

버섯에 존재하는 다양한 dsRNA의 분자생물학적 연구

박윤정, 신평균, 장갑열, 공원식, 정종천, 유영복
농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과

Molecular characteristics of diverse dsRNAs in edible fungi

Yunjung Park, Pyung-Gyun Shin, Kab-Yeul Jang, Won-Sik Kong, Jong-Chun Cheong, Young-Bok Yoo

Mushroom Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Suwon, 441-707, Korea

(Received April 9, 2010. Accepted April 13, 2010)

ABSTRACT : Mycoviruses have been found in many fungal species including mushrooms. Double-stranded (ds) RNA genomes were common type in mycoviruses, but single-stranded (ss) RNA mycoviruses were also reported in some fungal species. Sequencing analysis using cDNA cloning experiments revealed that mycoviruses can be classified into several different virus families such as *Totiviridae*, *Hypoviridae*, *Partitiviridae* and *Barnaviridae* etc. Because the nucleotide sequence data that are available in these days are very limited in a number of mycoviruses, the existence of more diverse viral groups in fungi are currently expected. In this review, we selected four different fungal groups, which were considered as the model systems for mycovirus related studies in both plant pathogenic fungi and edible mushroom species, and discussed about their molecular characteristics of diverse mycoviruses. The plant pathogenic fungi introduced here were *Cryphonectria parasitica* and *Helminthosporium victoriae* and the edible mushroom species were *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*.

KEYWORDS : Double-stranded RNA, Mushroom, Mycovirus

서 론

지구상에서 최초로 바이러스가 언제 출현되었는지, 혹은 어떠한 물질로부터 시작되어 왔는지에 관한 학설은 아직까지 정확하게 밝혀져 있지 않다. 그러나 새로운 생명공학 기법의 발달과 더불어, 점차 많은 바이러스 학문 분야의 연구가 수행되어 왔으며, 최근에 와서는 바이러스 게놈의 염기서열 분석, 유전체 비교분석과 같은 분자생물학적 연구에 힘입어 바이러스의 기원에 관한 여러 가지 가설이 제기되고 있다. 그 중 대표적인 가설로는 바이러스들이 기주(host) 세포의 DNA 혹은 원시 RNA 분자로부터 원시바이러스의 특징을 지닌 최초의 바이러스가 생겨났을 것으로 추정되고, 이후 생태계에 존재하는 다양한 생물들과 상호작용하면서 변화무쌍한 새로운 환경에 지속적으로 적응해 왔으리라 생각된다. 각각의 바이러스들은 지구상의 다른 유전체 진화에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 돌연변이(mutation), 재조합(recombination), 혹은 재편성(reassortment)과 같은 유전적인 변화를 통하여 새로운 형태의 바이러스로 진화해 왔을 것으로 추정되어지고 있다 (Holland and Domingo, 1998; Becker, 2000). 그러나 대부분의 경우 특정 바이러스들이 실질적으로 어느 물질로부터, 어떻게 생겨났으며, 또한 그들의

숙주에게는 혹은 비슷한 다른 바이러스들에게는 어떠한 영향을 미치면서 점진적으로 진화하여 왔는지에 관한 실제적인 예를 찾아 증명하기에는 힘든 것이 사실이다.

곰팡이에서도 바이러스의 존재는 보고되어왔다(Ghabrial, 1998). 이들 곰팡이 그룹에서 발견되는 바이러스들을 일반적으로 통합하여 “곰팡이바이러스 (mycovirus)” 라 명명하고, 이들 곰팡이바이러스 대부분은 double-stranded (ds) RNA 게놈 형태를 가지고 있는 것으로 알려져 있다 (Buck, 1986; Ghabrial, 1994; Ghabrial, 1998). 이 곰팡이바이러스들이 다른 그룹의 바이러스와 구별되는 독특한 특징 중 하나는 세포외 감염(extracellular infection) 경로가 발견되지 않는 것이다. 곰팡이 바이러스들은 새로운 숙주세포를 감염시키는 방법으로 이러한 세포 외 감염경로 대신 서로 유전적으로 다른 곰팡이 균주와 균주가 접합을 하는 균사접합(hyphal anastomosis)을 통하여 수평적 이동(horizontal transmission)을 하거나 혹은 곰팡이의 포자 증식에 의하여 바이러스가 곰팡이의 다음 세대로 이동을 하는 수직적 이동(horizontal transmission)과 같은 방법을 이용하는 것으로 알려져 있다. 또한 곰팡이 바이러스는 숙주에 특정한 병징을 나타내지 않는 cryptic symptom을 일으키는 바이러스들이 많이 존재하고 있는 것으로 알려져 있다 (Lemke, 1979; Ghabrial, 1998). 현재까지 이러한 곰팡이 바이러스들의 독특한 특징들은 바이러스들이 곰팡이 균주 안에서 오

* Corresponding author (E-mail: yparkd@korea.kr)

Table 1. Summary of mycoviruses found in *C. parasitica*, *H. victoriae*, *A. bisporus* and *P. ostreatus*

Fungal host	Genome	Family	Species
<i>Cryphonectria parasitica</i>	ssRNA dsRNA	<i>Narnaviridae</i> <i>Hypoviridae</i> <i>Reoviridae</i>	<i>Cryphonectria mitovirus 1</i>
			<i>Cryphonectria hypovirus 1</i>
			<i>Cryphonectria hypovirus 2</i>
			<i>Cryphonectria hypovirus 3</i>
			<i>Cryphonectria hypovirus 4</i>
			<i>Mycoreovirus-1</i>
			<i>Mycoreovirus-2</i>
			<i>Mycoreovirus-3</i>
<i>Helminthosporium victoriae</i>	dsRNA	<i>Totiviridae</i>	<i>Helminthosporium victoriae virus 190S</i>
		<i>Chrysoviridae</i>	<i>Helminthosporium victoriae virus 145S</i>
<i>Agaricus bisporus</i>	ssRNA dsRNA	<i>Barnaviridae</i>	<i>Mushroom bacilliform virus</i>
		<i>Chrysovirus</i>	<i>Agaricus bisporus virus 1</i>
		<i>Partitiviridae</i>	<i>Agaricus bisporus virus 4</i>
		<i>Unassigned</i>	<i>La France isometric virus</i>
<i>Pleurotus ostreatus</i>	dsRNA	<i>Partitiviridae</i>	<i>Pleurotus ostreatus virus 1</i>
	ssRNA	<i>Unassigned</i>	<i>Oyster mushroom spherical virus 1</i>

랜 기간 동안 살아남기 위한 성공적인 진화의 결과물로 이해되고 있다. 외부감염능력을 잃어버린 곰팡이 바이러스가 숙주에 치명적인 병징을 일으켜 숙주의 죽음을 일으킨다면, 결국 그 곰팡이 바이러스는 생태계에서 자연스럽게 소멸되기 때문이다.

