

植物の全身を長距離移行する RNA

野田口理孝

名古屋大学大学院生命農学研究科,

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所(ITbM), JST さきがけ

〒464-8602 愛知県名古屋市千種区不老町

Michitaka Notaguchi

Systemic long-distance transport of RNAs in plants

Key words: Grafting, Mobile RNA, Phloem, RNA-Seq analysis, Systemic signaling

Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University,

Institute of Transformative Bio-Molecules, Nagoya University, JST PRESTO

Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8602, JAPAN

DOI: 10.24480/bsj-review.8b9.00119

1. はじめに

かつて地球上の生物は、RNA を遺伝情報としていたと言われている (“RNA world 仮説”, Joyce 2002)。その後、DNA-タンパク質の世界へ移行した現在も、RNA 分子は生物の細胞プロセスの根幹をなし、DNA 複製を開始するプライマーとして、遺伝情報が発現する際のメッセンジャーとして、リボソームの触媒中心として働くなど、生物に必要不可欠な場面で様々に機能を果たしている（図 1A）。植物に視点を当てるとき、植物が進化の過程で獲得した RNA 現象の一つとして、篩管を介した RNA の長距離

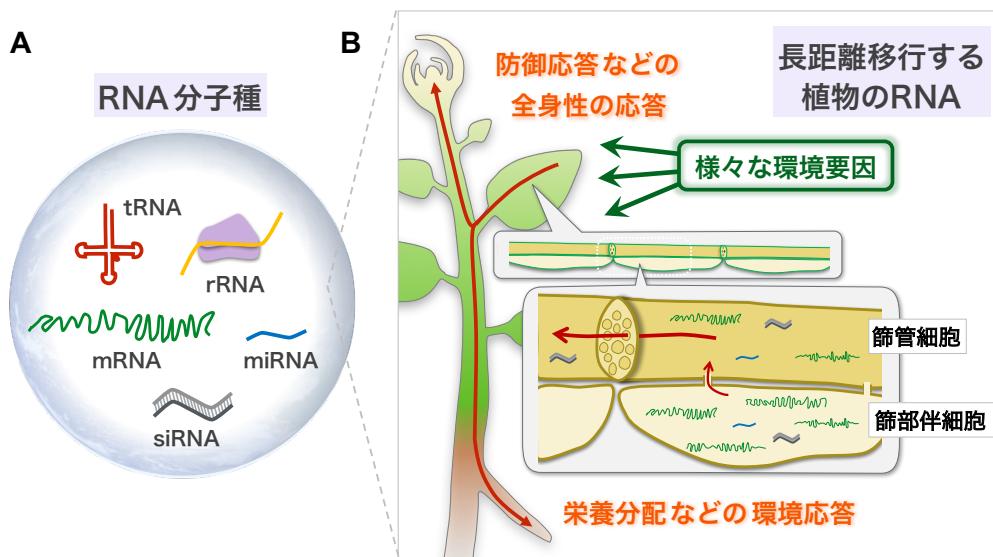


図 1. RNA 分子種と植物の全身移行性 RNA のモデル図

様々な RNA 分子種 (A) が、篩部分細胞から原形質連絡を介して篩管細胞に積み込まれる。篩管のマスフロー (赤矢印) に乗って、地上部の成長点や地下部の根に向けて全身へと長距離移行する。移行先において RNA 分子が固有に持つ生理作用を發揮し、個体レベルで統制のとれた発生・成長を果たす。

移行が知られる（図 1B）。植物の筛管は、生きた細胞からなり、光合成産物、すなわち栄養分を全身に運ぶ働きを持つ。他方、筛管は全身の器官をつなぐ組織として、個体のある部位で感受した情報を別の部位に伝達するシグナル伝達経路として働くことも近年明らかになりつつある。筛管は通道組織へと細胞が分化する過程で核を失い、一部のオルガネラと細胞質によって構成された細胞となる。そのため、核に包有されるゲノム情報が転写・翻訳されることは分化した筛管細胞では起こりえない。それにも関わらず、筛管の中には栄養分、ホルモンなどの低分子化合物の他に、RNA、タンパク質といった生体高分子が存在することが、1990 年代以降の筛管液分析を通して急速に明らかとなった（Lough and Lucas 2006, Notaguchi and Okamoto 2015）。従って、RNA やタンパク質が周りの細胞から筛管細胞へと積み込まれるということである。筛管細胞の隣には筛部伴細胞が在り、タンパク質や RNA の積み込みは筛部伴細胞から原形質連絡を介して行われると考えられている。筛管中を運ばれる RNA 分子の種類は多様であり、miRNA, siRNA, tRNA, long noncoding RNA, mRNA など、通常の細胞で働く分子種の多くが、その構成は異なるものの、筛管中にも見つかる。次世代シーケンサーを用いたゲノムワイドな RNA 解析技術により、筛管中の RNA 分子について包括的な情報が得られる時代となり、今後益々の研究の飛躍が見込まれる。本稿では、筛管を介して植物の全身を長距離移行する RNA 分子のうち、焦点がおかれ研究が進められてきた small RNA と mRNA について概説する。

