

## 再構築された“ウイルス生態像”

### Revised Over View of Virus Ecology

浦山 俊一<sup>1,2,3\*</sup>, 千葉 悠斗<sup>1</sup>, 高木 善弘<sup>2</sup>, 萩原 大祐<sup>1,3</sup>, 布浦 拓郎<sup>2</sup>  
SYUN-ICHI URAYAMA<sup>1,2,\*</sup>, YUTO CHIBA<sup>1</sup>, YOSHIHIRO TAKAKI<sup>2</sup>, DAISUKE HAGIWARA<sup>1</sup> and TAKURO NUNOURA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 国立大学法人筑波大学 生命環境系 糸状菌相互応答講座 〒305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1

<sup>2</sup> 国立研究開発法人海洋研究開発機構 海洋生命理工学研究開発センター 〒237-0061 神奈川県横須賀市夏島町 2-15

<sup>3</sup> 国立大学法人筑波大学 微生物サステイナビリティ研究センター 〒305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1

\* TEL: 029-853-6636 FAX: 029-853-4605

\* E-mail: urayama.shunichi.gn@u.tsukuba.ac.jp

<sup>1</sup> Laboratory of Fungal Interaction and Molecular Biology, Department of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan

<sup>2</sup> Research Center for Bioscience and Nanoscience (CeBN), Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC), 2-15 Natsushima-cho, Yokosuka, Kanagawa 237-0061, Japan

<sup>3</sup> Microbiology Research Center for Sustainability (MiCS), University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan

キーワード：環境ウイルス学，RNA ウィルス，メタゲノム，ウイルス生態学，非病原性

Key words: Environmental virology, RNA virus, Metagenome, Virus ecology, non-pathogenic

(原稿受付 2019年2月28日/原稿受理 2019年3月12日)

### 1. はじめに

現在，“ウイルス＝病原体”という我々が長年抱えてきたウイルス像は大きく変化しようとしている。本総説ではここ20年ほどで急速に発展した“環境ウイルス研究”に着目し，我々のウイルス像がどのように変化し，生命科学に波及しようとしているのか，紹介したい。



図1. ある日の夕食。  
ピーマンやコメに限らず，ハウレン草やナス，キノコ，味噌（大豆）などにもウイルスが含まれているかもしれない。

まず，“病気を引き起こさないウイルス”について紹介したい。我々は知らないうちにたくさんのウイルスと接している。その一例が穀物，野菜など食べ物に含まれるウイルスだ。例えば，筆者の昨晚の夕食は，ピーマンの肉詰め，みそ汁，炊き込みご飯だったが（図1），私が食したピーマンとコメはかなりの確率でウイルスを含んでいる。これは，無農薬栽培だからとか安い食材を選んだからとか，病害に犯された食材が出荷されている，という訳ではない。我々が日々食す穀物，野菜などは，長い月日をかけて人類が選抜を繰り返すことで生まれたが，それらには『病気を引き起こさない』ウイルスが，選抜の過程で排除されず現在でも感染・共生している。さらに，面白いことにこれは栽培品種に限られた特殊な事例などではなく，同様のことが多くの野生の生物でも観察され，自然界には病害の原因とはならないウイルスが普遍的に存在することが近年明らかになってきた。

### 2. 従来型のウイルス研究

長らく，ウイルスは病気になった生物から発見されるものだった。その発見は1900年頃に遡り，病気の動物や植物から病原微生物を探索する過程で，微生物よりも小さな未知なものが病気を引き起こしているという観察結果に始まる。その後，“ウイルスを見つけない”研究者は，様々な罹患している生物を対象に探索を行い，2000年ごろまでには数千種のウイルスが発見された<sup>14,29)</sup>。そし

て、これらの研究で見いだされたウイルスは、下記のような特性を有していたのである。

- 単独では増殖できず細胞に寄生する
- 寄生できる細胞はある程度限られる（例：植物のウイルスは人に感染しない）
- 核酸（とタンパク質や脂質）からなる単純で小さな（20 nm～）構造体
- 遺伝情報を保持する核酸種<sup>※1</sup>が細胞のそれよりも多様
- バクテリアとアーキアに感染するウイルスでは DNA ウィルスが、真核生物に感染するものでは RNA ウィルスが優占
- 多くは生物の病気と関連する

※1：遺伝子の実態は核酸であり、この核酸は大別して DNA と RNA の 2 種類が知られている。さらに、これらが 1 本鎖なのか 2 本鎖なのかでも分類されるため、1 本鎖 DNA、2 本鎖 DNA、1 本鎖 RNA、2 本鎖 RNA の 4 種類に分けることができる。細胞性生物はすべて 2 本鎖 DNA に遺伝情報を保持