곰팡이 바이러스는 생명의 진화와 더불어 아주 오랜 시간 동안 곰팡이 안에 존재해왔을 것으로 추측되고 있다. 이러한 가설은 곰팡이 바이러스의 염기서열 분석 연구 결과에 의해서 추측되고 있으며, 곰팡이 바이러스와 유전적으로 연관성이 있는 바이러스들이 원생동물(protozoa)을 감염시키고 있는 바이러스 그룹으로 나타남에 따라 제기되었다. 고대생물에서 곰팡이와 원생동물로 진화학적으로 갈라진 사건은 아주 오래 전에 발생하였으며, 이러한 사건이 일어나기 전 이미 현재의 곰팡이 바이러스들이 고대 생물을 감염시키고 있었던 것으로 추측되고 있다. 이러한 가설을 뒷받침하는 증거로는 식물의 병을 일으키는 병원성 곰팡이에 존재하는 *Helminthosporium victoriae virus 190SV* (Hv190SV)의 유전적 연관성을 실험한 결과, 이 바이러스들은 비슷한 곰팡이 그룹에 속하는 이스트를 감염시키는 바이러스들 보다는 원생동물을 감염시키는 *Leishmania RNA virus 1* (LRV1)과 *Leishmania RNA virus 2* (LRV2)에 더욱 유전학적으로 연관성이 있음으로 나타났다. 따라서 이러한 곰팡이 바이러스는 곰팡이와 원생생물이 갈라지는 사건이 일어나기 전 아주 오래 전부터 이미 존재하고 있었던 것으로 추측되고 있다 (Ghabrial, 1998).

오랜 세월 숙주 곰팡이와 함께 존재해 왔던 각각의 혹은 그룹의 dsRNA들이 단 하나의 조상으로부터 파생되어 왔는지 혹은 여러 조상으로부터 진화해 왔는지에 관한 논란은 현재까지 계속되고 있다. 곰팡이 dsRNA들은 유전적으

로나 혹은 형태학적으로나 아주 다양한 것으로 밝혀졌으며, 이런 유전학적으로 다양한 곰팡이 dsRNA의 시초에 관한 가설은 단 한번의 단일 원시유전체에서 현재의 다양한 dsRNA가 파생되어 왔을 것이라는 monophyletic 가설보다는, 다수의 전혀 다른 origin으로부터 시작되어 왔을 것으로 생각되는 polyphyletic 가설이 더욱 힘을 얻고 있다. 이를 뒷받침 하는 실질적인 증거자료로 dsRNA 바이러스 게놈 부위 중 가장 conserved 되어 있는 부분으로 알려진 RNA dependant RNA polymerase(RdRp) 유전자 부위를 다양한 곰팡이 dsRNA의 게놈으로부터 분리하여 분석한 결과, 염기서열의 유사성이 거의 존재하지 않는 것으로 나타났다 (Koonin, 1991; Koonin 1992). 또한 곰팡이의 dsRNA에 존재하는 각각의 RdRp 유전자의 크기도 다양한 것으로 알려져 있어, 여러 곰팡이 균주에서 발견되어지는 다양한 dsRNA들은 하나의 유전체가 아닌 이전에 존재해 왔던 여러 바이러스 혹은 세포 내 다른 유전 물질들로부터 앞에서 언급한 주요한 진화론적인 힘 (force) 혹은 영향을 거치면서, 각각의 상황에 변화 적응하여 새로운 dsRNA로 거듭 진화해 온 것으로 추측되어지고 있다 (Koonin, 1992; Koonin and Dolja, 1993). 그러나 어떠한 그룹의 dsRNA들이 같은 조상에서 혹은 다른 조상에서 언제 파생되어 왔는지에 관한 것은 여전히 연구되어야 할 부분이다.

최초로 곰팡이숙주에 바이러스가 존재하고 있다는 보고가 있는 후, 다른 종류의 곰팡이에서도 계속해서 바이러스가 보고되어 왔으며, 현재는 거의 대부분의 곰팡이 그룹에 바이러스가 있을 것으로 추정되고 있다. 하지만 이들 대다수의 연구는 곰팡이바이러스 존재 여부를 밝혀내는 정도의 기초적인 연구에 국한되어 있으며, 바이러스 감염 기작 및 복제방법, 곰팡이의 유전적인 현상 등과 같은 보다 깊이 있는 연구

들을 수행하고 있는 예는 그리 흔하지 않다. 이들 곰팡이바이러스의 분류는 dsRNA의 유전체의 염기서열 분석 이외에도, 바이러스 게놈의 크기, 분절체의 존재 유무, 곰팡이 균주의 특징, 코딩하고 있는 유전자와 이미 알려진 다른 유전자들과의 유사성 정도 등과 같이 복합적인 연구 결과를 통하여 분류되고 있다. 현재까지 알려진 대표적인 곰팡이 dsRNA는 *Hypoviridae*, *Narnaviridae*, *Partitiviridae*, *Totiviridae* 등에 속하는 것으로 나타났다 (Ghabrial *et al.*, 1995a; Ghabrial *et al.*, 1995b; Hillman *et al.*, 1995; Wickner *et al.*, 2000). 본 보고에서 곰팡이바이러스 연구에 있어서 대표적인 예로 알려진 두 종류의 식물 병원성 곰팡이 (*Cryphonectria parasitica*와 *Helminthosporium victoriae*)와 식용으로 사용되는 두 종류의 버섯 (*Agaricus bisporus*와 *Pleurotus ostreatus*)에서 얻어진, 현재까지 여러 측면의 dsRNA 연구결과 중 특히 dsRNA의 유전적 다양성과 그들의 분자생물학적인 특징에 관해서 중점적으로 논하고자한다 (Table 1).

Cryphonectria parasitica 의 dsRNA

*Cryphonectria parasitica*는 밤나무의 병을 일으키는 곰팡이 균으로써 북아메리카에서 유럽지역으로 처음 유입되었으며, 이 곰팡이균으로 인해 유럽에서는 크나큰 경제적 손실을 입게 되었다 (Grente, 1969). 이들을 방제하기 위하여 여러 연구를 진행시키던 중 이 곰팡이균에 감염된 밤나무 중 다른 밤나무와는 달리 병징이 경미하여 살아남는 밤나무가 존재하는 것을 발견하였다. 이와 같은 밤나무에서 최초로 *C. parasitica* 균주를 분리하는데 성공하였으며, 이 균주는 정상적인 다른 *C. parasitica* 균주와는 전혀 다른 특징을 나타내는 것으로 보였다. 이 균주들의 특징은 정상적인 균주에 비해 오렌지 색깔을 띠고 있고, 곰팡이 자체의 virulent가 약화 되어 있는 것으로 나타나 이 균주를 "hypovirulent strain"으로 불리게 되었다 (Anagnostakis, 1987). 결국 이 hypovirulence 균주들은 dsRNA의 존재와 연관성이 있다는 것이 알려지게 되었다. 최초의 hypovirulence dsRNA가 밝혀진 이래로 수많은 연구가 진행되어 왔지만, 현재까지 이들 dsRNA가 숙주인 곰팡이 안에서 어떻게 hypovirulence를 일으킬 수 있는 지에 관한 정확한 기작은 밝혀져 있지 않다. 그러나 이러한 수많은 연구를 통해서 곰팡이균과 dsRNA의 여러 방면의 기초 생물학을 이해하는데 중요한 밑바탕이 되어 왔으며, 이들의 연구결과는 곰팡이 바이러스 연구의 중요한 모델 system으로 생각되고 있다 (Nuss and Koltin, 1990; Dawe and Nuss, 2001).

