

植物防護基礎講座：植物ウイルスの分類学(13)

ウイロイド (*Viroid*)

弘前大学農学生命科学部 佐野輝男

はじめに

ウイロイド (*Viroid*) は 1971 年、DIENER (1971) がジャガイモ spindle tuber 病の病原として分離した新しい病原体につけた名前である。外被タンパク質をもたない低分子 RNA で、感染した宿主植物の転写系に依存して RNA から RNA へ自律的に複製・増殖する。多くは病原として分離されたものであるが、病原性が明確ではないものもある。特異な分子構造やその性状・機能から、基本的にウイルスとは異なるクラスの病原体であるが、サブウイルス病原と位置づけられ、ウイルスの分類と同様な基準に基づいて 2 科 (family), 7 属 (genus), 28 種 (species) に分類されている (表-1; Virus Taxonomy, ICTV 8 次報告, FLORES et al., 2005)。

I ウイロイドの分類基準

1 構成成分と分子形態

①外殻タンパク質をもたないこと、②低分子量の環状 1 本鎖 RNA であること、③感染性 (自律複製能) を有すること、がウイロイドであることを証明する必須条件となる。

ウイロイドは分子量 $80 \sim 125 \times 10^3$ 、塩基数 246 ~ 399 の環状 1 本鎖 RNA で、高い分子内相補性を有し、棒状或は分枝した棒状構造を形成する。*Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) は、常温・未変性状態では約 50 ナノメートル (nm) の棒状分子として、加熱変性させた状態では周囲約 100 nm の環状分子として観察される。一般に GC 含量は高く 53 ~ 60% 程度であるが、*Avocado sunblotch viroid* (ASBVd) では例外的に 38% である。

2 分子構造と構造ドメイン・保存配列

全塩基配列が決まると RNA 2 次構造予測プログラム (ZUKER, 2003 など) で最小自由エネルギーを計算し、分子の 2 次構造を予測することが可能になる。ASBVd, モモラテントモザイクウイロイド (PLMVd), キククロロティックモットルウイロイド (CChMVD), Eggplant

latent viroid (ELVd) 以外のすべてのウイロイドの予測二次分子構造は、KEESE and SYMONS (1985) によって提案された五つの構造・機能ドメインモデルに適合し、分子中央には種内、属内或は属間で保存された中央保存領域 (Central Conserved Region : CCR) を見出だすことができる (図-1 (a))。ドメイン構造と中央保存領域の存在はポスピウイロイド科 (*Pospivirodidae*) の重要な特徴となっている。ポスピウイロイド科には、このほかに二つの保存領域、すなわち Terminal Conserved Region (TCR) と Terminal Conserved Hairpin (TCH) が見られる (図-1 (a))。TCR はポスピウイロイド属 (*Pospivirod*) とアプスカウロイド属 (*Apscaviroid*) のすべておよびコレウロイド属 (*Coleviroid*) の一部に見られ、TCH はホスタウイロイド属 (*Hostuviroid*) とコカドウイロイド属 (*Cocaduviroid*) のすべてに見られる。

3 複製様式と細胞内所在

ウイロイドは、タンパク質に翻訳される情報をもたない “ノンコーディング RNA” である。宿主の転写装置を利用して、ローリングサークルと呼ばれる様式で複製・増殖する。複製の場と複製酵素および複製様式は重要な分類基準である。ポスピウイロイド科のウイロイドは核を増殖の場とし、プラス鎖だけが環状化する非対称ローリングサークル型である。複製には核の DNA 依存 RNA ポリメラーゼ II が関与する。アブサンウイロイド科 (*Absunvirodidae*) のウイロイドは葉緑体を増殖の場として、プラス鎖とマイナス鎖の両方が環状化する対称ローリングサークル型である。葉緑体の RNA ポリメラーゼが複製に関与すると考えられている (FLORES et al., 2005)。

ウイロイドの複製過程は、RNA の複製 → 切断 → 環状化の 3 段階からなる。PSTVd では、転写は分子左末端 (TL) 領域のヘアピンループ内から開始する (KOLONKO et al., 2005)。アブサンウイロイド科のウイロイドはハンマー・ヘッド型リボザイム構造を有し、試験管内で (おそらく生体内でも) 自己切断するのが特徴である (図-1 (b))。さらに、自己切断に引き続き、自己触媒的に環状化されると考えられているが、葉緑体 RNA リガーゼが関与する可能性もある。一方、ポスピウイロイド科の切断と環状化には宿主のヌクレアーゼと RNA リガ

Plant Virus Classification. (13) The Subviral Agent, *Viroid*.
By Teruo SANO

(キーワード：ウイロイド、分類、ノンコーディング RNA)

