
Review

渦鞭毛藻類の独特な核ゲノム

將口 栄一

沖縄科学技術大学院大学マリンゲノミクスユニット
〒904-0495 沖縄県国頭郡恩納村字谷茶 1919-1

An unusual dinoflagellate nuclear genome

Eiichi SHOGUCHI

*Marine Genomics Unit, Okinawa Institute of Science and Technology,
Okinawa 904-0495, Japan*

SUMMARY

Dinoflagellates are ecologically important, unicellular eukaryotes in aquatic environments. They have unusual, permanently condensed chromosomes and immense nuclear genome sizes. Recent advances in dinoflagellate biology have revealed many novel genomic features.

The first draft genome of the dinoflagellate, *Symbiodinium minutum*, displays unique and derived characteristics (<http://marinegenomics.oist.jp/genomes/gallery>). (1) The genome comprises approximately 42,000 protein-coding genes, including highly duplicated genes for regulator-of-chromosome-condensation proteins. One-third of these have eukaryotic orthologs, whereas the others have similarities to those of bacteria. (2) *Symbiodinium* genes are enriched in spliceosomal introns (average 18.6 introns/gene), in which donor and acceptor splice sites are unique. (3) All spliceosomal snRNA genes, spliced-leader genes, and 5S rRNA genes are clustered in the genome. (4) The *Symbiodinium* genome displays unidirectionally aligned genes throughout the genome, forming a cluster-like gene arrangement. Here I briefly introduce recent advances in dinoflagellate genomics, paying special attention to the genome structures of gene-rich regions.

Key words: Alveolates, Gene arrangement, Chromatin, Exon-intron structure, Trans-splicing, Gene duplication, Comparative genomics, RCC1, *Symbiodinium*, *Trypanosoma*

はじめに

渦鞭毛藻類は単細胞真核生物であり、常に凝縮した液晶性 (liquid crystalline) の染色体と巨大な核ゲノムを持つ (その多くがヒトゲノムの数倍のサイズである) (Fig. 1A). またコアヒストンを含むヌクレオソーム構造が観察されてこなかった. かつては, その特殊な核の特徴から「中間核生物 (Mesokaryotes)」と呼ばれていたこともある (Dodge, 1965). 現在ではこの説は否定され, 分子系統学的研究などにより, マラリア原虫などのアピコンプレックス類, ゴウリムシなどの繊毛虫類と共に, 渦鞭毛藻類はアルベオラータの主要グループの一つであることが明らかになっており (Burki et al., 2007), その特殊な核は, 「渦鞭毛藻核 (dinokaryon)」と呼ばれている.

渦鞭毛藻類にはおよそ 2,000 種が知られており (Adl et al., 2007), 赤潮の原因となる種 (*Alexandrium*) やサンゴに共生する褐虫藻 (*Symbiodinium*) などが含まれ, 海洋環境を考える上で重要な生物である. 渦鞭毛藻類間の系統関係は未解決の部分も多く, 分子

や微細構造のデータによって再検討が行われている (Moestrup and Daughbjerg, 2007; Bachvaroff et al., 2014).

渦鞭毛藻類の種の約半数は光合成を行う. その共通祖先が二次共生により獲得したと考えられるプラスチドのゲノムは, プラスミド状のミニサークル DNA という特殊な構造へと進化している. さらにそれらとは別に, 進化の過程で三次共生イベントなどにより獲得したと考えられるプラスチドを持つ種や, クレプトクロロプラストを持つ種などがおり, 細胞内共生のメカニズムや核ゲノムとオルガネラゲノムの共進化を研究する上でも興味深いグループである (Onuma and Horiguchi, 2013; 山口ほか, 2008).

最近, 渦鞭毛藻類のトランスクリプトーム解析や一部のゲノム配列解析から興味深い特徴が徐々に明らかになってきている (Lin, 2011; Wisecaver and Hackett, 2011; 将口, 2013). 核ゲノムの分子生物学的研究に限ると, mRNA のトランススプライシング (Zhang et al., 2007) (Fig. 1B) や同じ遺伝子がタンデムに繰り返して存在するという報告である (Liu and Hastings, 2006). また転写調節に関して真核生物に共通

