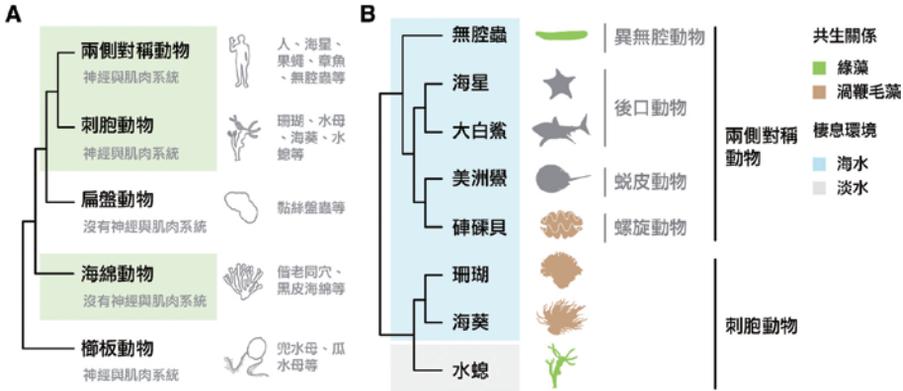


兼具動物與植物特徵的無腔蟲： 動物與藻類共生的演化

廖家誼、駱乙君

動物演化與藻類共生

截至目前為止，動物學家已經發現並記錄了超過兩百萬種的動物（Hotaling et al., 2021）。大多數的動物起源在很久遠以前，誕生於距今約五億五千萬到六億五千萬年前的寒武紀大爆發時期。透過DNA分子序列相似度的比較，我們推測現今兩百多萬種動物可能都來自一個生活在遠古海洋中的共同祖先。動物學家們為了更好地分類動物，依據形態和分子特徵，將牠們歸類為三十多個分類門。除了一般常見的「界、門、綱、目、科、屬、種」的分類階層之外，生物學家也常將所有動物分成五大類群：櫛水母動物、海綿動物、扁盤動物、刺胞動物（如水母和珊瑚，牠們用刺絲胞捕捉獵物與防衛）與兩側對稱動物，而兩側對稱動物是相對較晚出現的演化分支，共有二十八個分類門，包含現生主要的動物類群。兩側對稱動物可以再分成四個主要類群，分別為後口動物、蛻皮動物、螺旋動物與異無腔動物，其中包括大家最熟悉的昆蟲、魚類、鳥類和



圖一、(A)動物的演化及動物與藻類的共生現象。動物的親緣關係。(B)與藻類共生的動物在分類群中分佈的情形。只有很少數的動物演化出與藻類共生的能力，但我們對於其詳細的分子調控機制與演化來源並不清楚。

我們人類（圖一）。

在各個物種獨立演化的過程中，不同物種之間的相互作用有時會演化成共生關係。最奇妙的一種就是動物與藻類的體內共生（Animal-algal endosymbiosis）。某些動物會與綠藻或渦鞭毛藻建立互惠互利的共生關係：動物宿主透過共生藻的光合作用得到碳源養分，而共生藻則透過動物細胞的保護避免病毒感染並獲得營養鹽。最著名的例子是刺胞動物裡的石珊瑚，在內共生關係中，共生藻科（Symbiodiniaceae）的渦鞭毛藻住在珊瑚內胚層的共生細胞內，並以光合作用提供珊瑚宿主大部分的營養所需，是珊瑚能生活在營養鹽貧瘠水域的關鍵之一（van Oppen and Blackall, 2019）。珊瑚與藻類之間微妙的共生關係，構築了物種豐富且多樣的珊瑚礁生態系，並支持著超過25%海洋生物的生存與繁榮。一旦珊瑚礁環境遭受劇烈的自然或

