

藻類学最前線



神川龍馬：シアノファージの多様な感染戦略

微細藻類によるブルームは増殖特性の異なる多彩な個体群から構成され、個体群動態は様々な環境要因の影響を受ける。近年、微細藻類ブルームの減少・消滅にウイルスやファージが深く関与していることが指摘されている。特に海洋系の一次生産者として重要な地位を占める海洋性ラン藻類とそれらに感染するファージ（シアノファージ）の相互作用に関して、ゲノム解析を含めた多くの知見が蓄積されつつある。それらの一連の研究により、シアノファージがブルームに対する質的・量的な変動要因として重要であるばかりでなく、光合成関連遺伝子をはじめとした宿主由来遺伝子のプール源として重要であることも明らかとなってきた。また2006年には淡水性ラン藻類に感染するシアノファージが分離され（Yoshida *et al.* 2006）、2008年にはその全ゲノムが解読された（Yoshida *et al.* 2008）。本稿では、海洋性シアノファージと淡水性シアノファージのゲノム情報から示唆された感染戦略を比較・紹介したい。

海洋性ラン藻類 *Prochlorococcus* 属（以下プロクロロコッカス）や *Synechococcus* 属（以下シネココッカス）は世界中の海洋に普遍的に存在し、地球全体のおよそ45%を担っている海洋における炭素同化では、両ラン藻は重要な地位を占めている（Whitman *et al.* 1998）。これらに感染するシアノファージは海洋において豊富に存在し、ラン藻類の生態に多大な影響を与えると考えられている。これまでにプロクロロコッカスやシネココッカスに感染するシアノファージのゲノムが解読され、驚くべきことにそれらのなかには光合成関連遺伝子である *psbA* および *psbD* 遺伝子がコードされているものが存在した（例えば Mann *et al.* 2003）。また、PCR法による探索により、多くの海洋性シアノファージ株が同遺伝子を有していることが明らかになっている（Sullivan *et al.* 2006）。調査された分離株のPCRデータと解読済みのゲノムデータをあわせると、実に解析されたシアノファージの88%が *psbA* 遺伝子を、そして50%が *psbA* および *psbD* 遺伝子の両方を有していた。*psbA* および *psbD* 遺伝子は、光化学系IIの反応中心タンパク質D1およびD2をそれぞれコードしている。両遺伝子はそれぞれホストの配列と同一性が高く、系統解析によってもホストからの遺伝子水平伝播によって獲得されたことが示唆されている（Lindell *et al.* 2004）。なぜ獲得された光合成関連タンパク質遺伝子が多くのシアノファージゲノムに残っているのだろうか？ Mann *et al.* (2003) は、ファージ光合成遺伝子にはホスト細胞の光化学系IIの修復を補助する役割があると主張している（図1A）。光化学系IIの反応中心タンパク質、特に *psbA* 遺伝子がコードするD1タンパク質の分解速度は大きく（Melis 1999）、そのためD1タンパク質を常時合成しなければならない。しかしファージ

感染によりホスト遺伝子の転写抑制（シャットダウン）が起き、ホスト細胞の代謝活性が著しく低下すると光化学系IIの修復が不可能になり、光合成活性が低下するためファージゲノムの複製やファージタンパク質の合成のためのエネルギーが確保できない。さらには集光タンパク質によって集められた光エネルギーが行き場（光化学系II）を失い、光ストレスによる細胞死をも誘発する可能性がある。そこでファージ自身が有する *psbA* および *psbD* 遺伝子により反応中心タンパク質を合成すると考えられた。事実、ファージ感染後ホスト細胞の *psbA* 遺伝子のmRNA量が低下しても光化学系IIの活性は維持され（Lindell *et al.* 2005, Clokie *et al.* 2006）、またファージ *psbA* 遺伝子は感染中に機能（発現）していることが、転写レベルおよびタンパク質（翻訳）レベルで示されている（Lindell *et al.* 2005）。

これまでに研究された海洋性シアノファージをモデルとして、シアノファージの多くがホストの光合成活性を補助・維持することで光ストレスの回避とファージ増殖のためのエネルギーを確保する、という戦略をとっていると考えられた。ところがゲノム解析の結果から、アオコ原因ラン藻類に感染するファージ Ma-LMM01 は全く異なる感染戦略をもっていることが示唆されている（Yoshida *et al.* 2008）。

