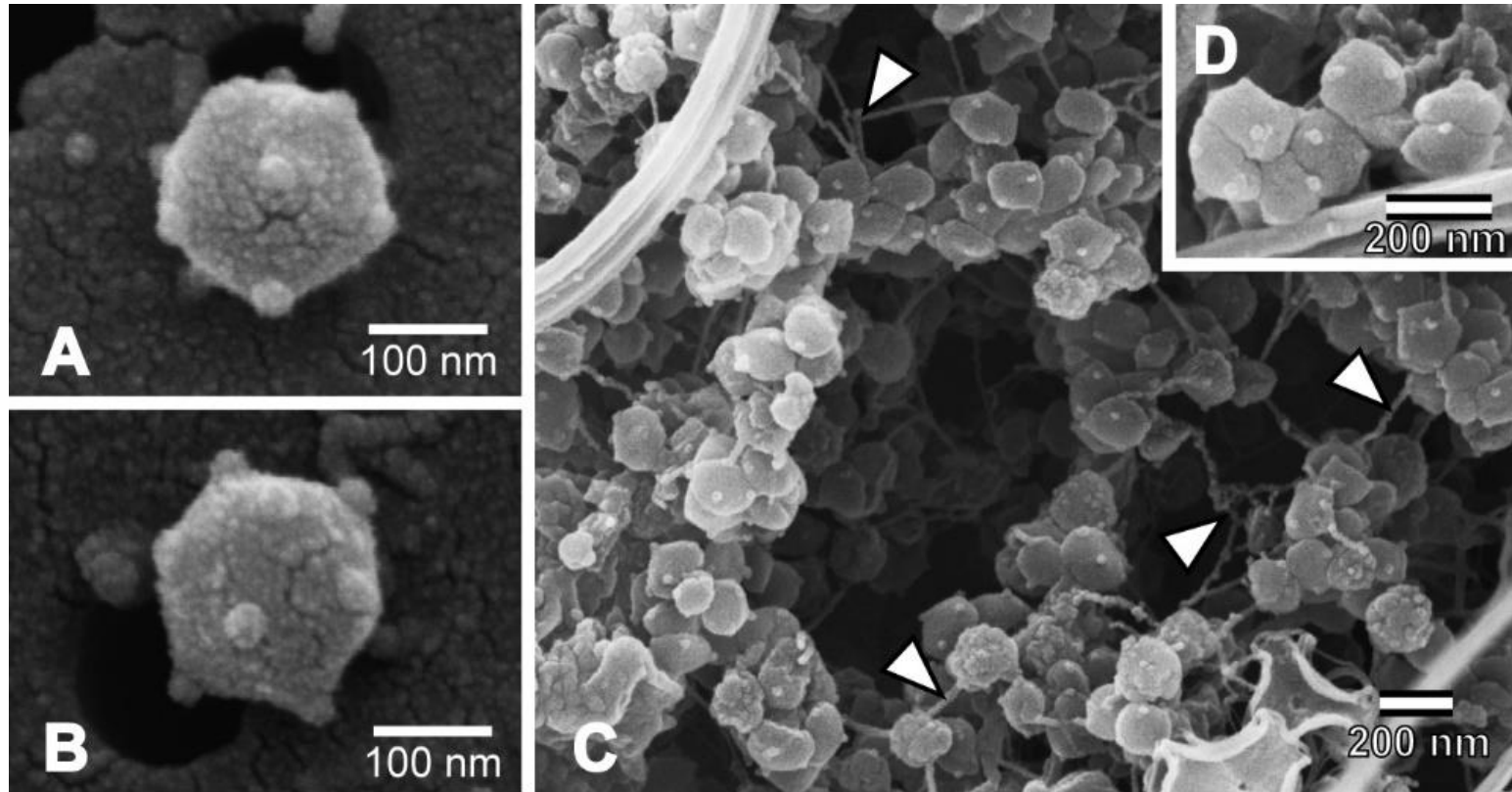


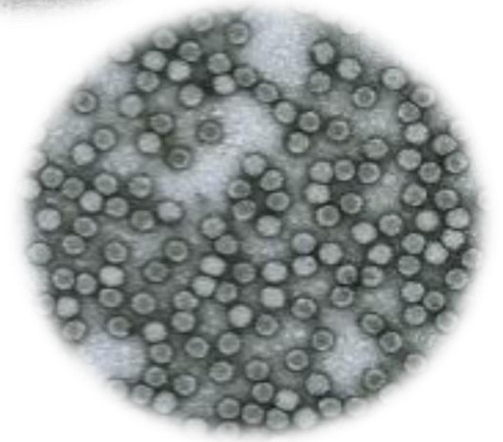
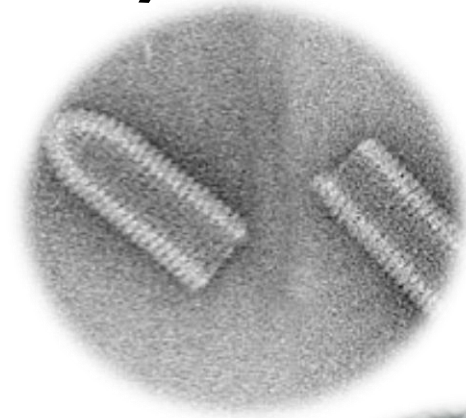
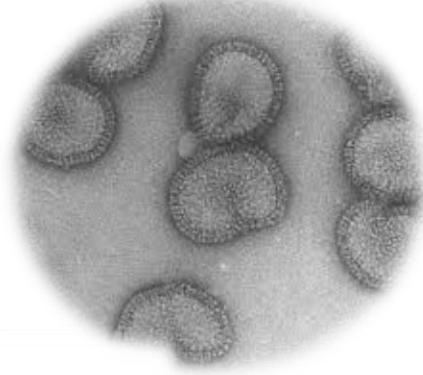
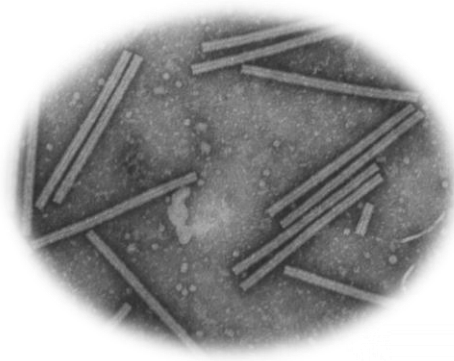
# 海洋の 悪いウイルス 良いウイルス



長崎慶三(高知大学・理工学部門)

2019年7月13日  
みちのくウイルス塾

# 1892年:ウイルスの発見(TMV)



「ウイルス研究」に投ぜられた努力・予算・時間のほとんどは  
ウイルス病・病原ウイルスの研究に遣われてきた

2019年

ウイルス = 『病気を起こすもの』

まだ小さな子どもたちの頭の中でさえ  
「ウイルス→病気」という構図ができている





# 病気の研究はまず血税により成される

**「ウイルス研究」＝「病気の研究」**  
**これはどこの国でも当然のこと**



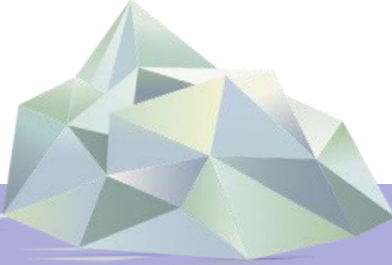
しかしごく最近、  
ウイルスについて、  
驚くべき事実が  
明らかとなった





**地球上のウイルス粒子数**

**$10^{31}$**



人・動物・植物に  
病気を起こすウイルス



病気を起こさないウイルス



生態系内の何らかの生物に感染する  
未知なるウイルスがウヨウヨしている

# ウイルスといえば・・・



**でも実際は、**

- ほとんどのウイルスは人間の健康や産業に影響しない
- いわゆる「病原ウイルス」は、全体のごくほんの一部
- **おそらく地球上の全ての生物はウイルス感染を受ける**



# 新学術領域研究(国家的研究プロジェクト) ネオウイルス学 生命源流から超個体、そしてエコ・スフィアへ

領域リーダー: 河岡 義裕(東京大学医科学研究所)H28~H32年度



様々な研究機関で  
新たな視点からの  
ウイルス学研究が、  
現在、絶賛展開中！

ウイルスは本当に  
いろんな場所にいるからね！  
幅広く研究するために  
各分野のエキスパートの  
方々に参加して  
もらっているんだ

すげーい！



サワ先生  
節足動物ウイルス分野  
北海道大教授  
なぜかよくラボの床に座る  
(一休さん効果?)



ワタナベ先生  
水鳥対ウイルスの共生研究  
東大特任准教授



トモナガ先生  
内在性RNAウイルス分野  
京大教授  
我が子との昼寝が好き

## 高知大学



ナガサキ先生  
水圏ウイルス分野  
高知大教授  
この漫画の発起人



スズキ先生  
カビのウイルス分野  
岡山大教授  
留学生の多いラボで  
「ルー語」を操る  
インドカレーが絶品



カワオカ先生



マツウラ先生  
分子ウイルス学分野  
大阪大教授  
誰よりも早くラボに来て  
早朝の神々しい空気を堪能



タカハシ先生  
植物ウイルス分野 東北大教授  
「最近の曲知ってますね」と  
若者から高い評価を集める

我らが高知大学では  
海洋ウイルス研究を  
担当しています！



東大勢  
(全員正装)

お待ちしていました

こちらです

しかし店へ着くと…

Welcome to our Territory

ちゃんとしたミシュラン一つ星のフランス料理店だった

ま、とりあえず呑むんだらうと思っていつも通りの格好で行ったのニャ

でかりュック

よれよれシャツ

サンダル(¥1,480)

※カワオカ先生と初対面

ニヤガサキ先生はなぜネオウイルス学研究に参加されたんですか?

なんでそんなブルーなの

ふっ…

黒い歴史ニャ…

ニヤガサキ先生  
水圏ウイルス分野  
高知大教授

ケイコちゃん  
イマドキ女子大生

おそらく厨房では

ハイボール?

ワインじゃなくて?

ハイボールってナンデスカー?

Google it!

ウイスキーの炭酸割りとアリマース

トリアエズ作りまシヨ

ハイボールってフランス料理屋にあるんですか?

居酒屋とかのイメージ

そうなんニャ

もう完全に空気にのまれていつものクセで

言っちゃったのニャ

気が弱くて…

ご注文は?

シヤンパーニユ

私はロゼを

ニヤガサキさんは?

メニュー分らないハイボール

じゃ私は炭酸水で

場違い感



…となつてたはずニヤ…  
…でも  
良かったですね  
通じて

まあニヤ  
でもたしか何杯もおかわりして  
ヒンシユク買ったに違いないニヤー

でも、その席で語りかけてくれた  
カワオカ先生の目はすごく  
輝いていてニヤー

これまでにない  
ウイルス学を  
是非一緒に  
やりましょう！

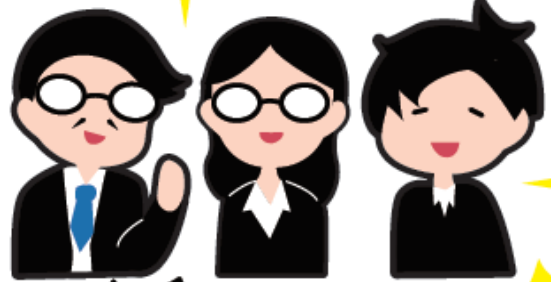
何というかニヤ  
その時に  
「ああ、  
この人が  
喜ぶ顔を  
もっと見たい」と  
思ったんだニヤ

同じ志を持つ研究者として  
ホレ込んだわけですね！

食事が終わって…

今日は  
ありがとう  
ございました

じゃあ我々は  
仕事があるので  
ここで



えっ  
今から  
仕事!?



でもこの人たちとなら一緒に仕事を  
してみたいと思ったニヤー

おかわり  
したんかい



その後御徒町「旅のつづき」に歌いに行った自由人

**ニュースレターの講読を希望される方は、  
下記ウェブページよりダウンロード可能です！**

<http://www.cc.kochi-u.ac.jp/~nagasaki/report1.html>



…というわけで、  
本日は海のウイルスのお話を紹介します



# スプーン1杯の海水を汲んでみましょう



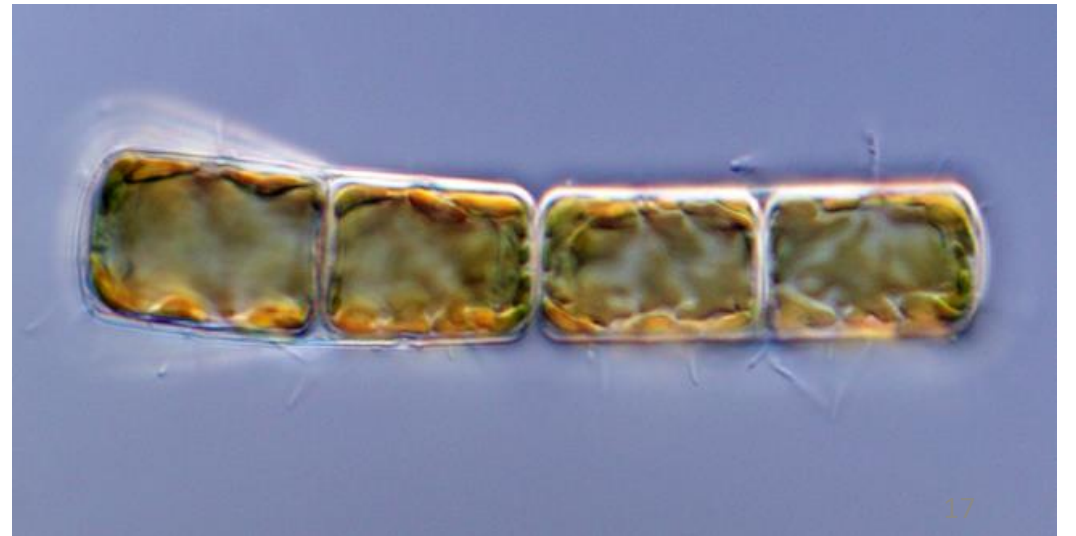
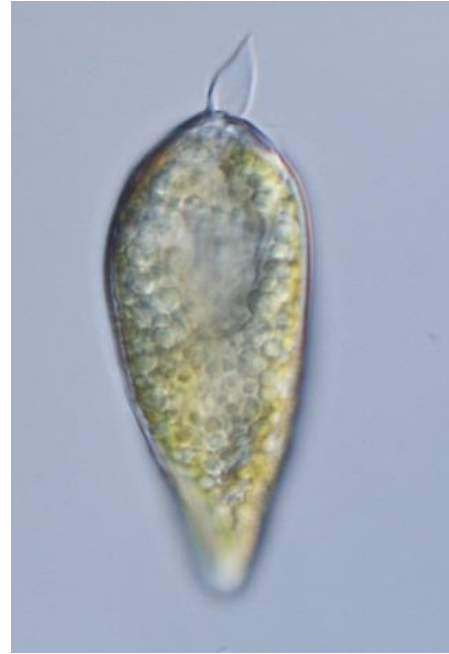
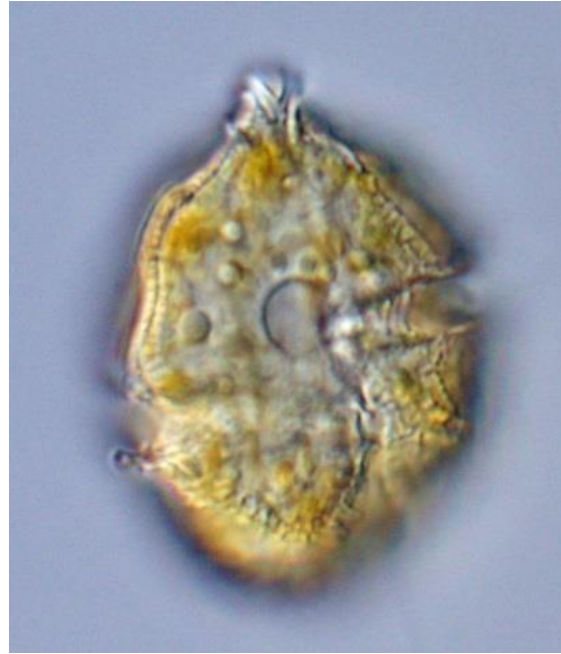
**その海水は澄んでみえるけれども……**