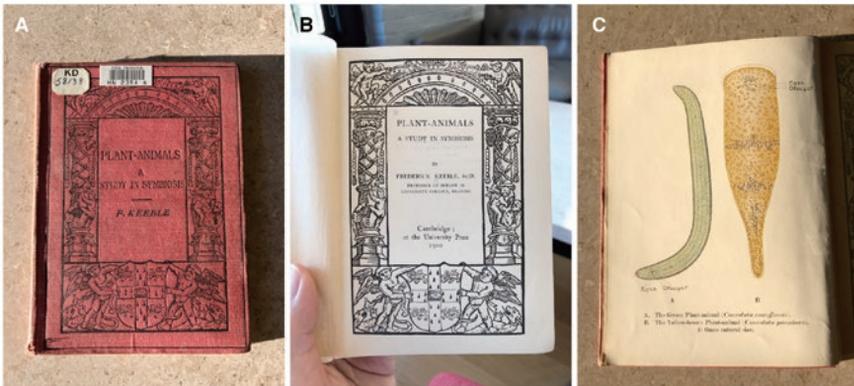
是人為改變，例如海水溫度上升或海水酸化，珊瑚會失去共生藻，導致珊瑚白化（Coral bleaching），最終將嚴重影響珊瑚礁生態系的健康。當環境改善時，珊瑚能再次與共生藻建立共生關係而復甦，但大多數的情況下，珊瑚會死亡，只留下白色的碳酸鈣骨骼，使得珊瑚礁生態系也變得毫無生機。

動物與藻類共生的生物多樣性

儘管有三十多個動物分類門，動物學家只有在海綿動物、刺胞動物、螺旋動物與異無腔動物，這四種類群中發現動物與藻類共生的現象。除了珊瑚之外，亦有其他的動物能與藻類共生，例如：刺胞動物的水螅能與小球藻屬的綠藻（*Chlorella*）與共生；螺旋動物的砗磲貝能與共生藻科的渦鞭毛藻共生（圖一）。由於在實驗室飼養珊瑚不易，且在缺乏細胞層次的觀察方法與相對應的分子生物技術下，直到今日，我們仍然不太清楚珊瑚與藻類是如何建立共生的關係。在異無腔動物中，早在1910年，英國的植物學家弗雷德里克·基布爾爵士（Sir Frederick Keeble）已對動物與藻類的共生現象做了詳細的觀察與描述，並發表了《植物動物：共生研究》（*Plant-animals: a study in symbiosis*）一書（圖二）。書中詳細記錄了一種生長在法國布列塔尼半島海岸的無腔蟲，學名為*Symsagittifera roscoffensis*，與扁藻屬的綠藻（*Tetraselmis*）共生。這種無

腔蟲廣泛的生活在北大西洋法國、英國與葡萄牙沿岸，牠們透過共生扁藻所行的光合作用獲取維持生活的養分。由於無腔蟲體內高密度的共生綠藻，使得其外觀呈現綠色，還因此被稱為「薄荷醬蟲」(Arboleda et al., 2018)。

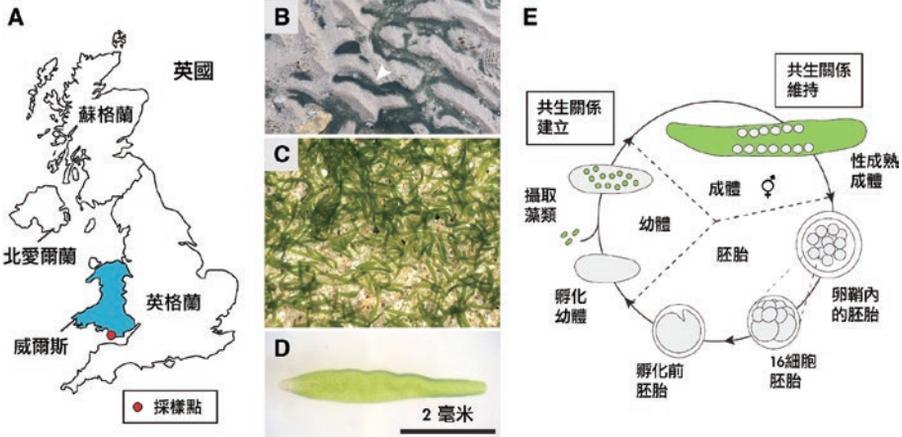
從遠遠的地方望過去，生活在潮間帶的無腔蟲就像是一般的海藻，很常被民眾忽略，且不論是形態或功能的分類上，牠們兼具動物與植物的特徵。我們在英國進行研究的期間，在合作者與當地居民的幫助下，在南威爾斯的海灘上，因緣際會地發現了科學上還沒有被報導過的*S. roscoffensis*族群，是該地區的新紀錄種。在基因定序後，我們發現該英國無腔蟲族群應該是一個新的族群，與生活



