

藻類学最前線

多様な宿主を持つ渦鞭毛藻 *Symbiodinium* の分子生物学

將口栄一

サンゴなどに共生する渦鞭毛藻 *Symbiodinium* に関して、分子生物学的手法を用いて様々な角度からアプローチした研究報告が、近年急増している。そこで本稿の前半では、ここ数年の *Symbiodinium* 関連研究を特に分子生物学に絞って紹介する。それらは今後、赤潮や食中毒と関係のある有毒渦鞭毛藻の生態・進化・生理学にゲノム科学的手法を組み合わせて、大規模研究を行う際のマイルストーンとなる可能性を秘めている (e.g. Beedessee *et al.* 2015, Murray *et al.* 2016, Gong *et al.* 2017)。

また、*Symbiodinium* とその宿主との関係については、*Symbiodinium* が最初に報告されてから継続的に研究が続けられているが (Freudenthal 1962, Achlatis *et al.* 2018, Li *et al.* 2018), その一方で、*Symbiodinium* とバクテリア (Lawson *et al.* 2018) や *Symbiodinium* におけるウイルス感染 (Lawrence *et al.* 2017) については、最近になって報告が相次いでいる。そこで本稿後半では *Symbiodinium* とバクテリアの関係についての最新報告を取り上げたい。ちなみに筆者の経験でも、実験室で培養可能な *Symbiodinium* はどれもバクテリアなしでは増殖できないようである (Shoguchi *et al.* 2013)。共生を軸に生存してきた *Symbiodinium* の増殖には、どのような微生物との相互作用が重要なのだろうか？

***Symbiodinium* の分子生物学の最前線**

渦鞭毛藻類は約 2,500 種が知られており (Horiguchi 2015), *Symbiodinium* はその中の、独特な渦鞭毛藻核 (將口 2014) と細胞外被構造 theca (テカ) を獲得してきたコア渦鞭毛藻グループの一群に含まれる (Janouškovec *et al.* 2017)。*Symbiodinium* は、分子系統学的に A から I という 9 つの主要クレードに分けられており (図 1; Pochon & Gates 2010), その共通祖先がおおよそ 5000 万年前までにはすでに誕生していたと推測されている (Pochon *et al.* 2006) (最新の報告では 1 億 6000 万年前に誕生し, A から I を Symbiodiniaceae 科とし, A は *Symbiodinium* のまま, B から I を他の属名にすべきという提案がなされたことを付け加えておきたい; LaJeunesse *et al.* 2018)。クレード間の生理・生態学的な違いについても報告が続いており (e.g. Aihara *et al.* 2016), サンゴ, イソギンチャクやクラゲなどの刺胞動物やシャコガイなどの軟体動物といった様々な海産無脊椎動物や原生生物を宿主としていることが分かっている (Pochon & Gates 2010, Pochon *et al.* 2014, Hidaka 2016, 將口 2017)。宿主とクレードの関係は、必ずしも 1

対 1 ではなく、1 つのクレードが広範な宿主をもつ場合もある。また、宿主との関係は共生というよりは、寄生的になることがあるという点も *Symbiodinium* を生物学的により理解する上で重要であろう (Baker *et al.* 2018)。*Symbiodinium* は海水中からも検出され、光合成だけでなく捕食を行う混合栄養性の自由生活性種も存在することが明らかになっている (Yamashita & Koike 2015)。刺胞動物との細胞内共生関係について、mRNA に結合してタンパク質発現を調節する micro RNA (miRNA) が関わっているのではないかというホットな話題がある (Lin *et al.* 2015, Baumgarten *et al.* 2018)。その直接的な証拠はどのようにして得られてくるのであろうか？ シングルセル RNA-seq 法 (Svensson *et al.* 2017) により、宿主細胞内に共生した時に起こる遺伝子発現の変動を追跡することで理解が進むと期待される。

