

褐虫藻は共生していることをどう感じているのか

石井 悠^{1,2}

¹宮城教育大学大学院教育学研究科高度教職実践専攻
〒980-0845 宮城県仙台市青葉区荒巻青葉 149

²東北大学大学院生命科学研究科
〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

What does symbiosis mean for Symbiodiniaceae?

Yuu Ishii^{1,2}

¹ Department of Biology, Miyagi University of Education
149, Aramaki Aoba, Aoba-ku, Sendai, Miyagi, 980-0845, Japan

² Graduate School of Life Sciences, Tohoku University
6-3, Aramaki Aza-Aoba, Aoba-ku, Sendai, Miyagi, 980-8578, Japan

Keywords: endosymbiosis, fitness, photosynthate, Symbiodiniaceae

DOI: 10.24480/bsj-review.13a2.00220

1. 褐虫藻と非光合成生物との共生

1-1. 多様な宿主と共生する褐虫藻

褐虫藻は単細胞性の Symbiodiniaceae 科渦鞭毛藻類であり、単細胞から多細胞生物まで多くの生物と細胞内外で共生する。この Symbiodiniaceae 科は大きく分けて A-J までの 10 のクレード（分類学上の属に相当する）に分けられることが知られており (LaJeunesse et al. 2018; Yorifuji et al. 2021), それぞれのクレードの褐虫藻が様々な動物門の生物と共生するだけでなく、それぞれの動物門の生物も様々なクレードの褐虫藻と共生し、多対多の共生関係を築いている (Mies et al. 2017) (図 1)。なお褐虫藻 (zooxanthella) は広義には海産無脊椎動物に共生する黄色ないし茶褐色の単細胞藻類の総称とされることもあるが、本稿では Symbiodiniaceae 科渦鞭毛藻類を狭義の褐虫藻として扱う。

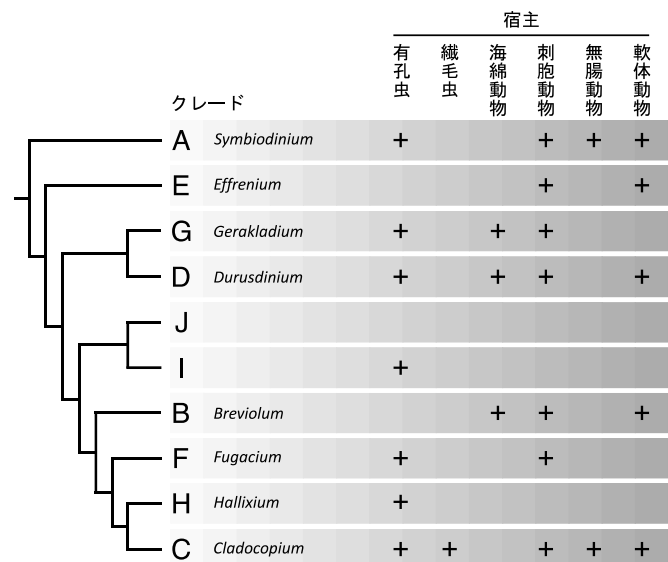


図 1. 褐虫藻のクレードの系統関係とその宿主

+ : 共生例が報告されている組み合わせ

(Mies et. al. 2017, Yorifuji et.al. 2021 より作成)

褐虫藻とサンゴやイソギンチャクに代表される刺胞動物との共生関係は、熱帯・亜熱帯海洋の生態系で一次生産者としての大きな役割を担うことから特に知見が多い。褐虫藻と刺胞動物の共生関係は、古くから相利共生の代表例として扱われ、宿主と褐虫藻がお互いに助け合う理想的な関係であるというイメージで捉えられているかもしれない。しかし、実際のやり取りはどのようなものなのだろうか？本稿ではこれらの共生研究の歴史を通して、現在明らかになっている褐虫藻と宿主との物質のやり取りと、それに関わる未解明の問いを紹介する。そこから、これらの共生関係について、生物学的に両者のメリットやデメリットを正確に評価することができるのか？という点について考察したい。

1-2. 褐虫藻が宿主と交換するもの

多様な宿主生物との共生において、一般的に宿主から褐虫藻へはすみかや栄養（無機炭素や無機窒素、リンなど）が、褐虫藻から宿主へは光合成産物が渡されると考えられている。実際には、褐虫藻から宿主へは一般的なイメージよりも多くのものが渡されており、光合成産物だけではなく、脂質やアミノ酸なども渡される(Davy et al. 2012)。

