

ウイルスの虫媒伝染の分子機構

農林水産省農業研究センター おおむらとしひろ
大村敏博

はじめに

病原ウイルスの大部分は媒介生物によって伝搬される(福士ら, 1986; Hull, 1994)。主要な媒介生物としては、キュウリモザイクウイルスやダイズモザイクウイルスなどを伝搬するアブラムシ、イネの大部分のウイルスを伝搬するウンカ、ヨコバイ類、ジェミニウイルスなどを伝搬するホワイトフライ、トマト黄化えそウイルスを伝搬するアザミウマ類、ムギ類のウイルスなどを伝搬する菌類が挙げられる。いずれの場合にも、ウイルスが媒介生物の細胞・組織などに付着、侵入あるいは感染しない限り、健全な植物にウイルスは伝搬されない。

そのため、ウイルスと媒介生物との親和性機構を解析することは、相互の関係を妨害するための手段を探る手がかりを与え、媒介生物によるウイルス伝搬能力を喪失させ、伝搬を抑制するという新たな視点からの防除法確立への道を拓くものと期待される。

イネ萎縮ウイルス(RDV)は、ツマグロヨコバイでいったん増殖し、2~3週間の潜伏期を経た後にイネに伝搬されるようになる(図-1)。このような保毒虫は終生ウイルスを媒介し続ける。本稿ではRDVの昆虫細胞への感染に必須であり、その結果、昆虫媒介に必要とされるウイルスのタンパク質について紹介する。

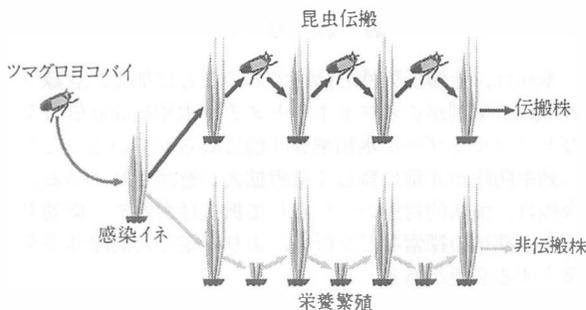


図-1 RDVの伝搬

Mechanism of Virus Transmission by Insect Vectors. by Toshihiro OMURA

(キーワード: イネ萎縮ウイルス, ツマグロヨコバイ, 非伝搬株, タンパク質機能, 培養昆虫細胞, 感染機構)

I 感染性を有するウイルス粒子からのP2タンパク質の除去(YANら, 1996)

RDV(図-2, 3)を有機溶媒の一種である四塩化炭素を用いずに純化したものは6種類のタンパク質から構成されていた(図-3, 4)。このような粒子はツマグロヨコバイの培養細胞(図-5)(OMURA and KIMURA, 1994)への感染性も高かった(図-6)。ところが、本粒子を四塩化炭素で処理すると培養細胞への感染性が失われた(図-6)。また、このような粒子からは6種類のタンパク質の内、P2タンパク質のみが欠落していた(図-4)。本結果からP2タンパク質は媒介昆虫ツマグロヨコバイの細胞感染に必要なものであることが想定された。

