

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 21 日現在

機関番号：82708

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2010～2013

課題番号：22688016

研究課題名(和文) 海洋環境におけるDNA/RNA両ウイルスの宿主争奪戦に関する研究

研究課題名(英文) Ecology of diatom DNA and RNA viruses in marine environments

研究代表者

外丸 裕司 (Tomaru, Yuji)

独立行政法人水産総合研究センター・瀬戸内海区水産研究所・主任研究員

研究者番号：10416042

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,100,000円、(間接経費) 6,030,000円

研究成果の概要(和文)：近年、海洋における藻類ウイルス研究が注目されている。本研究は、タイプが異なるウイルスの共通宿主に対する感染・優占化戦略を、珪藻とそれに感染する2種のウイルスを材料として解明することを目的とした。現場調査ならびに室内実験の結果、2種のウイルスは水温に対して異なる増殖特性を持つことが明らかとなった。このことから異種のウイルス同士は宿主を争奪するのではなく、異なる環境条件下で宿主をシェアしているものと推察された。

研究成果の概要(英文)：Since the first discovery of a diatom-infecting virus, viral infection is assumed to be a significant factor affecting the dynamics of diatoms. Recently, two diatom viruses, CtenDNAV and CtenRNAV, which share the same host species, *Chaetoceros tenuissimus*, were isolated and characterised. We evaluated the relationships between water temperature and viral infections. The results showed that the host population decline due to CtenDNAV was faster at higher water temperatures, and vice versa for CtenRNAV. The susceptibilities of the host species to CtenRNAV were diverse among the strains, and they changed along with water temperature, but not for CtenDNAV. These virus proliferation characteristics, including dependency on water temperature, might be important factors affecting the diatom host and virus relationship, resulting in both their dominance and survival in nature.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：珪藻 ウイルス 生態

1. 研究開始当初の背景

20 世紀末、海水 1ml 中に数百万～数億個ものウイルスが浮遊しているという事実が明らかとなった。ごく最近の試算によれば、全海洋中のウイルス粒子数は「10 の 31 乗」オーダー、全海洋のウイルスをつないでできる「ロープ」は 1000 万光年の長さには達するとされている。これらのウイルスは、種々の宿主生物の死滅・分解を誘導する因子として、地球規模での物質循環に大きな影響を与えていると考えられる。なかでも、一次生産者として物質循環の起点を成す植物プランクトンの動態を決定する上でのウイルス感染の重要性は大いに注目される。報告者はこれまでに、赤潮原因プランクトン(ラフィド藻・渦鞭毛藻)とそれに感染するウイルスの関係を調査し、ウイルスが現場環境における植物プランクトンの挙動に顕著な影響を与えていることを発見した。この発見は、植物プランクトンの挙動とウイルス感染との関係が、もはや生態学の中で無視できない重要テーマの一つであることを意味している。珪藻類は、地球上の全光合成量の 1/5 を供給し、陸上の熱帯雨林に匹敵する炭素固定・酸素供給を果たす巨大生物群である。報告者は 8 年間に亘り、珪藻感染性ウイルスに関する研究に取り組んできた。その結果、9 種類の異なる珪藻ウイルスの単離に成功し、厚い外殻を持つ珪藻類もまたウイルスの攻撃に曝されているという事実を明らかにした。これまでに発見された珪藻ウイルスは、いずれも小型(粒径 40nm 以下)であり、1 本鎖 RNA または 1 本鎖 DNA をゲノムとして持つウイルス群に群別されている。報告者は、珪藻とウイルスの生態学的関係を解明するため、これまでに、1)現場における珪藻ウイルスと宿主珪藻の挙動には密接な関係があること、2)珪藻個体群はウイルス感受性の異なる株から構成されていること、3)珪藻ウイルスは、いずれも属レベルで既知のウイルス分類群には属さない新奇ウイルスであること、を明らかにした。さらに、同一の珪藻種に対して DNA ウイルスおよび RNA ウイルスの両者がそれぞれ感染しうる系を構築することに成功した。この成果は、ある 1 種の珪藻個体群の動態に少なくとも 2 種の異なるウイルスが関与しうることを明確に示すものである。しかしながら海洋環境中における宿主対ウイルスの生態学的研究の歴史の中で、2 つの異なるタイプのウイルスが、同一の宿主を巡り、どのような生態戦略を展開しながら優占化を競っているかという点は全く分かっていない。DNA ウイルスおよび RNA ウイルスの感染戦略はどのように異なり、それは珪藻類の生態に果たしてどのように影響しているのだろうか? ウイルス学的にも微生物生態学的にもきわめて興味深い謎である。