しているが、ウイルスは上記 4 種のいずれかを使用している。

### 3. ウィルス研究の転換点を迎えるまでの道のり

ヒトや農林水産物に感染する病原性ウイルスは大きな負の影響をもたらすものであり、その防除・制御を望む強い社会的要請に応えるべく、ウイルスに関する研究資源のほとんどは病原性ウイルス研究に投入され、1980 年頃から大きく発展した（図 2）。このような中にありながらも、一部の研究者は明らかな病気を起こさないウイルスに関する研究（ここでは“辺縁ウイルス学”とする）を続け、2010 年ごろ環境ウイルス学が広く認められるようになる。まず、“辺縁ウイルス学”の発展、そして環境ウイルス学の一般化というブレイクポイント到達に欠かすことのできないウイルス検出技術について紹介する。

#### 3.1 “辺縁ウイルス学”の発展に立ちはだかる技術的障壁

ウイルスは可視光で捉えられないため、我々はウイル

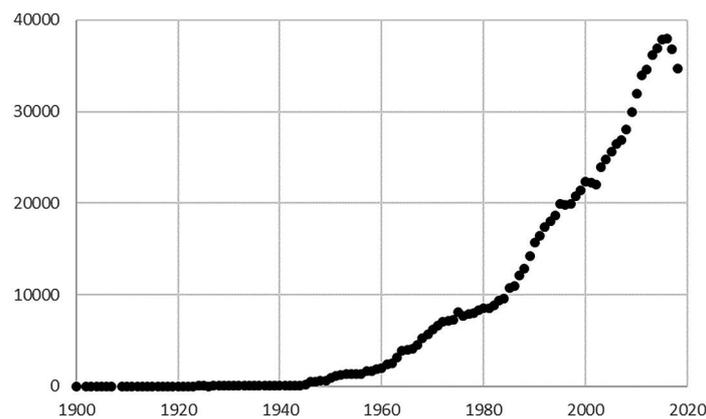


図 2. PubMed で“virus”にヒットする論文の年次変化（2018 年までのデータを掲載）。

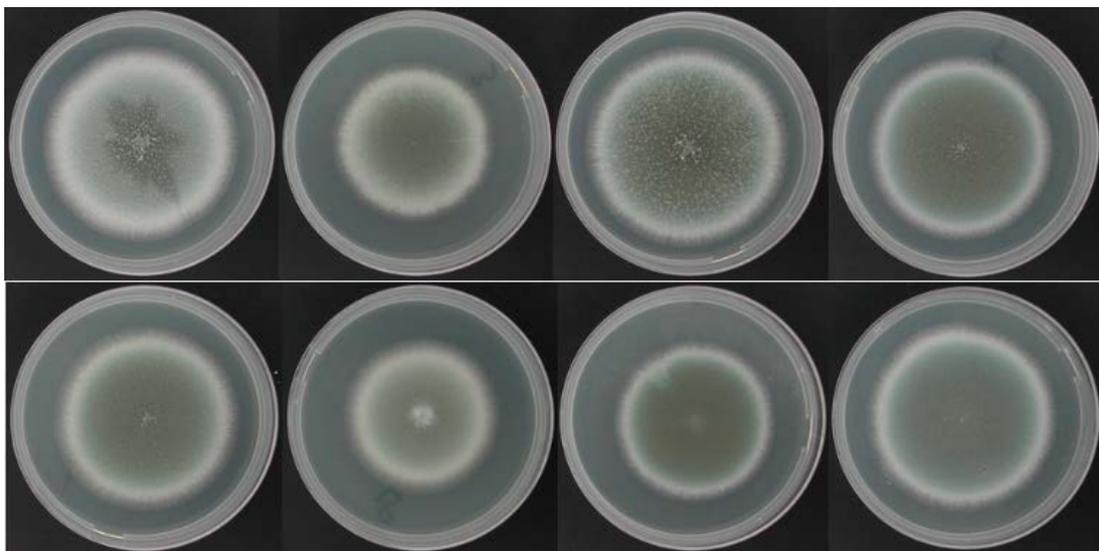


図 3. 臨床検体から分離された 8 つの異なる *Aspergillus fumigatus* 株の菌叢。

PDA プレート培地にて 37°C で 3 日間培養したもの。下段右から 2 番目の株には RNA ウィルスが感染している。

スが引き起こす現象（主に病気）を見出し、そこからウイルスを探すという“間接的”な探索を行ってきた。逆に言えば、ヒトが認知する“現象”を引き起こさないウイルスは、見つけることが出来なかったのだ。例えば図3のプレート培地に生えた糸状菌コロニーの比較からは、ウイルス探索のきっかけとなる“病徴”を定義することすら困難である。自身で体調不良を訴えることが出来るヒトか、飼養する経済生物でない限り、病気の存在すら我々が認知することは容易ではない。

また、可視光よりも波長の短い電子線であればウイルスの形状を観察することが可能であるが、電子顕微鏡で得られる形状情報は曖昧であり、ウイルス探索においては補助的なツールに留まる。このように網羅的にウイルスを検出することは困難な状況が長く続いてきた。