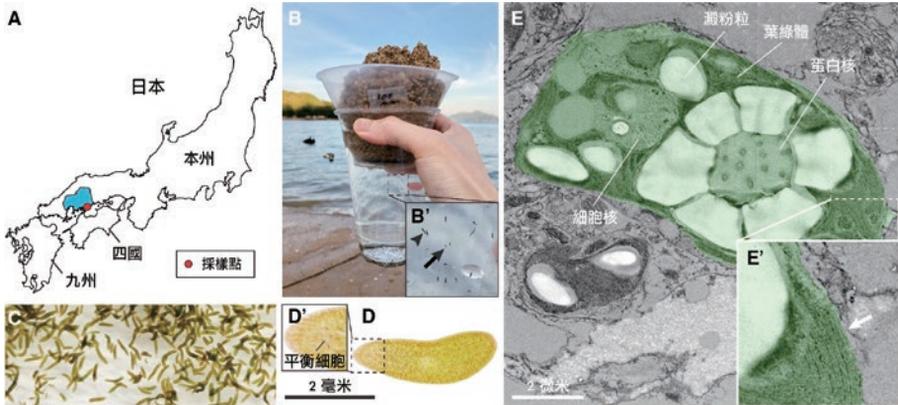
圖二、1910年由英國植物學家基布爾爵士出版的動物與植物共生經典書籍《植物動物：共生研究》。基布爾爵士於1913年當選皇家學會會士。(A)書本精裝的封面與(B)古典的內頁設計。(C)書中細緻的彩色插圖描繪出動物與綠藻共生的狀態。本書由劍橋大學出版社出版。

在南威爾斯另一處的族群在親緣關係上較為相近，而與法國的族群則較遠（圖三）。太平洋西岸日本的瀨戶內海裡有另外一種無腔蟲，日文稱為「內海無腸渦虫」，學名為 *Praesagittifera naikaiensis*。英國與日本的無腔蟲種類雖然不同，但與其共生的綠藻皆屬於 *Tetraselmis*（圖四）。無腔蟲的成體為雌雄同體，單一個體同時擁有雄性與雌性的生殖器官，在需要與別的個體交配時才會行有性生殖，牠們的受精卵會在一個與外界隔絕的卵膜裡發育，待胚胎發育到幼體階段，幼體會從卵膜孵出，開始攝食海水中的浮游生物與藻類。此時無腔蟲幼體會選擇性地與海水裡的綠藻共生，這種從外界獲得共生藻的方式稱作水平傳遞（Horizontal transmission），但科學界目前還不清楚其中的作用機制，有待我們更深入的研究。

上述兩種無腔蟲皆生活在海水鹽度較淡的區域，比如在河口附近與內海之中，鹽度約為3.0~3.1%，低於一般海水的3.5%，且因為其棲地的緯度較高，海水溫度亦較低，約為攝氏15~20度之間。目前尚未在台灣發現與綠藻共生的無腔蟲，不過我們發現台灣有 *Waminoa* 屬的無腔蟲，生活在較溫暖的珊瑚礁海域（圖五）。這種無腔蟲的共生藻與珊瑚類似，屬於共生藻科的渦鞭毛藻而非綠藻。另外有趣的是，不像其他無腔蟲由水平傳遞獲得共生藻，*Waminoa* 無腔蟲利用垂直傳遞（Vertical transmission）的方式，在卵細胞形成的過程中，由母體將體內的共生藻傳遞給子代，因此其共生藻的品系是代代相傳，無法從環



圖三、英國無腔蟲的採集。(A)位於威爾斯的採樣點。(B)遠望南威爾斯牛頓海灘沙質棲地的無腔蟲就像是海藻。(C)近看之下的無腔蟲是一條條的綠色且不斷游動的動物。(D)顯微鏡下的無腔蟲體內充滿共生綠藻。(E)無腔蟲的生命週期：幼體時期從海水中獲得共生的綠藻，成體為雌雄同體。

