

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料 〔令和5（2023）年度 中間評価用〕

令和5年3月31日現在

研究期間	2021～2025
課題番号	21H05057
研究課題名	ウイルス駆動の海洋低次生態系の時計仕掛けと海洋への影響解明
研究代表者氏名（ローマ字）	吉田 天士（YOSHIDA Takashi）
所属研究機関・部局・職	京都大学・農学研究科・教授
研究者番号	80305490

研究の概要：

海洋微生物-ウイルス相互作用に起因する時計仕掛けの全容とその長期的な海洋低次生態系構造変化の影響を次の課題により解明し、物質循環を駆動する未踏の基本原則を提示する。（1）包括的メタマルチオミックス解析法を用いた低次生態系の代謝・感染の日周動態の解明、（2）ウイルス感染系培養実験による日周性をもたらす分子機構（時計仕掛け）の解明、さらに（3）日周～長期時系列観測に基づく低次生態系の微生物・代謝・感染を結ぶ因果ネットワークの構築を行う。

研究分野：環境動態解析

キーワード：海洋ウイルス / 海洋微生物 / 微細藻類 / オミックス解析 / 海洋低次生態系

1．研究開始当初の背景

海洋における一次生産は主に光合成微生物であるシアノバクテリア・真核微細藻類が担い、その純生産量は陸上のそれに匹敵する。海洋生態系は、光合成微生物によって生合成された有機物を起点とした極めて多様な微生物代謝の上に成立している。加えて、微生物感染性海洋ウイルスは、日々10%～40%もの微生物の死滅要因となり、感染・溶菌を通じて海洋物質循環過程および海洋低次生態系に大きな影響を及ぼす。しかし、共通遺伝子が存在しないこと等により海洋ウイルスの遺伝的多様性、分布や動態の把握は困難を極めてきた。

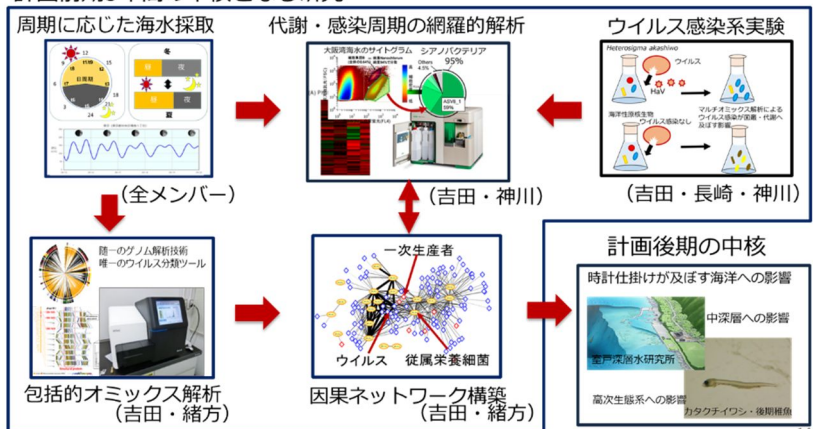
2．研究の目的

申請者らは包括的なウイルスメタゲノム（Virome: ビローム）解析手法を確立し、光合成微生物へのウイルス感染に日周性を見出した。この結果から、娘ウイルス放出に伴って漏出される光合成産物（=有機物）を起点として、海洋低次生態系全体に日周性が波及しているとの仮説を提唱した。そこで本課題では、海洋微生物-ウイルス相互作用に起因する周期性機構（時計仕掛け）の全容と、その中-長期的な海洋低次生態系構造変化への影響を解明し、海洋における物質循環を駆動する未踏の基本原則を提示する。

3．研究の方法

上記目的を達成する鍵の1つは、3時間～長期間隔まで種々の時間軸で常時試料採取を実施することである。採取した時系列試料に対し、確立した原核・真核微生物およびウイルスを網羅する海洋低次生態系群集構造解析を次のとおり行う。（1）微生物分取技術・包括的メタマルチオミックス解析法を用いた海洋低次生態系の代謝・感染の日周動態を解明する。また、（2）ウイルス感染培養系を用いたメソコズム実験により日周性をもたらす分子機構（時計仕掛け）の解明を行う。この際、ラビ藻をはじめ新たに分離培養した海洋主要藻類に感染するウイルスの分離の試みを常時行う。（3）日周～長期時系列観測に基づく海洋低次生態系の微生物・代謝・感染を結ぶ因果ネットワークの構築を行う。さらに、（4）耳石日周輪の測定によるカタクチイワシ稚仔魚成長および深層における低次生態系の微生物活性変化を解析することで、表層で生じる低次生態系の周期性が海洋システム全体においてどこまで波及するのかを検証する。

計画前期3年間の中核となる研究



4. これまでの成果

中間期までに4つの課題のうち(1)と(2)に注力した。

(1)2年間にわたる原核微生物・ウイルス群集を追跡した。優占原核微生物はわずか100種(株レベル)程度であること、種ごとに複数の感染性ウイルスが相互作用すること、ともに季節的に増減することを明らかにした。さらに、宿主細胞密度が増すと頻度依存的に被感染度が上昇することが示唆された(図1)。頻度依存的なウイルスの影響を淡水生態系でも確認した。また、赤潮発生環境において真核微生物ウイルスにおいても季節性動態を見出した。セルソーターにより原核生物画分に回収されるピコ真核緑藻を濃縮し、その培養に成功した。すでに本種のオルガネラゲノム・ウイルスゲノム断片を解読し、上記の原核生物画分メタトランスクリプトームを用いることで本種の日周期的転写活動をとらえることに成功しつつある。本種は継続して高密度で観察され、その小ささ故に本海域の主要一次生産者として見落とされてきた可能性がある。

