

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03850

研究課題名(和文) 包括的ピローム解析に基づくウイルス海洋学の創生基盤

研究課題名(英文) Foundation of virus oceanography based on comprehensive virome analysis

研究代表者

吉田 天士 (Yoshida, Takashi)

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：80305490

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：海洋微生物ウイルスは、宿主の溶菌を通じて有機物の流れを変え、物質循環過程に深く関与する。本課題は包括的ウイルスメタゲノム(ピローム)解析法を応用し、微生物・ウイルス群集を高解像度に解析し、新たな海洋生態系の理解に向けた基盤を構築する。宿主未同定のウイルスゲノムから海洋優占系統バクテロイデス門細菌ウイルスを検索する手法を構築し、81の新たな本門ウイルスを見出した。本手法を適用し、大阪湾口部における2年間の調査から海洋優占微生物-ウイルスは季節的な変動を示し、一対多数で相互作用することが明らかとなった。本手法により、淡水シアノバクテリアに感染する13の新規ウイルスを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋生態系は極めて多様な微生物の代謝過程に支えられている。微生物感染性ウイルスは、宿主微生物の数をはるかに上回ることから、ウイルスごとの宿主微生物、多様性と分布を明らかにすることが、物質循環過程を理解する上で極めて重要である。本研究では包括的メタゲノム手法を確立し、計49属646種について新たにウイルスを同定することに成功した。これらの動態を2年間にわたって調査し、宿主1種に対して複数のウイルス群集が相互作用し、宿主動態に応じて季節変動することを示した。ウイルス-微生物の組み合わせごとに溶菌過程を把握する基礎技術を構築したことで、海洋物質循環過程をより高解像度に理解できることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Marine microbial viruses change the carbon flux through lysis of the host and are involved in the in the global carbon cycle. In this subject, we applied our comprehensive viral metagenomic (virome) analysis method to analyze microorganisms and virus communities at high resolution and build a foundation for understanding a new marine ecosystem. First, we constructed a method to search for viruses infecting a marine dominant lineage Bacteroides from the host-unidentified viral genomes by bioinformatics and found 81 viruses. By applying this method, we analyzed monthly microbial and viral community changes in the Osaka Bay for two years. The potential host-virus interactions showed seasonal variation and were visualized as one-to-many pairs. Furthermore, 13 new freshwater cyanobacterial viruses were found by this method.

研究分野：海洋微生物学

キーワード：海洋低次生態系 ウイルス 微生物 メタゲノム ピローム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海洋における一次生産は主に植物プランクトンが担い、その純生産量は陸上に匹敵すると推定されている。生合成された有機物を起点として、海洋生態系は極めて多様な微生物の代謝過程に支えられている。rRNA 遺伝子に基づく分子系統解析・群集構造解析(マイクロバイオーム解析)が導入され、海洋微生物の多様性、分布や動態への全球的な理解が深まってきた。¹⁾一方ウイルスは、その数で潜在的宿主といえる微生物の数をはるかに上回り(海洋全体で 10^{31} 粒子)同時に極めて大きな遺伝的多様性を含有する(図1)。^{2),3)}日々10%~40%もの微生物がウイルスにより感染・溶菌していると試算され、ウイルスは、有機物の流れを変え、海洋物質循環過程に深く関与する。³⁾これらウイルスは、それぞれ固有の宿主特異性を持ち合わせるため、それぞれどの微生物と相互作用するのか(“Who infects whom?” 問題)を紐解き、ウイルス種ごとに多様性と分布状況を明らかにすることが、海洋物質循環過程を理解する上で極めて重要な課題であると認識されるようになった。⁴⁾

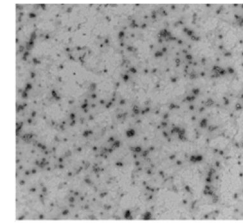


図1. 大阪湾ウイルス画分のネガティブ染色像

しかしながら、海洋ウイルスの生態学的理解には大きな障壁がいくつも立ちだかっている。⁴⁾微生物種数は数百万とも見積もられるが、これまで分離された微生物はその1%にも満たない。そのため海洋微生物のウイルスの分離報告事例も極めて限定的である。加えて、1つの生物種に対して1000種のウイルスがいるとの試算もあり、個々の微生物種に対して分離に依存したウイルスの包括的理解は不可能である。さらに、ウイルスにはrRNA遺伝子のような共通遺伝子は存在しない。⁴⁾シーケンス技術の向上に伴い、ウイルス画分のメタゲノム(Virome, ピローム)解析も盛んに行われるようになったが、極めて大きな割合のピローム配列(~90%)は登録配列にホモログがない。⁴⁾これらの障壁ゆえ、“Who infects whom?”問題は言うに及ばず、海洋ウイルスの遺伝的多様性、分布や動態の把握も困難な状況にあった。