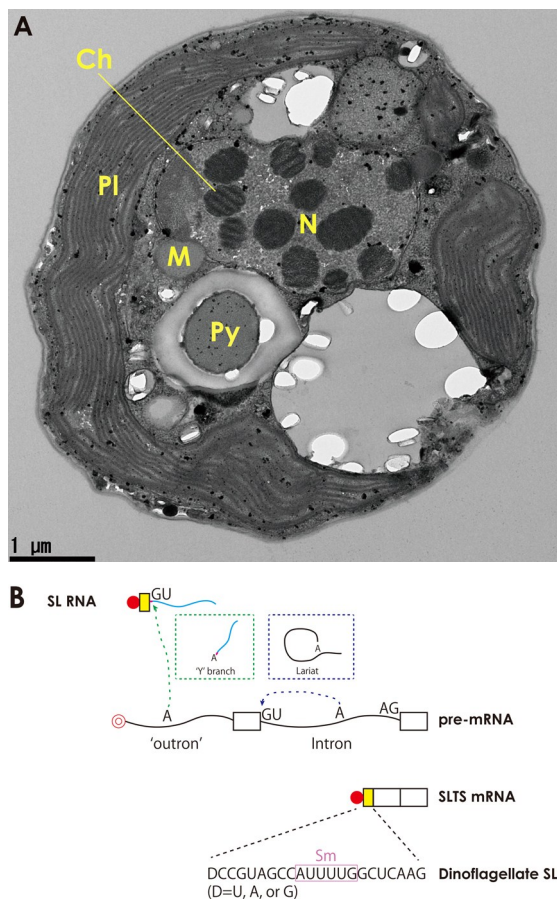


Fig. 1. The dinoflagellate nuclear genome. (A) Transmission electron micrograph of the dinoflagellate, *S. minutum*. Twelve permanently condensed chromosomes (Ch) show regular, banded patterns. Proteins associated with DNA in chromatin are less abundant in dinoflagellates, as in bacteria, but the basic structures of chromatin have not been clarified. M: mitochondria, N: nucleus, Pl: plastid, Py: pyrenoid, Scale bar: 1 μ m. (B) Spliced leader trans-splicing (SLTS) is common in dinoflagellates. SLTS has been shown to occur in a limited number of eukaryotes (dinoflagellates, euglenozoans, cnidarians, nematodes, flatworms, and tunicates). In cis- (intron) splicing, the splice donor and acceptor sites lie on the same strand. During splicing a lariat structure is formed (blue dotted line) and the intron is removed. For SLTS, a 'Y' branched byproduct is formed (green dotted line), the donor site of SL RNA is spliced to acceptor sites of pre-mRNAs and the outtron is removed. As a result, the SL (yellow-box) and the 5' exon of pre-mRNA from the different strands are joined. Introns are located 'inside' the target gene, whereas outtrons are located 'outside' the gene. Many mature mRNAs have a common 'SL' that is spliced into different genes. Red circles show cap structures (2,2,7-trimethylguanosine cap for SL RNAs, 7-methylguanosine cap for mRNA) (Stover et al., 2006). Dinoflagellate SL sequences are highly conserved and the binding site (purple box) for the Sm protein complex on dinoflagellate SL RNAs is different from corresponding binding sites in the SL RNAs of other species. The SL RNAs of most other species contain a Sm binding site in the 3' half (aqua line).

な TATA box のプロモーター配列が見つからず、渦鞭毛藻 *Cryptocodinium cohnii* から単離された TATA box に結合するタンパク質 (TBPs) に類似性の高い TBP-like タンパク質は、TATA box よりも TTTT box の配列に強く結合するという結果が報告されている (Guillebault et al., 2002) .

このように渦鞭毛藻類のゲノムは実にユニークであり、例えば渦鞭毛藻の全ゲノム解読により、進化の過程でヌクレオソーム構造を失うことによってどのようなゲノム進化が起こりうるのかということが明らかになるかもしれないという期待が持たれていた。それにもかかわらず、アピコンプレックス類や繊毛虫類の全ゲノムが解読される一方で、渦鞭毛藻類の全ゲノムの解読は行われてこなかった (Lin, 2011; Wisecaver and Hackett, 2011) . その理由の一つは、渦鞭毛藻のゲノムが他の原生生物のゲノムに比べて相当に大きいためであろう。

我々は、渦鞭毛藻類の中でゲノムサイズの小さい褐虫藻 *Symbiodinium minutum* の核ゲノムの概要配列を決定した (Shoguchi et al., 2013) . その結果、渦鞭毛藻ゲノムの構造がゲノム全体にわたってユニークな特徴を持つことが明らかになった。ここでは、この褐虫藻の核ゲノムの解読結果を中心に、ごく最近の渦鞭毛藻の核に関する研究を手短に紹介する。さらにその解読とともに浮かびあがった疑問点を記してみたい。最近、アルベオラータの祖先型のミトコンドリアゲノム構造の想定に関する報告がなされた (Janouskovec et al., 2013) . アルベオラータの祖先型の核ゲノム構造に関する議論も活発になればと思う。

渦鞭毛藻核のゲノム構成

我々は、次世代シーケンサー (NGS) とゲノムアセンブルのソフトウェアを駆使して 616 Mbp (6.16 億塩基対) のゲノム概要配列を決定した。同時に

行ったトランスクリプトーム配列決定により、63,104 のユニークな配列を得た。その配列のほとんどがゲノムにマップされ (Koyanagi et al., 2013) , 遺伝子領域のほとんどがこの 616 Mbp の概要配列に含まれることが分かった。この概要配列上には 41,925 の遺伝子領域が存在した。DNA トランスポゾンやレトロトランスポゾン領域の占める割合は 0.5% と 1.1% であった。タンデムリピートの占める割合はおよそ 5% と見積もられた。同じアルベオラータのゲノムと比較すると、*S. minutum* の GC 含有量はかなり高く、44% であった (Table 1) . この見積もりは、他の渦鞭毛藻におけるものとはほぼ一致する (reviewed by Moreno Diaz de la Espina et al., 2005) . すなわち、渦鞭毛藻の GC 含量は、アピコンプレックス類や繊毛虫類よりもむしろヒトやユグレノゾア類のトリパノソーマのゲノムに類似している (Table 1) .