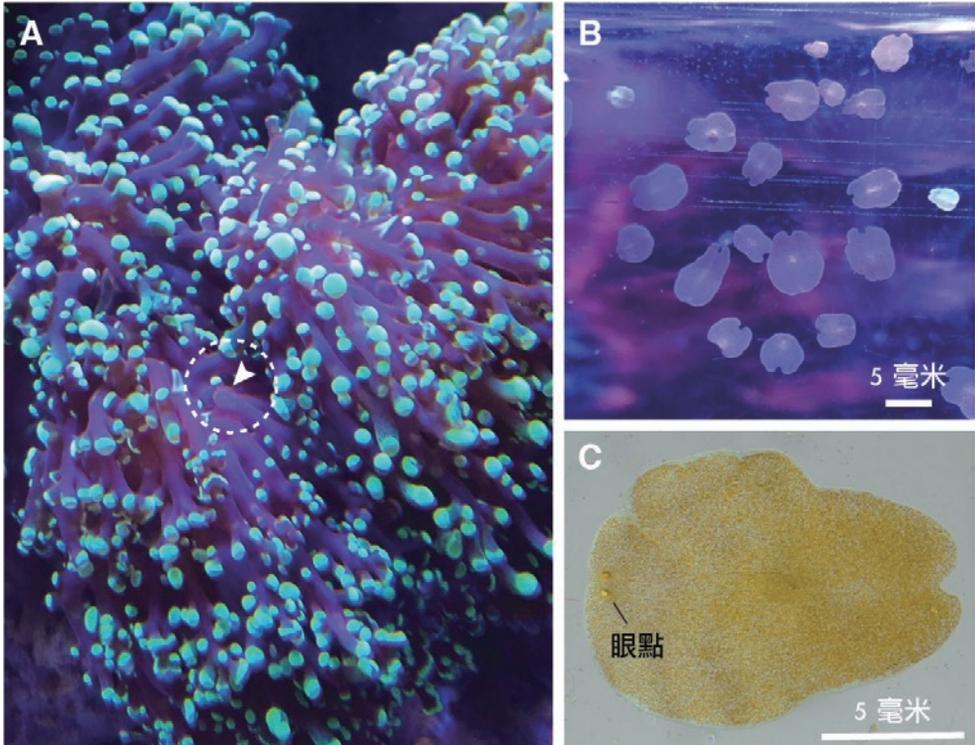


圖四、(A)日本無腔蟲的採集與共生藻的顯微結構。位於廣島的採樣點。(B)日本無腔蟲與英國無腔蟲的習性不同，常躲在沙子裡頭，(B、B' 箭頭與箭號)我們使用300微米的過濾網並利用其重力趨性採集個體。(C)成體的顏色不同於英國的無腔蟲，是比較深的墨綠色。(D)顯微鏡下的蟲體內呈現滿滿的綠藻。(D')成體的頭部具有一個感受重力的圓球狀平衡細胞。(E)電子顯微鏡下綠藻與無腔蟲共生的情況：我們發現共生的綠藻(綠色的部分)會失去鞭毛與細胞壁(E' 白色箭頭)，並合成大量的澱粉。註：微米(μm)比毫米(mm)小一千倍。

境中擷取。*Waminoa*無腔蟲在野外常被誤認為是螺旋動物裡頭的扁蟲（Flatworm）（Kunihiro et al., 2019），但其實這兩種動物屬於完全不同的分類門，以親緣演化上來說，*Waminoa*無腔蟲與英國和日本的無腔蟲同屬於異無腔動物，跟扁蟲有超過六億萬年的演化時距（Cannon et al., 2016），但目前我們對於*Waminoa*無腔蟲的生態與生理特性並不清楚，也有待科學家們更進一步的研究來多認識牠們。