Hypovirus, CHV1의 분자생물학적 연구

*C. parasitica*에서 가장 대표적으로 집중적인 연구가 이루어진 dsRNA는 *Cryphonectria hypovirus 1 EP713*

(CHV1-EP713)을 들 수 있다 (Shapira *et al.*, 1991). 이 dsRNA는 유럽에서 분리된 hypovirulent 균주인 EP713에서 발견된 dsRNA이다. 이 dsRNA 게놈 전체 길이는 12,712 nucleotide로 이 길이는 게놈 끝의 poly A tailing은 제외한 것이다 (Shapira *et al.*, 1991). 두 개의 open reading frame (ORF)이 존재하는 것으로 알려져 있으며, 이 두 개는 ORF A와 ORF B로 명명되었다. ORF A는 polyprotein인 p69의 autocatalytic activity에 의해 잘려진 p29와 p40인 두 개의 polypeptide를 암호화 하고 있는 것으로 알려져 있으며, ORF B 역시 polyprotein을 암호화 하고 있으며 autocatalytic activity에 의하여 p48 polyprotein을 생성한다 (Choi *et al.*, 1991a; Choi *et al.*, 1991b; Shapira and Nuss 1991). ORF A와 ORF B사이의 게놈의 중간부분에는 5' -UAAUG-3' 염기서열을 가지고 있으며, 이 염기서열은 ORF A에게는 termination code로 작용하고, 또한 ORF B에게는 starting code로 작용하는 것으로 알려져 있다. 이 dsRNA의 RdRp 유전자는 ORF B가 암호화 하는 것으로 보이며, 염기서열 유사성을 조사하였을 때, 식물 바이러스 중에서 흔히 발견되는 Potyvirus 그룹의 RdRp 유전자와 가장 높은 유사성을 나타내었다. 또한 CHV1의 ORF B는 p48로 명명된 papain-like protease의 기능을 가지고 있을 것으로 추정되는 단백질을 암호화 하고 있는 것으로 알려져 있다. 최근 연구결과에 의하면 CHV1의 ORF B 단백질은 coupled termination/reinitiation 기작에 의하여 translation되는 것으로 알려져 있다 (Guo *et al.*, 2009). Guo와 Suzuki는 firefly luciferase gene을 이용한 재조합 단백질 기술과 돌연변이 연구를 이용하여, ORF A의 translation이 끝난 뒤, 다시 ORF B의 translation이 시작되는 것을 증명하였다. 이러한 translation 기작은 다른 바이러스와 비교하였을 때, 독특한 translation 방법으로 여겨지고 있다. 흔히 single-stranded RNA virus에서는 downstream ORF의 translation은 subgenomic mRNA 생성을 통해서 이루어지는 것으로 알려져 있다. 또한 CHV1의 coupled termination/reinitiation 기작은 reinitiation 정도와 virus viability가 연관성이 있는 것으로 나타났으며, 아직까지 많은 부분에서 어떻게 정확한 coupled termination/reinitiation이 이루어지고 있는지는 알려져 있지 않다. 이 이외에도 CHV1의 전체 게놈 중 5' - 끝 부분의 non-coding 부분은 약 494 염기서열로 이루어져 있고, 6개의 minicistron을 가지고 있는 것으로 알려졌다 (Shapira *et al.*, 1991). 이들 5' - 끝 부분에 존재하는 non-coding 부분은 Internal Ribosome Entry Site (IRES) activity가 있을 것으로 추정되고 있으나 정확한 실험적 증거는 보고되지 않았다.

이와 같이 CHV1의 게놈 분석을 통하여 여러 단백질을 암호화하고 있는 것으로 알려져 있으며, 이들 각각의 protein들

의 기능을 밝히기 위한 많은 연구가 수행되어왔다. 이미 널리 알려진 바와 같이 많은 바이러스 유전자가 암호화 하고 있는 단백질들은 단 한가지의 기능 이외에도 다수의 기능을 가지고 있는 것과 같이, CHV1의 단백질들도 multi-function을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다. 대표적인 예로 CHV1의 ORF A의 p29과 ORF B의 p48을 들 수 있다 (Craven *et al.*, 1993; Suzuki *et al.*, 1999; Suzuki *et al.*, 2003; Sun *et al.*, 2006; Deng and Nuss 2008). 이 두 개의 단백질들은 대표적으로 알려진 protease activity이외에도 symptom을 결정짓는 역할을 하거나 혹은 CHV1의 replication에 관련이 있는 것으로 보고되었다 (Suzuki *et al.*, 2003; Deng and Nuss, 2008). 또한 최근의 연구에 의하면 이러한 역할들 이외에도, p29은 RNA silencing을 suppress하거나, homologous 혹은 heterologous virus들의 replication을 증진하는 기작에 관여, 혹은 다른 그룹의 바이러스, Reovirus인 *Mycroevirus 1* (MyRV1)의 게놈 rearrangements에도 관여하고 있는 것으로 보고되어졌다 (Segers *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2006; Sun and Suzuki, 2008). 또 p29의 RNA silencing suppressor 기능은 fungal cell 안에서뿐만 아니라, plant cell 안에서도 기능을 하는 것으로 보고되었으며, 이러한 현상은 p29가 식물을 감염시키는 Potyvirus group에서 식물바이러스 중에서는 최초로 밝혀진 RNA silencing suppressor와 아미노산 서열이 유사성을 나타낼 뿐만 아니라, 기능면에서도 비슷한 기능을 하고 있음을 보여주는 흥미로운 결과이다. p48도 여러 가지 다양한 기능을 수행하고 있는 것으로 알려졌다. 특히 p48은 CHV1 replication을 시작하는데 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려졌다 (Deng and Nuss, 2008). p48을 암호화 하고 있는 domain을 deletion시킨 돌연변이 바이러스는 CHV1 replication을 시작할 수 없었으며, 이러한 현상은 다시 p48을 transgenic 방법을 통하여 발현시켰을 때, CHV1 replication이 극복됨이 확인되었고 따라서 p48과 CHV1의 replication이 관계가 있음을 밝혀내었다. 또한 p48은 앞에서 언급한 기능 이외에도, 숙주인 곰팡이에서 나타나는 포자발아, 혹은 색소, vertical transmission과 같은 다양한 현상에도 관여하고 있는 것으로 보고되었다 (Deng and Nuss, 2008).

