



藻類ウイルスの多様性と珪藻ウイルス研究の現状

木村圭¹, 外丸裕司²

はじめに

多くの生命, 特に藻類を育む水圏環境には多量のウイルスが存在している。1980年代末に, 海洋環境中に多量のウイルス様粒子が存在すると報告されて以降, 水圏ウイルス研究は隆盛に向かってきた (Bergh *et al.* 1989, Wommack & Colwell 2000)。海洋環境におけるウイルスの数は少なくとも約 10^6 粒子/mL, 富栄養水域では約 10^8 粒子/mLにも達すると試算されており, 近年はそれすら過小評価されているとも言われている (Suttle 2007, Tomaru & Nagasaki 2007, Holmfeldt *et al.* 2012, Mojica *et al.* 2013, Steward *et al.* 2013)。海水中に膨大に存在するウイルスの多くは, 最も生物量の大きいバクテリアを宿主とすると考えられているが, 藻類に感染するウイルスはそれに次ぐ量であると考えられている。現在までに多くの藻類に感染するウイルスが単離されており, そのゲノム構造は二本鎖 (ds) DNA, 一本鎖 (ss) DNA, 二本鎖 (ds) RNA, 一本鎖 (ss) RNA と多様であることが分かっている (Hyman & Abedon 2012, 木村・外丸 2015)。近年は, 次世代シーケンサーの登場により, 環境中の藻類ウイルスが次々と報告されており, 我々が姿形も知らないウイルスが無数に存在していることがわかってきた (浦山ら 2015, 真砂ら 2015)。また, 藻類ウイルスは, 「死」という形で宿主藻類の動態に影響を及ぼす生物学的因子であるだけでなく, 有機物で構成されるウイルス自身が水圏環境の炭素循環, バイオマスに寄与しており, さらには宿主の遺伝的多様性に影響を与える因子でもある (Fuhrman 1999, Brussaard 2004, Suttle 2005, Brussaard *et al.* 2008)。本稿では, これまでの藻類ウイルス探索の事例を振り返りつつ, 我々が特に注目する珪藻-ウイルス間の生理生態学的研究について紹介する。

dsDNA をゲノムに持つ Phycodnaviridae 科とその分類

藻類に感染するウイルスの初めての報告は, Safferman & Morris (1963) による, シアノバクテリアに感染するウイルス (シアノファージ) である。これまでの研究で, シアノファージは既知の原核生物ウイルス (ファージ) と同じ群に属する仲間であることが分かっており, ファージ研究の領域である為, 内容は本稿では扱わないこととする。シアノファージに続き, 藻類のウイルスとして発見されたのは, ミドリゾウリムシ *Paramecium bursaria* に細胞内共生する緑藻クロレラに感染するウイルス *Paramecium bursaria chlorovirus* (PBCV-1, *Chlorovirus* 属) であった (Kawakami & Kawakami 1978)。このウイルスは, 約 331

kbp の dsDNA に 416 のタンパク質がコードされたゲノムをもち, その大きさも直径 190 nm になり, ウイルスとしては巨大なものであった (Dunigan *et al.* 2012)。このウイルスが発見されて以降, これまでに幾つかの藻類を宿主とする dsDNA ウイルスが発見されており, これらは Phycodnaviridae 科というウイルス科でまとめられている (Hyman & Abedon 2012)。具体的には, *Micromonas pusilla* (プラシノ藻) に感染する MpV (Prasinovirus 属) (Mayer & Taylor 1979), *Emiliania huxleyi* (円石藻) に感染する EhV (*Coccolithovirus* 属) (Brussaard *et al.* 1996, Schroeder *et al.* 2003), *Heterosigma akashiwo* (ラフィド藻) に感染する HaV (*Raphidovirus* 属) (Nagasaki & Yamaguchi 1997, Nagasaki *et al.* 2001), *Ectocarpus siliculosus* (褐藻) に感染する EsV (*Phaeovirus* 属) (Bratbak *et al.* 1996, Brussaard *et al.* 1996), *Chrysochromulina brevifilum* (ハプト藻) に感染する CbV (*Prymnesiovirus* 属) (Brussaard *et al.* 2004b) 等がある。これらの Phycodnaviridae 科の大雑把な特徴は, 大型であることである。他のウイルスの粒径が 50 – 100 nm であるのに対して, Phycodnaviridae 科のウイルスの粒径は 110 – 220 nm で, ゲノムサイズは 170 – 510 kbp である。大型のウイルスで dsDNA をゲノムに持ち, 宿主細胞質で複製されるウイルス群は, 核細胞質性大型 DNA ウイルス (NCLDV) と称されており, Phycodnaviridae 科のウイルスもこの NCLDV の仲間である。一方で, 二枚貝類を斃死させる *Heterocapsa circularisquama* (渦鞭毛藻) に感染する HcDNAV, 有害赤潮を引き起こす *Phaeocystis globosa* (ハプト藻) に感染する PgV など, NCLDV に属するウイルスであるが, Phycodnaviridae 科の中にはまとめられていない藻類ウイルスもある (Ogata *et al.* 2009)。NCLDV は Phycodnaviridae 科の他, 天然痘ウイルス等を含む Poxviridae 科, アメーバに感染する *Mimivirus* 属 (粒径 0.7 μm , ゲノムサイズ 1.2 Mbp) や *Megavirus* 属 (粒径 0.5 μm , ゲノムサイズ 1.3 Mbp) など, 巨大なウイルスを含む Mimiviridae 科, そしてさらに巨大な Pandraviridae 科などが含まれている。*Pandravirus* 属は, 破格の大きさの粒子 (楕円形: 長径 1 μm , 短径 0.5 μm) とゲノム (2.47 Mbp, 2,556 個の open reading frame : ORF) を持ち, そのサイズは生物最小とされるマイコプラズマのゲノムを優に超える大きさである (Philippe *et al.* 2013)。NCLDV については, 藻類ウイルスとも関係が深く, 近年の探索技術の発展によって新たに分かってきたこともある。詳しくは近年のメタゲノム解析とウイルス探索の項で後述したい。