### 3.2 分子の眼でウイルスを見つける

分子生物学が発展した現在においても、細胞性生物とは異なり全てのウイルスに共通する遺伝子が存在しないことから、ウイルスを網羅的に検出することは出来ない。勿論、特定の病原ウイルスについての検出手法は数多く存在するが、これらの手法では対象外のウイルスに関する情報は当然のことながら得られない。そこで、「ウイルスはゲノム情報を保持している核酸種により大きく4グループ（dsDNA, ssDNA, dsRNA, ssRNA）に分けることが出来る」という性質に基づき、核酸種毎のウイルス検出手法が著しく発展した。

1979年, Morris と Dodds は2本鎖 RNA (dsRNA) が、植物や真菌に感染している RNA ウイルスを見出すための指標となることを報告した<sup>22)</sup> (図4)。細胞性生物のゲノムは2本鎖 DNA にコードされ、その遺伝情報は1

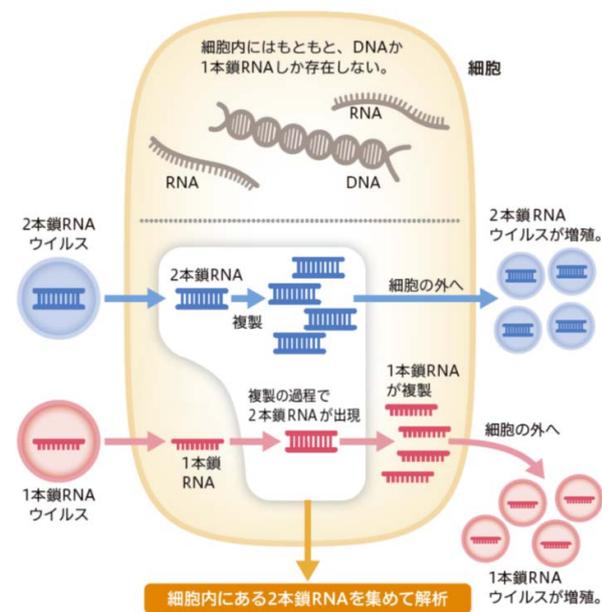


図4. Morris と Dodds が示した、生物試料中の RNA ウィルスを選択的に検出するための原理。健全な細胞には長い dsRNA 分子は存在しないが、RNA ウィルスが感染・複製を行うと細胞内に長い dsRNA 分子が蓄積する。そのため、生物試料から長い dsRNA が検出されれば、そこには RNA ウィルスが感染していると考えることが出来る。

本鎖 RNA (ssRNA) を介して機能発現するため、細胞内の核酸種の大部分はこの2種で占められている。近年になって遺伝子発現調節等に関与する低分子 dsRNA は見いだされているが、これらは主に 200 bp 以下である。つまり、500 bp 程度以上の長い dsRNA は通常の細胞にはほとんど存在しない。一方で、dsRNA ウィルスが細胞に感染すればそのゲノムである dsRNA 分子が細胞内に蓄積し、(レトロウィルスを除く) ssRNA ウィルスが感染した場合も、そのゲノム複製中間体である dsRNA 分子が細胞内に存在する。即ち通常の細胞には存在しないはずの長鎖の細胞内 dsRNA は dsRNA と ssRNA をゲノムとする RNA ウィルス感染の証左となる (図5)。これにより、dsRNA ウィルスと ssRNA ウィルスに限定されるものの、我々は初めて病気という指標に依存せずにウイルスを網羅的に探索することが可能になったのである。この発見以来、研究者は本技術を様々な生物試料に適用し、真菌や植物、昆虫、藻類、バクテリアから数多くの新規の RNA ウィルスが見いだされてきた<sup>31)</sup>。

### 3.3 “辺縁ウイルス学”が最も進む真菌ウイルス

網羅的なウイルス探索が最も進んでいる生物は真菌である<sup>11)</sup>。真菌は単細胞として生活する酵母型と、連鎖して生きる糸状型の2グループに分類される。特に糸状菌は、ヒトや植物の病原体、そして発酵生産の担い手として知られるだけでなく、生態系における主要な分解者としても注目されるため、結果として真菌に潜むウイルス多様性についても知見が多く得られている。中でも植物病原菌やヒト病原菌に感染するウイルスについては、ウイルスの機能を利用して、疾病を抑制できる可能性があり<sup>23,46)</sup>、大規模な探索が進められている<sup>3,17)</sup>。

