikus RNS degradáló mechanizmus által lebontódnak (Mueller et al. 1995, English et al. 1996). Ezek az aberráns RNS-ek bizonyos szintű homológiát mutatnak az eredeti transzkriptumokkal, illetve templaként szolgálhatnak az RNS-függő polimerázoknak, így számos rövid komplexer szekvenciát képeznek, melyek a funkcionális transzkriptumokhoz hibridizálhatnak, és az így kialakuló kétszálú RNS-eket specifikus RNázok lebonthatják. A legtöbb növényben a posztranszkripcionális gén csendesítési reakció képes szétterjedni transzkripciósan

aktív transzgen jelenlétében. Palauqui et al. (1997) oltási kísérleteket végeztek koszipressziót mutató alanyt és koszipresszió nélküli oltványt használva, mely homológ transzgent hordozott. A transz- és endogének lecsendesítése minden esetben bekövetkezett. A jelenséget szisztemikus, szerzett génlecsendesítésnek nevezték el, mely szekvensspecifitást igényel. A posztranszkripcionális gén csendesítésnek, (hatástalanításnak) három szakasza különíthető el: iniciálódás, terjedés és fenntartás (Voinnet et al. 1998, Palauqui és Balzergue 1999). A kezdeti lépés az aberráns RNS-ek kialakulása, mely többféleképpen történhet, pl. metilációval vagy az ektopikus párosodás (ectopic pairing) jelensége által (Vaucheret et al. 1998). Ekkor a transzgenek és a homológ endogének közötti bázispárosodás interferál a transzkripcióval, így nyújtva lehetőséget aberráns RNS-ek létrejöttére (Baulcombe és English 1996). Megfigyelték azonban génlecsendesítést olyan esetekben is, amikor promóter nélküli transzgenkonstrukcióval (petunia kalkon szintáz génnel) transzformáltak növényeket. Ez arra utal, hogy maga a szekvenciahomológiát mutató DNS-szakasz is képes indukálni a folyamatot akár szensz, akár antiszensz orientációban. Az antiszensz nukleinsavak általi rezisztencia feltételezett hatásmechanizmusai lehetnek: a vírus proteinek translációjának megzavarása, a víruseredetű polimeráz és a felismerőhely interakciójának gátlása, duplaszálú RNS-ek kialakulása, illetve gyors degradációja. A DNS molekulák szerepére magyarázatként szolgálhat ismét az ektopikus párosodás jelensége, ami létrejöhet a repetitív transzgenek vagy a transzgenek és a homológ endogének között is, de akár RNS-DNS interakció is kiválthatja a posztranszkripcionális gén csendesítést egykópiás transzgen lókusznál. A génlecsendesítés hatékonysága 300 bázispárnyi homológia alatt erősen lecsökken. A posztranszkripcionális gén csendesítés terjedése a vírusok, viroidok terjedéséhez hasonló, melyek szignálmolekulája valószínűleg egy olyan RNS-molekula, amely a koszipressziót kiváltó molekula hibridizációját követően jön létre. Egyes feltételezések szerint az aberráns RNS-ek is részt vehetnek a terjedésben. A szignál a tranziensen transzformált levelek eltávolítása után is képes terjedni,

