

植物防疫基礎講座：植物ウイルスの分類学(10)

クロステロウイルス科 (Closteroviridae)

 東京大学大学院農学生命科学研究科 ^{なんば} 難波 ^{しげと} 成任・^{かきわだ} 鍵和田 ^{さとし} 聡

はじめに

クロステロウイルス科 (Closteroviridae) に属するウイルスの多くはもともとクロステロウイルスグループと呼ばれるウイルス群に分類されていた。このグループのウイルスは、電子顕微鏡観察による粒子形態が「ゆるい粒子構造 (open structure)」をもつ「しなやかなひも状」をその特徴としており、それをもとに分類されてきた非常に多様性に富んだウイルスグループで、「clostero-」はギリシャ語の「kloster (糸)」に由来する。その後このグループのウイルスの遺伝子解析が進み、そのゲノム構造の比較から、一部は別のグループに再分類され、のちにそれらがトリコウイルス属 (*Trichovirus*)、カピロウイルス属 (*Capillovirus*) となり、いずれも ICTV 8 次報告において新たに創設されたフレキシウイルス科 (*Flexiviridae*) に組み込まれた。フレキシウイルス科については本シリーズの他の稿で扱うのでそれを参照いただきたい。また、クロステロウイルスグループにおける分類の経緯および遺伝子解析に基づく分類の展開に関しては別途詳述されているのでそちらを参照いただきたい (難波, 1996)。

クロステロウイルスグループが分割された後、残されたウイルスについて粒子長が 1,000 nm 以上の長いものがクロステロウイルス属 (*Closterovirus*)、それ以下のものがクリニウイルス属 (*Crinivirus*) とされた。さらにその後媒介昆虫の種類も分類の基準として考慮され、新たにアンペロウイルス属 (*Ampelovirus*) が創設され、既設 2 属とともに再分類され、クロステロウイルス科は現在これら 3 属により構成されている。本稿では ICTV 8 次報告書に基づいてクロステロウイルス科の概要を解説することとし、加えてその後得られた新発見と合わせて本科の分類について記述する。

I クロステロウイルス科とその分類基準

クロステロウイルス科に属するウイルスは、一般に自

然宿主のみならず実験植物においても宿主範囲が比較的狭い。共通して認められる特徴的な病徴は葉の黄化、萎縮、葉巻、赤色化、また果実の縮小、登熟の遅延、木質部におけるピッチングやグルーピングなどである。ウイルスは全身的に感染するが、通常ウイルスの存在は篩部組織に限られる。クロステロウイルス科ウイルスで機械的接種により感染可能なものはごくわずかであり、クロステロウイルス属ウイルスのごく一部に限られる。アンペロウイルス属、クリニウイルス属においては機械的接種できるウイルスは現在のところ認められていない。栄養繁殖性の作物においては感染植物の繁殖を通じて広域にウイルスが伝搬されるが、種子伝染は極めてまれである。ウイルス属により媒介昆虫は異なり、アブラムシ (クロステロウイルス属)、カイガラムシ類 (アンペロウイルス属)、コナジラミ (クリニウイルス属) により半永続的に媒介される。

感染細胞内所見の特徴としては、膜の増生、葉緑体、ミトコンドリアの小胞化、封入体の形成が挙げられる。ウイルス粒子は顕著な cross-banding 状の繊維質、あるいは膜小胞と混在して集積する。

ウイルス粒子は直鎖状のプラス一本鎖 RNA をゲノムとして含む。ゲノムサイズは約 15 ~ 19 kb であり、植物に感染するプラス一本鎖 RNA ウイルスの中では最もゲノムサイズが大きい。ゲノムの 5' 末端はキャップ構造を持ち、3' 末端はポリ A や tRNA 構造ではなく複数のヘアピン構造をもつと考えられている。ゲノム上にはクロステロウイルス科ウイルスに共通したタンパク質がコードされる。すなわち、(i) パパイン様プロテアーゼ (P-Pro)、メチルトランスフェラーゼ (Mtr) およびヘリカーゼ (Hel) の各ドメインを含む分子量 295 ~ 349 kDa のポリプロテイン (ORF1a)、(ii) アルファ様ウイルスグループの RdRp モチーフをもつ分子量 48 ~ 57 kDa のタンパク質 (ORF1b)、(iii) 膜結合性をもつ分子量約 6 kDa の疎水性タンパク質、(iv) 熱ショックタンパク質 (HSP) 70 と相同性をもつ分子量 59 ~ 70 kDa の HSP70h、(v) 分子量 55 ~ 64 kDa タンパク質、(vi) 分子量 22 ~ 46 kDa のメジャーな外被タンパク質 (CP) および (vii) マイナーな外被タンパク質 (CPm) であり、ウイルス種によってさらに数種のタンパク質がコードさ