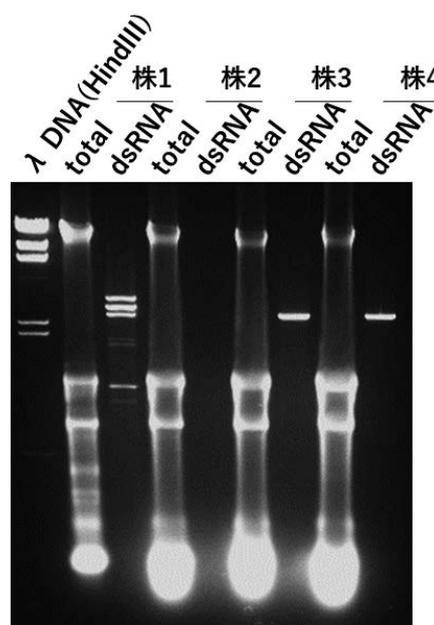


図5. 糸状菌から抽出した全核酸 (total) と dsRNA の電気泳動図。全核酸のレーンではゲノム DNA と rRNA のバンドが観察できる。dsRNA 画分にバンドが検出された場合 (株1, 3, 4), その糸状菌には RNA ウィルスが感染していることが示唆される。



#### 4. 環境ウイルス学の隆盛

環境中には微生物よりも多くの無数のウイルス粒子が漂っている。この知見は広い枠組みでウイルス多様性を考え始めるきっかけとなり、これを契機に“環境ウイルス”という概念が一般化されていく。1989年に海水中を漂う夥しい量のウイルス粒子が電子顕微鏡によって観察され<sup>4)</sup>、後に地球上には $10^{21}$ 個ものウイルス粒子が存在すると推定されたことが事の始まりだった<sup>10,37)</sup>。その後、海洋に限らず、土壌や河川、海底堆積物や下水処理場などでもウイルス粒子が多数見つかり、それは概して細胞数より一桁以上多い数であることが明らかになった。

環境中にはウイルス粒子が膨大に存在することは分かったが、これが同一のウイルスから成るのか、それとも多様なウイルスから成るのかではその意味合いが大きく異なる。そこで、これら環境中を漂うウイルス粒子を集め、そこに含まれるウイルスのゲノム DNA やゲノム RNA の配列解読（メタゲノム解析）が試みられたのである<sup>5,8,15,38)</sup>。メタゲノム研究はサンガー法の時代に開始されたが、次世代シーケンサーの普及により一気に普及し、現在では、無数の配列情報が得られている。多くの場合、この配列情報の半分以上はそれがウイルスの遺伝子なのか混入してきた生物の遺伝子なのかさえ判定できない“完全未知遺伝子配列情報”<sup>※2</sup>であり、明瞭なウイルス遺伝子と配列類似性を示すことからウイルス遺伝子である可能性が高いと判定ができたものでさえ、その機能は不明なものほとんどである。このように、メタゲノム配列解読で明らかになったことは、環境中を漂うウイルスの中には機能未知の遺伝子が膨大な量存在しており、ウイルスは遺伝的多様性の宝庫であるということだった。

ただし、多くの研究事例は環境中を漂うウイルスについて、また DNA ウィルスのみを解析したものである。一方、ウイルスは単独では増殖できず、宿主細胞に寄生することでしか自身を増やすことが出来ない。つまり、増殖状態のウイルスは生物の細胞内に存在する。特に、先に紹介した病気を引き起こさない真菌や植物の RNA ウィルスの多くは積極的に細胞の外に出てくることな

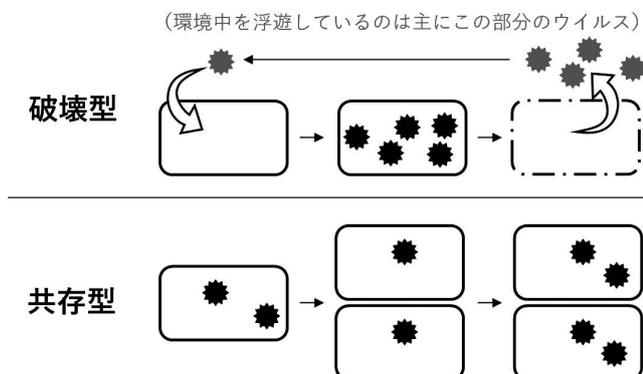


図7. 代表的なウイルスの生活環。

一般的によく知られている破壊型だけでなく、宿主と共存するウイルスも多数存在することがわかってきている。環境中を浮遊するウイルス粒子は主に破壊型の生活環を持つウイルスに由来すると予想される。

いと言われており、環境中を漂うウイルスを対象とした解析だけではこのようなウイルスを見逃してしまう懸念もある（図7）。

これらの疑問に答えるべく、近年、RNA ウィルスについての環境ウイルス学が著しく発展を見せている。その先駆者は Roossinck 博士で、ランダムに集めた膨大な数の野生植物から dsRNA を精製し、RNA ウィルス配列を多数見出した<sup>34)</sup>。その後、Shi 博士はそれぞれ約 200 試料ずつの無脊椎動物や脊椎動物試料を対象に RNA シーケンスを行い、それぞれ 2,000 と 200 を超える RNA ウィルスを報告した<sup>35,36)</sup>。また、我々のグループでは、効率よく dsRNA をシーケンスする技術を開発して<sup>40)</sup>、海水約 10 L 中のウイルス粒子と微生物細胞内の RNA ウィルスを解析し、800 種を超える RNA ウィルスを見出した。その際、驚くべきことに水中を漂うウイルス粒子画分から検出された dsRNA ウィルスは 130 種だけで、微生物細胞内から見出した 673 種の 1/5 に過ぎなかったのである（図8）<sup>41)</sup>。近年の RNA ウィルスに対する環境ウイルス学の進展は、宿主が特定できない事例が多いという問題点はあるものの、環境中に DNA ウィルス・RNA ウィルスとも無数に存在すること、更に RNA ウィルスに関しては生物の中にも非常に多様なウイルスが潜んでいるということが明らかになったのである。