表-1 ウイロイド一覧表 (Virus Taxonomy VIII (2005) の記載より一部改変)

ウイロイド名	自然宿主名
ポスピウイロイド科 (Pospiviroidae)	
ポスピウイロイド属 (Pospiviroid)	
<i>Chrysanthemum stunt viroid</i>	キク ^{a)} , ダリア ^{a)} , ペチュニア
<i>Citrus exocortis viroid</i>	カンキツ ^{a)} , ブドウ
<i>Columnea latent viroid</i>	<i>Columnea erythrophae</i>
<i>Iresine viroid 1</i>	<i>Iresine herbstii</i>
<i>Mexican papita viroid</i>	<i>Solanum cardiophyllum</i>
<i>Potato spindle tuber viroid</i>	ジャガイモ, アボカド, ベビーノ
<i>Totato apical stunt viroid</i>	トマト
<i>Tomato chlorotic dwarf viroid</i>	トマト ^{a)}
<i>Tomato planta macho viroid</i>	トマト
ホスタウイロイド属 (Hostuviroid)	
<i>Hop stunt viroid</i>	ホップ ^{a)} , キュウリ, ブドウ ^{a)}
(<i>Citrus cachexia viroid</i>)	カンキツ ^{a)} , スモモ ^{a)} , モモ ^{a)} , アンズ
(<i>Cucumber pale fruit viroid</i>)	ザクロ, アーモンド
(<i>Peach & Plum dapple fruit viroid</i>)	
コレウイロイド属 (Coleviroid)	
<i>Coleus blumei viroid 1, 2, 3</i>	コリウス ^{a)}
コカドウイロイド属 (Cocadviroid)	
<i>Citrus viroid IV</i>	カンキツ ^{a)}
<i>Coconut candg-cadang viroid</i>	ココヤシ
<i>Coconut tinangaja viroid</i>	ココヤシ
<i>Hop latent viroid</i>	ホップ ^{a)}
アプスカウイロイド属 (Apscaviroid)	
<i>Apple dimple fruit viroid</i>	りんご ^{a)}
<i>Apple scar skin viroid</i>	りんご ^{a)} , ナシ ^{a)}
(<i>Dapple apple viroid</i>)	
(<i>Pear rusty skin viroid</i>)	
(<i>Japanese pear fruit dimple viroid</i>)	
<i>Apple fruit crinkle viroid</i>	りんご ^{a)} , ホップ ^{a)}
<i>Australian grapevine viroid</i>	ブドウ
<i>Citrus viroid III</i> (<i>Citrus dwarf viroid</i>)	カンキツ ^{a)}
<i>Citrus viroid OS</i>	カンキツ ^{a)}
<i>Citrus bent leaf viroid</i>	カンキツ ^{a)}
<i>Grapevine yellow speckle viroid 1</i>	ブドウ ^{a)}
<i>Grapevine yellow speckle viroid 2</i>	ブドウ
<i>Pear blister canker viroid</i>	セイヨウナシ ^{a)}
アブサンウイロイド科 (Avsunviroidae)	
アブサンウイロイド属 (Avsunviroid)	
<i>Avocado sunblotch viroid</i>	アボカド
パレモウイロイド属 (Pelamoviroid)	
<i>Chrysanthemum chlorotic mottle viroid</i>	キク ^{a)}
<i>Peach latent mosaic viroid</i>	モモ ^{a)} , スモモ ^{a)} , ウメ ^{a)} , オウトウ ^{a)}
エラウイロイド属 (Elaviroid)	
<i>Eggplant latent viroid</i>	ナス

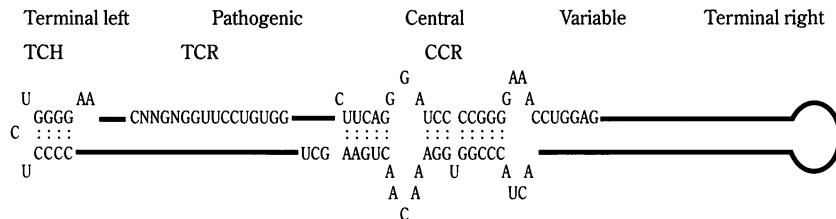
^{a)} 日本で発生している自然宿主。

ぜが関与していると考えられている。

4 塩基配列と種の基準

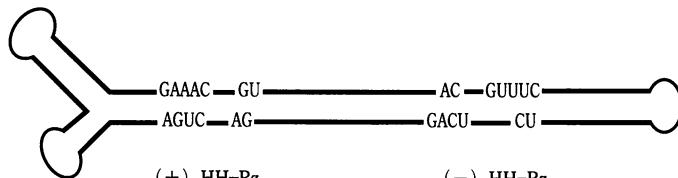
サブウイルス RNA データベース (The Subviral RNA

Database) には 1,200 件を超えるウイロイドの塩基配列が登録されている (2007 年 8 月現在)。多いほうからホップ矮化ウイロイド (HSVd) の 265 件, PLMVd の 189