フローサイトメトリーを用いた解析により、*S. minutum* のゲノムサイズはおおよそ 1,500 Mbp と見積もられている (Shoguchi et al., 2013) . NGS のデータからオルガネラ DNA が高コピー (>500) で存在すると見積もられ、その分を差し引いたとしても、アセンブルできていない核ゲノム領域が 800 Mbp 程度は存在すると思われる。NGS のリードや BAC 及び fosmid クローンの両末端配列のデータは、その領域の大部分は GC 含量やタンデムリピートやトランスポゾンの占める比率という点において 616 Mb の領域に類似していることを示している。この結果は、約 110 Gbp のゲノムを持つ渦鞭毛藻 *Alexandrium ostenfeldii* のゲノムの 50% 以上がタンデムリピートからなるとする報告とは対照的である (Jaekisch et al., 2011) . また、Madhani (2013) による、渦鞭毛藻のゲノムが巨大化したのはトランスポゾン配列と関係しているのかもしれないとする議論とも一致しない。渦鞭毛藻の非コード領域の配列としてテロメアの存在が報告されてきているが (Fojtova et al.,

Table 1. Draft genome composition of three main groups of alveolates, the dinoflagellate, *Symbiodinium minutum*, the apicomplexan, *Plasmodium falciparum*, and the ciliate *Tetrahymena thermophila*, and the euglenozoan, *Trypanosoma brucei*

	A total assembled length of assembly (Mb)	G+C content (%)	Number of genes	Number of introns per gene	First two nucleotides of introns	Average length of intergenic regions (bp)	Unidirectional arrangement of genes
<i>Symbiodinium minutum</i> ¹⁾	616	44	41,925	18.6	GT/GC/GA	2,064	Yes
<i>Plasmodium falciparum</i> ²⁾	23	19	5,268	2.4	GT	1,694	No
<i>Tetrahymena thermophila</i> ³⁾	104	22	24,725	4.6	GT	1,423	No
<i>Trypanosoma brucei</i> ⁴⁾	26	46	9,068	0.0002	GT	1,279	Yes

1) Shoguchi et al. (2013), 2) Gardner et al. (2002), 3) Eisen et al. (2006), 4) Berriman et al. (2005).

2010), セントロメア様領域に関する報告はなされていない。アセンブルできていない領域は常に凝縮した染色体構造と関係してくる可能性があり, その解明には他の渦鞭毛藻の全ゲノム配列との比較解析が重要となってくる。渦鞭毛藻のゲノムには 5-ヒドロキシメチルウラシルという他の真核生物ゲノムには見つからない修飾塩基が多数含まれる (reviewed by Lin, 2011)。このような修飾塩基とゲノム構造との関係も謎のままである。

遺伝子の構成

解読されてきた真核生物のゲノムと遺伝子を用いた統計学的解析により, 渦鞭毛藻類におけるタンパク質をコードする遺伝子数はおおよそ 38,000 から 87,000 と見積もられていた (Hou and Liu, 2009)。*S. minutum* ではタンパク質をコードする遺伝子の数は 41,925 と見積もられ, マラリア原虫やテトラヒメナに比べるとかなり多いことが明らかになった (Table 1)。

タンパク質の保存されたドメインの解析 (pfam ドメイン), TBLASTN による NCBI データベースへの配列類似性検索, ゲノムの解読された真核生物の遺伝子群との比較に適した OrthoMCL データベース (<http://orthomcl.org/orthomcl/>) を用いた解析では, 41,925 の中の 54% の遺伝子は, これまでに登録されている配列への類似性を持つ。一方で 46% の遺伝子は, *Symbiodinium* 特異的である可能性が高い。その中でも比較的保存性の高い遺伝子を探る上で, 近縁種の渦鞭毛藻ゲノムとの比較が重要になってくると思われる。遺伝子間の比較解析から, 41,925 遺伝子の中の 17,703 遺伝子 (42.4%) は, 渦鞭毛藻の系統で重複した遺伝子である可能性が高いと見積もられた。渦鞭毛藻類における遺伝子の重複のメカニズムとして, mRNA 由来の processed complementary DNA のリサイクルが提案されている (Slamovits and Keeling, 2008)。しかしながら, *S. minutum* ではイントロンを持たない遺伝子が少ないことから, この可能性は低いと予想された。他のゲノムに比べると, かなり数が増大している遺伝子には, 配列は保存されているが機能未知であるタンパク質, Chlorophyll a/b-binding タンパク質, イオンチャネルのタンパク質などをコードするものが含まれていた。このように数の増大している遺伝子群は, 環境応答と関係するようである (Colbourne et al., 2011)。他の渦鞭毛藻ゲノムとの比較により, このような遺伝子の増大がいつ頃起こってきたのかを推定することが可能になってくるであろう。

