

平成 22 年 5 月 27 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20780029

研究課題名 (和文) 植物 RNA ウイルスのゲノム複製の正確性に関する研究

研究課題名 (英文) Studies on fidelity of genome replication of plant RNA virus

研究代表者

鍵和田 聡 (KAGIWADA SATOSHI)

法政大学・生命科学部・助教

研究者番号：20431835

研究成果の概要 (和文) : *Potexvirus* 属の asparagus virus X、*Carlavirus* 属のフキモザイクウイルス、*Comovirus* 属のダイコンひだ葉モザイクウイルスのカリフォルニア系統のゲノム塩基配列を決定した。これらの植物 RNA ウイルスのゲノム配列とデータベース上の既知配列とを比較することにより、ゲノム配列の多様性の一端を明らかにすることができた。

研究成果の概要 (英文) : I have determined genomic sequences of asparagus virus X, a member of the genus *Potexvirus*, butterbur mosaic virus, genus *Carlavirus*, and a California isolate of radish mosaic virus, genus *Comovirus*. I have analyzed the genomic sequence variability of plant RNA viruses by comparing between these sequences and sequences in database.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・植物病理学

キーワード：植物・病原体相互作用

1. 研究開始当初の背景

植物ウイルスの 80%以上を占める RNA ウイルスは、その複製酵素にエラー修正能を持っておらず、複製の精度が低いため、ゲノムの変異出現率が非常に高い。植物 RNA ウイルスは、その高いゲノム変異出

現頻度により、多くの宿主植物や媒介昆虫に適応し、その結果として多様な病原性と宿主域を確保し、その多様性を確立してきたと考えられている。

2. 研究の目的

本研究では植物ウイルスのゲノム複製の結果として生じた種々の植物ウイルスゲノム配列を解析することにより、様々な宿主への適応や病原性の獲得についての知見を得ることを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

種々の植物 RNA ウイルスを収集し、そのゲノム塩基配列を決定する。特に、配列が未解析であるウイルス種のゲノム解析も含めるものとする。これらの配列をもとに過去に明らかにされたウイルスのデータベース上のゲノム塩基配列と比較することにより、ゲノム配列の多様性について考察を行うとともに、様々な宿主への適応や病原性の獲得についての知見を得るものとする。

4. 研究成果

(1) asparagus virus X (AV3) は *Potexvirus* 属のウイルスであり、アスパラガスに感染して軽微な病徴を示すとともに、他のウイルスと共感染して激しい病徴を引き起こす。このウイルスの塩基配列を決定したところ、*Potexvirus* 属ウイルスに特徴的なゲノム構造を持ち、既知のラッキョウに感染する scallion virus X (ScaVX) と外被タンパク質の塩基配列で 81% もの高い相同性を示し、互いに同種であることが明らかとなった (図 1)。このことは、本ウイルスが異なった植物を宿主とし、互いにそのゲノムに変異を蓄積させてきたことを示唆するものである。

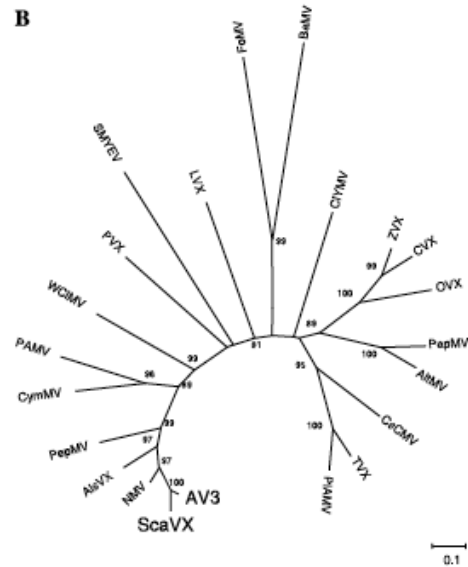
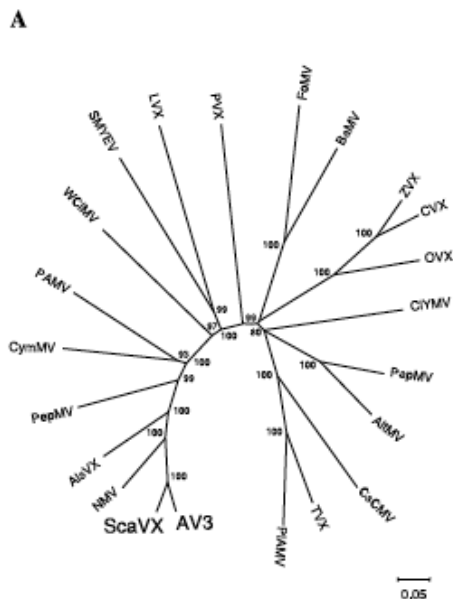