ekkor a koszupresszió lokálisan iniciálódik és lecsökken a transzkriptumszint, tehát a szignál képes indukálni az RNS degradációs mechanizmust és újabb szignálmolekulák képződését. A mechanizmus vírus RNS-ek ellen is irányulhat, így a posztranszkripcionális gén csendesítés egy természetes növényi antivirális reakció. A tobamo-, potex- és geminivírusok aktivátorai és targetjei a génlecsendesítésnek megfelelő nukleinsav-homológia esetén. A caulimo- és nepovírusok posztranszkripcionális gén csendesítésszerű reakciót indukálnak mint rezisztenciamechanizmust, akkor is, ha nincs szekvenciahomológia a vírus és a nukleáris gének között (Ratcliff *et al.* 1997, Covey *et al.* 1997). Ezáltal a szisztemikusan fertőzött levelek szimptomamentesekké válnak, lecsökken a vírusszám, és kialakul egy RNS szekvenciaspecifikus rezisztencia a fertőző vírussal szemben. A vírusok is kifejlesztettek valamilyen védekező mechanizmust a posztranszkripcionális gén csendesítésének elkerülésére vagy gyengítésére. Brigneti *et al.* (1998) GFP-t expresszáló *N. benthamiana* növényeket infiltráltak azonos GFP konstrukciót hordozó *Agrobacterium tumefaciens*-szel, majd tíz nappal később teljes génlecsendesítést tapasztaltak. A koszupresszió megjelenését követően a növényeket fertőzték PVY-al, CMV-vel és PVX-el. A PVY és CMV esetében a GFP posztranszkripcionális gén csendesítésének gátlását tapasztalták a vírusok okozta tünetek mellett, míg a PVX nem hatott a jelenségre. A mechanizmus vizsgálata érdekében a PVY és a CMV egyes fehérjeit expresszáltatták PVX vektorban, és kimutatták, hogy a PVY HC-Pro és a CMV 2b proteinek részt vesznek a posztranszkripcionális gén csendesítésének gátlásában. A PVY és a CMV a növény eltérő részein szupresszálják a génlecsendesítést, így ezek valószínűleg a folyamat különböző szakaszait blokkolják. Feltételezték, hogy a jelenséget inkább a proteinek váltják ki, mint az RNS-ek, ugyanis a PVX vektorba épített módosított, nem transzlálódó szekvenciák nem idéztek elő szupressziót. Mindez valószínűleg nem egy specifikus mechanizmus. A HC-Pro valószínűleg a posztranszkripcionális gén csendesítés fenntartását gátolja, míg a 2b protein a szignál bejutását, azaz a jelenség kialakulását akadályozza meg.

Goodwin *et al.* (1996) TEV CP konstrukcióval transzformált növényeken végzett vizsgálatok alapján megállapították az RNS által kiváltott rezisztencia és a transzgén beépülési kópiaszáma közötti összefüggéseket. Azt tapasztalták, hogy egy vagy két kópiában történő beépülés „recovery” fenotípust eredményez, három vagy több kópia szükséges egy magas szintű rezisztencia kiváltásához, melyben a posztranszkripcionális RNS degradáló mechanizmus a virális target RNS szekvencia specifikus hatásával lép működésbe, intermedier termékeket képezve. Azok a növényi vonalak pedig, melyek nyolcnál több transzgén kópiával rendelkeznek, fogékonyak voltak TEV-fertőzéssel szemben. Ezekben az esetekben a transzgén transzkripcióját nem tudták kimutatni, ami egy DNS-szintű génlecsendesítési mechanizmus jelenlétére és működésére utal.

Kockázati tényezők a köpenyfehérje által mediált keresztvédetség technológiájának felhasználása esetén

A legtöbb növényi vírus RNS a köpenyfehérjébe csomagolódik be, ez azonban nemcsak védi azt, hanem részt vesz különféle interakciókban a gazdanövény és a vírus replikációjának egyes pontjainál. A CP funkciói függenek az adott vírustól, ami lehet pl. replikációs szerep (AIMV), növényen belüli mozgás (TMV), felismerési pont a gazdanövény rezisztenciamechanizmusában (TMV – *Nicotiana* N genotípuson) és részt vehet a transzmisszióban, azaz a vektorokkal történő vírusterjedésben (Tepfer 1993).

A CP általi rezisztencia többnyire a donorvírussal szemben hatékony, olykor a közeli rokonvírusok esetében is, de legritkábban a távolabbi rokon vagy nem rokon vírusokkal szemben. Ezért a transzgénikus növényt legvalószínűbb egy távoli rokon vagy nem rokonvírus fertőzheti meg, így számolnunk kell a transzgén és a fertőző vírus közötti esetlegesen előforduló interakciók kialakulásával. A transzgénikus növényekben expresszálandó vírusgénnek három különböző jelenség következtében hordoznak kockázati tényezőt: (i) rekombináció, (ii) hetero/transzkapszidáció (iii) szinergista hatás.

