

トリコおよびカピロウイルスのゲノム構造と分子分類

岩手大学農学部応用生物学科生物制御学講座 よし かわ のぶ ゆき
吉 川 信 幸

トリコおよびカピロウイルスは、屈曲性に富んだひも状ウイルスで、主にリングやナシ、カンキツ、ブドウなど各種果樹類のウイルスとして報告されている。粒子の形態や粒子表面上に観察されるクロスバンディング構造から、以前はクロステロウイルスに分類されていたが、ゲノム構造の解析が進むにつれ、新たに設立されたカピロウイルス属およびトリコウイルス属に分類された (MURPHY et al., 1995; 古澤ら, 1996)。筆者は国際ウイルス分類委員会 (ICTV) 一植物ウイルス分類小委員会 (PVS) 内の Study group on closterovirus and allied viruses のメンバーとして、トリコおよびカピロウイルス属の分類にかかわってきた。本稿では、主に ICTV の第 6 次報告 (MURPHY et al., 1995) 以後に得られた両属ウイルスのゲノム構造に関する知見について述べ、さらに現在提案されている両属の分類案を紹介する。

I トリコウイルスのゲノム構造

トリコウイルス属のウイルスは長さ 640~800 nm のひも状で、トリコ (*tricho*) はギリシャ語で髪の毛を意味し、粒子形態にちなんで名づけられた属名である。ゲノムは単一の一本鎖 RNA からなり、3' 末端にはポリ (A)、5' 末端は cap 構造をとると推定される。本属には species (種) としてリングクロロティックリーフスポットウイルス (ACLSV) とジャガイモ T ウイルス (PVT) が、また tentative species (暫定種) として Grapevine virus A (GVA), Grapevine virus B (GVB) および Heracleum latent virus (HLV) が分類されている (MURPHY et al., 1995)。

トリコウイルス属のタイプ種である ACLSV については、スモモ bark-split 病から分離されたスモモ分離株 (P 863) (GERMAN et al., 1990)、スモモ分離株 (PBM 1) (GERMAN-RETANA et al., 1997)、リング高接病の病原であるリング分離株 (普通系 P-205) (SATO et al., 1993)、葉および果実にモットルやピッチング症状を呈するオウトウから分離されたオウトウ分離株 (Bal 1) (GERMAN-RETANA et al., 1997) およびリングから分離さ

れたミツバ潜在系 (MO-5) (吉川ら, 未発表) の 5 分離株についてゲノムの全構造が明らかにされた。ACLSV ゲノムは 3' 末端のポリ (A) 配列を除いて 7549~7561 塩基からなり、5 分離株とも三つのタンパク質読み枠 (ORF) を持つ (図-1)。ORF 1 がコードする 216 キロダルトン (K) タンパク質には N 末端側からメチルトランスフェラーゼ (MET), パパイン様プロテアーゼ (P-Pro), ヘリカーゼ (HEL) および RNA ポリメラーゼ (POL) の共通保存配列が認められ、このタンパク質はゲノムの複製に関与している。ORF 2 がコードする 50 K タンパク質は、細胞間移行タンパク質 (MP) の保存配列を持ち、感染細胞のプラズモデスマータに局在することから、MP として機能していると考えられる (SATO et al., 1995; 吉川ら, 1997)。ORF 3 は 21 K の外被タンパク質をコードしている。上記 5 分離株間の全塩基配列の相同性は 75~82% であるが、216 K タンパク質の MET と P-Pro 間の領域 (アミノ酸番号 602~672) は相同性が 20% 程度と分離株間で変異が蓄積している (GERMAN-RETANA et al., 1997; 吉川ら, 未発表)。ORF 2 および ORF 3 にコードされた 50 K タンパク質および CP は、感染細胞内でサブゲノム RNA を介して発現する (GERMAN et al., 1992)。PVT ゲノムは、ACLSV と同様のゲノム編成をとり、183 K (ORF 1) と 40 K (ORF 2), 24 K (CP, ORF 3) の三つのタンパク質をコードしている (大平ら, 1994)。