我々のグループは 2013 年に *S. minutum* 核ゲノムの概要配列を報告した (Shoguchi *et al.* 2013, Shinzato *et al.* 2014)。これまでに、クレード A と C からそれぞれ 2 株ずつ、B と F からそれぞれ 1 株ずつが報告され、現在 6 株の核ゲノム配列情報が公開されている (図 1; Shoguchi *et al.* 2013, Shinzato *et al.* 2014, Lin *et al.* 2015, Aranda *et al.* 2016, Liu *et al.* 2018, Shoguchi *et al.* 2018)。*Symbiodinium* 以

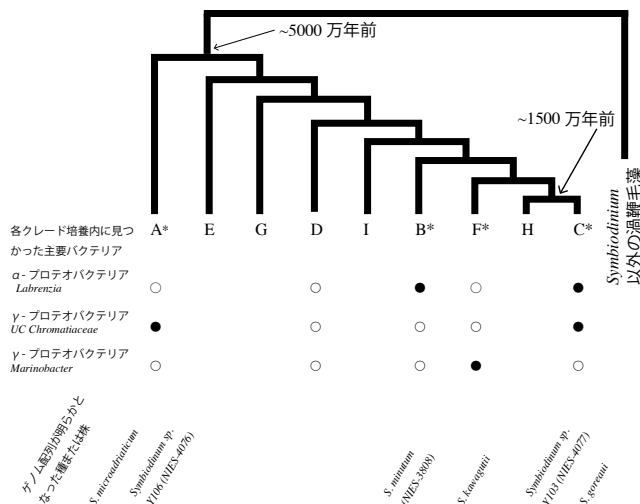


図 1. 9 つの *Symbiodinium* クレード A から I の系統関係とその培養で見つかる主要なバクテリア。* はゲノム情報が公開されている種や株を含むクレードを示す。6 つの *Symbiodinium* ゲノム配列が公開されている。● は解析したサンプルの 5% 以上がそのバクテリアで占められていたこと、○ は 5% 以下であったことを示す (Lawson *et al.* 2018)。← は推定されている分岐年代を示す (Pochon *et al.* 2006)。

外の渦鞭毛藻核ゲノム配列はまだ発表されていないが、現在利用可能な渦鞭毛藻類のトランスクリプトームデータとの比較解析からは、*Symbiodinium* において正の自然選択を受けてきたと考えられる遺伝子群が明らかになっている (Liu *et al.* 2018)。それらは、光合成、イオン分子輸送体、アミノ酸や糖タンパク質の合成や修飾、ストレス応答に関わる遺伝子群を含み、宿主との関係に関わる機能があり適応進化してきたと考察されてきている。さらにセイタカイソギンチャク *Aiptasia* sp. を宿主とする共生関係の確立には細胞のサイズも重要ではないかという報告がなされており (Biquand *et al.* 2017)、細胞サイズに関わる遺伝子群もまた正の自然選択を受けている遺伝子候補の中からみつかってくる可能性がある。