図 1. アミノ酸配列に基づいた *Potexvirus* 属ウイルスの無根系統樹. (A)複製酵素 (B) 外被タンパク質

(2) フキモザイク病の病原ウイルスの一種であるフキモザイクウイルス(ButMV)のゲノム塩基配列は polyA tail を除き 8662 塩基であり、*Carlavirus* 属ウイルスに特徴的な 6 つの ORF がコードされていた。複製酵素および外被タンパク質がコードされる ORF について、他の *Carlavirus* 属ウイルスの ORF と比較解析を行ったところ、塩基配列でそれぞれ 46.4-54.9%, 43.2-62.1%, アミノ酸配列でそれぞれ 38.6-46.6%, 31.3-65% の相同性を示した。また、アミノ酸配列に基づく系統解析により、このウイルスは複製酵素では coleus vein necrosis virus (CVNV) と、外被タンパク質では carnation latent virus (CLV) と最も近縁であることが示唆された (図 2)。今回、*Carlavirus* 属の暫定種であったフキモザイクウイルスのゲノム塩基配列を初めて明らかにし、*Carlavirus* 属ウイルスであることが確認できた。

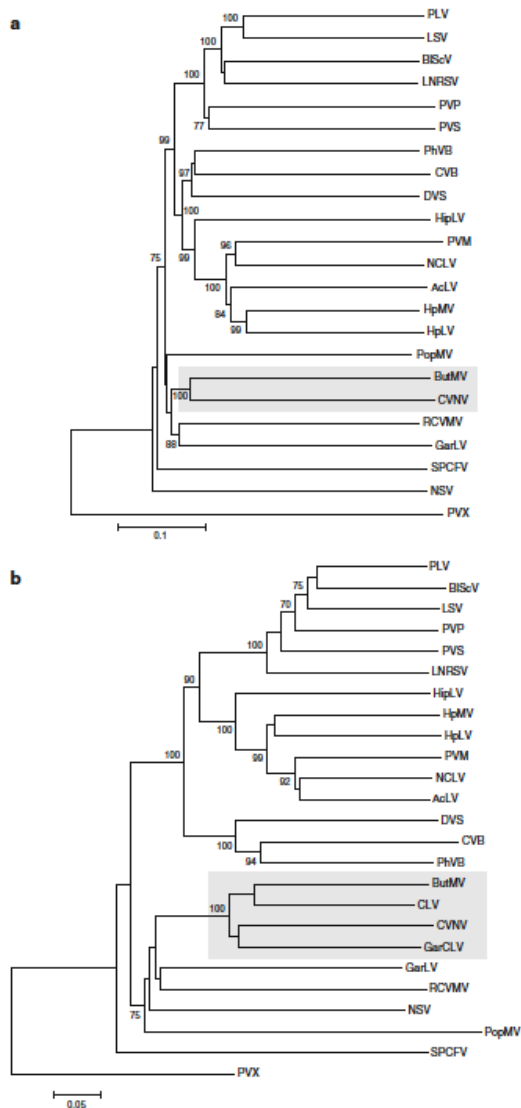


図 2. アミノ酸配列に基づいた *Carlavirus* 属ウイルスの系統樹。(a)複製酵素 (b)外被タンパク質

(3) *Comovirus*属に属し、多くの同属ウイルスと異なりアブラナ科植物を宿主とするダイコンひだ葉モザイクウイルス (RaMV) のカリフォルニア系統のゲノム塩基配列を決定した。先に塩基配列が決定されている日本系統と比較したところ、RNA1の塩基配列で94.1%、ORFのアミノ酸配列で98.7%、またRNA2の塩基配列で85.7%、ORFのアミノ酸配列で94.9%の相同性を示すことが明らかとなり、外被タンパク質や移行タンパク質の遺伝子を含むRNA2よりも複製酵素の遺伝子を含むRNA1の方が比較的相同性が高く、変異が