# 光学顕微鏡でこの海水を観察すると・・・ (数十倍～数百倍)





# 様々な美しいフランクtonを観ることができる

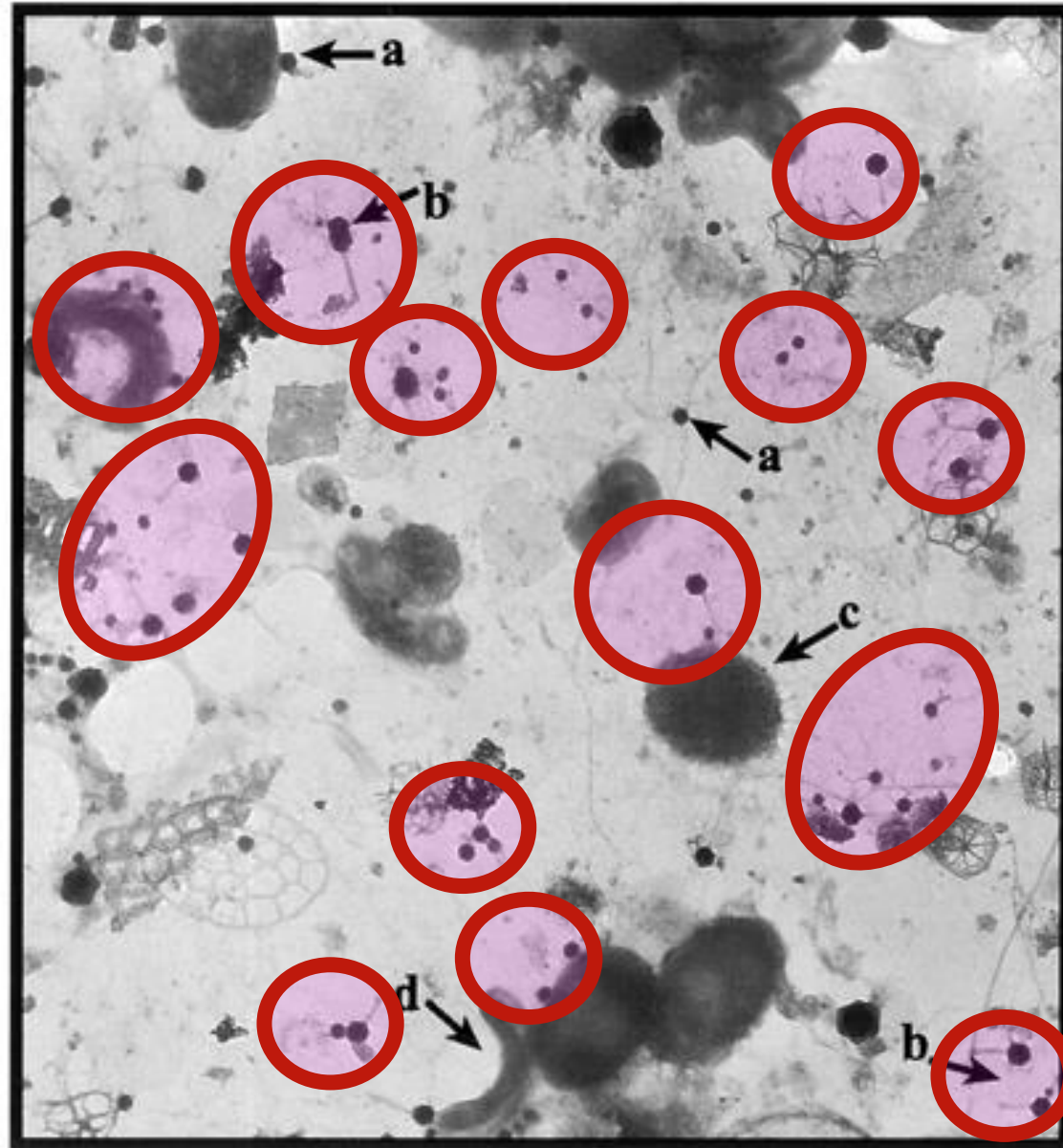


# この海水を電子顕微鏡でさらに拡大して観察すると・・・ (数千倍～数万倍)





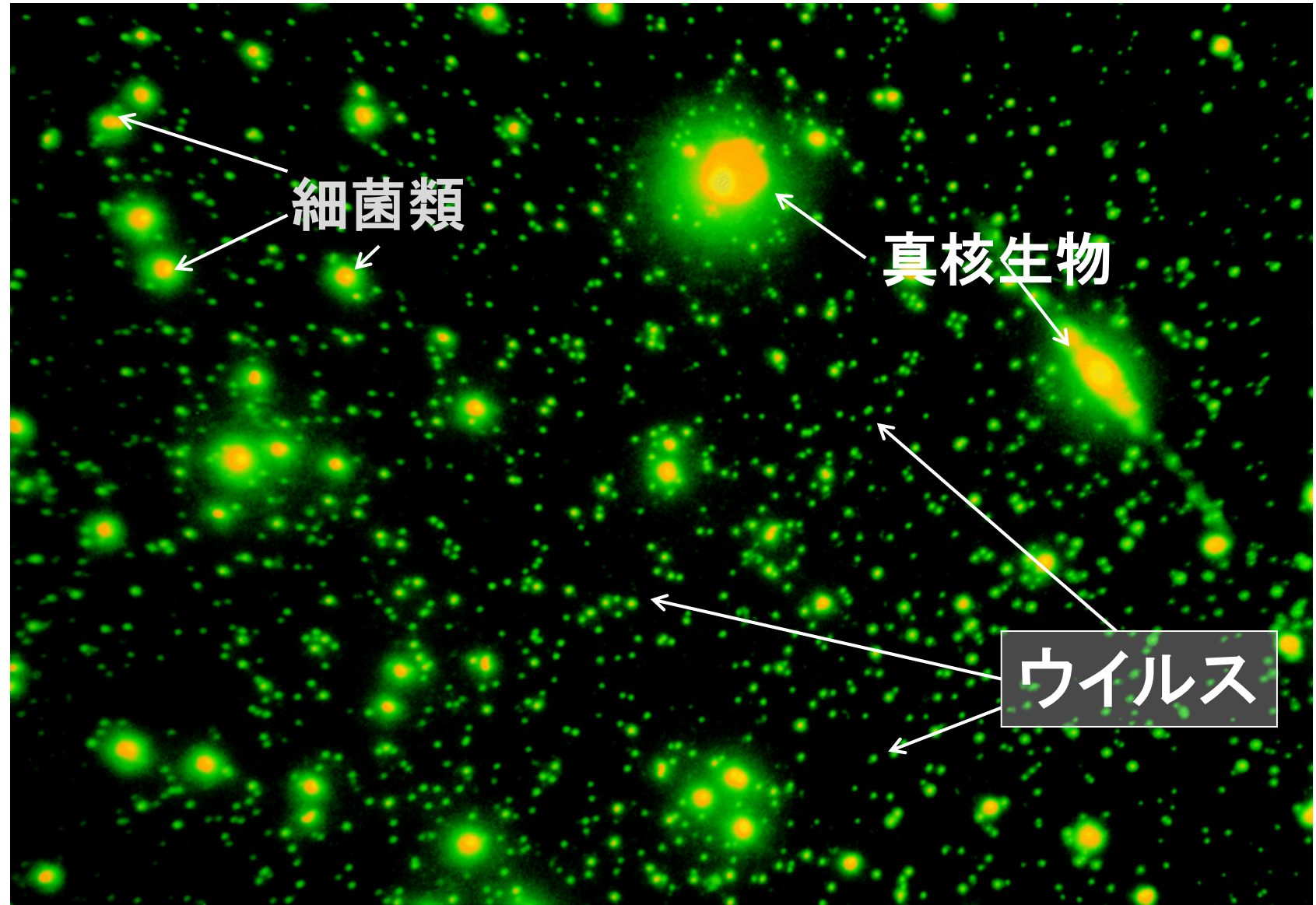
# 海水中に多くのウイルスが存在することが分かる…



# 蛍光顕微鏡でみる “ウイルスたちが作る星空”



蛍光顕微鏡

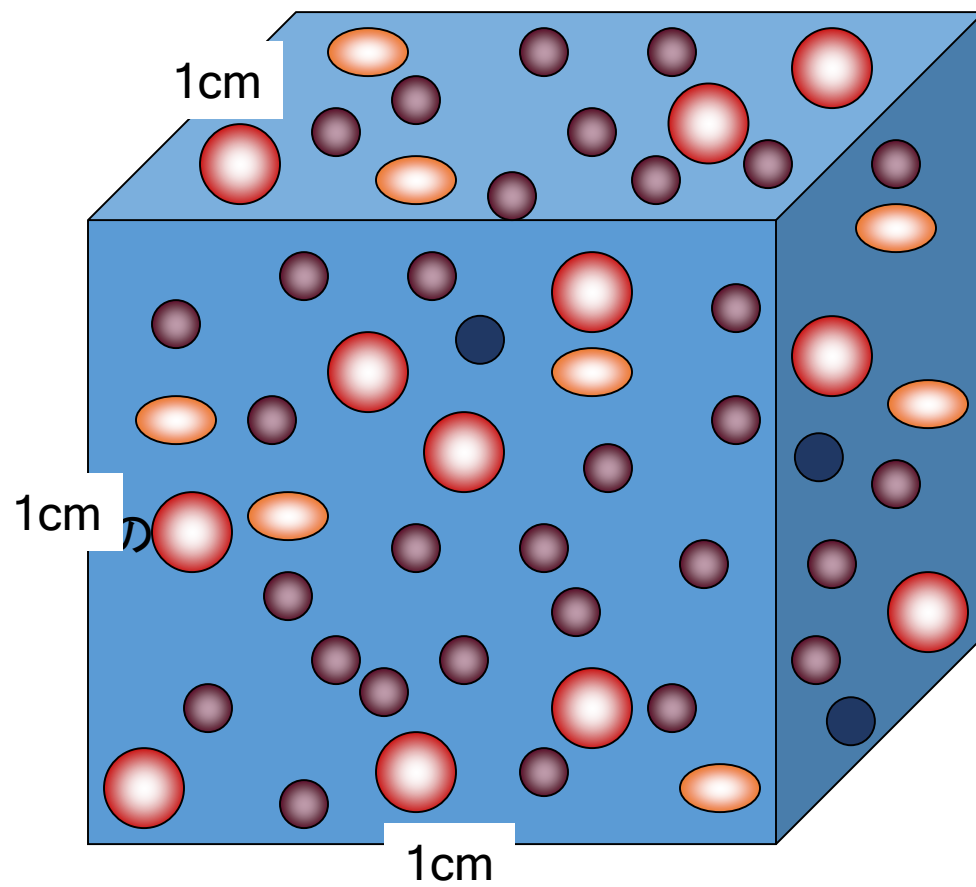


細菌類

真核生物

ウイルス

# 1 mlの沿岸海水中に数千万～数億個のウイルスが浮遊

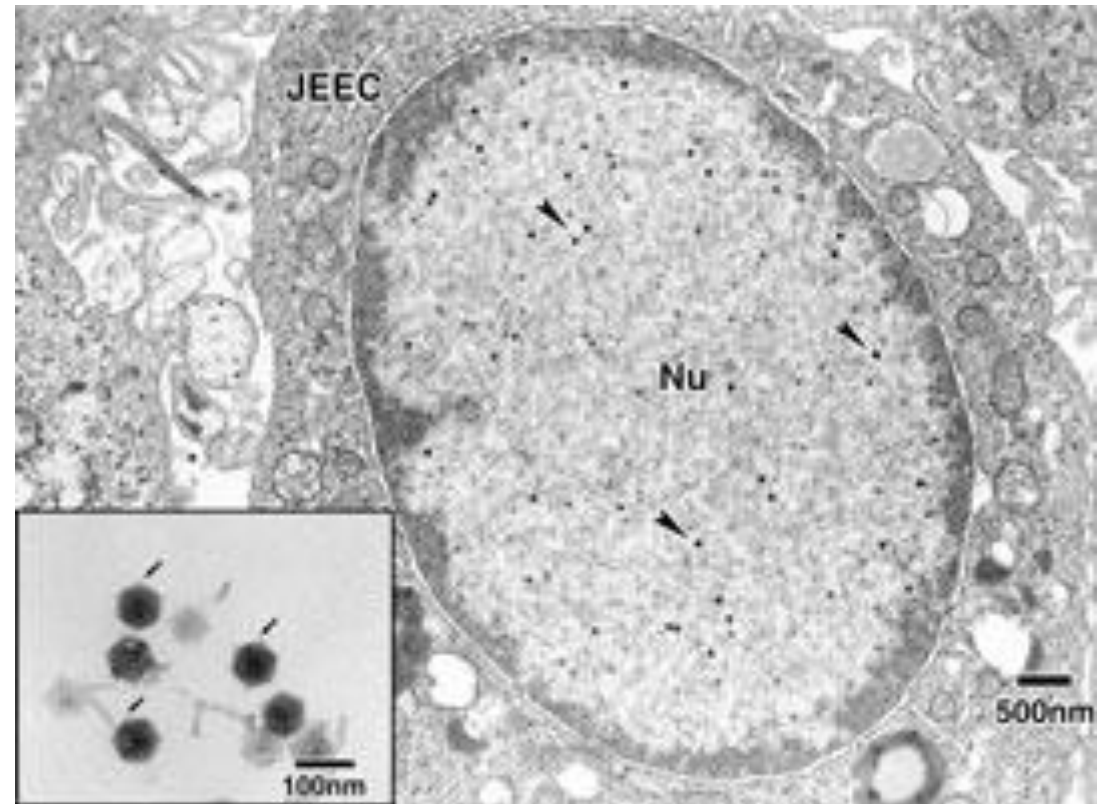


(全海洋で $10^{31}$ 個)

**では、これだけたくさんウイルスたちは  
海の中でいったいどのような役割を担っているのか？**



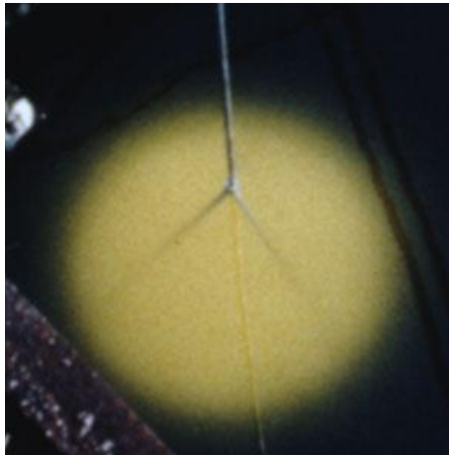
一つ一つのウイルスはとても小さい。  
ウイルスの働きを人間が認識できるのは、  
宿主に「**病気**」や「**大量死滅**」が起き、  
その原因がきちんと調べられたときに限られる