Homológ és heterológ rekombináció

Vírus köpenyfehérjéjéig expresszálo növény esetleges felülfertőződése rokonvírussal nem különbözik a természetben is meglévő fogékony növényben előforduló két vagy több vírussal történő együttfertőződéstől. Ezt a jelenséget minden egyes vírus esetében megtaláljuk, hiszen a vírus quasi fajnak tekinthető, és szinte kivétel nélkül több vírustörzs van jelen a fertőzött növényben. Irodalmi adatok szerint egy természetes vírustörzs esetén a rekombináció elérheti a 35%-os gyakoriságot. Azonosításra kerültek a CP-gént kódoló RNS 3' végén elhelyezkedő rekombinációs „forró pontok”, melyek eltávolítása mellett is sikerrel lehet olyan konstrukciókat előállítani, amelyekkel a keresztvédetség indukálható. A rekombináció a CP-gént expresszálo növényekben, ha azok ellenállóak, elvileg vírussal nem fertőzhetők felül, így a rekombináció sem alakulhat ki ezen fizikai ok miatt. *Falk és Bruening* (1994) szerint az új víruskárok nem a transzsgénnekkel történő rekombinációkból eredhetnek, hanem a már meglévő vírusgenomok közötti variációkból. Kicsi az esélye annak, hogy a rekombinációs versenyképesebbek vagy stabilabbak a már meglévőkénél. A vírusevolúció szerves részének kell tekintenünk a rekombinációt, melynek gyakorisága a természetben igen kis értéket mutat és kísérleti adatok szerint a transzsgénikus növényekben előforduló rekombináció gyakorisága messze elmarad a természetben előforduló vírustörzsek esetében (Vö. *Tepfer és Balázs* 1997).

Hetero- és transzkapszidáció

A köpenyfehérjéjéig expresszálo növényekben egy esetleges rokon-vírusrörzs felülfertőződése során hetero- vagy transzkapszidáció nyilvánulhat meg, ami annyit jelent, hogy a felülfertőző vírus RNS-ét a transzsgénből származó CP csomagolja be, kialakítva a viriont. Ez lehet teljes és részleges is. A hetero- vagy transzkapszidáció gyakorisága hasonlóan a rekombinációhoz a kevert fertőzések miatt jól ismert jelenség a növénykörtanban. Kockázati tényezőt az jelenthet, hogyha olyan CP képződik a növényben, amely a vírus vektorokkal való terjedését segíti, és így egy eredetileg vektorral nem terjedő vírus hetero- vagy transzkapszidációja

lehetővé teszi ennek a vírusnak más növényre való jutását. A PPV CP-t expresszálo transzsgénikus növényekben ZYMV 'NAT' törzs levéltetvekkkel történő átvitelét tapasztalták *Jaquet et al.* (1998), holott ez az izolátum a saját köpenyfehérjéje által levéltetvekkkel nem képes terjedni. Mivel a vírus genomjában változás nem történt, ezen a növényen az eredeti állapot áll helyre, azaz itt már a transzkapszidáció nem alakul ki. Ugyanezt a jelenséget már korábban is megfigyelték *Atreya et al.* (1991), *Bourdin és Lecoq* (1991), ill. *Candelier-Harvey és Hull* (1993). Csonkolt CP-génkonstrukciókkal is sikerült keresztvédetséget kialakítani, amely konstrukció terméke nem képes a vírus RNS-t becsomagolni, miközben a keresztvédetség jelensége megfigyelhető (*Lecoq et al.* 1993). A különböző konstrukciók különféle köpenyfehérje-modifikációkat kódoltak, mely fehérjék közül némelyik ugyan részt vett a hetero- vagy transzkapszidációban, a levéltetűvel való terjedést azonban egyik sem tette lehetővé. Ezzel a módszerrel ezt az esetleges rizikótényezőt is sikerrel számolták fel.

Szinerfizmus

A növénykörtanban jól ismert az a jelenség, hogy két vagy több vírus együttes fertőzése a tüneteket befolyásolja negatív értelemben, azaz a betegség tünet súlyosabb lesz. Jól példázza ezt a burgonya X vírus és Y vírus együttes fertőzése esetén a növény igen súlyos kórképe, amely teljes pusztuláshoz is vezet, megemlítve azt, hogy a burgonya X vírus egyedüli fertőzés esetén szinte tünetmentes a burgonyanövényen. Nem tudjuk még, hogy egyes vírusgének megnyilvánítása a kultúr- növényekben egy felülfertőző vírussal együttesen kialakíthat-e ilyen szinerfizma hatást, azaz a betegség kórképének megváltozását, a növény esetleges pusztulását. Ennek a rizikótényezőnek a kísérletes tanulmányozása mindenképpen napjaink és a jövő feladata.