Symbiodinium ゲノム間の比較解析からは、各クレードでの進化過程において遺伝子数の増加した遺伝子ファミリーや遺伝群のロスについても報告がなされてきている (Aranda *et al.* 2016, Shoguchi *et al.* 2018)。*Symbiodinium* クレード間においては、(遺伝子の並びが保存された大規模シnten領域は検出されないものの、) 少なくともマイクロシnten領域が存在することはわかっている。このわずかに保存されたマイクロシnten領域において代謝酵素をコードする遺伝子が多そうであるということが議論されており、非常に興味深い (Liu *et al.* 2018)。特に、*Symbiodinium* ゲノム上では隣りあう遺伝子が同じ向きに並んでおり (Shoguchi *et al.* 2013)、それはまさにバクテリアのオペロンを連想させる。このマイクロシnten領域から、遺伝子の並びをヒントに未知の代謝経路が将来的に明らかにできるかもしれない (Beedessee *et al.* 2015)。また、培養可能な *Symbiodinium* クレード間の生理学的な違いとして二次代謝産物であるマイコスポリン様アミノ酸 (MAAs) の合成能が報告されてきたが、その遺伝子基盤の違いについては不明であった。興味深いことに我々のグループが解析した、ヒメシャコガイ *Tridacna crocea* から単離されたクレード A に属する Y106 株 (分株: NIES-4076) のゲノムには、シアノバクテリアの MAAs 合成遺伝子クラスターと同様の遺伝子クラスターが存在していた (図 2; Shoguchi *et al.* 2018)。しかしながら、クレード B, C, F に属す株のゲノム上にはその遺伝子群は見つかって来ておらず、また実際に MAAs も検出されていない。MAAs の合成能は他の渦鞭毛藻でも報告されてきており (Neale *et al.* 1998)、紫外線をブロックするためにつくられていることが示唆されている。それゆえ、進化的に最も古いグループの *Symbiodinium* にはその機能が維持され、クレード B, C, F の共通祖先は MAAs を合成しなくなったと考えるのが妥当ではないだろうか (図 2)。動物の中ではサンゴとイソギンチャクだけが MAA 合成遺伝子を持っていることから (図 2)、共通祖先が UV ブロックを宿主に依存できるようになったことで合成しなくなった可能性を検討する必要があるだろう。ゲノム全体の比較においても、進化的に新しいクレードほど保存されてきた遺伝子ファミリーが少

ない可能性が示唆されている (Shoguchi *et al.* 2018)。このように我々が初めて *Symbiodinium* のドラフトゲノムを報告した 5 年前に比べ、*Symbiodinium* ゲノムの保存性と多様性が明らかになってきている。ゲノム情報が公開されていない 5 つのクレード (図 1) や他の渦鞭毛藻のゲノム配列が明らかになれば、*Symbiodinium* ゲノムがどのように多様化してきたのか、さらにその詳細が分かってくるだろう。

Symbiodinium の培養中にみつかるとバクテリアやウイルス

上述したように *Symbiodinium* とその宿主との相互作用については多くの報告がなされてきているが、*Symbiodinium* と宿主を取り巻くバクテリアコミュニティとの間の相互作用についてはよく分かっていない (Lawson *et al.* 2018)。最近の研究では、培養している *Symbiodinium* からは α -プロテオバクテリア 1 タイプ (*Labrenzia*) と γ -プロテオバクテリア 2 タイプ (*Marinobacter* と *Chromatiaceae*) の主要な 3 タイプの共在バクテリアがみつかった (図 1)。これらのバクテリアがもっている特徴としては、ジメチルスルフォニオプロピオナート (DMSP) の合成能 (*Labrenzia*) と、シデロホア (鉄キレート剤) の合成能 (*Marinobacter*) が挙げられ、*Symbiodinium* のストレス耐性や増殖に貢献している可能性が指摘されている。例えば、これまで *Symbiodinium* クレード C のほとんどのタイプは培養に成功していないが (Krueger & Gates 2012)、これらバクテリアが合成する分子との相互作用を解析することにより、それらの培養成功への手がかりが得られる可能性もある。*Symbiodinium* ゲノム上には多くのバクテリア由来である可能性を持ったタンパク質コード遺伝子が見つかって来ており、共在バクテリアから水平伝播により遺伝子を獲得してきた可能性は非常に興味深く検証に値するだろう。