このような褐虫藻と刺胞動物間の物質の流れを明らかにする研究は、古くは1950年代から本格的に始まり、そのきっかけは、Muscatine らによる報告である。その研究では、共生しているイソギンチャク (*Anthopleura elegantissima*) に $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_2$ を与え、イソギンチャクに含まれる放射性同位体である ^{14}C を検出することで、褐虫藻から宿主へ炭素が渡されている事を実証した(Muscatine and Hand 1958)。近年は物質の流れを制御する分子メカニズムを明らかにしようとする研究も行われている。Muscatine は、これ以外にもサンゴの白化現象の発見やサンゴの骨格形成に関しても大きく貢献し、現在の共生研究の基礎を作ったが、本項では紹介しきれないため、Hoegh-Guldberg らの論文(Hoegh-Guldberg et al. 2007)を参照していただきたい。

今も昔も、共生研究における興味の焦点はあまり変化していないが、研究スタイルは大きく変化した。以前は、野外から共生している生物を採取し、実験を行うスタイルが主流であった。最近では、研究室で刺胞動物の共生モデル生物や褐虫藻の培養株を用いて、研究するスタイルも数多く見られる。刺胞動物の褐虫藻との共生モデル生物としては、セイタカイソギンチャク (*Exaiptasia pallida*) がよく用いられ、ゲノム解読や外来遺伝子の導入など多くの共生研究のツールが開発されつつある(Baumgarten et al. 2015; Grawunder et al. 2015; Jones et al. 2018)。さらに、最近ではサンゴの細胞培養株が樹立され(Kawamura et al. 2021)、これを用いた共生研究の進展も期待される。

2. どのようにして宿主に光合成産物を渡すのか

2-1. 褐虫藻から宿主へ渡される光合成産物量

光合成生物との共生で注目されるのは、やはり光合成産物を宿主がどの程度の量受け取っているか、という点であろう。この問いは貧栄養環境である熱帯・亜熱帯海洋における光合成生物と非光合成生物との共生において最も注目される物質交換の根幹であり、多くの研究がなされてきた。先に紹介した Muscatine が確立した $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_2$ を用いた研究方法を応用した

放射性同位体 ^{14}C のトレーサー実験により、褐虫藻から刺胞動物に渡される炭素の量を見積もる複数の研究では、褐虫藻が光合成により固定した炭素の 5%~60%が宿主に渡されていると報告された。しかし、褐虫藻から宿主に渡された光合成産物が、宿主体内で素早く代謝され CO_2 として外界に放出されてしまうために検出できない分を、少なく見積もってしまうという問題があった(Davy et al. 2012)。そこで、宿主の成長率や褐虫藻の光合成速度から、褐虫藻から宿主に渡されるエネルギーの量を算出する方法が考案された。その方法では 90%以上の光合成産物が宿主に渡されているという結果が得られ(Muscatine 1990)、現在はこの研究結果がよく引用される。しかしこの研究は、計算に使用する宿主と褐虫藻の成長率などの理論値によって、計算結果が大きく変わってしまうという問題が指摘されている(Davy et al. 2012)。一方で理論値を使用しないで、褐虫藻が刺胞動物に渡す光合成産物の量を直接定量する方法が近年報告された。その研究では、Nano SIMS (二次元高分解能二次イオン質量分析装置; 安定同位体を用いて、高感度で元素のイメージングが可能) により、実験室環境下で褐虫藻から宿主への炭素の移動を可視化し、それを定量する(Rädecker et al. 2021a)。実験室でのオンタイムでの物質移動が観察できるようになったものの、未だ野外環境での測定は実現されておらず、自然界で宿主に渡される光合成産物を厳密に定量した研究はない。

2-2. 褐虫藻が共生時に光合成を行う“すみか”の環境

褐虫藻が宿主から提供されるすみかはどのような環境なのだろうか。これについて考える前に、海洋環境での光合成について紹介したい。一般的に海洋は弱アルカリ性(約 pH 8 付近)である。このような弱アルカリ環境では無機炭素はほとんどが細胞膜を通りにくい HCO_3^- の形で溶解する。一方で RuBisCO による炭酸固定では、 CO_2 分子が反応に利用される。つまり、海洋環境では、とても低い濃度の CO_2 を積極的に利用するか、 HCO_3^- 分子を CO_2 に変換して利用する(炭酸濃縮)かのどちらかが重要になる。

