



## 比較ゲノム解析より明らかにされた緑色植物の初期進化

鈴木 重勝

国立環境研究所生物多様性領域（〒 305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2）

Shigekatsu Suzuki: Comparative genome analyses provide insights into early evolution of Viridiplantae. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 69: 86–94, July 10, 2021

Viridiplantae is mainly composed of Streptophyta and Chlorophyta. Chlorophyta is one of the most diverging algal group in terms of morphology, genetics, and ecology. Prasinophytes are a paraphyletic and early-diverging group in Chlorophyta. For this two decades, comparative genome analyses have been performed in mamiellophyceans, such as *Ostreococcus*, *Bathycoccus*, and *Micromonas*, because they are important primary producers in the Ocean. Recently, several complete genomes of the other lineages of prasinophytes were reported, and Prasinodermophyta, the third phylum of Viridiplantae, was proposed, based on genomic information. Here I summarize recent progress in the understanding of genomic evolution among prasinophytes, which should provide insights into early evolution of Viridiplantae.

**Key index words:** comparative genomics, genome evolution, green algae, Prasinodermophyta, prasinophyte

Biodiversity Division, National Institute for Environmental Studies, 16-2, Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan

Contact information: suzuki.shigekatsu@nies.go.jp

緑色植物 (Viridiplantae) は、大きく、アオサ藻綱などを含む緑藻植物 (Chlorophyta) と接合藻類や陸上植物などを含むストレプト植物 (Streptophyta) に分けられる (Lemieux *et al.* 2007, Pröschold & Leliaert 2007, Leliaert *et al.* 2012)。緑藻植物は、水域における主要な一次生産者で形態的、遺伝的、生態的多様性を保持している (Leliaert *et al.* 2012)。その中でもプラシノ藻類は緑色植物の初期分岐系統群の総称で、特に海洋環境における主要な真核藻類である (Sym 2015)。これまで、プラシノ藻類のゲノム解析の多くは、海洋生態系において大きな多様性をもつ *Ostreococcus*, *Micromonas*, *Bathycoccus* などのマミエラ藻綱 (Mamiellophyceae, clade II) の種を中心に行われてきた (Derelle *et al.* 2006, Palenik *et al.* 2007, Worden *et al.* 2009, Moreau *et al.* 2012, van Baren *et al.* 2016, Vannier *et al.* 2016, Blanc-Mathieu *et al.* 2017, Yau *et al.* 2020)。しかしながら、ここ数年で、*Cymbomonas* (ピラミモナス藻綱, Pyramimonadophyceae, clade I) (Burns *et al.* 2015), *Chloropicon* (クロロピコン藻綱, Chloropicophyceae, clade VII A, B) (Lemieux *et al.* 2019), *Picocystis* (ピコキスティス藻綱, Picocystophyceae, clade VII C) (Junkins *et al.* 2019), *Tetraselmis* (クロロデンドロン藻綱, Chlorodendrophyceae, clade IV) (Steadman Tyler *et al.* 2019), *Prasinoderma* (プラシノデルマ藻綱, Prasinodermophyceae, clade VI) (Li *et al.* 2020), *Pycnococcus* (プセウドスコウルフィエルディア目, Pseudoscourfieldiales, clade V) (Makita *et al.* 2021) など、さまざまな系統のプラシノ藻類のゲノム配列が報告されてきた (図 1, 2)。また、2021 年は初めてプラシノ藻類ゲノムが報告

されてから 15 年の節目にも当たる (Derelle *et al.* 2006)。そこで、本稿ではプラシノ藻類のゲノム解析の現状と将来の展望について紹介する。

## プラシノ藻類の系統とプラシノデルマ藻綱の設立

プラシノ藻類は複数のクレードから構成される側系統群であり (Nakayama *et al.* 1998, Viprey *et al.* 2008, Marin & Melkonian 2010, Li *et al.* 2020), いわゆる“コア緑藻類 (core-chlorophytes)”の祖先系統に相当する (Leliaert *et al.* 2012, Sym 2015) (図 2)。プラシノ藻類の多くは単細胞性で、鞭毛をもつ遊泳細胞と球状の不動性細胞が知られている (図 1)。その中でも、ピコプランクトンのプラシノ藻類は、比較可能な形態形質が少なく、形態形質に基づく分類が難しいことが知られており、それらの系統分類は分子系統解析や比較ゲノム解析に基づき行われてきた。特に顕著な例として、*Micromonas* が挙げられる。*Micromonas commoda* Baren, Bachy & Worden RCC299 は *Micromonas pusilla* (Butcher) Manton & Parke CCMP1545 に対して、明確に区別できる細胞形態をもたないが、系統的に異なるクレードに属している (Worden *et al.* 2009)。両種のゲノムには、少なくとも平均 19% のタンパク質コード遺伝子が片方のゲノムにしか存在しておらず、それぞれ異なる IE (introner elements) のモチーフ構造をもつという特徴がある (van Baren *et al.* 2016)。

*Palmophyllum* や *Verdigellas* などが含まれるパルモフィリム目 (Palmophyllales) は、パルメラ状で海洋深部に生息する大型藻として認識されてきた (Leliaert *et al.* 2011)。核コード