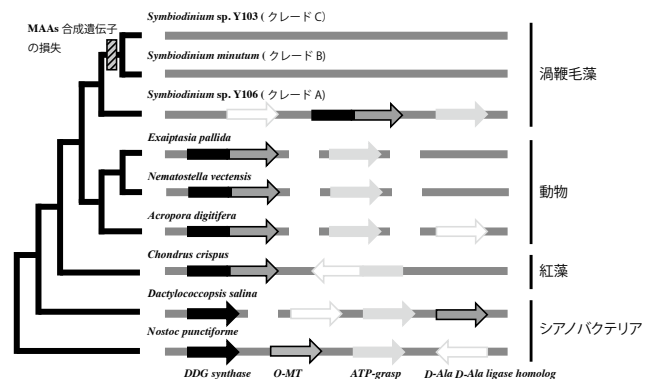


図 2. *Symbiodinium* ゲノム上に存在するマイコスポリン様アミノ酸合成遺伝子クラスター。左側に示される系統関係は、ジメチル 4-デオキシガデュソール合成酵素 (DDG synthase) の遺伝子系統樹に基づく (Shoguchi *et al.* 2018)。進化的に最も古いクレード A の *Symbiodinium* のゲノムには、シアノバクテリアに類似の遺伝子クラスターが存在していたが、新しいクレード (B, C, F) のゲノムにはこの遺伝子クラスター内の遺伝子オースログが見つかっていない。

また *Symbiodinium* をバクテリアと培養すると石灰化したマイクロバイアライトという構造物をつくることが明らかになっている (Frommlet *et al.* 2015, 2018)。マイクロバイアライトをつくりあげる能力はサンゴの骨片形成のスピードアップに貢献してきたのであろうか？マイクロバイアライトの形成に関わる遺伝子と宿主のバイオミネラリゼーションに関わる遺伝子との進化的関係性について解析する必要があるかもしれない。

さらにバクテリアだけでなく、dsDNA ウィルスが *Symbiodinium* 培養株内に存在する可能性がトランスクリプトーム解析から示唆されている (Lawrence *et al.* 2017)。渦鞭毛藻類の核の構造が、他の真核生物と大きく異なっていることは以前から報告されてきていたが、ヒストンタンパク質がウィルス由来のタンパク質に置き換わったという可能性を支持する証拠が集まりつつある (Irwin *et al.* 2018)。*Symbiodinium* のゲノム解析からも渦鞭毛藻ゲノムの進化に、ウィルス由来の遺伝子やトランスポゾンが大きく関わってきたことが議論されてきている (Song *et al.* 2017)。*Symbiodinium* クレードによって、藻類ウィルスへの感染率やストレス応答が異なってくるかどうか今後の検証すべき課題の一つである。