2. 全身を長距離移行する small RNA

近年のマイクロアレイや次世代シーケンサーを用いた解析によって、茎を切断して得られる筛管液の中には多様な small RNA が含まれることが明らかとなった（Molnar et al. 2010, Buhtz et al. 2010）。miRNA や siRNA といった small RNA は筛管を介して全身へ長距離輸送され、遺伝子サイレンシング、環境応答、栄養配分、そして発生を制御すると考えられている（Kehr and Buhtz 2007, Mlotshwa et al. 2002）。

siRNA については、全身移行する RNA の中で機能が最も説明されている。siRNA の全身移行性については siRNA 產生に関わる Dicer の変異体を用いた接ぎ木実験によって明確に示されており、siRNA の全身移行によって転写レベルの遺伝子サイレンシング（Transcriptional gene silencing, TGS）と転写後に mRNA を分解することで起こる転写後遺伝子サイレンシング（Post-transcriptional gene silencing, PTGS）の両方を引き起こすことが知られる。これらの遺伝子サイレンシング機構はウィルスなどの病害にさらされた際、全身的に抵抗性を発揮する上で非常に重要である（Molnar et al., 2010）。TGS について紹介すると、TGS は siRNA の働きによって、RNA-directed DNA methylation (RdDM) を介した DNA メチル化、あるいはクロマチンの不活性化が起き、結果として標的された遺伝子の転写が抑制される。Bai et al. (2011) の接ぎ木実験では、2 種類の植物、カリフラワーモザイクウィルスの 35S プロモーターに由来する siRNA を形成する植物と 35S プロモーターで GFP 遺伝子を発現する植物 (*CaMV 35Sp::GFP*) が用いられ、両者の間で接ぎ木を行うと、*CaMV 35Sp::GFP* 植物における GFP 遺伝子の発現抑制が起きることが示された。さらに、siRNA が産生できない Dicer の一つである DCL3 の変異体を用いた接ぎ木実験では、野生型で認められる TGS が *dcl3* 変異体背景では引き起こされないことから、siRNA が全身移行する実体であり、TGS は siRNA の輸送先で引き起こされることが示唆された

(Melnyk et al. 2011)。RdDM 経路についても理解が深まり、DCL3 が 24 塩基の siRNA を產生すること (Qi et al. 2005), RdDM は 24 塩基の siRNA により引き起こされることが明らかとなった (Law and Jacobsen 2010)。Lewsey et al. (2016) は全身移行性 siRNA による DNA メチル化についてゲノムワイドに解析し、siRNA による RdDM は DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 1 (DRM1) と DRM2 に依存して起こることを明らかにした。以上を合わせると、TGS はまず DCL3 による 24 塩基の siRNA の產生に始まり、次に產生された siRNA の全身移行、移行先での DRMs との複合体を形成および RdDM の発動と続き、最終的に標的遺伝子の遺伝子サイレンシングが確立されるというのが現状の理解である。なお、DNA メチル化状態の変化は、シロイヌナズナの異なるエコタイプ間で接ぎ木した場合や (Lewsey et al. 2016)，ウリ科やナス科の異なる種間で接ぎ木した場合にも検出されており (Avramidou et al. 2015, Kasai et al. 2016, Wu et al. 2013)，将来的には実用作物においても、接ぎ木を介してエピジェネティックな変化を誘導することで有用形質を付与するといった技術が生まれる可能性がある。