申請者は、長期にわたる淡水ラン藻とそのウイルス相互作用に関する生態学的調査から、1)ある環境で特定の微生物個体群が増加しても、ウイルスによる感染頻度が増してその個体群は減少し(頻度依存的選択)もとの遺伝的多様性が維持されること、2)増加した微生物ウイルス系では、微生物によるウイルス耐性獲得ウイルスによる防御回避という軍拡競争により、急速に両者の遺伝的变化が起こるとの観察結果を得た。⁵⁾⁻¹¹⁾

この結果に基づき、1)ピロームに高い頻度で現れるウイルス配列は、その環境に適応して優占した微生物と相互作用して放出された粒子に由来する。2)ピロームに優占するウイルス配列は、それ以前に採取された宿主トランスクリプトームに観察される、との仮説を立て、微生物群集とウイルス群集を時系列的に相互検索する包括的メタゲノム解析法を確立した。

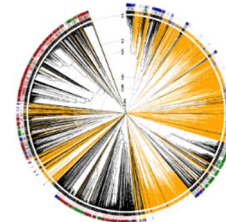


図2. ゲノム類似度に基づく二本鎖DNAウイルス系統樹上の約3700のウイルスゲノムのうち、黄色の枝は我々が得た新たな1,352のウイルスゲノム

また重要なことは、本仮説1)の見方を変え、ある環境に多いウイルスを知り、その宿主を推定することにより、その環境における微生物群集のうち、活発に増殖し、物質循環過程に対して重要度の高い微生物(おそらく個体群レベル)を抽出することが可能となる。

本手法により1352の海洋ウイルスの完全長ゲノムを獲得すること成功した(図2)。全ゲノム配列の類似度に基づき、既報の約2400ウイルスゲノムと合わせて分類し、約600属の新たなウイルス属を見出した。これは既知のウイルス分類群を2倍以上に拡充したことを意味する。さらに、申請者らはこれら新規ウイルスゲノムに対してピロームおよび宿主トランスクリプトーム配列をマッピングすることにより、ウイルスごとに出現動態・発現動態を定量的に把握する手法を確立しつつあった(図3)。

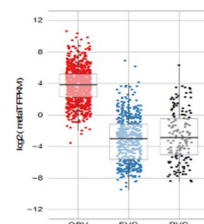


図3. 大阪湾からの微生物画分トランスクリプトームにおける、ウイルス配列の出現頻度の比較
→大阪湾に由来するウイルスゲノムに対する頻度が高いことがわかる
→ウイルス構造は局所的であり、同所的なウイルス感染が確認された
縦軸はゲノムにマッピングされた配列の頻度を示す。
OBV: 大阪湾から構築したウイルスゲノム
EVG: 大阪湾以外の世界の海洋から構築したウイルスゲノム
RVG: データベース上のリファレンスウイルスゲノム

つまり、生命分野に大きな変革を起こしつつある16S rRNA遺伝子によるマイクロバイオーム解析のように、ウイルス学に対して、ゲノムを用いた群集・動態解析を新たに提案した(包括的ウイルスメタゲノム解析法)。ウイルス群集構造・動態をゲノム単位で明らかにし、環境で真にアクティブな宿主微生物構造を推定し、ウイルスによる物質循環過程を再構築しようとした研究は皆無である。

【参考文献】

- 1) Sunagawa et al. *Science* 348, 1261359 (2015).
- 2) Bergh, Ø. et al. *Nature* 340, 467-468 (1989).
- 3) Suttle, C. A. 2007. *Nat. Rev. Microbiol.* 5:801-812.
- 4) Brum & Sullivan. *Nature Rev. Microbiol.* 13, 147-159 (2015).
- 5) Yoshida, T. et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 72,1239-1247 (2006).
- 6) Yoshida T. et al. *J. Bacteriol.* 190, 1762-1772. (2008)
- 7) Yoshida M. et al. *FEMS Microbiol. Lett.* 266, 49-53(2007).
- 8) Yoshida M. et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 3269-3273. (2008)
- 9) Kuno S. et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 5353-5360 (2012).
- 10) Kimura, S., et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 5805-5811(2012).
- 11) Kimura, S., et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 2789-2795 (2013).
- 12) Fujikura, K. et al. *PLOS ONE*, e11836 (2010).
- Nishimura et al. *mSphere*. 2, e00359-16 (2017).