2. 研究の目的

本研究では、DNA/RNA 両タイプのウイル

スの感染戦略を、同一珪藻宿主とそれに感染する 2 種の珪藻ウイルス(DNA および RNA ウイルス)を材料として、生理・生態および分子生物学的側面から精査する。これにより、現在まで全く知られていない DNA ウイルスと RNA ウイルスの水圏生態系における生態戦略の違いを明確にすることを目的とした。

3. 研究の方法

珪藻 *Chaetoceros tenuissimus* とそれに感染するウイルス CtenDNAV ならびに CtenRNAV を主な材料として、現場調査ならびに室内実験を行った。現場調査では宿主珪藻の密度、水柱ならびに泥中における感染性ウイルスのタイター、そして各種環境要因を 4 年間にわたって連続的に測定し、宿主やウイルスの挙動に及ぼす影響を統計学的に解析した。また現場調査を通して分離されてくるウイルスについては、各種性状解析も併せて実施した。室内実験では、ウイルスの種内宿主株特異性や生理性状解析を水温の側面から行うと共に、宿主ウイルス間の詳細な解析を行うために必要な分子プローブや抗体を作製した。

4. 研究成果

現場環境調査の結果(図1)を、主成分分析を用いて統計解析したところ、*C. tenuissimus* 個体群変動は、水温、日射量、各ウイルス量と相関を持つことが示唆された。水温や日射量は年間を通じて緩やかに変動するため、珪藻の季節変動はこれらの影響を受けると予想された。

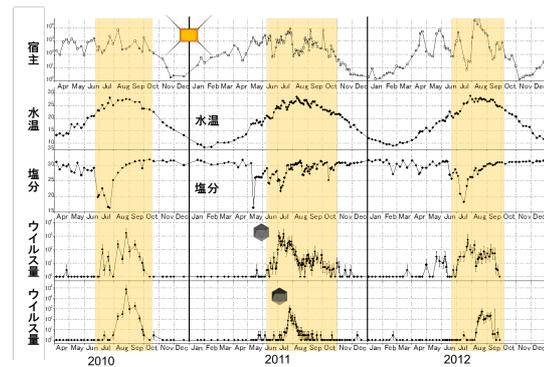


図1. 現場調査の結果。

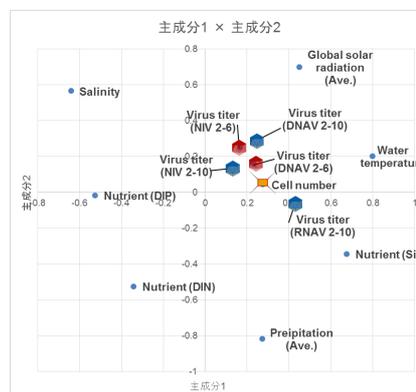


図2. 主成分分析の結果。

一方、ウイルスの変動は夏季における珪藻の詳細な変動と一致するため、ウイルスが局所的に珪藻動態に影響を与えることが推察された。また現場で出現するウイルスの核酸タイプを評価した結果、比較的水温が低い20-25 の条件でRNAウイルスが優占するが、水温が25 を超える時期以降はDNAウイルスが優占するものと推察された(図3)。

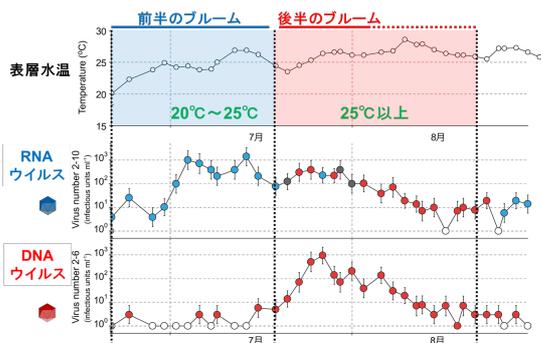


図3 . 水温と優占ウイルスタイプの関係 .

