

植物ウイルスの遺伝子組換えによる弱毒化の可能性とその利用

兵庫県立中央農業技術センター

塩飽邦子

イネ、野菜、果樹、花などウイルス病による農作物の被害は毎年非常に大きい。石井¹⁾の試算によれば1983年のウイルスによる被害は全国で800億円に達するという。しかし、ウイルス病の防除は直接ウイルスを殺す薬がないので、抵抗性品種の利用、媒介虫の駆除、り病植物の除去、周辺雑草の駆除等の間接的な方法が用いられているに過ぎない。これに対し、大島ら²⁾はTMV（タバコモザイクウイルス）—トマト系の弱毒ウイルスを作製し実際のトマト栽培でTMVを防除できることを実証した。このウイルスの干渉作用を利用した、弱毒ウイルス接種によるウイルス病防除はウイルスを防ぐ直接的な方法としてその他のウイルスへの応用が期待されている。

わが国でこれまでにウイルス病防除に使用されたり、試験をされたウイルスはTMV—トマト系及びトウガラシ系、キュウリ緑斑モザイクウイルス（CGMMV）、キュウリモザイクウイルス（CMV）、カンキツトリステザウイルス（CTV）等である。TMV—トマト系及びトウガラシ系はウイルスの高温処理とそれに続く選抜によりつくられたものであり、CGMMVの弱毒系統は亜硝酸処理と紫外線照射により作出された。CTVは野外で分離された弱毒ウイルスが防除に使用されている。CMVは自然界で分離される、特に毒性の弱い株を利用する場合と遺伝子組換えによるものとがある。これらの弱毒ウイルスはCMVを除いてウイルスの突然変異を利用したり現在ある変異の中から都合の良いものを選抜したりした物である。これに対し、いまある弱毒系統の性質と遺伝子を元の強毒系統と比較して弱毒化の機構を明らかにし、遺伝子を組換えることにより植物に病徴を示さず干渉作用の大きい弱毒ウイルスの作製の可能性を探る研究がなされてきている。

I TMV

TMVの遺伝子は4種類のタンパク質をコードしており130Kタンパク質、そのリードスルータンパク質である180Kタンパク質、30Kタンパク質及びコートタンパク質である。130Kと180Kタンパク質は複製に関与するタンパク質であり、30Kタンパク質はウイルスが感染細胞から隣の細胞に移動するのに必要な機能を持つことが明らかになっている。コートタンパク質はウイルス粒子を形成してウイルスが感染葉から非感染葉へと移るのに必要なタンパク質である。TMV—トマト系の弱毒ウイルスL11Aの全塩基配列が西口ら³⁾によって決定された。すなわち L11A—RNAから逆転写酵素により相補的なDNA（cDNA）を合成したのちクローニングを行い塩基配列が決められた。L11A—RNAは6383個の塩基より成り、元のウイルスであるLと比べると10カ所で塩基が違っていた。10カ所のうち7カ所では読まれるアミノ酸に変化はなかった。アミノ酸に変化をもたらす塩基の違いは1117、2349、2754番目の物であった。

これらはいずれも130Kタンパク質、180Kタンパク質領域に存在する。130K、180Kタンパク質は複製に関与するタンパク質であることから弱毒化の1つの要因は複製の少なさにあると考えられている。L11Aの最も大きな特徴は感染葉からのウイルス収量が少ないことで、野生株の1/5である。

飯、高松らはTMV-RNAの全長cDNAを用いて種々の性質の異なるウイルスを作製している。その中にはプロトプラストでしか増殖できないもの、接種葉以外へは拡がらないものなどがありこれらは広い意味での弱毒ウイルスと言える。

II CMV

CMVは大きさの異なる4本のRNAよりなり大きいものから順にRNA1, RNA2, RNA3, RNA4と呼ばれている。RNA1及びRNA2は植物に感染したときの病徴を支配しており、RNA3はウイルスの外皮タンパク質に関連する諸性質(血清型、アブラムシ伝搬性等)を決定する。RNA4はRNA3の一部と同じ塩基配列を有する。植物の感染に必要なRNAは1~3までで4は必ずしも必要としない。そのほかに分離株によってはRNA4よりも小さいサテライトRNA(SAT)を含むものもある。SATはCMVの感染には関係なくむしろ寄生してCMVの増殖を抑えている。SATの存在により感染植物の病徴が激しくなる場合と軽減される場合がある。善林ら⁴⁾がホウレンソウから分離したCMV-SRは多くの植物に殆ど病徴を示さないことや強毒株との干渉作用もあることからトマトにおける弱毒株として使用可能と報告されている。花田ら⁵⁾はCMV-SRのRNA1+2にトマトから分離したCMV強毒株のRNA3を組み合わせて弱毒株を作出し、CMV-SRよりもよい結果を得ている。

吉田ら⁶⁾は弱毒化に利用可能と考えられるSATを見つけ出しその実用化試験を行っている。SATを用いる弱毒化は現実に被害を与えているCMVにSATを組み込むだけでよく利用価値が高い。

まとめ

これまでよく研究されてきた弱毒ウイルスについて述べたが多くのウイルスはその遺伝子についても未知であり、弱毒化の機構も不明である。しかし、TMVに示されたようにウイルスRNAのcDNAを操作することにより遺伝子の機能を明らかにし、弱毒ウイルスの作出することは可能性の高いことと考えられるので今後私どもも取り組んで行きたい。

引用文献

- 1) 石井(1985): 昭和60年度抗植物ウイルス剤に関するシンポジウム講演要旨 1-3
- 2) 大島ら(1965): 北農試報 85, 23-33
- 3) 西口ら(1985): Nucl. Acid Res. 13, 5585-5590
- 4) 善林ら(1985): 日植病報51, 364
- 5) 花田(1985): 昭和60年度抗植物ウイルス剤に関するシンポジウム講演要旨 14-17
- 6) 吉田ら(1985): 日植病報51, 238-242