2. 研究の目的

申請者らが開発した包括的ウイルスメタゲノム（ピローム）解析法を応用し、海洋に大量に浮遊する微生物ウイルス群集を次の研究により高解像度に解析し、新たな海洋システム理解への基盤を創生することを目的とした。

- (1) 海洋ウイルス画分から完全長ゲノムを多数構築して、日本近海における空間的・時系列的なウイルス群集構造の定量的動態解明を行う。
- (2) 微生物動態解析とメタ発現解析によりウイルス-宿主感染動態を網羅的に解明する。
- (3) (1)と(2)で得られる情報を物理化学的環境データとつきあわせて、微生物群集構造に及ぼす海洋ウイルスの影響を高解像度に解明する。

3. 研究の方法

(1) 生物情報学的手法による新規海洋ウイルス-宿主系の網羅的探索

先行研究で海洋メタゲノムより構築された完全長 1,811 ユイルスゲノムのうち宿主が同定されたウイルスゲノムはわずか 400 程度にとどまっていた。そこでまず、海洋に広く優占する Bacteroidetes 門細菌を宿主とするウイルスについて、新たに登録された海洋メタゲノム由来の本門細菌 518 ゲノム(以降、MAG と略記)の配列情報と次の指標で突合せ新規感染系の探索手法を確立した。既報の 4 指標：(a)宿主 CRISPR スペーサー領域、(b) tRNA 相同性、(c)塩基配列相同性、(d)オリゴヌクレオチド頻度距離および (d)ウイルスゲノム上の宿主ホモログの割合に基づく新規指標。(d)について具体的には、分離培養系が確立された 53 本門ウイルスと 100 種の他系統の原核生物のウイルスについて、本門細菌のホモログが占める割合を算出・比較し、閾値を設定した。その閾値を上回るゲノムを新規本門ウイルスとして抽出した。

(2) 日本近海における空間的・時系列的なウイルス群集構造の定量的解析

大阪湾湾口部で月に 1 回試料を採取してきた。本解析では 2015 年 5 月～2016 年 11 月の試料を用いた。3 μm フィルター、0.2 μm フィルターで濾過して微生物を捕集し、真核・原核微生物画分として、それぞれ 18S rRNA (V8-V9 領域)・16S rRNA (V3-V4 領域) 遺伝子のアンプリコンシーケンスに供した。期間を通じて平均 0.4%以上もしくは一度でも 2.5%以上の相対量を示すことを基準として優占 OTUs(配列相同性基準は原核生物が 99%、真核生物が 97%)を抽出した。さらに優占原核生物 OTUs から塩基多型の統計処理により種内個体群(Amplicon sequence variants, ASVs)を検出した。またウイルス画分よりウイルスを精製し、抽出した DNA からライブラリーを構築して MiSeq (イルミナ社)に供した。得られたリードをアセンブルしてゲノムを構築し、ViPTree でゲノム類似度に基づき分類した。さらにリードマッピングによりその相対頻度を算出した。期間を通じ平均相対量 0.1%を上回るウイルスを選抜し、微生物動態と共に eLSA での共起ネットワーク解析に供し、潜在的相互作用を推定した。

(3) 標識 FISH 法と細胞分取を組み合わせたウイルス-宿主感染系同定技術の確立

FISH標識細胞の分取に先立ちクロロフィル自家蛍光を指標として、シアノバクテリアの分取を試みた。大阪湾湾口部で、2018年10月30日の13時と18時に海水を採取し、3 μm フィルターで真核生物を除去し、0.2 μm フィルターに原核微生物を捕集した。フィルター上の原核微生物をセルソーター-3e (バイオラッド社)に供し、650 nmの自家蛍光を有する集団をゲートし、10万細胞を分取し、(2)と同様にして16S rRNAアンプリコン解析に供した。

