

1. 植物感染性ポティウイルスの進化；集団遺伝構造の調査

大 島 一 里

佐賀大学農学部応用生物科学科
生物資源制御学講座植物ウイルス病制御学分野

ポティウイルスは植物 RNA ウイルスの中で、最も大きな科であるポティウイルス科に属し、その科の中でも最も大きな属を形成する。ポティウイルスは双子葉植物だけでなく単子葉植物に感染する。ポティウイルスの時間的な解析を行うと、この属のウイルスは南西ユーラシアや北アフリカ地方において、約 7250 年前に単子葉植物から突発的に発生した様に推測できる。ポティウイルスの一種であるカブモザイクウイルス (*Turnip mosaic virus*, TuMV) は主に双子葉植物であるアブラナ科の農作物に大きな被害を与えており、植物ウイルスの中でも分子進化的研究と集団遺伝構造の研究が最も進んだウイルスの一つである。TuMV とポティウイルスの進化さらにそれらの集団遺伝構造について、我々が解析に利用しているコンピューターソフトウェアも紹介しながら解説する。

はじめに

人間や動物にウイルスが感染するように、農作物にもウイルスが感染し、その被害総額は年間 1000 億円以上とも試算され、食糧生産において大きな被害を与えている。農作物に感染するウイルスも人間に感染するウイルスと同様に、パンデミックなウイルス、エンデミックなウイルス、ウイルス種によりその発生状況は様々である。パンデミックなウイルスは、いったいどこで最初に発生したのだろうか。エンデミックなウイルスは、発生している地方が起源地であろうか。人類が運んだのであろうか。媒介生物が運んだのであろうか。それとも農作物が運んだのであろうか。人類の移動や農耕の歴史がウイルスの拡散に影響しているのだろうか。そしてどのような歴史上の事実と関係あるのだろうか。ウイルスの進化・生態・拡散の興味は尽きない。最近になり植物ウイルス分野においても、よう

やく国規模、大陸規模そして地球規模でウイルス分離株が採集され、シーケンサー機器や生物情報学(バイオインフォマティクス)の発展と共にウイルスの進化や集団遺伝構造が解析される時代となった。

本稿では、最初に植物ウイルスの分子進化的研究について簡単に紹介し、その後我々の研究室で最も精力的に研究してきたポティウイルス種であるカブモザイクウイルス (*Turnip mosaic virus*, TuMV)^{1,2)} の分子進化とその集団遺伝構造について、さらに分子系統樹において本ウイルスとその近縁のウイルス種が含まれる TuMV グループについて、そしてポティウイルス属全体にも焦点を与え、それらの進化について解説する。なおポティウイルスの集団遺伝構造や進化以外の研究については、多くの素晴らしい総説が出版されているので是非参考にされたい³⁻⁷⁾。またここ 20 年間ほどでコンピューターとインターネットが急速に進展し、植物ウイルスの研究を病理学者だけではなく様々な生物学者と共同研究をすることが可能となってきており、植物病理学と分子系統学、生物地理学そして集団遺伝学などが融合し新たな学問が芽生えてきていることから、ウイルスの解析に最近良く使われるソフトウェアなども紹介しながら解説する。

植物ウイルスの分子進化的研究

動物ウイルスの拡散を未然に防ぐ一つの手段としてワクチンの製造が欠かせない。そのような理由のためにインフルエンザウイルスやヒト免疫不全ウイルスなどの分子進化

連絡先

〒 840-8502

佐賀県佐賀市本庄町 1 番地

佐賀大学農学部 応用生物科学科生物資源制御学講座

植物ウイルス病制御学分野

TEL: 0952-28-8730

FAX: 0952-28-8709

E-mail: ohshimak@cc.saga-u.ac.jp

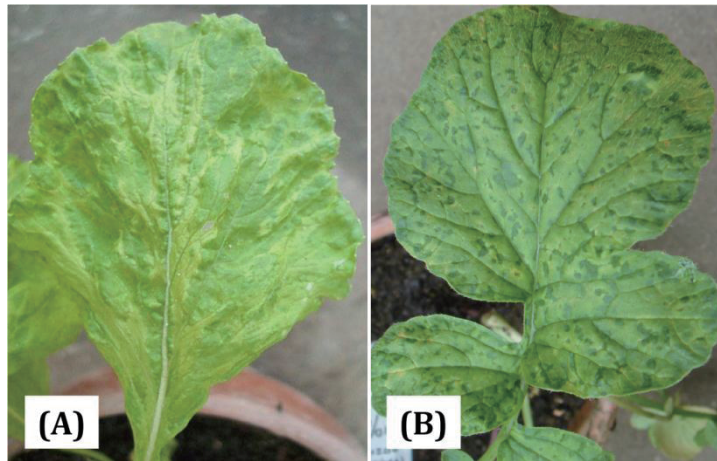


図1 カブモザイクウイルスの(A)カブと(B)ダイコンでのモザイク症状。

的研究は早くから開始され、現在では地球規模で発生している分離株ゲノムの塩基配列が網羅的にまた継続的に調べられ、現在ではおおよそ地球上に存在するゲノム（遺伝子）型が分かっているのではと思われる。その報告の数は、我々植物ウイルスの研究者から見て、すさまじい進展を感じる。しかしながら、それらの研究を追いかけるように幾つかの植物ウイルス分離株も国規模、大陸規模、地球規模で採集されるようになり、ゲノムの一部や全領域について解析され、分子進化の3大推進力（突然変異、組換え、再集合）に関連した研究や集団遺伝構造の研究が開始しされ始めた。ただ多くの場合、動物ウイルスに比べて植物ウイルス分離株を保存している農業関連機関が少ないために、分離株を集めることにはとても苦労する。多くの場合、研究者が様々な国々に出かけて田畑を走り回り、分離株を採集して集めてくるのが実情であるので、ウイルスを採集するだけでも長期間の仕事となる。

現在、分子進化的研究が進展しているウイルスを挙げるとすれば、世界の農作物に大きな被害を与えている新興ウイルスであるDNAウイルスのジェミニウイルス科ベゴモウイルス属のトマト黄化葉巻ウイルス (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) であろう⁸⁾。世界中のトマトやトルコギキョウなどに大きな被害を与えており、日本でも発生がみられる。一方RNAウイルスとしては、1本鎖RNAウイルスでアフリカのイネに大きな被害を与えているソベモウイルス属の*Rice yellow mottle virus* (RYMV)⁹⁻¹⁰⁾の研究が精力的に行われている。本ウイルスは、我が国では発生が確認されておらず、アフリカに発生が限られるエンデミックなウイルスである。そして最も研究が進んでいるウイルスを挙げるとすれば、我々の手掛けているTuMVと思われる。本ウイルスは、ポティウイルス科ポティウイルス属のウイルス種である。