淡水性ラン藻類 *Microcystis aeruginosa*（以下マイクロキスティス）は、世界各地の富栄養化した淡水湖沼において大量発生することによりアオコを形成する。マイクロキスティスはマイクロキスティンと呼ばれる環状ペプチド構造を有する肝臓毒を産生する。飲料水などを通じてマイクロキスティンが哺乳類の体内に入ると、主に肝臓において発ガンプロモーターとして機能し、結果的に家畜やヒトを死に至らしめるため、「水の安全性」という観点から世界中で深刻な問題となっている。わが国ではマイクロキスティンによるヒトへの被害に関する報告事例はないものの、マイクロキスティス強毒株の出現やアオコ発生池での野鳥の死亡事例が報じられるなど、予断を許さない状況にある。

Ma-LMM01ゲノムは2本鎖DNAからなり、全長162,109 bpからなる環状ゲノムとしてアセンブルされた。検出された184個のORFについてBLASTXを用いて相同性解析を行った結果、その85%に相当する156個のORFはデータベース上の配列に対してヒットしなかった。Ma-LMM01はその尾部形態からミオウイルス科に分類されているが、T4ファージ（大腸菌感染性ファージ）等詳細な解析がなされているミオウイルス科の中でも、既知のファージとは大きく異なるファージであると推察された。事実、ミオウイルス科に特徴的な鞘収縮性構造タンパク質について系統解析を行ったところ、既知の何れのファージとも単系統性を示さなかった（Yoshida *et al.* 2006）。