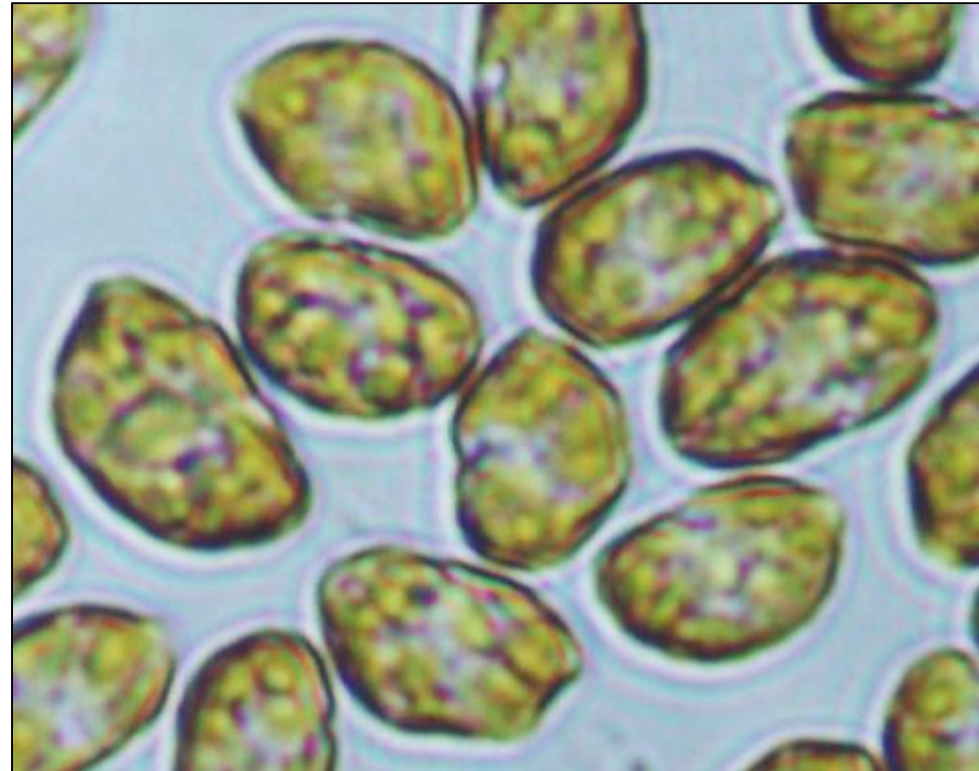


# 赤潮を起こす藻類は何種類もあるが、 幾つかの種類では、**赤潮の消滅**に ウイルスが関わっている

## ヘテロシグマ・アカシオ



ヘテロシグマ  
赤潮時の水色



細胞径は1 / 50mm

# 見事、ウイルスを捕まえることができれば、 実験室内で宿主プランクトンの死滅を再現できる

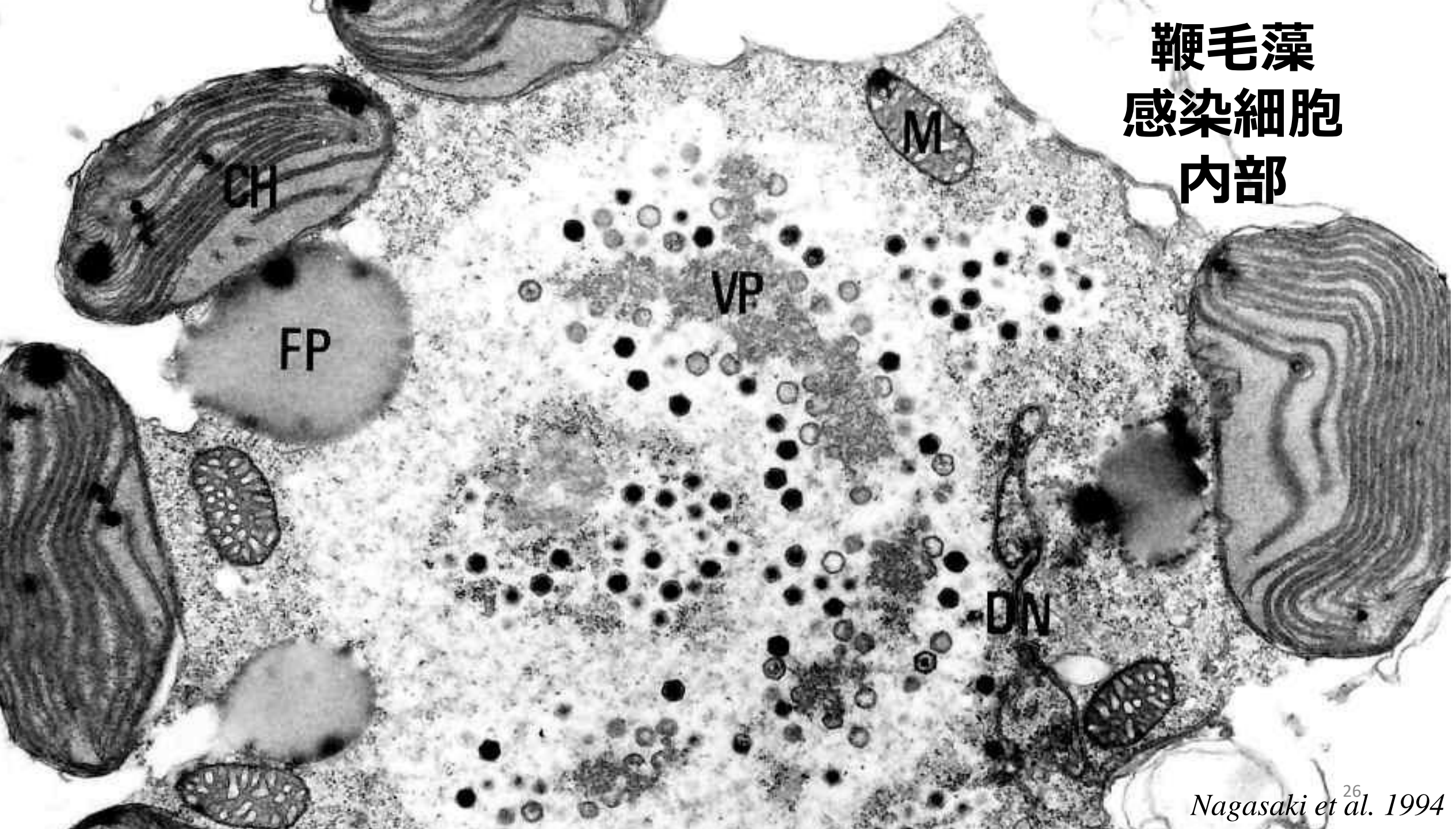


接種後0日目

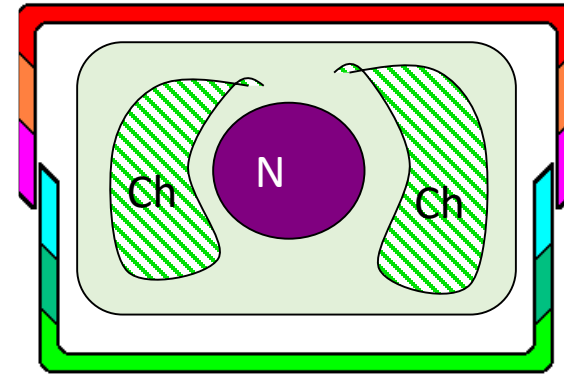
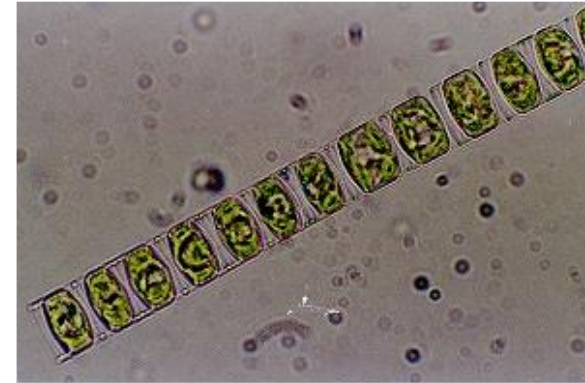
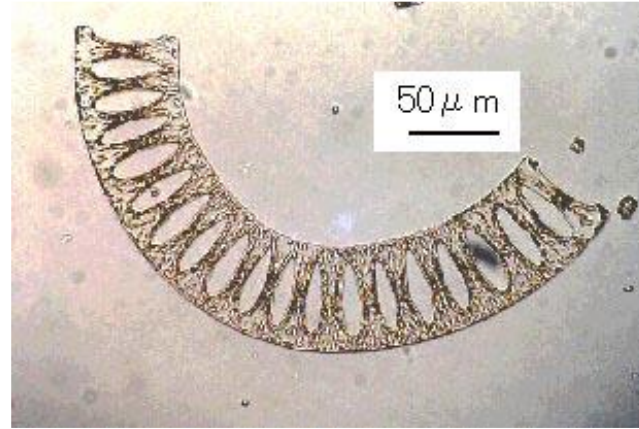
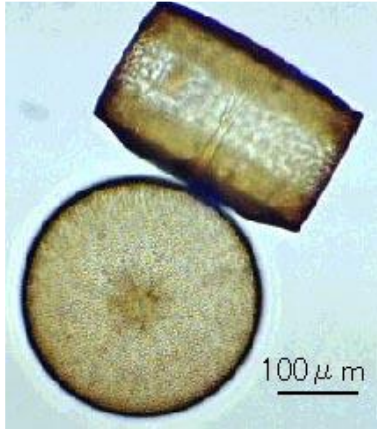
3日目



鞭毛藻  
感染細胞  
内部



# 珪藻類 (*Bacillariophyceae*)

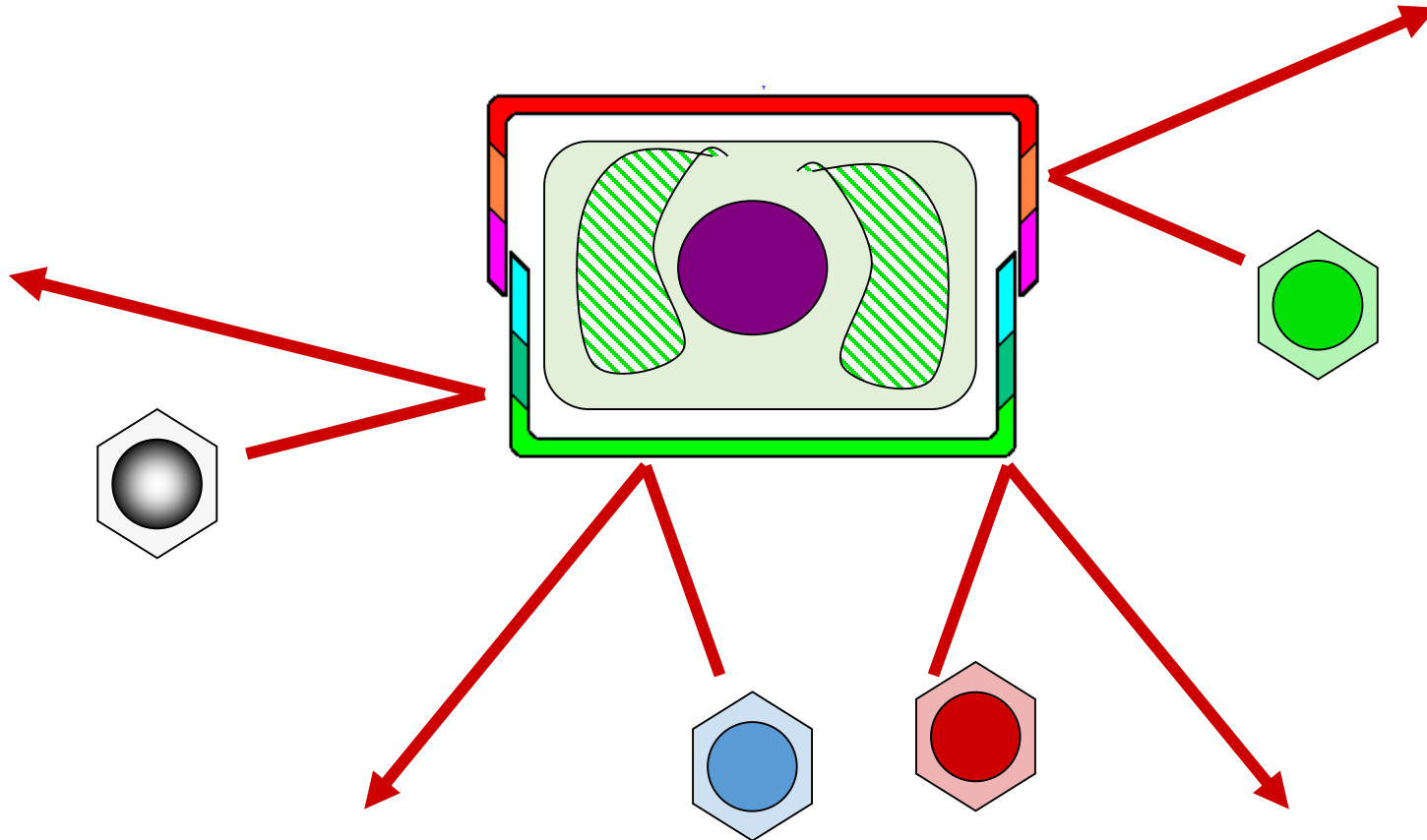


殻面

弁当箱のようなガラス質の殻に細胞が入っているような構造

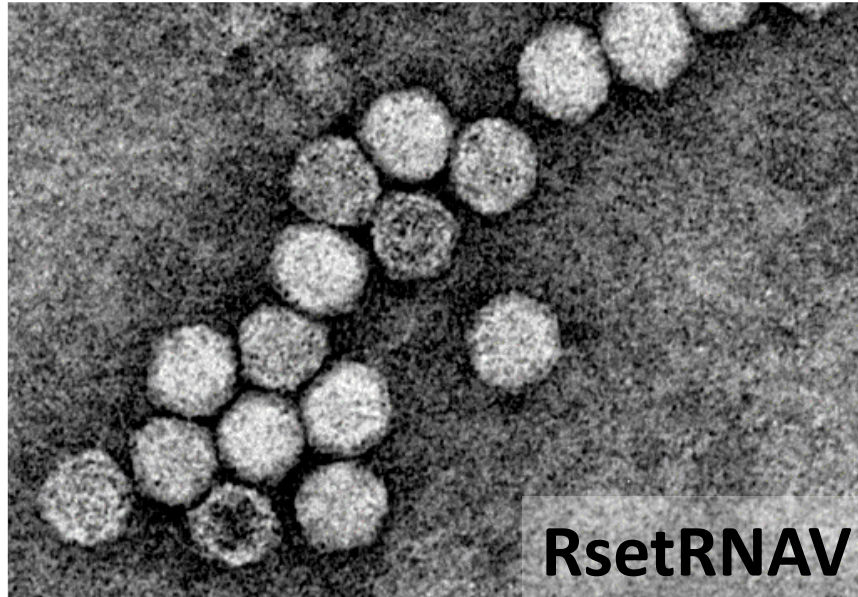


かつては「分厚い殻を持つ珪藻類に対してウイルスは感染しないのでは？」と思われていた



実際、20世紀まで珪藻ウイルスの発見事例は全くなかった

# 2004年に世界初の珪藻ウイルス発見を公表 (by JAPAN水研チーム)



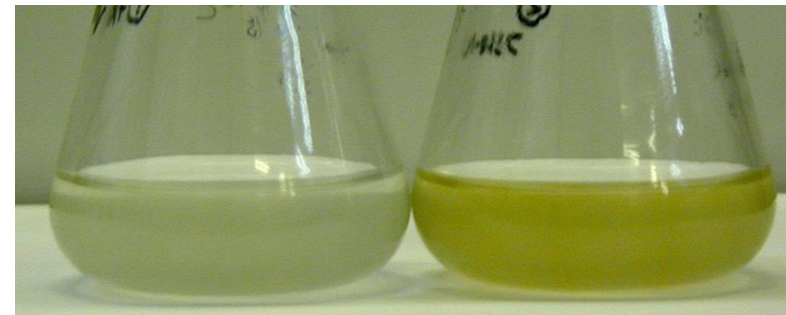
## RsetRNAV

(*Rhizosolenia setigera* RNA virus)