一方、miRNA の移行に関する発見は、主要栄養素の一つであるリン (P) への応答様式の研究にはじまる。リンは、ATP、核酸、リン脂質に含まれる必須元素であり、無機リン酸 (Pi) として根から取り込まれる (Schachtman et al. 1998)。Pi は、維管束を運ばれる際の主要な形態であり (Bielecki 1973)，Pi の欠乏時には、欠乏状態を補うため Pi の吸収力は高まる (Drew and Saker 1984)。Pi の欠乏状態におかれた植物は、miRNA の一種である miR399 を高発現し、miR399 の標的となる *PHO2* 遺伝子の発現を抑制する。*PHO2* 遺伝子はユビキチン結合酵素をコードし、miR399 による *PHO2* 遺伝子の発現抑制は、その下流において Pi トランスポーター遺伝子の発現上昇を引き起こし、その結果、葉における Pi の蓄積が促進される (Bari et al. 2006, Fujii et al. 2005)。このように、miR399/*PHO2* シグナル伝達経路によって、リンの全身的な配分が調整されている。その後の研究で、このメカニズムは様々な植物に広く保存されていることも現在では知られている (Branscheid et al. 2010, Zhang et al. 2016a)。リン以外の栄養素についても、全身的な配分の調整のために類似した機構が働く場合が見つかっており、硫酸塩の欠乏時にも miR395 という miRNA の発現上昇が認められ、結果として硫酸トランスポーター遺伝子の発現が上昇することが報告されている (Buhtz et al. 2010, Kawashima et al. 2011)。他にジャガイモでは miR172 と miR156 の移行性が報告されており、それらは花成や塊茎形成のタイミングを制御している可能性が示唆されている (Martin et al. 2009; Kasai et al. 2010; Bhogale et al. 2014)。以上、miRNA は細胞自律的に働く場合が一般的であるが (Schwab et al. 2006)，上記の例にあるように、一部の miRNA については個体レベルの全身性のシグナル伝達（長距離シグナル伝達と呼ばれる）に働くことが示唆されている。なお、30~90 塩基と si/miRNA よりは長い small noncoding RNA についても *in vitro* でどんな活性を持つか調べられたことがあり、タンパク質翻訳の阻害活性を示すことが報告されている (Zhang et al. 2009)。このように、植物の個体の中には様々な small RNA が長距離移行し、分子種ごとに異なる様式で、移行先の組織における標的分子の発現レベルを調節している。

3. 全身を長距離移行する mRNA

mRNA の筋管を介した長距離輸送は、これまでに複数の植物種を用いて研究されてきており、輸送

される mRNA の同定やその輸送機構に関する知見も集まっている。興味深いことに、複数の植物で長距離移行する mRNA を同定すると、特定の遺伝子ファミリーの mRNA が調べた複数の種で共通して見つかることが分かり、mRNA の長距離移行は保存された現象であることが推察されている (Notaguchi 2015 にて概説)。さらに、筛管中には RNA 結合タンパク質が見つかること (Balachandran et al. 1997, Xoconostle-Cázares et al. 1999, Aoki et al. 2002, Gómez et al. 2005), それらのタンパク質は標的 mRNA 上の特定の配列に対して特異的に結合し、長距離移行のための RNA-タンパク質複合体を形成することが示唆されている (Ham et al. 2009, Cho et al. 2012)。また、筛管にはそもそも RNA 分解酵素の活性が検出されないことも知られ (Sasaki et al. 1998, Doering-Saad et al. 2002), 植物に感染する植物ウィルス (多くは RNA ウィルス) はおそらく宿主の植物が有する筛管輸送システムを利用しているという推察も一般的になされている (Nelson and Citovsky 2015)。以上は、植物は何かしらの mRNA を長距離輸送する機構を獲得・維持しており、輸送される mRNA には何らかの生物学的意義があることを推察させる。しかし、これまでに筛管中を移行する mRNA の研究は精力的に行われているものの、その役割については殆ど明らかにされていない。詳細については、本稿以外にも別の概説論文を参照されたい (Kehr and Buhtz 2007, Harada 2010, Spiegelman et al. 2013, Notaguchi 2015)。