刺胞動物との共生では、褐虫藻は共生胞という特殊なオルガネラの中で維持される(図2)。この宿主のオルガネラの膜には、V type H^+ ATPase という酵素が存在し、選択的に H^+ をオルガネラ内に輸送するため膜内は pH が低くなり、 CO_2 の溶解度が海水中よりも高くなる。さらに共生胞では宿主の炭酸脱水酵素(カーボニックアンヒドラーゼ: CA) という酵素により H^+

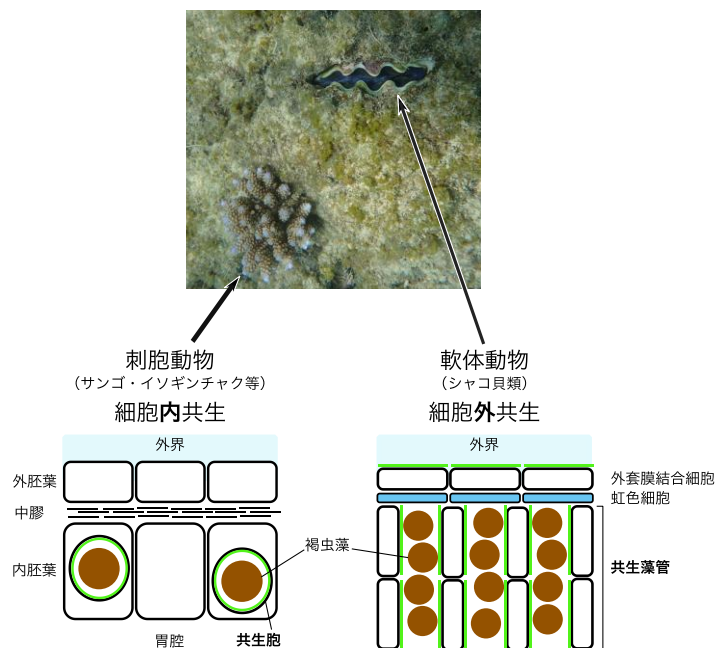


図2. 褐虫藻が宿主と共生するすみか

左) 刺胞動物と共生する際は共生胞というオルガネラに維持される。右) 軟体動物と共生する際は共生藻管と呼ばれる組織に維持される。どちらも細胞膜上に V type H^+ ATPase (緑) が分布し、内部の pH が低く維持される。(Armstrong et al. 2018 を基に作成)

と HCO_3^- を CO_2 に変換することで、共生胞内の CO_2 濃度を上昇させ褐虫藻の光合成能力を高めている可能性が示唆されている (Barott et al. 2015)。同様の炭酸濃縮機構はサンゴだけではなく、軟体動物のシャコガイとの共生にも存在することが予想されている (図 2)。シャコガイと褐虫藻は、共生藻管という特殊な細胞外に相当する組織で共生するが、この管の細胞膜上にも V type H^+ ATPase が存在しており、共生藻管内の pH が低いことが予想される。さらに共生藻管には CA が高濃度で存在し、 HCO_3^- を CO_2 に変換しているというモデルが提唱されている (Armstrong et al. 2018)。

2-3. 褐虫藻から宿主に渡す光合成産物の分子種

では、そのようなすみかで作られる光合成産物は、どのような形で宿主に渡されるのだろうか？長い間、褐虫藻から宿主に渡す光合成産物は、グリセロールであると考えられてきた。これは、共生していた褐虫藻を単離し、宿主の抽出物を混合すると、褐虫藻がグリセロールを分泌するという結果からである (Muscatine 1967)。この実験では、宿主 (サンゴまたはシャコガイ) をすりつぶし、すりつぶした宿主液に褐虫藻 (褐虫藻は硬いためつぶれない) が含まれる溶液と含まれない溶液を作成した。それぞれの溶液に対し、炭素固定によって合成された産物を放射性同位体でマークする目的で、 $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_2$ を添加し培養した。これにより、溶液内で褐虫藻が光合成を行い細胞外に分泌した物質を ^{14}C でトレースすることができる。その結果、褐虫藻が含まれる溶液の方が培養液中に含まれる (褐虫藻が光合成で固定し細胞外に分泌したと予想される) ^{14}C の量が多く、さらにその炭素化合物の大部分 (>90%) はグリセロールであるということが示された。本研究で Muscatine は、宿主のすりつぶし液の中の何らかの物質が、褐虫藻がグリセロールを体外に排出することを促していると結論している。

