

# 論文概要

所属 理工情報生命学術院生命地球科学研究群 生命農学学位プログラム

学 籍 番 号 202030261

氏 名 千葉悠斗

論 文 題 目 菌類 RNA ウイルスの多様性・宿主菌集団中での維持機構の解析

## 論文概要

近年の環境試料を用いたメタトランスクリプトーム解析から、地球上には莫大な数の RNA ウイルスが存在することが明らかになってきた。そのため、地球生態系を理解する上でも RNA ウイルスの実像を理解する上でも、生態系の構成因子としての RNA ウイルスを理解していく必要がある。しかし、環境試料中には多数の生物が含まれていることもあり、環境試料を用いた解析では見出されたウイルスの機能の解明はおろか、宿主の正確な特定すらも難しい。このような背景から、生態系の構成因子としての RNA ウイルスの役割を理解するためには、培養可能な単離株を用いた RNA ウイルス研究により、ウイルスの宿主や機能などに関する基盤的な知見を拡張することが必要不可欠である。そこで、著者は RNA ウイルスの生態学的な役割の理解を進展させることを目的に、生態系における主要な分解者であり、培養等が比較的容易な菌類、特に糸状菌の単離株をモデルとして研究を進めた。本研究では糸状菌単離株に感染している RNA ウイルスの多様性を解明し、研究の基盤となる RNA ウイルス-宿主菌カタログを作成することを目指した。

第 1 章で著者は、モデル糸状菌の一つである *Aspergillus fumigatus* とその関連種の単離株 155 株から網羅的な RNA ウイルスの探索を行った。探索には高感度かつ従来法よりも RNA ウイルスの完全長ゲノムを高確率で取得可能な FLDS 法を用いた。これにより、種多様性のみならずゲノム構造の多様性も網羅した、高精度な RNA ウイルス-宿主菌カタログの作成を目指した。探索の結果、16 菌株から 20 ウイルス (12 ウイルス種) が検出され、そのうち 18 ウイルスの完全長ゲノムを取得した。検出されたウイルスの中には、8 種の新奇 RNA ウイルスが含まれていただけではなく、既知の RNA ウイルスにはない新奇なゲノム構造を持つものも含まれていた。*Aspergillus fumigatus narnavirus 2* (AfuNV2) は既知の *Narnaviridae* 科ウイルスであるが、本研究で 3 つの分節からなる分節型ゲノムを有していること、RNA ウイルスの自己複製酵素 (必須遺伝子) である RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) の 5 つの保存モチーフの内、モチーフ F,A,B を RNA1 に、モチーフ C,D を RNA2 に分割してコードすることを明らかにした。これまで知られている RdRp は全て単一の RNA 分子上にコードされており、本研究で初めて分割された RdRp (分割型 RdRp) を発見した。RNA ウイルスは高いゲノム構造の可塑性を持つことが知られているが、単一の遺伝子が分割する現象はどんな宿主の RNA ウイルスでもこれまで知られておらず、本研究の結果から従来の想定以上に RNA ウイルスのゲノム構造の多様性が高いことが示唆された。

第 2 章で著者は、深海から単離した *Aspergillus* 属菌 19 株から RNA ウイルス感染株をスクリーニングし、そこに感染している RNA ウイルスの完全長ゲノムを FLDS 法により決定した。従来の菌類 RNA ウイルスの探索ではターゲットとされてこなかった深海分離糸状菌を材料とすることで、これまでにない新奇な RNA ウイルスの獲得を目指した。探索の結果、新奇の RNA ウイルス 5 種が検出され、それら全ての完全長ゲノムを取得した。検出されたウイルスのうち、*Aspergillus tennesseensis narnavirus 1* (AtenNV2) は分割

型 RdRp を有する *NarNAVIRIDAE* 科のウイルスであり、モチーフ F,A を RNA1 に、モチーフ B,C,D を RNA2 に分割してコードしていた。このことは、*AtenNV2* の分割型 RdRp は既知の分割型 RdRp (Type I) とは異なる位置で分割されており (Type II)、*NarNAVIRIDAE* 科ウイルスにおける RdRp の分割現象には複数のパターンが存在することを示している。また、RdRp のアミノ酸配列を用いた系統解析から、Type I と Type II の 2 パターンの分割型 RdRp は *NarNAVIRIDAE* 科ウイルスの進化の過程で独立して出現したことが示唆された。本研究では、RNA ウイルスの探索対象として新たに深海分離糸状菌を用いることで、新奇 RNA ウイルスを複数見出しただけでなく、分割型 RdRp の普遍性、その進化の理解を大きく拡張した。

本研究では研究の基盤となる高精度な RNA ウイルス-宿主菌カタログを作成した。その過程で、菌類における RNA ウイルス多様性の理解を拡張した。特に、分割型 RdRp の発見は RdRp が RNA ウイルスの複製・転写を担う必須遺伝子であることから、RNA ウイルス研究全般に波及効果をもたらすものであると考えられる。