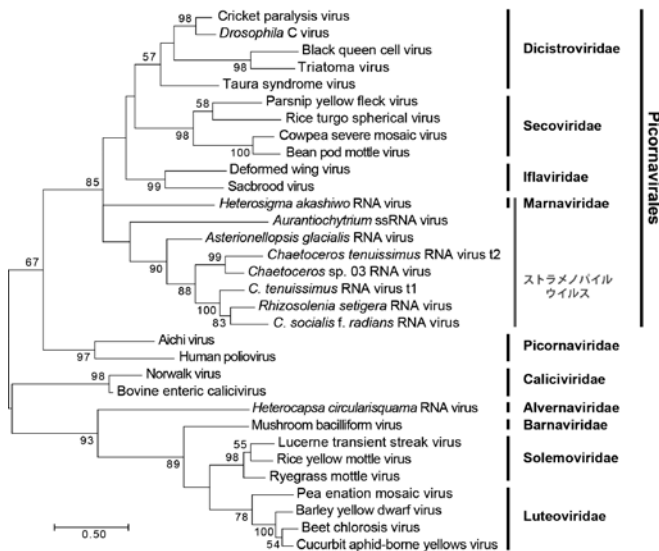


図1. 複製酵素 RdRp のアミノ酸配列を基に構築した、ssRNA ウイルスの最尤系統樹。Bootstrap 値は 50 以上の場合のみ表記。

Phycodnaviridae 科以外の藻類ウイルスとその分類

2003年にストラメノパイル生物の一種であるラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* に感染する ssRNA をゲノムに持つウイルス HaRNAV が報告された (Tai *et al.* 2003, Lang *et al.* 2004, Carstens & Ball 2009, Suttle 2011)。HaRNAV は、国際ウイルス分類委員会 (ICTV) の分類基準で、Picornavirales 目 Marnaviridae 科 *Marnavirus* 属に登録されている唯一のウイルスである (<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>)。その後、同様にストラメノパイル生物である珪藻ならびにラビリンチュラで、複数の ssRNA ウイルスが発見されている (Takao *et al.* 2006, Tomaru & Nagasaki 2011, Tomaru *et al.* 2012)。これらの ssRNA ウイルスは、粒径 22–35 nm の正二十面体で、エンベロープを持たない。約 9 kb の直鎖状ゲノムを持ち、RNA-dependent RNA polymerase (RdRP) 等の複製酵素群をコードする ORF と、ウイルス殻等の構造タンパク質をコードする ORF が含まれる (Lang & Suttle 2008)。加えてこれらの ssRNA ウイルスは、複製が宿主細胞質内で起こる点でも共通している。ssRNA ウイルス群の中で系統樹を作成すると、ストラメノパイル生物のウイルスは Picornavirales 目 (夏風邪、手足口病の原因となるエンテロウイルスやポリオウイルス、口蹄疫ウイルスが含まれるウイルス群) の中でも、上述の *Marnavirus* 属と系統的に近い位置に来る (図1)。このことから、Picornavirales 目中には、ストラメノパイル生物群を宿主とするウイルス群が存在することが想像される。ただし、珪藻 RNA ウイルスのゲノム構造 (ORF 構成等) は HaRNAV とは異なっており、その分類学的位置は検討の余地を残している。一方、渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* に感染する HcRNAV も、小型 (粒径 34 nm) で直鎖 ssRNA をゲノムに持ち、複製酵素群と構造タ

ンパク質群からなる 2 つの ORF がコードされるなどストラメノパイル ssRNA ウイルスと共通性がある (Tomaru & Nagasaki 2004, Nagasaki *et al.* 2005a)。しかし、ゲノムサイズは 4.4 kb と比較的小さく、系統関係もこれらのウイルスからは遠い為、Alvernaviridae 科 *Dinornavirus* 属として ICTV に登録されている。

ssDNA をゲノムに持つ藻類ウイルスは、珪藻で発見されている。現在までに 8 種の珪藻 ssDNA ウイルスの単離が報告されており、粒径 32–38 nm の小型の正二十面体ウイルスで、宿主細胞の核で複製されることで共通している (Tomaru & Nagasaki, 2011, Tomaru *et al.* 2012, Kimura & Tomaru, 2015)。複製酵素に基づいた真核生物感染性 ssDNA ウイルスの系統樹を見ると、珪藻 ssDNA ウイルスが単系統を形成することが分かる (図2)。珪藻 ssDNA ウイルスのゲノム構造は、5–7 kb の閉環状一本鎖 DNA であり、ゲノム上には 3–4 個の ORF が存在している。これらの ORF のうち、少なくとも 2 つは複製酵素とウイルス殻等の構造タンパク質をそれぞれコードすることが予想されている。また珪藻 ssDNA ウイルスには、ゲノム中に短い相補鎖断片を持つ部分的二本鎖領域があり、他の ssDNA ウイルスには見られないユニークなゲノム構造となっている。近年、メタゲノム解析の技術によって、珪藻 ssDNA ウイルスに近いウイルス様配列の情報が蓄積されつつある。2017 年の