しかしその後、シャコガイを使った別の研究で、褐虫藻が宿主に渡す光合成産物がグリセロールであることに疑問が持たれる結果が報告された。それは、褐虫藻と共生するシャコガイを $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_2$ を含む海水で飼育し、光合成産物の ^{14}C トレーサー実験を行うと、宿主であるシャコガイに含まれる ^{14}C でラベルされた分子 (褐虫藻から渡された炭酸固定産物と予想される) の大部分は、グルコースであるという結果である (Streamler et al. 1988)。さらに無傷のシャコガイ内で褐虫藻はグルコースを分泌するが、傷ついた宿主液の中ではグリセロールを分泌することが示された (Ishikura et al. 1999)。同様の研究は、サンゴと褐虫藻の共生研究でも行われた。無傷のサンゴからの抽出物を解析した結果から、グリセロールが宿主の画分に含まれないことが示され (Whitehead and Douglas 2003)、グリセロールの分泌は共生系への損傷に関係しているのではないかと考えられた。

こうした論争を踏まえ、Burriesci らは安定同位体である ^{13}C でラベルした光合成産物を GC-MAS (ガスクロマトグラフィー質量分析法; ガスクロマトグラフィーで分離した成分の検出と質量分析を組み合わせ、質量情報から成分の定性および定量を行う) により測定する方法を確立し、宿主と褐虫藻を分離し、それぞれで光合成産物を検出するという方法で、褐虫藻から宿主に渡される光合成産物がグルコースの形をとることを確認した (Burriesci et al. 2012)。Burriesci らは ^{13}C ラベルしたサンプルを経時的に採取し、光合成産物が宿主に渡されるまでの時間を特定すると同時に、宿主の抽出物を褐虫藻と混合した時にグリセロールが検出され

ることを再確認した。さらに、褐虫藻の光合成活性の阻害実験により、宿主体内から検出されたグルコースが、光合成により合成されたものであることを確認した。それまで、褐虫藻から宿主に渡される光合成産物は、グリセロールの形で渡されると思われていた背景もあり、宿主体内で検出されるグルコースがグリセロールを元にした糖新生によるものである可能性が疑われた。そこで宿主の糖新生の阻害実験も行い、宿主体内で検出されるグルコースが、光合成産物が褐虫藻から宿主にグリセロールの形で受け渡された後の、糖新生による代謝物でないことを証明した。このような地道な研究の甲斐もあり、現在では「褐虫藻が宿主に渡す光合成産物はグルコースである」という認識が広まっている。

3. 共生関係という枠の外から共生を評価する

3-1. 共生のメリット・デメリット

これまで、褐虫藻と宿主の間で渡される分子が何かを特定することで、単純にそれがメリットになっていると考えられてきた。しかし、実際に渡される分子それぞれが、どのくらい各生物にとってメリットが大きいのか、もしくはメリットと考えられているもの自体にデメリットがないのか、を評価することは行われていない。それを考えるためには、共生している状態だけではなく、共生していない単独の各生物の適応度（生物がどれだけ多くの子孫を次世代に残せるかの尺度）を考えることが必要だろう。

3-2. 宿主にとっての光合成産物

宿主にとって褐虫藻の作る光合成産物は適応度を上げるほど重要な栄養素なのだろうか？熱帯・亜熱帯海域の栄養素は少ないが、栄養バランスを考えると律速になっているのは窒素 (N) であり、光合成産物は刺胞動物にとって成長速度に大きく影響しないジャンクフードのようなものである、という考え方もある(Falkowski et al. 1984)。ジャンクフードである光合成産物は宿主自体の成長には影響しないが、宿主の体内を通して粘液となり、宿主の体外に排出され、それを他の生物が食べることで、熱帯・亜熱帯海域の生態系を一時生産者として支えている事実は変わらない。むしろ、宿主がジャンクフードを食べてくれるからこそ、熱帯・亜熱帯海域の生態系が出来上がっていると言っても過言ではないかもしれない。

