

ウイルスの病原性に関する遺伝子

—Bymovirus の遺伝子の変異と進化—

農林水産省農業研究センター ^{かしわ} 柏 ^{ざき} 崎 ^{さとし} 哲

はじめに

近年の分子生物学手法の目覚ましい進歩によって、すでに多くの植物ウイルスについてゲノムの全塩基配列が決定され、遺伝子の構造や発現様式が解明されるとともに、植物ウイルスのみならず動物ウイルスを含めてウイルス遺伝子の分子進化を論じることが可能になっている。また、ウイルス遺伝子の変異と植物への病原性やベクター伝搬性などとの関係が明らかになり、さらに人工的にウイルス遺伝子に変異を与えて機能解析を行うことも可能になっている。

菌類媒介性のウイルスグループである *Bymovirus* でも、すでにゲノム構造が解明され、他のウイルス分類群との進化上の関係が明らかになりつつあり、特に菌伝搬性に関連して興味深い知見が得られている。また、*Bymovirus* では抵抗性品種を侵す系統の発生が農業上重要な問題となっており、宿主特異性にかかわる遺伝子変異の解明に向けて研究が進められている。

本稿では、*Bymovirus* の遺伝子の進化や変異について述べる。なお、*Bymovirus* のゲノム構造と機能については、すでに本誌で紹介しているので(柏崎, 1996)、併せて参照いただきたい。なお、ウイルスの属である、*Bymovirus* 属、*Rymovirus* 属、*Potyvirus* 属の名称は、*Bymo*-は barley yellow mosaic に、*Rymo*-は ryegrass mosaic に、*Poty*-は potato Y にそれぞれ由来する。

I *Bymovirus* の起源と進化

Bymovirus (*Potyviridae* 科、*Bymovirus* 属のウイルスの総称) は、植物の根に寄生する *Polymyxa graminis* 菌によって媒介されるひも状ウイルスである。タイプ種のおオムギ縞萎縮ウイルス (BaYMV) のほか、おオムギマイルドモザイクウイルス (BaMMV)、コムギ縞萎縮ウイルス (WYMV)、イネえそモザイクウイルス (RNMV)、さらに海外では wheat spindle streak mosaic virus (WSSMV)、oat mosaic virus (OMV)

が知られている。これらのウイルスは、それぞれおオムギ、コムギ、イネ、エンバクと単一の宿主植物に発生する。BaYMV と BaMMV は共におオムギのみを自然宿主とし、圃場で混合発生することが多い。現在までに BaYMV, BaMMV, WYMV の全塩基配列が決定されている (KASHIWAZAKI et al., 1989 b, 1990, 1991, 1992; KASHIWAZAKI, 1996; 難波ら, 1995)。ゲノムを構成する2種の(+)1本鎖RNA, RNA-1とRNA-2からは、いずれも単一のポリプロテインが翻訳されるが、このタンパク質はそれぞれプロティナーゼ (NIa-Pro, P1) によって特異的に切断されて機能を持つタンパク質が発現する(図-1)。RNA-1は外被タンパク質遺伝子 (CP) やRNA複製に関する遺伝子群 (CI~NIB) から成りウイルスの複製において主要な役割を担い、一方、RNA-2は菌伝搬に関与する遺伝子 (P2) を持っている。*Bymovirus* のRNA-1の遺伝子構造は、同じ *Potyviridae* 科に分類されるアブラムシ伝搬性の *Potyvirus* 属 (ROBAGLIA et al., 1989)、ダニ伝搬性の *Rymovirus* 属 (GOTZ and MAISS, 1995) の単一RNAゲノムの3'末端から4分の3の構造と同じである。しかし、ベクターの違いを反映して *Bymovirus* のRNA-2と *Potyvirus*, *Rymovirus* のゲノムの5'末端部の構造は大きく異なり、パパイン様プロティナーゼ領域 (P1またはHC-Pro) を除いて共通する遺伝子はない。SHUKLA et al. (1994) の仮説によると、*Potyviridae* 科のウイルス共通の祖先から最初に分化したのは菌伝搬性の *Bymovirus* とされ、これを媒介する *P. graminis* の宿主がイネ科の狭い範囲に限られ、その分布がほぼ温帯に限られるため、ウイルスの宿主範囲・発生分布も限られることになる。その後ダニで媒介される *Rymovirus* が現れ、続いてアブラムシで媒介される *Potyvirus* が分化した。*Potyvirus* は、高等植物を摂取する最も繁栄した昆虫であるアブラムシによる伝搬性を獲得したことによって、多くの植物に遭遇する機会を得て適応した結果、現在世界中で約180種のウイルスが1,000種以上の植物に発生する巨大なウイルス群として発展したと考えられる。

