

インゲン黄斑モザイクウイルス 退緑斑系統ゲノムに対する
感染性 cDNA クローンの構築
植物育種科学講座 植物病原学分野
西野計

<目的>

インゲン黄斑モザイクウイルス 退緑斑系統 (BYMV-CS) は北海道でモザイク病徴を示すアカクローバーから単離、同定された。ソラマメ、エンドウなどマメ科植物を宿主に持ち、モザイクや退緑斑を引き起こす。本研究では、BYMV-CS を用いた実験系の確立のため、ゲノムの全塩基配列の決定し、感染性 cDNA クローンを構築した。

<BYMV-CS ゲノムの全塩基配列の決定>

すでにゲノムの全塩基配列が報告されている BYMV の他系統の配列と既報の CS の 3' 末端領域の配列からプライマーを設計、BYMV-CS ゲノム全体をカバーするように 3 つのサブクローンを作成し、それぞれシーケンスを行なった。また、サブクローンに含まれない 5' 末端と 3' 末端は RACE 法によりクローニングした。

BYMV-CS と全塩基配列が報告されている BYMV 5 系統のアミノ酸配列を比較したところ、BYMV-CS は他系統と比較してユニークな配列をしていた。また、CP の塩基配列による系統樹を作成したところ、CS は BYMV の Pea mosaic 系統と近縁であった。

<BYMV-CS ゲノムに対する感染性 cDNA クローンの構築>

BYMV の他系統は 5' 末端に A が 6 つ連続していたが、CS では A が 4 つ連続したクローンしか得ることができなかった。そこで、CS の 5' 末端配列を決定するために、5' 末端に A を 4 つ持つ pBYMVCS A4 と 6 つ持つ pBYMVCS A6 の 2 つの感染性 cDNA クローンを構築し、それぞれの感染性を調べた。

ソラマメでは A4 は BYMV-CS と同じく接種から 10 日目に上葉で病徴が見られ、RT-PCR によっても感染も確認された。A6 は接種後 10 日目では上葉に病徴が見られず RT-PCR によっても感染が確認されなかったが、接種 3 週間後に BYMV-CS 感染では見られない黄化が見られ、RT-PCR によって感染が確認された。エンドウに A4 と A6 を接種したところ、A4 では BYMV-CS と同様に 6 日目に病徴が見られたが A6 では 12 日目に同様の病徴が認められた。これらの結果から、A4 は BYMV-CS と同じように病徴を引き起こすが、A6 では増殖や移行が遅いために発病まで長い期間を必要とすることが示唆された。この実験から BYMV-CS は 5' 末端に A が 4 つ連続していると結論づけた。

pBYMVCS A4 の N1b と CP 領域の間に YFP を挿入したところ、接種ソラマメにおいて上葉で YFP 蛍光が観察された。また、BYMV 抵抗性とされているエンドウ PI 269818 と PI 391630 に接種したところ、PI 269818 で接種葉と上葉の YFP 蛍光が確認できた。この結果より、YFP の挿入によって BYMV-CS 感染のモニタリングが容易に可能となったことを示すことができた。