ブドウえそ果病の病原ウイルスであるブドウえそ果ウイルス (GINV) は、長さ 740~760 nm の粒子で、21 K の CP と約 7.5 キロ塩基の一本鎖 RNA ゲノムからなる (TERAI et al., 1993)。GINV の粒子形態および CP とゲノムのサイズは ACLSV のそれらと類似しているが、分類所属は未定であった。筆者らは GINV の 3' 末端側 2469 塩基の配列を解析した。その結果、GINV ゲノムには三つの ORF, すなわち上流から続く ORF 1, 39 K タンパク質をコードする ORF 2, CP をコードする ORF 3 が存在していた (YOSHIKAWA et al., 1997)。このゲノム編成はトリコウイルスのそれと一致しており、さらに、ORF 1 にコードされるタンパク質の POL 領域および CP (ORF 3) のアミノ酸配列に基づいた系統解析の結果は、GINV が ACLSV と近縁なウイルスであることを示した (図-2)。以上の結果から、GINV をトリ

Genome Structure and Taxonomy of Toricho- and Capilloviruses. By Nobuyuki YOSHIKAWA

(キーワード: トリコウイルス, カピロウイルス, ビティウイルス, ゲノム構造, 分子分類)

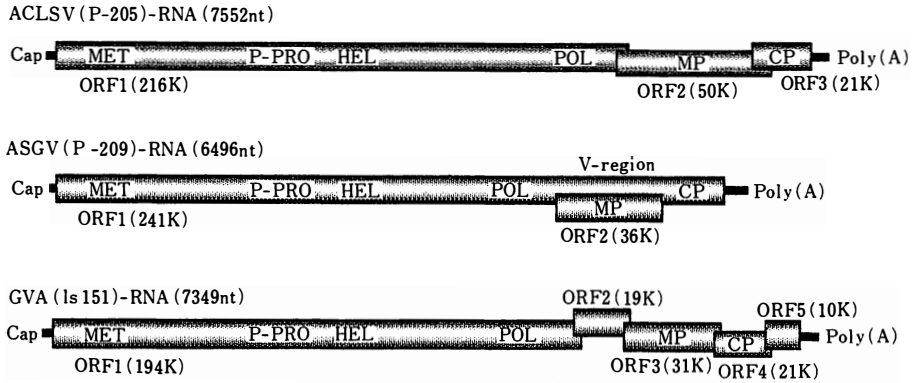


図-1 トリコ (ACLSV), カピロ (ASGV) およびビティウイルス (GVA) のゲノム編成

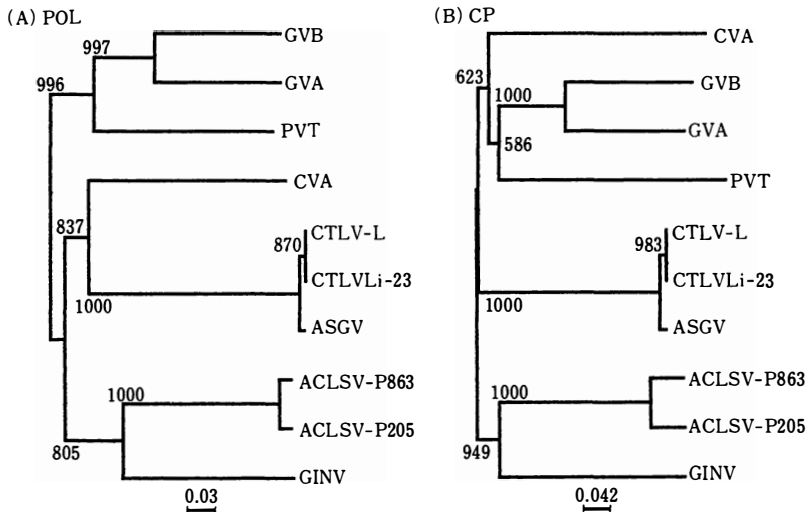


図-2 トリコ, カピロおよびビティウイルスのPOLおよびCPのアミノ酸配列に基づいた系統樹 (近隣結合法) (YOSHIKAWA et al., 1997).