光合成産物がジャンクフードであるとする、宿主が褐虫藻から得ている生体にとってより重要な他の物質はあるのだろうか。褐虫藻は宿主に脂質も渡すことが、古くから示唆されている(Kellogg and Patton 1983; Patton and Burris 1983)。刺胞動物が脂質要求性を示すことは、複数の研究から示されており(Baumgarten et al. 2015; Gold et al. 2016)、褐虫藻から脂質を運ぶタンパク質として、宿主の NPC2 (ニーマンピック C2) タンパク質の関与が、複数の研究で予想されていた(Lehnert et al. 2014; Baumgarten et al. 2015)。NPC2 タンパク質自体は、哺乳類にも存在し、ステロールに結合して細胞内に輸送する機能があることが知られている(Liou et al. 2006)。褐虫藻と共生するイソギンチャクではこの NPC2 が多様化しており、特定のアイソフォームが、共生時に発現上昇する(Ganot et al. 2011)。最近、刺胞動物に特徴的な NPC2 タンパク質が、褐虫藻の合成するステロールの輸送に関わっていることが示された(Hambleton et

al. 2019)。刺胞動物が褐虫藻に求めている「個体の適応度を上げるほど重要な物質」の一つは脂質かもしれない。

では共生関係が宿主にとってデメリットになることはあるのだろうか？光合成生物との共生では、共生藻が光合成を行う際に、宿主にとって有害な活性酸素種などが発生するという説もある(Weis 2008)。そのため、それらの有害物質を代謝する系を発達させる必要があるが、この代謝系を発達させる必要があること自体がデメリットとなっているかもしれない。

3-3. 褐虫藻の栄養獲得（代謝、生育）戦略

一方、褐虫藻が共生関係によって得られるものは何だろうか？宿主が褐虫藻の数を制御するのに炭素 (C) と窒素 (N) のバランスが関与しているという報告がある(Xiang et al. 2020; Rådecker et al. 2021a)。このことから、褐虫藻が宿主に求める物質は“すみか”の炭酸濃縮機構だけではないだろう。多くの褐虫藻は、共生生活と自由生活の両方を行うことができる。原理的に、ある褐虫藻が「どの生物とも共生しない」ことを証明するのは困難だが、野外で自由生活の状態で単離され、他生物との共生が報告されていない種は一定数存在する(González-Pech et al. 2021)。このことから、共生することが必ずしも褐虫藻にメリットになる訳ではないようである。例えば、窒素は宿主から渡されるものとして有名だが、もしそれが環境中の無機窒素や色々な形で簡単に使える環境だったら、共生するメリットはどのように考えられるだろうか？もしかしたら、窒素が豊富な環境では、共生するよりも自由生活の方が、代謝の点で利益が多いかもしれない。一方で窒素が少ない環境では、自由生活よりも宿主体内で生活する方が有利かもしれない(図3)。

先に紹介したように、褐虫藻が宿主体内で生活する共生胞は低 pH の共生に特化したオルガネラである。すみかが与えられるというが、自由生活よりもどのくらい適応度が上がるのだろうか。褐虫藻ではないが、淡水の細胞内共生系であるミドリゾウリムシ(宿主)とクロレラ(共生体)では共生することがウィルスや他種との競争の回避に役立っているという仮説もある(Iwai et al. 2019)。一方で、ミドリゾウリムシがクロレラから光合成産物を搾取しており、クロレラ自体には共生のメリットがないという仮説もある(Lowe et al. 2016)。褐虫藻でも同様の研究が行われると、共生の理解がより深まるかもしれない。