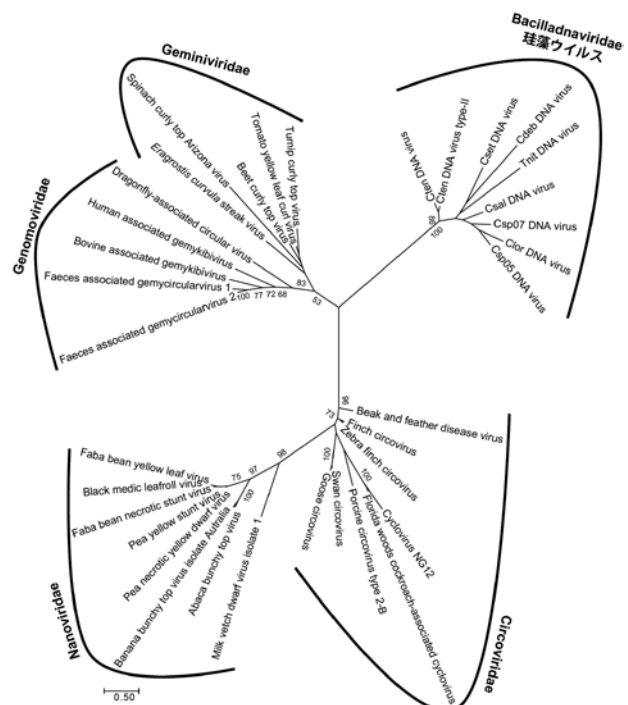


図2. 複製関連タンパク質のアミノ酸配列を基に構築した、真核生物 ssDNA ウイルスの最尤系統樹。Bootstrap 値は 50 以上の場合のみ表記。略説明: Cdeb; *Chaetoceros debilis*, Clor; *Chaetoceros lorenzianus*, Csal; *Chaetoceros salsugineum*, Cset; *Chaetoceros setoensis*, Cten; *Chaetoceros tenuissimus*, Tnit; *Thalassionema nitzschioides*, Csp05 DNA Virus; *Chaetoceros* sp. number 05 DNA Virus, Csp07 DNA Virus; *Chaetoceros* sp. number 07 DNA Virus.

ICTV 分類基準では、Bacilladnaviridae 科に属する複数の珪藻 ssDNA ウイルス属の存在が指摘されている (<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>)。しかしながら、珪藻 ssDNA ウイルスの情報蓄積は十分とは言えない為、こうした分類も今後の情報蓄積によって変化していくのかもしれない。著者らが知る限り、珪藻に感染する ssDNA ウイルスと同様の特徴を持つウイルスの他生物からの単離報告は無い。なぜ、珪藻だけでしか見つからないのか？他の近縁の藻類には感染しないのか？またその起源は何なのか？珪藻の ssDNA ウイルスは未だ多くの謎に包まれていると言える。近年、環状一本鎖 DNA をゲノムに持つ真核生物ウイルスの殻遺伝子が、ssRNA ウイルスのそれに由来するといった、興味深い報告がある (Kazlauskas *et al.* 2017)。もしかすると、珪藻 ssDNA ウイルスと似たウイルスが他の宿主で見つからないのは、独自に ssRNA ウイルスから進化してきた可能性が考えられる。こうした疑問は、おそらく珪藻そして近縁種に感染する ssDNA ウイルスの情報が蓄積していく過程で解決していくだろう。ごく最近になって、上記の珪藻 ssDNA ウイルスに付随的に感染している ssDNA を核酸として持つサテライトウイルスが存在する可能性が指摘されている (日本藻類学会第 42 回大会発表；外丸ら 2018)。サテライトウイルスはウイルスに感染するウイルスとして知られており、一般的には感染先のウイルスの機能を低下させるといわれている。このため、珪藻と珪藻に感染する ssDNA ウイルス、さらにサテライトウイルスを巡る関係は、今後の非常に興味深い研究テーマの一つである。

藻類には、dsRNA をゲノムに持つウイルスの感染例も知られている。ハプト藻 *M. pusilla* に感染する MpRV (Reoviridae 科 Sedoreovirinae 亜科 *Mimoreovirus* 属) (Brussaard *et al.* 2004a) がその代表であり、11 個のセグメント (741–5,792 bp) から構成される、完全長 25 kbp のゲノムを持っている。MpRV の興味深い点は、Phycodnaviridae 科の MpV と共に、同じ *M. pusilla* の細胞に共感染できることである。

新奇藻類ウイルスだけでなく、Phycodnaviridae 科の他、これまでに発見されている藻類ウイルスは、全藻類ウイルスの中の氷山の一角であると考えられる。今後も藻類ウイルスの研究が発展することで、藻類ウイルスの理解、特に、その由来、系統関係の理解が進展することが期待される。

近年のメタゲノム解析とウイルス探索

近年の次世代シーケンサーを用いた塩基配列解析技術の普及は目覚ましく、メタゲノム解析により環境中に存在するウイルス群集の膨大なゲノム情報を取得することが可能になっている。水圏ウイルスも、表層海水に約 $10^6 \sim 10^8$ 粒子/mL 存在すると言われる中、この潮流に乗りウイルスゲノム配列の情報蓄積は急速に進んでいる。前述の大型ウイルス NCLDV の仲間、情報が最も蓄積しているグループの一つとして挙げられる。NCLDV は多くのウイルスの平均サイズ