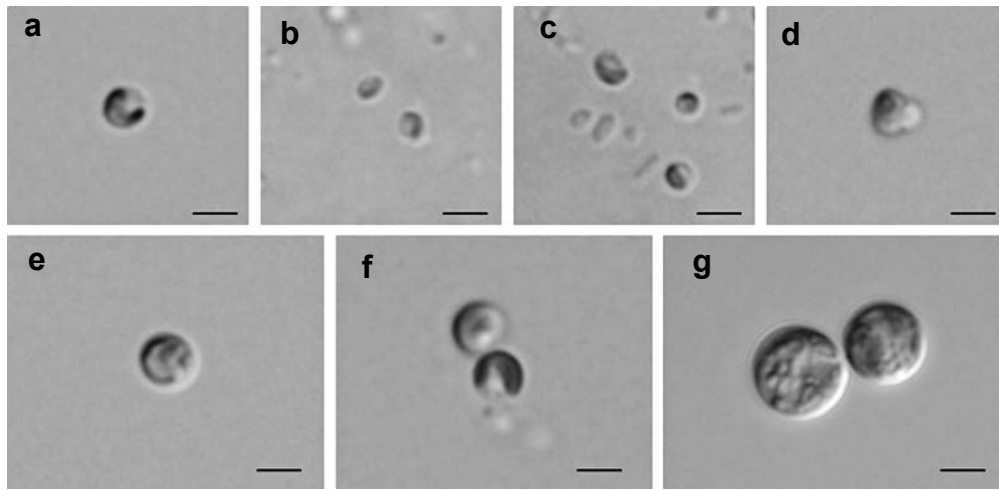


図 1. プラシノ藻類のゲノム解読種及びその近縁種. (a) *Micromonas pusilla* NIES-2672, (b) *Ostreococcus 'lucimarinus'* NIES-2895, (c) *Bathycoccus prasinos* NIES-2670, (d) *Chloropicon mariensis* NIES-2676, (e) *Prasinoderma coloniale* NIES-2582, (f) *Picocystis* sp. strain ML, (g) *Pycnococcus provasolii* NIES-2893. スケールバーは 2  $\mu\text{m}$  を示す.

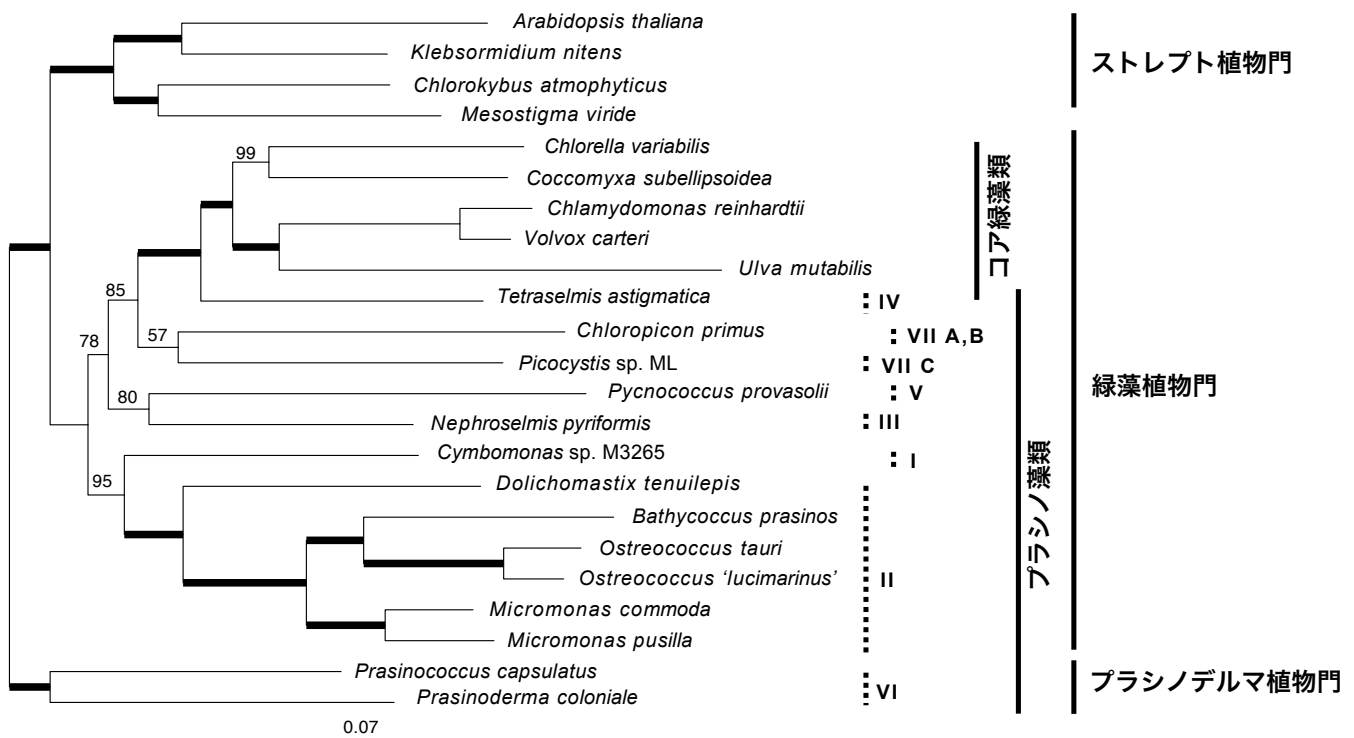


図 2. プラシノ藻類の系統関係. Makita *et al.* (2021) のデータセットに *Cymbomonas* sp. M3265 (XIVI, OneKP) と *Picocystis* sp. ML のタンパク質データを加え、最尤法により系統解析を行った. 解析方法も Makita *et al.* (2021) による. データセットは 88 タンパク質 (33,258 アミノ酸) で構成された. ブートストラップ (BP) 解析は 200 回反復して実施され, BP 値を各ノード上に示した. 太線は BP = 100% を示す. 点線にプラシノ藻類のクレード名を付した.

18S rRNA 遺伝子や葉緑体ゲノムコード遺伝子を用いた分子系統解析により, パルモフィウム目は単細胞性の *Prasinoderma* や *Prasinococcus* (プラシノコッカス目, Prasinococcales) と姉妹群を形成した (Zechman *et al.* 2010, Leliaert *et al.* 2016).