(4) 海洋性真核微細藻類が原核生物群集構造に与える影響に関する研究

Heterosigma akashiwo (NIES-293株)を f/2 培地を用いて対数増殖中期まで培養した。得られた培養を均等に分け、一方を濾過して細胞を除き細胞外有機物を得た。もう一方を遠心分離して細胞を回収・破碎して細胞内有機物を得た。大阪湾で採取した海水を ϕ 3 μm および ϕ 0.2 μm フィルターで濾過し、濾過した原核生物を滅菌海水に懸濁し、2種の有機物および対照区として f/2 培地を添加し、二週間培養した。計 3 区画について 3 本立てで実験を行い、一日おきに試料を採取し、計数と DNA 抽出を行った。16S rRNA 遺伝子を標的に (2) と同様にしてアンプリコン解析を行った。

(5) アオコ原因ラン藻 *Microcystis aeruginosa* の新規ウイルスの網羅的探索

Microcystis aeruginosa は富栄養化した湖沼でアオコを形成する代表的ラン藻である。本種動態には唯一の分離株 Ma-LMM01 タイプを含むウイルスが大きく寄与と考えられている。しかし、宿主ゲノム上のウイルス感染履歴 (CRISPR スペーサー) の中で Ma-LMM01 と相同性を示す配列は 1%に満たない。2017 年 10 月 19 日 18 時と 20 日 6 時に京都府広沢池から環境試水を採取した。我々が開発した (1) の手法を応用しウイルスメタゲノム (ピローム) 解析手法を用いて本種動態に影響を与える新規ウイルスの探索を試みた。

4. 研究成果

(1) 生物情報学的手法による新規海洋ウイルス-宿主系の網羅的探索

まず既報の 4 つ指標を用い、分離株および MAG 由来の宿主ゲノムを参照したところ、それぞれ 7

個と 26 個のウイルスゲノムが Bacteroidetes 門感染性ウイルスと予測された。ウイルス宿主予測には、MAG がより有効だった。次に新たな指標としてウイルスゲノム上の全遺伝子に占める Bacteroidetes 門細菌ホモログの割合を調べた。その結果、分離された既知 Bacteroidetes 門感染性ウイルスにおいて高く(平均 36%)、他系統を宿主とする原核生物ウイルスでは、最大でも 8%であった(平均 1%)(図 4)。そこで 8%を閾値とし、1,881 ウイルスゲノムより 311 個を本門ウイルスとして抽出した。指標間での重複を除き計 321 個の Bacteroidetes 門感染性ウイルスゲノムを得ることに成功した。ゲノム類似度に基づきこれらは 96 属に分類された。このうち、275 ゲノムはプロテオミックスツリー上で既知本門ウイルスの近傍に位置した。64 ゲノムは、ほぼ全てが海洋未分離ウイルスからなる 19 系統に分類された。その一系統は、T4 系である Far-T4 ウイルス系統であった(図 5)。キャプシド遺伝子に基づく解析から海の水圏に普遍的に生息するウイルスであると知られてきたが、本研究により初めて本ウイルス系統が Bacteroidetes 門感染性であり全ゲノムを提示するに至った。以上のように既知の本門ウイルス分離株とは系統的に異なる多様な海洋本門ウイルスの存在が明らかにし、Frontiers in Microbiology 誌に掲載された。

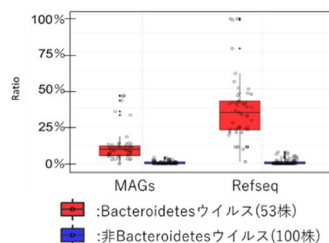


図4. ウイルス分離株のBacteroidetesホモログの割合

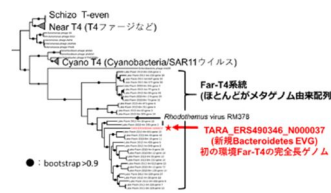


図5. Far-T4系Bacteroidetesウイルスのキャプシドタンパク質アミノ酸配列に基づく最尤系統樹

(2) 日本近海における空間的・時系列的なウイルス群集構造の定量的解析

シーケンス解析から真核微生物 3,037 OTUs (相同性 97%) 原核生物 35,192 OTUs (相同性 99%) およびウイルス 5,226 コンティグ (>10 kb) をそれぞれ得た。優占微生物 (原核:47 OTUs, 真核:47 OTUs) およびウイルス (2,212 コンティグ) を抽出した。ウイルスでは (1) の手法を応用し、49 属 646 種について、新規に潜在的宿主域を明らかにした。それら優占系統の相対量はそれぞれの画分の 55%、67%および 49 %を占めた。優占原核生物からは種内個体群 ASVs が 83 個検出された。