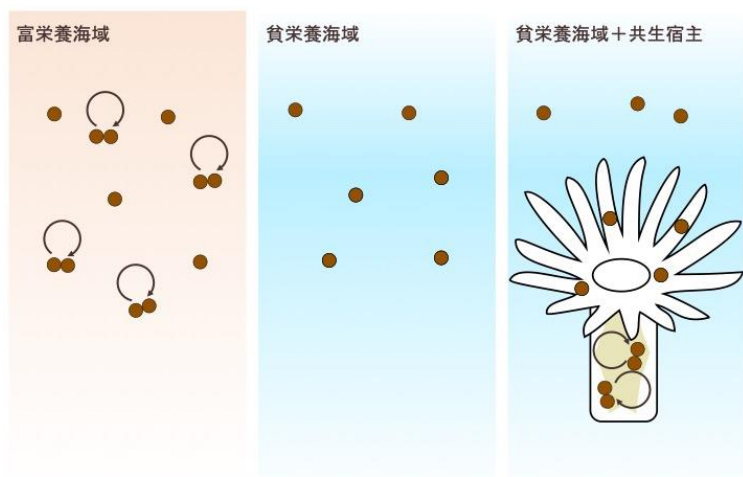


図3. 褐虫藻が生活する海洋環境の比較

窒素が豊富な海(富栄養)では貧栄養な海よりも細胞増殖速度(矢印)が早くなる。一方、貧栄養な海では自由生活の場合は窒素が不足するため細胞増殖速度は低下するが、宿主の体内は窒素が供給されるため増殖速度が速くなるかもしれない。

4. 今後の共生研究について

宿主の適応度を考えると、造礁サンゴでは褐虫藻と共生していない状態（白化状態）で長期的に生きていくことは難しいことから、共生すること自体が宿主の適応度を上げることは明白である。しかし、共生状態と非共生状態の両方をとることができるイソギンチャクのような生物において、共生関係が適応度に与える影響は明らかになっていない。近年、イソギンチャクのモデル生物としてセイタカイソギンチャクが用いられ、本生物は共生状態と非共生状態を人為的に変化させることができる上、産卵を誘導することができる(Baumgarten et al. 2015; Grawunder et al. 2015)。今後この系を用いて、共生すること自体がどのくらい宿主の適応度に影響するかを評価できるかもしれない。

最近、共生研究の中では宿主に焦点が当たることが多かったが褐虫藻自体の研究も進み始めている。単独で培養した褐虫藻に含まれる細胞内のステロールを分析した研究などもあり、その多様性が示されている(Lu et al. 2020)。また別の渦鞭毛藻 (*Prorocentrum minimum*) では、培養液中の窒素濃度を変えて培養すると、増殖スピードなどが変わることが示されている(Abassi and Ki 2022)。このような基本的な研究がすすむことは非常に喜ばしいことではあるが、さらに一歩踏み込んで、これらの性質が共生自体にどのように関わっているかを調べた研究はない。さらに、サンゴ共生系は褐虫藻とサンゴの関係だけでなく、サンゴ自体を生態系（ホロビオンと呼ばれる）としてとらえて、褐虫藻と宿主だけではなく、宿主の周りに生活する他のバクテリアなどの微生物の共生関係への役割についても考慮するような研究も行われている(Thompson et al. 2015; Rädicker et al. 2021b)。

主に無性生殖で増殖する褐虫藻にとって、適応度は細胞数、つまり増殖速度とほぼ等しくなると考えても問題はないだろう。褐虫藻にとって増殖速度が高くなる環境とはどのような環境なのだろうか。これまで共生している状態を中心に研究がなされてきたが、今後は、褐虫藻単独の基本的な性質を見直すことにより、自由生活と共生生活のどちらが褐虫藻にとって利益が大きいか、つまり褐虫藻が共生することをどう「感じて」いるのかを考えるきっかけが得られるかもしれない。今後、褐虫藻自体の性質と共生関係をつなぐような研究が期待される。

謝辞

本稿を上梓するにあたり、東北大学・丸山真一朗博士、宮城教育大学・出口竜作教授に多大なるご協力を頂きました。心より御礼申し上げます。

引用文献

- Abassi S, Ki J-S (2022) Increased nitrate concentration differentially affects cell growth and expression of nitrate transporter and other nitrogen-related genes in the harmful dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. *Chemosphere* 288: 132526. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.132526
- Armstrong EJ, Roa JN, Stillman JH, Tresguerres M (2018) Symbiont photosynthesis in giant clams is promoted by V-type H⁺-ATPase from host cells. *J Exp Biol* 221: jeb177220. doi: 10.1242/jeb.177220