Köszönetnyilvánítás

*Köszönetet szeretnék mondani
Dr. Szilassy Dénesnek a kézirat átolvasásáért
és hasznos tanácsaiért.*

IRODALOM

- Atreya, P. L.–Atreya, C. D.–Pirone, T. P.*: 1991. Amino acid substitutions in the coat protein results in loss of insect transmissibility of a plant virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 7887–7891.
- Baulcombe, D. C.–English, J. J.*: 1996. Ectopic pairing of homologous DNS and post-transcriptional gene silencing in transgenic plants. *Current Opinion in Biotechnology* 7: 173–180.
- Beachy, R. N.*: 1990. Coat protein-mediated resistance against virus infection. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28: 451–474.
- Bendahmane, M.–Fitchen, J. H.–Zhang, G.–Beachy, R. N.*: 1997. Studies of coat protein-mediated resistance to tobacco mosaic tobamovirus: correlation between assembly of mutant coat proteins and resistance. *Journal of Virology* 71: 7942–7950.
- Bourdin, D.–Lecoq, H.*: 1991. Evidence that heteroencapsidation between two potyviruses is involved in aphid transmission of a non-aphid-transmissible isolate from mixed infections. *Phytopathology* 11: 1459–1464.
- Brigneti, G.–Voinnet, O.–Li, W. X.–Ji, L. H.–Ding, S. W.–Baulcombe, D. C.*: 1998. Viral pathogenicity determinants are suppressors of transgene silencing in *Nicotiana benthamiana*. *EMBO J.* 17: 6739–6746.
- Candelier-Harvey, P.–Hull, R.*: 1993. Cucumber mosaic virus genome is encapsidated in alfalfa mosaic virus coat protein expressed in transgenic tobacco plants. *Transgenic Research* 2: 277–285.
- Clark, W. G.–Fitchen, J.–Nejdat, A.–Deom, C. M.–Beachy, R. N.*: 1985. Studies of coat protein-mediated resistance to tobacco mosaic virus (TMV). II. Challenge by a mutant with altered virion surface does not overcome resistance conferred by TMV coat protein. *J. of General Virology*, 76: 1613–1617.
- Covey, S. N.–Al-Kaff, N. S.–Långara, A.–Turner, D. S.*: 1997. Plants combat infection by gene silencing. *Nature* 385: 781–782.
- De Haan, P.–Gielen, J. J.–Prins, M.–Wijkmp, I. G.–van Schepen, A.–Peters, D.–van Grinsven, M. Q.–Goldbach, R.*: 1992. Characterization of RNA-mediated resistance to tomato spotted wilt virus in transgenic tobacco plants. *Bio/Technology (N Y)* 10: 1133–1137.
- English, J. J.–Mueller, E.–Baulcombe, D. C.*: 1996. Suppression of virus accumulation in transgenic plants exhibiting silencing of nuclear genes. *Plant Cell* 8: 178–188.
- Falk, B. W.–Bruening, G.*: 1994. Will transgenic crops generate new viruses and new diseases? *Science* 263: 1395–1396.
- Goodwin, J.–Chapman, K.–Swaney, S.–Parks, T. D.–Wernsman, E. A.–Dougherty, W. G.*: 1996. Genetic and biochemical dissection of transgenic RNA-mediated virus resistance. *Plant Cell* 8: 95–105.
- Jacquet, C.–Delecolle, B.–Raccah, B.–Lecoq, H.–Dunez, J.–Ravelonandro, M.*: 1998. Use of modified plum pox virus coat protein genes developed to limit heteroencapsidation-associated risks in transgenic plants. *Journal of General Virology* 79: 1509–1517.
- Lecoq, H.–Ravelonandro, M.–Wipf-Scheibel, C.–Monsion, M.–Raccah, B.–Dunez, J.*: 1993. Aphid transmission of a non-aphid-transmissible strain of zucchini yellow mosaic potyvirus from transgenic plants expressing the capsid protein of plum pox potyvirus. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 3: 403–406.
- Lindbo, J. A.–Dougherty, W. G.*: 1992a. Pathogen-derived resistance to a potyvirus: immune and resistance phenotypes in transgenic tobacco expressing altered forms of a potyvirus coat protein nucleotide sequence. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 5: 144–153.
- Lindbo, J. A.–Dougherty, W. G.*: 1992b. Untranslatable transcripts of the tobacco etch virus coat protein gene sequence can interfere with tobacco etch virus replication in transgenic plants and protoplasts. *Virology* 189: 725–733.
- Lindbo, J. A.–Silva-Rosales, L.–Proebsting, W. M.–Dougherty, W. G.*: 1993b. Induction of highly specific antiviral state in transgenic plants: Implications for regulation of gene expression and virus resistance. *Plant Cell* 5: 1749–1759.
- Lomonosoff, G. P.*: 1995. Pathogen-derived resistance to plant viruses. *Annal Review of Phytopathology* 33: 323–343.
- Mueller, E.–Gilbert, J. E.–Davenport, G.–Brigneti, G.–Baulcombe, D.C.*: 1995. Homology-dependent resistance: Transgenic virus resistance in plants related to homology-dependent gene silencing. *Plant Journal* 7: 1001–1013.