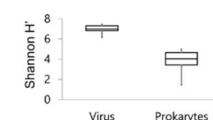


図6. 大阪湾のウイルス・原核微生物の群集多様性の比較

まず、原核生物とウイルスの多様性を比較した。Shannon 指数に基づき算出した群集の多様性はウイルスのほうが高く、種数・均等度が共に高かった(図 6)。このことから、原核生物-ウイルス間相互作用には、一つの原核生物に対し、多数のウイルスが感染する「一対多」の関係が示唆された。また、月ごとの多様性を比較すると、ウイルスの方が月ごとの類似度が低く、同じ原核生物群集に対する、感染ウイルスの変化が示唆された(図 7)。全優占系統を用いた共起ネットワーク解析からは、計 3,719 個の有意な正の相関関係 (LS > 0.6, P < 0.01) を見出した。原核生物-ウイルス間では 2,883 個検出された。例えば *Flavobacteria* の 14 ASVs と 93 *Flavobacteria* ウイルスの間で、一対多の相互作用が見られた。一方、*Synechococcus* の優占 1ASVs では、ウイルスとの相関がほぼ検出されなかったが、本系統の優占する夏季に年ごと異なるシアノウイルス集団が優占し、相互作用するウイルスの変化の例だと考えられた。本研究により、優占原核生物に対する多様なウイルスからの相互作用が可視化できた。

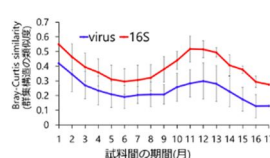


図7. 大阪湾の原核生物・ウイルスの試料採取期間の差と群集類似度の変動

また、全 18 試料から計 1,311,824 配列を得た。高次分類群別の相対量は、Opisthokonta (55%)、Alveolata(16%)、Stramenopiles(12%)、Rhizaria(6%)、Archaeplastida(6%)、その他(4.5%)だった。計 23,735 OTUs のうち、Metazoa 以外の系統から優占 47 OTUs を抽出した。優占 OTUs は 66% を占め、多くが珪藻・渦鞭毛藻・緑藻だった。調査期間中、大阪湾で赤潮が報告された珪藻の *Thalassiosira* 属、渦鞭毛藻の *Gymnodinium* 属、ラフィド藻の *Heterosigma* 属などは優占 OTUs に含まれ、月によって全配列の 10%以上を占めた。現在、これら真核微生物を含め原核生物・ウイルス群集との相互作用解析を進めている。

(3) 標識FISH法と細胞分取を組み合わせたウイルス-宿主感染系同定技術の確立

13時と18時に採取した海水の原核微生物画分を蛍光顕微鏡で観察したところ、自家蛍光を有する細胞はそれぞれ17%と31%だった。次に本試料をセルソーターに供し、クロロフィルの自家蛍光が高く、細胞が小さい集団を分取したところ、それぞれで95%と84%に自家蛍光が観察された。分取した試料のアンプリコン解析で得たシアノバクテリアOTUsは96%と90%を占め、4つの種内個体群で90%以上を占めた(図8)。従って、環境試料からシアノバクテリアを高純度に分取することに成功した。本成果により、2018年度日本水産学会近畿支部会において最優秀発表賞を受賞した。

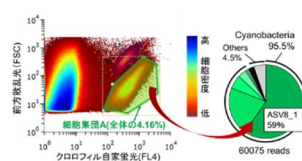


図8. セルソーターを用いたシアノバクテリアの分取

(4) 海洋性真核微細藻類が原核生物群集構造に与える影響に関する研究

海洋の一次生産は主に真核微細藻類が担い、多様な種から構成される。従って海洋における原

核生物群集構造は、各微細藻類種が生成する有機物の差異に影響を受ける。藻類由来有機物は、分泌により細胞外へ放出されるものと、溶藻や捕食により細胞内から溶出するものに大別されるが、それらが原核生物群集に与える影響は不明であった。本研究では、海洋原核生物を用いたマイクロゾムを構築し、それらの有機物に応答する微生物群集構造の遷移の差異を解析した。3つの実験区において、細菌密度は約 3×10^6 cells/mL から約 5×10^6 cells/mL まで増加した後減少し、 1×10^6 cells/mL まで再び増加した。アンプリコン解析により実験区ごとにそれぞれ 1,205,832~4,014,783 配列、2,287~3,348 OTUs を得た。菌叢は、培養 3 日目以降、対照区と有機物添加区で異なった。2 種の有機物添加区間でも差が認められ、培養実験を用い赤潮種 *Heterosigma akashiwo* に応答する 13 微生物系統を抽出した (表 1)。このうち少なくとも 2 系統は環境中での本種ブルームに応答して増加することが示唆された。本成果は、Microbes and Environments 誌に受理された。