最近になり次世代シーケンサーを用いたゲノムワイドな解析が行われ、接ぎ木や寄生といった二種類の植物が接合した場面では、それらの植物の間で数百から数千の mRNA が接合部位を越えて長距離輸送されることが報告されている (Kim et al. 2014, Notaguchi et al. 2015, Thieme et al. 2015, Yang et al. 2015, 図 2A,B)。一部の mRNA についてはさらなる機能解析が試みられ、mRNA が長距離輸送された結果、輸送された先の発生現象に影響を与えることが報告されている (Kim et al. 2001, Haywood et al. 2005, Banerjee et al. 2006, Notaguchi et al. 2012, 図 2C)。これまでの研究では、輸送先で mRNA がタンパク質

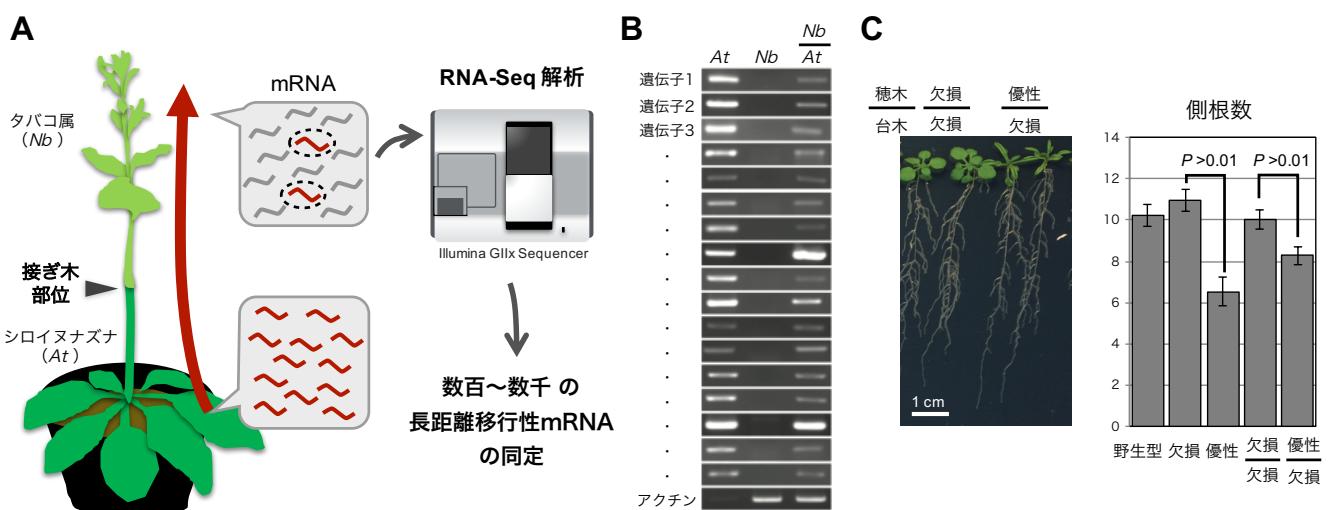


図2. 次世代シーケンサーを用いた植物の全身移行性 mRNA の同定

(A) 二種類の植物を接ぎ木すると、全身移行性の mRNA は接ぎ木部位を越えて相手の植物へ移行する。次世代シーケンサーを用いて相手の植物の mRNA を網羅解析することで、移行してきた mRNA の配列情報を取得でき、全身移行性の mRNA を同定することができる。(B) RT-PCR による結果の追証。(C) 全身移行性 mRNA として同定された *Aux/IAA* mRNA の生理作用について検討した接ぎ木実験。それぞれの実験の詳細は、原著論文を参照 (A, B: Notaguchi et al. 2015, C: Notaguchi et al. 2012)。

へ翻訳されていることを明示した例はないが、表現型の解析からタンパク質への翻訳は起こりえると推察されている。著者らの以前の検討では、長距離輸送される mRNA 群の特徴をゲノム上の全 mRNA の特徴と比較してみると、mRNA の長さにも、遺伝子プロモーター上の配列モチーフにも、mRNA そのものの配列にも、特筆すべき特徴は見つからなかった (Notaguchi et al. 2015)。興味深かったのは、移行性を示す mRNA の中には、はじめから全身で発現するハウスキーピング遺伝子も多く含まれていたことである。それらの mRNA があえて個体の中を移行する必要性は低いように考えられるため、移行性 mRNA の中にはシグナル伝達に関係するものと関係しないものの両方が含まれているのではないかというのが著者の推察である。なお、長距離輸送される mRNA の発現量と移行性の関係を調べると、単純な発現量が移行性を説明する訳ではなく、移行には何らかの制御機構が働くことが推察された (Notaguchi et al. 2015)。ただし、別の研究グループの解析結果では、多くの mRNA の場合について発現量と移行性の間に関係性が見出されることも示唆されており、篩部伴細胞から篩管細胞への mRNA の移行については、選択性を持った制御を受ける移行と、発現量に応じた一定レベルの漏洩、即ち選択性の低い、選択的制御を受けない移行の二パターンがありえると考察されている (Thieme et al. 2015, Calderwood et al. 2016)。類似した篩管細胞への生体高分子の漏洩は、タンパク質の場合でも認められるという報告が最近なされており (Paultre et al. 2016)，今後はこうした一定の漏洩状況を考慮して結果と向き合う必要がある。