(2) *H. akashiwo* および珪藻 *Chaetoceros* sp. を用いたメソコズム実験により、赤潮形成藻類種の違いにより、系統的に異なる原核生物の増殖を促し、それらの原核生物感染性ウイルスの動態にまでその差異が影響することを明らかにした。さらにウイルス感染した *H. akashiwo* 細胞に分岐鎖アミノ酸が蓄積し、本アミノ酸を特異的に利用可能な魚介類病原性原核生物の増殖を促進するという分子機構の一端を捉えることに成功した。これは課題(4)赤潮藻類へのウイルス感染による魚介類病原性 *Vibrio* 属細菌系統の増殖促進という低次生態系の事象が高次生態系お魚介類へ影響を及ぼす可能性を示唆する。

(3)一次生産者 *Synechococcus* 属シアノバクテリアと従属栄養性古細菌 MGII においても、優占系統はそれぞれ1系統と4系統に限定され、前者には2系統150個余のウイルスを、後者1系統で2系統8個のウイルスを同定した。これらにおいてそれぞれ宿主の光合成遺伝子と増殖関連遺伝子とウイルス遺伝子の転写動態は相関し、日周性があることが示された。

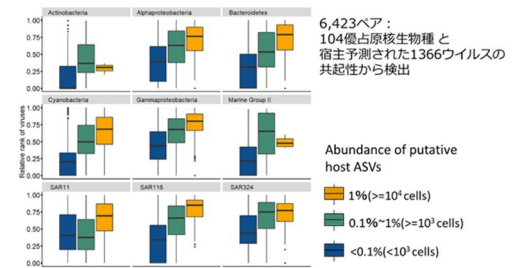


図1. 大阪湾で検出した6423ペアの宿主-ウイルス相互作用における、宿主密度とウイルス相対順位

5. 今後の計画

当初計画通り令和5年度は(1)と(2)を引き続き優先課題として取り組み、ウイルス感染の周期性という海洋物質循環を駆動する基本原理を解明し、周期性が低次生態系に及ぼす中・長期的影響と海洋システム全体への波及効果を検証する。特に、これまでの成果で明らかにした100種程度(各月では30~50種)の優占原核微生物種とそれらのウイルスについての相互作用解析を推進する。優占原核微生物・ウイルスのゲノムを再構築し、メタトランスクリプトームデータより各微生物種の代謝過程とそれに伴うウイルスの感染過程の可視化を行う。また、ウイルス感染赤潮藻に見出した化合物を添加したメソコズム培養系を構築し、特異的に応答する微生物種を特定する。これにより日周期的に生じるウイルス感染が、宿主の代謝変化を経て周囲の微生物群集を変化させる分子過程を再現する。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

Prevalence of viral frequency-dependent infection in coastal marine prokaryotes revealed using monthly time series virome analysis. Tominaga, K., Ogawa-Haruki, N., Nishimura, Y., Watai, H., Yamamoto, K., *Ogata, H., *Yoshida, T. *mSystems*, 8(1), e0093122 (2023)

Ecological dynamics of broad- and narrow-host-range viruses infecting the bloom-forming toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Morimoto, D., Yoshida, N., Sasaki, A., Nakagawa, S., Sako, Y., *Yoshida, T. *Appl Environ Microbiol*, 89(2), e0211122 (2023)

Degenerate PCR targeting the major capsid protein gene of HcRNAV and related viruses. Takahashi, M., Wada, K., Urayama, S., Masuda, Y., Nagasaki, K. *Microbes Environ*, 37(5), ME21075 (2022)

Taxonomic difference in marine bloom-forming phytoplanktonic species affects dynamics of both bloom-responding prokaryotes and prokaryotic viruses." Takebe, T., Tominaga, K., Isozaki, T., Watanabe, T., Yamamoto, K., Kamikawa, R., *Yoshida, T. *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2023.01.31.526402> (2023) 査読なし

Year-round dynamics of amplicon sequence variant communities differ among eukaryotes, Imitevirales and prokaryotes in a coastal ecosystem. Proding, F., Endo, H., Takano, Y., Li, Y., Tominaga, K., Isozaki, T., Blanc-Mathieu, R., Gotoh, Y., Hayashi, T., Taniguchi, E., Nagasaki, K., Yoshida, T., *Ogata, H. *FEMS Microbiol Ecol*, 97(12), fiab167 (2021; 改訂日2021年10月13日・同年12月16日、受理日同年12月24日)本論文は研究開始前に投稿されているが、本基盤Sの成果を受けて改定したものである。

7. ホームページ等

<https://www.microbiology.marine.kais.kyoto-u.ac.jp/>、 <https://cls.kuicr.kyoto-u.ac.jp/>、

<http://www.cc.kochi-u.ac.jp/~nagasaki/index.html>