

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	http://id.nii.ac.jp/1342/00002407/

博士学位論文要約 Summary

専攻 Major	応用生命科学専攻	氏名 Name	川戸智
論文題目 Title	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		

クルマエビ (学名: *Marsupenaeus japonicus*) 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。クルマエビ養殖業は、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被害に悩まされてきた。感染症による被害を防止するには、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 (第2章)、甲殻類ゲノム中の内在性ウイルス配列 (第3章)、および日本産 WSSV (第4章) のゲノム情報を整備することで、クルマエビと病原体の相互作用解明のための基礎データを提供することを目指した。

まず第2章では、クルマエビの分子生物学的解析に用いる基礎データを取得するため、クルマエビのドラフトゲノムおよびトランスクリプトームアセンブリの整備を行った。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; 564 Gb paired-end; 144 Gb mate-pair) およびロングリード (Oxford Nanopore Technologies GridION; 14.6 Gb) を取得した。ショートリードを用いた k-mer 解析 (GenomeScope2.0) 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。ショートリードを *de novo* アセンブルして得たコンティグのスキュアフォールディ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アセンブリ (Mj_TUMSAT_v1.0; 1.70 Gb; 18,120 scaffolds; scaffold N50: 235 kbp; BUSCO completeness: 94.1%) を得た。クルマエビドラフト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、クルマエビ類におけるゲノムサイズの増大は SSR の増幅によると考えられた。また、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、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。

第3章では、WSSV が属するニマウイルス科ウイルスのゲノム構造と多様性を明らかにすべく、甲殻類ゲノム中に含まれる内在性ニマウイルスゲノムの探索と解析を行った。甲殻類 17 種の全ゲノムショットガンシーケンシングデータを解析し、クルマエビ内在性ニマウイルス *Marsupenaeus japonicus* endogenous nimavirus (MjENMV) をはじめとする甲殻類内在性ニマウイルスゲノム計 23 本のゲノム配列を決定した。これらのニマウイルスゲノムの一部は WSSV が属するウィスポウイルス属 (genus *Whispovirus*) と明確に異なる特徴を持つことから、新たな属レベルの分類群を設けることが妥当と考えられた。また、陸生等脚類であるオカダンゴムシおよびワラジムシのショットガンシーケンシングデータから、ニマウイルス科に類似した新たなウイルス配列を発見した。興味深いことに、一部の内在性ニマウイルスゲノムの末端は (GGTTA/TAACC)_n からなるテロメア様配列に挟まれており、テロメア領域に挿入する能力を有している可能性が示唆された。RNA-seq データに含まれる MjENMV 由来リードは いずれも 1 パーセント以下で、mRNA となりうるセンス鎖の転写産物はほぼ生殖組織特異的にみられた。このことから、MjENMV の活動は体細胞組織で抑制される一方、生殖細胞では抑制が若干解除されていることが示唆された。

第4章では、日本国内の甲殻類に感染する WSSV の疫学調査や病原性解析に供する基礎データを得るため、日本産 WSSV 計 12 株の全ゲノム配列を決定した。JP02 株 (315kbp) は、CN01 株やタイの TH-96-II 株のゲノムに酷似した。静岡、愛知両県の天然クルマエビ類に由来する JP03 および JP04 株

は、トランスポザーゼ様遺伝子 (wsv486) の転座を共有していた。沖縄産株は 288-290 kbp と比較的ゲノムサイズが小さく、遺伝子欠失が病原性の変化に寄与している可能性が考えられた。日本産および海外産 WSSV ゲノムの系統解析を行ったところ、WSSV は2つのクレード (AおよびB) に大別され、日本産 WSSV はいずれもクレード A に含まれた。

本研究により、クルマエビとその主要な病原体である WSSV の相互作用を分子レベルで解明し、感染症防除に役立てるための基礎的知見が得られた。