ポティウイルス属のウイルス種では、一部は新興集団としての報告もあるが、それよりも昔から農作物に大きな被害を及ぼし続けているために、世界中の多くの研究者が長年研究してきたウイルスである。と言っても、その研究の歴史は一世紀にも満たない。1920年の後半、イギリスのKenneth Smith¹¹⁾がジャガイモのウイルス、後にジャガイモYウイルス (*Potato virus Y*, PVY) と呼ばれるが、このウイルスと類似したウイルス種が研究されて以来、1971年にそれらをPotyvirus (ポティウイルス) と呼ぶようになった^{12,13)}。その後ポティウイルス属となり、1989年にPVYのゲノム構造が最初に明らかになったのち¹⁴⁾、ここ20年間くらい、それらポティウイルスのゲノムの多様性が深く探られるようになった。ポティウイルス科には8属あるが、おそらくポティウイルスは90%のポティウイルス科のウイルス種をカバーする。またポティウイルスの中で、最も分子進化的に解析が進んでいる我々の研究しているTuMV¹⁵⁾は、主に世界中のアブラナ科のアブラナ属やダイコン属植物の野菜類などの農作物に大きな被害を与えているウイルス種である。

カブモザイクウイルスの分子進化

TuMVは、アフリカ、アジア、ヨーロッパ、オセアニア、南北アメリカなどの温帯、亜熱帯など世界中に広く分布しており、そして最近ではアラスカでも分離された世界中どこにもあるパンデミックなウイルスである¹⁶⁾。そのようなウイルスの進化を調査することは、本ウイルスの空間的や時間的な情報だけでなく、他のウイルス進化や拡散についても多くのヒントを与えてくれる。1921年に本ウイルスがアメリカで初記載され^{2,17,18)}、その後日本などのアジア諸国でも発見された。当初、野菜や園芸植物の病徴に基づいて様々なウイルス名がつけられた。例えば、

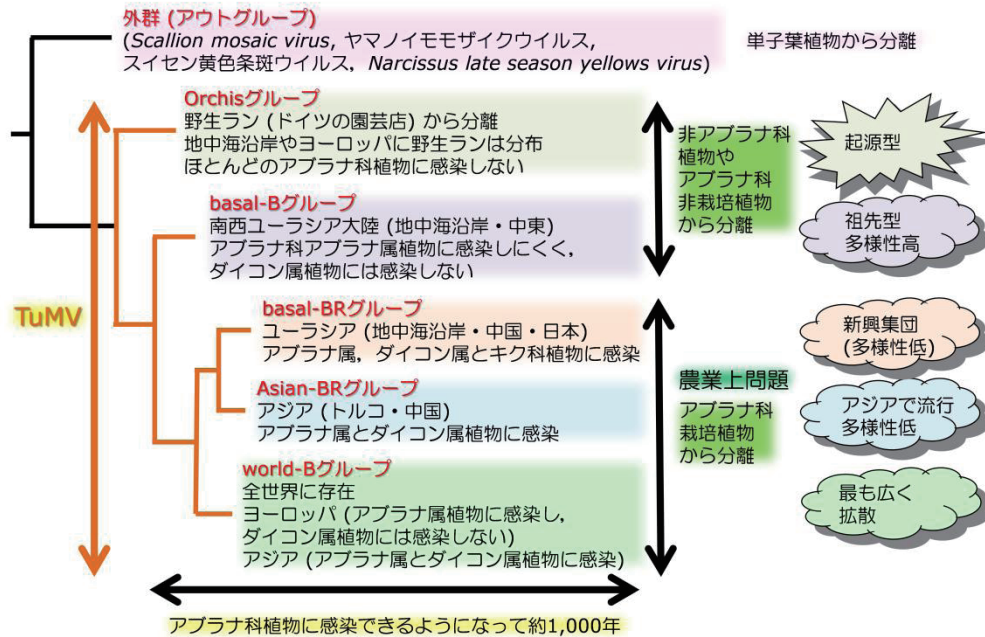


図2 カブモザイクウイルスの分子系統樹の略図。

Anemone mosaic virus, Cabbage A virus, Cabbage black ring virus, Daikon mosaic virus, Horseradish mosaic virusなどがその代表でもある。本ウイルスはアブラムシで非永続的に伝播し、野菜の重要病害ウイルスとしてキュウリモザイクウイルスに次いで2番目にランクされており¹⁾、名前からもわかるようにカブは勿論のこと、ダイコン、キャベツ、ブロッコリー、カリフラワー、ナタネ、カラシナ、ハクサイ、チンゲンサイなどの中国野菜などのアブラナ科植物などにモザイク症状、えそ症状、時には黄色斑点などを呈する(図1)。またアブラナ科植物以外の植物、例えばユリ科やキンポウゲ科植物などにも感染し¹⁵⁾、ポテトウイルスの中でも特に広い宿主域を持つことが知られ、最近ではバイオ燃料を生産する植物に被害を起すために注目されているウイルスでもある。

TuMVは約720nmの粒子で、そのゲノムは一本鎖プラスRNAで約9,830塩基から構成されている^{19,20)}。このゲノムから大きなポリタンパク質が翻訳され、第1タンパク質(P1)、ヘルパー成分プロテアーゼタンパク質(HC-Pro)さらに核内封入体 α -タンパク質(NIa-Pro)によりプロセッシングされ、最低10種類の成熟したタンパク質、P1、HC-Pro、第3タンパク質(P3)、6キロダルトン1タンパク質(6K1)、筒状封入体タンパク質(CI)、6キロダルトン2タンパク質(6K2)、ゲノム結合タンパク質(VPg)、NIa-Pro、核内封入体 β -タンパク質(NIb)さらに外被タンパク質(CP)が産生されると考えられている。それぞれの遺伝子は様々な役割をしているが、例えばHC-Pro遺伝子は、アブラムシの伝搬性やサイレンシングの抑制に、

NIb遺伝子は複製に、CP遺伝子はアブラムシの伝搬性やウイルス粒子の会合に関与している^{4,7)}。最近、オーバーラッピングしたpretty interesting *Potyviridae* ORF (PIPO, P3遺伝子上の+2の読み枠に存在)が見つかった²¹⁾。このPIPOは、主にTuMVの我々の塩基配列データを用いて解析され明らかとなったが、実は我々も事前に気が付いており研究を進めていたのだが、残念ながら先に論文にすることができなかった。以上はTuMVだけではなくポテトウイルス一般のゲノム構造であるが、ポテトウイルスのタイプ種としては、ジャガイモやタバコなどのナス科植物に感染し大きな被害を与えているPVYが挙げられる^{14,22-25)}。

