

巨大 DNA ウイルスゲノムの解析

Genomics of giant DNA viruses

化学研究所 化学生命科学 緒方博之

背景と目的

ウイルスは自然界で最も数の多い生命体であり、宿主となる細胞性生物（バクテリア、古細菌、真核生物）の死滅の主要因として、地球上の物質循環にも大きな役割を果たしている。また、近年の研究から、ウイルスは宿主集団の多様性維持・変動・進化にも本質的な影響を及ぼしていると考えられるようになってきている。当研究室では、ウイルスの多様性、進化、生態系における役割をより詳細に理解することを目的としゲノムデータ・メタゲノムデータを基盤として研究を進めている。特に注目しているのが、海洋環境で藻類などの単細胞真核生物に感染する大型ウイルスのグループである。国内外の共同研究者と協力し、次世代シーケンサーを用いて、大規模海洋メタゲノムデータを取得し、それを基盤として研究を進めている。同時に、化学研究所附属バイオインフォマティクスセンターが提供しているゲノムネットで、ウイルスゲノム解析と環境メタゲノム解析を支援するためのツールやデータベース環境の整備を進めている。

検討内容

本年度は、大きく分けて3つの課題に取り組んだ。大学院生が主要な研究者として進める研究については、その旨も下記に記している。

- 1) 海洋環境における巨大ウイルスのゲノム・系統多様性
- 2) 海洋ウイルスが宿主集団に及ぼす生態学的・進化的影響
- 3) メタゲノム解析を支援するためのゲノムネットサービスの充実

結果と考察

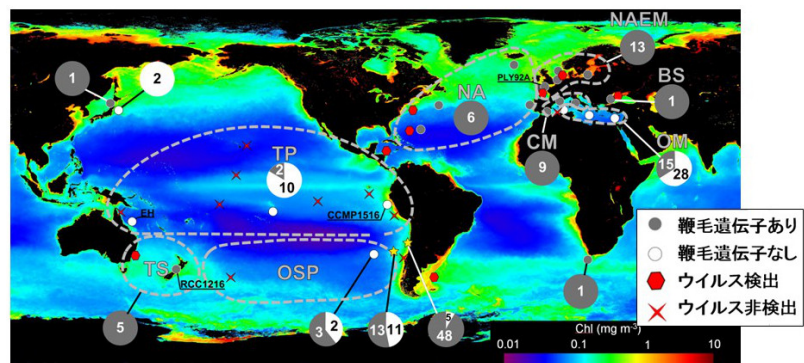
- 1) 海洋環境における巨大ウイルスのゲノム・系統多様性
 - ◆ ウイルスが保持するアミノ酸代謝酵素の解析（三原知子（院生））：ウイルスゲノムは構造遺伝子・ゲノム複製遺伝子とは別にエネルギー生産などのための代謝酵素の遺伝子をしばしば保持している。そうした遺伝子は、一つの代謝経路に現れる一連の酵素の全体ではなく、一部のみに対応している。我々は、ウイルスがなぜそうした特定の経路をコードしているのかを理解するために、アミノ酸代謝系に着目し、i)アミノ酸代謝酵素の各生物ドメインにおける保存性、ii) ウイルスと宿主のプロテオームのアミノ酸組成あるいは tRNA 遺伝子の存在との関連、iii) ウイルスの保持する酵素の代謝ネットワーク上での性質、iv)メタゲノムデータを利用したウイルス由来のアミノ酸代謝酵素の発見、という観点から研究を進めている。現在のところ、細胞性生物で保存性の高い酵素ほどウイルスが保持する傾向が強いことを突き止めた。
 - ◆ Megaviridae 系統多様性解析（三原知子（院生））：細菌、古細菌、真核生物で広く保存されておりかつ Megaviridae を含めて多くの NCLDV で保存されている RNA ポリメラーゼ遺伝子に着目して、Megaviridae の系統多様性を定量的に解析した結果、その多様性は、原核生物の多様性に匹敵する

可能性が見えてきた。

- ◆ 多様性解析のための新規プライマーの開発 (W. Wilson (英国)、N. Grimsley (仏国) と共同) : PolB、MCP、MutS 遺伝子をターゲットとする新規 PCR プライマーを設計し、海洋環境に存在する大型ウイルスの (Prasinovirus および Megaviridae) の検出を試みその有効性を評価した。PolB と MCP をターゲットとするプライマーの比較では、MCP に比べて PolB プライマーがより広範囲の Prasinovirus のグループをターゲットとすることを確かめた。MutS8 をターゲットとするプライマーでは、Megaviridae の新しい遺伝子型を同定でき、当プライマーが Megaviridae の多様性解析に有効であることを示した。
- ◆ Class I 転移因子の頻度解析 (M. Lescot (仏国) との共同) : Tara Oceans により産出された真核微生物を含むサイズ画分からの海洋メタゲノムを解析し、どのような遺伝子が頻出するかを検討した。その結果、Class I 転移因子 (レトロトランスポゾン、レトロウイルス等) の逆転写酵素遺伝子が最頻出することを突き止めた。また、メタトランスクリプトームデータを用いて、逆転写酵素が発現していることを明らかにした。