φ 32nm の小型ウイルス

icosahedral

ss(+)RNA genome

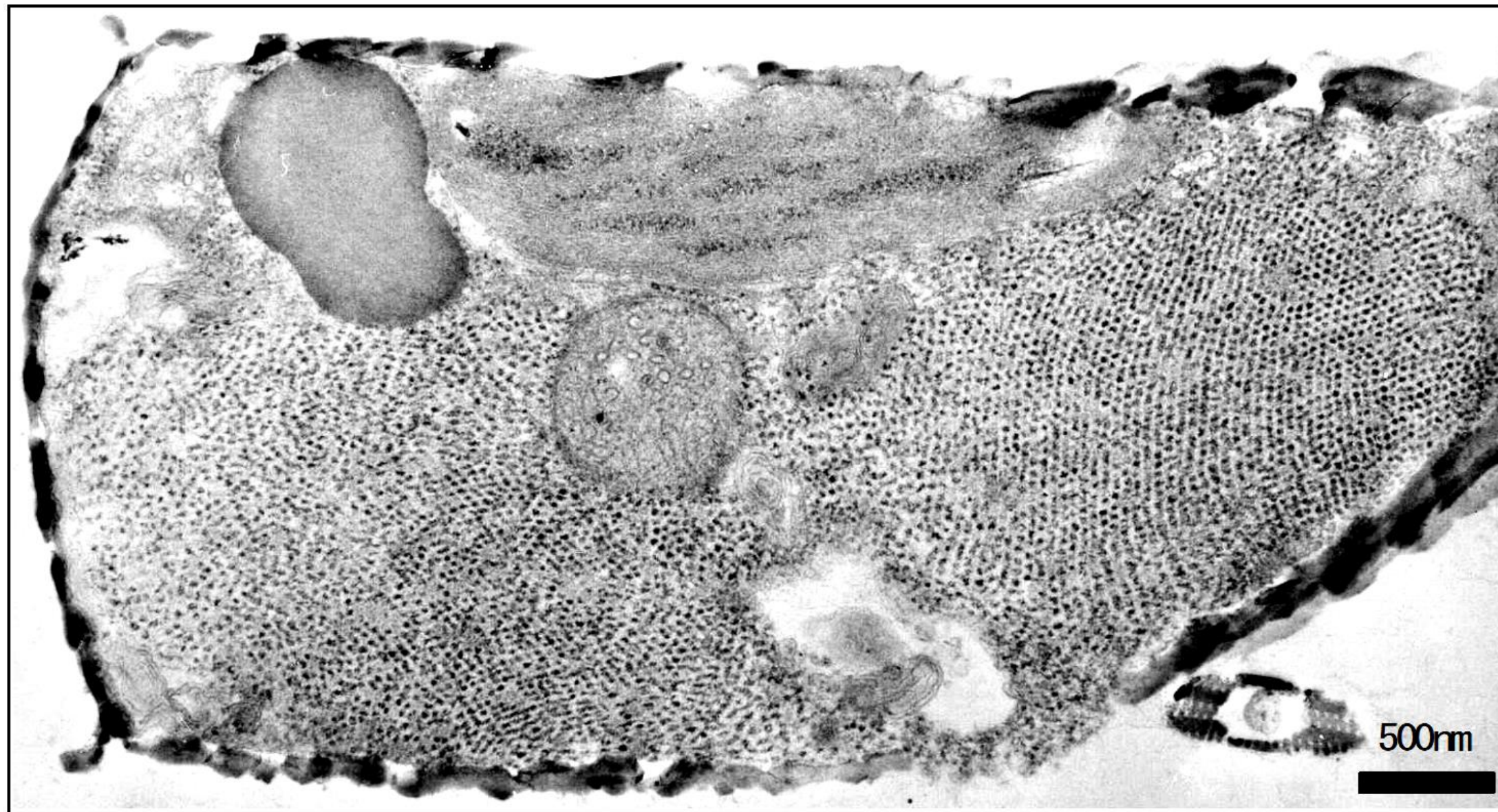


+Virus

Control

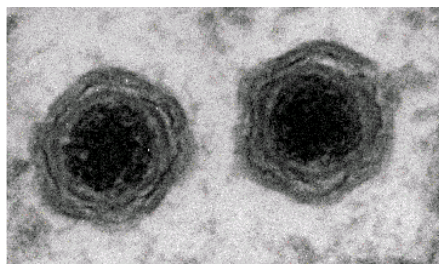
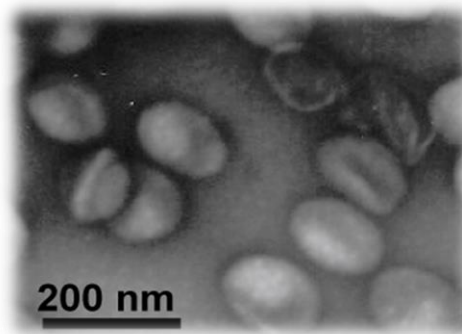
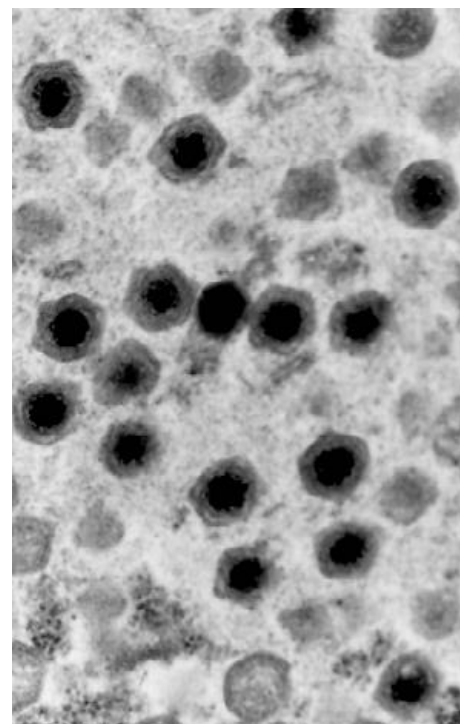
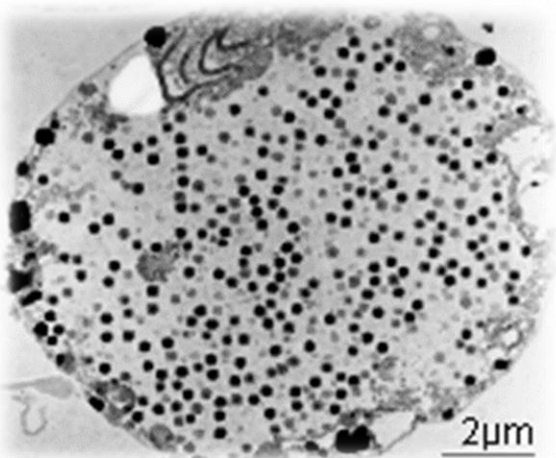
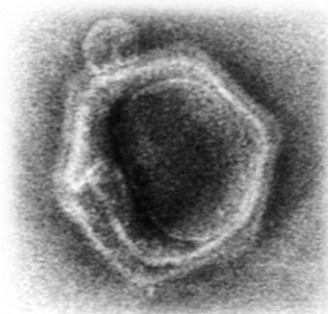
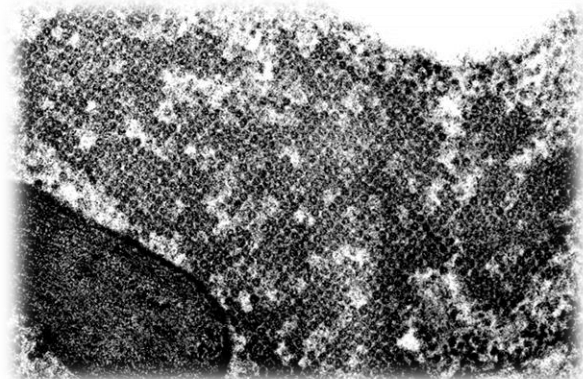
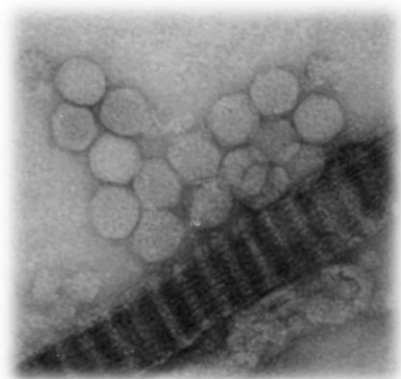


# 珪藻の細胞内をほぼ完全にウイルスが乗っ取った状態



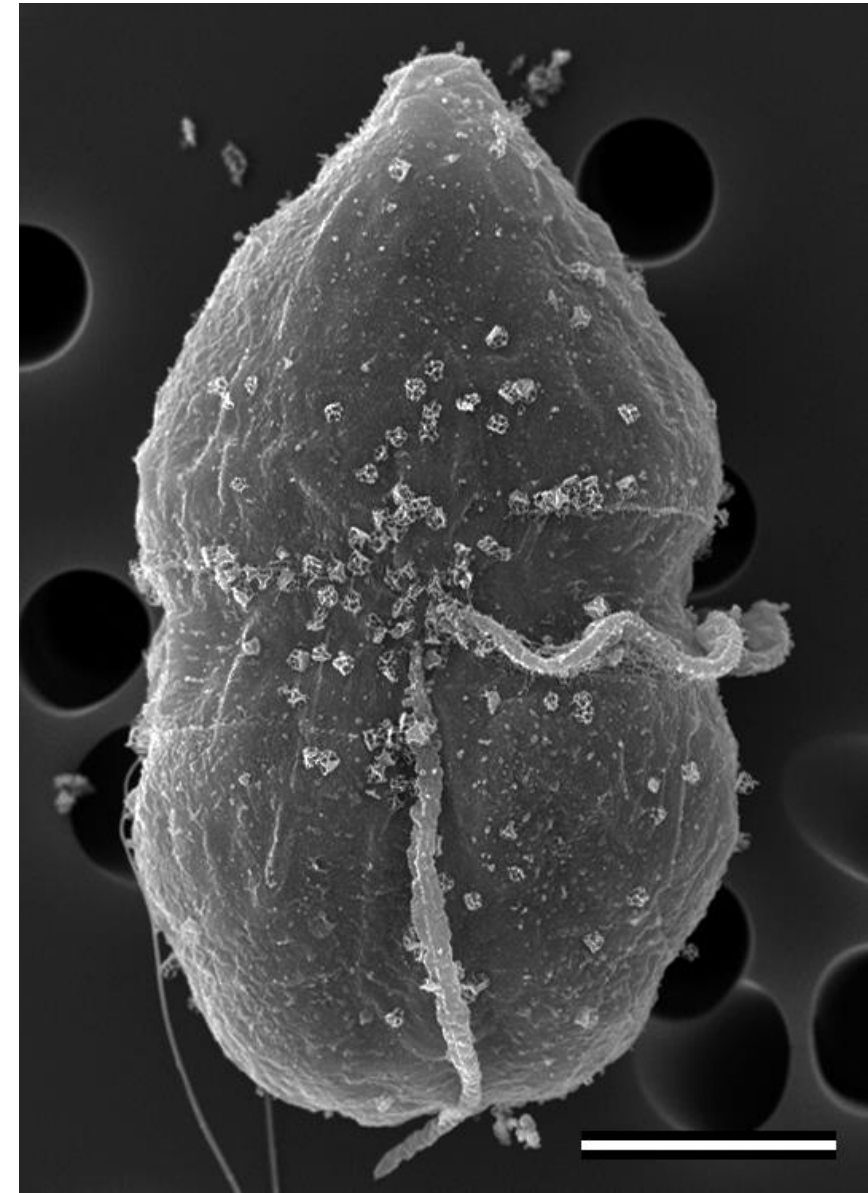
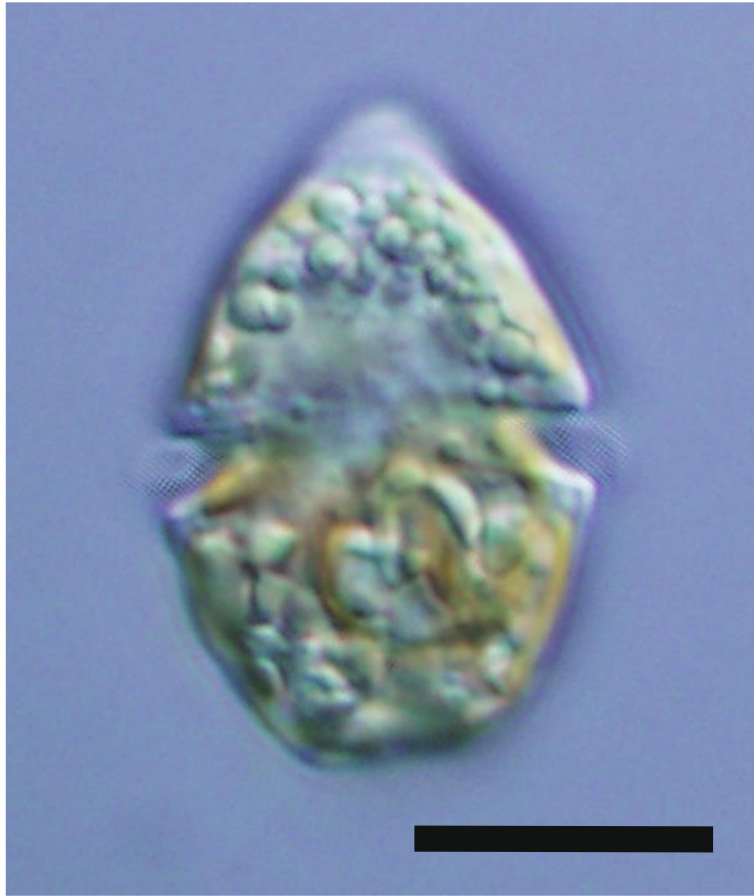