図中の数字はブートストラップ検定 (1,000 反復) の結果である。

図の下スケールは部位当たりのアミノ酸の置換数を示す。

コウイルス属のウイルスであると結論した。ACLSV や PVT にはベクターは知られていないが, GINV はブドウハモグリダニによる伝搬が報告されている (功刀ら, 1997)。

一方, トリコウイルス属の暫定種とされていた GVA および GVB は, 粒子の性状は ACLSV に類似しているが, 汁液接種が難しいことやコナカイガラムシで伝搬されること, またウイルス粒子が感染植物の師部に局在する点で, ACLSV とは相違点が多かった。最近, イタリアのグループにより GVA と GVB ゲノムの全塩基配列が報告され, 両ウイルスのゲノム編成は ACLSV や

PVT とは異なることが明らかにされた (MINAFRA et al., 1994; SILDARELLI et al., 1996; MINAFRA et al., 1997) (図-1)。すなわち, GVA ゲノム (7349 塩基) および GVB ゲノム (7598 塩基) には五つの ORF が存在し, 複製関連タンパク質 (ORF 1), MP (ORF 3), CP (ORF 4) 以外に機能不明の二つのタンパク質 (ORF 2 と ORF 5) をコードしている。このように, 生物学的性質やゲノム編成がトリコウイルス属のタイプ種である ACLSV とは異なることから, GVA や GVB はトリコウイルス属から独立させ, 新属へ分類することが提案されている (MARTELLI et al., 1997)。

II カピロウイルスのゲノム構造

カピロウイルス属のタイプ種であるリングステムグーピングウイルス (ASGV) は、約 650 nm のひも状ウイルスである。カピロ (*capillo*) は髪の毛を意味するラテン語 (*capillus*) に由来する。粒子は単一のプラス鎖の一本鎖 RNA ゲノムとそれを取り囲む 27 K の CP から構成されている。これまでに ASGV のリング分離株 (P-209) とカンキツタリーフウイルス (CTLV) のユリ分離株 [L と Li-23] の計 3 分離株のゲノムの全塩基配列が明らかにされており、いずれも 3' 末端のポリ (A) 配列を除いて 6496 塩基からなる (YOSHIKAWA et al., 1992; OHIRA et al., 1995; TERAUCHI et al., 1997)。これら 3 分離株ゲノム間の塩基配列の相同性は、P-209 と Li-23 間および P-209 と L 間で 83%, Li-23 と L 間で 98% であった (TERAUCHI et al., 1997)。ASGV ゲノムには二つの ORF が存在し、ORF 1 がコードするタンパク質 (241 kDa) にはトリコウイルスと同様に N 末端側から MET, P-Pro, HEL および POL の共通保存配列が認められ、C-末端には CP が位置している (図-1)。POL と CP 間の 284 アミノ酸は分離株間で多数の変異の蓄積が認められる領域で、これまで構造解析された 15 株間で保存されているアミノ酸はわずか 20.4% であった (MAGOME et al., 1997 a)。筆者らはこの領域を variable region (V-領域) と名づけた。V-領域は 36 K タンパク質をコードする ORF 2 とフレームが異なった同一領域に位置している。36 K タンパク質のアミノ酸配列は 15 株間で高く保存 (87.3% のアミノ酸が共通) されており、同じ領域にコードされた二つのタンパク質が異なる進化的選択圧を受けていることになる。V-領域の機能は不明であるが、これまでに解析された 15 のウイルス株すべてにおいて、V-領域にストップコドンに変わるような変異が存在しないことから、この領域はウイルスの生存にとって何らかの機能をもつと推定される。カピロウイルスのゲノム編成上の特徴は、CP が 241 kDa タンパク質 (ORF 1) の一部としてコードされていることであるが (図-1)、MP および CP 遺伝子の発現はトリコウイルスと同様にサブゲノム RNA を介して行われると考えられる (MAGOME et al., 1997 b)。カピロウイルス属に所属する種としては、新たに cherry virus A が報告された。本ウイルスのゲノムは 7383 塩基からなり、ASGV のゲノム編成と同様に二つの ORF、すなわち 266 K タンパク質をコードする ORF 1 とこれとオーバーラップして 52 K タンパク質をコードする ORF 2 が認められる (JELKMANN, 1995)。