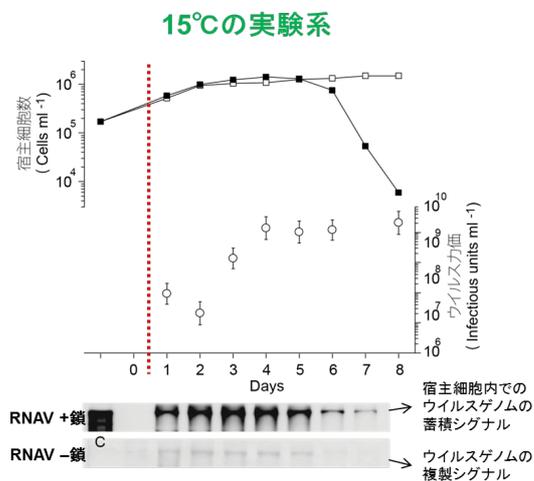


図4 . 室内実験の一例 . 水温 15 における珪藻宿主に対する RNA ウィルス接種実験 .

| Virus | 水温 (°C) | ウイルス接種区の細胞数が、対照区の50%になるのに要した日数 | |
|----------|---------|--------------------------------|------|
| | | 2-10株 | 2-6株 |
| CtenDNAV | 25 | 4 | 3 |
| | 20 | 8 | 5 |
| | 15 | 10 | 6 |
| CtenRNAV | 25 | 13 | - |
| | 20 | 10 | - |
| | 15 | 6 | - |

図5 . 室内実験結果のまとめ . 水温とウイルス感染によって宿主培養が崩壊するまでの時間の関係 .

室内実験では RNA ウィルスは水温が低いほど宿主殺滅までの期間が短く、逆に DNA ウィルスは高水温で宿主を早く殺滅した(図5)。そのため本室内実験は、現場でのウイルスの優占に水温が関係していることを部分的に支持するものと推察された。これまでの現場観測と室内実験の結果を総合すると、本研究で扱ったDNA/RNA ウィルスはお互いに同じ種類の宿主を複製のための工場として利用するが、両者は宿主競争を展開するのではなく、宿主に対する異なる環境特異性を生かし、棲み分けをしている可能性が示唆された。珪藻宿主とウイルスの関係は複雑であるため、塩分や光条件など、今後も様々な条件下における両者の関係を精査することが、現場における宿主挙動の理解に必要である。本研究において開発したウイルス検出用の分子プローブや抗体を、効果的に利用することでさらに珪藻-ウイルス間の現象を理解できるものと推察される。

一方、本研究を通して、複数の新規な珪藻ウイルスが分離された。これらのことから、現場環境中における珪藻ウイルスには高度な多様性が存在するものと推察された。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計15件)

Toyoda K, Nagasaki K, Tomaru Y. Application of real-time PCR assay for detection and quantification of *Chaetoceros tenuissimus* Meunier (Bacillariophyta). *Plankton Benthos Res.* 5, 56-61, 2010. 査読有り

Naitow, H., Shirai, Y., Tomaru, Y., Nagasaki, K. Crystallization and preliminary X-ray analysis of a marine diatom-infecting singlestranded RNA virus. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications* . 66. 1449-1452, 2010. 査読有り

長崎慶三, 外丸裕司. 原生生物の寄生, 共生者(ウイルスを中心に). *日本プランクトン学会報* 58, 73-76, 2010. 査読有り

Toyoda, K., Kimura, K., Hata, N., Nakayama, N., Nagasaki, K., Tomaru, Y. Isolation and characterization of a single-stranded DNA virus infecting the marine planktonic diatom *Chaetoceros* sp. (strain TG07-C28) . *Plankton Benthos Res.* 7, 20-28, 2012. 査読有り

Tomaru, Y., Toyoda, K., Kimura, K., Hata, N., Yoshida, M., Nagasaki, K. First evidence for the existence of pennate diatom viruses. *ISME Journal*, doi:10.1038/ismej.2011.207, 2012. 査読有り

Tomaru Y, Shirai Y, Toyoda K, Nagasaki K. Isolation and characterisation of a single-stranded DNA virus infecting the

marine planktonic diatom *Chaetoceros tenuissimus* Meunier. Aquatic Microbial Ecology, 64, 175-185, 2011. 査読有り

Toyoda K, Nagasaki K, Williams DM, Tomaru Y. PCR-RFLP analysis for species-level distinction of the genus *Chaetoceros* Ehrenberg (Bacillariophyceae). Hiyoshi Rev Natur Sci, 50, 21-30, 2011. 査読なし