※2：ウイルスの塩基配列多様性は細胞生物のそれと比較して極めて高い。そのため、得られたメタゲノム情報に対して既知ウイルスの塩基配列や推定アミノ酸配列との類似性検索からは、新規性の高いウイルスは検出することが困難である。また、環境試料から「ウイルス以外に由来する核酸が全く混入しない」試料を調製することは不可能なため、既知配列情報との類似性を示さない配列をウイルス由来であると断定することは出来ない。従って、由来すら決定出来ない完全未知遺伝子配列情報が大部分を占める結果となる。

複製酵素配列に基づく dsRNA ウィルスの種類数

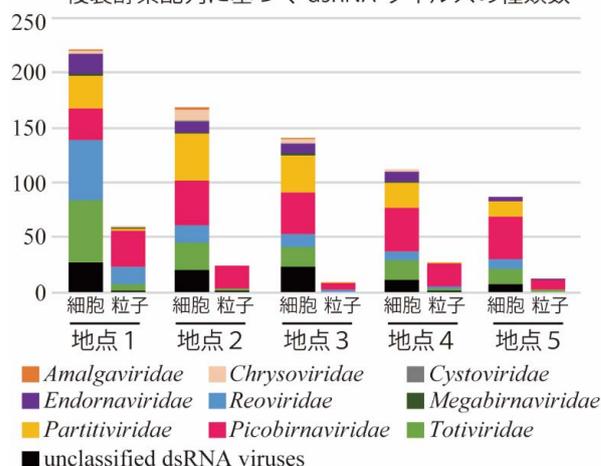


図8. 複製酵素配列に基づく dsRNA ウィルスの種類数（縦軸）の細胞内外比較。

北太平洋の5地点で採集した海洋表層水を細胞画分とウイルス画分に分け、それぞれから dsRNA を回収してメタゲノム（メタトランスクリプトーム）解析を行った。



図9. ありふれた生態系構成因子としてのウイルス像。  
近年の技術を用いることで、地球上の生物のいたるところにウイルスが存在することが示された。

### 5. 再構成されたウイルス理解と今後の課題

ウイルスが“ありふれた生態系構成因子”であるということが明らかになった今（図9）、我々には新たな疑問が湧いてくる。「この膨大なウイルスは何をしているのか？」という問いである。これだけ普遍的に自然界に存在するからには何らかの重要な機能を有すに違いないというのが我々の仮説である。日本では2017年度より新学術研究領域「ネオウイルス学」が活動している。本領域は多くのウイルス研究者が一丸となり、病原性に留まらない、広くウイルスの持つ機能の理解を目指している。

すでに生態系におけるウイルスの機能がいくつか見出されている。例えば、ウイルスの有する機能の一つである宿主を殺すという従来から知られる機能ではあるが、その生態学上の役割として、海水中に存在する多量のウイルスの一部は、宿主バクテリアを死滅させることにより、海洋の物質・栄養循環を促進していることが示されている<sup>6,7,10</sup>。もっと身近な例では、海での赤潮や陸水に

おけるアオコの消滅にも、ウイルスが促進役として関与していることが報告されている<sup>48</sup>。さらに、ウイルスが宿主と共存・共生する事例については、詳細は優れた総説“Good viruses”<sup>29</sup>を参照していただきたいが、ウイルスの感染が宿主の耐熱性や耐乾燥性を向上させることや<sup>20</sup>、宿主以外の周囲の生物を攻撃する事例<sup>19,42</sup>などが報告されている。

さらなる役割や機能についてはまだ多くの研究成果を待たなければならないが、RNAウイルスの進化系統理解に関しては既に新たな姿が見えつつある。検出技術の向上により“病気”という目印に依存しないRNAウイルス探索の対象が拡大したことで、我々がもつウイルス多様性情報のギャップが埋まりはじめ、これまでバラバラだったRNAウイルスが、RNAポリメラーゼを共通遺伝子として有すグループとして定義されることで、レトロウイルスを含む全てのRNAウイルス間の系統関係、進化が議論できるようになった<sup>43</sup>。また、ウイルスの系統関係と宿主生物の系統関係についても、宿主ジャンプも起こすものの<sup>2,3,32</sup>、切り分けた果実の片方のような関係にあり、宿主との共進化がウイルスの進化において重要な役割を果たすことも明らかになりつつある（図10）<sup>35,43</sup>。