動物ウイルスは各国の大学や保健機関に過去のそして現在流行している分離株が大量に保存されている。一方本ウイルスも他の多くの植物ウイルスと同様に、分離株を保存している大学や農業関係の機関は少なく国内外から収集するのが困難であった。それでも世界の多数の研究者の協力を得て、主に我が国を含めたユーラシア大陸からの分離株であるが、現在まで数百分離株を採集してきており、これまでトルコ、イラン、ギリシャそして中国など延距離数にして数万キロ以上を車や徒歩で圃場を回り調査してきた^{26,27)}。

研究を始めた当初は、地域を考慮しTuMV 76分離株を選抜し、ゲノムの両末端に位置する二遺伝子、即ち最も変異が多い遺伝子と考えられているP1遺伝子と、その時点で最も研究が進んでいるCP遺伝子(各遺伝子約1,000塩基、ゲノムの20%)について塩基配列を決定後、分子系統関係を描いた¹⁵⁾。研究を開始した頃の1990年代後半の時代では、76分離株について、一ゲノム当り2000塩基、

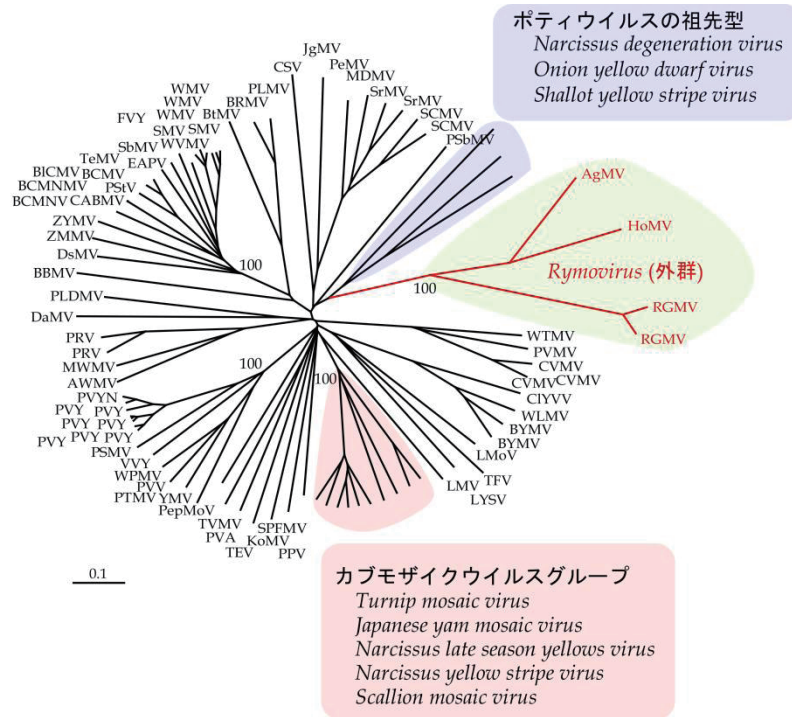


図3 ポティウイルスの分子系統樹. カブモザイクウイルスグループとポティウイルスの祖先型のみを記した.

即ち合計 15 万塩基の解析となり、それらを決定するのに非常に労力を費やした。また GenBank に TuMV ゲノムの塩基配列の情報がほとんどないために、古典的な方法でクローニングし、ゲノムの共通配列を得るために複数のクローニング産物毎のシーケンス、その後逆転写 PCR 産物を用いたダイレクトシーケンスによる解読などで、何とか大量の分離株について塩基配列を解読することに成功した。またこれら分離株が混合感染している場合も想定されたために、分離株毎に単一病斑分離を行い、ウイルス分離株を純粋均一にしたのち、病原性の調査についても温室内で網羅的に調査した。その結果、本ウイルスには最低でも大きな 4 ゲノム型グループ（リネージ）が病原性と関連して存在することが明らかとなった（図 2）。なお、この研究の時点では後述する野生のラン科植物（Orchis 属植物）のゲノム型グループをまだ我々は発見できていない。即ちアブラナ科植物以外の栽培植物だけでなく野生植物から主に採集され、アブラナ (*Brassica*) 属植物（ハクサイ、カブ、キャベツ、ナタネなど）に稀に病原性を持ち地中海沿岸地方そして小アジアから中東諸国を含めた南西ユーラシア大陸地方で採集された分離株から構成される本ウイルスの祖先型と思われるグループ (basal-B; basal-*Brassica*)、アブラナ属に病原性を持ちアブラナ植物に宿主適応したと考えられヨーロッパやアジアなどの世界中の分離株から構成されるグループ (world-B; world-*Brassica*)、アブラナ属植物だけでなくダイコン (*Raphanus*) 属植物に病原性を持

ちダイコン属植物にも適応したと考えられるアジア分離株から構成されるグループ (Asian-BR; Asian-*Brassica/Raphanus*)、さらにアブラナ属植物のみならずダイコン属植物に病原性を持ちヨーロッパや日本のダイコン属植物或いはキク科植物（レタス、キンセンカなど）に宿主適応したと考えられ、我が国においては最近突発的に拡散したと思われる分離株から構成されるグループ (basal-BR; basal-*Brassica/Raphanus*) が存在した。さらに PHYLPRO²⁸⁾ や SISCAN²⁹⁾ などの組換え検出プログラムを用いて組換え部位について調査した結果、本ウイルスの分子進化には組換えが深く関与していることが明らかとなった。従って、もともとアブラナ科植物に感染できない TuMV が突然変異や組換えにより、アブラナ属野生植物その後アブラナ属栽培植物に感染できるようになり、起源地と考えられる地中海沿岸地方、小アジアから中東の南西ユーラシア大陸から宿主適応（宿主との共進化）し、さらに分離株の地理的隔離、病原性の地理的隔離を行いつつながら、現代の農作物に大きな影響を受け、世界中のアブラナ属植物栽培地域に拡散し、一方アジア地方へはアブラナ属植物だけでなくアジア地方で良く栽培されているダイコン属栽培植物に対する病原性を獲得し拡散してきたと考えられた。

様々な地域から採集した約 40 分離株について、一部のゲノム領域だけでなく全ゲノム構造を決定した³⁰⁾。組換え部位は必ずしも遺伝子の境界には存在せずゲノムの様々な部位に存在し、明瞭な組換え部位を持っていた組換え体

は、アブラナ属植物だけでなくダイコン属植物に病原性を持つBR (*Brassica/Raphanus*) 宿主型であり、このような明瞭な組換え部位を持つ分離株はなぜか東アジア地方に多く見られた。一方不明瞭な組換え部位を持つ組換え体はヨーロッパに多く見られた。この理由としては、突然変異が時間の経過と共に蓄積することから昔起きた組換え部位は不明瞭となると考えており、ヨーロッパ集団は東アジア集団に比べて古い時期に拡散したのではないかと考察した。以上の結果と分子系統樹の結果を総合的に考察すると、東アジア地方への侵入は比較的最近のことと思われる。