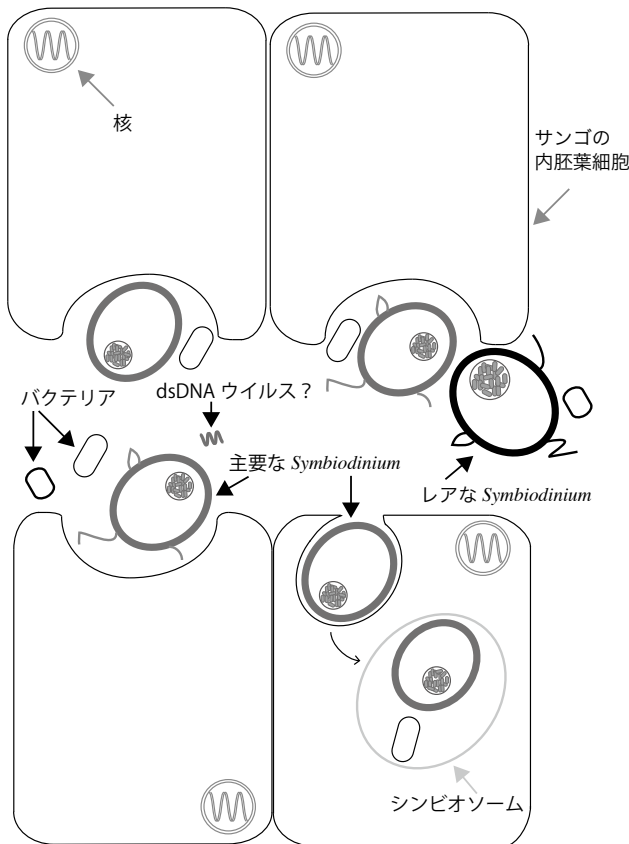


図3 *Symbiodinium* とその宿主細胞とバクテリアと藻類ウィルスとの相互作用。

Symbiodinium 研究の新展開に向けて

ここ5年の間に、*Symbiodinium* のゲノム配列情報が蓄積され、6つのゲノム配列を利用できるようになっており (図1)、オルガネラゲノム解析も進んでいる (Shinzato *et al.* 2014, 將口 2017)。また本稿では触れていないが、宿主との複雑な関係についてはサンゴとの関係を中心に研究報告が増加している (e.g. Yuyama *et al.* 2016)。その一方で、遺伝子機能を解析する手法は現在のところ限られており、その手法を開発する必要性が議論されてきている (石井・丸山 2017, Levin *et al.* 2017, Ishii *et al.* 2018)。*Symbiodinium* が様々な宿主の中で生息できる能力を獲得したプロセスを理解するためには、宿主と *Symbiodinium* の関係にのみ注目した解析では不十分であろう (図3)。サンゴの中に見つかるレアな *Symbiodinium* クレードは、主要な *Symbiodinium* クレードやバクテリアコミュニティとともにコンソーシアムとしての共生体を形成しているのではないかと議論されてきている (図3; Ziegler *et al.* 2018)。異なる *Symbiodinium* クレード間の相互作用について解析する必要がある。サンゴに共生する *Symbiodinium* は他の渦鞭毛藻よりも、共生バクテリアに類似の特徴を獲得してきているかもしれない。一方、*Symbiodinium* の細胞内共生時に形成されるシンビオソームの中にバクテリアも入っているのかもしれないという推測がなされてきており (Hernandez-Agreda *et al.* 2017)、ウィルスの役割は不明である (図3)。*Symbiodinium* の分子生物学を推進する上で、宿主との複雑な関係だけでなく、バクテリアやウィルスとの関係を分子レベルで解析していくことも、*Symbiodinium* がどのような生物であるのかを理解していく上で必要となってきたり、それはまた宿主との関係を理解する上での近道の一つになるかもしれない。

謝辞

Symbiodinium 研究を続けるにあたり、OIST・佐藤矩行教授及びマリネゲノミクスユニットの皆様にご心より御礼申し上げます。本稿の内容の一部はJSPS 科研費 16K07454 の助成を受けたものです。感謝申し上げます。

引用文献

- Achlatis, M., Pernice, M., Green, K., Guagliardo, P., Kilburn, M. R., Hoegh-Guldberg, O. & Dove, S. 2018. Single-cell measurement of ammonium and bicarbonate uptake within a photosymbiotic bioeroding sponge. *ISME J.* 12: 1308–1318.
- Aihara, Y., Takahashi, S. & Minagawa, J. 2016. Heat induction of cyclic electron flow around photosystem I in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium*. *Plant Physiol.* 171: 522–529.
- Aranda, M., Li, Y., Liew, Y. J., Baumgarten, S. *et al.* 2016. Genomes of coral dinoflagellate symbionts highlight evolutionary adaptations conducive to a symbiotic lifestyle. *Sci. Rep.* 6: 39734.
- Baker, D. M., Freeman, C. J., Wong, J. C. Y., Fogel, M. L. & Knowlton, N. 2018. Climate change promotes parasitism in a coral symbiosis. *ISME J.* 12: 921–930.
- Baumgarten, S., Cziesielski, M. J., Thomas, L. *et al.* 2018. Evidence for miRNA-mediated modulation of the host transcriptome in

- cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Mol. Ecol.* 27: 403–418.
- Beedessee, G., Hisata, K., Roy, M. C., Satoh, N. & Shoguchi, E. 2015. Multifunctional polyketide synthase genes identified by genomic survey of the symbiotic dinoflagellate, *Symbiodinium minutum*. *BMC Genomics* 16: 941.
- Biquand, E., Okubo, N., Aihara, Y. *et al.* 2017. Acceptable symbiont cell size differs among cnidarian species and may limit symbiont diversity. *ISME J.* 11: 1702–1712.
- Freudenthal, H. D. 1962. *Symbiodinium* gen. nov. and *Symbiodinium microadriaticum* sp. nov., a zooxanthella: Taxonomy, life cycle, and morphology. *J. Protozool.* 9: 45–52.
- Frommlet, J. C., Sousa, M. L., Alves, A., Vieira, S. I., Suggett, D. J. & Seródio, J. 2015. Coral symbiotic algae calcify ex hospite in partnership with bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112: 6158–6163.
- Frommlet, J. C., Wangpraseurt, D., Sousa, M. L., Guimaraes, B., Medeiros da Silva, M., Kühl, M. & Seródio, J. 2018. *Symbiodinium*-induced formation of microbialites: Mechanistic insights from in vitro experiments and the prospect of its occurrence in nature. *Front. Microbiol.* 9: 998.
- Gong, W., Browne, J., Hall, N., Schruth, D., Paerl, H. & Marchetti, A. 2017. Molecular insights into a dinoflagellate bloom. *ISME J.* 11: 439–452.
- Hernandez-Agreda, A., Gates, R. D. & Ainsworth, T. D. 2017. Defining the core microbiome in corals' microbial soup. *Trends Microbiol.* 25: 125–140.
- Hidaka, M. 2016. Life history and stress response of scleractinian corals. In: Kayanne, H. (ed.) *Coral reef science: Strategy for ecosystem symbiosis and coexistence with humans under multiple stresses*. pp. 1–24. Springer, Tokyo.
- Horiguchi, T. 2015. Diversity and phylogeny of marine parasitic dinoflagellates. In: Ohtsuka, S., Suzuki, T., Horiguchi, T., Suzuki, N. & Not, F. (eds.) *Marine protists*. pp. 397–419. Springer, Tokyo.
- Irwin, N. A. T., Martin, B. J. E., Young, B. P. *et al.* 2018. Viral proteins as a potential driver of histone depletion in dinoflagellates. *Nat. Commun.* 9: 1535.
- 石井悠・丸山真一郎 2017. サンゴ共生藻における形質転換技術開発の現状と展望 植物科学の最前線 8C: 152–159.
- Ishii, Y., Maruyama, S., Fujimura-Kamada, K., Kutsuna, N., Takahashi, S., Kawata, M. & Minagawa, J. 2018. Isolation of uracil auxotroph mutants of coral symbiont alga for symbiosis studies. *Sci. Rep.* 8: 3237.
- Janoušková, J., Gavelis, G. S., Burki, F. *et al.* 2017. Major transitions in dinoflagellate evolution unveiled by phylotranscriptomics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114: E171–E180.
- Krueger, T. & Gates, R. D. 2012. Cultivating endosymbionts — Host environmental mimics support the survival of *Symbiodinium* C15 ex hospite. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 413: 169–176.
- LaJeunesse, T. C., Parkinson, J. E., Gabrielson, P. W. *et al.* 2018. Systematic revision of Symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts. *Curr. Biol.* 28: 2570–2580.
- Lawrence, S. A., Fløge, S. A., Davy, J. E., Davy, S. K. & Wilson, W. H. 2017. Exploratory analysis of *Symbiodinium* transcriptomes reveals potential latent infection by large dsDNA viruses. *Environ. Microbiol.* 19: 3909–3919.
- Lawson, C. A., Raina, J. B., Kahlke, T., Seymour, J. R. & Suggett, D. J. 2018. Defining the core microbiome of the symbiotic dinoflagellate, *Symbiodinium*. *Environ. Microbiol. Rep.* 10: 7–11.