無腔蟲的基因體與共生的演化

生命是訊息的聚集體，生物演化的歷史以化學結構組合的方式被儲存了下來，我們稱之為遺傳密碼，也就是我們熟悉的DNA。DNA由四個密碼字母A、C、T、G所構成，在人類的細胞裡，這些密碼被包裝在23對染色體內。這些字母不同的排列組合造就了各種不同功能的基因與多樣的生命藍圖，而一物種的所有DNA序列我們稱之為基因體。藉由基因定序技術，我們可以讀取這些密碼字母。近年來基因定序的速度及品質不斷地提高，所需費用也一直在下降，目前全基因體定序的價格只有二十年前的萬分之一。我們人類的基因體含有約30億個字母，在2001年定序一個人類的基因體需要花費30億元，而現在只需不到3萬元。由於定序技術的普及化，基因體定序的應用已從醫學相關的研究，擴展到各式各樣生物多樣性的研究上（Liao



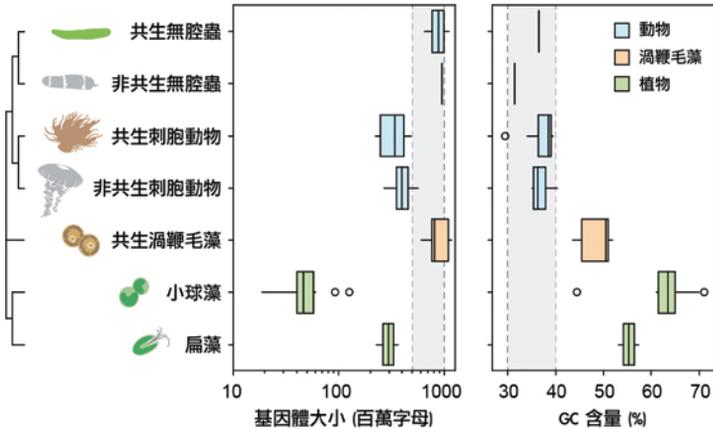
圖五、台灣的無腔蟲 *Waminoa* sp.。(A)我們在基隆潮境公園與潮境智能海洋館裡發現 *Waminoa* 無腔蟲的蹤跡。*Waminoa* 無腔蟲通常生活在珊瑚觸手的表面，以珊瑚黏液為食（虛線圓圈與箭頭處）。(B)大量爆發時的無腔蟲會充滿整個珊瑚養殖缸。(C)在顯微鏡下蟲體前端具有一對感光的眼點，體內則充滿共生藻科的黃褐色渦鞭毛藻，不同於英國和日本無腔蟲的共生綠藻。台灣的 *Waminoa* 無腔蟲尚未被系統的研究過，其多樣性有待我們去探索。

et al., 2023)。

相對人類，無腔蟲的身體構造非常簡單，既沒有體腔也沒有腦袋，但牠們的基因體大小仍約有人類的三分之一左右，這顯示牠們基因體的構造有一定的複雜性。根據目前定序草圖的結果，英國無腔蟲的基因體含有約9億個字

母 (Martinez et al., 2023)，其它非共生性無腔蟲的基因體則有約8億個字母 (Gehrke et al., 2019)。基因體的大小反映了該物種的演化歷程，常與物種所含的基因數目與重複序列的多寡有關。除了比較基因體的整體大小之外，基因體中特定字母所佔的比例可以當作識別物種的標記，由於各物種的GC含量皆不相同，比較各個物種在其基因體內的GC含量，也就是G和C字母在所有DNA序列內所佔的比例，可以用來分類基因序列與判斷種間的差異。

以動物基因體來說，無論是否具有共生，其基因體的大小沒有顯著差異，無腔蟲的基因體大約是8至9億個字母，而刺胞動物約為4億個字母，動物基因體的GC含量主要都介於30%至40%左右，這是動物基因的一個主要特徵。共生渦鞭毛藻雖然是單細胞生物，但其基因體卻特別的大，約有10億個字母，其中GC含量則介於40%到50%左右。而綠藻，包括小球藻與扁藻，其基因體皆非常小，只有約5,000萬至2億個字母，GC含量則與其他藻類近似，介於50%到60%之間。以基因體的GC含量而言，通常細菌與藻類會比動物高出許多，可藉此特徵區分出宿主與共生藻的基因進行個別研究，鑑別出與共生關係相關的基因，並建立各種共生無腔蟲的親緣關係，推衍出共生演化的起源 (圖六)。另外有趣的是，在植物裡頭，單細胞藻類的GC含量最高，而雙子葉植物的GC含量則最低，這些特性對於不同類群的演化和基因轉譯具有重要意義。