類似性を示す保存された遺伝子の構成をマラリア原虫やテトラヒメナと OrthoMCL データベースを用

いて比較すると, *S. minutum* はマラリア原虫やテトラヒメナに比べて, 進化過程で失った遺伝子ファミリーが少ないことが示唆された (Shoguchi et al., 2013)。アルベオラータの共通祖先が獲得したと考えられる紅藻由来の色素体を絨毛虫はほぼ完全に失い, 動物に寄生するアピコンプレックスでは光合成能を失っている。また色素体獲得との関連が考えられる遺伝子は, 絨毛虫において 16 個みつかったにすぎない (Reyes-Prieto et al., 2008), マラリア原虫では 207 個が見つかったにすぎない (Huang et al., 2004)。一方で, 光合成性のアピコンプレックス *Chromera velia* のトランスクリプトーム解析において 513 の遺伝子がプラスチドの獲得と関係していることが示唆されてきている (Woehle et al., 2011)。例えば, 解読された珪藻ゲノムで同様の解析を行うとおおよそ 2,000 が色素体の獲得との関係が示唆される遺伝子としてみつかる (Moustafa et al., 2009)。従って *S. minutum* において多くの遺伝子ファミリーが存在することは, *S. minutum* が光合成能を保持していることと関係している可能性が高い。今後は, プラスチドへ輸送されて機能するタンパク質をコードする遺伝子を同定していくことが重要であると思われる。また渦鞭毛藻の進化において遺伝子の水平伝播が重要であったのではないかとする報告がなされてきている (Wisecaver et al., 2013)。水平伝播により獲得したと考えられる遺伝子が, さらなるゲノム比較によって次々と明らかになってくるかもしれない。

核タンパク質

渦鞭毛藻の核にはヌクレオソーム構造が見つからず, 渦鞭毛藻はコアヒストンの遺伝子を失っていると考えられていた。一方で, バクテリアの DNA 結合タンパク質 HU に類似する Histone-like protein (Hlp) の存在が報告されてきた (Sala-Rovira et al., 1991; Wong et al., 2003)。しかしながらより最近の EST 解析の結果から渦鞭毛藻はコアヒストン遺伝子を持っていることが次第に明らかになってきた (Hackett et al., 2005)。*S. minutum* ゲノムにはコアヒストン H2A, H2B, H3, H4 がコードされていた。リンカーヒストン H1 のオーソログ遺伝子は見つからなかった。*S. minutum* のゲノム上に Hlp をコードする領域は 15 箇所みつかった。渦鞭毛藻の Hlp と動物の H1 の類似性から, H1 遺伝子の進化が議論されている (Kasinsky et al., 2001)。このような比較は, Hlp のような遺伝子が真核生物の祖先のゲノムに存在したのか, バクテリアから水平伝播により獲得されたのかを考える上で重要になってくると思われる。

また Gornik et al. (2012) によって、核タンパク質 DVNP (dinoflagellate/viral nucleoproteins) が渦鞭毛藻 *Hematodinium* sp. の核に多く含まれ、DNA に結合することが示された。このタンパク質をコードする遺伝子は、これまでに渦鞭毛藻類と藻類ウイルスであるフィコドナウイルス科のゲノムで見つかった。Gornik et al. (2012) は、この DVNP 遺伝子の獲得がヌクレオソーム構造の見つからない巨大な核を持つ渦鞭毛藻への進化の最初のステップとして重要であったのではないかと議論しており、興味深い。*S. minutum* ゲノムには、19 個の DVNP 遺伝子が存在する。この 19 個の中の 11 個には、*Hematodinium* sp. の DVNP 遺伝子にはない別のドメインもコードされていた。これらのドメイン構造が渦鞭毛藻間でどの程度保存されているのかを比較することが、水平伝播により獲得したと考えられる遺伝子の進化を探る上で重要である。

S. minutum のゲノムで非常に数の増加している遺伝子の中には、核タンパク質をコードする RCC1 (Regulator of Chromosome Condensation 1) 遺伝子が含まれていた。この遺伝子は RCC1-like リピートを持ち、このリピートを持つ遺伝子はバクテリアゲノムの中にも存在する。RCC1-like リピートを持つ遺伝子は *S. minutum* ゲノム中の 189 の領域に存在した。その中の 86 のタンパク質の配列を用いて分子系統学的解析を行ったところ、52 のタンパク質はシアノバクテリアとプロテオバクテリアのオーソログであり、一方 34 は真核生物のオーソログであった。すなわち、*S. minutum* の RCC1 遺伝子には真核と原核の両方のタイプが含まれていた。脊椎動物の RCC1-like リピートドメインを持つタンパク質の機能は多様化していることが知られている (Hadjebi et al., 2008)。これらのタンパク質のいくつかが独特な染色体構造と関係しているものと思われる。