蓄積しにくいことが示唆された (表1)。複製酵素および外被タンパク質の塩基配列およびアミノ酸配列の相同性から、*Comovirus*属の種判定基準に照らし合わせ、RaMVチェコ系統とは同種であることが確認された。また、近縁の turnip ringspot virus と同様に比較したところ、相同性が低く別種と考えられた。これは RaMV と同様にアブラナ科植物に感染するという共通の生物学的性質を持つことから、宿主適応とゲノム塩基配列の関係において興味深い知見であると考えられた。

表1. ダイコンひだ葉モザイクウイルスカリフォルニア系統の他系統および近縁ウイルスとの塩基配列およびアミノ酸配列 (括弧内) における相同性(%). RaMV-J: 日本系統, RaMV1: チェコ系統, TuRSV-M12: Turnip ringspot virus M12系統

	RaMV-J	RaMV1	TuRSV-M12
RNA1			
5'UTR	96.8 (-)	-	-
Co-pro (protease cofactor)	95.8 (99.7)	-	-
Hel (putative helicase)	93.3 (98.5)	-	-
VPg (genome-linked protein)	89.7 (100)	-	-
Pro (protease)	93.5 (99.5)	-	-
RdRp (RNA-dependent RNA polymerase)	93.6 (98.2)	84.1 (95.8)	69.4 (76.0)
3'UTR	98.8 (-)	-	-
RNA2			
5'UTR	91.9 (-)	-	-
CR (cofactor for RNA2 replication)	86.9 (94.3)	-	-
MP (movement protein)	86.0 (96.0)	-	-
LCP (large coat protein)	85.9 (98.4)	84.8 (97.9)	69.1 (79.2)
SCP (small coat protein)	82.3 (90.6)	78.4 (89.8)	64.0 (64.5)
3'UTR	79.8 (-)	-	-

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

1. Hashimoto M, Komatsu K, Maejima K, Yamaji Y, Okano Y, Shiraiishi T, Takahashi S, Kagiwada S, Namba S. Complete nucleotide sequence and genome organization of butterbur mosaic virus. Arch Virol. (2009) 154:1955-1958. 査読あり.

2. Ozeki J, Hashimoto M, Komatsu K, Maejima K, Himeno M, Senshu H, Kawanishi T, Kagiwada S, Yamaji Y, Namba S. The N-terminal region of the *Plantago asiatica* mosaic virus coat protein is required for cell-to-cell movement but is dispensable for virion assembly. *Mol Plant Microbe Interact.* (2009) 22:677-685. 査読あり.
3. Senshu H, Ozeki J, Komatsu K, Hashimoto M, Hatada K, Aoyama M, Kagiwada S, Yamaji Y, Namba S. Variability in the level of RNA silencing suppression caused by triple gene block protein 1 (TGBp1) from various potexviruses during infection. *J Gen Virol.* (2009) 90:1014-1024. 査読あり.
4. Komatsu K, Hatada K, Hashimoto M, Ozeki J, Maejima K, Kagiwada S, Yamaji Y, Namba S. Complete nucleotide sequence of a California isolate of Radish mosaic virus. *Arch Virol.* (2008) 153:2167-2168. 査読あり.
5. Komatsu K, Yamaji Y, Ozeki J, Hashimoto M, Kagiwada S, Takahashi S, Namba S. Nucleotide sequence analysis of seven Japanese isolates of *Plantago asiatica* mosaic virus (PIAMV): a unique potexvirus with significantly high genomic and biological variability within the species. *Arch Virol.* (2008) 153:193-198. 査読あり.
6. Hashimoto M, Ozeki J, Komatsu K, Senshu H, Kagiwada S, Mori T, Yamaji Y, Namba S. Complete nucleotide sequence of asparagus virus 3. *Arch Virol.*(2008) 153:219-221. 査読あり.

6. 研究組織

(1)研究代表者

鍵和田 聡 (KAGIWADA SATOSHI)

法政大学・生命科学部・助教

研究者番号：20431835