TCH : terminal conserved hairpin, TCR : terminal conserved region, CCR : central conserved region

(a) ポスピウイロイド科

(+) HH-Rz : ハンマー ヘッドリボザイム保存配列 (プラス鎖)
(-) HH-Rz : ハンマー ヘッドリボザイム保存配列 (マイナス鎖)

(b) アプサンウイロイド科

図-1 ポスピウイロイド科とアプサンウイロイド科の分子構造モデル
ポスピウイロイド科の保存領域の塩基配列、およびアブサンウイロイド科のハンマーヘッドリボザイム保存配列を示した。

件等である。このように、ウイロイドの「種」は多様な塩基変異を含むヘテロな集団で構成されるということが一般的な認識となっているが、全塩基配列の 10%程度以内の変異は同種の扱いとなる。すなわち、全塩基配列の相同性が 90%以下で、生物学的な性質、特に宿主域、病原性、伝染性等に有意な特徴が認められることが種の基準となっている。

II ポスピウイロイド科

本科の特徴は、中央保存領域 (CCR) を有し、ハンマー ヘッド型リボザイムによる自己切断能をもたない点である。本科には五つの属が設けられており、3 タイプの中央保存領域が知られている。ポスピウイロイド属、ホスターウイロイド属、コカドウイロイド属はほぼ共通の中央保存領域を有する。アプサンウイロイド属とコレウイロイド属はそれぞれ特徴的な中央保存領域を有する。したがって上記 3 属はより近縁と考えられている。

ポスピウイロイド属：表-1 のように 9 種が記載されている。世界中に広く分布し、特にナス科植物を中心に広い宿主域をもつ。日本では、カンキツエキソコーティスウイロイド (CEVd)，キク矮化ウイロイド (CSVd)，トマト退緑萎縮ウイロイド (TCDVd) の発生が報告されている。

カンキツエキソコーティス病は日本では 1963 年に感

染樹が確認されており、外国からの導入品種とともに持ち込まれたものと考えられている (田中・山田, 1971)。キク矮化病は日本では 1977 年に発生が報告され (大沢ら, 1977), 80 年代後半から発生量が増加し、各地の栽培地域に広がった (SANO, 2003)。TCDVd はカナダのハウス栽培トマトから分離されたウイロイドである (SINGH et al., 1999)。日本では、2006 年広島県の施設栽培トマトに発生した退緑・黄化・えそ萎縮症状株から初めて分離された (津田ら, 2007)。PSTVd と最も近縁であるが、塩基配列相同性は 85 ~ 89% 程度であること、特徴的な可変 (V) 領域を有すること、PSTVd では報告されている種子伝染性が認められなかったこと、PSTVd とクロスプロテクションが認められなかったことなどを考慮して別種とされた。

ホスターウイロイド属：HSVd 一種が記載されている。オランダのキュウリで発生した *Cucumber pale fruit viroid* (CPFVd) は HSVd と約 92% の塩基配列相同性をもち、宿主域にも明確な違いが見られないことから HSVd と同種の位置づけである。自然宿主域は広く、世界中のブドウ、カンキツ、スモモ、モモ、アブリコット、アーモンド等から分離される。HSVd は日本の矮化病ホップから初めて発見され (SASAKI and SHIKATA, 1977)，本属名の基になっている。日本では、そのほかにブドウ、カンキツ、スモモ、モモから分離され、スモモ・モ

モ斑入果病、ソルダム黄化症の原因となっている（寺井, 1990）。これら HSVd に関連したホップおよび核果類のウイロイド病は日本で発見され、日本特有の病気と考えられていたが、2004 年、米国ワシントン州のホップに矮化病が発生した（EASTWELL and SANO, 印刷中）。また、ヨーロッパではアプリコットの“ディジエネレーション”（*Digeneracion*）症状の原因が HSVd ではないかと疑われている（AMARI et al., 2007）。カンキツの特殊な変異体がカクヘキシア（cachexia）病の原因となり、日本でも同じ変異体の存在が確認されているが、カクヘキシア病発生の報告はない（Ito et al., 2006）。