Plant Virus Classification. (10) The Family *Closteroviridae*.
By Shigetou NAMBA and Satoshi KAGIWA
(キーワード：クロステロウイルス科、クロステロウイルス属、アンペロウイルス属、クリニウイルス属)

れる(図-1)。これらのうち CP, CPm および HSP70h が構造タンパク質であり, 少なくとも CP, CPm, 6 kDa タンパク質, HSP70h, 55 ~ 64 kDa タンパク質の五つのタンパク質が細胞間移行に関与していると考えられている。

クロステロウイルス属およびアンペロウイルス属は単分節ゲノムをもつのに対し, クリニウイルス属は主に2分節ゲノムをもつ。クロステロウイルス科ウイルスのゲノムの特徴は, 共通して HSP70h と CPm がコードされていることである。ゲノム構造(ORFの数や配置)は属や種により異なっている。例えば, クロステロウイルス属では CPm が CP の上流にあるのに対し, クリニウイルス属ではそれが逆の位置関係になっている。ゲノムにコードされる遺伝子の発現は次の三つのメカニズムにより行われる。すなわち, (i) ORF1a によってコードされるポリタンパク質はプロセッシングを受けて様々な長さのタンパク質が発現される, (ii) +1 のリボソームフレームシフトにより ORF1a の C 末端からリードスルーし ORF1b を含む複製酵素が発現される, (iii) 3' 末端を共通とする種々の長さの複数のサブゲノム RNA からその直下にコードされるタンパク質が発現される(図-1)。

II クロステロウイルス属

タイプ種はビート萎黄ウイルス (*Beet yellows virus*, BYV) である。ウイルスの粒子形状は約 $12 \times 1,250 \sim 2,200$ nm の糸状であり, 15.5 ~ 19.3 kb のプラス一本差 RNA ゲノムをもつ。9 ~ 12 個の ORF がコードされ, 分子量 22 ~ 25 kDa の CP がコードされる(図-1)。アブラムシによって半永続的に伝搬される。

我が国では, BYV, ゴボウ黄化ウイルス (*Burdock yellows virus*, BuYV), カーネーションえそ斑ウイルス (*Carnation necrotic fleck virus*, CNFV), ニンジン萎黄ウイルス (*Carrot yellow leaf virus*), カンキツトリステザウイルス (*Citrus tristeza virus*, CTV), ブドウ葉巻随伴ウイルス 2 (*Grapevine leafroll-associated virus 2*), コムギ黄葉ウイルス (*Wheat yellow leaf virus*), および暫定種のクローバ萎黄ウイルス (*Clover yellows virus*) の発生が報告されている。その他, 我が国に発生報告のない *Beet yellow stunt virus* および暫定種 3 種が本属に含まれ, クロステロウイルス属は現在 8 種, 4 暫定種からなる。BYV, BuYV, CNFV, CYLV, CTV は困難ながら機械的接種が可能である。

本属の中でも, CTV は農業上極めて重要なウイルス

CTV (クロステロウイルス属)

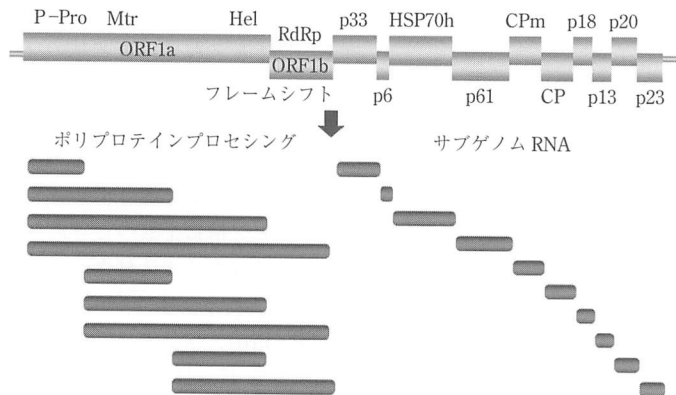


図-1 クロステロウイルス属のゲノム構造と遺伝子発現メカニズム
 クロステロウイルス属の例として CTV のゲノム構造を示す。P-Pro はパバイン様プロテアーゼ, Mtr はメチルトランスフェラーゼ, Hel はヘリカーゼ, RdRp は RNA 依存 RNA ポリメラーゼの各ドメインを示す。HSP70h は熱ショックタンパク質 70 ホモログ, CPm はマイナーな CP を示す。下の四角は各 ORF から発現すると考えられるタンパク質を示す。ORF1 はポリタンパク質として合成された後, プロセッシングにより様々な大きさのタンパク質ができると考えられる。ORF1b はリボソームフレームシフトにより発現する。3' 側のタンパク質は様々な長さのサブゲノム RNA の合成により発現すると考えられる。