さらに東アジア地方を中心に約 90 分離株についてゲノム一部領域 (ゲノム長の 30%) の塩基配列を決定し、PHYLPRO²⁸⁾ や SISCAN²⁹⁾ だけでなく RDP3³¹⁾ ソフトウェアを用いて詳細に組換え部位について調査した結果、興味深いことに解析した全分離株の中の約 70% は組換え体であった³²⁾。多くの組換え部位は、異なる東アジア地方で採集した分離株間で同一の組換え部位を共有していたことから、様々な地方で同一部位の組換えが別々に起きたと結論するよりもむしろ一度できた組換え体が東アジア地方に拡散したと考えられた。以上から、組換えは TuMV ゲノムで頻繁に見られることを明らかにし、分子系統樹と同様に組換え部位もウイルス拡散の追跡調査に有効と結論した。その後約 100 分離株について全ゲノム構造を決定し調査した結果、組換えホットスポット (組換えが頻繁に見られる領域) が P1 遺伝子と CI の C 末端から VPg 遺伝子領域の 2 箇所が存在することを明らかにしたが³³⁾、本報告は自然界から採集したウイルスに見られるホットスポットを同定した最初の報告と思われる、組換えが新しい宿主に感染するために重要な役割をしていることを明らかにした。

約 140 分離株を用いてユーラシア大陸のヨーロッパと東アジアの集団について、植物体での反応、さらに両地方の集団遺伝構造について分子進化学的に比較した³⁴⁾。ヨーロッパ分離株の多くは、アブラナ属植物のみに感染したが、東アジア分離株はアブラナ属植物だけでなくダイコン属植物にも感染した。また組換え部位は P1 遺伝子内に多く見られたが、組換え部位の位置はヨーロッパと東アジア地方の分離株では異なっていた。さらに遺伝的多様性について解析すると、ヨーロッパ地方が東アジア地方の集団より多様であり、宿主からの選択圧を探る解析では、東アジア地方のみに見られる Asian-BR グループの幾つかの遺伝子で非同義置換 / 同義置換比が大きかったことから、それまで感染できなかった本ウイルスが東アジア地方で広く栽培されるダイコン属植物に感染できるようになったために、その植物に強い選択圧を受けながら、起源地から東アジア地方に拡散してきたと思われる。従って、ヨーロッパ集団と東アジア集団の TuMV はほとんど異なる遺伝集団であったことから、それぞれの地方へは異なる進化をして拡散したことが明らかとなり、それらの集団遺伝構造には創始者

効果 (隔離された個体群が新しく作られる時に、新個体群の個体数が少ない場合、元になった個体群とは異なった遺伝子頻度の個体群が出来ること) が影響しているように思われた。

中華人民共和国と主に日本の九州より収集した約 120 分離株の生物学的な解析及び集団遺伝学的な解析を行った³⁵⁾。集団遺伝学的な解析には、DNASP³⁶⁾ と ARLEQUIN³⁷⁾ ソフトウェアを用いた。温室内で分離株毎の病原性について検討した結果、アブラナ属植物から採集した中国産分離株の多くは、アブラナ属植物に感染したもののダイコン属植物への感染は認められず、一方日本産分離株ではアブラナ属とダイコン属植物の両方に感染性を示した。これは 2 国間においてウイルス集団の宿主適応の違いを示している。両国間の遺伝学的な調査から、中国と日本の TuMV は一部が同じ集団であったことから、これらの集団は中国と日本で過去に何らかの関係があったと思われる。一方中国では確認されていなかったゲノム型 (basal-BR グループ) が、九州地方で 2000 年以降突然優勢となった。TuMV はアブラムシにより非持続性伝染するため、拡散は比較的緩やかに進むと思われるが、今回の調査では短期間に突発的に拡散している事実が確認されたことから、本ウイルスがアブラムシ以外の伝染法、例えばこれまで知られていない種子伝染している可能性も否定できず、今後の課題と思われた。興味深いことに、その集団は日本に遅れてその後中国で確認された³⁸⁾。この集団がどのようなルートで双方の国に侵入したのか、メタ個体群 (似たような或いは同一の集団が地理的に離れた土地で点在して存続していること) との関連性についても今後検討して行きたい。以上の研究は、中国と日本の 2 国間の植物ウイルスの関連性について、最初に報告した例として知られている。

我が国の九州と本州中央部の集団遺伝構造について解析した³⁹⁾。basal-BR 集団が九州と同様本州中央部でも優勢であり、その集団の中に幾つかのサブ集団、basal-BR 非組換え体集団やゲノムの特定の場所に組換え部位を持った幾つかの basal-BR 組換え体集団が認められた。九州と本州中央部の地方では別々の basal-BR サブ集団が拡散していたことから、我が国のような小さな国においても地方特有のウイルス集団遺伝構造を示したことから、地方で栽培されている地方特有の野菜なども関係しているのかも知れず、本報告は我が国の二地方における集団遺伝構造を単に明らかにしただけでなく、罹病植物の移動 (流通) には細心の注意が必要であることを促した。

ベトナムから採集した 30 分離株の全ゲノム構造を決定し、既に報告した日本、中国分離株と集団遺伝構造について比較し、また DNASP³⁶⁾ を用いて遺伝子流動について解析した。その結果、東アジア 3 国間で、遺伝子流動があったことを明らかにした。一方、それらアジア諸国とヨーロッパ諸国との間について検討すると、遺伝子流動はあまり認

められなかった⁴⁰⁾。

我々は、TuMV ゲノムの分子進化的研究のため特にヨーロッパ分離株について網羅的解析をしていく中で、分子系統学上最も古い位置にくる TuMV 分離株集団を発見した(図2)⁴¹⁾。それらが感染していた植物は、ドイツニーダーザクセン州ツェレ市の個人庭園で保存されていた、野生のラン科植物 (*Orchis* 属植物) であった⁴²⁾。この個人庭園ではドイツ国内で採集された植物だけでなく地中海沿岸地方の国々から輸入した植物を扱っていた。*Orchis* 属植物 (*Orchis militaris*, *O. morio* さらに *O. simian*) から分離した TuMV の病原性について調べてみると、他の一般的な TuMV 分離株がアブラナ科植物に容易に感染するのに対して、これらの分離株はほとんどアブラナ科植物に病原性を持たないことから、一般に拡散している現代型 TuMV 分離株とは生物学的にも遺伝学的にも異なる性状を持つ起源の分離株と思われた。分子系統学的には後述するヤマノイモモザイクウイルス (JYMV, *Japanese yam mosaic virus*)^{43,44)}、*Scallion mosaic virus* (ScMV)⁴⁵⁾ やスイセン黄色条斑ウイルス (NYSV, *Narcissus yellow stripe virus*)⁴⁶⁾ の TuMV グループに近縁のウイルス種との間に位置したことから、それらのウイルスと TuMV 間の橋渡しをしている集団と考えられた。当初これらのウイルス株が TuMV であるかどうかを疑ったが、現時点では、ゲノム構造、ゲノム上のそれぞれの遺伝子の長さ、相同性、タンパク質の切断部位などの遺伝学上の性質、さらにこれらの分離株がルッコラ (キバナズシロ, *Eruca sativa*) や *Cameria sativa* (アマナズナ) などの古代から存在する野生アブラナ科植物に感染することから、古代型の TuMV ではないかと考えている。以上の研究はウイルスとして、一ウイルス種の起源を初めて明らかにした研究ではあると思われるが、他のウイルスも遠からず似たような進化をしており、植物ウイルスの分子進化的研究の見本と成り得る研究である。