クリ胴枯病菌の弱毒因子ウイルス (HAV) は糸状菌の2本鎖RNAウイルスであるが、*Potyviridae* 科のウ

Variation and Evolution of *Bymovirus*. By Satoshi KASHIWAZAKI

(キーワード: *Bymovirus*, 変異, 進化, 病原性)

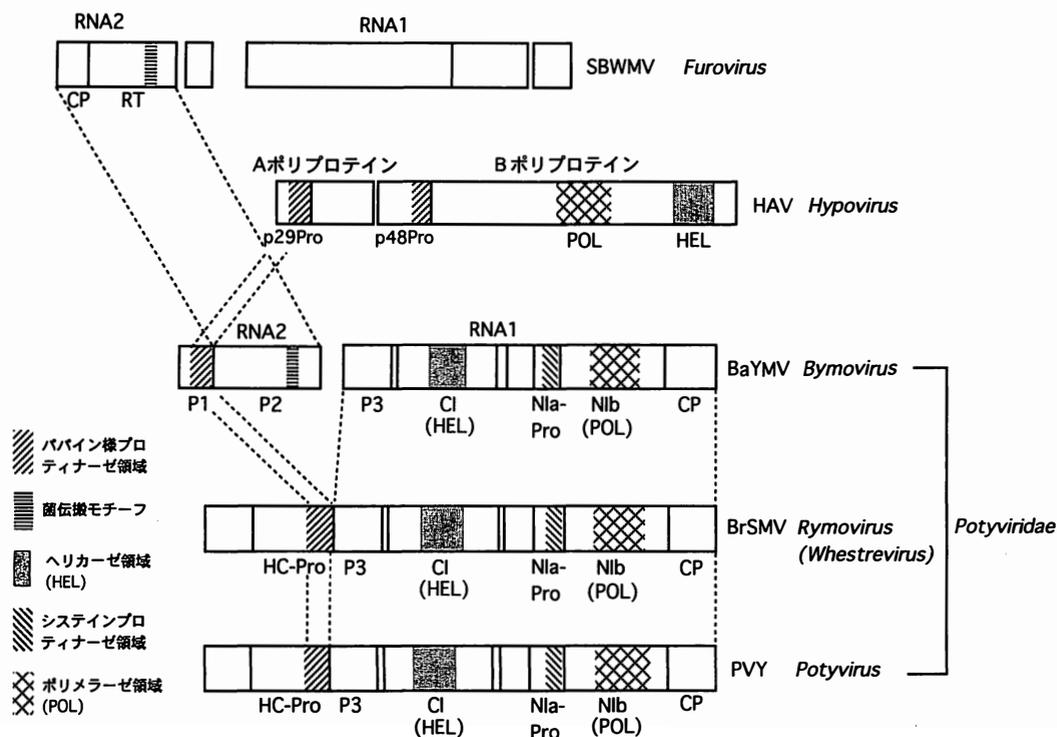


図-1 *Bymovirus* 属と他のウイルス属とのゲノム構造の比較

ウイルスと同じ起源を持つ可能性が指摘されている (Koonin et al., 1991)。HAV のゲノムは単一成分で、二つのポリプロテインをコードしている (図-1)。大きいほうの B ポリプロテインに含まれるポリメラーゼ領域とヘリカーゼ領域、小さいほうの A ポリプロテインに含まれるパピリン様プロテイナーゼ領域は、いずれも *Bymovirus*、*Potyvirus* の対応する領域と高い相性を示す。HAV は二つのポリプロテインを持つ点で BaYMV と似ており、小さいポリプロテイン内のパピリン様プロテナーゼの位置も対応するが、他の遺伝子構造には相違点も多い。HAV は外被タンパク質を持たず、菌体内で 2 本鎖 RNA の状態で存在し、菌の中で複製する。*Bymovirus* の媒介菌内での存在様式については、ウイルス様粒子が観察されているものの、菌の中でウイルスが複製するのかどうかなど、わかっていない点が多い。

菌によって媒介される別の植物ウイルスグループである *Furovirus* は、ゲノム構造や発現様式が *Bymovirus* とは全く異なるが、菌伝搬性に関連して *Bymovirus* の P2 とよく似た遺伝子を持っている。それは外被タンパク質 (CP) 遺伝子の終止コドンの読み過ぎしによって、CP と一続きに翻訳されるリードスルータンパク質 (RT) で、やはり菌による伝搬に関与する。P2 と RT