である。CTVは戦後広島県のハッサクに大被害を与えたことに始まり、その後ユズ、イヨカン、ナツミカン、オレンジ類、ブンタン、セミノール等に樹勢衰弱、かような性虎斑症、収量低下を引き起こすことが知られている。CTVには強毒系、弱毒系、seedling yellows系、stem pitting系等があり、ウンシュウミカンなどの品種では強毒系を保毒していても病徴がほとんど現れず、これが他のカンキツ類への伝染源となり被害を拡大することがある。無毒の苗木を圃場に植え付けても短期間でウイルスに再感染してしまうことから、対策として弱毒系統の干渉効果による強毒系統の感染抑止策が取られている。これまで多くの弱毒系統が選抜され一定の効果を挙げているものの、弱毒系統を接種した苗木の普及システムは確立されておらず、今後も徹底したウイルスの管理が必要である(家城, 2004)。

III アンペロウイルス属

タイプ種はブドウ葉巻随伴ウイルス3 (*Grapevine leafroll-associated virus 3*, GLRaV-3)であり、属名はギリシャ語の「ampelos (ブドウ)」に由来する。ウイルスの粒子形状は約 $12 \times 1,400 \sim 2,200$ nm のしなやかな糸状で、16.9 ~ 17.9 kb のプラス一本差 RNA ゲノムをもつ。9個 (GLRaV-3 など) もしくは12個 (リトルチェリーウイルス2, *Little cherry virus 2*, LChV-2 など) のORFがコードされる(図-2)。CPの分子量は他の2属のそれより大きく35 ~ 46 kDaである。カイガラムシ類によって半永続的に伝搬される。機械的接種可能な

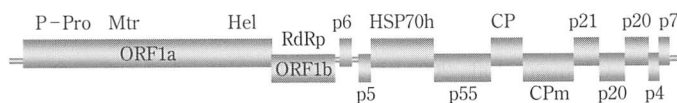
ウイルスは知られていない。

本属のウイルスのうち我が国においては、GLRaV-1, GLRaV-3 および LChV-2 の発生が認められている。海外で発生報告のある GLRaV-5, *Pineapple mealybug wilt-associated virus-1* および-2 は我が国では確認されていない。本属は以上の6種、および我が国で発生が未報告の GLRaV-4, -6, -8, Plum bark necrosis and stem pitting-associated virus, Sugarcane mild mosaic virus の5暫定種である。

我が国でブドウの葉巻症状を呈している樹からはアンペロウイルス属の GLRaV-1, -3 およびクロステロウイルス属の GLRaV-2 が検出されている(中畝ら, 2002)。これらのウイルスが感染することにより葉巻症状のほか、葉の赤変、果実の糖度低下、着色不良、収穫量の減少を引き起こすと考えられているが、汁液接種による試験ができないため、病原としては未確認である。GLRaV-3 のクワコナカイガラムシによる伝搬が確認されるとともに(中野ら, 2003)、葉巻病の自然伝搬が確認された(那須ら, 2006)ものの、他のブドウに感染するウイルスも含めた病害と病原との関係および伝搬者については不明な点が多くさらなる解明が求められている。

最近、山形、青森、岩手のオウトウに芽枯れ症状を呈する株および無病徴の株から RT-PCR 法により各種ウイルスの検出を試みたところ、65% という高率で LChV-2 を保毒していた。しかし、他種ウイルスも同時に保毒しており、病害に対する原因は特定できていない(Isogai et al., 2004)。

GLRaV-3 (アンペロウイルス属)



LIYV (クリニウイルス属)

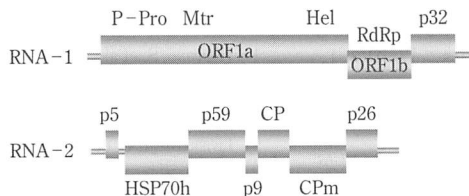


図-2 アンペロウイルス属およびクリニウイルス属のゲノム構造

アンペロウイルス属の例として GLRaV-3, およびクリニウイルス属の例として LIYV のゲノム構造を示す。クリニウイルス属ウイルスは主に2分節ゲノムである。

IV クリニウイルス属

タイプ種は *Lettuce infectious yellows virus* (LIYV) であり、属名はその粒子形状からラテン語の「*crinis* (毛)」に由来する。本属のウイルスは2種類の長さのウイルス粒子からなり、粒子形状はそれぞれ約 $12 \times 650 \sim 850$ nm および約 $12 \times 700 \sim 900$ nm である。ゲノムは 15.3 ~ 17.6 kb のプラス一本鎖 RNA よりなる2分節ゲノムとしてそれぞれの粒子を構成していると考えられる。CPの分子量は 28 ~ 33 kDa である。大半のウイルス種は RNA-2 に7個の ORF がコードされるが、RNA-1 はウイルス種により異なり、1 ~ 4 個の ORF がコードされる (図-2)。本属ウイルスはコナジラミにより半永続的に伝搬される。