C. *parasitica*의 유전적으로 다양한 dsRNA들의 발견

C. *parasitica* strain에는 CHV1 이외에도 다양한 dsRNA들이 존재 하고 있는 것으로 나타났다. CHV1과 같이 *Hypoviridae*에 속하는 dsRNA로써, CHV2와 CHV3가 발견되었으며, CHV2는 New Jersey에서 처음 분리된 C. *parasitica* 균주 NB58에서 발견되었다. CHV2의 게놈 형태는 CHV1과 상당히 흡사해서 poly A tail을 3 '-끝 부분에 가지고 있으며, 두 개의 ORF1과 ORF2가 발견되었다 (Hillman *et*

al., 1992; Hillman *et al.*, 1994). 그러나 CHV1에서 발견된 papain like proteinase는 CHV2에서는 암호화 하고 있지 않은 것으로 나타났다. 또 다른 그룹인 CHV3는 Grand Heaven에서 분리된 C. *parasitica* 균주에서 처음으로 발견되었으며, 다른 Hypovirus와 비교했을 때 게놈의 크기가 9 kb 정도로 상대적으로 작은 게놈을 가지고 있는 것으로 나타났다 (Fulbright *et al.*, 1983; Yuan and Hillman, 2001). CHV3는 다른 Hypovirus와는 달리 한 개의 ORF 1만이 존재하고 있는 것으로 나타났으며, 이 ORF의 게놈 분석 결과 proteinase, RNA polymerase, helicase와 같은 다른 Hypovirus에서 발견되는 conserved domain이 존재하고 있는 것으로 추정되었다.

C. *parasitica* 균주를 포함한 유전적으로 연관성이 있는 다른 곰팡이 그룹에서는 Hypovirus 이외에도 Reoviridae, Totiviridae, Chrysoviridae, Partitiviridae, Narnaviridae와 같은 다양한 그룹에 속하는 바이러스들이 발견되어지고 있다 (Wickner *et al.*, 2000; Hillman and Suzuki, 2004; Lie *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2008). 이들 중 한 예로 C. *parasitica* 균주 NB631에서 분리된 dsRNA는 다른 Hypovirus에 비해 게놈의 크기가 현저히 작았다 (Polashock and Hillman, 1994). 이 dsRNA의 게놈의 염기서열 분석을 위하여, full-length의 cDNA clone이 제작되었으며, 그 결과 이 게놈의 전체 크기는 2,728 bp로 보고되었다. 이러한 상대적으로 작은 게놈 크기를 가지고 있는 특징 이외에도, 이 dsRNA의 염기서열을 분석한 결과 일반적인 standard genetic code로는 특정 ORF가 존재하지 않는 것으로 보였다. 그러나 mitochondrial genetic code를 사용하였을 때는 하나의 큰 ORF가 이 dsRNA 게놈 상에 존재하는 것을 알게 되었으며, mitochondria 이용 혹은 nuclease assay 실험결과를 통하여 이 dsRNA와 C. *parasitica*의 mitochondria와 연관성이 있음을 보여주었다. 따라서 이 dsRNA를 *Cryphonectria parasitica mitovirus 1-NB 631* (CpMV1-NB631)로 명명하였다 (Wickner *et al.*, 2000). 이외에도 1994년 Enebak의 연구결과에 따르면, 다수의 dsRNA의 절편(fragment)이 hypovirulent C. *parasitica* 균주에 존재하는 것으로 나타났다 (Enebak *et al.*, 1994). 이후 총 11개의 dsRNA fragment가 발견되었으며, 이들 dsRNA의 게놈염기서열 분석결과 *Reoviridae*로 분류되는 *Mycroevirus* group에 속하는 것으로 보고되었다 (Suzuki *et al.*, 2004).

유전적으로 다양한 그룹에 속하는 dsRNA의 발견 이외에도, C. *parasitica* 균주에는 defective interfering(DI) 혹은 satellite dsRNA와 같은 종류의 존재도 보고되어졌다 (Hillman *et al.*, 2000; Yuan and Hillman, 2001). C. *parasitica*의 한 균주 GH2에서 Hypovirus인 CHV3의 존재 이외에도 3개의 작은 크기의 dsRNA fragment가 발견되어

졌다. 이들 각각의 dsRNA는 3.6, 1.9, 0.9 kb 크기를 나타냈으며, 이들 각각의 염기서열 분석결과, 두 번째의 dsRNA는 helicase와 protease의 domain을 가지고 있으며, CHV3와 게놈 염기서열의 유사성을 나타내어, 이 dsRNA fragment는 Hypovirus CHV3의 DI로 추정되었다. 반면 나머지 두 개의 dsRNA fragment는 염기서열 분석 결과 CHV3와는 게놈 염기서열의 유사성이 낮아 satellite RNA들로 분류되었다 (Yuan and Hillman, 2001).

*Helminthosporium victoriae*의 dsRNA

*Helminthosporium victiroae*는 1946년에 최초로 분류된 곰팡균으로 귀리에 "victoria blight disease"라는 병을 일으키는 것으로 알려져 있다. 이 곰팡이는 "victorin"이라고 불리는 독특한 toxin을 분비하는 것으로 알려져 있고, 이 toxin은 곰팡균의 virulence와 관련이 있다 (Wolpert *et al.*, 1985). 이 곰팡균에서 일반적인 *H. victoriae* 균주의 특성과는 달리 균사생장속도가 늦어지고, 많은 sector를 만드는 등 특이적인 형태를 보이는 균주를 조사한 결과 dsRNA가 존재하고 있는 것을 발견하였다. 두 개의 isometric dsRNA가 존재하는 것이 발견되었으며, 이 두 dsRNA는 sedimentation value에 의하여 *Helminthosporium victoriae virus 190S* (HvV190S)와 *Helminthosporium victoriae virus 145S* (HvV145S)로 명명되었다 (Sandelin and Ghabrial, 1978).

Helminthosporium victoriae virus 190S (HvV190S)

HvV190S는 지름이 약 40 nm인 isometric 형태를 가지고 있는 바이러스로서, 게놈의 총 길이는 5,178 bp로 알려져 있다 (Huang and Ghabrial, 1996). 전체 염기서열 분석 결과가 이 dsRNA는 많은 곰팡이와 원생생물을 숙주로 하고 있는 바이러스 그룹들과 함께 *Totiviridae*에 속하는 것으로 나타났다 (Ghabrial, 1998). 이 dsRNA의 전체 게놈은 두 개의 ORF를 가지고 있는 것으로 보였으며 ORF 1은 coat protein을, ORF 2는 RdRp 단백질을 암호화 하고 있는 것으로 보였다. 이 게놈의 5' - 끝 부분은 uncapped structure를 가지고 있으며, 다른 유전체에 비하여 상대적으로 긴 untranslated 부분을 가지고 있는 것으로 나타났다. 이러한 게놈의 특징으로 인하여, ORF 1의 translation은 cap-independent 방법으로 될 것으로 추측되고 있다. 또한 ORF 1의 종결 codon으로 생각되는 부분의 종결 codon을 site directed mutagenesis 방법을 이용하여 검증한 결과 실제로 coat protein의 종결 codon인 것으로 밝혀졌다. 또한 이 종결 codon이 있는 부분은 ribosome이 -1 frame만큼 이동하여 다음 ORF인 ORF 2의 translation 개시 codon으로 사용되는 기작을 이용하는 것으로 나타났다 (Ghabrial and Nibert, 2009). 이러한 termination과 reinitiation이 결합된 형태로 translation되

는 기작은 HvV190S가 속한 *Totiviridae*의 *Victorivirus* 그룹에서 많이 보이는 특징 중의 하나이다 (Ghabrial and Nibert, 2009).