より大型で、通常ウイルス研究で利用される $0.1 \sim 0.2 \mu\text{m}$ のフィルターを通過せずに多くのバクテリア群集と混在してしまうことが多かった。しかし、次世代シーケンサーの登場により、バクテリア群集の中にあっても NCLDV のゲノム配列を取得することが可能になってきた。海洋環境における NCLDV の存在量は、Tara 海洋探索プロジェクト (2009 年～2012 年) によって世界中の海から採取されたサンプル ($0.2 \mu\text{m} \sim 1.6 \mu\text{m}$ の画分) を解析した結果から、その概数が計算されている。それによると、海洋環境において、NCLDV は表層で平均 4.5×10^4 粒子/mL 存在しており、真核性微生物のそれよりも大きいことが明らかになっている (Hingamp *et al.* 2013)。これほどまでの NCLDV が存在する事から、多くの真核生物が NCLDV の感染を受けていることが示唆されている。また NCLDV の中でも、藻類ウイルスグループである Phycodnaviridae 科のウイルスや Mimiviridae 科のウイルスが、多く検出されることも分かっており、藻類に感染する未知の dsDNA ウイルスが海洋に多く存在することが強く示唆されている。

ここで藻類ウイルスからは少し離れるが、NCLDV の進化について少し触れる。前述の通り NCLDV には多くの遺伝子がコードされており、その中には必ず DNA ポリメラーゼ遺伝子が含まれている。NCLDV の DNA ポリメラーゼ遺伝子と、真核生物、アーキアの DNA ポリメラーゼに基づく系統解析を行うと、祖先的な NCLDV の DNA ポリメラーゼから、真核生物型 DNA ポリメラーゼが分岐してきた可能性が示唆された (Monier *et al.* 2008, 武村 2015)。このことから NCLDV が真核生物の初期進化段階から関与していたことが示唆されている。また NCLDV には、バクテリア、アーキア、真核生物にも似ない、独自の遺伝子が多く含まれており、NCLDV がこれら 3 ドメインに次ぐ第 4 のドメインであるとの指摘もある (武村 2015)。いずれにせよ、現状では NCLDV の全体像を理解する程の情報はないため、こうした仮説を検証するためにも、メタゲノム解析を含む NCLDV の探索が重要になるだろう。

NCLDV の情報が蓄積する一方で、ssDNA, ssRNA などのゲノムを持つ藻類ウイルスについては、十分な情報が蓄積されていない。これは水圏環境のウイルスメタゲノム研究の主流がバクテリアを対象としたウイルスであり、バクテリアウイルスの大半が dsDNA ウイルスである事から、注目されてこなかったことも一因であろう (Koonin *et al.* 2015)。RNA ウイルスについては、RNA ゲノム複製に必須な酵素 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) の遺伝子をターゲットとしたメタゲノム解析の報告がある (Culley *et al.* 2014)。この結果によると、ウイルス粒子の単離 (クローン株化) には至っていないものの、珪藻に感染する ssRNA ウイルスに近縁な RNA 配列が、環境 RNA から検出されている。珪藻 ssRNA ウイルスは、前述の通りストラメノパイル生物に感染するウイルス群にまると考えられることから、珪藻以外のストラメノパイル生物、特に藻類に感染する

ssRNA ウイルスが多く存在するものと予想される。

さらにごく最近、環境ウイルスや内在性ウイルスゲノム解析の分野において革新的な手法が報告された。Fragmented & loop primer ligated dsRNA sequencing (FLDS) 法と命名されているこの手法は、dsRNA を得意的に分画し、配列を取得する方法である (Urayama *et al.* 2016)。生体内において、dsRNA は速やかに分解される為、安定的な長鎖の dsRNA は通常存在し得ない。しかしながら、ゲノム複製期の ssRNA や dsRNA をゲノムに持つウイルスが感染している宿主細胞内には、長鎖 dsRNA が存在する。つまり、多くの場合、単離された長鎖 dsRNA はウイルス由来の配列である為、FLDS 法によって効率的に RNA ウイルスゲノム配列を解読できることになる。開発者である浦山らは、この手法を用いて天然珪藻コロニーから 30 種類もの RNA ウイルスゲノムを検出している (浦山ら 2015)。また本手法を海藻サンプルに適用することで、複数の海藻から RNA ウイルスのゲノムを検出することにも成功している (日本藻類学会第 42 回大会発表; 千葉ら 2018)。他にも ssDNA ゲノムだけを効率的に分画する技術も開発されており (Yoshida *et al.* 2018)、こうした新手法が未知の藻類ウイルス探索に大いに貢献することが予想される。

一方で、環境 DNA あるいは RNA のメタゲノム解析は、往々にして未知の生物由来ゲノムを検出することが大きな問題でもある。特にウイルスメタゲノム解析では、ウイルスゲノムデータベースが不十分であり、分類群すら不明なウイルスが多く検出されてしまう。さらには、ウイルスには宿主の存在が欠かせないが、その宿主が何なのかメタゲノム解析では分からない。もちろんメタゲノム解析では、ウイルスの単離 (クローン株化) もできない。メタゲノム解析によりウイルスゲノム情報が蓄積されることも重要だが、従来実施されてきた培養宿主を用いたウイルス単離解析もまた必要不可欠な研究であると言える。