このように特異な遺伝子組成を有する Ma-LMM01 におい

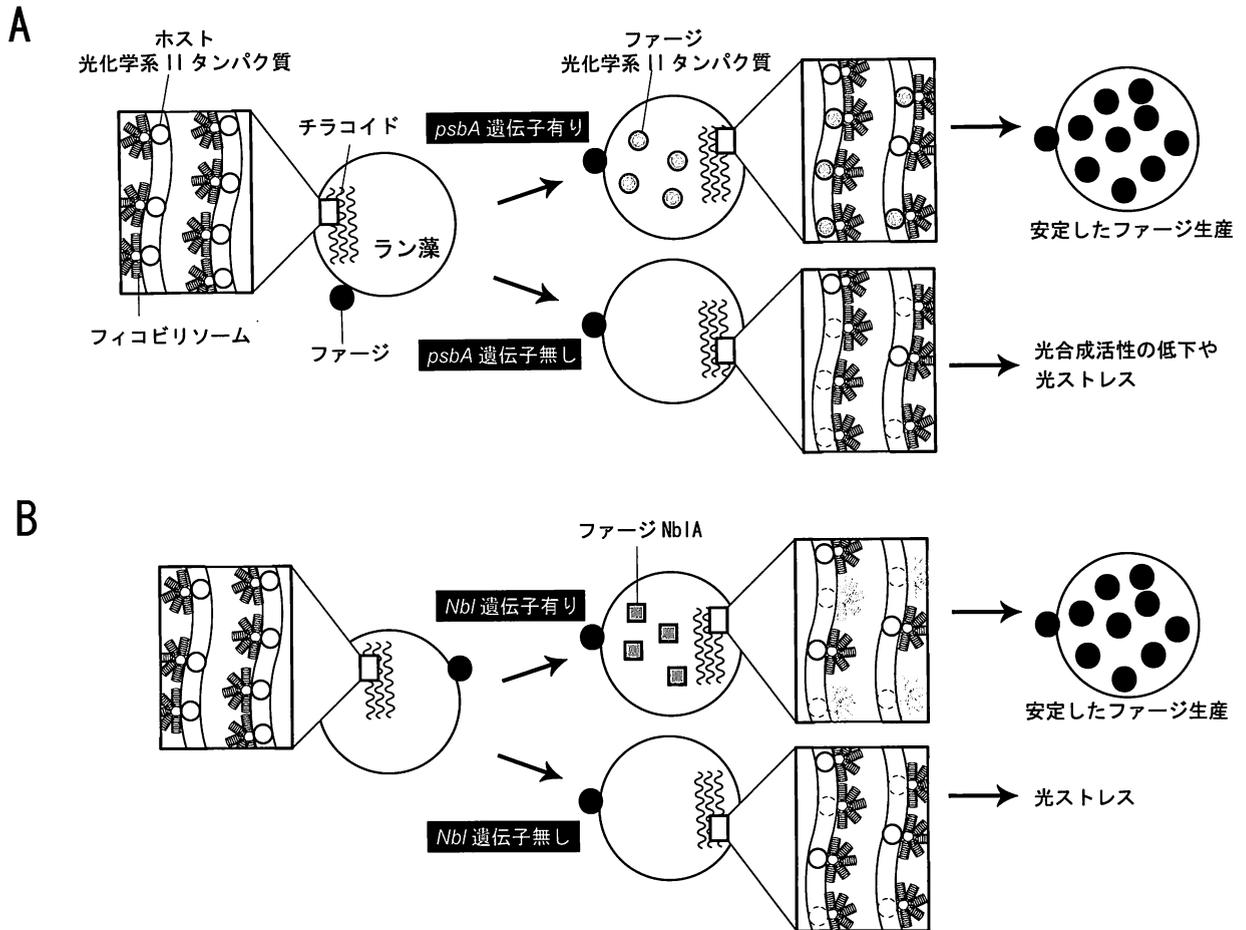


図1 海洋性シアノファージと淡水性シアノファージにおける感染戦略。 A. 海洋性シアノファージにおける感染戦略とその利点。 B. 淡水性シアノファージにおける感染戦略とその利点。

て、海洋性シアノファージの大部分が有している *psbA* 遺伝子や *psbD* 遺伝子は、そのゲノム中にコードされていなかった。Sullivan *et al.* (2006) は感染から溶菌までに要する時間が比較的短時間（～1時間）であるシアノファージは、宿主細胞の光合成活性を強制的に維持し光ストレスを回避する利点がないため *psbA* 遺伝子等を有していないと推論している。しかし Ma-LMM01 はマイクロキスティス細胞への感染・溶菌に6～12時間は必要であり (Yoshida *et al.* 2006), Sullivan *et al.* (2006) の推論は当てはまらない。では Ma-LMM01 はどのようにして増殖に有利な環境を作っているのだろうか？ 注目すべきことに、Ma-LMM01 ゲノム中には、NblA と相同性の高い ORF がコードされていた。NblA はマイクロキスティスの主要集光タンパク質複合体であるフィコビリソーム (PBS) を分解するタンパク質である。したがって Ma-LMM01 は、海洋性シアノファージのように宿主遺伝子のシャットダウンによりダメージを受けた宿主の光化学系 II 関連タンパク質を修復するのではなく、NblA によって光化学系 II に光エネルギーを集める集光タンパク質を減らす戦略をとっていると推察された (図 1B)。さらにこの場合、PBS はラン藻類細胞内水溶性タンパク質の約

50%を占めるという報告もあり (Grossman *et al.* 1993), Ma-LMM01 は感染初期に PBS を分解することで感染後期における自分の粒子殻の形成に必要なアミノ酸を確保できるという利点も併せ持っている。しかし、Ma-LMM01 の戦略では宿主であるマイクロキスティスの光合成活性の低下を誘引しないのであろうか？ この問いに関して、Yoshida *et al.* (2008) は生態学的な見地から考察し、その答えの鍵を宿主細胞の生息域の違いに求めている。海洋性のプロクロロコッカスやシネコッカスは水深数メートルから数十メートル付近に主に分布するが、マイクロキスティスはガス胞による浮上能により水面直下に分布している (Garczarek *et al.* 2007, Ma *et al.* 2008, Mlouka *et al.* 2004)。そのためプロクロロコッカスやシネコッカスの生息環境と比較して、マイクロキスティスの生息環境では光利用効率が著しく高い (Partensky *et al.* 1999; 図 2)。そのため、プロクロロコッカスやシネコッカスは捕捉する光エネルギーを保つために「光合成装置」を修復・維持することで光合成活性を維持し、一方マイクロキスティスは捕捉する光エネルギーを減少させることで強光ストレスを回避し、光合成活性を維持していると考えられた。それぞれの宿主の生息環境に対し、それぞれ