カブモザイクウイルスグループの分子進化

ポティウイルスの分子系統樹を作成すると、幾つかの種クラスターを形成し、種グループにまとめられる。タイプ種の PVY は *Pepper mottle virus* (PepMoV) や *Peru tomato mosaic virus* (PTMV) などナス科植物由来のウイルスとクラスターを形成し、PVY グループと呼ばれている(図3)。最も大きなクラスターは、*Bean common mosaic virus* (BCMV)^{6,13,47)} が含まれるグループであり、本ウイルスグループは、ダイズモザイクウイルス (*Soybean mosaic virus*, SMV)^{6,13,48)} やラッカセイ斑紋ウイルス (*Peanut mottle virus*, PMV)^{6,13)} などマメ科植物から分離されるウイルスが挙げられるが、必ずしもマメ科植物に感染するウイルスだけではなく、トマトやジャガイモから分離されるナス科植物からのウイルスも含まれる。従って、系統樹の位相

は宿主植物と関連しているようにも思えるが、必ずしもそうではない。例えば TuMV グループには、アブラナ科植物から分離される本ウイルスの他に、ヤマノイモ科の自然薯などから JYMV、ネギ科から分離された ScMV、ヒガンバナ科のスイセンから NYSV、最近報告された *Narcissus late season yellows virus*⁴⁹⁾ などが含まれ、ウイルスが分離される宿主はまちまちである。ただ上述してきたように、TuMV は、分子系統樹に示されるように(図2)、アブラナ科植物の農作物に感染する以前は野生のラン科植物に感染するウイルスであることが明らかとなったことから、TuMV グループのウイルスが分離される宿主の共通点を考えると、すべて単子葉植物であることに気が付く。このことは、後述するように、ポティウイルスが単子葉植物から由来するウイルスであることを間接的に示唆している最初の証拠と思われる。

ポティウイルス属の分子進化

ポティウイルスの分子系統樹は、幾つかの興味深いことを示唆している。まず第1に、最も外群に近く系統樹の外側に来るウイルスは、ネギ萎縮ウイルス (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV)^{6,13)} グループである。そのグループを構成するウイルス種は3種あり、OYDV、*Shallot yellow stripe virus*、*Narcissus degeneration virus* があり、すべて栄養繁殖性の球根植物由来でそれらの植物は最初南西ユーラシア地方(ヨーロッパ、小アジア、中東など)で栽培化された植物である。次に外側に来るのは *Sugarcane mosaic virus* (SCMV)^{6,13)} グループで、それを構成するのは、*Cocksfoot streak virus*、*Johnsongrass mosaic virus*、*Pennisetum mosaic virus* で、やはり上記の旧世界の地方で栽培化されたウイルスグループである。最近 Holmes とその共同研究者により、BEAST (Bayesian evolutionary analysis by sampling trees) と呼ばれる年代測定ソフトウェア⁵⁰⁻⁵²⁾ を用いて、動物ウイルスが盛んに解析され始めた⁵³⁻⁵⁸⁾。植物ウイルスについても多くはないが報告され始めた⁵⁹⁻⁶¹⁾。我々も、ポティウイルス CP 遺伝子の 'coherently evolving' 領域 (cCP) の塩基配列を使用し、異なる塩基置換モデルを使用し推測した結果、ポティウイルス系統樹に示されている星状系統樹、つまりポティウイルス突発的拡散が、7250 年前に起こったと推測している^{62,63)}。従ってこの拡散は、農業の開始する直前、まさしく農業開始の夜明け前の時代ではないかと考えている。TuMV 集団についても BEAST で解析し、約 1000 年前アブラナ科植物に感染できるようになったことを明らかとし、現在投稿中である⁴¹⁾。以上の解析結果から、ウイルスはシルクロードを経由して流れてきた植物や農作物が、東アジア地方へのウイルスの流入に関係しているのではないかと現在調査を開始している。

これまでポティウイルス科として 8 属が ICTV で認められて

表1 ポティウイルス科の特徴

属	宿主植物	媒介生物	ゲノム構造
<i>Brambyvirus</i>	バラ科	未発見	1本鎖ゲノム
<i>Bymovirus</i>	イネ科	ネコブカビ科 <i>Polymyxa graminis</i> (永続性)	2本鎖分節ゲノム
<i>Ipomovirus</i>	ユリ科, ヤマノイモ科, トウダイグサ科, ナス科, ウリ科, ヒルガオ科	タバココナジラミ (非永続性)	1本鎖ゲノム
<i>Macluravirus</i>	ヒガンバナ科, アヤメ科, ショウガ科, ヤマノイモ科, クワ科, ヒユ科	アブラムシ (非永続性)	1本鎖ゲノム
<i>Poacevirus</i>	ラン科, イネ科	ダニ (仮説)	1本鎖ゲノム
<i>Potyvirus</i>	30科の様々な植物	アブラムシ (非永続性)	1本鎖ゲノム
<i>Rymovirus</i>	イネ科	eriophyid のダニ	1本鎖ゲノム
<i>Tritimovirus</i>	イネ科	eriophyid のダニ (半永続性) アブラムシ (非永続性)	1本鎖ゲノム

おり、ポティウイルス (146 種) の他、*Brambyvirus* 属 (1 種)、*Bymovirus* 属 (6 種)、*Ipomovirus* 属 (5 種)、*Macluravirus* 属 (6 種)、*Poacevirus* 属 (2 種)、*Rymovirus* 属 (3 種)、*Tritimovirus* 属 (4 種)、まだ属の決定していない 2 種のウイルスが存在する。これらは、遺伝子型の類似性、媒介生物そしてゲノム構造で分類されている (表 1)。分子系統樹においてポティウイルスにもっとも近縁なウイルス属は *Rymovirus* 属であり、*Agropysum mosaic virus*、*Hordeum mosaic virus*、*Ryegrass mosaic virus* が属する。これらが感染するイネ科牧草類は、南西ユーラシア地方で栽培化されたと考えられている。従っておそらくポティウイルスの祖先は、南西ユーラシアや北アフリカにおいてダニ伝搬性の *Rymovirus* の一種からアブラムシの伝搬能力を獲得し、同地方の単子葉植物に感染し広がったのではないかと我々は考えている。