# 若い頃、ウイルスを必死に「採集」した時代があった



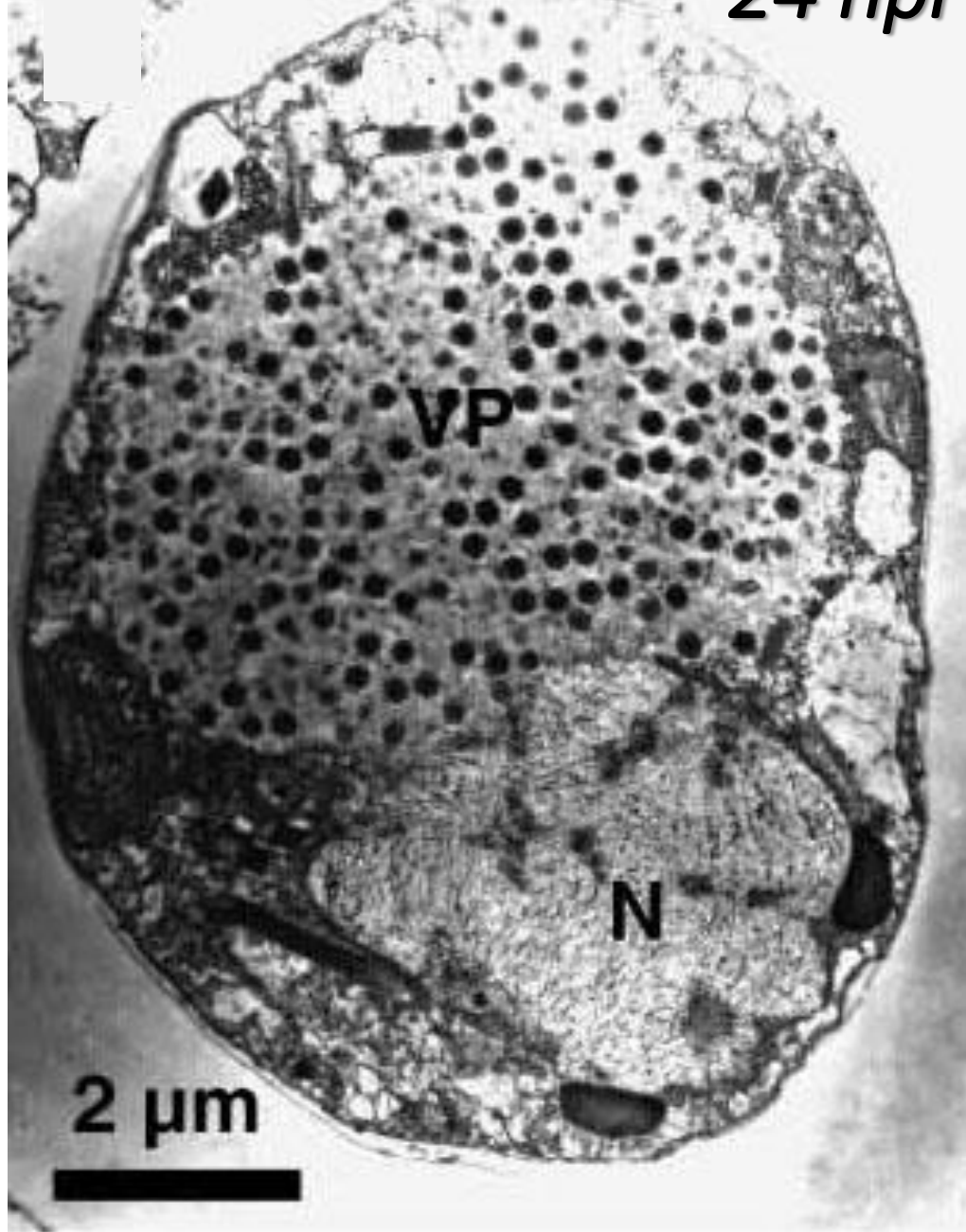


# 渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama*

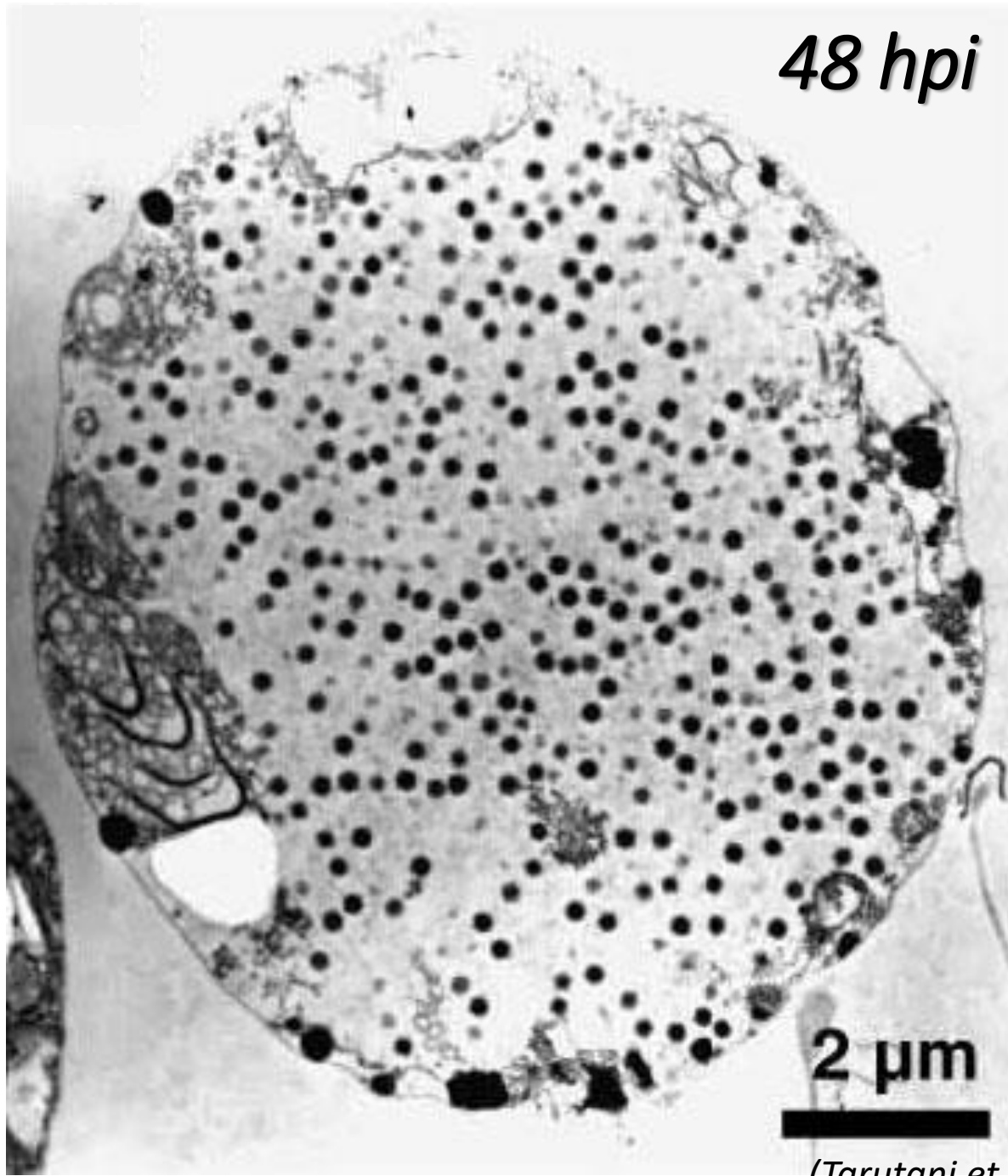


HcDNAV感染細胞

24 hpi

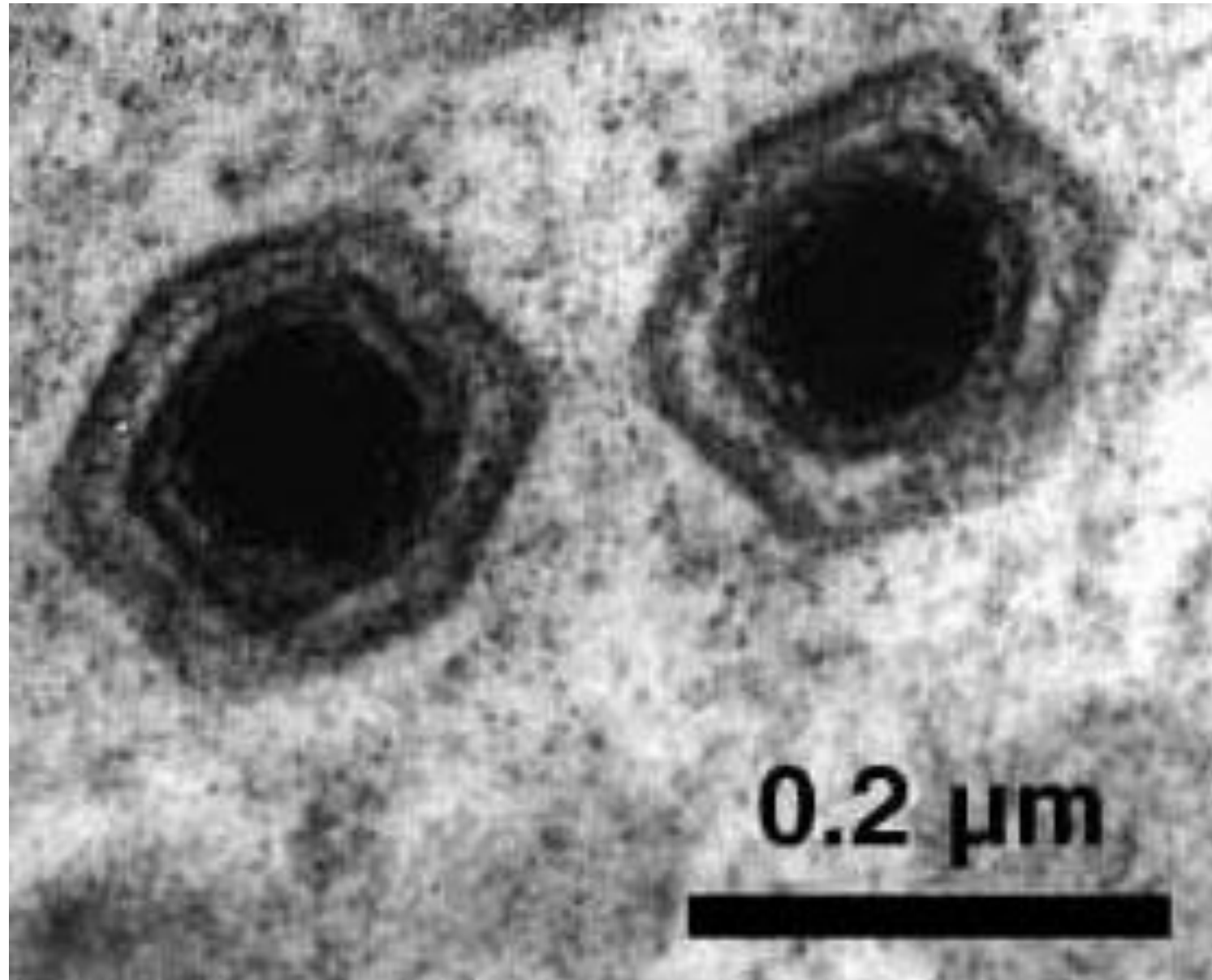


48 hpi



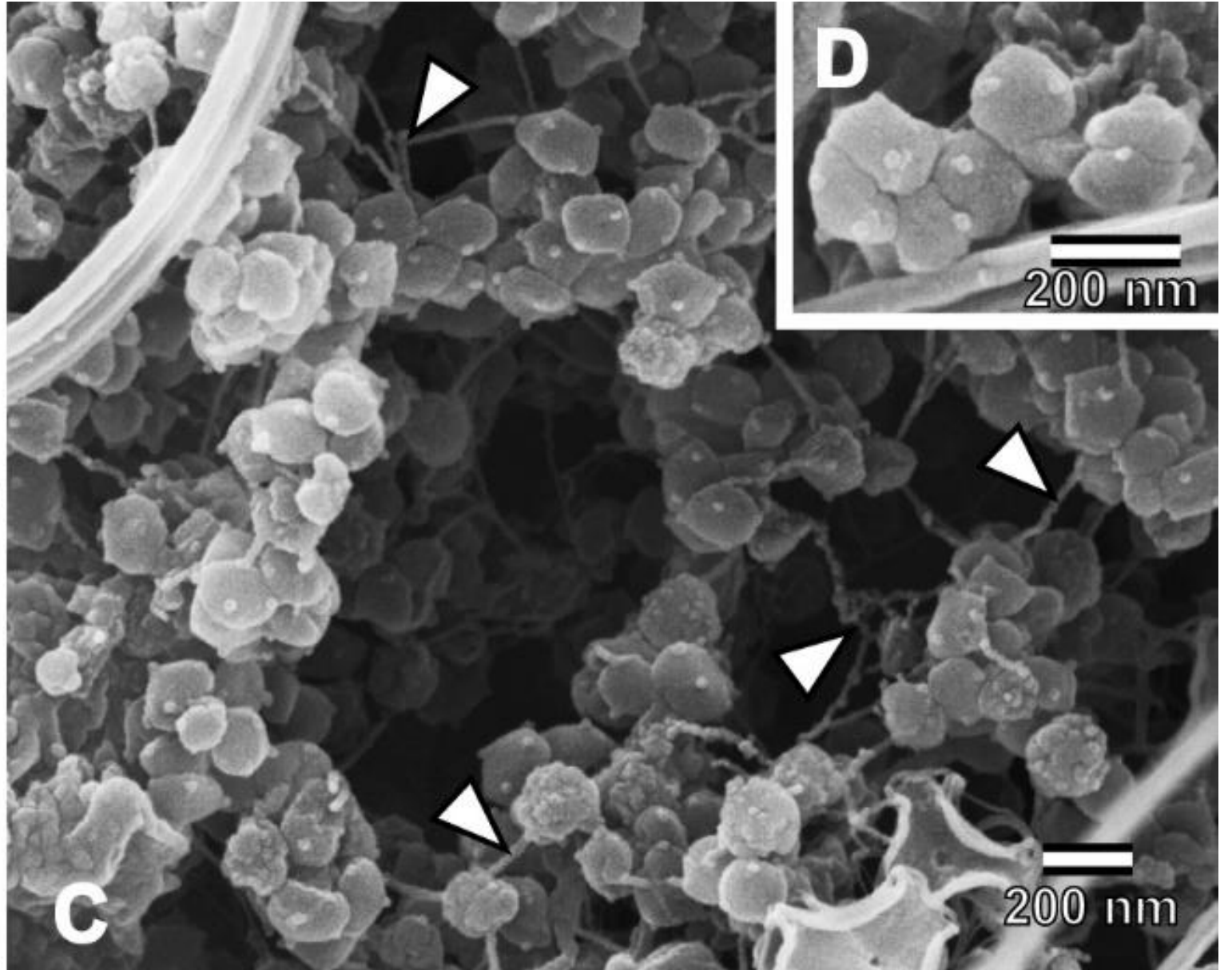
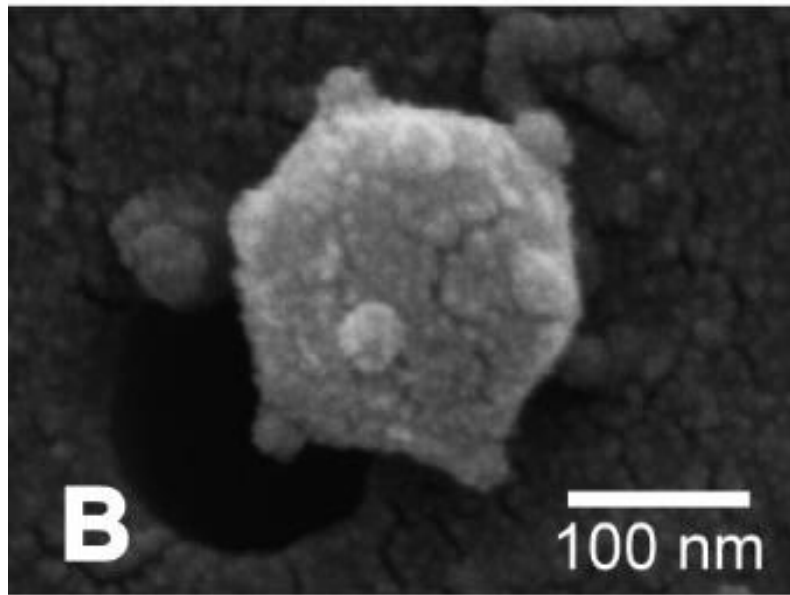
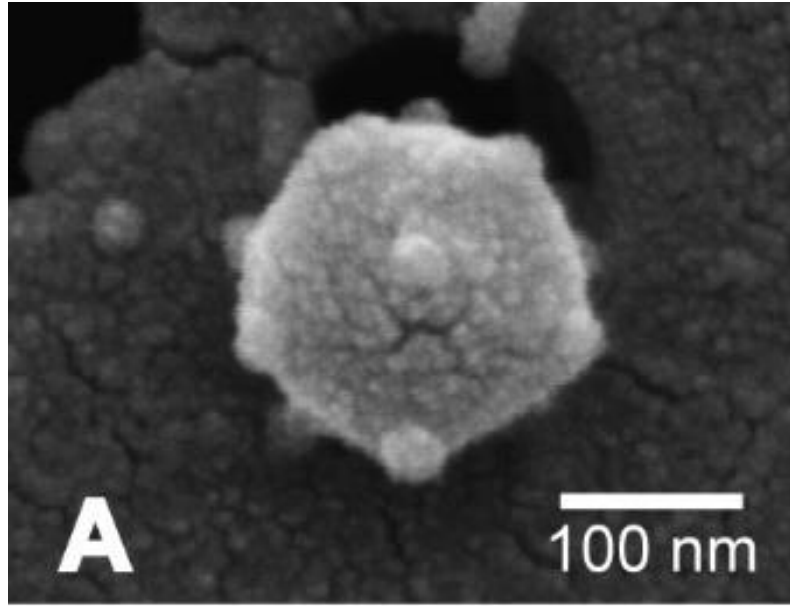
(Tarutani et al. 2001)

# HcDNAV粒子断面





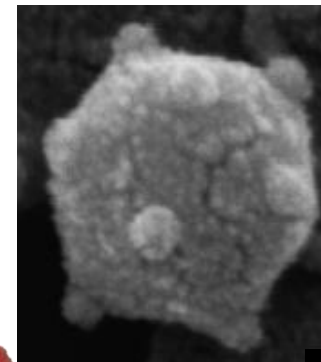
# 昨年、FE-SEMでHcDNAVの立体像を初めて見て感動！





# …という風に

- ウイルスが飼えるといろんな実験ができる
- ウイルスが宿主を攻撃する過程はエキサイティング！
- 何よりウイルス自体が精緻な工芸品のように美しい！

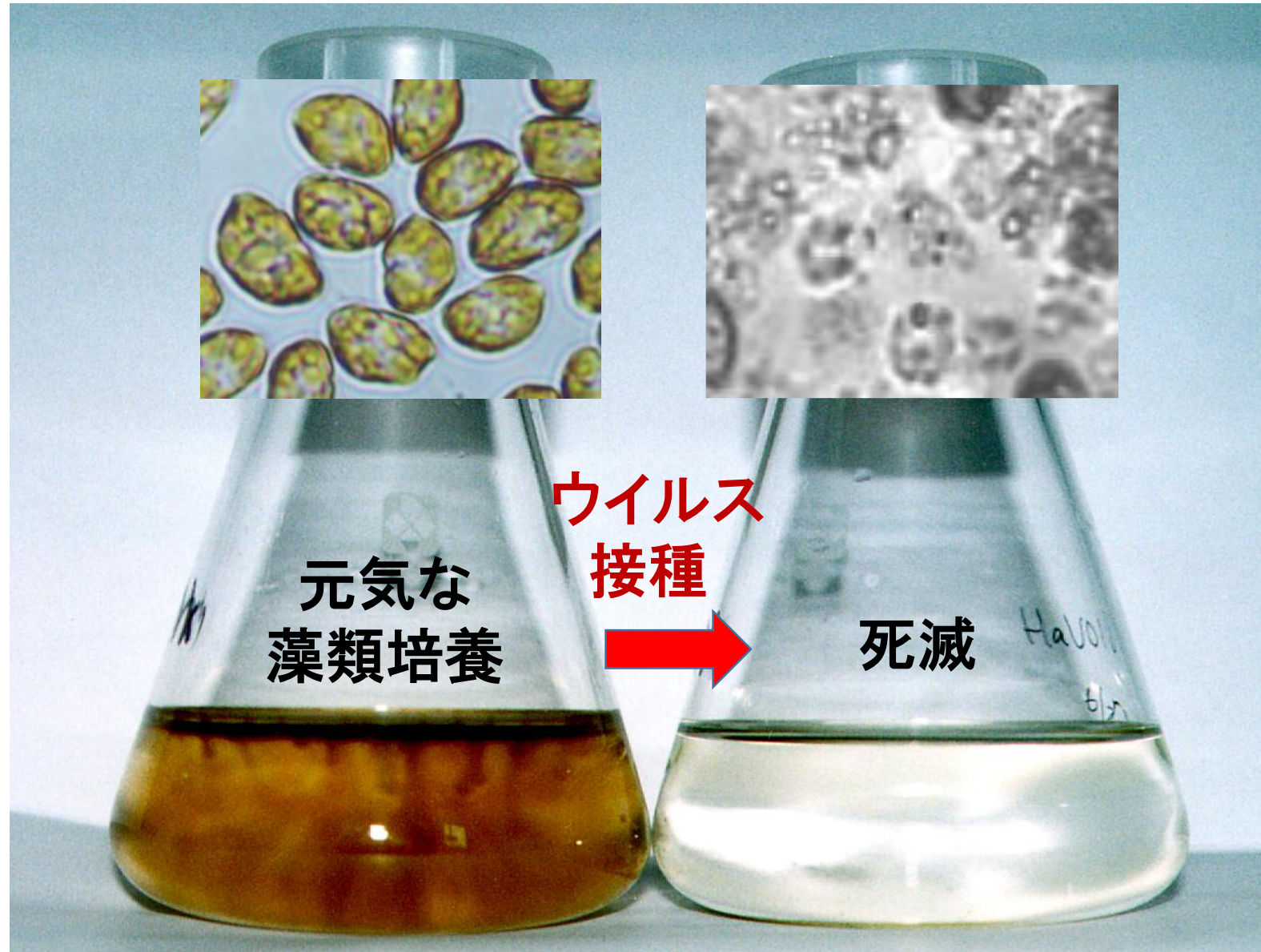


*four dollar each, and  
three for ten dollar*

**しかし、ウイルスの採集には必ず…**



# 「宿主フランクton細胞の死滅」という現象が伴った・・・





- ウイルスは宿主を殺すもの
- 宿主はウイルスに殺されるもの

せっかく時間と労力  
かけて実験するなら  
はっきりした  
結果が見たい!



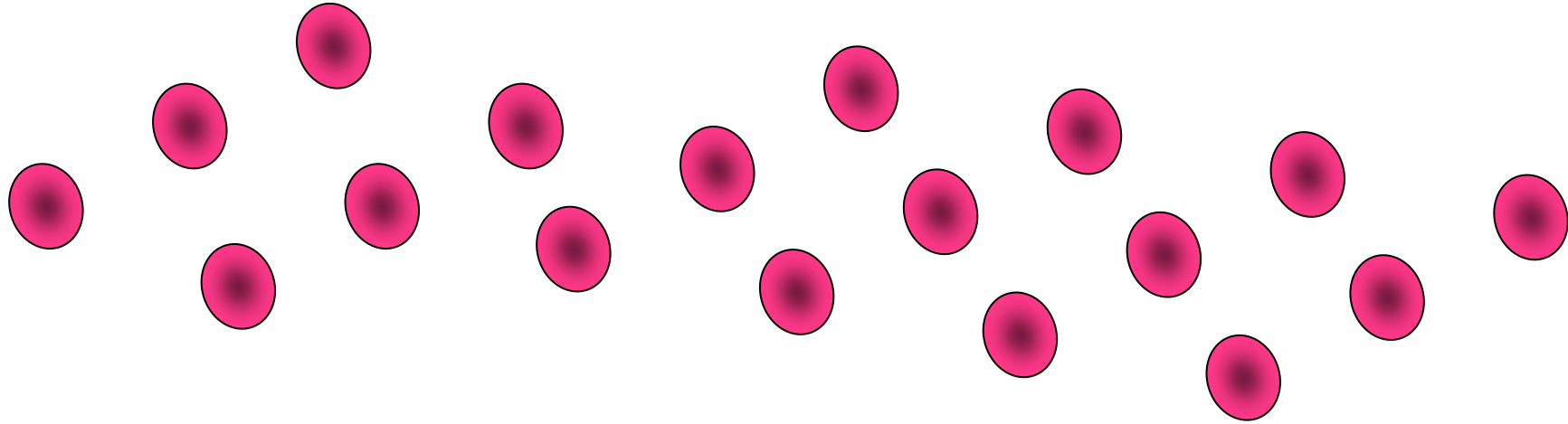
高価な機械を  
そうそう何度も  
使えないわけだし!