資料來源：美國國家生物技術資訊中心（NCBI）。

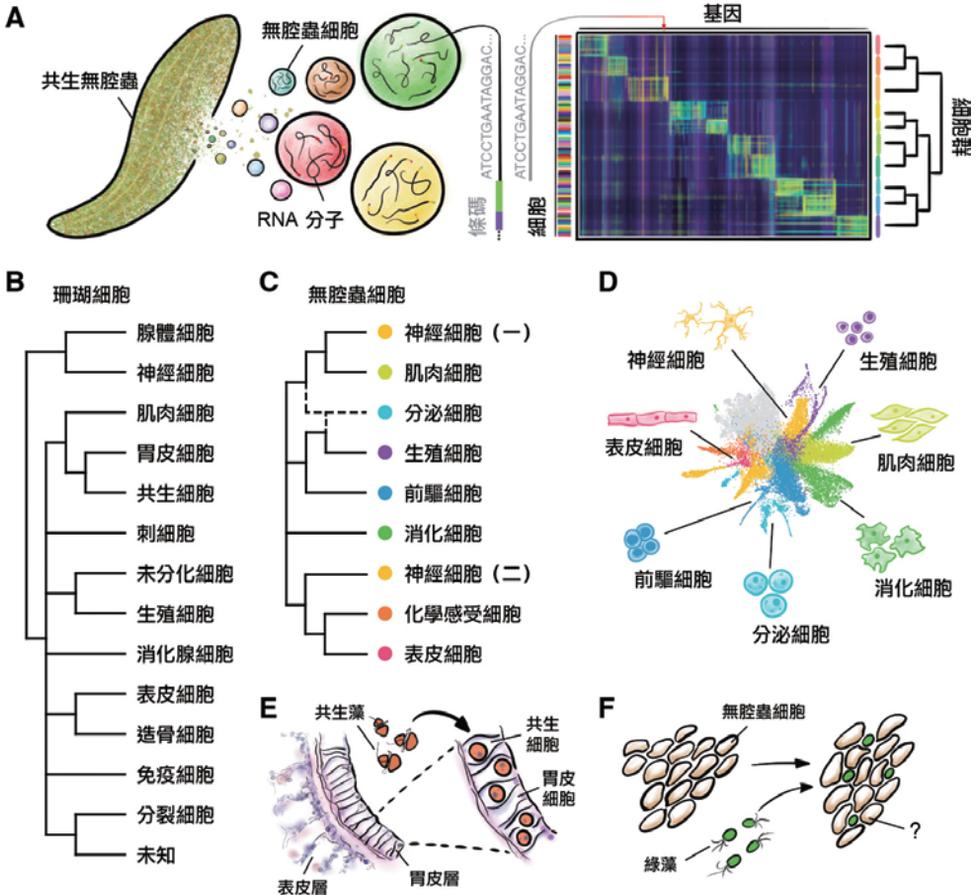
圖六、無腔蟲與藻類的基因體特徵統計圖。刺胞動物、無腔蟲與其共生藻類的親緣關係樹（左）、基因體大小（中）、以及GC含量比較（右）的箱形圖。箱形圖內的空白圓圈代表離群值、箱內的實線為中位數，灰色區域標示出兩側對稱動物基因體的一般特徵：基因體大小為5至10億個字母、GC含量為30%至40%。動物與藻類在GC含量上有明顯的差異。註：無腔蟲主要與綠藻（包括：小球藻與扁藻）共生，刺胞動物主要與渦鞭毛藻共生。

動物細胞的類型與共生能力的建立

在一動物體內，除了腫瘤細胞以外，無論是哪個部分的細胞，其內含的DNA都是一樣的。那為什麼會有不一樣功能的細胞呢？細胞的功能主要來自於它所組成的蛋白質，雖然細胞內含的DNA都是一樣的，但為了製造某種蛋白質，細胞會把DNA轉錄成mRNA，再將mRNA所攜帶的密碼轉譯成胺基酸，胺基酸就是組成蛋白質的基礎元件。