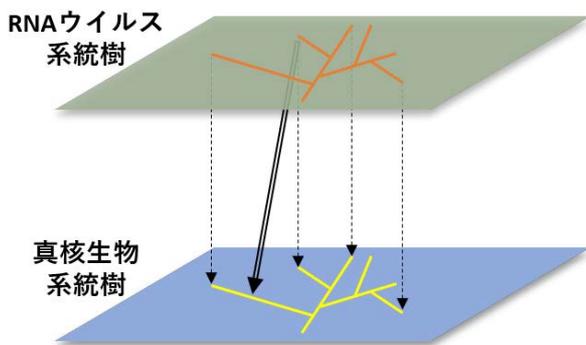


図10. 真核生物とRNAウイルスの進化的関係性。  
Raoult and Forterre (2008)を参考に最新の知見を加えた。基本的にRNAウイルスは系統的位置に対応する真核生物に感染するが、二重線で示したように宿主ジャンプを起こすこともある。

### 6. おわりに

近年の地球全体のウイルスを対象とした研究の進展により、医学や農学の一部であったウイルス研究は、従来のウイルス学の範疇に留まらず、生態系の一員としてのウイルスの役割を見つめる環境ウイルス学、ウイルス生態学の隆盛に繋がった。そしてこの新たな学問分野は、生命を構成する新たな普遍的因子（ウイルス）の存在を示すことで、生命理解をより深いものへと拡張するきっかけになることが期待される。

著者らは現在、“生物レギュレーター”としてウイルスを捉えている。生態系のいたるところにまだ見ぬ機能

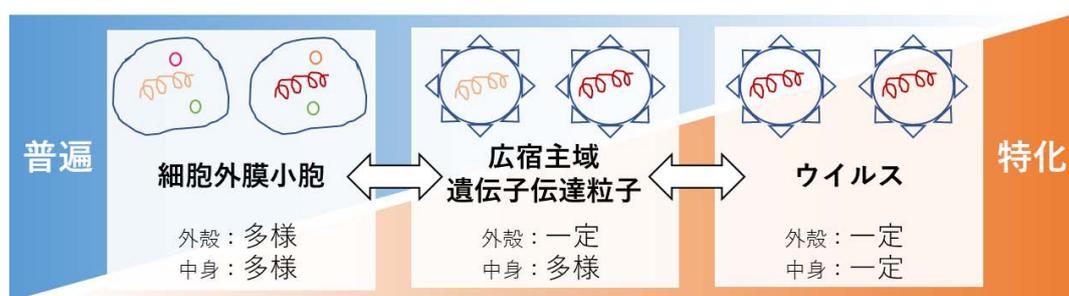


図 11. 高知大学の長崎慶三先生，筑波大学の野村暢彦先生のアイデアを基に構成した「ウイルスと細胞外膜小胞の連続性」。

を持つウイルスが生物の中に潜んでいると期待し，新たな遺伝資源としての利用を視野に入れ，機能探索を進めている。勿論，この機能は個体レベルだけでなく，生物相互作用の理解にも新たな光となり得ると期待している。また，ウイルスを遺伝因子の一つとして考えたとき，特にウイルス粒子を形成しないウイルスの伝播・進化において，近年注目される細胞外膜小胞<sup>39)</sup>がその生態・機能理解における新たな突破口になるのではないかと考え，両者に関する研究を並行して進めている（図 11）。

## 謝 辞

本総説の執筆に際し助言を頂いた，東工大学地球生命研究所の望月智弘研究員，海洋研究開発機構の矢吹彬憲研究員，貴重なアイデアを御提供いただいた高知大学の長崎慶三教授，筑波大学の野村暢彦教授，また，2本鎖RNAの単離方法を御指導戴いた東京農工大学の福原敏行教授と森山裕充准教授，本研究を進めるにあたりご助言いただいた海洋研究開発機構の皆様へ感謝いたします。本研究成果の一部は，科研費研究活動スタート支援（2014～2015年度），JAMSTEC イノベーション促進プログラム（2016年度）の助成により達成されたものです。