ただそう信じて、「**弱い宿主**」と「**強いウイルス**」を望んできた。  
そして、両者の間で起こる「**劇的な死滅現象**」に注目してきた。



**しかし！**

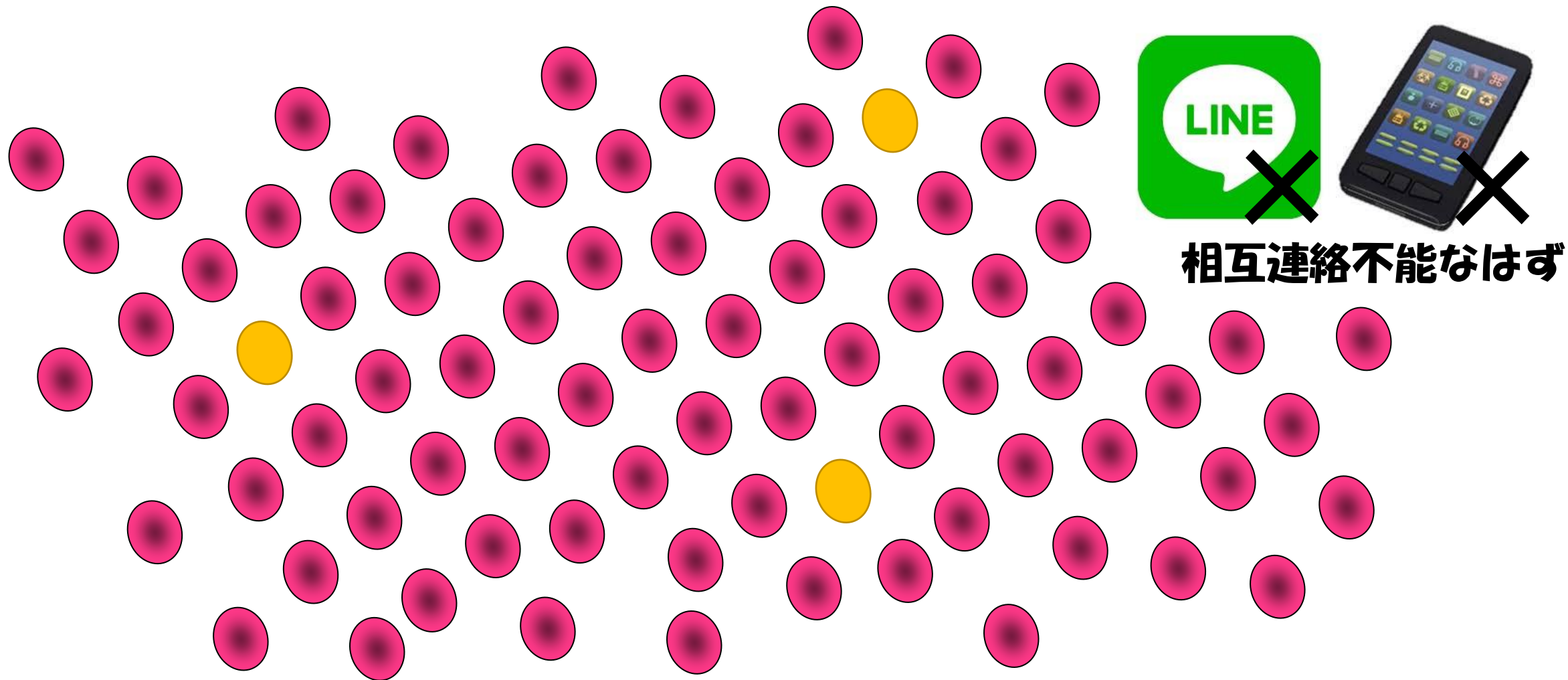
**1細胞 = 1つの命、である  
単細胞生物のクローン培養でさえ**



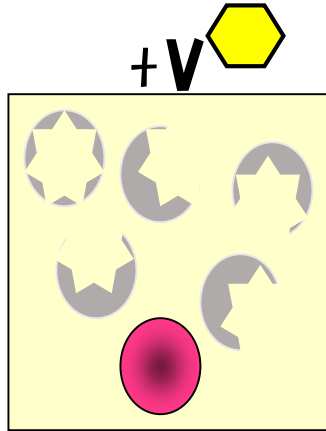
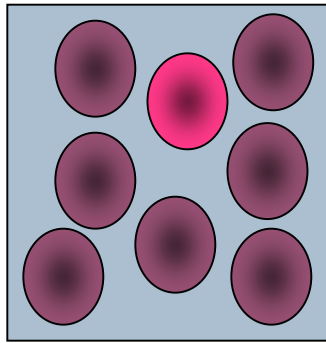
**そんな単純な図式ではなかった**

**宿主側はウイルス感染を受けても一部が生残する！**

**クローンの単細胞生物の群れ。全細胞に同じ性質を期待したいのだが、3/1000の割合が抵抗性ON、あとはOFF(感受性)という制御が起きている！**



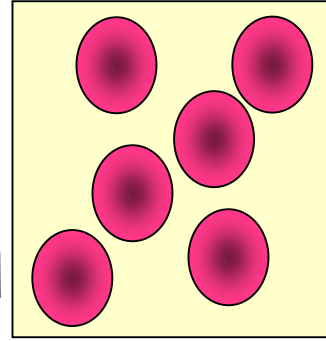
1000細胞に1個の割合で  
抵抗性発現細胞が混ざった  
オリジナルのクローン培養



ウイルス感染  
(抵抗性発揮細胞が生残)



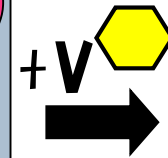
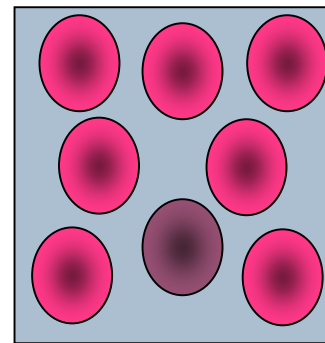
ウイルス圧あり  
+V 



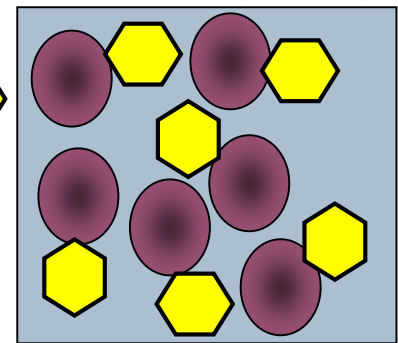
抵抗性発現細胞が  
ほとんどを占める



ウイルス圧なし



ウイルスを再添加



抵抗性を発現しなくなった  
感受性細胞が優占



**ウイルスに晒さない→感受性に戻る**

**→宿主細胞にとってウイルス抵抗性を発現するのは  
エネルギーの要ることなのだろう**



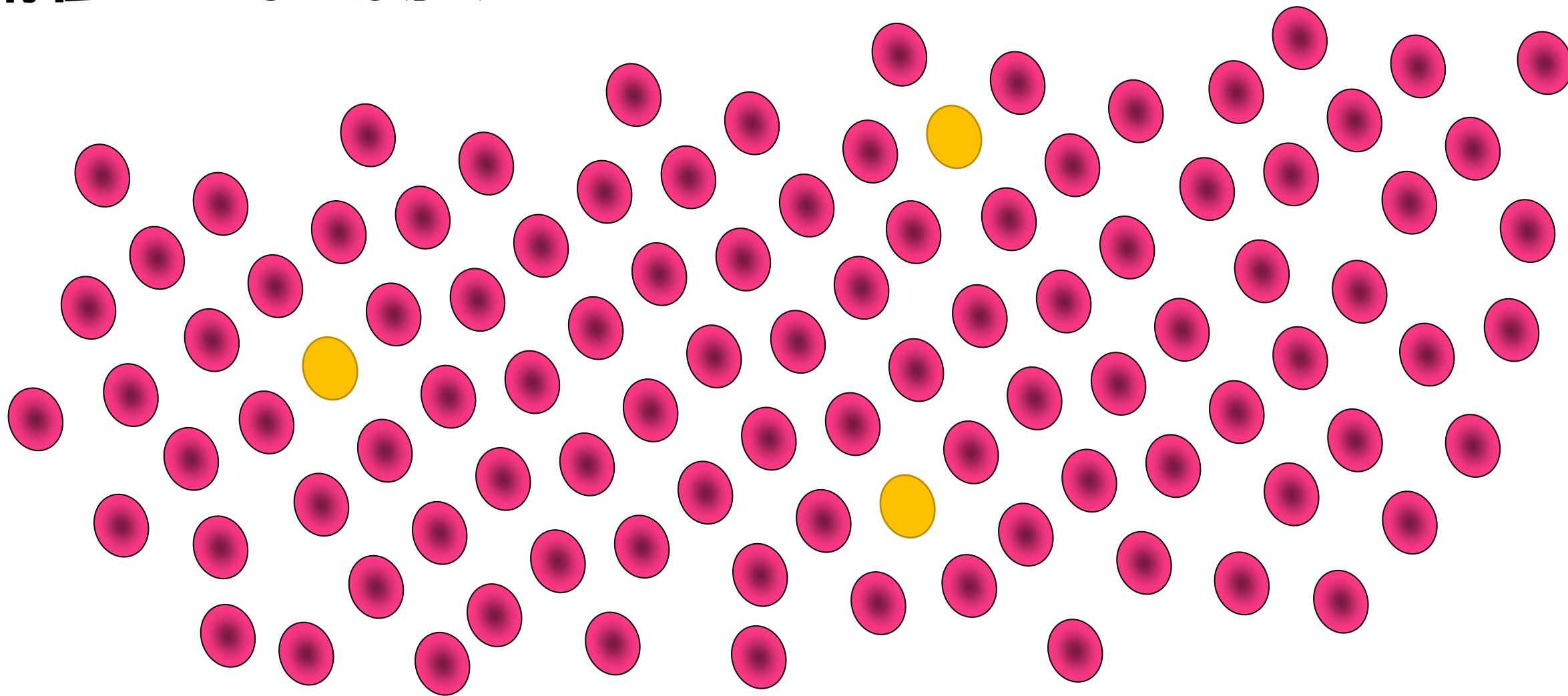
しん  
どい  
な  
ー

# ウイルス感染圧を外したとたんに 楽な方(感受性)に戻ってしまう



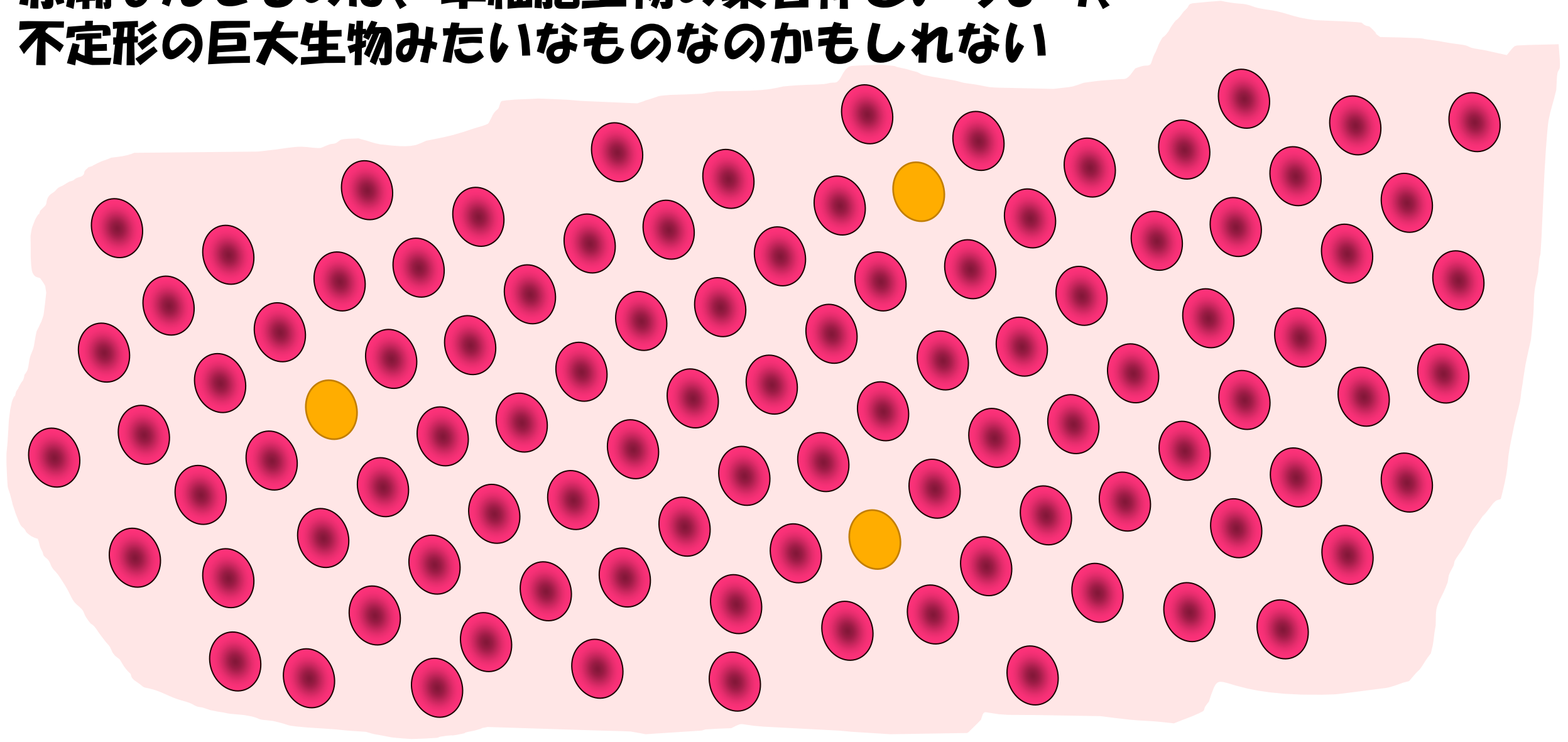
ママは留守だぜ

**でも3/1000の割合で抵抗性ONの細胞が（まるで日直のように）  
存在しているのだから・・・**





**赤潮なんてものは、単細胞生物の集合体というより、不定形の巨大生物みたいなものなのかもしれない**



**粒子レベルでの役割分担**

**「ウイルスの宿主に対する許容」は  
様々な形で存在するはず。**

**「共存」という選択肢もあい得る？**

# 陸上植物では**エンドルナウイルス**の存在が見つかっている

(健全なイネ、ピーマン、アボカド等から・・・)



- 全組織で一定の低コピー数で内在 (約100コピー/細胞)
- 宿主に**明確な病徴を与えない** (悪さはしない?)
- 高率で次世代に伝播する (ex. イネ 95%)

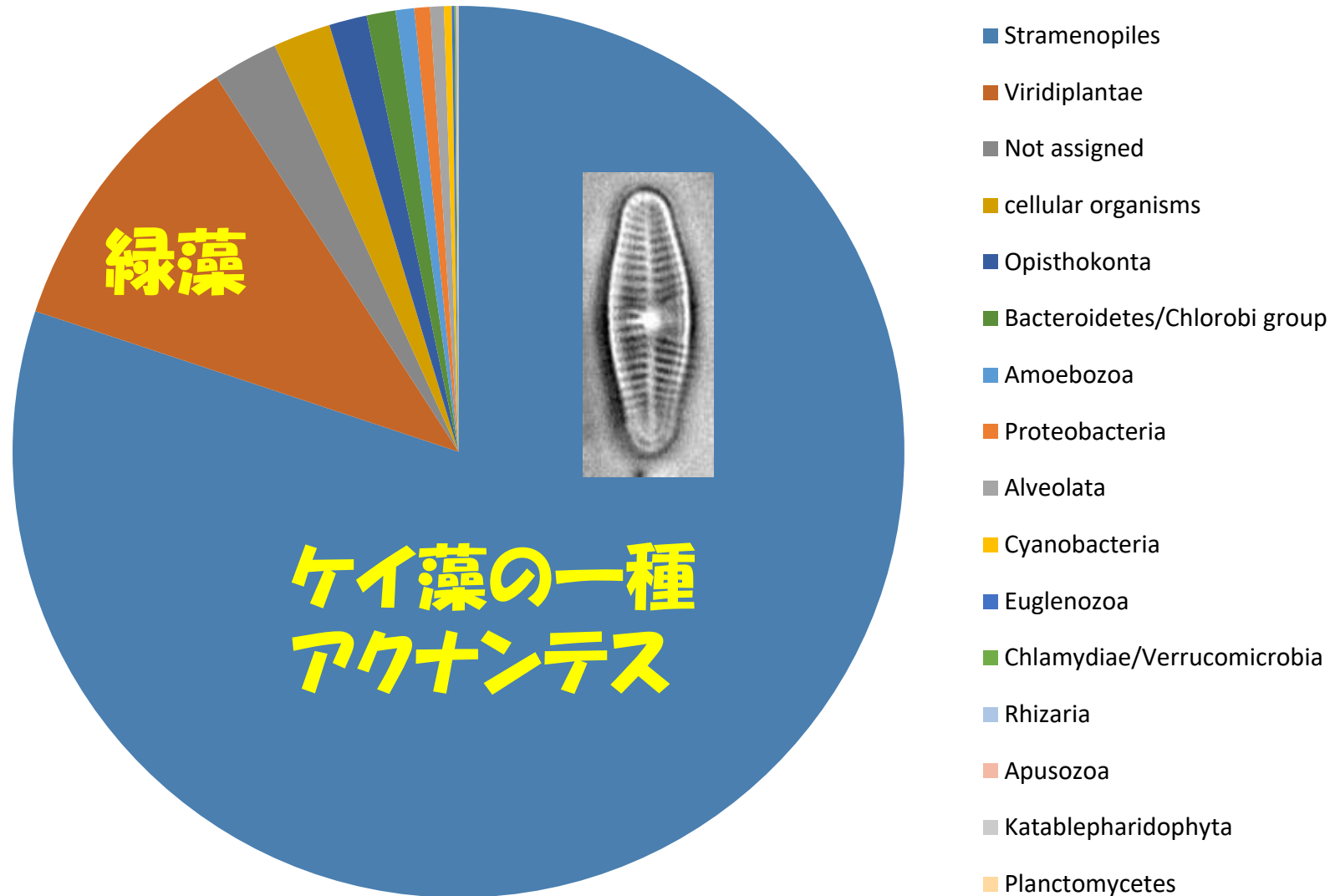


# 海洋におけるウイルス共存の事例

# サンプルは海辺から拾ってきた一握りの藻屑もくず



# ほとんどをケイ藻の繁茂群体が占める(アクナンテス属)



rRNA配列の相対割合



# 【ウイルス探索のための方法】

## FLDS法

“**F**ragmented and **L**oop primer ligated **D**sRNA **S**equencing”