では、いずれも後半部分が菌伝搬性を支配し、共通するアミノ酸配列を持っている (Peerenboom et al., 1996)。さらに注目されるのは *Bymovirus* の P2 の前半部分に *Furovirus* の CP と共通する配列があることで、*Bymovirus* は RNA-1 にコードされる本来の CP のほかに RNA-2 にも CP 様 (pseudocapsid) の領域を持つことになる (Desseins et al., 1995)。*Furovirus* のウイルス粒子には CP とともにマイナー成分として CP-RT が含まれ、RT の前半部分はウイルス粒子の構築に関係する。しかし、*Bymovirus* では、これまでのところ P2 タンパク質がウイルス粒子に含まれるという報告はない。BaMMV をオオムギへの汁液接種 (媒介菌は関与しない) で継代すると、P2 の後半部分は欠失するが、P2 の前半部分は常に残っているので植物内での感染過程において何らかの役割を持つと考えられる。

Potyviridae 科のウイルスでは、CP のアミノ酸配列の相性がウイルスの類縁関係をよく反映しており、これをもとにした属、種、系統の階層分類が可能である (Shukla et al., 1994)。*Bymovirus* 属ではこれまでに OMV を除く 5 種のウイルスで CP のアミノ酸配列が決められている。BaYMV を基準にすると WYMV (BaYMV との相性は 72%、以下同様)、WSSMV

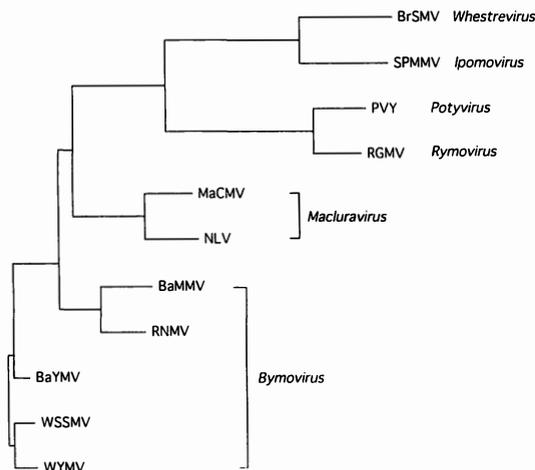


図-2 外被タンパク質のアミノ酸配列をもとにした *Bymovirus* 属のウイルスと *Potyviridae* の他の属のウイルスの分子系統樹 (neighbor-joining 法)