本属のウイルスのうち我が国において発生するものはビートシュードイエロースウイルス (*Beet pseudoyellows virus*, BPYV) およびトマト黄化ウイルス (*Tomato infectious chlorosis virus*, TICV) である。その他海外で発生するものが LIYV を含め6種、および2暫定種あり、現在クリニウイルス属は8種2暫定種で構成される。

キュウリおよびメロンに黄化症状を引き起こすウイルスとしてキュウリ黄化ウイルス (*Cucumber yellows virus*) が知られているが、ゲノム塩基配列および宿主範囲などの生物学的性状からこれは BPYV のシノニムであることが明らかとなった (HARTONO et al., 2003 a)。BPYV は9科30種の植物に感染しクロステロウイルス科のウイルスとしては比較的広い宿主範囲をもち、オンシツコナジラミにより媒介される。海外ではイチゴなどにも発生が報告されており、その防除は重要とされている。TICV は、2001年に群馬および栃木にて葉に黄化、葉巻、えそ斑症状を呈するトマトが認められ、粒子形状、コナジラミによる媒介およびゲノム塩基配列から TICV であると報告されている (HARTONO et al., 2003 b)。TICV の我が国の発生報告はこれが初めてである。

おわりに

クロステロウイルス科のウイルスには上記に挙げた3属のほかに、*Alligatorweed stunting virus*, LChV-1, GLRaV-7, *Megakepasma mosaic virus* および *Olive leaf yellowing-associated virus* の未帰属の5暫定種がある。これらは、生物学的性状およびゲノム塩基配列の情報が少ないために未帰属種とされているが、今後の研究によりクロステロウイルス科のうちいずれかの属に分類されることが考えられる。我が国では LChV-1 がアンペロウイルス属の LChV-2 とともにオウトウから検出されてい

る (ISOGAI et al., 2004)。

ICTV 8 次報告の後に、新たにクロステロウイルスがいくつか報告されている。まず、最近発生が報告され、そのゲノム塩基配列が解析されたものに、*Strawberry chlorotic fleck-associated virus* および *Raspberry mottle virus* がある。これらはクロステロウイルス属に特徴的なゲノム構造をもっており、いずれも暫定種として分類することが提案されている。また、ブドウより分離された糸状ウイルスについて解析が行われ、血清学およびゲノム塩基配列の基準から既報のブドウウイルスとは別種であるとされ、GLRaV-9 としてアンペロウイルス属に分類されると考えられているが、全ゲノム解読されるまで結論を待つこととしている。全ゲノム解読された *Blackberry yellow vein-associated virus* については生物学的性状の情報が乏しいものの、2分節ゲノムをもちそのゲノム構造からクリニウイルス属の新たな種とすることが提案されている。

クリニウイルス属はこれまで2分節のゲノムをもつものと考えられてきたが、最近、本属の暫定種である *Potato yellow vein virus* の全塩基配列が報告され、このウイルスは3分節のゲノムをもつことが明らかとなった (LIVIERATOS et al., 2004)。系統学的解析からクリニウイルス属の新種とすることが提案されているが、3分節ゲノムをもつ初めてのクロステロウイルスであり、ゲノム構成の観点から新たな属を創設する可能性も示唆されている。

クロステロウイルス科のウイルスは果樹を宿主とするものも多く、植物体内で節部局在性であるものが多く、ウイルス濃度も高くないことから研究が遅れていたが、RT-PCR などの近年の分子生物学的技術の発達とともに塩基配列情報も利用できるようになり、分類も急速に進みつつある。しかし本科はこれまで述べたように農業上重要なウイルスも多く含んでおり、中には未だ媒介者が不明なウイルスも多数存在する。今後さらにこれらの生物学的性状や伝染環の解明が進み、防除対策につながることが期待される。

引用文献

- 1) HARTONO, S. et al. (2003 a) : *J. Gen. Virol.* **84** : 1007 ~ 1012.
- 2) ———— et al. (2003 b) : *J. Gen. Plant Pathol.* **69** : 61 ~ 64.
- 3) 家城洋之 (2004) : *植物防疫* **58** : 331 ~ 334.
- 4) ISOGAI, M. et al. (2004) : *J. Gen. Plant Pathol.* **70** : 288 ~ 291.
- 5) LIVIERATOS, I. C. et al. (2004) : *J. Gen. Virol.* **85** : 2065 ~ 2075.
- 6) 中野正明ら (2003) : *日植病報* **69** : 318 ~ 319.
- 7) 中畝良二ら (2002) : 同上 **68** : 237.
- 8) 難波成任 (1996) : *植物ウイルスの分子生物学*, 学会出版センター, 東京, p. 155 ~ 207.
- 9) 那須英夫ら (2006) : *日植病報* **72** : 143 ~ 145.