- Levin, R. A., Voolstra, C. R., Agrawal, S., Steinberg, P. D., Suggett, D. J. & van Oppen, M. J. H. 2017. Engineering strategies to decode and enhance the genomes of coral symbionts. *Front. Microbiol.* 8: 1220.
- Li, J., Volsteadt, M., Kirkendale, L. & Cavanaugh, C. M. 2018. Characterizing photosymbiosis between Fraginae bivalves and *Symbiodinium* using phylogenetics and stable isotopes. *Front. Ecol. Evol.* 6: 45.
- Lin, S., Cheng, S., Song, B. *et al.* 2015. The *Symbiodinium kawagutii* genome illuminates dinoflagellate gene expression and coral symbiosis. *Science* 350: 691–694.
- Liu, H., Stephens, T. G., González-Pech, R. A. *et al.* 2018. *Symbiodinium* genomes reveal adaptive evolution of functions related to coral-dinoflagellate symbiosis. *Commun. Biol.* 1: 95.
- Murray, S. A., Suggett, D. J., Doblin, M. A., Kohli, G. S., Seymour, J. R., Fabris, M. & Ralph, P. J. 2016. Unravelling the functional genetics of dinoflagellates: a review of approaches and opportunities. *Perspect. Phycol.* 3: 37–52.
- Neale, P. J., Banaszak, A. T. & Jarriel, C. R. 1998. Ultraviolet sunscreens in *Gymnodinium sanguineum* (Dinophyceae): Mycosporine-like amino acids protect against inhibition of photosynthesis. *J. Phycol.* 34: 928–938.
- Pochon, X. & Gates, R. D. 2010. A new *Symbiodinium* clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawaii. *Mol. Phylogenet. Evol.* 56: 492–497.
- Pochon, X., Montoya-Burgos, J. I., Stadelmann, B. & Pawlowski, J. 2006. Molecular phylogeny, evolutionary rates, and divergence timing of the symbiotic dinoflagellate genus *Symbiodinium*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 38: 20–30.
- Pochon, X., Putnam, H. M. & Gates, R. D. 2014. Multi-gene analysis of *Symbiodinium* dinoflagellates: a perspective on rarity, symbiosis, and evolution. *PeerJ* 2: e394.
- Shinzato, C., Mungpakdee, S., Satoh, N. & Shoguchi, E. 2014. A genomic approach to coral-dinoflagellate symbiosis: studies of *Acropora digitifera* and *Symbiodinium minutum*. *Front. Microbiol.* 5: 336.
- 將口栄一 2014. 渦鞭毛藻類の独特な核ゲノム 原生動物学雑誌 47:5–12.
- 將口栄一 2017. 共生性渦鞭毛藻 *Symbiodinium* と寄生性アピコンプレクサのゲノム進化 植物科学の最前線 8C:160–168.
- Shoguchi, E., Beedessee, G., Tada, I. *et al.* 2018. Two divergent *Symbiodinium* genomes reveal conservation of a gene cluster for sunscreen biosynthesis and recently lost genes. *BMC Genomics* 19: 458.
- Shoguchi, E., Shinzato, C., Kawashima, T. *et al.* 2013. Draft assembly of the *Symbiodinium minutum* nuclear genome reveals dinoflagellate gene structure. *Curr. Biol.* 23: 1399–1408.
- Song, B., Morse, D., Song, Y. *et al.* 2017. Comparative genomics reveals two major bouts of gene retroposition coinciding with crucial periods of *Symbiodinium* evolution. *Genome Biol. Evol.* 9: 2037–2047.
- Svensson, V., Natarajan, K. N., Ly, L.-H. *et al.* 2017. Power analysis of single-cell RNA-sequencing experiments. *Nat. Methods* 14: 381–387.
- Yamashita, H. & Koike, K. 2015. Biology of symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium*) in corals. In: Ohtsuka, S., Suzuki, T., Horiguchi, T., Suzuki, N. & Not, F. (eds.) *Marine protists*. pp. 421–439. Springer, Tokyo.
- Yuyama, I., Higuchi, T. & Takei, Y. 2016. Sulfur utilization of corals is enhanced by endosymbiotic algae. *Biol. Open* 5: 1299–1304.
- Ziegler, M., Eguíluz, V. M., Duarte, C. M. & Voolstra, C. R. 2018. Rare symbionts may contribute to the resilience of coral-algal assemblages. *ISME J.* 12: 161–172.