

ズッキーニ黄斑モザイクウイルス (ZYMV) 弱毒株 2S142a6 の塩基配列: P1, HC および P3 遺伝子

外間也子・酒井淳一¹⁾・寺見文宏²⁾・花田 薫¹⁾
(沖縄県農業試験場・¹⁾九州農業試験場・²⁾北海道農業試験場)

Nariko HOKAMA, Jun-ichi SASKAI, Fumihiko TERAMI and Kaoru HANADA :

Nucleotide Sequence of a Mild Strain of Zucchini Yellow Mosaic Virus : P1, HC and P3 Protein Genes

ズッキーニ黄斑モザイクウイルス (ZYMV) はアブラムシによって非永続的に伝搬されるポティウイルスで、ウリ類モザイク病の病原ウイルスの一つであり、カボチャにモザイクや奇形葉などの激しい症状を現し、果実にはコブを生じる。沖縄県で分離した ZYMV 弱毒株 2S142a6 は、カボチャにおける病徴が軽く、野外の ZYMV に対して顕著な干渉効果がある。また、本弱毒株はこれまでの試験でアブラムシによる伝搬が認められず、アブラムシ非伝搬性であると考えられる。著者らは、本弱毒株の遺伝子解析を行うためにウイルスの cDNA クローニングを行い、これまでに、3' 末端非翻訳領域から P3 タンパク質 (P3) 遺伝子の一部の領域までの塩基配列を決定し報告した。今回、P3 を含む 5' 末端領域の塩基配列を決定したので報告する。

1. 試験方法

弱毒株 2S142a6 の細胞質封入体遺伝子の 5' 末端領域に相補的な 20 塩基のオリゴヌクレオチドをプライマーとして、cDNA を合成した。合成した cDNA 断片は、プラスミド Bluescript の EcoR V サイトにクローニングした。得られたクローンの中から、4.2Kb と 1.5Kb の cDNA 断片を含むクローンについて、Erase-a-Base キット (Promega 社) を用いてアレーションクローンを作製した。シーケンシング反応は、蛍光標識プライマーおよび蛍光標識ジデオキシヌクレオチドを用いたジデオキシ法により行った。反応産物を蛍光 DNA シーケンサー (ABI 社) で解析し、塩基配列の決定を行った。

2. 結果および考察

塩基配列の解析の結果、クローニングされていた cDNA は 4190 塩基であった。塩基配列よりアミノ酸配列を推定したところ、1396 アミノ酸残基 (a.a.) からなっていた。他のポティウイルスに関する報告、データベースから得た ZYMV のカリフォルニア分離株 (CAL 株; データベース登録番号 L31350)、フロリダ分離株 (FL 株; L35590)³⁾ および Reunion 分離株 (REU 株; L29569) のシーケンスデータと比較した結果、P3、ヘルパーコンポーネント-プロテアーゼ (HC-Pro) および P1 タンパク質 (P1) 領域であることが確認された。P3 は 398a.a., HC-Pro は 462a.a. からなり、CAL 株、FL 株および REU 株と同数であった。P1 を含む 5' 末端領域には開始コドンと思われる ATG 配列が 5 箇所あったが、植物の開始コドン領域のコンセンサス配列 (AACAAUGGC)¹⁾ に合致するのは第一開始コドンと第三開始コドンであった。第一および第三開始コドンから

の翻訳では、P1 のサイズは他の ZYMV 2 分離株 (CAL 株、FL 株) よりそれぞれ 128 および 31a.a. 長くなった。一方、2 分離株と同サイズの P1 (304a.a.) が翻訳される第五開始コドンはコンセンサス配列に合致していなかった。

P1 のアミノ酸配列の C 末端側にはプロテアーゼ活性部位であるヒスチジン残基とセリン残基²⁾ が保存されていた。P1 と HC-Pro の切断部位近くにはポティウイルスに共通な配列 (FIVRG)²⁾ が、多少異なるが、他の ZYMV 3 分離株と同様な配列 (LVIRG) で見出された。HC-Pro のアミノ酸配列の N 末端側にはポティウイルスで共通に保存されているシステインクラスター²⁾ が、さらに、クラスター領域にはアブラムシ伝搬性のポティウイルスで保存されているリジン残基²⁾ が確認された。HC-Pro の C 末端側にはプロテアーゼ活性部位であるシステイン残基とヒスチジン残基²⁾ が確認された。P1 と HC-Pro の推定切断部位のアミノ酸配列は上述の ZYMV 3 分離株と若干異なっており、HC-Pro と P3 の推定切断部位は 3 分離株と共通であった。各領域における ZYMV 3 分離株とのアミノ酸レベルでの相同性は、P1 (304a.a.) で 54~72%, HC-Pro で 93%, P3 で 89~96% であった (第 1 表)。P1 および HC-Pro において、アミノ酸の変異は N 末端側に多くみられた。

本弱毒株は P1 に相当する部分のアミノ酸配列が他の ZYMV 分離株に比べかなり長い、これが本来の特徴であるのか、複数のクローンで今後検討する必要がある。

引用文献

- 1) LUTCKE, H. A., K. C. CHOW, F. S. MICKEL, K. A. MOSS, H. F. KERN and G. A. SCHEELE, : *The EMBO Journal* 6, 43 - 48, 1987.
- 2) SHUKLA, D. D., C. W. WARD and A. A. BRUNT, : *The Potyviridae*, pp. 516. CAB INTERNATIONAL, Cambridge, 1994.
- 3) WISLER, G. C., D. E. PURCIFULL, and E. HIEBERT, : *Journal of General Virology* 76, 37 - 45, 1995.

第 1 表 ZYMV 弱毒株 2S142a6 と他の ZYMV 3 分離株との P1, HC-Pro, P3 のアミノ酸配列の相同性

分離株	アミノ酸配列の相同性 (%)		
	P1	HC-Pro	P3
CAL	72	93	96
FL	72	93	95
REU	54	93	89