表 1. 細胞外有機物区 (Op1) 試料に特徴的に出現した 13 系統 OTU

OTU ID	門	門下注釈	科
OTU_11	○	○	○
OTU_13	○	○	○
OTU_36	○	○	○
OTU_401	○	○	○
OTU_30	○	○	○
OTU_185	○	○	○
OTU_189	○	○	○
OTU_245	○	○	○
OTU_243	○	○	○
OTU_1413	○	○	○
OTU_24	○	○	○
OTU_131	○	○	○
OTU_62	○	○	○

(赤字は未分類 OTU)

(5) アオコ原因ラン藻 *Microcystis aeruginosa* の新規ウイルスの網羅的探索

環境試料から構築したピロームより 960 ウイルスコンティグ (10 kb) が得られ 14 の本種ウイルスコンティグを抽出した。これらのコンティグは大きく 5 つのグループに分けられ、1 つは Ma-LMM01-type myovirus であった。3 グループは新規本種ウイルスであり、*Synechococcus* virus CBS1 および CBS3 (シホウイルス科) *Phormidium* virus PhV1A および PhV1B (環境ウイルスゲノム) に近縁なグループと既知ウイルスと共有ホモログを持たないグループに分けられた。公開されている本種由来全 3655 スーパー配列に対し、約 5% (178 スーパー) がこれらゲノムと一致し、本種と相互作用するウイルスゲノムを 5 倍拡充した。また国内のみならず広く海外産の本種スーパーと一致するため、これらのウイルスは普遍的に存在すると示唆された。本成果は、米国微生物学会が刊行する Applied and Environmental Microbiology 誌に掲載され、掲載号の表紙に試料採取地の写真が採択された。