- Palauqui, J. C.–Elmayan, T.–Pollien, J. M.–Vaucheret, H.: 1997. Systemic acquired silencing: transgene-specific post-transcriptional silencing is transmitted by grafting from silenced stocks to non-silenced scions. *EMBO J.* 15: 4738–4745.
- Palauqui, J. C.–Balzergue, S.: 1999. Activation of systemic acquired silencing by localised introduction of DNA. *Current Biology* 9: 59–66.
- Powell-Abel, P.–Nelson, R. S.–De, B.–Hoffmann, N.–Rogers, S. G.–Fraleigh, R. T.–Beachy, R. N.: 1986. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science* 232: 738–743.
- Powell-Abel, P.–Sanders, P. R.–Turner, N.–Fraleigh, R. T.–Beachy, R. N.: 1990. Protection against tobacco mosaic virus infection in transgenic tobacco plants requires accumulation of coat protein rather than coat protein RNA sequences. *Virology* 175: 124–130.
- Ratcliff, F.–Bryan, D. H.–Baulcombe, D. C.: 1997. A similarity between viral defense and gene silencing in plants. *Science* 276: 1558–1560.
- Reimann-Philipp, U.–Beachy, R. N.: 1973. The mechanism of coat protein-mediated resistance against tobacco mosaic virus. *Seminars in Virology*, 6: 349–357.
- Smith, H. A.–Swaney, S. L.–Parks, T. D.–Wernsam, E. A.–Dougherty, W. G.: 1994. Transgenic plant virus resistance mediated by untranslatable sense RNAs: expression, regulation, and fate of nonessential RNAs. *Plant Cell* 6: 1441–1453.
- Smith, H. A.–Powers, H.–Swaney, S.–Brown, C.–Dougherty, W. G.: 1995. Transgenic potato virus Y resistance in potato: Evidence for an RNA-mediated cellular response. *Phytopathology* 85: 864–870.
- Sonoda, S.–Mori, M.–Nishiguchi, M.: 1999. Homology-dependent virus resistance in transgenic plants with the coat protein gene of sweet potato feathery mottle potyvirus: Target specificity and transgene methylation. *Virology* 5: 385–391.
- Tepfer, M.: 1993. Viral genes and transgenic plants (What are the potential environmental risks?) *Bio/Technology* 11: 1125–1129.
- Tepfer, M.–Balázs, E. (eds): *Virus-resistant Transgenic Plants: Potential Ecological Impact*. 1997. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, INRA Paris.
- Van der Vlugt, R. A. A.–Ruiter, K. R.–Goldbach, R.: 1992. Evidence for sense RNA-mediated protection to PVY^N in tobacco plants transformed with the viral coat protein cistron. *Plant Mol. Biol.* 20: 631–639.
- Van Dun, C. M. P.–Overduin, B.–vanVloten-Doting, L.–Bol, J.: 1988. Transgenic tobacco expressing tobacco streak virus or mutated alfalfa mosaic virus coat protein does not cross-protect against alfalfa mosaic virus infection. *Virology*, 164: 383–389.
- Van Dun, C. M. P.–Bol, J. F.: 1988. Transgenic tobacco plants accumulating tobacco rattle virus coat protein resist infection with tobacco rattle virus and pea early browning virus. *Virology* 167: 649–652.
- Vaucheret, H.–Beclin, C.–Elmayan, T.–Feuerbach, F.–Godon, C.–Morel, J. B.–Mourrain, P.–Palauqui, J. C.–Vernhettes, S.: 1998. Transgene-induced gene silencing in plants. *Plant Journal* 16: 651–659.
- Voinnet, O.–Vain, P.–Angell, S.–Baulcombe, D.: 1998. Systemic spread of sequence-specific transgene RNA degradation in plants is inhibited by localised introduction of ectopic promoterless DNA. *Cell* 95: 177–187.
- Wisniewski, L. A.–Powell, P. A.–Nelson, R. S.–Beachy, R. N.: 1990. Local and systemic spread of tobacco mosaic virus in transgenic tobacco plants. *Plant Cell* 2: 559–567.

Érkezett: 2000. 05. 10.

A szerzők levélcíme – Address of the authors:

Dr. Józsa Rita–Dr. Balázs Ervin
Mezőgazdasági Biológiai Kutatóközpont
Gödöllő
Szent-Györgyi A. u. 4.
H–2100