ASGV と CTLV は、これまで別種のウイルスとされていたが、ユリから分離された CTLV (Li-23) とリングから分離された ASGV (P-209) は、生物学的性質 (草本植物での宿主域や病徴) および血清学的性質において区別できず、またゲノム構造も完全に一致していた。最近、筆者らはリング、ニホンナシ、セイヨウナシおよびカンキツからの分離株を供試して、ゲノムの 3' 末端領域の RT-PCR による増幅とその DNA 産物の塩基配列を解析した (YOSHIKAWA et al., 1996; MAGOME et al., 1997 a)。その結果、(1) 供試したほとんどの分離株において、同一分離株から得られた複数の DNA クローンの中に著しく塩基配列の異なるクローン (塩基配列変異株と命名) が少なくとも 2~4 種類存在していること、すなわち果樹類に感染している ASGV ゲノムは複数の塩基配列変異株からなるヘテロな集団であることが明らかになった。これは動物ウイルスで報告されている “quasispecies (準種)” に相当するものと考えられた (真籠ら, 1998)。また、(2) V-領域タンパク質のアミノ酸配列に基づいた系統解析では、これら分離株あるいは塩基配列変異株は四つの大きなクラスター (I, II, III, IV) に分かれた (図-3)。当初、同じ樹種から得られた分離株および塩基配列変異株は、分子進化的に近い

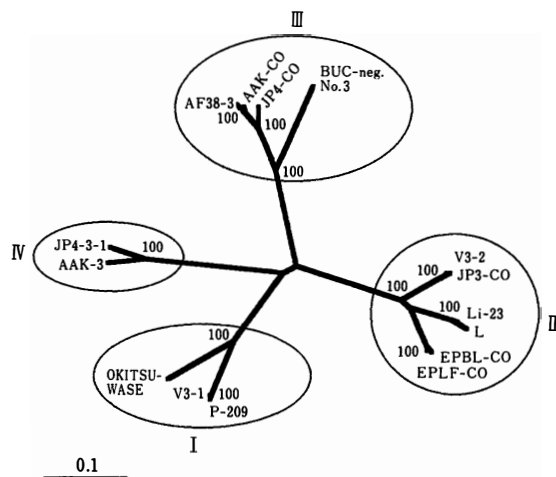


図-3 各種果樹類から分離した ASGV および CTLV の V-領域アミノ酸配列に基づいた系統樹 (近隣結合法) (MAGOME et al., 1997 a)。

各分離株および塩基配列変異株の由来は、P-209, AAK-3, AAK-CO および AF 38-3 がリング、V3-1, V3-2, JP3-CO, JP4-3-1, JP4-CO がニホンナシ、EPBL-CO と EPLF-CO がセイヨウナシ、OKITSU-WASE と BUC-neg. No.3 がカンキツ、L と Li-23 がユリである。図中の数字はブートストラップ検定 (1,000 反復) の結果 (%) である。図の下スケールは部位当たりのアミノ酸の置換数を示す。

表-1 トリコウイルス、カピロウイルスおよび近縁ウイルスの分類(案)