しかし, 少数の遺伝子を用いた分子系統解析では, それらの単系統性や系統的位置が不明瞭であった. 近年, *Prasinoderma coloniale* T. Hasegawa & Chihara の全ゲノム配列が解読され, ゲノム情報やトランスクリプトーム情報を用いて, 大規模な

表 1. プラシノ藻類と緑色植物の主要系統のゲノム統計情報

|            |                                     | 染色体数 | アセンブリサイズ (Mbp) | 遺伝子数   |
|------------|-------------------------------------|------|----------------|--------|
| プラシノデルマ植物門 | <i>Prasinoderma coloniale</i>       | 22   | 25.3           | 7,139  |
| 緑藻植物門      | <i>Micromonas commoda</i>           | 17   | 21.0           | 10,262 |
|            | <i>Micromonas pusilla</i>           | 21   | 21.9           | 9,829  |
|            | <i>Bathycoccus prasinus</i>         | 19   | 15.1           | 7,900  |
|            | <i>Ostreococcus tauri</i>           | 20   | 12.9           | 7,669  |
|            | <i>Ostreococcus 'lucimarinus'</i>   | 21   | 13.2           | 7,651  |
|            | <i>Cymbomonas tetramitiformis</i> * | NA** | 264.5          | 37,366 |
|            | <i>Pycnococcus provasolii</i> ***   | 43   | 22.7           | 11,297 |
|            | <i>Picocystis</i> sp. ML            | NA   | 29.5           | 5,613  |
|            | <i>Chloropicon primus</i>           | 20   | 17.4           | 8,327  |
|            | <i>Tetraselmis striata</i>          | NA   | 232.1          | 46,696 |
|            | <i>Chlorella variabilis</i>         | 12   | 46.2           | 9,791  |
|            | <i>Coccomyxa subellipsoidea</i>     | 20   | 49.0           | 9,851  |
|            | <i>Ulva mutabilis</i>               | NA   | 98.5           | 12,920 |
|            | <i>Rhaphidoselis subcapitata</i>    | NA   | 51.2           | 13,383 |
|            | <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>    | 17   | 111.1          | 16,403 |
|            | <i>Volvox carteri</i>               | 19   | 131.2          | 13,076 |
| ストレプト植物門   | <i>Mesostigma viride</i>            | 5    | 441.7          | 29,795 |
|            | <i>Chlorokybus atmophyticus</i>     | NA   | 74.3           | 9,300  |
|            | <i>Klebsormidium nitens</i>         | NA   | 103.9          | 16,132 |
|            | <i>Arabidopsis thaliana</i> ****    | 5    | 119.1          | 27,416 |

アセンブリサイズと遺伝子数は基本的に PhycoCosm (Grigoriev *et al.* 2021) に掲載されている値に基づく

プラシノ藻類の種名は太字で示す

\*Burns *et al.* (2015)

\*\*Not available

\*\*\*Makita *et al.* (2021)

\*\*\*\*TAIR10 (Lamesch *et al.* 2012)

多遺伝子分子系統解析が行われた (Li *et al.* 2020)。その結果、プラシノコッカス目の種が、緑藻植物とストレプト植物の共通祖先と姉妹群を形成することが、高い統計的支持率で示された。つまり、緑色植物の中で、プラシノコッカス目が最も早く分岐したことを示している。Li *et al.* (2020) は、系統解析の結果に加え、*Prasinoderma coloniale* のゲノム構造が緑藻植物とストレプト植物の中間的な形質を示すことに基づき (後述)、新門プラシノデルマ植物門 (Prasinodermophyta) を提唱した。*Prasinoderma coloniale* は球状で不動性のピコプランクトンで、鞭毛や鱗片などの他のプラシノ藻類にみられる形態的な特徴は知られていない (Hasegawa *et al.* 1996)。

## プラシノ藻類ゲノムの特徴

これまで利用可能な配列情報をもとに、一般的なプラシノ藻類のゲノムの特徴と、各グループの特にユニークなゲノム形質について述べる。藻類ゲノムの統合データベースである PhycoCosm (Grigoriev *et al.* 2021) には、2021 年 5 月 11 日時点で、11 株のプラシノ藻類ゲノムが登録されている (本稿では、ゲノムサイズや遺伝子数は基本的に PhycoCosm に掲載されている最新の値を示す)。また最近、我々は *Pycnococcus provasolii* R. R. L. Guillard の全ゲノム配列を報告した (Makita *et al.* 2021)。それらのゲノムは基本的に 13–30 Mbp (最小は *Ostreococcus tauri* Courties & Chrétiennot-Dinet RCC4221, 最

大は *Picocystis* sp. ML) であり、およそ 5,000–12,000 タンパク質コード遺伝子をもっている (表 1)。例外的に、*Tetraselmis striata* Butcher と *Cymbomonas tetramitiformis* J. Schiller は、228 Mbp (Steadman Tyler *et al.* 2019), 850 Mbp–1.2 Gbp (Burns *et al.* 2015) という大きなゲノムをもつと考えられている。マミエラ藻綱の種は互いによく似たゲノム構造・遺伝子セットを保持している。しかし、*Prasinoderma coloniale*, *Chloropicon primus* Lopes dos Santos & Eikrem, *Pycnococcus provasolii* は、ゲノムサイズこそ似ているが、遺伝子構成は大きく異なることがわかってきた (Lemieux *et al.* 2019, Li *et al.* 2020, Makita *et al.* 2021)。

## 1. マミエラ藻綱 (Mamiellophyceae)

マミエラ藻綱 (*Micromonas*, *Bathycoccus*, *Ostreococcus*) のゲノムは、基本的に染色体レベルにアセンブリされており、17–21 本の染色体で構成されている。ゲノムサイズは 13–22 Mbp で、7,651–10,262 個のタンパク質コード遺伝子を持ち、自由生活性の緑色植物の中でも高度に縮小化している。マミエラ藻綱は、全染色体のうち 2 本が、GC 含量や配列的特徴で区別される“外れ染色体” (outlier chromosomes) であるという特徴をもつ。そのうち、サイズの大きな方は big outlier chromosome (BOC), 小さな方は small outlier chromosome (SOC) と呼ばれている。他の染色体に対して、BOC は一

部の領域が低 GC 含量で、SOC は全体が低 GC 含量である (Blanc-Mathieu *et al.* 2017)。BOC にコードされる遺伝子の種類は近縁種間で比較的保存的であるが、SOC では大きく多様化している。また、両者ともに近縁種間で遺伝子配置が保存されるシンテニーは見られず、頻繁なゲノム再編成が予測されている。