(SOHN et al., 1994) (74%) は近縁であるが, RNMV (柏崎ら, 未発表) (39%), BaMMV (35%) は離れている (図-2)。*Bymovirus* は宿主植物がイネ科の狭い範囲であるにもかかわらず, CP間の相同性を見るとおのおののウイルスが種として明確に分化している。*Potyviridae* 科内の *Potyvirus* 属, *Rymovirus* 属 (最近 *Rymovirus*, *Whestrevirus* の二つの属に分けることが提案された), コナジラミ伝搬性の *Ipomovirus* 属 (20~23%の範囲) は, いずれも *Bymovirus* とはかなり離れた関係にある (SALM et al., 1996; COLINET et al., 1996)。最近 *Potyviridae* の新しい属として提案された *Macluravirus* は, そのメンバーである *maclura mosaic virus* (MacMV) (30%) と *narcissus latent virus* (NLV) (27%) の CP 配列を見ると *Bymovirus* に最も近い (BADGE et al., 1997)。*Macluravirus* のゲノムは単一の RNA で, ベクターはわかっていない。塩基配列は 3' 末端領域しかわかっていないので, 今後の解析が待たれる。

II *Bymovirus* の宿主特異性

わが国で BaYMV による被害が深刻な問題となっていた 1984 年, オオムギ抵抗性品種ミサトゴールデンの大規模な試験栽培が始まった。この品種は中国の在来品種木石港-3 から *Ym* 遺伝子を導入したもので, 当初 BaYMV には全く感染しない (免疫性) とされていた。しかし, 茨城県下館市の圃場において, ミサトゴールデンは栽培 1 年目に低率ながら BaYMV に感染し, 4 年

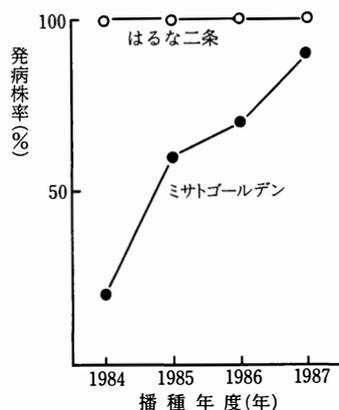


図-3 オオムギ抵抗性品種ミサトゴールデンを連作した圃場 (茨城県下館市) における BaYMV 発病株率の推移 (戸嶋ら, 1989. 一部改変)
ミサトゴールデン, はるな二条 (罹病性品種) の発病株率は圃場内に設けた小試験区で調べた。

目には圃場全面に発病するようになった (戸嶋ら, 1989) (図-3)。この圃場では, 栽培 1 年目からミサトゴールデンが発病したので, これを侵す BaYMV の III 型系統はもともとこの圃場に存在し, ミサトゴールデンの連作によって優占するようになったと考えられる。さらに, ミサトゴールデンの普及に伴い, 当初全く発病していなかった他の多くの地点でも III 型系統の発生が確認されている。ヨーロッパでも, *ym 4* 遺伝子を有する抵抗性品種が大規模に導入され, これを特異的に侵す系統 (BaYMV-2) が広く発生し問題となっている。

圃場において, *Bymovirus* は媒介菌の遊走子によって運ばれて伝染するが, 宿主作物のない状態でも土壌中の媒介菌の休眠胞子内でウイルスが長期間安定的に保持される。圃場に常に伝染源が残るこの伝染様式では, 同じ品種を連作すると, ウイルスに一定の選択圧が連続してかかるため, その品種に適応したウイルス系統が優占することになる。また, ウイルスの伝播は汚染土が農機具, かんがい水, 風などによって運ばれることによるので, 圃場間での病気の広がり遅く, 地理的隔離が起こりやすいと考えられる。

わが国の関東以西に発生する BaYMV は, オオムギ品種に対する病原性の違いから 6 系統 (I-1, -2, -3, II-1, -2, III 型) に類別され, その分布は各地域で栽培されてきたオオムギの種類・品種と密接に関連している (KASHIWAZAKI et al., 1989 a)。最近宮城県で見つかった IV 型系統は, これまで関東以西では全く発病していなかった *ym 3* 遺伝子を有する抵抗性品種を侵す。BaMMV においても, 香川県と山口県の系統では病原