コカドウイロイド属：4 種が記載されている。日本では、カンキツウイロイド IV (CVdIV) とホップ潜在ウイロイド (HLVd) の発生が報告されている。

アプスカウイロイド属：8 種が記載されている。果樹類からの分離が多いのが特徴である。日本では、リンゴさび果ウイロイド (ASSVd), カンキツベントリーフウイロイド (CBLVd), カンキツウイロイド III (CVdIII), ブドウエロースペックルウイロイド 1 (GYSVd1), セイヨウナシブリスタキャンカーウイロイド (PBCVd) の 5 種が報告されている（SANO, 2003）。ASSVd は日本で初めて発見され（KOGANEZAWA et al., 1982），本属名の基となっている。リンゴ以外に、ニホンナシにも感染し奇形果病を引き起こす（OSAKI et al., 1996）。

このほかに、日本のリンゴとホップからリンゴゆず果ウイロイド (AFCVd; SANO et al., 2004), カンキツからカンキツウイロイド-OS (CVd-OS; Ito et al., 2001) が報告されており、本属への所属が検討されている。

コレウイロイド属：コリウスから 3 種が記載されている。日本ではコリウスウイロイド 1 (CVd1) のみの発生が確認されている（SANO, 2003）。特に CVd1 は効率よく種子伝染することから、汚染種子を通じて世界中にまん延し、日本にも侵入したものと考えられる。

III アブサンウイロイド科

本科の特徴は、中央保存領域をもたず、ハンマーへッド型リボザイムで自己切断する機能を有する点である。ICTV 8 次報告では本科に 2 属を設定しているが、本稿では最近提案された 1 属を加えて記載した。

アブサンウイロイド属：ASBVd 1 種が記載されている。棒状の 2 次構造をもつ。プラス鎖とマイナス鎖の両鎖がハンマーへッド構造を形成する。葉緑体で複製する。日本では報告がない。

ペラモウイロイド属：CChMVD と PLMVd が記載されている。前述のウイロイドと異なる特徴的な点は、予

測される最も安定な二次構造が複雑に枝分かれした形になることである。また、ほとんどのウイロイドは 2M 塩化リチウムに可溶性であるのに対し、特に CChMVD は不溶性を示す。枝分かれした分子構造と総塩基数が約 400 と大きいことが、2M 塩化リチウムで沈殿する原因とされている。

両種とも日本で発生が報告されている。PLMVd は、日本で栽培されているモモ、スマモ、アンズ、オウトウ等から分離され、モモの感染率は 90% 以上であるが、病害との関連は明らかではない（OSAKI et al., 1999）。CChMVD は、2003 年秋田県の小ギクで初めて発生が確認された（YAMAMOTO and SANO, 2005）。

エラウイロイド属：Eggplant latent viroid (ELVd) 1 種が記載されている。ASBVd に類似した枝分かれ棒状構造をもつと予測されるが、高い GC 含量や安定なハンマーへッド型リボザイム構造はペラモウイロイド属と類似している。日本では報告がない。

おわりに

前章までに述べたように、すべてのウイロイドは自律複製能を有する環状 1 本鎖 RNA という特性を共有し、全塩基配列相同性 90% をおおよその目安に種を規定することができる。しかし、既に AGVd, CbVd1 ~ 3, TCDVd など複数の種で報告してきたように、特にポスピウイロイド科のウイロイドには複数の種のリコンビネーションで成立したと考えられるものがあり、分類に議論が必要なケースもある。CVdIV は前記の分類基準に示した保存領域 CCR と TCH を有することからコカドウイロイド属に分類されている（ICTV 8 次報告, 2005）。しかし CVdIV は、①コカドウイロイド属タイプ種 *Coconut cadang cadang viroid* (CCCVd; CVdIV との全塩基配列相同性 68.7%) よりポスピウイロイド属の CEVd (同 76.4%) と高い塩基配列相同性を有すること、②ポスピウイロイド属の CEVd にも TCH の痕跡配列が見つかること、さらに③ CVdIV の宿主範囲は CEVd と共通性が高く、CCCVd とは全く異なること、などから CEVd が属するポスピウイロイド属に所属変更すべきとの提案がなされている（SEMANCIK and VIDALAKIS, 2005）。このほかにも、果樹類にはウイロイドの要件は満たすものの病原性の明確ではない種がある。このような場合には、保存配列などの分子構造上の特徴に併せて、生物学的特性（宿主範囲など）を考慮して総合的に判断することが必要になってくる。

引用文献

- 1) AMARI, K. et al. (2007) : European J. Pl. Pathol. 118 : 173 ~ 181.