HvV190S는 하나의 coat protein 유전자를 가지고 있으나, 흔히 다른 Totivirus들과 비슷하게 p88과 p83 혹은 p88과 p78과 같이 2개의 주요 coat protein들로 구성되어 있는 것으로 알려졌다. p88은 이 dsRNA의 coat protein translation의 일차산물로 추정되어지며, p83과 p78의 protein은 p88의 C-terminal 부분이 잘려나가면서 생성되어지는 것으로 알려져 있다 (Soldevila *et al.*, 1998).

Helminthosporium victoriae virus 145S (HvV145S)

HvV145S는 4개의 dsRNA fragment와 연관 있으며, 이들 게놈의 크기는 각각 2.7, 2.9, 3.1, 3.6 kb로 알려져 있다 (Sanderlin과Ghabrial,1978).Northernblothybridization을 이용한 연구 결과에 의하면, HvV145S와 HvV190S는 염기서열이 유사성을 나타내지 않는 것으로 보고되어졌다 (Soldevila *et al.*, 2000; Soldevila와 Ghabrial., 2000). 또한 각각의 HvV145S의 dsRNA fragment 사이에서도, 염기서열의 유사성을 보이지 않는 것으로 나타났다 (Ghabrial *et al.*, 2002). cDNA cloning을 통하여 전체 염기서열 분석한 결과 HvV145S는 *Chrysoviridae*에 속하는 Chrysovirus group으로 분류되었다. 각각의 dsRNA fragment는 단 한 개의 ORF를 가지고 있는 monocistronic 이며, 각각의 게놈 5' - 의 끝 부분과 3' - 끝 부분은 conserved domain을 가지고 있는 것으로 나타났다. 5' -의 UTR 부분은 대체적으로 크기가 큰 편이며, 약 200에서 400 nucleotide 정도로 구성되어있으며, 이들의 secondary structure가 게놈 expression에 중요한 영향을 미칠 수 있으리라 생각되고 있다. 이 5' UTR과 3'의 UTR 부분에는 약 75 nucleotide의 길이 정도가 각각의 4개 dsRNA 에 높은 염기서열의 유사성을 나타내었다. 또한 이 conserved domain에는 CAA repeats 부분이 발견되었으며, Tobamovirus에서도 비슷한 서열의 반복이 발견되었고, 이들은 translational enhancer로 작용을 하고 있는 것으로 보고되어, HvV145S에서도 비슷한 기능을 가지고 있을 것으로 추측되나, 이 염기서열이 실질적으로 translational regulatory elements로 작용하는지에 관하여서는 좀 더 면밀한 연구가 필요한 실정이다 (Ghabrial *et al.*, 2002).

양송이 (*Agaricus bisporus*)의 dsRNA

1960년대 초반에 Basidiomycete를 연구하는 그룹에서 양송이 버섯인 *Agaricus bisporus*에 바이러스입자와 비슷한 것이 있음을 처음으로 보고하였다 (Hollings 1962). 그 이후 1970년대에 이르러 dsRNA가 양송이버섯에 영향을 미치고

있다는 사실을 알게 되었으며, 이 dsRNA가 양송이버섯의 병인 La France disease와 연관이 있음이 알려졌다 (Marino *et al.*, 1976; Morris and Dodds, 1979). 그러나 1980년대에 이르러 다양한 dsRNA들이 *A. bisporus*에 존재하고 있으며, 이들 각각의 RNA들이 disease와 연관이 있는 병징을 일으키는 지에 관한 논란은 계속되어왔다 (Harmsen *et al.*, 1989). 양송이 산업에 많은 경제적 손실을 입히는 이러한 바이러스들을 제어하기 위한 여러 가지 노력이 유럽에서 시행되어 왔으며, 그 노력으로 인하여 이후 La France disease의 발병은 영국에서 극히 드물게 되었다. 그러나 1996년과 2000년 사이에 La France disease와 비슷한 병징이 다시 한번 양송이버섯 농장에서 발생되었으며, 이 병징과 dsRNA와의 연관성을 조사하는 도중, 이전까지 La France disease와 연관 있는 것으로 알려졌던 35 nm의 dsRNA가 병징을 보이는 양송이에서 발견되지 않았다. 따라서 이 dsRNA는 이전의 La France disease와 연관된 것으로 알려진 것과는 전혀 다른 새로운 dsRNA가 양송이버섯에서 발견되었음을 시사하였다. 또한 La France virus (LIV)에 감염된 양송이버섯 균주의 약 60%는 *Barnaviridae*에 속하는 *Mushroom Bacilliform Virus* (MBV)와 co-infection 되어 있는 것으로 조사되었는데, 새롭게 발병된 양송이버섯 바이러스 병에서는 이러한 특징이 관찰되지 않았다. 따라서 1996년에 양송이버섯 농장에서 patch disease로 불리는 복합적인 병징을 일으키는 이러한 새로운 바이러스를 통틀어 양송이버섯의 Mushroom Virus X (MVX)로 명명하였다 (Gaze *et al.*, 2000).

Mushroom Virus X (MVX)의 분자생물학적인 연구

MVX 병징을 나타내는 양송이버섯을 조사한 결과, 적어도 26개의 다른 dsRNA fragment가 발견되었다. 그 26개의 dsRNA들의 게놈의 크기도 다양해서, 작게는 640 bp 에서부터 크게는 20.2 kb나 되는 다양한 크기의 dsRNA가 발견되었다 (Grogan *et al.*, 2003). dsRNA의 다양성은 양송이버섯 sampling에 따라 크게 차이가 나는 것으로 보고되었다. 영국의 양송이버섯 연구팀에 의하면 약 6개월 동안 병징을 나타내는 혹은 병징을 전혀 나타내지 않는 약 320개의 양송이버섯을 채집한 뒤, 각각의 시료로부터 dsRNA를 추출하여 agarose gel 상에서 확인한 결과, 다양한 크기의 dsRNA가 존재하는 것으로 조사되었다. 또한 특정 dsRNA fragment의 존재와 특징적인 병징의 상호연관성 조사에서는 뚜렷한 연관성을 밝혀내지 못하였다. 대부분의 dsRNA는 단독으로, 혹은 여러 가지 다양한 combination의 형태로 양송이에 존재하며, 어떠한 경우에는 병징이 전혀 관찰되지 않는 양송이에서도 dsRNA fragment가 존재하는 것으로 나타났다 (Grogan *et al.*, 2003; Rao *et al.*, 2007). 16.2, 9.4, 2.4 kb의 dsRNA는 건전한 양송이버섯 시료에서도 많이 발

견되었으며, 나머지 dsRNA fragment는 병징을 나타내는 버섯시료에서 보였으나, 이들이 존재하더라도 병징이 항상 관찰되지는 않았다. 또한 각각의 dsRNA fragment가 발견되는 빈도 역시 다양하였다. 18.3, 7.0, 4.8, 3.6 kb와 같은 dsRNA는 약 50% 정도의 병징을 보이는 양송이 시료에서 검출되었으나, 14.4, 8.6, 7.8, 2.0, 1.8 kb와 같은 dsRNA fragment는 10-26% 정도의 병징을 보이는 양송이 시료에서 발견되었다. 일반적으로 2.0, 1.8, 0.8, 0.6 kb의 dsRNA는 양송이의 병징에 관여하고 있는 것으로 추측되고 있으나, 이들이 병징을 나타내는 기작은 알려져 있지 않다. 또한 이들 dsRNA의 particle 형태를 조사하기 위하여, 전자현미경을 이용한 수많은 시도가 행하여졌으나, 바이러스의 particle로 보이는 특정 particle 분리에는 실패하여, 현재는 양송이에서 발견되는 26개 dsRNA는 non-encapsidated의 형태로 존재하리라고 생각되고 있다.