また実験手法の観点でも注意は必要である。物質の長距離輸送の検証によく用いられる接ぎ木法について、興味深い報告がなされている。Yang et al. (2015) によると、接ぎ木して 11 年経過したブドウの成木苗と接ぎ木して 1 月の幼苗を用意し、それぞれの試料から移行性を示す mRNA を同定してみると、11 年苗では 1 月苗の場合に比べて移行性を示す mRNA 数（種類数）が少なくなるという。この結果の解釈として、成長ステージによって移行する mRNA の種類が変化したという単純な解釈の他に、接ぎ木という人為操作による影響が時間経過と共に落ち着いたためとする解釈も成立つ。そのため、mRNA の移行性について最終的な結論を得るには、接ぎ木以外の手法による試験も必要であると著者は考える。

mRNA の移行については非選択性の漏洩の可能性を挙げたが、一定の制御機構が働いていることもこれまでの研究で明らかにされている。移行性を示す mRNA の部分配列を、本来は移行性を示さない GFP や GUS などのレポーター遺伝子に融合すると、GFP や GUS mRNA に移行性が付与されることが実験的に示されている (Banerjee et al. 2009, Huang and Yu 2009, Thieme et al. 2015, Zhang et al. 2016b)。これまでに複数の mRNA を対象に実験が行われ、mRNA の UTR 部分など特定の配列・領域が移行に重要であることが示されている。先述のように RNA 結合タンパク質が篩管中に存在することや、他にも、移行性を示す mRNA の別の遺伝子ファミリーを調べると、必ずしも移行性を示す訳ではないことなど (Huang and Yu 2009, Notaguchi et al. 2012, 2015)，mRNA の移行は選択性を持つことも示唆されている。

今後、全身移行性の mRNA の生物学的機能を解明するためには、同定作業に続き、その後の研究で標的する対象を絞り込む作業が必要である。一つの提案は、Thieme et al. (2015) が行ったように、特定の環境下で特異的に移行性を示す mRNA に着目することである。原理的には、全身移行性シグナルは個体のある場所で受容した情報を別の場所へと伝達するためにある。そのため、環境要因の中でも特

に局所的にインプットされる要因に着目する（あるいは用意して調べる）のが好ましく、これまで確立してきた移行性 mRNA の同定技術を上手に適用することで、現象の理解が深まることが望まれる。実際の自然界では多くの環境要因は植物の個体を不均一に取り囲んでおり、こうした環境情報を伝達するシグナル分子の研究は、植物の環境応答メカニズムを紐解く上で鍵となるはずである。

4. 展望

植物の全身性シグナル伝達機構は、急速に拓けた分野になりつつある。RNA はその潜在的な機能性の高さから、シグナル分子として多様な現象に寄与する可能性が高い。siRNA については機能理解が進むものの、mRNA については機能未知な部分が大きく、以下に示す潜在的な問い合わせ残されている。
(1) どの mRNA が輸送されるのか、そこに選択性はあるのか？ (2) 転写されれば直ちに移行するのか、あるいは特異的な内外的環境条件に依存して移行が制御されているのか？ (3) どこに移行するのか？ (4) どのようなメカニズムで移行するのか？ 篩部位細胞から篩管細胞への積み込みの制御はあるのか、篩管を長距離移行する際の漏洩防止や漏洩物の再積み込みのシステムはあるのか、篩管の末端へ到達した後に最終目的地となる細胞/組織までの細胞間移行は制御されるのか？ (5) 輸送された mRNA の運命は？ 翻訳されるのか？ 翻訳されるのであれば、そのタンパク質の活性やタンパク質修飾の様式は輸送されない場合と何か違いはあるか？ シグナル分子として機能が永続しないよう、機能発現した後に代謝・分解を促進する機構は存在するか？ (6) 輸送される mRAN の成長・発生における機能は何か？ 今後の研究では、こうした一連の問い合わせにアプローチがなされたい。