性が異なる (NOMURA et al., 1996)。山口の BaMMV 発生地域では、当初 BaYMV と混合発生していたが、*Ym* 遺伝子を持つ抵抗性品種に転換した後、これを侵す BaMMV だけが発生するようになった。また、最近北海道で見つかった WYMV 系統は北海道で栽培される主要コムギ品種に感染するが、関東以西で栽培される主要品種には全く感染せず、逆に関東で発生している WYMV 系統は北海道の主要品種に全く感染しない (KUSUME et al., 1997)。これは気候条件などの違いから、両地域で異なるコムギ品種を栽培してきたため、病原性の異なる系統を選抜した結果と言える。

BaYMV, BaMMV では病原性の異なる系統・分離株について遺伝子レベルの比較が行われている。BaYMV の系統は、CP のアミノ酸列の相同性を基にすると、日本の従来 の 6 系統 (I-1~Ⅲ型)、日本の IV 型系統、ヨーロッパの系統の三つのグループに分けられ、同じグループ内でのアミノ酸置換は 3 個以内だが (相同性 99%~)、別のグループ間では 8~11 アミノ酸の置換 (96~97%) が認められる (柏崎, 未発表)。しかし、これらのアミノ酸置換と病原性との関連についてはわからない。BaMMV においても、香川系統と山口系統の CP 相同性は 94% とやや離れており、韓国の系統は山口系統に近く、ヨーロッパの系統は香川系統に近いなど、系統の類縁関係や由来などを考える上で興味深い知見が得られているが、CP のアミノ酸置換と病原性との関係はわからない (LEE et al., 1996)。BaYMV, BaMMV の系統間では CP 以外の遺伝子でも部分的な配列の違いは認められているが、病原性との関連はわかっていない。

III *Bymovirus* の変異機構

RNA ウイルスの変異機構としては、塩基の置換・欠失・挿入、分節 RNA の交換、RNA 組換えがあげられ、*Bymovirus* の変異や進化においてもこれらの機構が働いていると考えられる。塩基置換は RNA 複製過程におけるコピーミスによって起こるもので、RNA ポリメラーゼは修正機構がないため変異の起こる確率が高い。そのため自然環境下において RNA ウイルスはある程度の変異の幅を持った集団として存在する。したがって、すでに述べたように病原性の異なる系統を圃場から分離して比較しても、多くの箇所塩基配列やアミノ酸配列の置換が認められるため、どの変異が病原性に関係するのか特定するのは難しい。これに対して、実験条件下でウイルス分離株を継代しているうちに変異株が派生した場合は、遺伝子上の変異が限られているので解析が容易である。筆者らは、BaMMV の香川系統を本来抵

抗性の二つの品種ミサトゴールドデン、きぬゆたか (いずれも *Ym* 遺伝子を持つ) にそれぞれ 100 株以上接種した中から 1 株ずつ感染を認め、各感染植物から *Ym* 遺伝子の特異的に侵すウイルス変異株を分離した。これらの変異株では、RNA のサイズが原株と変わらないので、塩基置換など小さな変異が起こっているものと考えられる。これまでに変異株と原株とで外被タンパク質とポリメラーゼ (N1b) 遺伝子の配列を比較したが特異的な変異は認められなかったため、さらに他の遺伝子を解析して病原性にかかわる変異を探している。