양송이의 각 dsRNA 분질의 게놈 염기서열을 알아내기 위한 여러 가지 노력이 진행되어왔다. 네덜란드에서 MVX dsRNA fragment 중 작은 크기의 dsRNA 2.0, 1.8, 0.8, 0.6 kb를 이용하여, Northern blot을 실시한 결과 각각의 band는 오직 자신의 dsRNA band만이 hybridization하는 것으로 나타났다. 이러한 결과에 의하여 양송이의 작은 4개 dsRNA들 사이에서도 게놈의 유사성이 없을 뿐만 아니라, 큰 크기의 dsRNA와도 hybridization을 일으키지 않음을 알 수 있었고, 따라서 유전적으로 다양한 게놈의 dsRNA가 현재 양송이에서 존재하고 있음으로 추측되고 있다 (Sonnenberg and Lavrijssen, 2004). Northern hybridization 이외에도 cDNA cloning을 제작하여, 각각의 dsRNA band 게놈의 염기서열을 결정하고, 이것에 대한 분석결과를 이용하여 양송이의 dsRNA fragment가 현재까지 알려진 바이러스 중 어떠한 종류와 유사성을 가지고 있는지에 관한 연구가 수행되었다. 양송이 dsRNA 전체 게놈이 이제까지 알려진 특정 바이러스의 염기서열과 현저하게 높은 유사성을 보이는 dsRNA fragment는 나타나지 않았지만, 일부 dsRNA의 게놈 부분 중 다른 바이러스와 유사성을 나타내는 것이 보고되었다. 그 예로 16.2 kb와 14.4 kb dsRNA 같은 경우 Hypovirus와 비슷한 유사성을 나타내는 부분을 가지고 있으며 9.4 kb의 dsRNA는 single stranded RNA virus인 Potex virus 그룹과 유사성을 보였다. 또한 MBV 그룹과 비슷한 유사성을 나타내는 MVX dsRNA fragment도 발견되었다. 이러한 염기서열 분석 결과는 La France disease와 연관된 dsRNA가 Totivirus group에 속하는 RdRp 유전자와 높은 유사성을 보인 것과는 다르게 대부분의 MVX dsRNA는 몇 개의 dsRNA의 부분만이 *Totoviridae*, *Partitiviridae* 혹은 *Hypoviridae*의 바이러스 그룹과 유사성을 나타내는 것을 제외하고는 높은 유사성이 나타나지 않아 다시 한번 La

France dsRNA와 MVX의 dsRNA가 다른 것임이 증명되었다 (Rao *et al.*, 2007).

느타리 (*Pleurotus ostreatus*)의 dsRNA

식용으로 이용되는 버섯들 중에서 양송이에서 dsRNA가 발견되고 중점적으로 연구되어 온 것 이외에도, 느타리 (*Pleurotus ostreatus*)에서도 다양한 dsRNA가 발견되었다 (Yu *et al.*, 2003; Lim *et al.*, 2005). 다른 곰팡균에서 발견되는 dsRNA의 특징과 비슷하게 각각의 균주에서 관찰되는 dsRNA의 크기와 개수는 다양한 것으로 나타났다. 크기는 약 1.7 kb부터 8.0 kb로 보고되었으며, *P. ostreatus* 균주에 따라 존재하는 dsRNA fragment의 숫자가 다양한 것으로 나타났다. 이들 RNA를 여러 가지 cDNA cloning 기법을 이용하여, 염기서열 분석을 한 결과, 다양한 그룹과 유사성을 나타내는 바이러스들이 존재하는 것으로 나타났다. 2005년의 보고에 의하면 *P. ostreatus* ASI 2596 균주에 존재하는 2개의 dsRNA의 full-length cDNA clone 제작에 성공하였으며, 이들의 전체 염기서열을 분석결과, 전체 게놈의 길이는 각각 2,296 bp와 2,223 bp이었으며, 이들 각각을 *P. ostreatus dsRNA 1*과 *P. ostreatus dsRNA 2*로 명명하였다 (Lim *et al.*, 2005). 각각의 dsRNA에 하나의 ORF가 존재하고 있는 것으로 추측되었다. dsRNA 1이 암호화하고 있는 ORF는 82.2 kDa으로 RdRp 유전자와 유사성을 나타내었고, dsRNA 2의 ORF는 약 71.1 kDa 크기의 단백질을 암호화하고 있으며, 다른 바이러스의 coat protein 유전자와 유사성을 나타내었다. 두 개의 유전자 모두 가장 높은 유사성을 보인 바이러스는 Partitivirus group에 속하는 *Fusarium poae virus 1*이며, 각각 56.3%와 59.9%의 아미노산 염기서열 유사성을 나타내었다.

*P. ostreatus*의 다른 균주에서도 이와 비슷한 크기의 dsRNA의 존재가 계속적으로 보고되고 있으며, 비슷한 크기의 dsRNA fragment 일지라도 유전적으로는 다양할 것으로 추측되고 있다. *P. ostreatus*의 한 균주인 “신농”에서도 8.0, 2.5, 2.4, 2.0, 1.8 kb의 여러 크기의 dsRNA가 발견되었으며, 이들 중 2.5 kb로부터 제작된 partial cDNA cloning 염기서열 분석에서, Partitivirus group에 속하는 *Helicobasidium mompa virus*의 RdRp 유전자와 가장 높은 아미노산 염기서열 유사성을 나타내었다. 그러나 이들 사이의 유사성은 약 35%로 이전에 밝혀진 dsRNA와 비교하여 낮은 유사성을 보이는 것으로 보고되었다 (Kim *et al.*, 2008).

이러한 Partitivirus group에 속하는 바이러스와 유사성을 나타내는 dsRNA 이외에도 *P. ostreatus*에는 전혀 다른 종류의 바이러스가 또한 존재하는 것으로 보고되었다. 2003년 보고에 의하면, 약 27 nm의 spherical virus 모양을 가진 ssRNA가 *P. ostreatus*에서 발견되었으며 (Yu *et al.*, 2003). 이들의 전체 게놈 길이는 5,784 kb이며, 7개의 ORF가 존재

하는데, ORF 1에는 RdRp 유전자와 helicase의 유전자에서 발견되는 conserved domain이 발견되었고, ORF 2는 coat protein 유전자로 추정되었다. 이들을 제외한 다른 ORF들은 이제까지 알려진 특정 단백질과 높은 유사성이 발견되지 않았다. 또한 이 5.7 kb의 *P. ostreatus* dsRNA 전체 게놈 구조와 유전자 분석 결과에 따르면, 가장 유사성을 가진 바이러스 그룹은 식물 바이러스인 Tymovirus group인 것으로 나타났다. 이 이외에도 다양한 크기의 dsRNA가 *P. ostreatus*에 존재하고 있는 것으로 알려진 만큼, cDNA cloning 제작을 통한 염기서열 분석 연구를 한다면, 더욱더 다양한 dsRNA의 존재를 확인할 수 있을 것으로 추정되고 있다.