small RNA については遺伝子サイレンシングを引き起こし、外界の環境に応じて植物の発生様式を制御したり、外来の生物的攻撃から防御したりする際に、シグナル分子として全身に移行して作用することが明らかとなり、今後も更なる分子同定が続くことが予想される。移行性 small RNA の働きによる現象の解明は、植物科学の理解を深めるのみならず、栽培作物への形質付与の技術という観点で期待が持たれる。実際に一部の野菜類では実証例も得られており、遺伝子組換え技術に変わる新たな技術として活用が期待されている (Kudo and Harada 2007)。何より、植物の RNA の長距離輸送によるシグナル伝達機構の知見は、地球上でこれだけ多様化して繁殖する植物がいかに頑強に生きて、繁栄を遂げているのか、その理解を助ける関心の深いテーマではないだろうか。本テーマを追求した先に、生命の深淵を覗いてみたい。

5. 謝辞

本稿で紹介した研究は、文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究「環境記憶統合」(16H01465), 同省 卓越研究員事業 (16811669), 科学技術振興機構 さきがけ「情報協働栽培」(JPMJPR15O3), 同機関 START プロジェクト (15657559), 農林水産省 農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業 (16770567) の支援を得て遂行した。

6. 引用文献

- Aoki, K., Kragler, F., Xoconostle-Cazares, B., & Lucas, W.J. 2002. A subclass of plant heat shock cognate 70 chaperones carries a motif that facilitates trafficking through plasmodesmata. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 16342–16347.

- Avramidou, E., Kapazoglou, A., Aravanopoulos, F.A., Xanthopoulou, A., Ganopoulos, I., Tsaballa, A. et al. 2015. Global DNA methylation changes in *Cucurbitaceae* inter-species grafting. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 15: 112–116.
- Bai, S., Kasai, A., Yamada, K., Li, T., & Harada, T. 2011. A mobile signal transported over a long distance induces systemic transcriptional gene silencing in a grafted partner. *J. Exp. Bot.* 62: 4561–4570.
- Balachandran, S., Xiang, Y., Schobert, C., Thompson, G.A., & Lucas, W.J. 1997. Phloem sap proteins from *Cucurbita maxima* and *Ricinus communis* have the capacity to traffic cell to cell through plasmodesmata. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 14150–14155.
- Banerjee, A.K., Chatterjee, M., Yu, Y., Suh, S.G., Miller, W.A., & Hannapel, D.J. 2006. Dynamics of a mobile RNA of potato involved in a long-distance signaling pathway. *Plant Cell* 18: 3443–3457.
- Banerjee, A.K., Lin, T., & Hannapel, D.J. 2009. Untranslated regions of a mobile transcript mediate RNA metabolism. *Plant Physiol.* 151: 1831–1843.
- Bari, R., Datt Pant, B., Stitt, M., & Scheible, W.R. 2006. PHO2, microRNA399, and PHR1 define a phosphate-signaling pathway in plants. *Plant Physiol.* 141: 988–999.
- Bhogale, S., Mahajan, A.S., Natarajan, B., Rajabhoj, M., Thulasiram, H.V., & Banerjee, A.K. 2014. MicroRNA156: a potential graft-transmissible microRNA that modulates plant architecture and tuberization in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. *Plant Physiol.* 164: 1011–1027.
- Bieleski, R.L. 1973. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24: 225–252.
- Branscheid, A., Sieh, D., Pant, B.D., & May, P. 2010. Expression pattern suggests a role of MiR399 in the regulation of the cellular response to local Pi increase during arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mol. Plant Microbe Interact.* 23: 915–926.
- Buhtz, A., Pieritz, J., Springer, F., & Kehr, J. (2010) Phloem small RNAs, nutrient stress responses, and systemic mobility. *BMC Plant Biol.* 10: 64.
- Calderwood, A., Kopriva, S., & Morris, R.J. 2016. Transcript abundance explains mRNA mobility data in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 28: 610–615.
- Cho, S.K., Kang, I.H., Carr, T., & Hannapel, D.J. 2012. Using the Yeast Three-Hybrid System to Identify Proteins that Interact with a Phloem-Mobile mRNA. *Front. Plant Sci.* 3: 189.
- Doering-Saad, C., Newbury, H.J., Bale, J.S., & Pritchard, J. 2002. Use of aphid stylectomy and RT-PCR for the detection of transporter mRNAs in sieve elements. *J. Exp. Bot.* 53: 631–637.
- Drew, M.C., & Saker, L.R. 1984. Uptake and long-distance transport of phosphate, potassium and chloride in relation to internal ion concentrations in barley: evidence of non-allosteric regulation. *Planta* 160: 500–507.
- Fujii, H., Chiou, T.-J., Lin, S.-I., Aung, K., & Zhu, J.-K. 2005. A miRNA Involved in Phosphate-Starvation Response in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 15: 2038–2043.
- Gómez, G., Torres, H., & Pallás, V. 2005. Identification of translocatable RNA-binding phloem proteins from melon, potential components of the long-distance RNA transport system. *Plant J.* 41: 107–116.
- Ham, B.K., Brandom, J.L., Xoconostle-Cázares, B., Ringgold, V., Lough, T.J., & Lucas, W.J. 2009. A