BOC は 603–2,172 kbp の染色体であり (Yau *et al.* 2020)、性染色体であると考えられてきた (Derelle *et al.* 2006)。BOC の低 GC 含量領域では組み換えが抑制されており (Blanc-Mathieu *et al.* 2017)、性決定に関わり、RWP-PRK ドメインをもつ転写因子である *mid* のホモログがコードされている (Worden *et al.* 2009)。*Ostreococcus tauri* の近縁株間でのゲノム構造の比較によると、この領域には株間で高度に異なる遺伝子座があることが示された (Blanc-Mathieu *et al.* 2017)。比較した 5 株の中で、RCC4221 株のみが 650 kbp の遺伝子座 (*M*) をもち、*mid* がコードされていた。その他の 4 株には 450 kbp の遺伝子座 (*M'*) があり、*mid* はコードされなかった。したがって、RCC4221 株が交配型 - であることが示唆される。性染色体にコードされる 5 遺伝子の系統解析の結果、交配型 +、- それぞれにおいて、マミエラ藻綱の異なる種を含む単系統群が形成された。つまり、これらの性染色体の起源はマミエラ藻綱の分岐以前であり、種分化の過程でゲノム再編成を受けなかったことを意味する。また、突然変異のイベント数をもとにした集団遺伝学的な解析から、*Ostreococcus* では少なくとも 94,000 回の細胞分裂に 1 回の割合で減数分裂が生じることが予測され、有性生殖は存在するが、非常に稀な現象であると考えられている (Blanc-Mathieu *et al.* 2017)。

SOC は 102–637 kbp の染色体であり (Yau *et al.* 2020)、細胞表面構造に関わる膜タンパク質や複合糖質に関する遺伝子をコードすることから、藻類の病原体防御に関わる染色体であると考えられてきた (Derelle *et al.* 2006)。近年、実験室進化手法を用いて、SOC が藻類のウイルス防御に特化していることが明確に示された (Yau *et al.* 2016, 2020)。Yau *et al.* (2016) はウイルス感受性 *Ostreococcus tauri* の培養株を、*Ostreococcus tauri* から分離されたウイルス OtV5 に暴露し、生き残った細胞に再度 OtV5 を暴露させることで OtV5 耐性株を作出した。このウイルス耐性は約 2 年間にわたって保持されており、ウイルス耐性株は、実験初期はウイルスを再生産する R<sup>P</sup> 株であったが、時間経過とともに、ウイルスを再生産しない R<sup>NP</sup> 株が出現し、その割合が増加した。ウイルス耐性株の遺伝子発現を感受性株と比較したところ、170 遺伝子に有意な発現量の変動が見られ、そのうち 49 遺伝子は SOC にコードされていた。発現変動遺伝子には SOC にコードされる糖鎖輸送・代謝関連遺伝子が多く含まれていたことから、これらの遺伝子による糖質の修飾や代謝がウイルス抵抗性に関与していることが示唆された。SOC には大きな逆位反復領域 (~180 kbp; LIRR) があり、ウイルス抵抗性株で発現上昇した SOC 遺伝子がすべて LIRR にコードされていた。LIRR にコードされる遺伝子群は、ウイルス感受性株ではサイレンシ

ングされており、抵抗性株では共転写 (co-transcription) されることから、同じ転写制御因子でコントロールされていると考えられる。SOC の染色体サイズをパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) により調べると、ウイルス耐性株で変化が見られた (20–490 kbp の増加または 40–140 kbp の減少)。対象的に *Ostreococcus mediterraneus* B. Marin & N. H. Grimsley を用いて、ウイルス抵抗性株に突然変異を蓄積させることで、ウイルス感受性株が生じることも明らかとされた (Yau *et al.* 2020)。このウイルス感受性株では SOC のサイズが 95–435 kbp 減少していた。感受性株の 1 つをリシーケンスした結果、SOC の末端 58 kbp が欠失していることもわかった。この結果も、SOC がウイルス防御に関与していることを示している。

## 2. *Prasinoderma coloniale*

*Prasinoderma coloniale* は 22 本の染色体から構成される 25.3 Mbp のゲノムをもっており、そのゲノムには 7,139 個のタンパク質遺伝子がコードされている (Li *et al.* 2020)。近年の分子系統解析により、*Prasinoderma coloniale* は緑色植物の中で最も早く分岐したことが強く示唆された。系統関係を反映して、そのゲノム構造には、初期に分岐したストレプト植物と緑藻植物の中間的な特徴が見られる。*Prasinoderma coloniale* の遺伝子レパートリーを、ストレプト植物と緑藻植物における初期分岐系統の種と比較した結果、ストレプト植物と緑藻植物、それぞれに特異的なオルソロググループ (共通祖先の一つの遺伝子から派生した遺伝子セット) をほぼ同じ割合で保持していた。また、Pfam ドメインを用いた主成分分析により、緑藻植物、ストレプト植物、紅色植物、灰色植物のそれぞれとはグルーピングされなかった。このような本種のユニークなゲノムの特徴は、プラシノデルマ植物門が設立された根拠の一つである。遺伝子構造の観点では、*Prasinoderma coloniale* のゲノムを基準にすると、初期分岐ストレプト植物では平均イントロン長が増加し、エクソン長が減少する傾向が見られ、緑藻植物ではその逆の傾向が見られた。*Prasinoderma coloniale* の遺伝子コード領域はゲノムの 41% を占めており、これは初期分岐ストレプト植物より高く、緑藻植物より低い割合である。

*Prasinoderma coloniale* は 3,292 個のタンパク質コードのオルソロググループをストレプト植物 (*Chlorokybus atmophyticus* Geitler) と緑藻植物 (*Micromonas commoda*) と共有しており、どちらか片方と共有するものも含めた 4,092 オルソロググループが緑色植物の最小のコアゲノムであることが示唆される。*Prasinoderma coloniale* ゲノムには、114 種のうち 55 種 201 遺伝子の転写因子・転写制御因子が存在していた。これはストレプト植物や緑藻植物に比べて非常に少ない。これら 55 種のうち 50 種の転写調節タンパク質は紅色植物と灰色植物にも保存されており、アーケプラスチダの共通祖先がもっていた基本的な転写調節機構であることが示唆される。*Prasinoderma coloniale* は、紅色植物と灰色植物には見ら