참고 문헌

- Anagnostakis, S. 1987. Chestnut blight: The classical problem of an introduced pathogen. *Mycologia* 79:23–27.
- Becker, Y. 2000. Evolution of viruses by acquisition of cellular RNA or DNA nucleotide sequences and genes: An introduction. *Virus Genes* 21:7–12.
- Buck, K. W. 1986. Fungal Virology—An overview. Pages 1–48. in *Fungal Virology*. K. W. Buck, ed. CRC press, Boca Raton.
- Choi, G. H., Pawlyk, D. M. and Nuss, D. L. 1991a. The autocatalytic protease p29 encoded by a hypovirulence-associated virus of the chestnut blight fungus resembles the potyvirus-encoded protease HC-Pro. *Virology* 183:747–752.
- Choi, G. H., Shapira, R. and Nuss, D. L. 1991b. Cotranslational autoproteolysis involved in gene expression from a double-stranded RNA genetic element associated with hypovirulence of the chestnut blight fungus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:1167–1171.
- Craven, M. G., Pawlyk, D. M., Choi, G. H. and Nuss, D. L. 1993. Papain-like protease p29 as a symptom determinant encoded by a hypovirulence-associated virus of the chestnut blight fungus. *J. Virol.* 67:6513–6521.
- Dawe, A. L. and Nuss, D. L. 2001. Hypoviruses and chestnut blight: exploiting viruses to understand and modulate fungal pathogenesis. *Annu. Rev. Genet.* 35:1–29.
- Deng, F. and Nuss, D. L. 2008. Hypovirus papain-like protease p48 is required for initiation but not for maintenance of virus RNA propagation in the chestnut

- blight fungus *Cryphonectria parasitica*. J. Virol. 82:6369–6378.
- Enebak, S. A., Hillman, B. I. and MacDonald, W. L. 1994. A hypovirulent isolate of *Cryphonectria parasitica* with multiple, genetically unique dsRNA segments. Mol. Plant–Microbe Inter. 7:590–595.
- Fulbright, D. W., Weidlich, W. H., Haufler, K. Z., Thomas, C. S. and Paul, C. P. 1983. Chestnut blight and recovering American chestnut trees in Michigan. Can. J. Bot. 61:3144–3171.
- Gaze, R. H., Calvo–Bado, L., Challen, M. P., Adie, B. and Romaine, C. P. 2000. A new virus disease of *Agaricus bisporus*? Mushroom Science 15:701–705.
- Ghabrial, S. A. 1994. New development in fungal virology. Adv. Virus Res. 43:303–388.
- Ghabrial, S. A. 1998. Origin, adaptation and evolutionary pathways of fungal viruses. Virus Genes 16:119–131.
- Ghabrial, S. A., Bozarth, R. F., Buck, K. W., Yamasita, S., Martelli, G. P. and Milne, R. G. 1995a. *Partitiviridae*, Pages 253–260. in: Virus Taxonomy: Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. F. A. Murphy, C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, S. A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Martelli, M. A. Mayo, and M. D. Summers eds. Springer–Verlag, New York.
- Ghabrial, S. A., Bruenn, J. A., Buck, K. W., Wickner, R. B., Patterson, J. L., Stuart, K. D., Wang, A. L. and Wang, C. C. 1995b. *Totiviridae*, Pages 245–252. in: Virus Taxonomy: Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. F. A. Murphy, C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, S. A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Martelli, M. A. Mayo, and M. D. Summers eds. Springer–Verlag, New York.
- Ghabrial, S. A. and Nibert, M. L. 2009. *Victorivirus*, a new genus of fungal viruses in the family *Totiviridae*. Arch. Virol. 14:373–379.
- Ghabrial, S. A., Soldevila, A. I. and Havens, W. M. 2002. Molecular genetics of the viruses infecting the plant pathogenic fungus *Helminthosporium victoriae*. In Molecular Biology of Double–Stranded RNA: Concepts and Applications in Agriculture, Forestry and Medicine, ed. S. Tavantzis, pp. 213–36. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Grete, J. and Sauret, S. 1969. L'hypovirulence exclusive, est–elle controlée par des déterminants cytoplasmiques? C. R. Acad. Sci. Paris Ser. D. 268:3173–3176.
- Grogan, H. M., Adie, B. A. T., Gaze, R. H., Challen, M. P. and Mills, P. R. 2003. Double–stranded RNA elements associated with the MVX disease of *Agaricus bisporus*. Mycol. Res. 107:147–154.
- Guo, L., Sun, L.–Y., Chiba, S., Araki, H. and Suzuki, N. 2009. Coupled termination/reinitiation for translation of the downstream open reading frame B of the prototypic hypovirus CHV1–EP713. Nucleic Acids Res. 37:3645–3659.
- Harmsen, M. C., van Griensven, L. J. L. D. and Wessels, J. G. H. 1989. Molecular analysis of *Agaricus bisporus* double–stranded RNA. J. Virol. 70:1613–1616.
- Hillman, B. I. and Suzuki, N. 2004. Viruses of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. Adv. Virus Res. 63:423–472.
- Hillman, B. I., Fulbright, D. W., Nuss, D. L. and Van Alfen, N. K. 1995. *Hypoviridae*, pages 261–264 in: Virus Taxonomy: Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. F. A. Murphy, C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, S. A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Martelli, M. A. Mayo, and M. D. Summers eds. Springer–Verlag, New York.
- Hillman, B. I., Halpern, B. T. and Brown, M. P. 1994. A viral dsRNA element of the chestnut blight fungus with a distinct genetic organization. Virology 201:241–250.
- Hillman, B. I., Tian, Y., Becher, P. J. and Brown, M. P. 1992. A North American hypovirulent isolate of the chestnut blight fungus with European isolate–related dsRNA. J. Gen. Virol. 73:681–686.
- Holland, J. and Domingo, E. 1998. Origin and evolution of viruses. Virus Genes 16:13–21.
- Hollings, M. 1962. Viruses associated with a die–back disease of the cultivated mushroom. Nature 196:962–965.
- Huang, S. and Ghabrial, S. A. 1996. Organization and expression of the double–stranded RNA genome of *Helminthosporium victoriae* 190S virus, a totivirus infecting a plant pathogenic filamentous fungus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:12541–12546.
- Kim, Y. J., Kim, J. Y., Kim, J. H., Yoon, S. M., Yoo, Y.–B. and Yie, S. W. 2008. The identification of a novel *Pleurotus ostreatus* dsRNA virus and determination of the distribution of viruses in mushroom spores. J. Microbiol. 46:95–99.