属	種	DDBJ accession No.
トリコウイルス (<i>Trichovirus</i>)	リングクロロティックリーフスポットウイルス(ACLSV)	[M31714, D14996, X99572]
	ジャガイモ T ウイルス (PVT)	[D10172]
	ブドウえそ果ウイルス (GINV)	[D88448]
カピロウイルス (<i>Capillovirus</i>)	リングステムグルーピングウイルス(ASGV)	[D14995, D16681, D16368,
	(カンキツタターリーフウイルス)	D14455, AB004063]
	Cherry virus A (CVA)	[X82547]
	Lilac chlorotic leaf spot virus	—
	Nandina stem pitting virus*	—
ビティウイルス (<i>Vitivirus</i>)	Grapevine virus A (GVA)	[X75433]
	Grapevine virus B (GVB)	[X75448]
	Grapevine virus D (GVD)	[Y07764]
	Heracleum latent virus (HLV)	—
	Grapevine virus C*	—

太字はタイプ種, * は暫定種である。

と想定していたが、カンキツからの分離株 (CTLV) がリングやニホンナシからの ASGV 株と同じクラスターに所属しており、系統解析による各クラスターと宿主の種類とは関連性が認められなかった。カンキツからの分離株がリングやニホンナシなどバラ科の果樹から分離された株と同一のクラスターに入ることから、ASGV と CTLV は同種のウイルスとみなすべきであり、これまで CTLV と呼ばれていたウイルスは ASGV の一分離株と結論された (MAGOME et al., 1997 a)。

Ⅲ トリコウイルスおよびカピロウイルス属の再編成

以上に述べたように、ICTV の第 6 次報告以後トリコウイルスおよびカピロウイルスのゲノム構造に関する新たな知見が得られ、両属の分類に関しては新属の設立も含めた新たな分類案が提案されている (表-1)。ICTV 第 6 次報告の分類と比較して主な変更点は次のとおりである。(1)トリコウイルス属の暫定種とされていた GVA や GVB, HLV を新設の *Vitivirus* (ビティウイルス) 属 (ブドウの属名 *Vitis* に由来) に分類する (MARTELLI et al., 1997)。(2)トリコウイルス属の種として新たに GINV を加える。(3)カピロウイルス属の種であった CTLV を ASGV と同種とみなし、ASGV に統一する。(4)カピロウイルス属の種として CVA を加える。本分類案は study group でまとめられた案で、

PVS を通して次回の ICTV 総会で諮られる。

引用文献

- 古澤 巖ら (1996): 植物ウイルスの分子生物学—分子分類の世界—, 学会出版センター, 東京, 458 pp.
- GERMAN, S. et al. (1990): *Virology* 179: 104~112.
- (1992): *J. Gen. Virol.* 73: 767~773.
- GERMAN-RETANA, S. et al. (1997): *Arch. Virol.* 142: 833~841.
- JELKMANN, W. (1995): *J. Gen. Virol.* 76: 2015~2024.
- 功刀幸博ら (1997): 日植病報 63: 504.
- MAGOME, H. et al. (1997 a): *Phytopathology* 87: 389~396.
- (1997 b): *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 63: 450~454.
- 真籠 洋ら (1998): 平成 10 年度日本植物病理学会大会講演要旨, p. 164.
- MARTELLI, G. P. et al. (1997): *Arch. Virol.* 142: 1929~1932.
- MINAFRA, A. et al. (1997): *ibid.* 142: 417~423.
- (1994): *ibid.* 137: 249~261.
- MURPHY, F. A. et al. (1995): *ibid. suppl.* 10, 586 pp.
- OHIRA, K. et al. (1995): *J. Gen. Virol.* 76: 2305~2309.
- 大平和幸ら (1994): 日植病報 60: 377.
- SALDARELLI, P. et al. (1996): *J. Gen. Virol.* 77: 2645~2652.
- SATO, K. et al. (1993): *ibid.* 74: 1927~1931.
- (1995): *ibid.* 76: 1503~1507.
- TERAI, Y. et al. (1993): Abstract 11th Meeting ICVG. pp. 77~78.
- TERAUCHI, H. et al. (1997): *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 63: 432~436.
- YOSHIKAWA, N. et al. (1992): *Virology* 191: 98~105.
- (1996): *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 62: 119~124.
- (1997): *Arch. Virol.* 142: 1351~1363.
- 吉川信幸ら (1997): 日植病報 63: 272.