2) 海洋ウイルスが宿主集団に及ぼす生態学的・進化的影響

- ◆ 大阪湾 ヴィロームの解析 (吉田天士 (京大院・農学) と共同、西村陽介 (院生)) : 本研究では経時的な包括的メタゲノム解析 (宿主画分 rDNA アンプリコン解析、ヴィローム解析、宿主画分メタトランスクリプトーム解析) により、未知の海洋細菌-ウイルス感染系の推定を行い、ウイルスが感染を介して微生物の群集構造・遺伝的多様性にどのような影響を及ぼすかを解明することを目的としている。大阪湾湾口部で 24 時間 3 時間毎に取水した試料をもとに得られた環境ゲノム配列のアノテーションパイプラインを開発中。今後は、機能予測情報の付加を中心にアノテーション情報を充実させ、宿主の変動と相関するウイルスゲノム・遺伝子の変動を同定する。
- ◆ 円石藻 *Emiliania huxleyii* のゲノム多様性と EhV ウイルスの頻度の相関 (P. von Dassow、ペルーとの共同) : *E. huxleyii* は 1 倍体 (1N) と 2 倍体 (2N) の両方の生活環をもち、配偶子接合と減数分裂により有性的に生殖を行う。本研究では、円石藻 *E. huxleyii* のトランスクリプトームといくつかの株のドラフトゲノムを利用して、*E. huxleyii* の低緯度・遠洋における集団では 1N に必要な遺伝子が欠失していることを発見した。このことは、海域と環境により、*E. huxleyii* が有性生殖の能力を失っていることを示唆している。さらに、*E. huxleyii* の 2 倍体に特異的に溶菌感染する EhV ウイルスの海洋分布を既存のメタゲノム配列を用いて調べたところ、有性生殖の能力を欠失していると推定される *E. huxleyii* の分布と負の相関があり (図を参照)、ウイルスが有性生殖維持に重要な淘汰圧の一つとなっている可能性が示唆された。



3) メタゲノム解析を支援するためのゲノムネットサービスの充実

当研究室スタッフ、ゲノムネット運用管理室スタッフと協力し、ウイルス研究およびメタゲノム解析を支援するためのゲノムネットサービスの充実を図った。

- ◆ 共同研究者と利用するための BLAST サーバを作成した
(<http://dev.genome.jp:8080/projecttools/login>)
- ◆ BLAST サーバに rDNA 遺伝子配列データベースを追加した (<http://www.genome.jp/tools/blast/>)
- ◆ モチーフツールにタンパク質ドメインデータベース NCBI/CDD を追加した
(<http://www.genome.jp/tools/motif/>)
- ◆ *Tara Oceans* データの MGENES への取り込みを開始した
(http://www.genome.jp/kegg/catalog/org_list3.html)

発表論文

該当論文なし。

参考論文

1. Johannessen T.V., Bratbak G., Larsen A., Ogata H., Egge E.S., Edvardsen B., Eikrem W., Sandaa R.-A. Characterisation of four novel viruses reveal huge diversity among viruses infecting Prymnesiales (Haptophyta). **Virology**, (2014). – in press
2. von Dassow P., John U., Ogata H., Probert I., Bendif E.M., Kegel J.U., Audic S., Wincker P., Da Silva C., Claverie J.-M., Doney S., Glover D.M., Flores D.M., Herrera Y., Lescot M., Garet-Delmas M.-J., de Vargas C. Life cycle modification in open oceans accounts for genome variability in a cosmopolitan phytoplankton. **ISME J.**, doi: 10.1038/ismej.2014.221. (2014).
3. Wilson W.H., Gilg I.C., Duarte A., Ogata H. Development of DNA mismatch repair gene, MutS, as a diagnostic marker for detection and phylogenetic analysis of algal Megaviruses. **Virology**, 466–467, 123–128 (2014).
4. Clerissi C., Grimsley N., Ogata H., Hingamp P., Poulain J., Desdevises Y. Unveiling of the diversity of Prasinoviruses (Phycodnaviridae) in marine samples by using high-throughput sequencing analyses of PCR-amplified DNA polymerase and major capsid protein genes. **Appl. Environ. Microbiol.**, 80, 3150–3160 (2014).