### 〔原理〕

- 2本鎖RNA(dsRNA)はEtOH存在下でセルロースカラムに特異的に吸着
- 試料由来の抽出核酸からdsRNAをカラムクロマトで特異的に抽出  
→ 新規RNAウイルス探索

# この新技術適用 (FLDS法) の結果、藻屑から・・・

RNA virus spices	Size (nt)	Num. of mapped reads	Average coverage	BlastX analysis	
				Top Hit for each CDS, Virus family	E-value
DCADSRV-1 <sup>a)</sup>	1,734	1,301,278	191,942	-	-
	1,562	1,717,396	279,580	Fox picobirnavirus Picobirnaviridae	1e <sup>-33</sup>
DCADSRV-2	4,026	1,337,570	83,876	Ustilaginoidea virens nonsegmented virus 1 Not assigned	5e <sup>-15</sup>
DCADSRV-3	4,911	14,544	703	Ustilaginoidea virens RNA virus 1 Totiviridae	2e <sup>-63</sup>
DCADSRV-4	4,982	12,325	591	Aspergillus mycovirus 178 Totiviridae	4e <sup>-69</sup>
DCADSRV-4	4,979	1,074	52	Ustilaginoidea virens RNA virus 1 Totiviridae	5e <sup>-69</sup>
DCADSRV-5	5,252	7,863	359	Aspergillus foetidus slow virus 1 Totiviridae	3e <sup>-74</sup>
DCADSRV-6	4,939	2,720	131	Aspergillus mycovirus 178 Totiviridae	2e <sup>-66</sup>
DCADSRV-7	5,327	1,957	87	Gremmeniella abietina RNA virus L1 Totiviridae	3e <sup>-123</sup>
				Ustilaginoidea virens RNA virus 3 Totiviridae	2e <sup>-56</sup>
DCADSRV-8	4,660	1,163	60	Aspergillus foetidus slow virus 1 Totiviridae	8e <sup>-57</sup>

**何と、完全長配列の得られた21のRNAウイルス全てが新種！  
うち19種がdsRNAウイルス！**

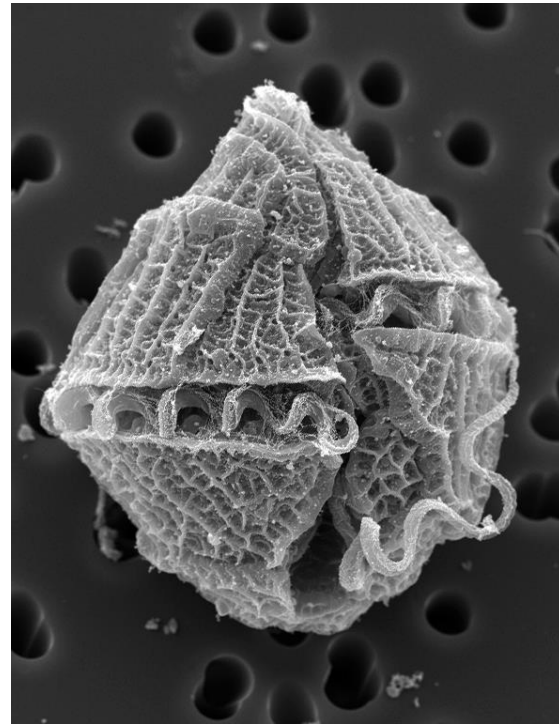
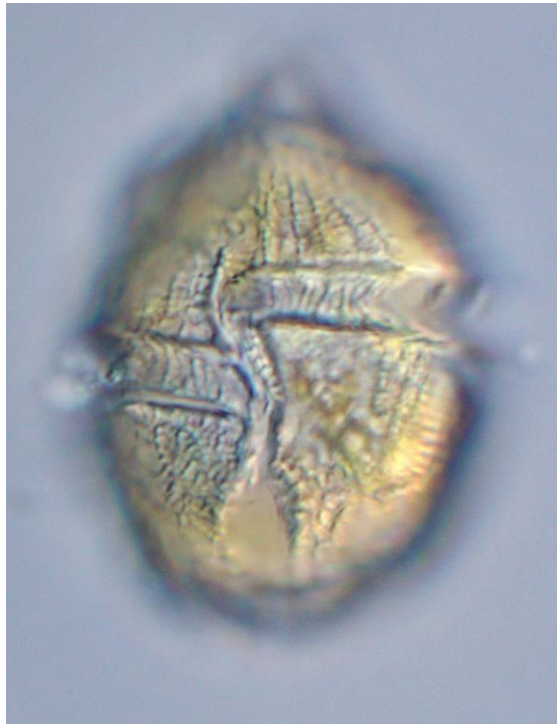
# この技術はウイルスハンターらにとって 魔法の杖かもしれない



**なぜなら、ネコとネズミが仲良くしていても  
ウイルスを効率的に見つけられるから！**



# この技術を使って早速、 渦鞭毛藻ブルーム中のdsRNAウイルスを探索予定



**今年こそ順調な天候の下に現場調査が出来ますように！**

# 予備実験では既存のデータベースにない遺伝子も見つかっている！

query_title	query_length	subject_desc	subject_species	subject_length	eval	score
F1	3153	顕著なヒットなし				
F2	3188	顕著なヒットなし				
F3	3370	顕著なヒットなし				
P1	8712	APG77854.1 hypothetical protein	Xinzhou nematode virus 1 (線虫ウイルス)	2708	1.00E-66	264
F4	2139	APG78241.1 RdRp, partial	Hubei partiti-like virus 27 (植物・菌類ウイルス)	557	2.00E-103	337
F5	4529	XP_002285986.1 predicted protein  EED95627.1 predicted protein	Thalassiosira pseudonana CCMP1335 (珪藻)	711	3.00E-33	149
F6	1931	顕著なヒットなし				
F7	1935	顕著なヒットなし				
F8	2270	APG78241.1 RdRp, partial	Hubei partiti-like virus 27	557	5.00E-93	310
F9	1731	YP_004429258.1 RNA-dependent RNA polymerase  CBW77436.1 RNA-dependent RNA polymerase	Fig cryptic virus (植物ウイルス)	472	9.00E-107	338
P2	2485					
P3	2681	ALD89125.1 RNA-dependent RNA polymerase	Rhizoctonia solani mitovirus 6 (菌類ウイルス)	657	6.00E-33	146
P4	3946	顕著なヒットなし				
P5	1877	顕著なヒットなし				
P6	2612	顕著なヒットなし				
F10	1888	顕著なヒットなし				
P7	2166	顕著なヒットなし				

未知の酵素をコードしているのか？ (全く新規なウイルスか?)

# 新鮮な(殖えたての)ピュアな赤潮探しがキモ

赤潮目当ての他生物が殖えてしまってからでは遅い!

空からカメラ付きドローンで  
着色域(パッチ)を探して...



海部隊に  
即連絡



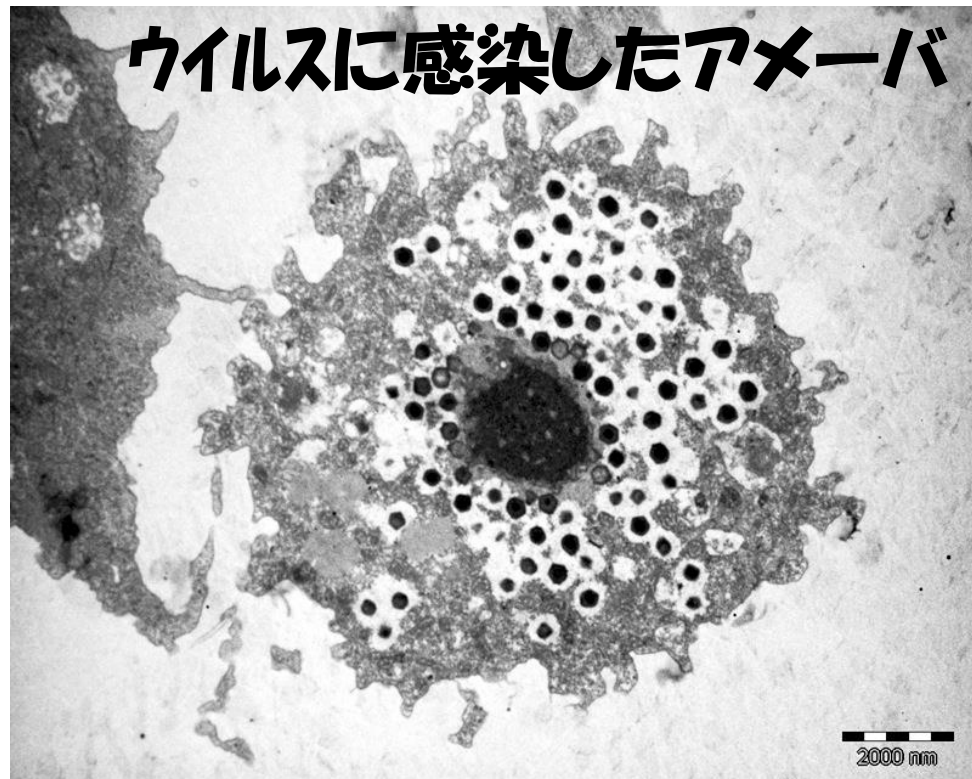
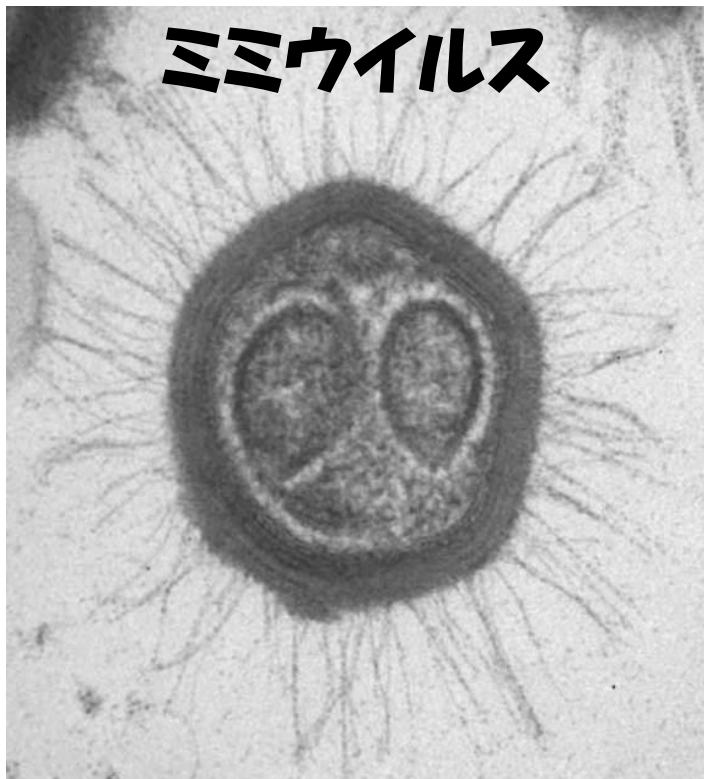
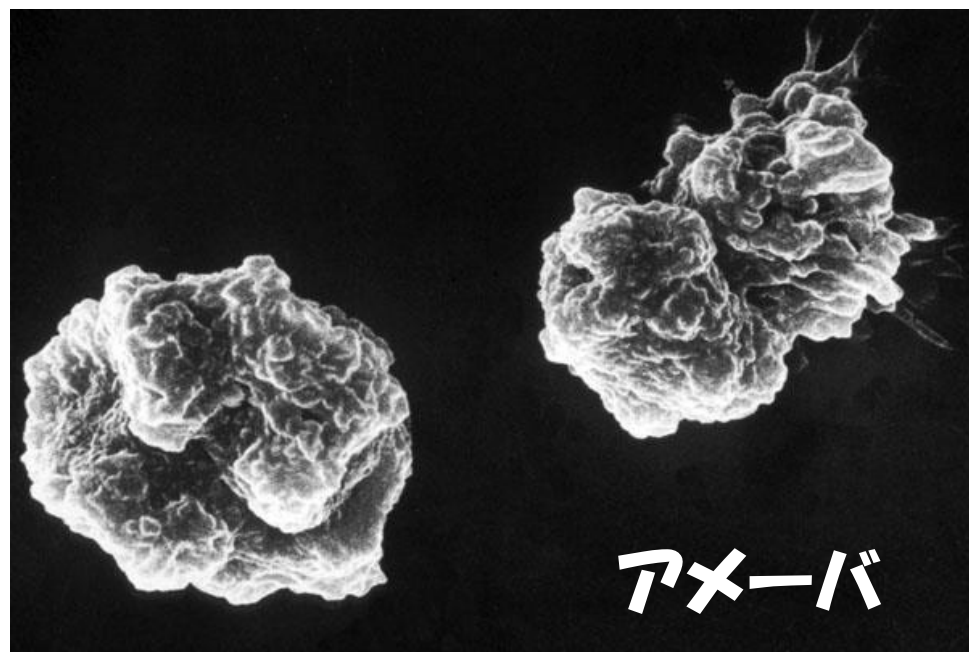
現場に急行し、パッチを採取



余談



十数年前の  
アメーバを宿主とする  
超巨大ウイルスの発見で  
ウイルス学の従来常識が  
覆されつつある



# ミミウイルス



**直径0.75  $\mu\text{m}$**

**ゲノム = 1.2Mbp  
約980遺伝子**

**DNAだけでなく  
RNAも持つ**

**まさにウイルス学の  
教科書を大きく  
書き換えさせた存在**



## パンドラウイルス (2013)

長径 =  $1 \mu\text{m}$  !

ゲノムサイズ = 2Mbp



## ピソウイルス (2014)

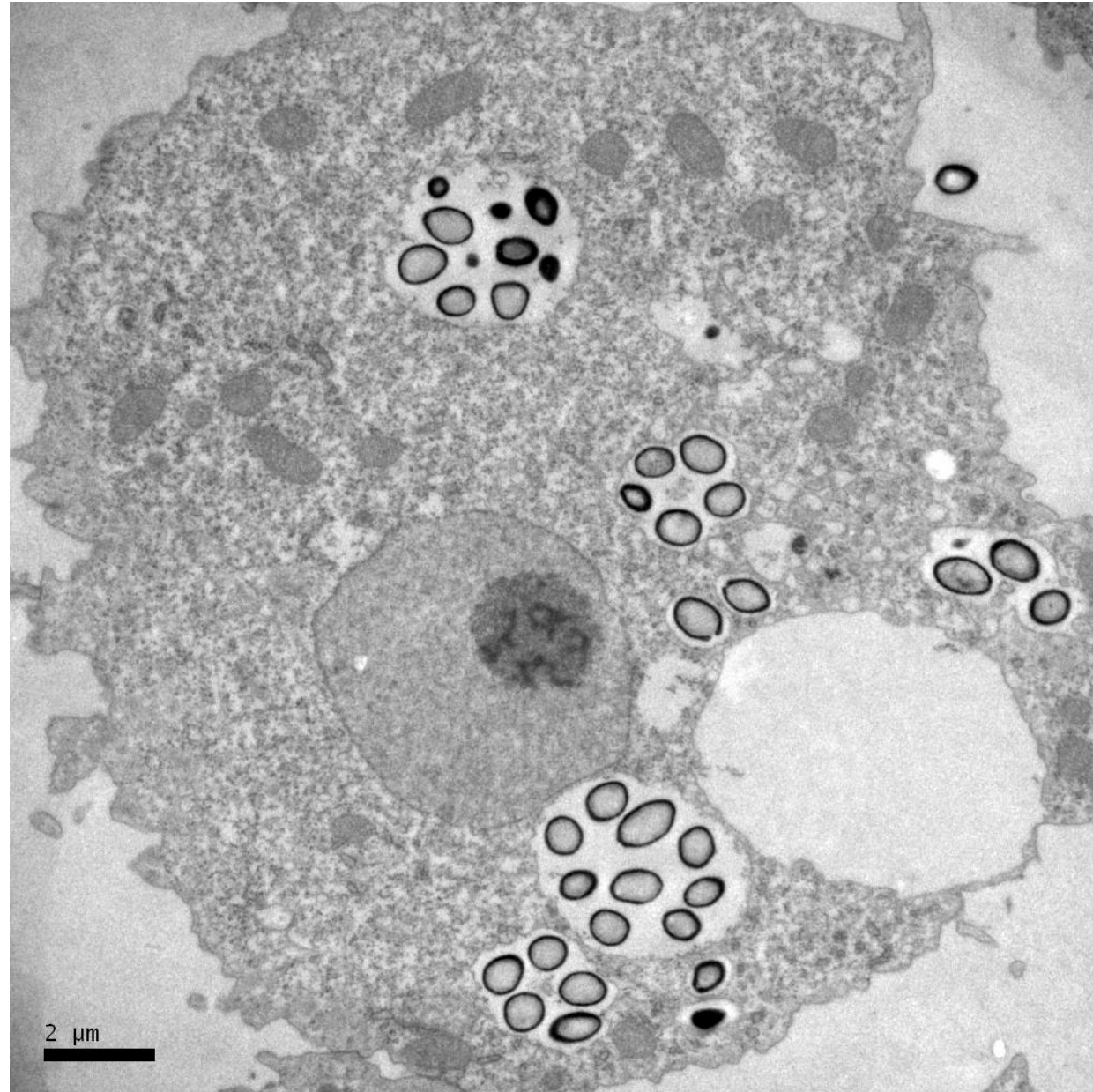
長径 =  $1.5 \mu\text{m}$  !