おわりに

人間に感染する幾つかのウイルスでは、人間の移動との関連性について報じられている^{64,65)}。一方植物ウイルスでは、これまでの結果から農作物の移動と最も深く関係しているように思えるが、人間が栽培する農作物を決めていることを考えると、栽培作物や農業の拡散ルートそして人間の移動などにも強い影響を受けて今日まで進化・拡散してきたと思われる。ウイルス進化の解明は、ウイルス学はもちろん従来の植物ウイルス病学や植物病理学そして植物生態学、作物学、育種学、昆虫学など農学に関係する学問だけでは解明できないことが多く、ここに示した分子進化学、分子生態学、集団遺伝学そして生物情報学など様々な学問との融合が今後益々必要になると思われる。今後さらに様々な学問を積極的に研究に取り入れて、未だほとんど分かっていないであろうウイルス進化について、これからも明らかにして行きたいと考えている。なお、さらにポティ

ウイルスの進化に興味のある方は、Adrian Gibbs 博士と私の共著を参考にされたい^{66,67)}。

世界で発生して農作物に大きな被害を及ぼしているウイルス分離株のゲノム型を網羅的に把握することは、言うまでもなく各国でのウイルスゲノムの分子指紋を作成することでもある。本稿で紹介した進化的研究、紹介できなかった宿主適応に関する研究⁶⁸⁻⁷⁰⁾、抵抗性植物の育成に繋がる研究^{71,72)}、さらに多くの研究者が精力的に進めているウイルス耐性に関わる植物側の研究と様々な角度からウイルスを研究することにより、必ず将来植物防疫に貢献すると信じて研究を進めている。

1840 年にエドワード・ヒッチコックが系統樹を最初に描き、チャールズ・ダーウィンもイラストを残した。1866 年にエルンスト・ヘッケルが描いた系統樹は今でも教科書に取り上げられる。生物の進化やその分かれた道筋を表現した大まかな系統樹が、今では分子系統学や分岐分類学に発展している。ウイルス学の世界では、生物学的な手法や血清学的な手法などによりウイルス分類が試みられてきたが、その後塩基配列解析が容易となり大量のウイルスゲノムが明らかになってきた。我々が現在行っている分子進化的研究が、これらの研究の延長線上にあることは間違い無い。

最後に、富村健太博士 (現果樹研究所)、譚 鐘揚博士 (現中国湖南大学)、富高保弘博士 (現中央農業総合研究センター)、小川哲治氏 (現長崎県)、Huy Duc Nguyen 氏 (佐賀大学) の元博士課程と現博士課程の学生諸君を始め、多くの苦勞を共にした卒業生に厚くお礼申し上げる。なお、これらの一連の研究には、特にオーストラリア国立大学名誉教授 Adrian J. Gibbs 博士にはバイオインフォマティクスのご指導と多大なる激励を、イギリスヴォーピック大学国際園芸研究所 John A. Walsh 博士にはヨーロッパ分離株の分譲とご助言をいただき、また世界中の数多くの研究者

から分離株分譲などの多大なる協力をいただいた。心から厚くお礼申し上げる。

引用文献

- 1) Walsh JA and Jenner CE: *Turnip mosaic virus* and the quest for durable resistance. *Mol Plant Pathol* 3: 289-300, 2002.
- 2) Ohshima K: *Turnip mosaic virus*. In *Characterization, Diagnosis & Management of Plant Viruses*. G. P. Rao, P. L. Kumar, Holguin-Pena, R. J. eds., Studium Press LLC, Houston, Texas, USA, p313-30, 2007.
- 3) Revers F, Le Gall O, Candresse T and Maule AJ: New advances in understanding the molecular biology of plant/potyvirus interactions. *Mol Plant-Microbe Interact* 12: 367-76, 1999.
- 4) Riechmann JL, Lain S, Garcia JA: Highlights and prospects of potyvirus molecular biology. *J Gen Virol* 73: 1-16, 1992.
- 5) Shukla DD, Ward CW and Brunt AA: *The Potyviridae*. Wallingford, UK: CABI 516 pp. 1994.
- 6) Shukla DD, Ward CW, Brunt AA and Berger PH: *Potyviridae* family. In *AAB Descriptions of Plant Viruses*. <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=366>, 1998.
- 7) Urcuqui-Inchima S, Haenni AL and Bernardi F: Potyvirus proteins: a wealth of functions. *Virus Res* 74: 157-75, 2001.
- 8) Abhary M, Patil B and Fauquet C: Molecular biodiversity, taxonomy, and nomenclature of tomato yellow leaf curl-like viruses. Czosnek H, ed. In *Tomato yellow leaf curl virus* disease. pp 85-118, 2007.
- 9) Fargette D, Pinel-Galzi A, Sérémé D, Lacombe S, Hébrard E, Traoré O and Konaté G: Diversification of *Rice yellow mottle virus* and related viruses spans the history of agriculture from the neolithic to the present. *PLoS Pathog* 15: e1000125, 2008.
- 10) Fargette D, Pinel A, Rakotomalala M, Sangu E, Traoré O, Sérémé D, Sorho F, Issaka S, Hébrard E, Séré Y, Kanyeka Z and Konaté G: *Rice yellow mottle virus*, an RNA plant virus, evolves as rapidly as most RNA animal viruses. *J Virol* 82: 3584-9, 2008.
- 11) Smith KM: On the composite nature of certain potato virus diseases of the mosaic group as revealed by the use of plant indicators and selective methods of transmission. *Proc R Soc B*;109: 251, 1931.
- 12) Harrison BD, Finch JT, Gibbs AJ, Hollings M, Shepherd RJ, Valenta V and Wetter C: Sixteen groups of plant viruses. *Virology* 45: 356-63, 1971.
- 13) King AMQ, Adams MJ, Carstens EB and Lefkowitz EJ: Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Elsevier/Academic Press. 1327 pp, 2012.
- 14) Robaglia C, Durand-Tardif M, Tronchet M, Boudazin G, Astier-Manificier S and Casse-Delbart F: Nucleotide sequence of potato virus Y (N Strain) genomic RNA. *J Gen Virol* 70: 935-47, 1989.
- 15) Ohshima K, Yamaguchi Y, Hirota R, Hamamoto T, Tomimura K, Tan Z, Sano T, Azuhata F, Walsh JA, Fletcher J, Chen J, Gera A and Gibbs AJ: Molecular evolution of *Turnip mosaic virus*; evidence of host adaptation, genetic recombination and geographical spread. *J Gen Virol* 83: 1511-21, 2002.
- 16) Robertson NL and Ianson DC: First report of Turnip mosaic virus in rhubarb in Alaska. *Plant Dis* 89: 430, 2005.
- 17) Gardner MW and Kendrick JB: Turnip mosaic. *J Agric Res* 22: 123-4, 1921.
- 18) Brunt AA, Crabtree K, Dallwitz MJ, Gibbs AJ, Watson L and Zurcher EJ: Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Ver. 20th, 1996. URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>
- 19) Nicolas O and Laliberté JF: The complete nucleotide sequence of turnip mosaic potyvirus RNA. *J Gen Virol* 73:2785-93, 1992.
- 20) Ohshima K, Tanaka M and Sako N: The complete nucleotide sequence of *Turnip mosaic virus* RNA Japanese strain. *Arch Virol* 141: 1991-7, 1996.
- 21) Chung BY, Miller WA, Atkins JF and Firth AE: An overlapping essential gene in the *Potyviridae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 5897-902, 2008.
- 22) Ohshima K, Sako K, Hiraishi C, Nakagawa A, Matsuo K, Ogawa T, Shikata E and Sako N: Potato Tuber Necrotic Ringspot Disease Occurring in Japan: Its Association with *Potato virus Y* Necrotic Strain. *Plant Dis* 10: 1109-15, 2000.
- 23) Ogawa T, Tomitaka Y, Nakagawa A and Ohshima K: Genetic structure of a population of *Potato virus Y* inducing potato tuber necrotic ringspot disease in Japan; comparison with North American and European populations. *Virus Res* 131, 199-212, 2008.
- 24) Ogawa T, Nakagawa A, Hataya T and Ohshima K: The genetic structure of populations of *Potato virus Y* in Japan; based on the analysis of 20 full genomic sequences. *J Phytopath* 160, 661-673, 2012.
- 25) Ward CW, Weiller G, Shukla DD and Gibbs AJ: Molecular systematics of the Potyviridae, the largest plant virus family. In *Molecular Basis of Virus Evolution*. Gibbs AJ, Calisher CH, Garcia-Arenal H, editors. Cambridge: Cambridge University Press. pp 477-500, 1995.
- 26) Korkmaz S, Tomitaka Y, Onder S and Ohshima K: Occurrence and molecular characterization of Turkish isolates of *Turnip mosaic virus*. *Plant Pathol* 57: 1155-62, 2008.
- 27) Farzadfar S, Tomitaka Y, Ikematsu M, Golnaraghi A, Pourrahim R and Ohshima K: Molecular characterization of *Turnip mosaic virus* isolates from Brassicaceae weeds. *Eur J Pl Pathol* 124: 45-55, 2009.
- 28) Weiller GF: Phylogenetic profiles: a graphical method for detecting genetic recombinations in homologous sequences. *Mol Biol Evol* 15: 326-35, 1998.
- 29) Gibbs MJ, Armstrong JS and Gibbs AJ: Sister-scanning: a Monte Carlo procedure for assessing signals in recombinant sequences. *Bioinformatics* 16: 573-82, 2000.
- 30) Tomimura K, Gibbs AJ, Jenner CE, Walsh JA and

