

**京都大学教育研究振興財団助成事業  
成 果 報 告 書**

2019年 4月 4日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 工学研究科

職 名 教授

氏 名 清水 芳久

助 成 の 種 類	<b>平成30年度 ・ 研究活動推進助成</b>		
申請時の科研費 研究 課 題 名	琵琶湖におけるウイルス—細菌間の感染・共存機構の解明と炭素循環モデルへの統合		
上記以外で助成金を 充 当 した 研 究 内 容	なし		
助成金充当に関 わる共同研究者	(所属・職名・氏名)  なし		
発表学会文献等	1. Shang Shen, Taketoshi Kusakabe, Yoshihisa Shimizu: Viral hot spot in Lake Biwa, Japan, <i>Proceedings of 17th World Lake Conference</i> , pp. 634-636 (2018.10) 2. 沈尚, 日下部武敏, 清水芳久: 琵琶湖の物質循環におけるウイルス分流の重要性, 水環境学会 (2019.03) 3. 吉野魁人, 日下部武敏, 沈尚, 清水芳久: DNA変性処理を必要としない水環境中の細菌増殖解析法の検討, 水環境学会 (2019.03)		
成 果 の 概 要	<b>研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)</b>		
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,000,000 円	
	使用した助成金額	1,000,000 円	
	返納すべき助成金額	0 円	
	助成金の使途内訳	費 目	金 額
		設備備品費	332,640
		試薬・消耗品等費	527,260
		分析機器使用料	24,900
	国内旅費(学会参加)	115,200	
	合計	1,000,000	
当財団の助成に つ い て	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。)  科研費で不採択となりましたが、貴財団から助成いただき、研究テーマを滞りなく前へ進めることができました。ありがとうございました。		

琵琶湖におけるウイルス－細菌間の感染・共存機構の解明と炭素循環モデルへの統合

京都大学工学研究科 工学研究科 清水芳久

【研究背景】

近年、湖沼や海洋の生態系において、大量の植物プランクトンと細菌がウイルス感染によって死滅していることが明らかとなった。この感染現象は物質循環において有機物の流れを著しく変化させることが理論的にも実験的にも明らかになり、ウイルスは物質循環に深く関与することが分かった。申請者の研究で、琵琶湖でも日々 50% もの細菌がウイルス感染によって死滅していることが明らかとなり、ウイルスを新たに組み込んだ琵琶湖の物質循環を再構築する必要があると考えられる。

従来は、ウイルスは細菌に感染して死滅させる、いわゆる「殺す」立場でしか研究されておらず、同時に「殺される」立場でもあることには着目されてこなかった。ウイルス数は水中では定常状態にあることが申請者の過去の琵琶湖での研究で明らかになっている。すなわち、ウイルスは 1 日に 10~100 倍に増殖をするが、次の日には同じ数まで減少している。これはウイルスが水中で「殺されている」ことを意味しており、このために細菌が全滅してしまうことや琵琶湖がウイルスのスープになることもなく、ウイルスと細菌が共存できているわけである。しかし、ウイルスが何によって「殺されて」いるのか、従来ではその要因として「紫外線」しか考慮されておらず、この要因だけはウイルスの定常状態は説明できない。そこで申請者は、ウイルスが死滅する他の要因として「紫外線」の他に「粒子への吸着」と「捕食」による消失が大きく寄与しており、これらの要因でウイルスの定常状態が説明できるとの仮説を提案し、検証こととした。

【研究内容】

琵琶湖北湖沖帯の表層において、ウイルスの生産速度、粒子への吸着速度、捕食による消失速度を求めた。ウイルスの生産速度は細菌およびウイルス数、細菌のウイルス感染率、バーストサイズ、細菌の生産速度から推定した。細菌数およびウイルス数は SYBR Gold で核酸を染色した後、蛍光顕微鏡で計数した。細菌のウイルス感染率は透過型電子顕微鏡を用いて、ウイルス粒子が細胞内に確認できる細菌の割合を求めた。バーストサイズはウイルス感染している細菌内のウイルス粒子を計数した。細菌の生産速度は文献値を用いた (Pradeep Ram *et al.*, 2010)。「粒子への吸着速度」では、モデル微生物としてウイルス株を選定してラボ実験から推定した。ウイルス株を実際の湖水サンプルへ添加し、一定間隔ごとにウイルス株の数を計数した。ウイルス株の減少速度が一次式に従うとし、その係数を消失速度として求めた。「捕食による消失速度」はウイルス株と宿主関係のない微生物株をモデル微生物として選定し、両者を混合培養することで、ウイルス粒子の減少速度を求めた。また、ウイルス株の減少速度が一次式に従うとし、その係数を消失速度として求めた。

【研究成果と今後の見通し】

ウイルスの生産速度と消失速度が釣り合っているとすれば、ウイルスの死亡要因に

対して「粒子への吸着」で約 53%、「捕食」で約 30%を占めることが明らかとなった。また、「紫外線」によってウイルスの感染力は失われるものの、核酸染色によるウイルス数は維持されていたことから、消失要因として寄与は小さいことが明らかとなった。「粒子への吸着」と「捕食」の 2 つの要因で 8 割以上を説明できたことから、ウイルスの定常性が「紫外線」、「吸着」および「捕食」によって維持されているという当初の仮説は概ね支持された。本研究は琵琶湖表層での検討であったが、環境条件の異なる深層では消失要因の内訳が異なると考えられる。今後は、空間分布も考慮した定常性のメカニズムを解明する必要がある。本研究で得られたウイルスの消失要因に関する知見は琵琶湖だけでなく他の湖沼や海洋でも適用できる可能性があることから、水圏におけるウイルスの定常性の理解へ大きな進展が持たられると期待される。

#### 参考文献

Ram, A. S. P., Nishimura, Y., Tomaru, Y., Nagasaki, K., & Nagata, T. (2010). Seasonal variation in viral-induced mortality of bacterioplankton in the water column of a large mesotrophic lake (Lake Biwa, Japan). *Aquatic Microbial Ecology*, 58(3), 249–259.