- Barott KL, Venn AA, Perez SO, Tambutté S, Tresguerres M (2015) Coral host cells acidify symbiotic algal microenvironment to promote photosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:607–612. doi: 10.1073/pnas.1413483112
- Baumgarten S, Simakov O, Esherick LY, Liew YJ, Lehnert EM, Michell CT, Li Y, Hambleton EA, Guse A, Oates ME et al. (2015) The genome of *Aiptasia*, a sea anemone model for coral symbiosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:11893–11898. doi: 10.1073/pnas.1513318112
- Burriesci MS, Raab TK, Pringle JR (2012) Evidence that glucose is the major transferred metabolite in dinoflagellate-cnidarian symbiosis. *J Exp Biol* 215:3467–3477. doi: 10.1242/jeb.070946
- Davy SK, Allemand D, Weis VM (2012) Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Microbiol Mol Biol Rev* 76:229–261. doi: 10.1128/MMBR.05014-11
- Falkowski PG, Dubinsky Z, Muscatine L, Porter JW (1984) Light and the Bioenergetics of a Symbiotic Coral. *Bioscience* 34:705–709. doi: 10.2307/1309663
- Ganot P, Moya A, Magnone V, Allemand D, Furla P, Sabourault C (2011) Adaptations to Endosymbiosis in a Cnidarian-Dinoflagellate Association: Differential Gene Expression and Specific Gene Duplications. *PLOS Genetics* 7:e1002187. doi: 10.1371/journal.pgen.1002187
- Gold DA, Grabenstatter J, Mendoza A de, Riesgo A, Ruiz-Trillo I, Summons RE (2016) Sterol and genomic analyses validate the sponge biomarker hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 113:2684–2689. doi: 10.1073/pnas.1512614113
- González-Pech RA, Stephens TG, Chen Y, Mohamed AR, Cheng Y, Shah S, Dougan KE, Fortuin MDA, Lagorce R, Burt DW et al. (2021) Comparison of 15 dinoflagellate genomes reveals extensive sequence and structural divergence in family Symbiodiniaceae and genus *Symbiodinium*. *BMC Biology* 19:73. doi: 10.1186/s12915-021-00994-6
- Grawunder D, Hambleton EA, Bucher M, Wolfowicz I, Bechtoldt N, Guse A (2015) Induction of Gametogenesis in the Cnidarian Endosymbiosis Model *Aiptasia* sp. *Sci Rep* 5:15677. doi: 10.1038/srep15677
- Hambleton EA, Jones VAS, Maegele I, Kvaskoff D, Sachsenheimer T, Guse A (2019) Sterol transfer by atypical cholesterol-binding NPC2 proteins in coral-algal symbiosis. *eLife* 8:e43923. doi: 10.7554/eLife.43923
- Hoegh-Guldberg O, Muller-Parker G, Cook CB, Gates RD, Gladfelter E, Trench RK, Weis VM (2007) Len Muscatine (1932–2007) and his contributions to the understanding of algal-invertebrate endosymbiosis. *Coral Reefs* 26:731–739. doi: 10.1007/s00338-007-0320-0
- Ishikura M, Adachi K, Maruyama T (1999) Zooxanthellae release glucose in the tissue of a giant clam, *Tridacna crocea*. *Mar Biol* 133:665–673. doi: 10.1007/s002270050507
- Iwai S, Fujita K, Takanishi Y, Fukushi K (2019) Photosynthetic Endosymbionts Benefit from Host's Phagotrophy, Including Predation on Potential Competitors. *Curr Biol* 29:3114–3119.e3. doi: 10.1016/j.cub.2019.07.074
- Jones VAS, Bucher M, Hambleton EA, Guse A (2018) Microinjection to deliver protein, mRNA, and DNA into zygotes of the cnidarian endosymbiosis model *Aiptasia* sp. *Sci Rep* 8:16437. doi: 10.1038/s41598-018-34773-1

