

## 4 研究内容 (別紙)

### 研究課題名

内在性ウイルス配列の探索による節足動物ウイルスの多様性および進化の解析

### 共同研究者名

堀江真行 (大阪公立大学)、鈴木康嗣 (愛媛大学)

### 研究目的

生物のゲノムにはウイルス由来の遺伝子配列が多数存在し、それらは内在性ウイルス様配列 (EVE: endogenous viral elements) と呼ばれる。EVE は祖先生物におけるウイルス感染を示す「ウイルスの分子化石」であり、EVE を解析することによって過去のウイルス感染に関する貴重な情報 (年代、宿主、遺伝子配列) が得られる。さらに、EVE の一部は宿主において重要な生理機能を担っていることも知られており、真核生物における遺伝子の新生やウイルスと生物の共進化の理解に極めて重要である。

本研究ではウイルスの多様性およびウイルスと蚊の共進化のさらなる理解を目的とし、昆虫と密接な関係のあるフラビウイルス (フラビウイルス科フラビウイルス属のウイルス) 由来の EVE の探索を行うとともに、さらにタンパク質をコードし得る ORF を持つ EVE の検出を試みた。

### 研究方法

ネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) の高品質なゲノム (GCA\_002204515.1、GCA\_025407655.1) に対し、既知のフラビウイルスのアミノ酸配列をクエリーとした tBLASTn 検索を行い、EVE を検出した。tBLASTn によって検出された EVE とその周辺 1,000 塩基を含む配列を抽出し、300 塩基以上から成る ORF を抽出した。最後に、これらの ORF について、ORF の大きさや、最も近縁なウイルスの同定など、詳細な解析を行った。

### 研究成果

tBLASTn により GCA\_002204515.1 からは 13 配列、GCA\_025407655.1 からは 20 配列の EVE を検出した。これらの配列のうち、多くは 300 塩基以上から成る ORF を保持しており、最大で 2300 塩基以上の ORF が確認された。一方で、ORF を持つ EVE に最も近縁なフラビウイルスは約 10,000 塩基以上もの ORF を保持しているため、内在化した後の変異の蓄積によって、ORF が断片化していると考えられた。

また、大きな ORF を持つ EVE について分子進化学的手法による自然選択圧の検出を行うために、オーソログの同定を試みた。しかし、他の *Aedes* 属の蚊のゲノムからはオーソログと断定できる配列を同定することができなかつたため、自然選択圧の検証を行うことはできなかつた。

また、EVE の由来となったウイルス系統の推定も試みた。これらの ORF を保持する EVE をクエリーとした BLAST により、本研究において検出した EVE はほぼすべて、2022 年にキタヤブカ (*Ochlerotatus hexodontus*) より発見された新規のウイルスである Kilpisjarvi flavivirus にもっとも近縁であると考えられた。蚊には未知のウイルスが多数存在すると考えられており、正確な系統関係を把握するためには、ウイルスの探索も重要であると考えられる。

## 今後の課題

本研究ではネッタイシマカの高品質なゲノムのみに焦点を絞って解析を行ったが、2 つのハイクオリティゲノム間でも EVE の多型、すなわち片方のゲノムには存在するものの、もう一方のゲノムには存在しない EVE が確認された。このような多型を考慮すると、高品質なゲノムのみならず、ややクオリティの劣るゲノムも解析に加え、さらには様々なフィールドから採取した蚊のゲノムを用いて、PCR とサンガーシーケンシングにより、EVE の同定を行うことが望ましい。

また、系統関係を詳細に解明するにはウイルス探索も同時に行う必要がある。近年、公共データベースから対象とするウイルスに比較的近縁なウイルスを網羅的に検出することのできるツールも開発されている。このようなツールを用い、EVE に近縁なウイルスを網羅的に検出することにより、より詳細なウイルスの進化および、宿主との共進化に関する知見が得られるであろう。