ゲノムサイズ = 0.6Mbp

30万年前の永久凍土から単離

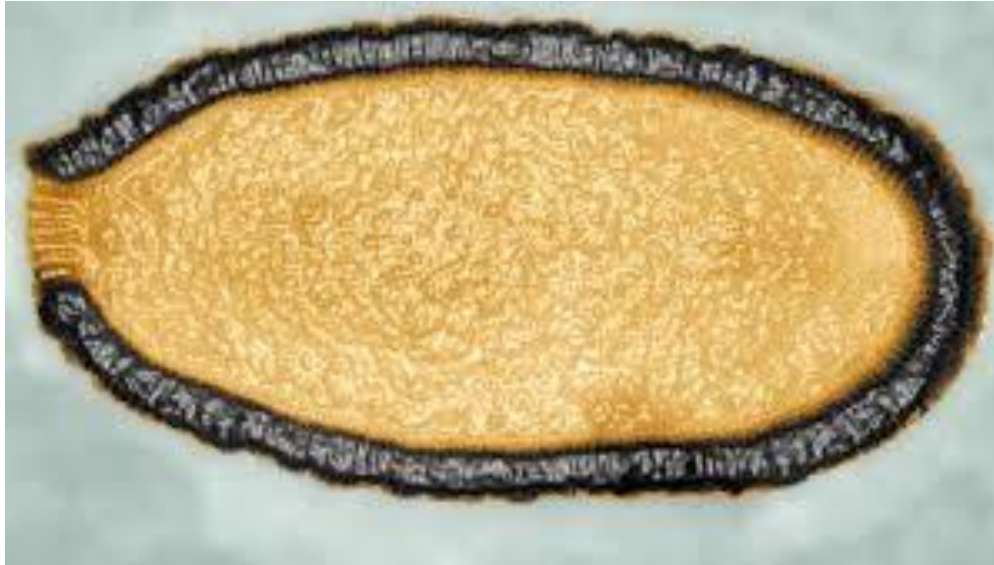


# これらの巨大ウイルスもやはりアメーバ細胞の中で複製





こんなにも違うものを同じ「ウイルス」と呼んでいていいのか？  
..という素朴な疑問を誰もが抱くはず



## ピソウイルス

**長径 = 1.5  $\mu\text{m}$  !**

**ゲノムサイズ = 0.6Mbp**

**遺伝子数 = 約500**

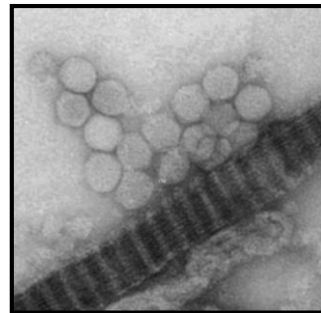


## HcRNAV

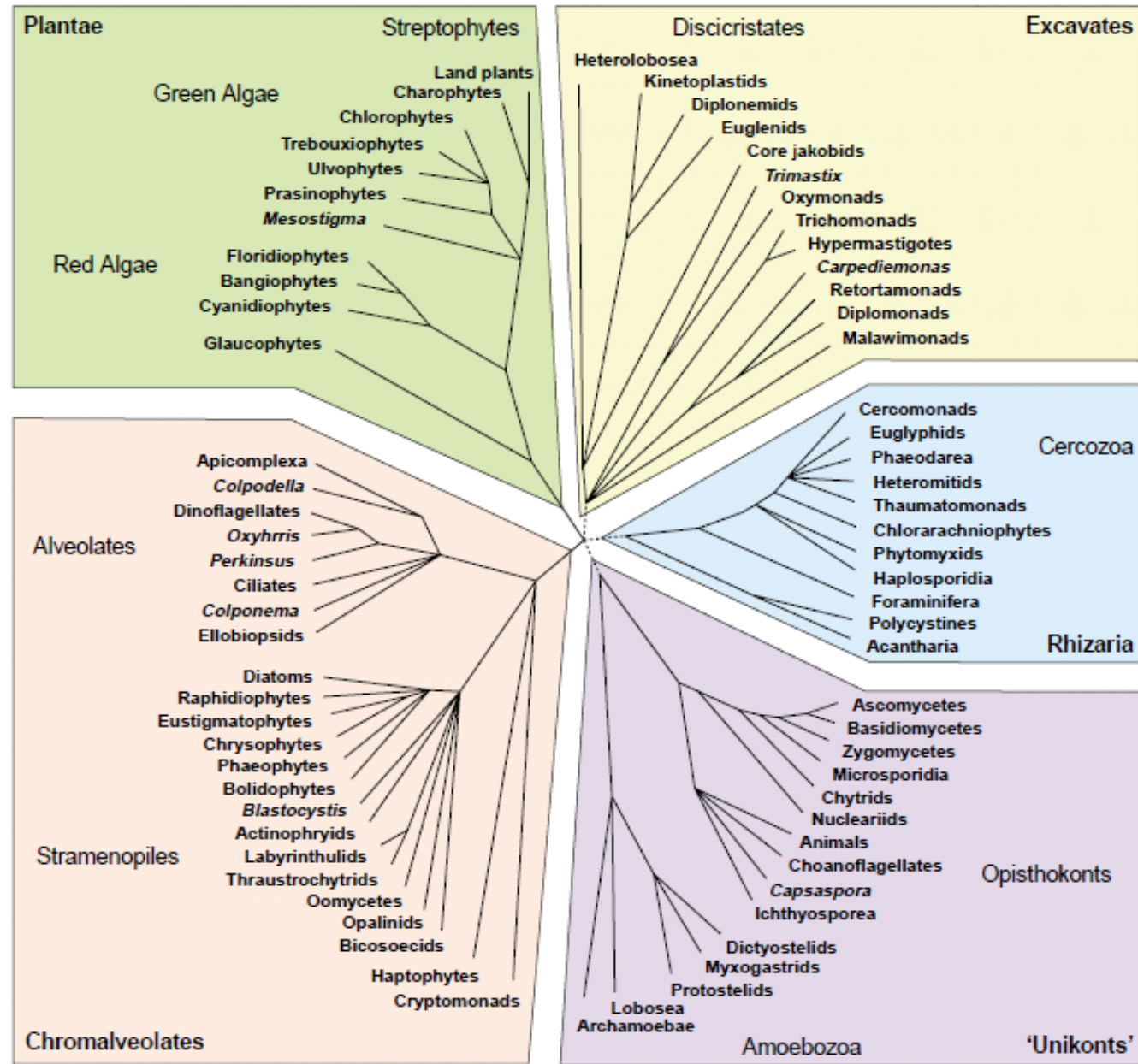
**直径 = 0.03  $\mu\text{m}$  !**

**ゲノムサイズ = 0.0044Mbp**

**遺伝子数 = 2**



# 生物の世界はきわめて多様



Keeling et al.  
2005

真核生物は5つのスーパーグループに分けられる

Plantae

Streptophytes

Land plants

Charophytes

Green Algae

# フランタ



Discicristates

Heterolobosea

Kinetoplastids

Diplonemids

Euglenids

Core jakobids

Trimastix

Ichimonads

Hypemastigotes

Carpediemonas

Retortamonads

Diplomonads

Malawimonads

# エクスカバータ




Aveolates

Apicomplexa

Colpodella

Dinoflagellates

Oxyhris

Perkinsus

Ciliates

Colponema

Phagotritons

Raphidiophytes

Eustigmatophytes

Chrysophytes

Phaeophytes

Bolidophytes

Blastocystis

Haptophytes

Cryptomonads

# クロムアルベオラータ




Cercomonads

Euglyphids

Phaeodarea

Heteromitids

Thaumatomonads

Chlorarachniophytes

Phytomyxids

Haplosporidia

Foraminifera

Polycystines

Acantharia

Rhizaria

# リザリア



Opisthokonta

Amoebozoa

Ascmycetes

Basidiomycetes

Zygomycetes

Mycosporidia

Nucleariids

Animals

Chloroflagellates

# ユニコント

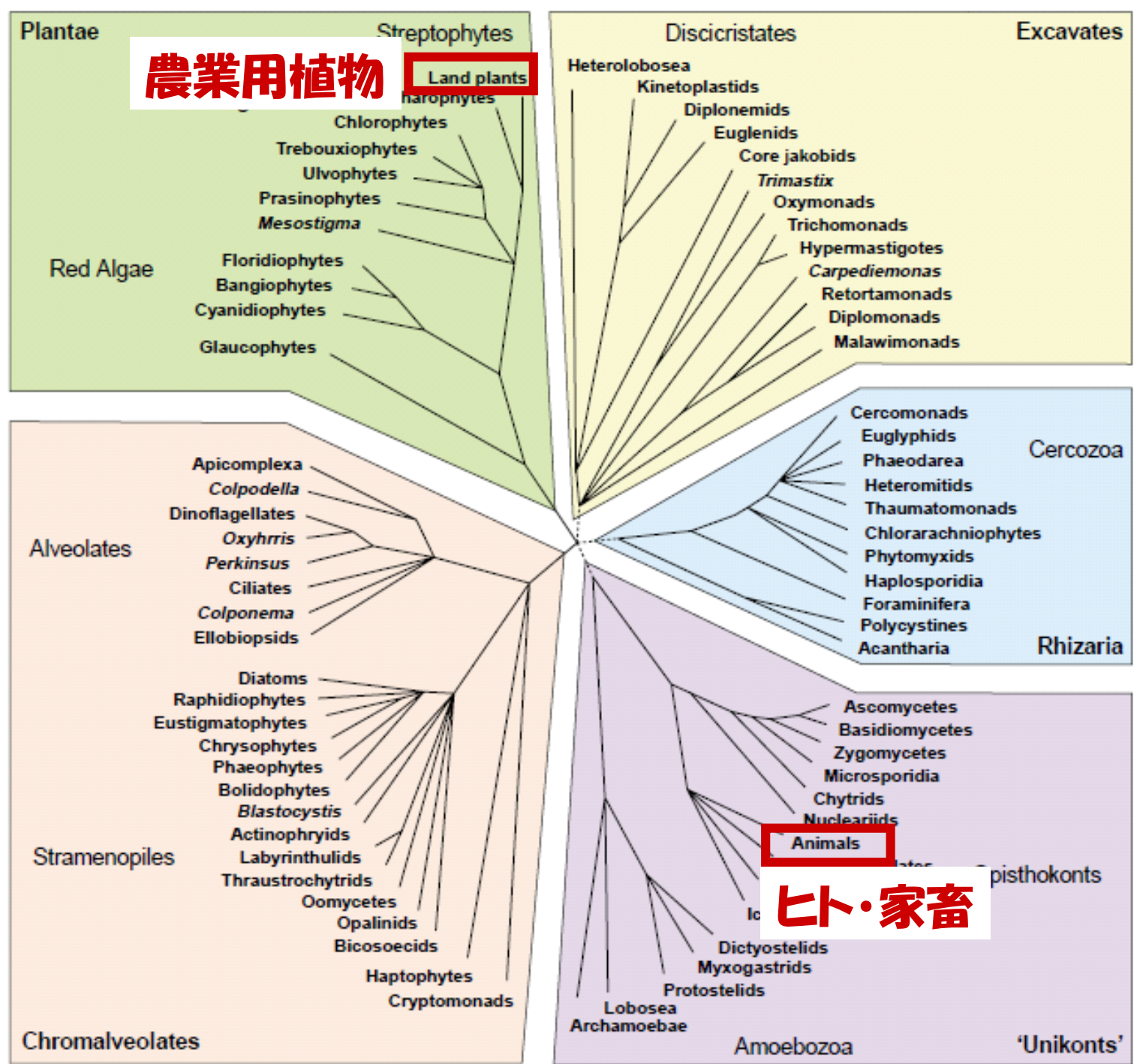
アメーバー





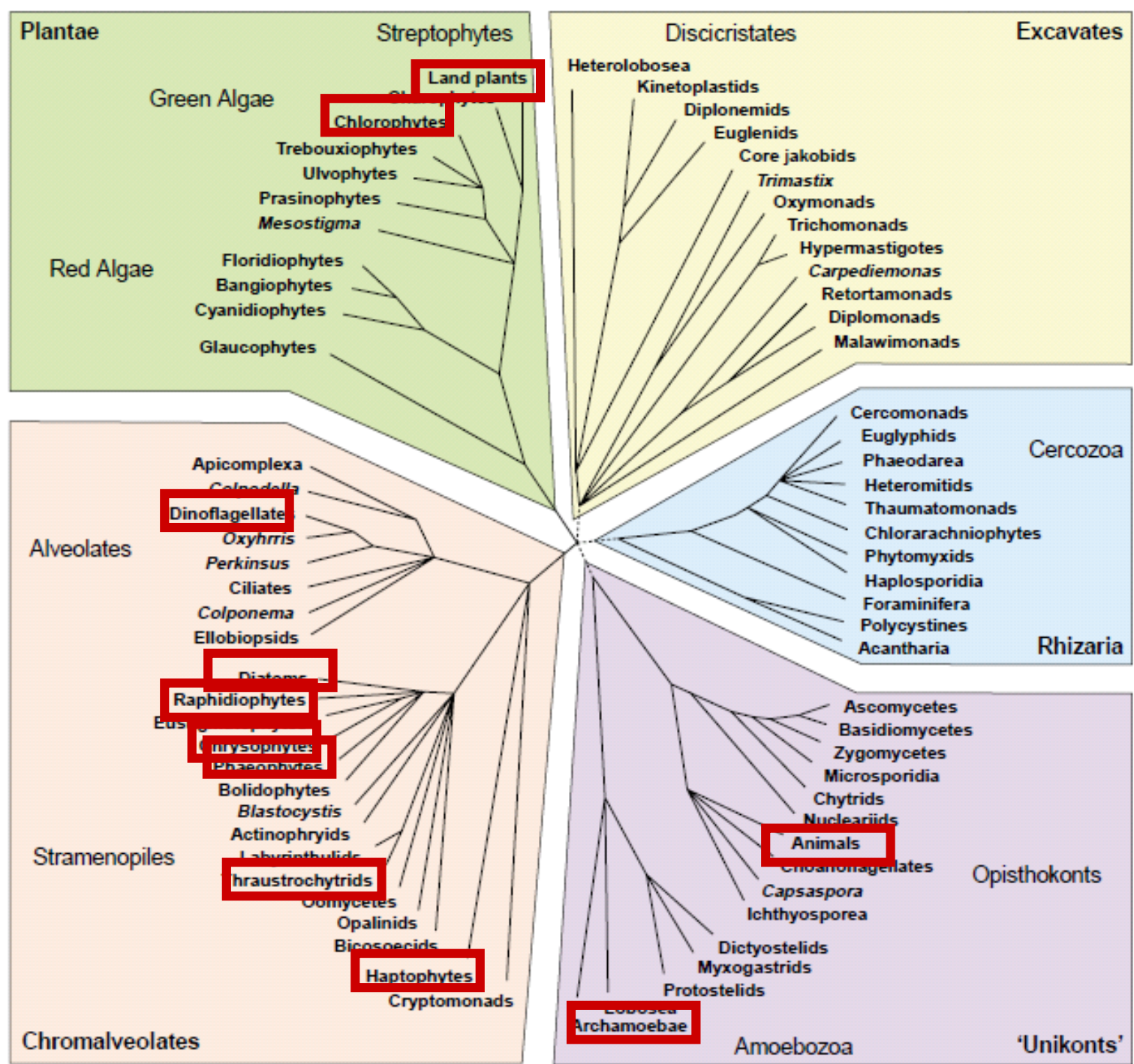


でも、ちやんと研究をたててきたのは  
この中のわずかに2本の「小枝」のみ





水圏ウイルスの研究にめざ、  
 いくつかの小枝のウイルスが  
 みつけられてきているが……



まだまだ道は逢かぬふうか。  
か。





**きっと答えは…**

**多種多様な生物を住まわせる水圏世界。  
新たな領域の果てに…**



# 謝辞

- 浦山俊一(筑波大)
- 高野義人(高知大)
- 外丸裕司(水産機構)
- 櫻井哲也(高知大)
- 高木善弘(JAMSTEC)
- 布浦拓郎(JAMSTEC)
- 吉田光宏(JAMSTEC)
- 平井美穂(JAMSTEC)
- 遠藤 寿(京都大)
- 田中幸記(高知大)
- 緒方博之(京都大)
- **高知県水産試験場**

AQUATIC VIRUS GROUP



NEO-VIR●LOGY

## 【主な推進予算】

- 新学術領域研究「ネオウイルス学：生命源流から超個体、そしてエコスフィアへ」
- 農水技会フ口研「有害プランクトンに対応した迅速診断技術の開発」

# 高知大“TEAM AQUA-VIRUS”、いよいよ本格起動！

長崎(責任者)



高野特任研究員



高橋特別研究員  
(2019.4月~)

第1世代  
期待の  
ルーキーたち

未来の水圏ウイルス  
ゲノムスペシャリスト  
目指します！(彩乃)

ウイルスの形態観察を  
極めます！(修平)



海底コアからウイルスの  
進化を探ります！(雄一)



青山さん(事務秘書)



緒方さん  
(実験補助員)

※物部音楽舎再興、物部テニスサークル再興も  
並行して目指します。