れない5種の転写調節タンパク質をもっており (C2C2-Dof, WRKY, SBP, GARP\_ARR-B, TAZ), おそらく緑色植物の共通祖先で獲得された調節機構と考えられる。WRKY タンパク質は、有胚植物の発生、炭水化物合成、老化、生物的・非生物的ストレスへの反応を制御する重要なタンパク質である (Rinerson *et al.* 2015)。GARP\_ARR-B ファミリーは、植物のプラスチド生合成、概日時計の発振、サイトカニンシグナル、リン酸飢餓応答の制御などを調節している (Safi *et al.* 2017)。SBP-box TF は、有胚植物では多様な機能をもつが、緑藻植物では、微量金属のホメオスタシスを制御している (Kropat *et al.* 2005)。C2C2-Dof ファミリーは、*Chlamydomonas reinhardtii* P. A. Dangeard の接合体発芽の光制御に関与することが知られている (Moreno-Risueno *et al.* 2007)。

特筆すべきことに、*Prasinoderma coloniale* は真核生物で唯一、アスパラギン酸経路とキヌレニン経路の両方の NAD<sup>+</sup> 新生経路をもっていた。他の多くの真核生物はアスパラギン酸を出発基質とするアスパラギン酸経路と、トリプトファンを出発基質とするキヌレニン経路のいずれかによって、新規に NAD<sup>+</sup> を合成することが知られている。*Prasinoderma coloniale* では、キヌレニン経路はピコリン酸合成にも利用されている可能性も考えられる。ピコリン酸は鉄などの金属をキレートする性質があり、貧栄養環境における金属の取り込みに重要なものかもしれない。

### 3. *Chloropicon primus*

*Chloropicon primus* のゲノムは 17.4 Mbp であり、20 本の染色体から構成される。そのゲノムには 8,327 個のタンパク質コード遺伝子が存在する (Lemieux *et al.* 2019)。本種のゲノムサイズや遺伝子数は、プラシノ藻類の中でもマミエラ藻綱の *Ostreococcus*, *Bathycoccus* の次に小さい。系統関係を踏まえると、マミエラ藻綱の種と *Chloropicon primus* では独立にゲノムの縮小化と遺伝子の欠失が生じたと考えられている。*Chloropicon primus* のタンパク質コード遺伝子のうち 22.4% (1,909 遺伝子) は、比較的用いられた 12 種のストレプト植物、緑藻植物と共有されない本種独自のものであり、マミエラ藻綱の種と *Chloropicon primus* は同じピコプランクトンであっても、異なる形質をもつことが示唆される。

*Chloropicon primus* のゲノム構造の最大の特徴は、本種のゲノムが 2 倍体の特徴を示すことである。illumina ショートリードのゲノム配列へのマッピング解析の結果、7,282 個の一塩基多型 (SNP) と 2,048 個のショートインデルが検出された。染色体 IV と XVII を除き、各多型遺伝子座の対立遺伝子頻度は平均 50% で、これは細胞あたり 2 セットのゲノムがあることを意味する。染色体 XVII の対立遺伝子頻度は 33% と 66% の 2 つのピークが見られ、リードカバレッジも他の染色体の 1.5 倍であることから、3 倍体 (トリソミー) であることが示唆される。染色体 IV は複雑で、両パターン of 複合的な特徴をもち、2 倍体の形質から逸脱する (対立遺伝子頻度が 50% でない) 多型遺伝子座が染色体上の 420 kbp の領域に密集して

いるのが特徴的である。本種の生活環は知られていないが、Lemieux *et al.* (2019) は本種の栄養細胞が複相世代であると考察している。これは、アオサ藻綱以外の緑藻植物では極めて稀な特徴である。*Chloropicon roscoffensis* Lopes dos Santos & Eikrem では、フローサイトメトリーによる推定で、およそ半分の DNA 量をもつ培養株が見られることから (Lopes dos Santos *et al.* 2017), 株間で栄養細胞の核相が異なる可能性もある。*Chloropicon* における核相交代の詳細を明らかにするためには、減数分裂の誘導などのさらなる研究が必要であろう。

*Chloropicon primus* はプロピオン酸の分解に、2-メチルクエン酸サイクル (MCC) を利用する独自の経路をもっている。この経路によって、毒性のあるプロピオン酸をピルビン酸の形で炭素源として利用可能であることが示唆され、外洋のような栄養の限られた環境に適応した結果である可能性がある。

### 4. *Pycnococcus provasolii*

*Pycnococcus provasolii* は 22.7 Mbp のゲノムをもち、アセンブリによって得られた染色体は 43 本で、PFGE の結果と矛盾しなかった (Makita *et al.* 2021)。プラシノ藻類のゲノムは一部の種を除き、17–22 本の染色体で構成されており、*Pycnococcus provasolii* の染色体数はそれらのおよそ 2 倍であるため、*Pycnococcus provasolii* では独立に、ゲノムレベルの重複イベントが生じた可能性がある。*Pycnococcus provasolii* のゲノムには 11,297 個のタンパク質コード遺伝子が含まれていた。*Chloropicon primus* とマミエラ藻綱の種との比較を行ったところ、3,996 個のオルソロググループが全ての種で共有されていた。一方、3,636 オルソロググループ (全遺伝子の 43.5% が含まれる) は *Pycnococcus provasolii* にのみ見られることから、遺伝子レパートリーに高い独自性をもつことが示唆される。