因此透過分析細胞裡的RNA表現，我們可以得知被製造出的蛋白質種類，再依此去推測該細胞的功能與種類。一旦得到了一組好的基因體，我們可以將此做為全基因表現的參考背景，再透過分析RNA序列，即可了解基因表現與調控的狀態。我們實驗室使用單細胞RNA定序（Single-cell RNA sequencing）技術，試圖了解無腔蟲與共生藻之間在細胞層次上的基因調控（Svensson et al., 2018）。

要達到細胞層次的解析度，先要小心翼翼地將無腔蟲裡的細胞，用不含鈣鎂離子的特製人工海水分散開來，接著將代表來源細胞的條碼銜接在每顆細胞內的mRNA上，並使用反轉錄酵素將mRNA反轉錄為cDNA，接下來則使用次世代定序平台（例如Illumina）來大量定序。當定序完成後，我們根據上述的條碼及生物資訊的方法，即可得知每段RNA是來自於哪一顆細胞，獲得細胞層次的基因表現資訊（圖七）。細胞是生命現象的根源，地球上的生命以千百種姿態呈現，但無論是簡單或複雜的生物，其構成的基本單元都是細胞。在動物發育的早期階段，有一種特殊的細胞叫做全能幹細胞，在細胞分化的過程中，全能幹細胞的後代會逐漸失去某些分化能力而形成多功能幹細胞，這些多功能幹細胞最終會分化成功能專一性的細胞，例如：神經、肌肉或骨骼細胞等。幹細胞的特殊分化潛力，在醫學上有重要的價值，也是科學家長久以來持續在探討的重要生命機制之一。而在共生的過程中，幹細胞的分化與共生關係的維持亦相當的重要，但我們一直都缺乏這方



圖七、英國無腔蟲的單細胞定序與細胞類型。(A)無腔蟲成體以特製的人工海水分散細胞，接著在個別細胞的RNA末端拼接上識別條碼，並進行單細胞RNA定序。根據得到的序列片段將細胞的基因表現進行相似性分類；左側卡通圖，不同顏色代表不同細胞；右側熱圖，亮綠色表示基因表現)。(B)細胞專一性基因表現分析呈現出不同功能細胞的分類關係 (Levy et al., 2021)。(C)比較無腔蟲細胞與其他生物細胞的同源基因在表現上的相關性，初步研究結果得知在無腔蟲不同種類細胞之間的演化關係。(D)以二維圖像 (UMAP簡化) 的方式呈現英國無腔蟲各細胞間RNA表現的關係，每一個色點代表一個細胞，色點之間的距離愈近代表轉錄狀態愈類似。(E)渦鞭毛藻在刺胞動物的胃皮層內建立共生關係並形成共生細胞 (右側為胃皮層放大圖)。(F)綠藻在無腔蟲的細胞間隙建立共生關係，目前尚未確定其周圍的細胞類型，有待進一步的研究。

面的相關研究。

透過單細胞RNA定序方法，我們可以觀察到一個生命體，在特定的發育時間點下，其各種基因的表現狀態，藉此鑑別出不同的細胞種類。以我們有興趣的動物與藻類的共生關係來看，科學家發現珊瑚的共生細胞與胃皮細胞在基因表現上很相似（Levy et al., 2021），因此推論共生細胞可能是由某一種特定轉錄狀態的胃皮細胞，在吞噬共生藻後特化而來。藉此發現，科學家可以更深入去了解共生建立的過程，探討動物細胞跟藻類細胞是如何產生交互作用與調控基因表現。此外，科學家也觀察到生殖細胞與未分化細胞擁有相似的基因表現，而腺體細胞與神經細胞在基因表現上與其他細胞差異最大，顯示分化的路徑不同。我們對於英國無腔蟲的初步研究發現，生殖細胞與前驅細胞的轉錄狀態較接近，類似上述在珊瑚的研究結果。我們也觀察到英國無腔蟲的神經細胞明顯可分為兩群：第一群神經細胞與上皮細胞有較近的關係，功能為化學感受；第二群則較接近肌肉細胞，顯示神經細胞的演化依據其功能有多樣的來源（圖七）。在與綠藻共生的英國無腔蟲中，目前只觀察到綠藻生活在無腔蟲的細胞間隙，尚未有明確的證據指出與共生相關的特定細胞存在，希望未來可以藉由更多的細胞與分子層次的分析方法，來更進一步地了解建立共生的調控機制。