- Koonin, E. V. 1991. The phylogeny of RNA-dependent RNA polymerases of positive-strand RNA viruses. *J. Gen. Virol.* 72:2197–2206.
- Koonin, E. V. 1992. Evolution of double-stranded RNA viruses: a case for polyphyletic origin from different groups of positive-stranded RNA viruses. *Sem. Virol.* 3:327–339.
- Koonin, E. V. and Dolja, V. V. 1993. Evolution and taxonomy of positive-strand RNA viruses: implications of comparative analysis of amino acid sequences. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 28:375–430.
- Lemke, P. A. 1979. Coevolution of fungi and their viruses, Pages 2–7 in: *Fungal viruses*. H. P. Molitoris, M. Hollings, and H. A. Wood, eds. Springer-Verlag, Berlin.
- Lim, W.-S., Jeong, J. H., Jeong, R.-D., Yoo, Y. B., Yie, S. W. and Kim, K.-H. 2005. Complete nucleotide sequence and genome organization of a dsRNA partitivirus infecting *Pleurotus ostreatus*. *Virus Res.* 108:111–119.
- Liu, Y. C., Dynek, J. N., Hillman, B. I. and Milgroom, M. G. 2007. Diversity of viruses in *Cryphonectria parasitica* and *C. nitschkei* in Japan and China, and partial characterization of a new chrysovirus species. *Mycol. Res.* 111–433–442.
- Marino, R., Saksena, K. N., Schuler, M., Mayfield, J. E. and Lemke, P. A. 1976. Double-stranded ribonucleic acid in *Agaricus bisporus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 31:432–438.
- Morris, T. J. and Dodds, J. A. 1979. Isolation and analysis of double-stranded RNA from virus-infected plant and fungal tissue. *Phytopathology* 69:854–858.
- Nuss, D. L. and Koltin, Y. 1990. Significant of dsRNA genetic elements in plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28:37–58.
- Park, S. M., Kim, J. M., Chung, H. J., Lim, J. Y., Kwon B R., Lim, J. G., Kim, J. A., Kim, M. J., Cha, B. J., Lee, S. H., Kim, K. H., Lee, Y. S., Yang, M. S. and Kim, D. H. 2008. Occurrence of diverse dsRNA in a Korean population of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Mycol. Res.* 112:1220–1226.
- Polashock, J. J. and Hillman, B. I. 1994. A small mitochondrial double stranded (ds) RNA element associated with a hypovirulent strain of the chestnut blight fungus and ancestrally related to yeast cytoplasmic T and W dsRNAs. *Proc. Natl. Acad. sci. USA* 91:8680–8684.
- Rao, J. R., Nelson, D. W. A. and McClean, S. 2007. The enigma of double-stranded RNA (dsRNA) associated with mushroom virus x (MVX). *Curr. Issues Mol. Biol.* 9:103–122.
- Sanderlin, R. S. and Ghabrial, S. A. 1978. Physicochemical properties of two distinct types of virus-like particles from *Helminthosporium victoriae*. *Virology* 87:142–151.
- Segers, G. C., van Wezel R., Zhang, X., Hong, Y. and Nuss, D. L. 2006. Hypovirus papain-like protease p29 suppresses RNA silencing in the natural fungal host and in a heterologous plant system. *Eukaryot. Cell* 5:896–904.
- Shapira, R. and Nuss, D. L. 1991. Gene expression by a hypovirulence-associated virus of the chestnut blight fungus involves two papain-like protease activities. *J. Biol. Chem.* 266:19419–19425.
- Shapira, R., Choi, G. H. and Nuss, D. L. 1991. Virus-like genetic organization and expression strategy for a double-stranded RNA genetic element associated with biological control of chestnut blight. *EMBO J.* 10:731–739.
- Soldevila, A. I. and Ghabrial, S. A. 2000. Expression of the totivirus *Helminthosporium victoriae* 190S virus RNA-dependent RNA polymerase from its downstream open reading frame in dicistronic constructs. *J. Virol.* 74:997–1003.
- Soldevila, A. I., Havens, W. M. and Ghabrial, S. A. 2000. A cellular protein with an RNA-binding activity co-purifies with viral dsRNA from mycovirus infected *Helminthosporium victoriae*. *Virology* 20:183–190.
- Soldevila, A. I., Huang, S. and Ghabrial, S. A. 1998. Assembly of the Hv190S totivirus capsid is independent of posttranslational modification of the capsid protein. *Virology* 251:327–333.
- Sonnenberg, A. S. M. and Lavrijssen, B. 2004. Browning of mushrooms and the presence of viral double-stranded RNA in Dutch mushrooms. *Mushroom Science XI. Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi*. Romaine, C. P. Keil, Rinker and Royse (eds). Penn State, USA 541–546.
- Sun, L. Y., Nuss, D. L. and Suzuki, N. 2006. Synergism between a mycoreovirus and a hypovirus mediated by the papain-like protease p29 of the prototypic hypovirus CHV1-Ep713. *J. Gen. Virol.* 87:3703–3714.
- Sun, L. and Suzuki, N. 2008. Intragenic rearrangements of

- a mycoreovirus induced by the multifunctional protein p29 encoded by the prototypic hypovirus CHV1-Ep713. *RNA* 14:2557–2571.
- Suzuki, N., Chen, B. and Nuss, D. L. 1999. Mapping of a hypovirus p29 protease symptom determinant domain with sequence similarity to potyvirus HC-Pro protease. *J. Virol.* 73:9478–9484.
- Suzuki, N., Maruyama, K., Moriyama, M. and Nuss, D. L. 2003. Hypovirus papain-like protease p29 functions in trans to enhance viral double-stranded RNA accumulation and vertical transmission. *J. Virol.* 77:11697–11707.
- Suzuki, N., Supyani, S., Maruyama, K. and Hillman, B. I. 2004. Complete genome sequence of Mycoreovirus-1/Cp9B21, a member of a novel genus within the family Reoviridae, isolated from the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. *J. Gen. Virol.* 85:3437–3448.
- Wickner, R. B., Esteban, R. and Hillman, B. I. 2000. *Narnaviridae*, Pages 651–656 in: *Virus Taxonomy: Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Van Regenmortel, M. H. V., C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, E. B. Carstens, M. K. Estes, S. M. Lemon, J. Maniloff, M. A. Mayo, D. J. McGeoch, C. R. Pringle and R. B. Wickner eds. Academic Press, New York.
- Wolpert, T. J., Macko, V., Acklin, W., Jaun, B., Seibl, J., Meili, J. and Arigoni, D. 1985. Structure of victorin C, the major host-selective toxin from *Cochliobolus victoriae*. *Experientia* 41:1524–1529.
- Yu, H. J., Lim, D. and Lee, H. S. 2003. Characterization of a novel single-stranded RNA mycovirus in *Pleurotus ostreatus*. *Virology* 314:9–15.
- Yuan, W. and Hillman, B. I. 2001. In vitro translational analysis of genomic defective, and satellite RNAs of *Cryphonectria hypovirus 3-GH2*. *Virology* 281:117–123.