微細藻類ブルームとウイルスとの関係

これまでに単離が報告されている藻類感染性ウイルスの多くは、微細藻、特に赤潮や白潮 (ブルーム) を形成する藻類に感染するものが多い。これは、藻類の種によっては、ブルーム形成が水産学的に無視できない現象であり、対象微細藻の生態学的理解が喫緊の課題である為でもある。これまでに *Emiliania huxleyi*, *Phaeocystis globosa*, *Heterosigma akashiwo*, *Heterocapsa circularisquama* 等で、ブルームとウイルス感染との関係について調査研究が行われ、その関係性について理解が進んできた。一方で、地球上における藻類による一次生産量はきわめて膨大で、例えば珪藻では、ある海域の生産量の 3 から 7 割程度を占めることが報告されている (Nelson *et al.* 1995, Field *et al.* 1998, Armbrust 2009)。微細藻類に感染するウイルスは微細藻類の動態を左右する生物学的因子であり、微細藻類の生態学的理解においてウイルスと宿主藻類との関係の理解は極めて重要である。

E. huxleyi は、春の北太平洋で頻繁にブルームを形成するが、本種のブルーム崩壊期にウイルス EhV の感染が影響していることが知られている。この時、直接観察により算出した *E. huxleyi* のウイルス感染率は最大で 50% に達しており (Brussaard *et al.* 1996)、バーストサイズ (1 細胞あたりから放出されるウイルス量) とウイルス量から推定されたウイルスによる死滅率は、総死亡細胞の 25 から 100% にも及んでいる (Bratbak *et al.* 1993, Jacquet *et al.* 2002)。このことから、*E. huxleyi* ブルームの崩壊に、EhV が大きく関係していることが示唆されている。日本における例を見ると、各地で初夏に赤錆色の典型的な赤潮を形成し魚類斃死の原因となる *H. akashiwo* や、二枚貝を特異的に斃死させる赤潮の原因藻である *H. circularisquama* のブルーム期間中に、これらに感染するウイルスが特異的に発生することが確認されている。これらのウイルスが宿主微細藻類ブルームに、どれほどの影響をもたらしているのかはまだわからないが、自然界においてウイルスは微細藻類個体群の挙動に何らかの影響を与えている事は確からしい。

夏季にブルームを形成する珪藻 *Chaetoceros tenuissimus* についても、ブルーム期に合わせて本藻に感染するウイルスが出現する。しかしながら、本藻のブルームは、ウイルス出現後も完全に崩壊することはない (Tomaru *et al.* 2011a)。このような例があることを考えると、ブルーム崩壊とウイルス感染の関係は、単純には説明できないことが分かる。近年は、単一の宿主-ウイルスの関係を見るだけでなく、メタゲノムの手法を用いた微細藻類群集-ウイルス群集の関係を理解しようとする取り組みもあり、これらの情報が蓄積されることで、ブルーム崩壊やウイルス感染の関係について理解が深まると期待される。

珪藻とウイルスの生理生態学的関係

この項では、我々の注目する珪藻とウイルスについて、生理学、生態学の側面から、少し詳しく紹介する。現場における珪藻とウイルスの関係については、*C. tenuissimu* とそれに感染する複数のウイルスをモデルとして研究に取り組んでいる。*C. tenuissimu* は日本で少なくとも北海道から九州まで広く分布しており、春から秋にかけて頻繁にブルームを形成する (Tomaru *et al.* 2018)。このような *C. tenuissimu* に感染するウイルスも同様に日本沿岸に広く分布していることがこれまでに確認されている。我々は広島湾を中心とした海域から本種に感染するウイルスを複数単離しその性状を解析する作業を実施してきた。それらの多くは先に紹介した ssDNA ウイルスならびに ssRNA ウイルスに属するものと推察されている (木村・外丸, 未発表)。現在我々は、これら大きく 2 タイプに分けられるウイルス同士がどの様に宿主を奪い合うのか? または分け合うのか? に着目した研究を、それぞれの代表株を用いて展開している。

最も基本となる環境要因である水温に注目した実験では、*C. tenuissimu* とそれに感染する CtenDNAV と

CtenRNAV を使った培養実験がある。15, 20, 25°C の条件でこれらのウイルスを *C. tenuissimsu* に感染させると、DNA ウイルスによる死滅は高温ほど速く進むことが分かった。その一方で、RNA ウイルスによる死滅は、低温の方が速かった (Tomaru *et al.* 2014)。さらに、研究が進む中で *C. tenuissimsu* に感染する新たな DNA/RNA ウイルスの種が増えたことに伴い、宿主-ウイルスの組み合わせを拡大し、水温に加えて塩分に対する感染応答も見るような培養実験を行った。その結果からは、様々な DNA/RNA ウイルス単離株と *C. tenuissimsu* 株との組合せにおいて、それらの感染の成否や程度が大きく変動する事が明らかになった (Kimura & Tomaru 2017)。沿岸域では夏期の急な降雨時などに、特に水温や塩分などが短期間で劇的に変化する。これらの感染培養試験結果を見ると、沿岸域に生育する *C. tenuissimsu* は、激しい環境変化の中で、ウイルスと攻防を繰り返していることが想像される。ただし、残念ながら今のところ、上記の結果をもって現場で起きているウイルスの変動を上手く説明できていない。珪藻の生活に影響を及ぼす因子は水温・塩分ばかりではなく、光・栄養塩・バクテリア等の物理・化学・生物学的因子が複雑に絡み合っていることが想像される。今後も、各環境変化に対する珪藻とウイルスとの感染関係を、一つ一つ理解していくことが必要である。

