

氏 名 石川 昌和

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 1838 号

学位授与の日付 平成28年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 Endosymbiotic Interaction Between Hydra and Green Algae,
and its Evolutionary Significance

論文審査委員 主 査 教授 斎藤 成也
教授 中村 保一
教授 宮城島 進也
教授 小早川 義尚 九州大学大学院
教授 藤島 政博 山口大学大学院

論文内容の要旨
Summary of thesis contents

Endosymbiosis is defined as a phenomenon in which one organism lives inside the cells of another organism. Clearly, endosymbiosis has played a monumental role in the evolution of organisms, such as the generation of mitochondria and chloroplast. Therefore, it is quite important to understand how endosymbiotic interactions are established.

Hydra is a freshwater cnidarian animal that has been used as a model organism for 300 years. In genus *Hydra*, two species (*H. vulgaris* and *H. viridissima*) show endosymbiosis with green algae. In culture collection of *Hydra* at the National Institute of Genetics, all of the six *H. viridissima* strains show endosymbiosis, and the endosymbiosis has been considered as a key characteristic of this species. In *H. vulgaris*, on the other hand, only two of twenty-five strains show endosymbiosis. These two *Hydra* species with different endosymbiotic status could be useful to understand evolutionary process of endosymbiotic interaction. However, the evolution of the endosymbiosis is not fully understood. A previous study suggested that the endosymbiosis in *H. viridissima* occurred in the ancestor of *H. viridissima* strains, but it remains obscure about evolution of the endosymbiosis in *H. vulgaris*. It is possible that the twenty-three aposymbiotic *H. vulgaris* strains are also able to harbor the algae, therefore *H. vulgaris* may have acquired the potential for harboring algae before or during radiation of *H. vulgaris* strains. In order to understand evolution of endosymbiosis in *H. vulgaris*, I examined the endosymbiotic potential of the *H. vulgaris* strains by artificially introducing the algae. As a result, twelve of the twenty-three non-symbiotic *H. vulgaris* strains were also able to harbor the algae. Moreover, my phylogenetic analysis by sequencing these mitochondrial genomes of the twenty-five *H. vulgaris* strains showed that the strains with endosymbiotic potential were grouped into one of the three clusters. These results suggest that the endosymbiotic potential obtained once during radiation of the *H. vulgaris* strains, but most of *H. vulgaris* strains remains non-symbiotic. This implies that the endosymbiosis in *H. vulgaris* is not stable compared with that in *H. viridissima*. Therefore, I next examined whether the endosymbiotic interaction with algae is different between the two *Hydra* species or not.

As typical cases for investigating the endosymbiotic interaction, I compared survival rates between symbiotic polyps and aposymbiotic polyps in which algae were removed. The result showed that symbiotic *H. viridissima* was more tolerant to starvation than aposymbiotic polyp, whereas symbiotic *H. vulgaris* was less tolerant than aposymbiotic polyp, which is in contrast to *H. viridissima*. To

(別紙様式 2)
(Separate Form 2)

understand the interaction at molecular level, I compared gene expression profiles between symbiotic and aposymbiotic polyps by using RNA-seq method. The analysis showed that the differential gene expression pattern in *H. viridissima* was extensively different from that in *H. vulgaris*, even though the differential gene expression pattern in *H. viridissima* is similar to that in other endosymbiotic organisms such as *Paramecium bursaria* and *Ciona varians*. Considering oxidative stress response, *H. viridissima* seems to have the mechanisms to manage the oxidative stress, such as down-regulation of the respiratory chain genes and up-regulation of calcium ion binding genes, whereas these mechanisms were unlikely to exist in *H. vulgaris*. These results suggest that *H. viridissima* has already established stable endosymbiotic relationships with green algae, whereas the mechanisms of stable endosymbiosis in *H. vulgaris* still seem to be immature.

Through the present studies, I found that although both hydra species (*H. vulgaris* and *H. viridissima*) show endosymbiosis with algae, the interaction with algae was substantially different between the two *Hydra* species. *H. viridissima* showed a mutualistic relationship with the algae, whereas *H. vulgaris* did not show. These results suggest that the endosymbiosis in *H. vulgaris* is still in the course of an evolutionary process toward stable endosymbiosis compared with *H. viridissima*. The endosymbioses of hydras with different stages of evolution will therefore provide deeper insight into the evolutionary process of endosymbiosis, from non-symbiotic to stable endosymbiosis.

(別紙様式 3)
(Separate Form 3)

博士論文の審査結果の要旨

Summary of the results of the doctoral thesis screening

ある単細胞生物が他の生物種の細胞内にはいりこんで共生することを「細胞内共生 (endosymbiosis)」と呼ぶ。出願者はヒドラの 2 群 (*Hydra viridissima* 種群と *H. vulgaris* 種群) における細胞内共生について、以下のふたつの研究を行なった。

(1) それぞれ異なる種類の藻類が細胞内共生をしている 2 群において、細胞内共生がいつごろ確立したのかを推定した。*H. viridissima* については先行研究があるので、*H. vulgaris* について、24 系統のミトコンドリア DNA の全ゲノムを次世代シーケンサを用いて決定し、系統樹を作成した。これら *H. vulgaris* の保存系統においては、2 系統のみが共生藻を有している。共生藻を有していない 22 系統について、藻類を細胞内共生させる能力の有無を実験的に調べたところ、12 系統に藻類を共生させる能力があることがわかった。24 系統の *H. vulgaris* は大きく α 、 β 、 γ の 3 グループに分かれており、 α と β はすべて細胞内共生能力がなかった。このため、*H. vulgaris* において細胞内共生が確立したのは、 γ グループの共通祖先が α や β のグループから別れたあとだと推定した。

(2) つぎに、細胞内共生をしているヒドラの 2 群 (*H. viridissima* と *H. vulgaris*) において、細胞内共生の状態を比較した。実験的に細胞内共生をしている藻類を除去したヒドラと細胞内共生をしているヒドラを比較したところ、*H. viridissima* では細胞内共生をしているほうが生育がよく、*H. vulgaris* では細胞内共生をしてもしなくても生育に変化はなかった。この結果、前者の系統では細胞内共生が安定化して藻類がヒドラの細胞内に存在することが宿主のヒドラに有益になっているが、後者の系統では細胞内共生が不安定であると結論した。さらに、藻類を細胞内共生させている状態とさせていない状態における遺伝子発現パターンを、次世代シーケンサを用いて調べた。その結果、藻類が共生することにより、発現量が増減する遺伝子の組成が、*H. viridissima* と *H. vulgaris* では大きく異なることがわかった。さらに、すでに報告されているホヤ及びゾウリムシにおける藻類の共生時、非共生時の遺伝子発現パターンと比較したところ、系統的には大きく異なるにもかかわらず、共生時・非共生時の *H. viridissima* における遺伝子発現パターンの差が、*H. vulgaris* よりも、ホヤ及びゾウリムシの遺伝子発現パターンの差に近いことがわかった。2 群のヒドラの非共生時と共生時の比較において、特に発現量の変化が多かった遺伝子の推定される機能に基づき、安定的な細胞内共生を可能とした機構についての仮説を提唱した。

これらの研究は、ヒドラにおける細胞内共生の進化について、これまでの知見を大きく前進させるものである。審査員全員で審査した結果、本大学院における学位授与の水準を十分に満たす論文であると判断した。

なお、本研究のうち (1) と (2) の部分は、それぞれ異なる雑誌に現在論文を投稿中である。