- Kawamura K, Nishitsuji K, Shoguchi E, Fujiwara S, Satoh N (2021) Establishing Sustainable Cell Lines of a Coral, *Acropora tenuis*. *Mar Biotechnol*. doi: 10.1007/s10126-021-10031-w
- Kellogg RB, Patton JS (1983) Lipid droplets, medium of energy exchange in the symbiotic anemone *Condylactis gigantea*: a model coral polyp. *Mar Biol* 75:137–149. doi: 10.1007/BF00405996
- LaJeunesse TC, Parkinson JE, Gabrielson PW, Jeong HJ, Reimer JD, Voolstra CR, Santos SR (2018) Systematic Revision of Symbiodiniaceae Highlights the Antiquity and Diversity of Coral Endosymbionts. *Curr Biol* 28:2570–2580.e6. doi: 10.1016/j.cub.2018.07.008
- Lehnert EM, Mouchka ME, Burriesci MS, Gallo ND, Schwarz JA, Pringle JR (2014) Extensive differences in gene expression between symbiotic and aposymbiotic cnidarians. *G3-GENES GENOM GENET* 4:277–295. doi: 10.1534/g3.113.009084
- Liou H-L, Dixit SS, Xu S, Tint GS, Stock AM, Lobel P (2006) NPC2, the protein deficient in Niemann-Pick C2 disease, consists of multiple glycoforms that bind a variety of sterols. *J Biol Chem* 281:36710–36723. doi: 10.1074/jbc.M608743200
- Lowe CD, Minter EJ, Cameron DD, Brockhurst MA (2016) Shining a Light on Exploitative Host Control in a Photosynthetic Endosymbiosis. *Curr Biol* 26:207–211. doi: 10.1016/j.cub.2015.11.052
- Lu Y, Jiang J, Zhao H, Han X, Xiang Y, Zhou W (2020) Clade-Specific Sterol Metabolites in Dinoflagellate Endosymbionts Are Associated with Coral Bleaching in Response to Environmental Cues. *mSystems* 5:e00765-20. doi: 10.1128/mSystems.00765-20
- Mies M, Sumida PYG, Radecker N, Voolstra CR (2017) Marine Invertebrate Larvae Associated with Symbiodinium: A Mutualism from the Start? doi: 10.3389/fevo.2017.00056
- Muscatine L (1990) The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. *Coral Reefs* 25:75–87
- Muscatine L (1967) Glycerol excretion by symbiotic algae from corals and tridacna and its control by the host. *Science* 156:516–519. doi: 10.1126/science.156.3774.516
- Muscatine L, Hand C (1958) Direct Evidence for the Transfer of Materials from Symbiotic Algae to the Tissues of a Coelenterate. *Proc Natl Acad Sci USA* 44:1259–1263. doi: 10.1073/pnas.44.12.1259
- Patton JS, Burriss JE (1983) Lipid synthesis and extrusion by freshly isolated zooxanthellae (symbiotic algae). *Mar Biol* 75:131–136. doi: 10.1007/BF00405995
- Rädecker N, Pogoreutz C, Gegner HM, Cárdenas A, Roth F, Bougoure J, Guagliardo P, Wild C, Pernice M, Raina J-B et al. (2021a) Heat stress destabilizes symbiotic nutrient cycling in corals. *Proc Natl Acad Sci USA* 118:e2022653118. doi: 10.1073/pnas.2022653118
- Rädecker N, Pogoreutz C, Gegner HM, Cárdenas A, Perna G, Geißler L, Roth F, Bougoure J, Guagliardo P, Struck U et al. (2021b) Heat stress reduces the contribution of diazotrophs to coral holobiont nitrogen cycling. *ISME J* 1–9. doi: 10.1038/s41396-021-01158-8
- Streamer M, Griffiths D, Thinh L (1988) The products of photosynthesis by zooxanthellae (*Symbiodinium microadriaticum*) of *Tridacna gigas* and their transfer to the host. *Symbiosis* 6:237–252

- Thompson JR, Rivera HE, Closek CJ, Medina M (2015) Microbes in the coral holobiont: partners through evolution, development, and ecological interactions. *Front Cell Infect Microbiol* 4:. doi: 10.3389/fcimb.2014.00176
- Weis VM (2008) Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. *J Exp Biol* 211:3059–3066. doi: doi.org/10.1242/jeb.009597
- Whitehead LF, Douglas AE (2003) Metabolite comparisons and the identity of nutrients translocated from symbiotic algae to an animal host. *J Exp Biol* 206:3149–3157. doi: 10.1242/jeb.00539
- Xiang T, Lehnert E, Jinkerson RE, Clowez S, Kim RG, DeNofrio JC, Pringle JR, Grossman AR (2020) Symbiont population control by host-symbiont metabolic interaction in Symbiodiniaceae-cnidarian associations. *Nat Commun* 11:108. doi: 10.1038/s41467-019-13963-z
- Yorifuji M, Yamashita H, Suzuki G, Kawasaki T, Tsukamoto T, Okada W, Tamura K, Nakamura R, Inoue M, Yamazaki M et al. (2021) Unique environmental Symbiodiniaceae diversity at an isolated island in the northwestern Pacific. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 107158. doi: 10.1016/j.ympev.2021.107158