

# ジャガイモ S ウイルスゲノムの全長 cDNA クローンからの転写産物の感染性に影響を及ぼす配列の同定

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 植物病原学 李莘

## 1. 緒言

ジャガイモ S ウイルス (*Potato virus S*, PVS) はカルラウイルス (*Carlavirus*) 属のウイルスで、プラス一本鎖の RNA をゲノムに持ち、その 5'末端にはキャップ構造、3'末端にポリ A 配列を持ち、6 つのオープンリーディングフレーム (ORF) を有する。

これまで PVS ゲノム全長 cDNA から感染性を有する RNA を作製した例はまだ報告されてない。本研究では、日本産普通系統の PVS-H ゲノムの全塩基配列 (8485 塩基) が決定され (上田, 2002), その後部分長 cDNA クローンを繋いで PVS-H ゲノムの全長 cDNA クローン pPVS-H-FL-AB が構築された。しかしながら、そこから転写されたキャップ構造を付加した RNA には感染性が認められなかった。本研究では、その転写 RNA の感染性に影響を及ぼしている可能性がある配列を探索し、その配列を改変することで、感染性 RNA を転写できる PVS-H ゲノムの全長 cDNA クローンの構築を試みた。

## 2. 方法

先に決定された PVS-H ゲノムの配列とデータベース上の外国産 PVS 株の配列を比較した。その結果から、PVS-H-FL-AB 転写 RNA の ORF 1 の領域にある 2040 番目の塩基を G から A へ (アミノ酸はバリンからイソロイシンに変化), 2784 番目の塩基を C から U へ (アミノ酸はプロリンからセリンに変化) 変異させた RNA を転写できる pPVS-H-FL-C を作製した。また、pPVS-H-FL-C を基に、ORF 2 の領域にある 6406-6407 番目の GT を AG に変異させた (アミノ酸はバリンからアルギニンに変化) pPVS-H-FL-D を作製した。PVS-H 全長 cDNA クローンからキャップを付加した RNA を合成し、宿主である *Nicotiana occidentalis* に塗抹接種し、約 4 週間生育後 PVS 検定を行い、感染性を試験した。

## 3. 結果と考察

pPVS-H-FL-C から合成したキャップ付加転写産物には感染性が認められなかったが、pPVS-H-FL-D から合成したキャップ付加転写産物には感染性が認められた。そこで、2004 年に保存された感染葉における PVS-H ゲノムの配列を調べたところ、6406-6407 番目は GU ではなく AG と導入した変異と同じであった。従って、ORF 2 領域の 6406-6407 番目の AG は PVS-H ゲノムの全長 cDNA クローンからの転写 RNA の感染性に大きく影響するということがわかった。

## 4. 今後の課題

今後は本研究で作製された感染性を有する RNA を転写できる PVS-H ゲノムの全長 cDNA クローンの転写用のプロモーターを T7 プロモーターから CaMV 35S プロモーターに入れ替えた感染性 cDNA クローンも作製し、それらを活用して PVS のゲノムにコードされるタンパク質の機能やウイルスの病原性および宿主植物との相互作用などに関する研究に取り組むつもりである。