次に、上記結果が昆虫においても得られるか否かを検討した。上記各粒子をパラフィルム膜を通してツマグロ

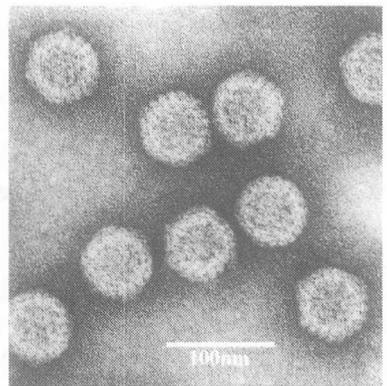


図-2 RDVの電顕像

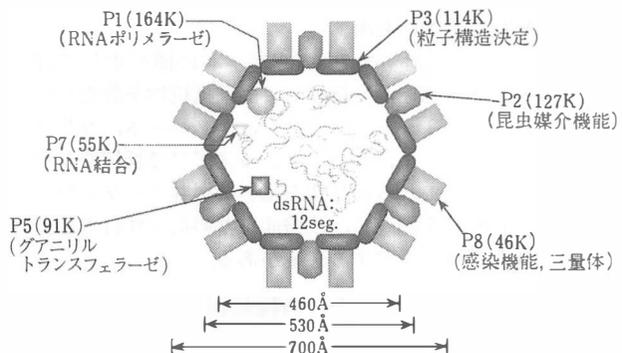


図-3 RDVの構造タンパク質と機能

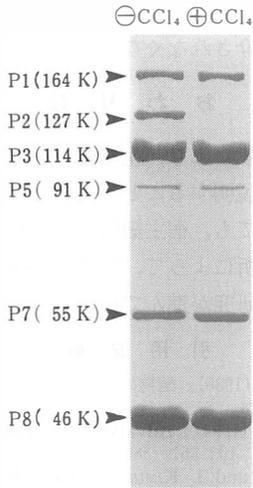


図-4 RDVの構造タンパク質の電気泳動像

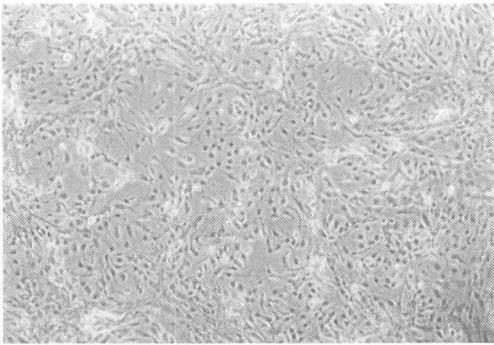


図-5 ツマグロヨコバイの培養細胞

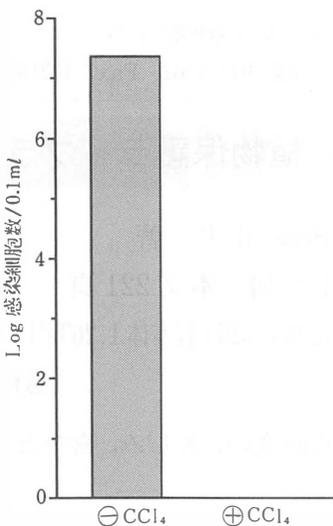


図-6 純化RDVの媒介昆虫細胞への感染性

ヨコバイの2~3 齢幼虫に吸汁させたところ、完全粒子は昆虫体内で増殖した後、イネに伝搬されたのに対し、P2 欠落粒子は昆虫体内で増殖せず、イネにも伝搬されなかった。

RDVはツマグロヨコバイの中腸の細胞から感染した後、昆虫体内で増殖するといわれている。上記結果から、P2 欠落粒子は中腸細胞に感染する機能を持たないため、昆虫体内に侵入、増殖することができず、そのためイネに伝搬されなかったものと考えられた。

II P2 タンパク質の機能 (OMURA ら, 1998)

純化 RDV 粒子を培養細胞の培地に加え、2 時間静置したところ、完全粒子は細胞に吸着、侵入したが、P2 欠落粒子は吸着できなかった。そこで、四塩化炭素処理によって P2 タンパク質を除いた RDV を微細なガラス針を用いてツマグロヨコバイに注射したところ、RDV は昆虫体内で増殖し、イネへ伝搬された。本結果から、P2 タンパク質はガラス針が果たした役割と同等の機能を有しており、P2 欠落粒子でも昆虫の体液あるいは細胞中に導入されれば増殖する能力を有していることが判明した。

III 非伝搬株の解析 (TOMARU ら, 1997)

RDV に感染したイネ株を温室で育成、約 3 か月ごとに切り返し、昆虫を経由させず、栄養繁殖によって約 3 年間継代すると昆虫によって媒介されない非伝搬株が得られる (図-1)。本ウイルス系統に感染した株は伝搬株と同様な病徴を呈し、ウイルス粒子も多数認められた。本系統の純化粒子はツマグロヨコバイの培養細胞への感染性を喪失していた。また P2 タンパク質が認められなかった。

