

# クルマエビおよびホワイトスポットシンドロームウイルスのゲノム情報整備に関する研究

著者	川戸 智
学位名	博士(海洋科学)
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2021
学位授与番号	12614博甲第617号
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1342/00002407/">http://id.nii.ac.jp/1342/00002407/</a>

## 【課程博士】 (博士論文審査及び最終試験の結果要旨)

学生氏名：川戸 智

博士論文題目：クルマエビおよびホワイトスポットシンドロームウイルスのゲノム情報整備に関する研究

### 博士論文審査：

申請者から提出された論文については審査委員と申請者の間で質疑応答が行われ、一部修正が行われた。公開発表会は2022年2月14日に実施され、博士論文としての質を十分に確保しているとの結論に至った。

クルマエビは、我が国において古くから珍重されてきた重要な水産動物である。しかしながら、クルマエビ養殖はホワイトスポットシンドロームウイルス (WSSV) などの病原微生物による感染症の被害に悩まされてきた。感染症を防止するには、クルマエビの生体防御機構や、病原体の感染メカニズムを分子レベルで理解することが重要である。本研究では、クルマエビの生体防御機構の解析に資するため、クルマエビおよび WSSV のゲノム解析を行った。

クルマエビ1尾の筋肉および精巣からゲノム DNA を抽出し、ショートリード (Illumina HiSeq 4000) およびロングリード (Oxford Nanopore Technologies GridION) を取得した。Illumina paired-end reads を用いた k-mer 解析の結果、クルマエビのゲノムサイズは 1.93 Gb と推定された。ショートリードで構築したドラフトゲノムのスキャフォールドリングとギャップフィルにロングリードを使用し、最終的なドラフトゲノムを得た。クルマエビゲノムアセンブリの 27% は単純反復配列 (SSR: simple sequence repeats) で占められていたことから、クルマエビ類のゲノムサイズ増大は SSR の増幅によると考えられた。トランスクリプトームデータおよびタンパク質配列のアラインメントと *ab initio* gene prediction をもとに、タンパク質遺伝子モデル計 26,381 個を構築した。遺伝子モデルの構造は既報のクルマエビ類ゲノムにほぼ一致した。OrthoFinder2 を用いたオーソログ解析の結果、約 7 割の遺伝子がクルマエビ類で共通すると推測された。

クルマエビ染色体中には WSSV 類似したウイルス (MjENMV: *Marsupenaeus japonicus* endogenous nimavirus) のゲノムが数百コピー散在することが知られている。本研究では、ロングリードデータを利用して MjENMV の全ゲノム配列を決定するとともに、クルマエビドラフトゲノムに含まれる他のウイルス配列を探索した。MjENMV ゲノムは約 300 kbp の環状配列で、テロメア様配列 (GGTTA)<sub>n</sub> を含んでいた。これは、MjENMV は HHV-6 などのヘルペスウイルスにみられるテロメア特異的な挿入に寄与している可能性がある。トランスクリプトームデータを解析したところ、MjENMV の mRNA 転写は体細胞で厳しく抑制されている一方、生殖巣では抑制が緩んでいることが示唆された。このことから、MjENMV はトランスポゾンに類似した振る舞いを示す大型の DNA ウイルスであると考えられた。また、クルマエビドラフトゲノム中から新たなニマウイルス (MjENMV2: *Marsupenaeus japonicus* endogenous nimavirus 2) を発見した。リードカバレッジから MjENMV2 はシングルコピーで存在すると推定され、日本産クルマエビ供試個体の 13% (13/91) が PCR 陽性であった。このことは、クルマエビゲノムの内在性ニマウイルスには種内多様性が存在することを示しており、これらの内在性ウイルス配列がエビに及ぼす生理的なインパクトを検討する上で重要な知見を提供する。

WSSV は 1993 年に国外から日本国内にもたらされ定着している。しかし、日本国内の WSSV の多様性は明らかとなっていない。そこで、日本国内で得られた WSSV 計 8 分離株の全ゲノム配列を決定するとともに、海外産 WSSV ゲノムを交えて系統解析を行った。日本産 WSSV はトランスポゾン様遺伝子の転座や遺伝子クラスターの欠失といった変異が蓄積しており、病原性の違いに寄与している可能性がある。WSSV は大きく分けて 2 系統 (A および B) に分けられ、1992 年に中国から世界各地に広まったのは系統 A であると考えられた。日本産 WSSV はすべて系統 A に分類された。系統 B は中国、オーストラリア、およびインド由来の株を含んでいた。

以上の内容から、学生から提出された博士論文は、国内外の研究の水準に照らし、各研究分野における学術的意義、新規性、独創性及び応用的価値を有しており、博士の学位に値することを審査委員一同確認した。

### 最終試験の結果要旨：

最終試験は 2 月 14 日に行われた。まず、学術論文は第 1 著者 (Kawato S, Nishitsuji K, Arimoto A, Hisata K, Kawamitsu M, Nozaki R, Kondo H, Shinzato C, Ohira T, Satoh N, Shoguchi E, Hirono I. (2021) Genome and transcriptome assemblies of the kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. G3 (Bethesda). 11(11): jkab268.) として公表済みであるとともに、国際学会での発表が 2 回あることと合同セミナーは企業型セミナーを履修していること確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した研究者倫理教育を修了していることを確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した方法により剽窃のチェックを行った結果、問題は認められなかった。学術論文は英語で書かれており、かつ、国際会議で、英語で発表しており、英語の学力については問題ないと判断した。また、申請者に対して、論文内容について最終確認のための質疑応答を行い、その内容は十分であった。一方、専門知識については公開発表会 (2 月 14 日) 当日の質疑や予備審査時でのディスカッションを含め十分であると審査委員一同確認した。以上から、学生について博士論文審査、最終試験とも合格と判定した。