## 文 献

- Aihara, M., S.-i. Urayama, M.T. Le, Y. Katoh, T. Higashiura, T. Fukuhara, T. Arie, T. Teraoka, K. Komatsu, and H. Moriyama. 2018. Infection by Magnaporthe oryzae chrysovirus 1 strain A triggers reduced virulence and pathogenic race conversion of its host fungus, Magnaporthe oryzae. *Journal of General Plant Pathology*. 84: 92–103.
- Andika, I.B., S. Wei, C. Cao, L. Salaipeth, H. Kondo, and L. Sun. 2017. Phytopathogenic fungus hosts a plant virus: A naturally occurring cross-kingdom viral infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*: 201714916.
- Arjona-Lopez, J.M., P. Telengech, A. Jamal, S. Hisano, H. Kondo, M.D. Yelin, I. Arjona-Girona, S. Kanematsu, C.J. Lopez-Herrera, and N. Suzuki. 2018. Novel, diverse RNA viruses from Mediterranean isolates of the phytopathogenic fungus, *Rosellinia necatrix*: Insights into evolutionary biology of fungal viruses. *Environ. Microbiol.* 20: 1464–1483.
- Bergh, Ø., K.Y. Børsheim, G. Bratbak, and M. Heldal. 1989. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature*. 340: 467–468.
- Breitbart, M., P. Salamon, B. Andresen, J.M. Mahaffy, A.M. Segall, D. Mead, F. Azam, and F. Rohwer. 2002. Genomic analysis of uncultured marine viral communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99: 14250–14255.
- Danovaro, R., A. Dell’Anno, C. Corinaldesi, M. Magagnini, R. Noble, C. Tamburini, and M. Weinbauer. 2008. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature*. 454: 1084–1087.
- Dell’Anno, A., C. Corinaldesi, and R. Danovaro. 2015. Virus decomposition provides an important contribution to benthic deep-sea ecosystem functioning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112: E2014–E2019.
- Edwards, R.A. and F. Rohwer. 2005. Viral metagenomics. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 504–510.
- Fraille, A. and F. Garcia-Arenal. 2016. Environment and evolution modulate plant virus pathogenesis. *Curr. Opin. Virol.* 17: 50–56.
- Fuhrman, J.A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature*. 399: 541–548.
- Ghabrial, S.A., J.R. Castón, D. Jiang, M.L. Nibert, and N. Suzuki. 2015. 50-plus years of fungal viruses. *Virology*. 479: 356–368.
- Kamitani, M., A.J. Nagano, M.N. Honjo, and H. Kudoh. 2018. A survey on plant viruses in natural brassicaceae communities using RNA-Seq. *Microb. Ecol.* [Epub ahead of print]
- Kanematsu, S., T. Shimizu, L. Salaipeth, H. Yaegashi, A. Sasaki, T. Ito, and N. Suzuki. 2014. Genome rearrangement of a mycovirus *Rosellinia necatrix* megabirnavirus 1 affecting its ability to attenuate virulence of the host fungus. *Virology*. 450–451: 308–315.
- King, A.M.Q., M.J. Adams, E.B. Carstens, and E.J. Lefkowitz. 2012. *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier.
- Koch, L. 2016. Metagenomics: Marine genomics goes viral. *Nature Reviews Genetics* 17: 660.
- Kondo, H., S. Kanematsu, and N. Suzuki. 2013. Viruses of the white root rot fungus, *Rosellinia necatrix*. *Adv. Virus Res.* 86: 177–214.
- Kotta-Loizou, I. and R.H.A. Coutts. 2017. Mycoviruses in Aspergilli: A comprehensive review. *Front. Microbiol.* 8: 1699.
- Lin, Y.H., S. Hisano, H. Yaegashi, S. Kanematsu, and N. Suzuki. 2013. A second quadrivirus strain from the phytopathogenic filamentous fungus *Rosellinia necatrix*. *Arch. Virol.* 158: 1093–1098.
- Magliani, W., S. Conti, M. Gerloni, D. Bertolotti, and L. Polonelli. 1997. Yeast killer systems. *Clin. Microbiol. Rev.* 10: 369–400.
- Marquez, L.M., R.S. Redman, R.J. Rodriguez, and M.J. Roossinck. 2007. A virus in a fungus in a plant: Three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science*. 315: 513–515.
- Moriyama, H., S.-i. Urayama, T. Higashiura, T. Le, and K. Komatsu. 2018. Chrysovirus in *Magnaporthe oryzae*. *Viruses*. 10: 697.
- Morris, T. and J. Dodds. 1979. Isolation and analysis of double-stranded RNA from virus-infected plant and fungal tissue. *Phytopathology*. 69: 854–858.