特筆すべきことに、*Pycnococcus provasolii* のゲノムから、新規の光受容体デュアルクロムの遺伝子 (*duc1*) が発見された。緑藻植物は主要な光受容体としてクリプトクロム (Cry) とファイトクロム (Phy) を用いていることが知られている (Duanmu *et al.* 2014, Rockwell & Lagarias 2020)。Cry は青色光受容体であり緑藻植物全体で広く保存されているが、赤色光 / 遠赤色光受容体である Phy は、緑藻植物ではプラシノ藻類の一部の種のみに見られる。*Pycnococcus provasolii* がもつ *duc1* は、N 末端側に Phy, C 末端側に Cry との相同性をもつ融合遺伝子で、*Pycnococcus* とその近縁属である *Pseudoscurfieldia* にのみ存在していた。また、それらの姉妹群である *Nephroselmis* では、Phy と Cry は別々の遺伝子にコードされていた。つまり *Pycnococcus/Pseudoscurfieldia* の系統で独立に遺伝子融合イベントが生じたことが示唆される。本タンパク質を合成し、その吸収波長を調べたところ、N 末端側の Phy 部分は、橙色光により活性化され、遠赤色光により不活性化される可逆性が示された。対して、C 末端側の Cry 部分は青色光を吸収することがわかった。*Pycnococcus provasolii* は強光から弱光まで、多様な光条件下に生息しており、光受容体やそのほかの

光受容関連遺伝子を複数もつことで、環境適応している可能性がある。

##### 5. *Cymbomonas tetramitiformis*

Maruyama & Kim (2013) によって捕食性が示された *Cymbomonas tetramitiformis* は、プラシノ藻類の中でも特に例外的なゲノム構造をもつ (Burns *et al.* 2015)。フローサイトメトリーによるゲノムサイズの推定によると、本種のゲノムは 850 Mbp と予測された。さらに、k-mer の頻度による推測では、ゲノム全体は 1.2 Gbp であり、反復配列を除くと 270 Mbp と推測された。このようなリピートリッチでサイズの大きなゲノムは、これまでにプラシノ藻類では知られておらず、緑藻植物全体でも稀である。ゲノムアセンブリは 264.5 Mbp で 74,370 scaffolds から構成される (scaffold N50: 10 kbp)。本ゲノムは非常に断片化しているが、著者らは CEGMA (Parra *et al.* 2007) によってゲノムの完全性の評価を行い、比較的高い値 (76.6%) を得ている。*Cymbomonas tetramitiformis* のアセンブリには 37,366 個のタンパク質コード遺伝子が存在し、8,354 個のオルソロググループに分類された。これは *Chlamydomonas reinhardtii* のオルソロググループ (8,361 個) と同等である。つまり、*Cymbomonas tetramitiformis* は、ゲノムサイズや遺伝子数こそ増加しているが、緑藻植物の基本的な遺伝子セットをもつことが示唆される。

*Cymbomonas tetramitiformis* に加え、6 種の捕食性生物と 5 種の非捕食性生物のゲノムの比較から、捕食性生物に特異的な 399 個のタンパク質が予測された。これらのタンパク質を機能分類すると、飲作用、受容体介在エンドサイトーシス、アクチン細胞骨格形成、cGMP 代謝プロセス、細胞接着、細胞突起形成といった、ファゴサイトーシスに関連した機能に集中していた。対象的に、非捕食性生物のみに見られるタンパク質も 702 個予測され、トリプトファン、スレオニン、ヒスチジンなどのアミノ酸生合成に関わるタンパク質が含まれていた。これらの遺伝子は捕食性の獲得とともに、ゲノムから失われたと考えられる。同様の現象は捕食性バクテリアでも示されており (Shiratori *et al.* 2019)、捕食性生物共通の特徴かもしれない。

##### 6. *Picocystis* sp. ML

*Picocystis* は塩湖に生息するピコプランクトンで、カリフォルニアのアルカリ塩湖であるモノ湖から単離された、ML 株 (Stamps *et al.* 2018) のゲノムが解読されている (Junkins *et al.* 2019)。近縁種の *Picocystis salinarum* Lewin のゲノムサイズは、フローサイトメトリーによって、25 Mbp と推測されている (Lopes dos Santos *et al.* 2017)。ML 株のゲノムは 29.5 Mbp で、317 コンティグから構成されている (contig N50: 154 kbp)。現在、PhycoCosm (Grigoriev *et al.* 2021) 上のみで遺伝子モデルが公開されており、5,613 遺伝子がコードされるということであるが、他のプラシノ藻類と比較しても遺伝子数が明らかに少なく、過小評価であると思われる。現

在まで、比較解析などは行われていない。

##### 7. *Tetraselmis striata*

*Tetraselmis striata* のゲノムのアセンブリサイズは 232.1 Mbp と大きく、3,602 コンティグから構成されている (contig N50: 127 kbp) (Steadman Tyler *et al.* 2019)。ゲノムには 46,696 個のタンパク質コード遺伝子が予測されているが、この遺伝子数は緑藻植物の中でも著しく多い。現在、PhycoCosm に登録されている緑藻植物の中で、*Botryococcus braunii* Kützinger が 23,685 遺伝子と (Browne *et al.* 2017)、最も多い遺伝子をもっているが、*Tetraselmis striata* は *Botryococcus braunii* の約 2 倍の遺伝子数をもつことになる。現在まで、比較解析は行われていないが、ゲノム進化の観点から非常に興味深い種であり、詳細な比較ゲノム解析が待たれる。

