

一酸化炭素酸化菌と水圏ウイルス、原生生物の分子生物学的研究
Molecular biology of carboxydrotrophs, aquatic viruses, and protists

京都大学 農学研究科

吉田 天士

研究成果概要

水圏ウイルスは、微生物への感染を通じて微生物群集組成の動態や代謝に影響を与える。そのため水圏ウイルスの分布パターンの解明は地球規模の物質循環をモデル化する上で重要である。そこで大阪湾における月に一度のサンプリングと24時間3時間ごとの周期的サンプリングを行い、微生物群集と水圏ウイルスのメタゲノム解析を行った。またウイルス感染培養系を用いたメソコズム実験による微生物群集に日周をもたらす分子機構の解明を試みている。

培養実験と大阪湾でのサンプリングにより、*Heterosigma akashiwo* virocell の水柱での動向と virocell の沈降を明らかにした。*Heterosigma akashiwo* Virus (HaV) を *H. akashiwo* に接種し、試験管の上部および底部における *H. akashiwo* および HaV の存在量を定量した。*H. akashiwo* の約90%が感染12時間後に底に沈降した。大阪湾の水深4mにセディメントトラップを6時間設置した。*H. akashiwo* と HaV の遺伝子を定量した結果、セディメントトラップ中の *H. akashiwo* の存在量は、同じ時点の海水と比べ3倍高い値を示した。また、*H. akashiwo* 細胞の沈降は、*H. akashiwo* の日周運動とは異なる時間に起こったことから、沈降した細胞は virocell であることが示唆された。

大阪湾の自由生活 (FL, <3 μm, >0.2 μm) および粒子付着 (PA, >3 μm) 画分の原核生物と真核生物の相互作用を明らかにするため、16S rRNA、真核生物群集については18S rRNA 遺伝子解析に供した。*H. akashiwo* が PA 画分で検出され、最大存在量は0.63%であった。FL 画分と PA 画分の両方から殺菌性細菌と藻類資化性細菌が検出され、*H. akashiwo* と相互作用が認められた。

ウイルス群集の宿主細胞内外における存在量および転写動態を明らかにするため、3時間毎に10回採取し得た原核生物画分とウイルス画分を用いた海洋ヴィローム解析を行った。画分間でウイルス種組成を比較した結果、原核生物画分 DNA、原核生物画分 RNA、ウイルス画分の順に種の均等度が高く、日内の組成変動が小さかった。以上から、海洋ウイルス群集の細胞内ゲノム複製は全ての種にわたって比較的均一に進行するが、転写および溶菌は異なるウイルス種が異なるタイミングで行う可能性が示された。

海洋で優占する未培養の古細菌系統である Marine Group II (MGII) とそのウイルスの相互作用ペアの特定を試みた。ヴィローム解析の結果、11 コンティグが MGII 感染性ウイルスと判定された。動態解析により、ウイルスの動態は種レベルで異なり、1つの宿主が複数のウイルスと共起性を示した。以上より、MGII 感染性ウイルスは種レベルで

異なる宿主域を有し、宿主-ウイルス間で一对多数の感染が起こることが示唆された。

大阪湾の時系列データを用いてピコ・ナノ真核藻類の動態を解明した。また、ウイルスにも着目し、ピコ・ナノ真核藻類ウイルスの分離を試みた。18S rRNA 遺伝子解析により、5,906 個の ASV が得られ、優占 ASVs として 123 個の ASVs が抽出された。33 優占 ASVs がピコ・ナノ真核藻類として同定され、優占 ASVs 由来リードの 31%を占めた。33ASVs は分類群ごとに季節的な動態を示した。

優占ピコ・ナノ真核藻類に着目し、個体群レベルでの季節動態の解明を行った。まず、18S rRNA アンプリコン解析により優占ピコ・ナノ真核藻類 *Picochlorum* sp.を同定し、本系統は夏および秋に増加することを明らかにした。そこで、夏と秋に優占する個体群が同一か調べるため本系統のオルガネラゲノムへのリードマッピングを行ったところ、夏と秋で異なる SNPs が検出された。よって、優占時期が異なる複数の個体群が存在すること、オルガネラゲノムの個体群レベルでの生態学的研究の有用性が示唆された。

2021 年に記載されたハプト植物門ラピ藻綱 *Pavlomulina ranunculiformis* の分布および増殖に影響する環境要因を調べた。Tara Oceans metabarcoding dataset および環境パラメータを用いて調べた結果、本藻の相対存在量は北緯 37 度～南緯 30 度、塩濃度 33～37%の地点で多かった。上記条件で本藻が増殖可能な本藻培養株 NIES-3900 株を用いて検証した。本藻は緯度 20～40 度付近の海面温度でおよび汽水～海水の塩濃度でのみ増殖が確認され、本藻の生育は低～中緯度の沿岸および外洋環境に適すると示唆された。

大阪湾における従属栄養性真核生物の内、Labyrinthulomycetes に着目し、その動態を明らかにした。18S rRNA 遺伝子解析により、Stramenopiles が優占し、中でも Ochrophyta が最も多く、相対存在量は最大 70.7%であった。188ASVs が Labyrinthulomycetes と同定され、全リードの 1.4%を占めた。Labyrinthulomycetes の ASVs には季節的な動態は見られず、多様な生物由来有機物を利用していることが示唆された。

原著論文（査読なし）

Takebe, H., Hiromoto, H., Watanabe, T., Yamamoto, K., Nagasaki, N., Kamikawa, R., and Yoshida, T. Viral infection to the raphidophycean alga *Heterosigma akashiwo* affects both intracellular organic matter composition and dynamics of a coastal prokaryotic community. (2024) bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2024.10.07.616994>
学会発表(謝辞あり)

令和 6 年度日本水産学会秋季大会

・大阪湾における赤潮原因藻類を殺滅・利用する細菌群集の季節変動

日本微生物生態学会 第 37 回大会

・ *Heterosigma akashiwo* virocell の沈降減少と原核生物群集に与える影響の解明

・感染ステージ別の海洋ヴィローム解析からせまる大阪湾表層のウイルス群集構造の日内動態

・海洋表層で優占する古細菌系統 Marine Group II の生態学的特性とウイルスとの相互作用の解明

- ・沿岸域におけるピコ・ナノ真核藻類の動態と溶藻因子の探索
- ・大阪湾に優占するピコ真核藻類の生理生態学的特性解明に向けたメタオミクス解析
- ・メタデータ解析および培養実験によるハプト植物門ラピ藻綱 *Pavlomulina ramunculiformis* の生理生態学的特性に関する研究
- ・大阪湾における *Labyrinthulomycetes* の季節動態