イントロン

渦鞭毛藻の遺伝子のエクソン-イントロン構造に関しては、その情報が数種類の遺伝子に限られてきたため、よく分かっていなかった。一方で、マラリア原虫やテトラヒメナのイントロンに関してはよく調べられており、その数は比較的少なく (Table 1)、アルベオラータの進化におけるイントロン数の変化は比較的短期間に起こったのではないかと議論がなされている (Nguyen et al., 2007)。驚いたことに *S. minutum* の遺伝子には平均すると 1 遺伝子あたり 18.6 個という非常に多くのイントロンが存在することが明らかになった (Table 1 and Fig. 2)。その 5' スプライスサイトの配列としては、GT 以外にも GC や

GA タイプのものが存在していた。一方で 3' スプライスサイトのエクソンの 1 番目のサイトが G である傾向が認められた (Fig. 2)。このサイトが G の傾向はヒトのイントロンのマイナータイプのパターンに一致している (Thanaraj et al., 2001)。このように、多くの GT-AG ルールに従わないイントロンが短期間で生じたものなのかどうかは、近縁種間におけるゲノム配列比較により明らかになっていくであろう。また *S. minutum* のスプライセオソーム関連遺伝子の特徴を調べたところ、snRNA 遺伝子のすべてがある領域にクラ

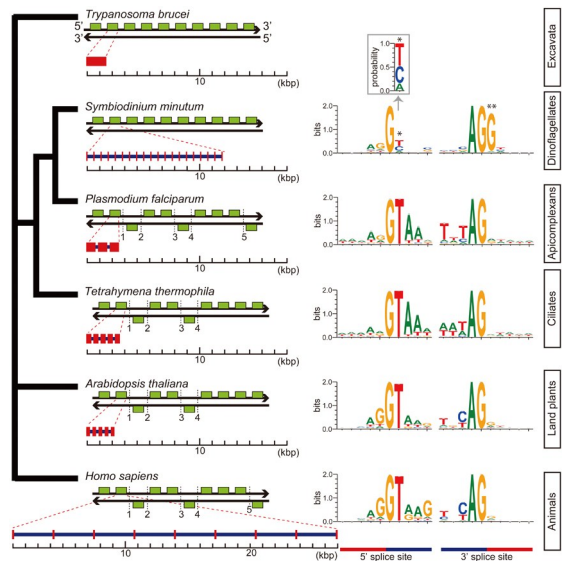


Fig. 2. Gene arrangements and exon-intron structures in nuclear genomes of representative eukaryotes and alveolates. Yellow-green boxes indicate typical patterns of ten-gene arrangements with the number of strand-switch regions (SSRs), although the SSRs shown in *P. falciparum*, *T. thermophila*, *A. thaliana* and *H. sapiens* are not always typical. The unusual ten-gene organization on the same strand of DNAs that have no SSRs, is similar in *S. minutum* and *T. brucei*. Gene architecture shows average gene lengths (exons in red and introns in blue) with the average intron number per gene. The sequence motif of the splice site was illustrated with WebLogo (<http://weblogo.threeplusone.com/>). The probability of position 2 at the 5' splice site of *S. minutum* is shown in the insert. Only two genes with spliceosomal introns in *T. brucei* have been reported and the motif was not shown. Analyses of intron richness and weakness of 5' splice site signals (asterisk) indicate that *S. minutum* has the most unusual eukaryote genome organization to date. A double asterisk shows Gs of first nucleotides of exons conserved at the 3' splice site. A similar phenomenon is known from human minor alternative splice sites (Thanaraj et al., 2001). (From Shoguchi et al. (2013), with permission of Elsevier)

スターとして存在することがわかった。スプライセオソームの構造に関わる遺伝子の詳細な比較解析により特殊な構造がみつかるかもしれない。

ゲノム上の遺伝子配置と転写

離れた系統関係にもかかわらず、渦鞭毛藻とユーグレノゾア（トリパノソーマ）のゲノム構造に類似性がみられるという議論がなされてきた (Lukes et al., 2009)。核ゲノムに関しては、トランススプライシングと、遺伝子がタンデムに並ぶという点である。渦鞭毛藻のタンデムな並びに関しては、同じ遺伝子のコピーが並んでいて、それらの遺伝子はポリシストロニックに発現しているようであるということ議論されてきた。一方で、トリパノソーマに関しては、異なる遺伝子であってもゲノム全体にわたって遺伝子の一方方向性の並びが明らかになっていた (Fig. 2)。