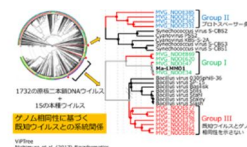


図 9. メタゲノム解析で同定した 15 の本種ウイルス

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Hiroaki Takebe, Kento Tominaga, Kentaro Fujiwara, Keigo Yamamoto and Takashi Yoshida	4. 巻 -
2. 論文標題 Differential Responses of Coastal Prokaryotic Community to Phytoplanktonic Organic Matter Derived from Cellular Component and Exudate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbes and environments	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） -	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yanze Li, Hisashi Endo, Yasuhiro Gotoh, Hiroyasu Watai, Nana Ogawa, Romain Blanc-Mathieu, Takashi Yoshida, Hiroyuki Ogata	4. 巻 34
2. 論文標題 The Earth Is Small for “Leviathans”: Long Distance Dispersal of Giant Viruses across Aquatic Environments	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbes and environments	6. 最初と最後の頁 334 ~ 339
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1264/jsme2.ME19037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Morimoto Daichi, Tominaga Kento, Nishimura Yosuke, Yoshida Naohiro, Kimura Shigeko, Sako Yoshihiko, Yoshida Takashi	4. 巻 85
2. 論文標題 Cooccurrence of Broad- and Narrow-Host-Range Viruses Infecting the Bloom-Forming Toxic Cyanobacterium <i>Microcystis aeruginosa</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 e01170-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/AEM.01170-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Okazaki Yusuke, Nishimura Yosuke, Yoshida Takashi, Ogata Hiroyuki, Nakano Shin ichi	4. 巻 21
2. 論文標題 Genome resolved viral and cellular metagenomes revealed potential key virus host interactions in a deep freshwater lake	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 4740 ~ 4754
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1111/1462-2920.14816	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kentō Tominaga, Daichi Morimoto, Yosuke Nishimura, Hiroyuki Ogata and Takashi Yoshida	4. 巻 28
2. 論文標題 In silico Prediction of Virus-Host Interactions for Marine Bacteroidetes With the Use of Metagenome-Assembled Genomes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00738	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takashi Honda., Daichi Morimoto., Yoshihiko Sako and Takashi Yoshida	4. 巻 20
2. 論文標題 LexA binds to transcription regulatory site of cell division gene ftsZ in toxic cyanobacterium <i>Microcystis aeruginosa</i> .	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Marine Biotechnology	6. 最初と最後の頁 549-556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10126-018-9826-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yanze Li, Pascal Hingamp, Hiroyasu Watai, Hisashi Endo, Takashi Yoshida and Hiroyuki Ogata.	4. 巻 10
2. 論文標題 Degenerate PCR primers to reveal the diversity of giant viruses in coastal waters.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v10090496	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Roux S., Adriaenssens, E.M., , , , , Ogata, H., , , , , , , , , , Yoshida, T., , , , , .全60名.	4. 巻 37
2. 論文標題 Minimum Information about an Uncultivated Virus Genome (MIUViG): a community consensus on standards and best practices for describing genome sequences from uncultivated viruses.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Biotechnology	6. 最初と最後の頁 29-37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nbt.4306	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshida Takashi, Nishimura Yosuke, Watai Hiroyasu, Haruki Nana, Morimoto Daichi, Kaneko Hiroto, Honda Takashi, Yamamoto Keigo, Hingamp Pascal, Sako Yoshihiko, Goto Susumu, Ogata Hiroyuki	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Locality and diel cycling of viral production revealed by a 24 h time course cross-omics analysis in a coastal region of Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The ISME Journal	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1038/s41396-018-0052-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Morimoto Daichi, Kimura Shigeiko., Sako Yoshihiko., Yoshida Takashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Transcriptome Analysis of a Bloom-Forming Cyanobacterium <i>Microcystis aeruginosa</i> during Ma-LMM01 Phage Infection	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 Article 2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kimura Shigeiko, Uehara Mika, Morimoto Daichi, Momoko Yamanaka, Sako Yoshihiko., Yoshida Takashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Incomplete Selective Sweeps of <i>Microcystis</i> Population Detected by the Leader-End CRISPR Fragment Analysis in a Natural Pond	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 Article 425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00425	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Sigitas Sulsius, Daichi Morimoto, Kento Surname, Gediminas Alzbutas, Jolita Kuznecova, Eugenijus Simolisnas, Ricardas Palkauskas, Emelie Nilson, Karin Holmfeldt & Takashi Yoshida
2. 発表標題 Baltic sea cyanopages: diversity, distribution and insights into virus-host interaction
3. 学会等名 Aquatic Virus Workshop 9 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名	Daichi Morimoto, Kento Tominaga, Yosuke Nishimura, Naohiro Yoshida, Shigeko Kimura, Yoshihiko Sako, Takashi Yoshida
2. 発表標題	Transcriptome analysis of a toxic bloom-forming cyanobacterium <i>Microcystis aeruginosa</i> during Ma-LMM01 phage infection
3. 学会等名	Aquatic Virus Workshop 9 (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	Kimura, S., M. Uehara, D. Morimoto, M. Yamanaka, Y. Sako and T. Yoshida.
2. 発表標題	<i>Microcystis</i> population dynamics associated with its infectious phages detected by the leader-end CRISPR fragment analysis in a natural pond
3. 学会等名	Aquatic Virus Workshop 9 (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	Okazaki Y., Nishimura Y., Ogata H., Yoshida T., Nakano S.
2. 発表標題	Comprehensive viromics uncovered the diverse viral community in a deep freshwater lake.
3. 学会等名	ISME17 (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	武部 紘明・富永賢人・山本圭吾・左子芳彦・吉田天士
2. 発表標題	海洋性真核微細藻類が原核生物群集構造に与える影響に関する研究
3. 学会等名	平成30年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年	2018年