- 23) Nuss, D.L. 2005. Hypovirulence: Mycoviruses at the fungal-plant interface. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 632–642.
- 24) Okada, R., R.I. Alcala-Briseno, C. Escalante, S. Sabanadzovic, and R.A. Valverde. 2018. Genomic sequence of a novel endornavirus from *Phaseolus vulgaris* and occurrence in mixed infections with two other endornaviruses. *Virus Res.* 257: 63–67.
- 25) Okada, R., E. Kiyota, H. Moriyama, T. Fukuhara, and R.A. Valverde. 2017. Molecular and biological properties of an endornavirus infecting winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*). *Virus Genes.* 53: 141–145.
- 26) Okada, R., E. Kiyota, S. Sabanadzovic, H. Moriyama, T. Fukuhara, P. Saha, M.J. Roossinck, A. Severin, and R.A. Valverde. 2011. Bell pepper endornavirus: Molecular and biological properties, and occurrence in the genus *Capsicum*. *J. Gen. Virol.* 92: 2664–2673.
- 27) Okada, R., C.K. Yong, R.A. Valverde, S. Sabanadzovic, N. Aoki, S. Hotate, E. Kiyota, H. Moriyama, and T. Fukuhara. 2013. Molecular characterization of two evolutionarily distinct endornaviruses co-infecting common bean (*Phaseolus vulgaris*). *J. Gen. Virol.* 94: 220–229.
- 28) Rigling, D. and N.K. Van Alfen. 1993. Extra- and intracellular laccases of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 3634–3639.
- 29) Roossinck, M.J. 2011. The good viruses: Viral mutualistic symbioses. *Nat. Rev. Microbiol.* 9: 99–108.
- 30) Roossinck, M.J. 2013. Plant virus ecology. *PLoS Pathog.* 9: e1003304.
- 31) Roossinck, M.J. 2015. Metagenomics of plant and fungal viruses reveals an abundance of persistent lifestyles. *Front Microbiol.* 5: 767.
- 32) Roossinck, M.J. 2019. Evolutionary and ecological links between plant and fungal viruses. *New Phytol.* 221: 86–92.
- 33) Roossinck, M.J., S. Sabanadzovic, R. Okada, and R.A. Valverde. 2011. The remarkable evolutionary history of endornaviruses. *J. Gen. Virol.* 92: 2674–2678.
- 34) Roossinck, M.J., P. Saha, G.B. Wiley, J. Quan, J.D. White, H. Lai, F. Chavarria, G. Shen, and B.A. Roe. 2010. Ecogenomics: Using massively parallel pyrosequencing to understand virus ecology. *Mol. Ecol.* 19 Suppl 1: 81–88.
- 35) Shi, M., X.D. Lin, X. Chen, J.H. Tian, L.J. Chen, K. Li, W. Wang, J.S. Eden, J.J. Shen, L. Liu, E.C. Holmes, and Y.Z. Zhang. 2018. The evolutionary history of vertebrate RNA viruses. *Nature.* 556: 197–202.
- 36) Shi, M., X.D. Lin, J.H. Tian, L.J. Chen, X. Chen, C.X. Li, X.C. Qin, J. Li, J.P. Cao, J.S. Eden, J. Buchmann, W. Wang, J. Xu, E.C. Holmes, and Y.Z. Zhang. 2016. Redefining the invertebrate RNA virosphere. *Nature.*
- 37) Suttle, C.A. 2005. Viruses in the sea. *Nature.* 437: 356–361.
- 38) Suttle, C.A. 2016. Environmental microbiology: Viral diversity on the global stage. *Nat. Microbiol.* 1: 16205.
- 39) Toyofuku, M., N. Nomura, and L. Eberl. 2019. Types and origins of bacterial membrane vesicles. *Nat. Rev. Microbiol.* 17: 13–24.
- 40) Urayama, S., Y. Takaki, and T. Nunoura. 2016. FLDS: A comprehensive dsRNA sequencing method for intracellular RNA virus surveillance. *Microbes Environ.*
- 41) Urayama, S.I., Y. Takaki, S. Nishi, Y. Yoshida-Takashima, S. Deguchi, K. Takai, and T. Nunoura. 2018. Unveiling the RNA virosphere associated with marine microorganisms. *Mol. Ecol. Resour.*
- 42) Wickner, R.B. and H.K. Edskes. 2015. Yeast killer elements hold their hosts hostage. *PLoS Genet.* 11: e1005139.
- 43) Wolf, Y.I., D. Kazlauskas, J. Iranzo, A. Lucia-Sanz, J.H. Kuhn, M. Krupovic, V.V. Dolja, and E.V. Koonin. 2018. Origins and evolution of the global RNA virome. *MBio* 9.
- 44) Zhang, R., S. Hisano, A. Tani, H. Kondo, S. Kanematsu, and N. Suzuki. 2016. A capsidless ssRNA virus hosted by an unrelated dsRNA virus. *Nature Microbiology* 1: 15001.
- 45) 森山裕充, 浦山俊一, 小松 健. 2015. イネいもち病菌に感染するマイコウイルスの分子遺伝学及び生化学的解析. *ウイルス.* 65: 219–228.
- 46) 千葉壮太郎, 近藤秀樹, 兼松聡子, 鈴木信弘. 2010. マイコウイルスとヴァイロコントロール. *ウイルス.* 60: 163–176.
- 47) 千葉壮太郎, 鈴木信弘. 2014. 多様性に満ちた菌類の2本鎖RNAウイルス. *ウイルス.* 64: 225–238.
- 48) 長崎慶三. 2012. ウイルスによる支配: 藻類ブルームの量的・質的コントロール (特集 光エネルギーをめぐる生命システムの進化: 顕生代の真の主役たちの物語) — (光エネルギー利用のダイナミクス). *遺伝: 生物の科学.* 66: 420–424.
- 49) 福原敏行. 2015. 植物の究極の共生ウイルス: エンドルナウイルス. *ウイルス.* 65: 209–218.