我々は、*S. minutum* のゲノム全体にわたって遺伝子が同じ方向に並んでいることを明らかにした (Fig. 2)。Spliced leader trans-splicing (SLTS) に関しては、トリパノソーマではすべての遺伝子が SLTS を受けるのに対し、*S. minutum* の転写開始点 (TSS) の解析は、約 20% の mRNA が SLTS をうけていることを示している。すなわち、すべてが常に SLTS をうけているわけではないことが示唆され、同様の結果は渦鞭毛藻 *Lingulodinium polyedrum* の RNA-seq 解析でも示唆されている (Beauchemin et al., 2012)。渦鞭毛藻の SL (22 ヌクレオチド) 配列はこれまで調べられてきた渦鞭毛藻間で完全に保存されており、このメカニズムが渦鞭毛藻の遺伝子発現調節において重要であることを示唆している (Fig. 1B)。トリパノソーマでは、同じ向きに並んだ遺伝子がポリシストロニックに発現していることが報告されている。*S. minutum* ではどうか。 *S. minutum* では、トリパノソーマのようにほとんどの遺伝子がポリシストロニックに発現しているということはなさそうである。

渦鞭毛藻の転写に関して示唆されてきたことの一つは、配列特異的な転写因子遺伝子がアピコンプレックス類のように少ないということである。今回のゲノム解読で、*S. minutum* のゲノムにコードされる、真核生物間で保存されているような転写因子遺伝子の数は少ないということが明らかになった。また TATA box のないプロモーターによる転写に関しては、哺乳類のゲノムにおいても議論されてきており (Wu and Sharp, 2013)、渦鞭毛藻ゲノム上にあるプロモーター領域を同定し、比較していくことが重要であると思われる。大部分の遺伝子は転写ではな

く、RNA プロセッシングや翻訳、またはまだ知られていないようなレベルで発現が調節されているのかもしれない。また small RNA や non-coding RNA による調節も考慮していく必要があるかもしれない (Baumgarten et al., 2013)。

おわりに

これまで、ゲノムサイズが大きいなどの理由から、渦鞭毛藻核ゲノムの進化の問題へ全ゲノム解読からアプローチすることはできなかった。シーケンシング技術が急激に進展していることを考慮すると、今後はますます全ゲノム配列の比較から多様な渦鞭毛藻にアプローチが可能になってくるはずである。例えば、我々が解読したような共生性の褐虫藻は 100 種類以上はいるとされており、さらなるゲノム解読とその比較解析が進めば、褐虫藻のゲノム進化の独自性と多様性が明らかになってくるであろう。同時にサンゴのような宿主のゲノム (Shinzato et al., 2011, 2014) との比較も、ゲノム進化の視点から生物間の相互作用を考える上で重要になってくると思われる。

謝辞

本稿の執筆にあたり、沖縄科学技術大学院大学マリンゲノミクスユニットの方々に、ご意見を頂いた。また電子顕微鏡の写真は、沖縄科学技術大学院大学の佐々木敏雄氏により撮影されたものである。ここに御礼申し上げる。本稿を執筆する機会を頂き、編集委員の岩本政明博士に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Adl, S. M., Leander, B. S., Simpson, A. G., Archibald, J. M., Anderson, O. R., Bass, D., Bowser, S. S., Brugerolle, G., Farmer, M. A., Karpov, S. et al. (2007) Diversity, nomenclature, and taxonomy of protists. *Syst. Biol.*, 56, 684–689.
- Bachvaroff, T. R., Gornik, S. G., Concepcion, G. T., Waller, R. F., Mendez, G. S., Lippmeier, J. C. and Delwiche, C. F. (2014) Dinoflagellate phylogeny revisited: using ribosomal proteins to resolve deep branching dinoflagellate clades. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 70, 314–322.
- Baumgarten, S., Bayer, T., Aranda, M., Liew, Y. J., Carr, A., Micklem, G. and Voolstra, C. R. (2013) Integrating microRNA and mRNA expression profil-