1. 発表者名 富永賢人・晴気七菜・吉安勇人・綿井博康・山本圭吾・左子芳彦・吉田天士
2. 発表標題 海洋微生物・ウイルス間相互作用の解明に向けた海洋真核微生物の群集ダイナミクス解析
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shigeko Kimura, Mika Uehara, Daichi Morimoto, Momoko Yamanaka, Yoshihiko Sako and Takashi Yoshida
2. 発表標題 Natural population dynamics of <i>Microcystis aeruginosa</i> associated with its infectious phages detected by the leader-end CRISPR fragment analysis
3. 学会等名 2018環境ウイルス研究集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Daichi Morimoto, Kento Tominaga, Shigeko Kimura, Yoshihiko Sako, Takashi Yoshida
2. 発表標題 Cross-Omics analysis of a toxic bloom-forming cyanobacterium <i>Microcystis aeruginosa</i> and its viruses
3. 学会等名 2018環境ウイルス研究集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Prodingner F., Yanze L., Morimoto D., Omae K., Tominaga K., Gotoh Y., Takano Y., Nagasaki K., Hingamp P., Endo H., Yoshida T., Ogata H
2. 発表標題 Optimization of a metabarcoding method for a major group of giant viruses in the environment
3. 学会等名 2018環境ウイルス研究集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kento Tominaga, Hiroyuki Ogata, Yosihiko Sako, and Takashi Yoshida
2. 発表標題 New lineages of marine Bacteroidetes viruses identified by MAGbased host prediction and their ecological interaction with hosts bacteria
3. 学会等名 The 5th International Conference of Members of the Genus Flavobacterium 'Flavobacterium 2018' (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 磯崎達大・富永賢人・左子芳彦・吉田天士
2. 発表標題 海洋における原核微生物とウイルスの感染ペア同定に向けた特定細胞集団の高純度回収法
3. 学会等名 日本水産学会近畿支部 平成30年度後期例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富永賢人、晴気七菜、藤原健太郎、西村陽介、山本圭吾、綿井博康、左子芳彦、緒方博之、吉田天士
2. 発表標題 大阪湾における海洋微生物・ウイルスの群集ダイナミクスと生態学的相互作用解析
3. 学会等名 第13回日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森本大地・吉田尚寛・左子芳彦・吉田天士
2. 発表標題 アオコ原因ラン藻 <i>Microcystis aeruginosa</i> と相互作用する新規ウイルスの定量的検出法の確立と環境動態解析
3. 学会等名 平成31年日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 磯崎達大・富永賢人・山本圭吾・左子芳彦・吉田天士
2. 発表標題 セルソータ による高純度細胞分取法を利用した海洋ラン藻の細胞内ウイルス定量法の確立の試み
3. 学会等名 平成31年日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富永賢人・西村陽介・山本圭吾・緒方博之・左子芳彦・吉田天士
2. 発表標題 大阪湾の海洋微生物・ウイルスの生態学的相互作用解析
3. 学会等名 平成31年日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nana Haruki, Hiroyasu Watai, Yuto Yoshiyasu, Kana Sawada, Keigo Yamamoto, Masami Suzuki, Yoshihiko Sako and Yoshida Takashi
2. 発表標題 Seasonal dynamics of eukaryotic microbes and prokaryotes in Osaka Bay, Japan
3. 学会等名 日本水産学会創立85周年記念国際シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Daichi Morimot, Takashi Honda, Mai Nakata, Yoshiko Sako and Takashi Yoshida
2. 発表標題 Transcriptome analysis of <i>Microcystis aeruginosa</i> during Ma-LMM01 phage infection
3. 学会等名 日本水産学会創立85周年記念国際シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Yoshida
2. 発表標題 What does viral metagenomics provide for future marine ecology and resources?
3. 学会等名 日本水産学会創立85周年記念国際シンポジウム（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 富永賢人、西村陽介、綿井博康、山本圭吾、晴気七菜、左子芳彦、高野義人、緒方博之、長崎慶三、吉田天士
2. 発表標題 ウイルス分類ツールViPTreeによる大阪湾における海洋ウイルス群集の季節変動の解析
3. 学会等名 第三回新学術領域「ネオウイルス学」領域班会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐々木彩、森本大地、左子芳彦、吉田天士
2. 発表標題 DropLet Digital PCR法を用いた有毒ラン藻 <i>Microcystis aeruginosa</i> の直接定量法の確立
3. 学会等名 日本水産学会近畿支部後期例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takashi Yoshida
2. 発表標題 The cross-omics of marine viruses: ecological perspective
3. 学会等名 第12回日本ゲノム微生物学会年会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富永寛人、左子芳彦、緒方博之、吉田天士
2. 発表標題 未分離の海洋性バクテロイデス門細菌感染ウイルスゲノムの探索と同定
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森本大地、吉田尚寛、左子芳彦、吉田天士
2. 発表標題 アオコ原因ラン藻 <i>Microcystis aeruginosa</i> の新規ウイルスの網羅的探索
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Yoshida, T., Morimoto, D., Kimura, S.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer Singapore	5. 総ページ数 278
3. 書名 DNA Traffic in the Environment.	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>海洋分子微生物学研究室ホームページ http://www.microbiology.marine.kais.kyoto-u.ac.jp/</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	緒方 博之 (Ogata Hiroyuki) (70291432)	京都大学・化学研究所・教授 (14301)	
研究分担者	中野 伸一 (Nakano Shinichi) (50270723)	京都大学・生態学研究センター・教授 (14301)	
研究分担者	左子 芳彦 (Sako Yoshihiko) (60153970)	京都大学・農学研究科・教授 (14301)	