上記、水温・塩分環境への応答は、死滅という結果に注目した実験であるが、次はウイルス感染と増殖フェーズの関係について考える。対数増殖期と定常期という異なる増殖フェーズで比較すると、*Phaeocystis pouchetii* (ハプト藻) に感染する dsDNA ウイルス PpV の場合、感染に伴うバーストサイズが定常期で減少する (Bratbak *et al.* 1998)。*H. circularisquama* も、対数増殖期ではウイルス潜伏期間が短くなり、バーストサイズが大きくなる (Nagasaki *et al.* 2003)。一方で、珪藻では定常期においてウイルス存在下で急速に培養個体群が死滅する。これは *C. tenuissimsu* とそのウイルスに限ったことではなく、これまでに単離されてきた珪藻ウイルスで同様の傾向が見られている (Nagasaki *et al.* 2005b, Tomaru *et al.* 2008, 2011b, Kimura & Tomaru 2015)。つまり、珪藻では盛んに増殖している個体群では、多くの細胞がウイルス感染による死滅から逃れる事ができるものと予想される。そこで我々のグループでは、半連続培養法を用いて一日あたりの分裂回数が2回になるような *C. tenuissimsu* の培養系に対し、ウイルスを接種した場合の細胞密度の減少率を測定した。その結果、常に分裂を繰り返す環境にある *C. tenuissimsu* 細胞集団のうち、ウイルス感染で死滅する割合は数パーセントで、9割以上の細胞がウイルス存在下にもかかわらず分裂・増殖が可能であるものと推察された (Tomaru *et al.* 2014)。以上のことから、細胞の増殖生理とウイルス感染の間には何らかの関係があると推察されるが、今のところそれらを十分に説明できる実験的根拠は無い。

これまでの研究から珪藻は、ブルーム期にウイルス感染の影響を少なからず受けているようであるが、水温・塩分など

の環境要因、珪藻の細胞生理状態、感染特異性など、様々な要因によってウイルス感染から上手く逃れつつ個体群を維持しているようである。他にも、付随するバクテリアの存在によって、*C. tenuissimsu* に対する CtenRNAV の感染と溶藻が成立しなくなる例もある (Kimura & Tomaru 2014)。珪藻は、上記に加え未知の多様なシステムによって、ウイルスと上手く共存する関係を築いているのかもしれない。今後、珪藻とウイルスの関係をより深く理解していくためには、何よりも感染メカニズムを理解していくことが必須であると、我々は考えている。

今後の展望

本稿では、これまでに発見、研究されてきた藻類ウイルス、そして珪藻ウイルス研究の現状について述べた。これまでの研究の積み重ねにより、藻類ウイルスの様々なことが分かってきたが、動植物やバクテリアのウイルス研究と比較すれば、まだ知見は少ない。本稿では珪藻ウイルスの生理生態学的研究について紹介したが、今後は、珪藻ウイルスの感染メカニズムの理解深化に加えて、様々な視点から珪藻とウイルスの関係が解明されていくことで、水圏最大の生産者とされる珪藻に及ぼすウイルスの影響がどれほどのものなのかが、見えてくるかもしれない。最後に、珪藻含め、藻類ウイルスの研究は、未だ多くの未開拓分野が残っており、多くの新発見の可能性を秘めている。好奇心豊かな研究者、若手研究者にとっては格好の研究対象であり、興味のある研究者には、是非、藻類ウイルス研究の分野に飛び込んできてもらいたい。

謝辞

最後に、本稿の内容は、JSPS 科研費 (16H06429, 16K21723, 16H06437) の助成を受けたものです。

引用文献

- Armburst, E. V. 2009. The life of diatoms in the world's oceans. *Nature* 459: 185–192.
- Bergh, Ø., Børshheim, K. Y., Bratbak, G. & Heldal, M. 1989. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature* 340: 467–468.
- Bratbak, G., Egge, J. K. & Heldal, M. 1993. Viral mortality of the marine alga *Emiliania huxleyi* (Haptophyceae) and termination of algal blooms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 93: 39–48.
- Bratbak, G., Jacobsen, A., Heldal, M., Nagasaki, K. & Thingstad, F. 1998. Virus production in *Phaeocystis pouchetii* and its relation to host cell growth and nutrition. *Aquat. Microb. Ecol.* 16: 1–9.
- Bratbak, G., Wilson, W. H. & Heldal, M. 1996. Viral control of *Emiliania huxleyi* blooms? *J. Mar. Syst.* 9: 75–81.
- Brussaard, C. P. D. 2004. Viral control of phytoplankton populations. *J. Euk. Microbiol.* 51: 125–138.
- Brussaard, C. P. D., Kempers, R. S., Kop, A. J., Riegman, R. & Heldal, M. 1996. Virus-like particles in a summer bloom of *Emiliania huxleyi* in the North Sea. *Aquat. Microb. Ecol.* 10: 105–113.
- Brussaard, C. P. D., Noordeloos, A. A., Sandaa, R.-A., Heldal, M. & Bratbak, G. 2004a. Discovery of a dsRNA virus infecting the marine photosynthetic protist *Micromonas pusilla*. *Virology* 319: 280–291.
- Brussaard, C. P. D., Short, S. M., Frederickson, C. M. & Suttle, C. A.