- polypyrimidine tract binding protein, pumpkin RBP50, forms the basis of a phloem-mobile ribonucleoprotein complex. *Plant Cell* 21: 197–215.
- Harada, T. 2010. Grafting and RNA transport via phloem tissue in horticultural plants. *Scientia Horticulturae* 125: 545–550.
- Haywood, V., Yu, T.S., Huang, N.C., & Lucas, W.J. 2005. Phloem long-distance trafficking of GIBBERELLIC ACID-INSENSITIVE RNA regulates leaf development. *Plant J.* 42: 49–68.
- Huang, N.C., & Yu, T.S. 2009. The sequences of Arabidopsis GA-INSENSITIVE RNA constitute the motifs that are necessary and sufficient for RNA long-distance trafficking. *Plant J.* 59: 921–929.
- Joyce, G.F. 2002. The antiquity of RNA-based evolution. *Nature* 418: 214–221.
- Kawashima, C.G., Matthewman, C.A., Huang, S., Lee, B.R., Yoshimoto, N., Koprivova, A. et al. 2011. Interplay of SLIM1 and miR395 in the regulation of sulfate assimilation in Arabidopsis. *Plant J.* 66: 863–876.
- Kasai, A., Bai, S., Hojo, H., & Harada, T. 2016. Epigenome editing of potato by grafting using transgenic tobacco as siRNA donor. *PLoS ONE* 11: e0161729.
- Kasai, A., Kanehira, A., & Harada, T. 2010. *miR172* Can Move Long Distances in *Nicotiana benthamiana*. *The Open Plant Science J.* 4: 1–6.
- Kehr, J., & Buhtz, A. 2007. Long distance transport and movement of RNA through the phloem. *J. Exp. Bot.* 59: 85–92.
- Kim, G., LeBlanc, M.L., Wafula, E.K., & Westwood, J.H. 2014. Genomic-scale exchange of mRNA between a parasitic plant and its hosts. *Science* 345: 808–811.
- Kim, M., Canio, W., Kessler, S., & Sinha, N. 2001. Developmental changes due to long-distance movement of a homeobox fusion transcript in tomato. *Science* 293: 287–289.
- Kudo, H., & Harada, T. 2007. A graft-transmissible RNA from tomato rootstock changes leaf morphology of potato scion. *Hort. Science* 42: 225–226.
- Law, J.A., & Jacobsen, S.E. 2010. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nat. Rev. Genet.* 11: 204–220.
- Lewsey, M.G., Hardcastle, T.J., Melnyk, C.W., Molnar, A., Valli, A., Urich, M.A., et al. 2016. Mobile small RNAs regulate genome-wide DNA methylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113: E801–810.
- Lough, T.J., & Lucas, W.J. 2006. Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57: 203–232.
- Martin, A., Adam, H., Díaz-Mendoza, M., Zurczak, M., González-Schain, N.D., & Suárez-López, P. 2009. Graft-transmissible induction of potato tuberization by the microRNA miR172. *Development* 136: 2873–2881.
- Melnyk, C.W., Molnar, A., Bassett, A., & Baulcombe, D.C. 2011. Mobile 24 nt small RNAs direct transcriptional gene silencing in the root meristems of *Arabidopsis thaliana*. *Curr. Biol.* 21: 1678–1683.
- Mlotshwa, S., Voinnet, O., Mette, M.F., Matzke, M., Vaucheret, H., Ding, S.W. et al. 2002. RNA silencing and the mobile silencing signal. *Plant Cell* 14: S289–301.
- Molnar, A., Melnyk, C.W., Bassett, A., Hardcastle, T.J., Dunn, R., & Baulcombe, D.C. 2010. Small silencing RNAs in plants are mobile and direct epigenetic modification in recipient cells. *Science* 328: 872–875.