#### 捕食性の進化

ゲノム情報を用いて、ある程度の正確性で藻類の栄養様式を予測することが可能になっている。Burns *et al.* (2018) は、*Cymbomonas* の比較ゲノム解析結果 (Burns *et al.* 2015) を拡大し、35 系統の真核生物ゲノムデータセットをもとに、食作用をもつ生物に多く含まれる 485 種類のタンパク質を含む、栄養様式を予測可能なタンパク質データセットを構築した。最近、このモデルをもとに、プラシノ藻類における包括的な捕食性の予測が行われた (Bock *et al.* 2021)。予測とともに行われた捕食実験では、CellTracker Green CMFDA という蛍光色素で染色した、バクテリアの生細胞を餌生物として添加した。その結果、特に栄養制限下において、*Pterosperma cristatum* J. Schiller NIES-626, *Pyramimonas parkeae* R. E. Norris & B. R. Pearson CCMP726/NIES-254, *Nephroselmis pyriformis* (N. Carter) H. Ettl RCC618, *Dolichomastix tenuilepis* Throndsen & Zingone CCMP3274 の 5 株で餌バクテリアの取り込みが観察された。死細胞やビーズの取り込みは観察できなかったことから、生細胞を嗜好することが示唆された。この結果はゲノムベースの予測モデルとよく一致していた。さらに、モデル解析からは *Crustomastix stigmatica* Zingone CCMP3273 や、*Chloropicon primus* CCMP1205, *Chloropicon laureae* Lopes dos Santos & Eikrem CCMP2175 の捕食性も予測された。特に *Chloropicon* は球状不動性のピコプランクトンであるために (図 1f)、捕食性を示唆する遺伝子を保存していることは驚きである。捕食性が予測された種に共通にみられる特徴として、ファゴソームから細胞表面への膜タンパク質のリサイクルを担う WASH タンパク質複合体 (Buckley *et al.* 2016) を構成する 4 つのサブユニット遺伝子を全て保持していることが挙げられている。

#### ペプチドグリカンの生合成経路

ペプチドグリカン (PG) の生合成には 10 種類のコア酵素が関与し、そのうち 7 種のタンパク質が UDP-N-アセチル-D-グルコサミン (GlcNAc) から GlcNAc-N-acetylmuramyl-

pentapeptide-pyrophosphoryl-undecaprenol への変換に用いられる (Lovering *et al.* 2012)。それら全ての酵素遺伝子が *Prasinoderma coloniale*, *Picocystis salinarum*, *Nephroselmis pyriformis*, *Micromonas* sp. CCMP2099, *Micromonas pusilla* のゲノムまたはトランスクリプトームに存在しており (van Baren *et al.* 2016, Li *et al.* 2020), これらの種では PG を合成可能であると示唆される。しかし, *Bathycoccus prasinus* や *Micromonas commoda*, *Ostreococcus* などでは, 多くの遺伝子が失われており, PG の合成能はプラシノ藻類で独立に複数回消失したと考えられる。また, これまでの透過型電子顕微鏡による微細構造観察では, プラシノ藻類の葉緑体周辺には PG は観察されていない (van Baren *et al.* 2016)。プラシノ藻類における PG の機能を理解するためには, 生化学的な手法による PG の検出や, PG 合成酵素の局在解析などの研究が必要であろう。

### 鱗片の生合成

多くのプラシノ藻類は細胞外皮構造として, 鱗片を細胞周縁や鞭毛に保持している。しかし, 鱗片の合成経路は未だよくわかっていない。マミエラ藻綱には, 鱗片をもつ *Bathycoccus* や *Dolichomastix* と, 鱗片をもたない *Micromonas* と *Ostreococcus* が含まれるため, これらの遺伝子レパートリーを比較し, 鱗片の生合成関連遺伝子の推測が試みられた (Moreau *et al.* 2012, van Baren *et al.* 2016)。鱗片をもつ種では, シアル酸転移酵素とノイラミニダーゼ (シアリダーゼ) 遺伝子が独自に増加していた。さらにゴルジ体を標的とするキシログルカンのフコース転移酵素も *Bathycoccus* と *Dolichomastix* にのみ存在した。したがって, これらの遺伝子群が鱗片形成や, 鱗片の細胞との接着に関与している可能性がある。

興味深いことに, これらの遺伝子群は球状で鱗片をもたない *Chloropicon primus* ゲノムにも保存されていた (Lemieux *et al.* 2019)。特に, シアル酸転移酵素が 59 遺伝子, ノイラミニダーゼが 9 遺伝子検出されたが, これらの発現量は総じて低かった。このことは, *Chloropicon primus* に未だ見つからない鱗片をもつ細胞ステージが存在することを示唆する。

### LHC (light-harvesting complex) の多様性

プラシノ藻類ゲノムにおいて, 光化学系の光捕集複合体 (LHC) を構成する, クロロフィルおよびカロテノイド結合タンパク質は大きな多様性をもっている (Koziol *et al.* 2007, Li *et al.* 2020)。特に光化学系 II タンパク質 (Lhcb) ファミリーの遺伝子数は顕著に増加している。マミエラ藻綱の種と *Pycnococcus provasolii* には, 少なくとも 5 つのプラシノ藻類特異的 LHCII タンパク質 (Lhcp) 遺伝子をもち (Koziol *et al.* 2007, Makita *et al.* 2021), その進化的起源はストレプト植物と緑藻植物の分岐以前であり (Koziol *et al.* 2007), Lhcp はプラシノ藻類の各系統でそれぞれ独立に増加したと考えられている (Makita *et al.* 2021)。例えば, *Pycnococcus provasolii* は 16 コピーの *lhcp* 遺伝子をコードしているが, そのうち 10

コピーは染色体 29 の 2 つの領域にクラスター化してコードされており, コピー間の配列はよく似ているため, *Pycnococcus provasolii* において複数回の遺伝子重複が生じたと考えられる。興味深いことに, *Chloropicon primus* は Lhcp をコードせず, 全てコア緑藻類に典型的なものである (Lemieux *et al.* 2019)。*Prasinoderma coloniale* ゲノムにも 19 コピーの Lhcb 遺伝子が存在し, 遺伝子重複によって増加したと考えられている (Li *et al.* 2020)。しかし, 現在のところ, *Prasinoderma coloniale* の Lhcb と, マミエラ藻綱と *Pycnococcus provasolii* がもつ Lhcp との間の系統的な関係性は不明瞭である。