- 2004b. Isolation and phylogenetic analysis of novel viruses infecting the phytoplankton *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae). *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 3700–3705.
- Brussaard, C. P. D., Wilhelm, S. W., Thingstad, F. *et al.* 2008. Global-scale processes with a nanoscale drive: the role of marine viruses. *ISME J.* 2: 575–578.
- Carstens, E. B. & Ball, L. A. 2009. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2008). *Arch. Virol.* 154: 1181–1188.
- 千葉悠斗・外丸裕司・木村圭ら 2018. 大型藻類を対象とした RNA ウイルスの網羅的探索. *藻類* 66: 88.
- Culley, A. I., Mueller, J. A., Belcaid, M., Wood-Charlson, E. M., Poisson, G. & Steward, G. F. 2014. The characterization of RNA viruses in tropical seawater using targeted PCR and metagenomics. *mBio.* 5: e01210-14.
- Dunigan, D. D., Cerny, R. L., Bauman, A. T. *et al.* 2012. *Paramecium bursaria* chlorella virus 1 proteome reveals novel architectural and regulatory features of a giant virus. *J. Virol.* 86: 8821–8834.
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T. & Falkowski, P. 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281: 237–240.
- Fuhrman, J. A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* 399: 541–548.
- Hingamp, P., Grimsley, N., Acinas, S. G. *et al.* 2013. Exploring nucleocytoplasmic large DNA viruses in Tara Oceans microbial metagenomes. *ISME J.* 7: 1678–1695.
- Holmfeldt, K., Odić, D., Sullivan, M. B., Middelboe, M. & Riemann, L. 2012. Cultivated single-stranded DNA phages that infect marine *Bacteroidetes* prove difficult to detect with DNA-binding stains. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 892–894.
- Hyman, P. & Abedon, S. T. 2012. Smaller fleas: viruses of microorganisms. *Scientifica.* 2012: 734023.
- Jacquet, S., Heldal, M., Iglesias-Rodriguez, D., Larsen, A., Wilson, W. & Bratbak, G. 2002. Flow cytometric analysis of an *Emiliana huxleyi* bloom terminated by viral infection. *Aquat. Microb. Ecol.* 27: 111–124.
- Kawakami, H. & Kawakami, N. 1978. Behavior of a virus in a symbiotic system, *Paramecium bursaria* — zoochlorella. *J. Protozool.* 25: 217–225.
- Kazlauskas, D., Dayaram, A., Kraberger, S., Goldstien, S., Varsani, A. & Krupovic, M. 2017. Evolutionary history of ssDNA bacilladnaviruses features horizontal acquisition of the capsid gene from ssRNA nodaviruses. *Virology.* 504: 114–121.
- Kimura, K. & Tomaru, Y. 2014. Coculture with marine bacteria confers resistance to complete viral lysis of diatom cultures. *Aquat. Microb. Ecol.* 73: 69–80.
- Kimura, K. & Tomaru, Y. 2015. Discovery of two novel viruses expands the diversity of single-stranded DNA and single-stranded RNA viruses infecting a cosmopolitan marine diatom. *Appl. Environ. Microbiol.* 81: 1120–1131.
- 木村圭・外丸裕司 2015. 海洋真核性微細藻類ウイルスの現状と生態学的研究. *ウイルス* 65: 37–46.
- Kimura, K. & Tomaru, Y. 2017. Effects of temperature and salinity on diatom cell lysis by DNA and RNA viruses. *Aquat. Microb. Ecol.* 79: 79–83.
- Koonin, E. V., Dolja, V. V. & Krupovic, M. 2015. Origins and evolution of viruses of eukaryotes: The ultimate modularity. *Virology* 479-480: 2–25.
- Lang, A. S., Culley, A. I. & Suttle, C. A. 2004. Genome sequence and characterization of a virus (HaRNAV) related to picorna-like viruses that infects the marine toxic bloom-forming alga *Heterosigma akashiwo*. *Virology* 320: 206–217.
- Lang, A. S. & Suttle, C. A. 2008. Marnaviruses. In: Mahy, B. W. J. & van Regenmortel, M. H. V. (eds.) *Encyclopedia of Virology.* pp. 280–285. Elsevier, Oxford.
- 真砂佳史・稲葉愛美・風間しのぶ 2015. 水環境ウイルス ～シーケンシング技術の発展により生態系での働きが明らかに. *生物の科学 遺伝* 69: 268–271.
- Mayer, J. & Taylor, F. 1979. A virus which lyses the marine nanoflagellate *Micromonas pusilla*. *Nature* 281: 299–301.
- Mojica, K., Evans, C. & Brussaard, C. 2013. Flow cytometric enumeration of marine viral populations at low abundances. *Aquat. Microb. Ecol.* 71: 203–209.
- Monier, A., Larsen, J. B., Sandaa, R.-A., Bratbak, G., Claverie, J. M. & Ogata, H. 2008. Marine mimivirus relatives are probably large algal viruses. *Virol. J.* 5: 12.
- Nagasaki, K., Shirai, Y., Takao, Y., Mizumoto, H., Nishida, K. & Tomaru, Y. 2005a. Comparison of genome sequences of single-stranded RNA virus infecting the bivalve-killing dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 8888–8894.
- Nagasaki, K., Tarutani, K., Hamaguchi, M. & Yamaguchi, M. 2001. Preliminary analysis on *Heterosigma akashiwo* virus DNA. *Microbes Environ.* 16: 147–154.
- Nagasaki, K., Tomaru, Y., Takao, Y., Nishida, K., Shirai, Y., Suzuki, H. & Nagumo, T. 2005b. Previously unknown virus infects marine diatom. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 3528–3535.
- Nagasaki, K., Tomaru, Y., Tarutani, K., Katanozaka, N., Yamanaka, S., Tanabe, H. & Yamaguchi, M. 2003. Growth characteristics and intraspecies host specificity of a large virus infecting the dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 2580–2586.
- Nagasaki, K. & Yamaguchi, M. 1997. Isolation of a virus infectious to the harmful bloom causing microalga *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *Aquat. Microb. Ecol.* 13: 135–140.
- Nelson, D. M., Tréguer, P., Brzezinski, M. A., Leynaert, A. & Quéguiner, B. 1995. Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Global Biogeochem. Cycles.* 9: 359–372.
- Ogata, H., Toyoda, K., Tomaru, Y., Nakayama, N., Shirai, Y., Claverie, J. M. & Nagasaki, K. 2009. Remarkable sequence similarity between the dinoflagellate-infecting marine girus and the terrestrial pathogen African swine fever virus. *Virol. J.* 6: 1852–1860.
- Philippe, N., Legendre, M., Doutre, G. *et al.* 2013. Pandoraviruses: amoeba viruses with genomes up to 2.5 Mb reaching that of parasitic eukaryotes. *Science* 341: 281–286.
- Safferman, R. S. & Morris, M. E. 1963. Algal virus: isolation. *Science.* 140: 679–680.
- Schroeder, D. C., Oke, J., Hall, M., Malin, G. & Wilson, W. H. 2003. Virus succession observed during an *Emiliana huxleyi* bloom. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 2484–2490.
- Steward, G. F., Culley, A. I., Mueller, J. A., Wood-Charlson, E. M., Belcaid, M. & Poisson, G. 2013. Are we missing half of the viruses in the ocean? *ISME J.* 7: 672–679.
- Suttle, C. A. 2005. Viruses in the sea. *Nature* 437: 356–361.
- Suttle, C. A. 2007. Marine viruses — major players in the global ecosystem. *Nat. Rev. Microbiol.* 5: 801–812.
- Suttle, C. A. 2011. Marnavirus. In: Tidona, C. & Darai, G. (eds.) *The Springer Index of Viruses.* pp. 835–837. Springer-Verlag, New York.
- Tai, V., Lawrence, J. E., Lang, A. S., Chan, A. M., Culley, A. I. & Suttle, C. A. 2003. Characterization of HaRNAV, a single-stranded RNA virus causing lysis of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *J. Phycol.* 39: 343–352.
- Takao, Y., Mise, K., Nagasaki, K., Okuno, T. & Honda, D. 2006. Complete nucleotide sequence and genome organization of a single-stranded RNA virus infecting the marine fungoid protist *Schizochytrium* sp. *J. Gen.*