- Ohshima K: The phylogeny of *Turnip mosaic virus*; comparisons of 38 genomic sequences reveal a Eurasian origin and a recent 'emergence' in east Asia. *Mol Ecol* 12: 2099-111, 2003.
- 31) Martin DP, Lemey P, Lott M, Moulton V, Posada D and Lefevre P: RDP3: a flexible and fast computer program for analyzing recombination. *Bioinformatics* 26: 2462-63, 2010.
 - 32) Tan Z, Wada Y, Chen J and Ohshima K: Inter- and intralinear recombinants are common in natural populations of *Turnip mosaic virus*. *J Gen Virol* 85: 2683-96, 2004.
 - 33) Ohshima K, Tomitaka Y, Wood JT, Minematsu Y, Kajiyama H, Tomimura K and Gibbs AJ: Patterns of recombination in *Turnip mosaic virus* genomic sequences indicate hotspots of recombination. *J Gen Virol* 88: 298-315, 2007.
 - 34) Tomimura K, Špak J, Katis N, Jenner CE, Walsh JA, Gibbs, AJ and Ohshima K: Comparisons of the genetic structure of populations of *Turnip mosaic virus* in West and East Eurasia. *Virology* 330: 408-23, 2004.
 - 35) Tomitaka Y and Ohshima K: A phylogeographic study of the *Turnip mosaic virus* population in east Asia reveals an 'emergent' lineage in Japan. *Mol Ecol* 15: 4437-57, 2006.
 - 36) Librado P and Rozas J: DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-2, 2009.
 - 37) Excoffier L and Lischer HEL: Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Res* 10: 564-7, 2010.
 - 38) Wang HY, Liu JL, Gao R, Chen J, Shao YH and Li XD: Complete genomic sequence analyses of *Turnip mosaic virus* basal-BR isolates from China. *Virus Genes* 38: 421-8, 2009.
 - 39) Tomitaka Y, Yamashita T and Ohshima K: The genetic structure of populations of *Turnip mosaic virus* in Kyushu and central Honshu, Japan. *J Gen Plant Pathol* 73: 197-208, 2007.
 - 40) Nguyen HD, Tran HTN and Ohshima K: Genetic variation of the *Turnip mosaic virus* population of Vietnam; a case study of founder, regional and local influences. *Virus Res* in press, 2013.
 - 41) Nguyen HD, Tomitaka Y, Ho SYW, Duchêne S, Vetten H-J, Lesemann D, Walsh JA, Gibbs AJ and Ohshima K: Turnip mosaic potyvirus probably first spread to Eurasian brassica crops from wild orchids about 1000 years ago. submitted, 2013.
 - 42) Lesemann DE and Vetten HJ: The occurrence of tobacco rattle and Turnip mosaic viruses in *Orchis* ssp., and of an unidentified potyvirus in *Cypripedium calceolus*. *Acta Hort* 164: 45-54, 1985.
 - 43) Fuji S and Nakamae H: Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of a Japanese yam mosaic virus, a new potyvirus in Japan. *Arch Virol* 144: 231-40, 1999.
 - 44) Fuji S and Nakamae H: Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of a mild strain of Japanese yam mosaic potyvirus. *Arch Virol* 145: 635-40, 2000.
 - 45) Chen J, Zheng HY, Chen JP and Adams MJ: Characterisation of a potyvirus and a potexvirus from Chinese scallion. *Arch Virol* 147: 683-93, 2002.
 - 46) Chen J, Chen JP, Langeveld SA, Derks AFLM and Adams MJ: Molecular characterization of carla- and potyviruses from *Narcissus* in China. *J Phytopathol* 151: 26-9, 2003.
 - 47) Gibbs AJ, Trueman JWH and Gibbs MJ: The bean common mosaic virus lineage of potyviruses; where did it arise and when? *Arch Virol* 153: 2177-87, 2008.
 - 48) Seo JK, Ohshima K, Lee HG, So M, Choi HS, Lee SH, Sohn SH and Kim, KH: Molecular variability and genetic structure of the population of *Soybean mosaic virus* based on the analysis of complete genome sequences. *Virology* 393: 91-103, 2009.
 - 49) Lin SQ, Shen JG, Gao FL, Cai W, Huang Z, Xie LY and Wu ZJ: Complete genome sequence of narcissus late season yellows virus infecting Chinese narcissus in China. *Arch Virol* 157:1821-4, 2012
 - 50) Drummond AJ and Rambaut A: BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol* 7: 214, 2007. doi:10.1186/1471-2148-7-214.
 - 51) Drummond AJ, Ho SYW, Phillips MJ and Rambaut A: Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biol* 4: e88, 2006.
 - 52) Drummond AJ, Pybus OG, Rambaut A, Forsberg R and Rodrigo AG: Measurably evolving populations. *Trends Ecol Evol* 18: 481-8, 2003.
 - 53) Twiddy SS, Holmes EC and Rambaut A: Inferring the rate and time-scale of dengue virus evolution. *Mol Biol Evol* 20:122-9, 2003.
 - 54) Shackelton LA and Holmes EC: Phylogenetic evidence for the rapid evolution of human B19 erythrovirus. *J Virol* 80: 3666-9, 2006.
 - 55) Davis PL, Holmes EC, Larrous F, Van der Poel WH, Tjørnehøj K, Alonso WJ and Bourhy H: Phylogeography, population dynamics, and molecular evolution of European bat lyssaviruses. *J Virol* 79: 10487-97, 2005.
 - 56) Firth C, Kitchen A, Shapiro B, Suchard MA, Holmes EC and Rambaut A. Using time-structured data to estimate evolutionary rates of double-stranded DNA viruses. *Mol Biol Evol* 27: 2038-51, 2010.
 - 57) Sall AA, Faye O, Diallo M, Firth C, Kitchen A and Holmes EC: Yellow fever virus exhibits slower evolutionary dynamics than dengue virus. *J Virol* 84: 765-72, 2010.
 - 58) Holmes EC and Grenfell BT: Discovering the phylogenomics of RNA viruses. *PLoS Comput Biol* 5:e1000505, 2009.
 - 59) Pagán I, Firth C and Holmes EC: Phylogenetic analysis reveal rapid evolutionary dynamics in the plant RNA virus genus *Tobamovirus*. *J Mol Evol* 71: 298-307, 2010.
 - 60) Pagán I and Holmes EC: Long-term evolution of the *Luteoviridae*: time scale and mode of virus speciation. *J Virol* 84: 6177-87, 2010.
 - 61) Duffy S and Holmes EC: Phylogenetic evidence for rapid rates of molecular evolution in the single-stranded DNA begomovirus *Tomato yellow leaf curl virus*. *J*