BaMMV を汁液接種で継代すると、菌伝搬性に関与する P2 の後半部分を欠失した短い RNA-2 が野生型の RNA-2 より優先的に選択される。しかし、常に菌が伝搬に関与する自然条件下では、野生型の RNA-2 を維持するよう選択圧がかかっている。*Furovirus* のムギ類萎縮ウイルスでは、圃場で感染したコムギ中で春遅くなると RT の後半部分 (菌伝搬性に関与) が欠失した短い RNA-2 が増加する。この欠失株によるコムギの病徴は野生株よりも激しくなるので、このような欠失が単なる欠損 (defective) ではなく宿主植物内で何らかの機能を持つ可能性もある (CHEN et al., 1994)。

RNA の交換については、BaMMV の香川系統と山口系統を混合してオオムギに接種することにより、感染個体の中に RNA が交換された 2 種類の pseudorecombinant (偽組換え体) が得られている (KASHIWAZAKI and HIBINO, 1996)。これらの pseudorecombinant を用いた接種実験から、オオムギ抵抗性品種に対する感染性と病徴は RNA-1 によって決定されることが明らかになった。しかし、混合接種後の感染過程において、香川系統由来の RNA-1 と山口系統の RNA-2 が組み合わせられた pseudorecombinant は、もともとの香川系統の RNA 組合せよりも優先的に選択される。BaMMV のオオムギへの感染には RNA-1 と RNA-2 の両方が必要であるため、この実験条件下ではウイルスの感染過程のどこかで RNA-2 の交換が有利に働いていると言える。自然環境下でも同一ウイルスの系統など遺伝的に近い分節 RNA 同士の交換は頻繁に起こっていると考えられる。キュウリモザイクウイルス、イネ萎縮ウイルスでは野外での感染において分節 RNA の交換が起こることが示唆されている (黒田ら, 1991; UYEDA et al., 1995)。

RNA 組換え (recombination) については、*Bymovirus* での報告はないが、*Potyvirus* ではウイルス RNA 間、ウイルス RNA と葉緑体 RNA の間での組換えが知られている。特にジャガイモ Y ウイルスでは、ジャガイモの塊茎にえそを起こす系統が RNA 組換えに

よって出現した可能性が指摘されている (REVERS et al., 1996)。

おわりに

この10年あまりの間に *Bymovirus* の遺伝子の構造や機能についての研究は進展したものの、病原性の分子機構についてはまだほとんどわかっていない。圃場において、ウイルスが抵抗性品種に対する病原性を獲得するための変異はどのように生まれ、ウイルス遺伝子間の相互作用、宿主の抵抗性遺伝子との相互作用の中でどのように選択されていくのか、また媒介菌はウイルス変異株の発生推移にどのようにかわるのか、分子レベルでウイルス系統の発生生態が解明されるよう期待したい。最後に本稿をまとめるにあたり貴重なご助言をいただいた宇都宮大学 夏秋知英氏に厚くお礼申し上げる。

引用文献

- 1) BADGE, J. et al. (1997): J. gen. Virol. 78: 253~257.
- 2) CHEN, J. et al. (1994): Virology 202: 921~929.
- 3) COLINET, D. et al. (1996): Arch. Virol. 141: 125~135.
- 4) DESSENS, J. T. et al. (1995): ibid. 140: 325~333.
- 5) GOTZ, R. and E. MAISS (1995): J. gen. Virol. 76: 2035~2042.
- 6) KASHIWAZAKI, S. et al. (1989 a): Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 55: 16~25.
- 7) ——— et al. (1989 b): J. gen. Virol. 70: 3015~3023.
- 8) ——— et al. (1990): ibid. 71: 2781~2790.
- 9) ——— et al. (1991): ibid. 72: 995~997.
- 10) ——— et al. (1992): ibid. 73: 2173~2181.
- 11) ——— and H. HIBINO (1996): ibid. 77: 581~585.
- 12) ——— (1996): Arch. Virol. 141: 2077~2089.
- 13) 柏崎 哲 (1996): 植物防疫 50: 308~311.
- 14) KOONIN, E. V. et al. (1991): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 10647~10651.
- 15) 黒田智久ら (1991): 日植病報 57: 449.
- 16) KUSUME, T. et al. (1997): Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 63: (in press).
- 17) LEE, K. J. et al. (1996): ibid. 62: 397~401.
- 18) 難波成任ら (1995): 日植病報 61: 283.
- 19) NOMURA, K. et al. (1996): J. Phytopathol. 144: 103~107.
- 20) PEERENBOOM, E. et al. (1996): Virus Res. 40: 149~159.
- 21) REVERS, F. et al. (1996): J. gen. Virol. 77: 1953~1965.
- 22) ROBAGLIA, C. et al. (1989): ibid. 70: 935~947.
- 23) SALM, S. N. et al. (1996): Arch. Virol. 141: 2237~2242.
- 24) SHUKLA, D. et al. (1994): The Potyviridae. CAB pp. 516.
- 25) SOHN, A. et al. (1994): Arch. Virol. 135: 279~292.
- 26) 戸嶋郁子ら (1989): 関東東山病虫研報 36: 27~29.
- 27) UYEDA, A. et al. (1995): Seminars in Virology 6: 117~122.