Tomaru Y, Takao Y, Suzuki H, Nagumo T, Koike K, Nakgasaki K. Isolation and characterization of a single-stranded DNA virus infecting *Chaetoceros lorenzianus* Grunow. Applied and Environmental Microbiology, 77, 5285-5293, 2011. 査読有り

Tomaru Y, Toyoda K, Fujii N, Nagasaki K. Dynamics of diatom viruses on the western coast of Japan. Aquatic Microbial Ecology, 63, 223-230, 2011. 査読有り

Tomaru Y, Toyoda K, Kimura K, Takao Y, Sakurada K, Nakayama N, Nagasaki K. Isolation and characterization of a single-stranded RNA virus that infects the marine planktonic diatom *Chaetoceros* sp. (SS08-C03). Phycol Res., 61, 27-36, 2013. 査読有り

Kimura K, Tomaru Y. A unique method for culturing diatoms on agar plates. Plankton and Benthos Research, 8, 46-48, 2013. 査読有り
Fujimoto A, Kondo S, Nakao R, Tomaru Y, Nagasaki K. Co-occurrence of *Heterocapsa circularisquama* bloom and its lytic viruses in Lake Kamo, Japan, 2010. JARQ 47, 329-338, 2013. 査読有り

Yamaguchi H, Arisaka H, Otsuka N, Tomaru Y. Utilization of phosphate diesters by phosphodiesterase-producing marine diatoms. J Plankton Res., 36, 281-285, 2014. 査読有り
Tomaru Y, Toyoda K, Suzuki H, Nagumo T, Kimura K & Takao Y. New single-stranded DNA virus with a unique genomic structure that infects marine diatom *Chaetoceros setoensis*. Scientific Reports, 3, 3337, 2013. 査読有り

Kimura K, Tomaru Y. Isolation and Characterization of a Single-Stranded DNA Virus Infecting the Marine Diatom *Chaetoceros* sp. Strain SS628-11 Isolated from Western Japan. Plos One, 8, e82013, 2013. 査読有り

[学会発表](計 26 件)

Tomaru Y, Toyoda K, Nagasaki K. Ecological relationships between diatom blooms and viruses. 14th International Conference on Harmful Algae. 2010 年 11 月 1 日. ギリシャ (ポスター)

外丸裕司. 珪藻ウイルス研究の最前線と今後の展望. 2012 年度日本プランクトン学会春季シンポジウム(招待講演), 2012 年 3 月

30 日, 東京大学柏キャンパス(千葉県柏市) (口頭発表)

Tomaru Y, Kimura K. Viral impacts on population dynamics of a bloom-forming diatom *Chaetoceros tenuissimus*. 15th International Conference on Harmful Algae, Changwon Cyongam, Korea, Nov., 2012. (ポスター)

Tomaru Y, Toyoda K, Kimura K and Takao Y. Pennate diatom viruses are similar to centric diatom viruses, 22nd International diatom symposium, Gent, Belgium, 2012 (口頭発表)

Tomaru Y, Kimura K. Bacterial communities help survivals of diatom populations from viral attacks, 22nd International diatom symposium, Gent, Belgium, 2012 (口頭発表)

Tomaru Y, Kimura K. Dynamics of *Chaetoceros tenuissimus* and its viruses in Hiroshima Bay, Japan, 22nd International diatom symposium, Gent, Belgium, 2012 (ポスター)

外丸裕司, 木村圭. 珪藻 DNA/RNA ウイルスの増殖と水温の関係. 第 29 回日本微生物生態学会大会. 2013 年 11 月 23 日. 鹿児島大学(鹿児島市) (口頭発表)

外丸裕司, 木村圭. 珪藻 *Chaetoceros tenuissimus* に感染する DNA/RNA ウイルスの増殖に与える水温の影響. 2013 年日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会. 2013 年 9 月 28 日. 東北大学農学部(仙台市) (口頭発表)

他 18 件

[図書](計 1 件)

Tomaru Y, Nagasaki K. Diatom Virus. The Diatom World, Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology 19. p.533, Springer, 2011

[産業財産権]

○出願状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
珪藻ウイルスの生態学的研究
http://feis.fra.affrc.go.jp/keisou_Virus/index.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

外丸 裕司 (TOMARU YUJI)
独立行政法人水産総合研究センター・瀬戸
内海区水産研究所・環境保全研究センター
有害・有毒藻類グループ・主任研究員
研究者番号：10416042

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：