- ing in *Symbiodinium microadriaticum*, a dinoflagellate symbiont of reef-building corals. BMC Genomics, 14, 704.
- Beauchemin, M., Roy, S., Daoust, P., Dagenais-Bellefeuille, S., Bertomeu, T., Letourneau, L., Lang, B. F. and Morse, D. (2012) Dinoflagellate tandem array gene transcripts are highly conserved and not polycistronic. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 109, 15793–15798.
- Berriman, M., Ghedin, E., Hertz-Fowler, C., Blandin, G., Renauld, H., Bartholomeu, D. C., Lennard, N. J., Caler, E., Hamlin, N. E., Haas, B. et al. (2005) The genome of the African trypanosome *Trypanosoma brucei*. Science, 309, 416–422.
- Burki, F., Shalchian-Tabrizi, K., Minge, M., Skjaeveland, A., Nikolaev, S. I., Jakobsen, K. S. and Pawlowski, J. (2007) Phylogenomics reshuffles the eukaryotic supergroups. PLoS ONE, 2, e790.
- Colbourne, J. K., Pfrender, M. E., Gilbert, D., Thomas, W. K., Tucker, A., Oakley, T. H., Tokishita, S., Aerts, A., Arnold, G. J., Basu, M. K. et al. (2011) The ecoresponsive genome of *Daphnia pulex*. Science, 331, 555–561.
- Dodge, J. D. (1965) Chromosome structure in the dinoflagellates and the problem of the mesocaryotic cell. Excerpta Med. Int. Congr. Ser., 91, 339–345.
- Eisen, J. A., Coyne, R. S., Wu, M., Wu, D., Thiagarajan, M., Wortman, J. R., Badger, J. H., Ren, Q., Amedeo, P., Jones, K. M. et al. (2006) Macronuclear genome sequence of the ciliate *Tetrahymena thermophila*, a model eukaryote. PLoS Biol., 4, e286.
- Fojtova, M., Wong, J. T., Dvorackova, M., Yan, K. T., Sykora, E. and Fajkus, J. (2010) Telomere maintenance in liquid crystalline chromosomes of dinoflagellates. Chromosoma, 119, 485–493.
- Gardner, M. J., Hall, N., Fung, E., White, O., Berriman, M., Hyman, R. W., Carlton, J. M., Pain, A., Nelson, K. E., Bowman, S. et al. (2002) Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Nature, 419, 498–511.
- Gornik, S. G., Ford, K. L., Mulhern, T. D., Bacic, A., McFadden, G. I. and Waller, R. F. (2012) Loss of nucleosomal DNA condensation coincides with appearance of a novel nuclear protein in dinoflagellates. Curr. Biol., 22, 2303–2312.
- Guillebault, D., Sasorith, S., Derelle, E., Wurtz, J. M., Lozano, J. C., Bingham, S., Tora, L. and Moreau, H. (2002) A new class of transcription initiation factors, intermediate between TATA box-binding proteins (TBPs) and TBP-like factors (TLFs), is present in the marine unicellular organism, the dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii*. J. Biol. Chem., 277, 40881–40886.
- Hackett, J. D., Scheetz, T. E., Yoon, H. S., Soares, M. B., Bonaldo, M. F., Casavant, T. L. and Bhattacharya, D. (2005) Insights into a dinoflagellate genome through expressed sequence tag analysis. BMC Genomics, 6, 80.
- Hadjebi, O., Casas-Terradellas, E., Garcia-Gonzalo, F. R. and Rosa, J. L. (2008) The RCC1 superfamily: from genes, to function, to disease. Biochim. Biophys. Acta, 1783, 1467–1479.
- Hou, Y. and Lin, S. (2009) Distinct gene number-genome size relationships for eukaryotes and non-eukaryotes: gene content estimation for dinoflagellate genomes. PLoS ONE, 4, e6978.
- Huang, J., Mullapudi, N., Sicheritz-Ponten, T. and Kissinger, J. C. (2004) A first glimpse into the pattern and scale of gene transfer in Apicomplexa. Int. J. Parasitol., 34, 265–274.
- Jaekisch, N., Yang, I., Wohlrab, S., Glöckner, G., Kroymann, J., Vogel, H., Cembella, A. and John, U. (2011) Comparative genomic and transcriptomic characterization of the toxigenic marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*. PLoS ONE, 6, e28012.
- Janouškovec, J., Tikhonenkov, D. V., Mikhailov, K. V., Simdyanov, T. G., Aleoshin, V. V., Mylnikov, A. P. and Keeling, P. J. (2013) Colponemids represent multiple ancient alveolate lineages. Curr. Biol., 23, 2546–2552.
- Kasinsky, H. E., Lewis, J. D., Dacks, J. B. and Ausió, J. (2001) Origin of H1 linker histones. FASEB J., 15, 34–42.
- Koyanagi, R., Takeuchi, T., Hisata, K., Gyoja, F., Shoguchi, E., Satoh, N. and Kawashima, T. (2013) MarinegenomicsDB: an integrated genome viewer for community-based annotation of genomes. Zool. Sci., 30, 797–800.
- Lin, S. (2011) Genomic understanding of dinoflagellates. Res. Microbiol., 162, 551–569.
- Liu, L. and Hastings, J. W. (2006) Novel and rapidly diverging intergenic sequences between tandem repeats of the luciferase genes in seven dinoflagellate species. J. Phycol., 42, 96–103.
- Lukes, J., Leander, B. S. and Keeling, P. J. (2009) Cascades of convergent evolution: the corresponding evolutionary histories of euglenozoans and dino-

