

サトウキビモザイクウイルス I 系統 (SCMV-I) の純化と cDNA クローニング

酒井淳一・大貫正俊・花田 薫 (九州農業試験場)

Jun-ichi SAKAI, Masatoshi ONUKI and Kaoru HANADA: Purification
and cDNA cloning of sugarcane mosaicvirus- I strain

サトウキビモザイクウイルス (SCMV) は、わが国のサトウキビやトウモロコシに広く発生している。ウイルスの系統まで明らかにした報告には、トウモロコシでの B 系統の発生²⁾、サトウキビでの A・B・H・I の 4 系統の発生¹⁾、イネ科雑草での A 系統の発生がある³⁾。

当研究室では、沖縄県のサトウキビから分離された SCMV の B 系統 (SCMV-B) の純化とそのウイルス RNA の cDNA クローニングを行い、すでに報告した⁴⁾。本研究では、沖縄県のサトウキビから分離された SCMV-I の純化法とそのクローニングについて報告する。

1. 試験方法

SCMV-I 感染トウモロコシ葉を亜硫酸ナトリウムを含むリン酸緩衝液を加えて磨砕し、分画遠心後、硫酸セシウムを用いた平衡密度勾配遠心により、ウイルスを精製した。純化ウイルスに、ドデシル硫酸ナトリウムとプロテナーゼ K を加えて 37°C で処理後、フェノール抽出によって、ウイルス RNA を精製した。oligo dT をプライマーとして、ウイルス RNA を逆転写し、RNase H と DNA ポリメラーゼ I を用いて dsDNA としたものを Bluescript と連結して大腸菌にクローニングした。塩基配列の解析は、蛍光プライマーを用いたダイデオキシ法により行った。

2. 結果及び考察

すでに報告したように SCMV-B は、塩化セシウムを用いた平衡密度勾配遠心により、ウイルスを精製できたが、SCMV-I は、塩化セシウムに対してやや不安定なためか、塩化セシウムを用いて精製したウイルスから調製した RNA は cDNA クローニングに適さなかった。そこで、硫酸セシウムを用いてウイルスを精製したところ、cDNA クローンがえられた。

SCMV-I-RNA とハイブリダイズすることが確認されたクローン I 2 の 5' 末端の塩基配列を決定して、それから予想される外被タンパク質の N 末端近傍のアミノ酸配列を既報の SCMV グループに属する SCMV-SC と SCMV-JG 及びタバコエッチウイルスと比較した (第 1 図)。また、クローン I 2 の 3' 末端の塩基配列を決定し、それから予想される外被タンパク質 C 末端近傍のアミノ酸配列を同様に比較した (第 2 図)。

これら外被タンパク質の両末端のアミノ酸配列の比較の結果、そのウイルス RNA の塩基配列の一部がすでに報告されている SCMV グループの中で、SCMV-I は SCMV-JG より、SCMV-SC とより多くのアミノ酸を共有しているが、SCMV-SC とは、明らかに異なる系統であることが判明した。現在、SCMV-B と共にその 3' 末

端の非翻訳領域及び外被タンパク質遺伝子の全塩基配列を解析中であり、その結果は、今回の結論を支持するものである。

引用文献

- 1) 矢野 博・沼口憲治・岩井 久: 種苗管理センター調査研究報告 1, 1-122, 1988.
- 2) 花田 薫・大貫正俊・酒井淳一・井上 興・矢野 博: 日植病報 59, 92, 1993.
- 3) 大津善弘・五味唯孝: 日植病報 51, 616-622, 1985.
- 4) 花田 薫・大貫正俊・酒井淳一: 日植病報 59, 341, 1993.
- 5) Frenkel, M. J., Jilka, J. M., Mckern, N. M., Strike, P. M., Clark Jr, Shukla, D. D. and Ward, C. W.: J. Gen. Virol. 72, 237-242, 1991.
- 6) Gough, K. H., Azad, A. A., Hanna, P. J. and Shukla D. D.: J. Gen. Virol. 68, 297-304, 1987.
- 7) Allison, R. F., Johnston, R. E and Doughty, W. G.: Virology 154, 9-20, 1986.

```

KNDLLE R R I E D E L I D W R R G / A G G G T T V D A G A R A T A E A
K D E E R G E L E D Y N D E V F R G / A G -- T V D A G A R Q G G G G
Y K N A M M S E E D - V V D W E R G / S G -- N E D A G E K Q K S A T
E V E Y D E D I P T T E N L Y P S / S G -- T V D A G A R D A G K K

```

第 1 図 SCMV-I クローン 2 (I 2) の cDNA 5' 末端の塩基配列から予想されるアミノ酸配列と他のポティウイルスとの比較

注) 上段から、I 2, SCMV-SC²⁾, SCMV-JG²⁾, タバコエッチウイルス⁷⁾の順。
/: N1b と外被タンパク質との切断予想部位。-: アミノ酸の欠失。

```

G N V G E S E Q E N T E R H T A G D V S R N M H S L L G V Q Q H R *
G N G G E T Q E N E E R E T A G D V S R N M H S L L G V Q Q H R *
G N V G S R S E N E R E T A A D V S R N V H S Y R G A K I - - -
G N G G T A E D E S E R H T A H D W M R N M H T L E I G V R Q - - -

```

第 2 図 SCMV-I クローン 2 (I 2) の cDNA 3' 末端の塩基配列から予想されるアミノ酸配列 (外被タンパク質の C 末端) と他のポティウイルスとの比較

注) 上段から、I 2, SCMV-SC²⁾, SCMV-JG²⁾, タバコエッチウイルス⁷⁾の順。*: ストップコドン。