- 2) DIENER, T. O. (1971) : Virology 45 : 411 ~ 428.
- 3) EASTWELL, K. and T. SANO (2007) : Compendium Hop Diseases and Pests, APS press, (in press).
- 4) FLORES, R. et al. (2005) : Virus Taxonomy, VIIIth Report of the ICTV, FAUQUET, C. M. et al. (eds), Elsevier/Academic Press, London, p. 1147 ~ 1161.
- 5) ——— et al. (2005) : Annu. Rev. Phytopathol. 43 : 4.1 ~ 4.23.
- 6) Ito, T. et al. (2001) : Arch. Virol. 146 : 975 ~ 982.
- 7) ——— et al. (2006) : J. Gen. Plant Pathol. 72 : 378 ~ 382.
- 8) KEESE, P. and R. H. SYMONS (1985) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82 : 4582 ~ 4586.
- 9) KOGANEZAWA, H. et al. (1982) : Acta Hortic. 130 : 193 ~ 197.
- 10) KOLONKO, N. et al. (2006) : Virology 347 : 392 ~ 404.
- 11) OSAKI, H. et al. (1996) : Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 62 : 379 ~ 385.
- 12) ——— et al. (1999) : ibid. 65 : 3 ~ 8.
- 13) 大沢高志ら (1977) : 日植病報 43 : 372 ~ 373.
- 14) REZAIAN, M. A. (1990) : Nucleic Acids Res. 18 : 1813 ~ 1818.
- 15) ROCHELEAU, L. and M. PELCHAT (2006) : The Subviral RNA Database, BMC Microbiol. 6 : 24 (<http://subviral.med.uottawa.ca/>).
- 16) SANO, T. et al. (2004) : J. Gen. Plant Pathol. 70 : 181 ~ 187.
- 17) ——— (2003) : Viroids, HADIDI, A. et al. (eds), CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, p. 286 ~ 289.
- 18) SASAKI, M. and E. SHIKATA (1977) : Proc. Jpn. Acad. Ser. B. 53 : 109 ~ 112.
- 19) SEMANCIK, J. S. and G. VIDALAKIS (2005) : Arch. Virol. 150 : 1059 ~ 1067.
- 20) SINGH, R. P. et al. (1999) : J. Gen. Virol. 80 : 2823 ~ 2828.
- 21) 田中寛康・山田駿一 (1971) : 園芸試験場報告 B 第11号 : 149 ~ 155.
- 22) 寺井康夫 (1990) : 植物防疫 44 : 127 ~ 129.
- 23) 津田新哉ら (2007) : 平成19年度日本植物病理学会大会, 講演要旨集: 95.
- 24) YAMAMOTO, H. and T. SANO (2005) : J. Gen. Plant Pathol. 71 : 156 ~ 157.
- 25) ZUKER, M. (2003) : Nucleic Acids Res. 31 : 3406 ~ 3415.

!発行図書!

鳥獣害防止対策の決定版

鳥獣害対策の手引 2002

江口祐輔・三浦慎悟・藤岡正博 編著
A4判 154頁オールカラー
定価 3,780円税込み 送料340円

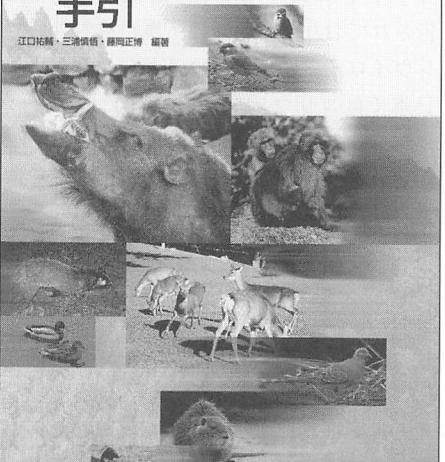
豊富なカラー写真を本文中にちりばめ、図・表・写真により一般農家の方にも分かりやすく解説した手引き書です。

内容項目は、農林業被害状況、獣害編(ニホンザル、イノシシ、シカ、カモシカ、ツキノワグマ、タヌキ、ハクビシン、アライグマ、ヌートリア)、鳥害編(被害防止対策の基本、主な農作物加害鳥の特徴、カラス、ヒヨドリ、ムクドリ、ハト、スズメ、カモ)、資料編(行政対応、用語解説、文献資料)

資料提供：農林水産省植物防疫課・林野庁・環境省・文化庁

鳥獣害対策の 手引

江口祐輔・三浦慎悟・藤岡正博 編著



お申し込みは直接当協会へ、前金(現金書留・郵便振替)で申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい。

社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込1-43-11

郵便振替口座 00110-7-177867 TEL(03)3944-1561(代) FAX(03)3944-2103 メール：order@jppa.or.jp