- Viol. 87: 723–733.
- 武村政春 . 2015. DNA ポリメラーゼから紐解く真核生物の進化と核細胞質性大型 DNA ウイルスの関係 . 生物の科学 遺伝 69: 304–309.
- Tomaru, Y., Fujii, N., Oda, S., Toyoda, K. & Nagasaki, K. 2011a. Dynamics of diatom viruses on the western coast of Japan. *Aquat. Microb. Ecol.* 63: 223–230.
- 外丸裕司・木村圭・豊田健介 2018. 珪藻に感染するウイルスに感染するサテライトウイルスの発見 . 藻類 66: 77.
- Tomaru, Y., Kimura, K. & Yamaguchi, H. 2014. Temperature alters algicidal activity of DNA and RNA viruses infecting *Chaetoceros tenuissimus* Meunier. *Aquat. Microb. Ecol.* 73: 171–183.
- Tomaru, Y. & Nagasaki, K. 2004. Widespread occurrence of viruses lytic to the bivalve-killing dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* along the western coast of Japan. *Plankton Biol. Ecol.* 51: 1–6.
- Tomaru, Y. & Nagasaki, K. 2007. Flow cytometric detection and enumeration of DNA and RNA viruses infecting marine eukaryotic microalgae. *J. Oceanogr.* 63: 215–221.
- Tomaru, Y. & Nagasaki, K. 2011. Diatom viruses. In: Seckbach, J. & Kociolek, J. (eds.) *The diatom world, cellular origin, life in extreme habitats and astrobiology*. pp. 211–225. Springer, London.
- Tomaru, Y., Shirai, Y., Suzuki, H., Nagumo, T. & Nagasaki, K. 2008. Isolation and characterization of a new single-stranded DNA virus infecting the cosmopolitan marine diatom *Chaetoceros dehilis*. *Aquat. Microb. Ecol.* 50: 103–112.
- Tomaru, Y., Shirai, Y., Toyoda, K. & Nagasaki, K. 2011b. Isolation and characterisation of a single-stranded DNA virus infecting the marine planktonic diatom *Chaetoceros tenuissimus*. *Aquat. Microb. Ecol.* 64: 175–184.
- Tomaru, Y., Toyoda, K. & Kimura, K. 2018. Occurrence of the planktonic bloom-forming marine diatom *Chaetoceros tenuissimus* Meunier and its infectious viruses in western Japan. *Hydrobiologia* 805: 221–230.
- Tomaru, Y., Toyoda, K., Kimura, K., Hata, N., Yoshida, M. & Nagasaki, K. 2012. First evidence for the existence of pennate diatom viruses. *ISME J.* 6: 1445–1448.
- Urayama, S., Takaki, Y. & Nunoura, T. 2016. FLDS: A Comprehensive dsRNA sequencing method for intracellular RNA virus surveillance. *Microbes Environ.* 31: 33–40.
- 浦山俊一・吉田光宏・吉田(高島)ゆかり 2015. 地球最大のウイルス貯留池: 海洋 ~ 遺伝資源としての海洋ウイルス利用を目指して . 生物の科学 遺伝 69: 272–277.
- Wommack, K. E. & Colwell, R. R. 2000. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64: 69–114.
- Yoshida, M., Mochizuki, T., Urayama, S. I. *et al.* 2018. Quantitative viral community DNA analysis reveals the dominance of single-stranded DNA viruses in offshore upper bathyal sediment from Tohoku, Japan. *Front. Microbiol.* 9: 75.

(¹ 佐賀大学, ² 水産研究・教育機構)