- Nelson, R.S., & Citovsky, V. 2005. Invaders of Cells and Pirates of Cellular Pathways. *Plant Physiol.* 138: 1809–1814.
- Notaguchi, M. 2015. Identification of phloem-mobile mRNA. *J. Plant Res.* 128: 27–35.
- Notaguchi, M., Higashiyama, T., & Suzuki, T. 2015. Identification of mRNAs that move over long distances using an RNA-seq analysis of *Arabidopsis/Nicotiana benthamiana* heterografts. *Plant Cell Physiol.* 56: 311–321.
- Notaguchi, M., & Okamoto, S. 2015. Dynamics of long-distance signaling via plant vascular tissues. *Front. Plant Sci.* 6: 161.
- Notaguchi, M., Wolf, S., & Lucas, W.J. 2012. Phloem-mobile Aux/IAA transcripts target to the root tip and modify root architecture. *J. Integr. Plant Biol.* 54: 760–772.
- Paultre, D., Gustin, M.P., Molnar, A., & Oparka, K.J. 2016. Lost in transit: long-distance trafficking and phloem unloading of protein signals in *Arabidopsis* homografts. *Plant Cell* 28: 2016–2025.
- Qi, Y., Denli, A.M. & Hannon, G.J. 2005. Biochemical specialization within *Arabidopsis* RNA silencing pathways. *Mol. Cell* 19: 421–428.
- Sasaki, T., Chino, M., Hayashi, H., & Fujiwara, T. 1998. Detection of several mRNA species in rice phloem sap. *Plant Cell Physiol.* 39: 895–897.
- Schachtman, D., Reid, R., & Ayling, S. 1998. Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiol.* 116: 447–453.
- Spiegelman, Z., Golan, G., & Wolf, S. 2013. Don't kill the messenger: Long-distance trafficking of mRNA molecules. *Plant Sci.* 213: 1–8.
- Thieme, C.J., Rojas-Triana, M., Stecyk, E., Schudoma, C., Zhang, W., Yang, L. et al. Endogenous *Arabidopsis* messenger RNAs transported to distant tissues. *Nat. Plants* 1: 15025.
- Wu, R., Wang, X., Lin, Y., Ma, Y., Liu, G., Yu, X. et al. 2013. Inter-species grafting caused extensive and heritable alterations of DNA methylation in *Solanaceae* plants. *PLoS ONE* 8: e61995.
- Xoconostle-Cázares, B., Xiang, Y., Ruiz-Medrano, R., Wang, H.L., Monzer, J., Yoo, B.C., McFarland, K.C., Franceschi, V.R., & Lucas, W.J. 1999. Plant paralog to viral movement protein that potentiates transport of mRNA into the phloem. *Science* 283: 94–98.
- Yang, Y., Mao, L., Jittayasothorn, Y., Kang, Y., Jiao, C., Fei, Z. et al. 2015. Messenger RNA exchange between scions and rootstocks in grafted grapevines. *BMC Plant Biol.* 15: 251.
- Zhang, S., Sun, L., & Kragler, F. 2009. The phloem-delivered RNA pool contains small noncoding RNAs and interferes with translation. *Plant Physiol.* 150: 378–387.
- Zhang, W., Thieme, C.J., Kollwig, G., Apelt, F., Yang, L., Winter, N. et al. (2016b) tRNA-related sequences trigger systemic mRNA transport in plants. *Plant Cell* 28: 1237–1249.
- Zhang, Z., Zheng, Y., Ham, B.K., Chen, J., Yoshida, A., Kochian, L.V., et al. (2016a) Vascular-mediated signalling involved in early phosphate stress response in plants. *Nat. Plants* 2: 16033.