- flagellates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 106, 9963–9970.
- Madhani, H. D. (2013) The frustrated gene: origins of eukaryotic gene expression. *Cell*, 155, 744–749.
- Moestrup, Ø. and Daugbjerg, N. (2007) On dinoflagellate phylogeny and classification *In*: Unravelling the algae. Brodie, J. and Lewis, J. (ed.). CRC press, pp. 215–230.
- Moreno Diaz de la Espina, S., Alverca, E., Cuadrado, A. and Franca, S. (2005) Organization of the genome and gene expression in a nuclear environment lacking histones and nucleosomes: the amazing dinoflagellates. *Eur. J. Cell Biol.*, 84, 137–149.
- Moustafa, A., Beszteri, B., Maier, U. G., Bowler, C., Valentin, K. and Bhattacharya, D. (2009) Genomic footprints of a cryptic plastid endosymbiosis in diatoms. *Science*, 324, 1724–1726.
- Nguyen, H. D., Yoshihama, M. and Kenmochi, N. (2007) The evolution of spliceosomal introns in alveolates. *Mol. Biol. Evol.*, 24, 1093–1096.
- Onuma, R. and Horiguchi, T. (2013) Morphological transition in kleptochloroplasts after ingestion in the dinoflagellates *Amphidinium poecilochroum* and *Gymnodinium aeruginosum* (Dinophyceae). *Protist*, 164, 622–642.
- Reyes-Prieto, A., Moustafa, A. and Bhattacharya, D. (2008) Multiple genes of apparent algal origin suggest ciliates may once have been photosynthetic. *Curr. Biol.*, 18, 956–962.
- Sala-Rovira, M., Geraud, M. L., Caput, D., Jacques, F., Soyer-Gobillard, M. O., Vernet, G. and Herzog, M. (1991) Molecular cloning and immunolocalization of two variants of the major basic nuclear protein (HCC) from the histone-less eukaryote *Cryptocodinium cohnii* (Pyrrhophyta). *Chromosoma*, 100, 510–518.
- Shinzato, C., Shoguchi, E., Kawashima, T., Hamada, M., Hisata, K., Tanaka, M., Fujie, M., Fujiwara, M., Koyanagi, R., Ikuta, T. et al. (2011) Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change. *Nature*, 476, 320–323.
- Shinzato, C., Inoue, M. and Kusakabe, M. (2014) A snapshot of a coral “holobiont”: a transcriptome assembly of the scleractinian coral, *Porites*, captures a wide variety of genes from both the host and symbiotic zooxanthellae. *PLoS ONE*, 9, e85182.
- 將口栄一 (2013) サンゴに共生する渦鞭毛藻類のユニークなゲノム構造. *生物の科学 遺伝*, 67, 466–471.
- Shoguchi, E., Shinzato, C., Kawashima, T., Gyoja, F., Mungpakdee, S., Koyanagi, R., Takeuchi, T., Hisata, K., Tanaka, M., Fujiwara, M. et al. (2013) Draft assembly of the *Symbiodinium minutum* nuclear genome reveals dinoflagellate gene structure. *Curr. Biol.*, 23, 1399–1408.
- Slamovits, C. H. and Keeling, P. J. (2008) Widespread recycling of processed cDNAs in dinoflagellates. *Curr. Biol.*, 18, R550–R552.
- Stover, N. A., Kaye, M. S. and Cavalcanti, A. R. (2006) Spliced leader trans-splicing. *Curr. Biol.*, 16, R8–R9.
- Thanaraj, T. A. and Clark, F. (2001) Human GC-AG alternative intron isoforms with weak donor sites show enhanced consensus at acceptor exon positions. *Nucleic Acids Res.*, 29, 2581–2593.
- Wisecaver, J. H., Brosnahan, M. L. and Hackett, J. D. (2013) Horizontal Gene transfer is a significant driver of gene innovation in dinoflagellates. *Genome Biol. Evol.*, 5, 2368–2381.
- Wisecaver, J. H. and Hackett, J. D. (2011) Dinoflagellate genome evolution. *Annu. Rev. Microbiol.*, 65, 369–387.
- Woehle, C., Dagan, T., Martin, W. F. and Gould, S. B. (2011) Red and problematic green phylogenetic signals among thousands of nuclear genes from the photosynthetic and apicomplexa-related *Chromera velia*. *Genome Biol. Evol.*, 3, 1220–1230.
- Wong, J. T., New, D. C., Wong, J. C. and Hung, V. K. (2003) Histone-like proteins of the dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii* have homologies to bacterial DNA-binding proteins. *Eukaryot. Cell*, 2, 646–650.
- Wu, X. and Sharp, P. A. (2013) Divergent transcription: a driving force for new gene origination? *Cell*, 155, 990–996.
- 山口晴代, 中山剛, 井上勲 (2008) クレプトクロロプラストを持つ原生生物, 特に渦鞭毛藻について. *原生動物学雑誌*, 41, 9–13.
- Zhang, H., Hou, Y., Miranda, L., Campbell, D. A., Sturm, N. R., Gaasterland, T. and Lin, S. (2007) Spliced leader RNA trans-splicing in dinoflagellates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 104, 4618–4623.