結語

地球上豐富與複雜的生物樣貌，都記錄在四個DNA字母的排列組合中。隨著科技的發展，我們已經定序出大量的DNA序列。儘管我們已經能窺探到生命所組成的藍圖，但仍有太多的未解之謎，期盼更多對基礎科學有興趣的人才投入解讀生命密碼的行列。生命樹上有許多親緣關係很疏遠的分支，這些看似毫不相干的物種間卻能以共生的方式一同生活，這是生命演化的一大驚奇。應用最新的研究方法與建立在實驗室的模式研究平台，能讓我們更深入地了解物種間彼此的關係，更加理解生物的演化是如何讓巨大的生命之樹維持美妙平衡。

致謝

感謝柯孟辰女士細心翻譯與潤飾、邱顛陵博士與呂在明博士的協助與校閱、趙淑妙博士用心修訂與提供寶貴的意見、呂美曄博士在基因定序上的協助、林岱枏女士在電子顯微鏡技術上的協助。感謝牛津大學Peter Holland教授與Peter Mulhair博士在英國無腔蟲採樣上的協助。感謝牛津布魯克斯大學合作者Jordi Solana博士與Elena Emili女士在採樣與單細胞定序上的協助。感謝廣島大學合作者田川訓史博士、有本飛鳥博士、與彦坂暁博士在日本無腔蟲採樣上的協助。感謝中央研究院細胞與個體生物研究所游智凱博

士與國立海洋科技博物館陳麗淑博士在台灣無腔蟲採樣上的協助。本研究由中央研究院生物多樣性研究中心、中央研究院前瞻計畫、皇家學會國際交流獎助，與國家科學及技術委員會臺英雙邊合作人員交流計畫經費支持。共生無腔蟲計畫初期感謝皇家學會牛頓國際獎學金的資助。非共生無腔蟲的基因體研究部分由人類前沿科學計畫長期獎學金資助。

參考文獻

1. Arboleda E et al. (2018) *BioEssays* 40, e1800107.
2. Cannon J et al. (2016) *Nature* 530, 89-93.
3. Gehrke AR et al. (2019) *Science* 363, eaau6173.
4. Hotaling S et al. (2021) *Proc Natl Acad Sci USA* 118, e2109019118.
5. Kunihiro S et al. (2019) *Zoology* 136, 125692.
6. Levy S et al. (2021) *Cell* 184, 2973-2987.e18.
7. Liao JY et al. (2023) *Brief Funct Genomics* 22, elad029.
8. Martinez P et al. (2023) *G3* 13, jkac336.
9. Svensson V et al. (2018) *Nat Protoc* 13, 599-604.
10. van Oppen MJH, Blackall LL (2019) *Nat Rev Microbiol* 17, 557-567.

後記

生命的起源與演化具有不可思議的多樣性與複雜性，愈研究會愈發現我們能了解、能夠觀察到的部分都實在是非常有限，只能讚嘆生命演化過程無盡形式的美麗。

作者簡介



廖家誼

中央研究院生物多樣性研究中心研究助理，美國塔夫茨大學數學系畢業。專長為資料分析與科學繪圖、研究興趣為基因演算法與動物演化生物學。很愛頭足類動物但更愛兩棲類動物。



駱乙君

中央研究院生物多樣性研究中心助研究員，日本沖繩科學技術大學院大學博士，美國哈佛大學與英國牛津大學博士後研究。專長為基因體學與演化發育生物學。研究興趣在於了解基因體如何調控動物體軸發育與細胞型態分化，藉此探索生命現象的生物多樣性與演化起源。研究主題涵蓋多種海洋無脊椎動物，如腕足動物海豆芽、無腔動物薄荷醬蟲、以及刺胞動物珊瑚等。