人事消息

○農産園芸局植物防疫課 (4月1日付)

副島陽一氏 (東北農政局企画調整室長) は農薬対策室長に

中村敬雄氏 (蚕糸課課長補佐(庶務班担当)) は課長補佐(庶務班担当)に

水野勝巳氏 (農薬検査所総務課会計係長) は庶務班総務係長に

高濱政子氏 (総務課庶務班庶務係) は庶務班総務係へ

阿部清文氏 (横浜植物防疫所業務部兼植物防疫課防除班防除係) は防除班発生予察係長に

中村昭二氏 (関東農政局生産流通部農産普及課普及係長) は防除班特別防除係長に

堀田公生氏 (検疫第一班輸入検疫係長) は農業航空班指導係長に

大森正和氏 (農薬第一班農薬国際調整係長) は農業第一班安全指導係長に

倉田央子氏 (農薬検査所検査第二部農薬残留検査課) は農薬第一班農薬国際調整係へ

高橋伸英氏 (同上所検査第一部企画調整課) は植物防疫課併任に

新居威行氏 (横浜植物防疫所成田支所) は検疫第一班輸入検疫係長に

岡 辰男氏 (同上所調査研究部兼植物防疫課) は検疫第一班国際検疫係長に

久保博之氏 (同上所業務部) は検疫第二班輸出検疫係長に

(採用)植松明彦氏 (農薬検査所検査第一部企画調整課兼

植物防疫課)

(採用) 加納義高氏 (横浜植物防疫所業務部兼植物防疫課)

佐藤保隆氏 (農薬対策室長) は東北農政局生産流通部長に

児玉英夫氏 (課長補佐(庶務班担当)) は総務課課長補佐(庶務班担当)に

尾崎浩行氏 (庶務班総務係長) は総務課予算会計班予算第2係長に

白垣純子氏 (庶務班総務係) は婦人・生活課庶務係へ

杉本俊一郎氏 (企画班企画調整係長) は横浜植物防疫所業務部次席植物検疫官に

平野善広氏 (防除班発生予察係長) は北陸農政局生産流通部農産普及課農産機械係長に

永井康夫氏 (農業航空班指導係長) は九州農政局生産流通部農産普及課植物防疫係長に

鶴崎一郎氏 (専門官・農薬第一班安全指導係担当) は東北農政局企画調整室企画官に

入江真理氏 (農薬検査所検査第二部農薬残留検査課兼植物防疫課) は農薬検査所検査第一部農薬環境検査課水質検査係長に

阪村 基氏 (検疫第一班国際検疫係長) は神戸植物防疫所業務部次席植物検疫官に

宮崎 博氏 (検疫第二班輸出検疫係長) は果樹花き課果実流通班流通第二係長に

大村克己氏 (横浜植物防疫所調査研究部次席植物検疫官兼植物防疫課) は併任解除

(29 ページに続く)