- Virol 82: 957-65, 2008.
- 62) Gibbs AJ, Ohshima K, Phillips MJ and Gibbs MJ: The prehistory of potyviruses: their initial radiation was during the dawn of agriculture. *PLoS One* 3: e2523, 2008.
- 63) Gibbs AJ, Fargette D, García-Arenal F and Gibbs MJ: Time – the emerging dimension of plant virus studies. *J Gen Virol* 91: 13-22, 2010.
- 64) Sugimoto C, Kitamura T, Guo J, Al-Ahdal MN, Shchelkunov SN, Otova B, Ondrejka P, Chollet JY, El-Safi S, Ettayebi M, Grésenguet G, Kocagöz T, Chaiyarasamee S, Thant KZ, Thein S, Moe K, Kobayashi N, Taguchi F and Yogo Y: Typing of urinary JC virus DNA offers a novel means of tracing human migrations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 9191-6, 1997.
- 65) Yogo Y, Zhong S, Suzuki M, Shibuya A and Kitamura T: Occurrence of the European subgroup of subtype I BK polyomavirus in Japanese-Americans suggests transmission outside the family. *J Virol* 81: 13254-8, 2007.
- 66) Gibbs AJ and Ohshima K: Potyviruses in the digital age. *Annu Rev Phytopathol* 48: 205-23, 2010.
- 67) Gibbs AJ, Gibbs M, Ohshima K, Garcia-Arenal F: More about plant virus evolution; past, present and future. In: Domingo, E., Parrish, C.R., Holland, J.J. (Eds.), *Origin and Evolution of Viruses.*, 2nd ed. Elsevier Academic Press, London, UK pp. 229-250, 2008.
- 68) Suehiro N, Natsuaki T, Watanabe T and Okuda S: An important determinant of the ability of *Turnip mosaic virus* to infect *Brassica* spp. and/or *Raphanus sativus* is in its P3 protein. *J Gen Virol* 85: 2087-98, 2004.
- 69) Tan Z, Gibbs AJ, Tomitaka Y, Sanchez F, Ponz F and Ohshima K: Mutations in turnip mosaic virus genomes that have adapted to *Raphanus sativus*. *J Gen Virol* 86: 501-10, 2005.
- 70) Ohshima K, Akaishi S, Kajiyama H, Koga R and Gibbs AJ: Evolutionary trajectory of turnip mosaic virus populations adapting to a new host. *J Gen Virol* 91: 788-801, 2010.
- 71) Jenner CE, Tomimura K, Ohshima K, Hughes SL and Walsh JA: Mutations in *Turnip mosaic virus* P3 and cylindrical inclusion proteins are separately required to overcome two *Brassica napus* resistance genes. *Virology* 300: 50-9, 2002.
- 72) Jenner CE, Wang X, Tomimura K, Ohshima K, Ponz F and Walsh JA: The dual role of the potyvirus P3 protein of *Turnip mosaic virus* as a symptom and avirulence determinant in brassicas. *Mol Plant-Microbe Interact* 16: 777-84, 2003.

Plant potyvirus evolution: the survey of the genetic structure of populations

Kazusato OHSHIMA

Laboratory of Plant Virology, Department of Applied Biological Sciences,
Faculty of Agriculture, Saga University, 1-banchi, Honjo-machi, Saga 840-8502, Japan
ohshimak@cc.saga-u.ac.jp

The *Potyvirus* is the largest genus of the largest family of plant RNA viruses, the *Potyviridae*. The potyviruses infect not only dicotyledonous but also monocotyledonous plants. The potyvirus phylogeny shows that the genus probably originated from a virus of monocotyledonous plants and that it first diverged approximately 7250 years ago in Southwest Eurasia or North Africa. *Turnip mosaic virus* (TuMV) belongs to the genus *Potyvirus* and infects a wide range of plant species, most from the family *Brassicaceae*. TuMV is most studied a potyvirus species for molecular evolution and the genetic structure of populations. The use of computer programs for better understanding of the evolution and the genetic structures of populations of potyviruses and TuMV are illustrated.