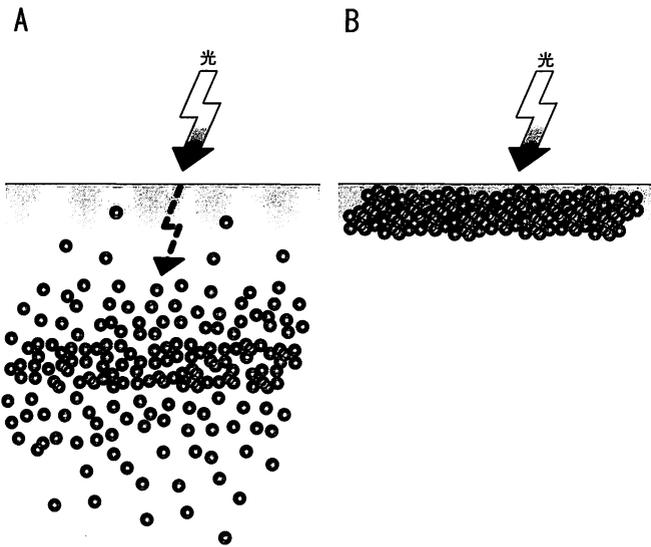


図2 ラン藻類の垂直分布域と光利用率。A. 海洋性ラン藻類。
B. 淡水性ラン藻類。

ファージ側が環境に適合した独自の感染戦略を作り上げているわけである。ラン藻類は常にファージ感染にさらされ、両者は共進化を遂げてきたと考えられている。つまり、様々な宿主遺伝子がファージゲノムに水平伝播し (Lindell *et al.* 2004)、獲得された遺伝子がファージの感染に要する期間やホストの生育環境に適合していた場合、それがファージゲノムに固定され、結果として現存ファージに見られるような様々な感染戦略が生まれたのだろう。新たな宿主-ファージ関係が見出されることにより、さらなる未知の感染戦略が見いだされる可能性は高い。今後の研究展開が楽しみである。

引用文献

Clokier, M. R. J., Shan, J., Bailey, S., Jia, Y., Krisch, H. M., West, S. & Mann, N. H. 2006. Transcription of a 'photosynthetic' T4-type phage that infects marine cyanobacteria. *Environ. Microbiol.* 8: 827-835.

Garczarek, L., Dufresne, A., Rousvoal, S., West, N. J., Mazard, S.,

- Marie, D., Claustre, H., Raimbault, P., Post, A. F., Scanlon, D. J. & Partensky, F. 2007. High vertical and low horizontal diversity of *Prochlorococcus* ecotypes in the Mediterranean Sea in summer. *FEMS Microbiol. Ecol.* 60: 189-206.
- Grossman, A. R., Schaefer, M. R., Chiang, G. G. & Collier, J. L. 1993. The phycobilisome, a light-harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiol. Rev.* 57: 725-749.
- Lindell, D., Jaffe, J. D., Johnson, Z. I., Church, G. M. & Chisholm, S. W. 2005. Photosynthesis genes in marine viruses yield proteins during host infection. *Nature* 438: 86-89.
- Lindell, D., Sullivan, M. B., Johnson, Z. I., Tolonen, A. C., Rohwer, F. & Chisholm, S. W. 2004. Transfer of photosynthesis genes to and from *Prochlorococcus* viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 11013-11018.
- Ma, Y., Zeng, Y., Jiao, N., Shi, Y. & Hong, N. 2008. Vertical distribution and phylogenetic composition of bacteria in the Eastern Tropical North Pacific Ocean. *Microbiol. Res.* in press
- Mann, N. H., Cook, A., Millard, A., Bailey, S. & Clokie, M. 2003. Marine ecosystems: bacterial photosynthesis genes in a virus. *Nature* 424: 741.
- Melis, A. 1999. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: What modulates the rate of photodamage? *Trends Plant Sci.* 4: 130-135.
- Mlouka, A., Comte, K., Castets, A. M., Bouchier, C. & Tadeau de Marsac, N. 2004. The gas vesicle gene cluster from *Microcystis aeruginosa* and DNA rearrangements that lead to loss of cell buoyancy. *J. Bacteriol.* 186: 2355-2365.
- Partensky, F., Hess, W. R. & Vaultot, D. 1999. *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63: 106-127.
- Sullivan, M. B., Lindell, D., Lee, J. A., Thompson, L. R., Bielawski, J. P. & Chisholm, S. W. 2006. Prevalence and evolution of core photosystem II genes in marine cyanobacterial viruses and their hosts. *PLOS Biol.* 4: e234.
- Yoshida, T., Takashima, Y., Tomaru, Y., Shirai, Y., Takao, Y., Hiroishi, S. & Nagasaki, K. 2006. Isolation and characterization of a cyanophage infecting the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 1239-1247.
- Yoshida, T., Nagasaki, K., Takashima, Y., Shirai, Y., Tomaru, Y., Takao, Y., Sakamoto, S., Hiroishi, S. & Ogata, H. 2008. MALMM01 infecting toxic *Microcystis aeruginosa* illuminates diverse cyanophage genome strategies. *J. Bacteriol.* 190: 1762-1772.
- Whitman, W. B., Coleman, D. C. & Wiebe, W. J. 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 6578-6583.

(京都大学)