本タンパク質が認められない機構を探る目的でウイルスを構成する各タンパク質に対する抗血清を用い、ウエスタンブロッティング法によって非伝搬系統感染株における各タンパク質を検定したところ、P2 タンパク質のみが発現していなかった。次に P2 タンパク質をコードするメッセンジャー RNA を検定したところ、非伝搬株でも認められた。P2 タンパク質は RDV の 12 本に分節した 2 本鎖 RNA の 2 番目に大きい S2 にコードされている。そこで S2 の塩基配列を解析した。伝搬株の分節ゲノム S2 は全長 3512 の塩基から成り、1148 アミノ酸から成る P2 タンパク質をコードしている。ところが非伝搬株の RNA には 11 番目のアミノ酸に対応する RNA の塩基にポイントミューテーションがあり、そのために終止コドンとなり (図-7)、機能する全長の P2

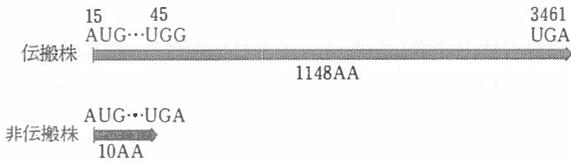


図-7 RDVの非伝搬株の分節ゲノムS2の遺伝子構造

タンパク質を合成できなくなるものと考えられた。

IV 結 論

媒介昆虫の細胞への感染性を有する完全粒子から有機溶媒を用いて人為的にP2タンパク質を除去すると細胞への感染性が失われ、昆虫によってイネに伝搬されなくなった。さらに自然条件下で昆虫によって伝搬されなくなった非伝搬株ではP2タンパク質が欠落していた。上記両結果からRDVのP2タンパク質は媒介昆虫の細胞感染に必須であるため、本タンパク質を失うと昆虫細胞

に感染することができなくなり、そのために昆虫によってウイルスが媒介されなくなるものと考えられた。

お わ り に

最近の技術進歩により、生命現象を分子の動態で解析し、その機構を説明することが可能となってきた。ウイルス研究においても、宿主細胞とウイルスの構成分子との相互作用の解析によって、ウイルス病の媒介経路遮断法の開発などの研究が進んでいくものと期待される。

引 用 文 献

- 1) 福士貞吉ら (1986): 植物のウイルス病, 養賢堂, 東京, pp. 71~128.
- 2) HULL, R. (1994): *Advances in Disease Vector Research* 10: 361~386.
- 3) OMURA, T. and I. KIMURA (1994): *Arthropod Cell Culture Systems* (MARAMOROSCH, K. and A. H. McINTOSH, eds) CRC press, pp. 91~107.
- 4) OMURA, T. et al. (1998): *J. Virol.* 72: 9370~9373.
- 5) TOMARU, M. et al. (1997): *ibid.* 71: 8019~8032.
- 6) YAN, J. et al. (1996): *Virology* 224: 239~541.

■ 日本植物防疫協会 発行 ……シリーズ図書 植物保護ライブラリー

作物の病気を防ぐくすりの話

上杉 康彦 著 B6判 本文121頁
定価 1,326 円(本体 1,263 円+税)
送料 240 円

農作物の病気を防ぐ薬を研究してきた著者が、どうして作物は病気にかかるのか? から、病害防除薬剤の発展と現状、そして将来について語る。

お申し込みは、直接本会出版情報グループに申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい

(社)日本植物防疫協会 〒170-8484 東京都豊島区駒込 1-43-11 Tel: (03)3944-1561 Fax: (03)3944-2103

■ 日本植物防疫協会 発行 ……シリーズ図書 植物保護ライブラリー

ミクロの世界に魅せられて

——植物病原細菌の虚像と実像——

後藤 正夫 著

B6判 本文 221 頁
定価 1,326 円(本体 1,263 円+税)

送料 310 円

本書は、著者の 40 余年間にわたる植物病原細菌に関する研究の、苦しみ、喜びとその成果について書かれたものです。

お申し込みは、直接本会出版情報グループに申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい

(社)日本植物防疫協会 〒170-8484 東京都豊島区駒込 1-43-11 Tel: (03)3944-1561 Fax: (03)3944-2103