### 鞭毛と有性生殖

ピコプランクトンのプラシノ藻類の多くは球状の不動性で鞭毛をもたない (Lopes dos Santos *et al.* 2017)。しかし, 鞭毛をもたない種であっても鞭毛関連遺伝子が保存されている場合があることが, ゲノム解析からわかってきた (Lemieux *et al.* 2019, Li *et al.* 2020)。Li *et al.* (2020) は, 緑色植物の主なゲノム解読種において, 鞭毛関連遺伝子の網羅的なオルソログ解析を行なった。その結果, *Chlorella*, *Coccomyxa*, *Ostreococcus*, *Bathycoccus* といった非鞭毛種では, 主要鞭毛タンパク質が 26 個以下で, 鞭毛関連タンパク質の総数が 140 個以下 (平均 117 個) であることが明らかになった。それに比べて, *Prasinoderma coloniale* のゲノムには, 50 個の主要鞭毛タンパク質を含む 217 個の鞭毛関連タンパク質遺伝子がコードされていることから, *Prasinoderma coloniale* には潜在的な鞭毛をもつ遊泳細胞ステージの存在が示唆される。*Chloropicon primus* でも同様に, 主要な鞭毛関連タンパク質遺伝子が保存されている (Lemieux *et al.* 2019)。

現在まで, プラシノ藻類において明確に有性生殖が観察されたのは *Nephroselmis* のみである (Suda *et al.* 1989, 2004)。しかし, 上述したように, マミエラ藻綱では, 性特異的遺伝子座の存在や, 低頻度の減数分裂の存在が予測されている。減数分裂関連遺伝子自体は, *Prasinoderma coloniale* (Li *et al.* 2020) や *Chloropicon primus* (Lemieux *et al.* 2019) のゲノムにも存在することがわかってきた。*Chloropicon primus* のゲノムは 2 倍体でヘテロ接合の特徴をもつが, *mid* のオルソログを含む明らかな性決定領域は見つかっていない (Lemieux *et al.* 2019)。

### 今後の展開

近年ゲノムシーケンス技術が劇的に進歩し, 高品質・高精度のゲノム配列を得ることが非常に簡便になってきた。特にその恩恵を受けているのが, バクテリアや菌類, 藻類などの比較的サイズの小さなゲノムをもつグループの研究であろう。本稿で紹介したプラシノ藻類の多くは, 10–30 Mbp という小さなゲノムをもっているため, PacBio や Nanopore などのロングシーケンスを用いることで, 容易にテロメア to テロメアの染色体レベルでギャップのないゲノム配列を得ることができる。しかし, 一次配列レベルの品質向上に比べて, ゲノム

のアノテーション技術については未だ発展途上である。データベース上に登録されているプラシノ藻類のゲノムの中にも、明らかに遺伝子モデルやアノテーションが不完全なものが見受けられる。このことは将来的な比較ゲノム解析において、間違った結果を招く大きな要因となりうる。最近によく洗練された真核生物用の統合的アノテーションパイプラインも発表されており (Banerjee *et al.* 2021), アノテーションの品質向上に役立つと思われる。

ようやく、藻類においてもゲノム情報の蓄積が進み、ゲノム情報から潜在的な形質や機能を予測できるようになってきた。例えば、緑色植物の共通祖先は、微細構造観察に基づき鱗片と鞭毛をもつと考えられてきたが (Stewart & Mattox 1978, Melkonian 1982), 多くのプラシノ藻類のゲノムに鱗片形成に関わる遺伝子や鞭毛関連遺伝子が保存されていることは、この考えを強く支持するものである。また、ゲノム情報からは、減数分裂や捕食性も緑色植物の祖先形質であることが示唆されている。このように、今後は、ゲノム解析と実際の生物を用いた解析の相互フィードバックがより重要になっていくであろう。

## 謝辞

本稿に含まれる筆者らの研究の一部は、JSPS 科研費 (19K15904), 公益財団法人発酵研究所一般研究助成 (G-2019-1-043) の支援を受け行われたものである。

## 引用文献

- Banerjee, S., Bhandary, P., Woodhouse, M., Sen, T. Z., Wise, R. P. & Andorf, C. M. 2021. FINDER: an automated software package to annotate eukaryotic genes from RNA-Seq data and associated protein sequences. *BMC Bioinformatics* 22: 205. doi:10.1186/s12859-021-04120-9
- Blanc-Mathieu, R., Krasovec, M., Hebrard, M. *et al.* 2017. Population genomics of picophytoplankton unveils novel chromosome hypervariability. *Sci. Adv.* 3: e1700239. doi:10.1126/sciadv.1700239
- Bock, N. A., Charvet, S., Burns, J. *et al.* 2021. Experimental identification and in silico prediction of bacterivory in green algae. *ISME J.* doi:10.1038/s41396-021-00899-w
- Browne, D. R., Jenkins, J., Schmutz, J. *et al.* 2017. Draft nuclear genome sequence of the liquid hydrocarbon-accumulating green microalga *Botryococcus braunii* race B (Showa). *Genome Announc.* 5: 17–19. doi:10.1128/genomeA.00215-17
- Buckley, C. M., Gopaldass, N., Bosmani, C. *et al.* 2016. WASH drives early recycling from macropinosomes and phagosomes to maintain surface phagocytic receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113: E5906–E5915. doi:10.1073/pnas.1524532113
- Burns, J. A., Paasch, A., Narechania, A. & Kim, E. 2015. Comparative genomics of a bacterivorous green alga reveals evolutionary causalities and consequences of phago-mixotrophic mode of nutrition. *Genome Biol. Evol.* 7: 3047–3061. doi:10.1093/gbe/evv144
- Burns, J. A., Pittis, A. A. & Kim, E. 2018. Gene-based predictive models of trophic modes suggest Asgard archaea are not phagocytotic. *Nat. Ecol. Evol.* 2: 697–704. doi:10.1038/s41559-018-0477-7
- Derelle, E., Ferraz, C., Rombauts, S. *et al.* 2006. Genome analysis of the smallest free-living eukaryote *Ostreococcus tauri* unveils many unique features. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 11647–11652. doi:10.1073/pnas.0604795103
- Duanmu, D., Bachy, C., Sudek, S. *et al.* 2014. Marine algae and land plants share conserved phytochrome signaling systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: 15827–15832. doi:10.1073/pnas.1416751111
- Grigoriev, I. V., Hayes, R. D., Calhoun, S. *et al.* 2021. PhycoCosm, a comparative algal genomics resource. *Nucleic Acids Res.* 49: D1004–D1011. doi:10.1093/nar/gkaa898
- Hasegawa, T., Miyashita, H., Kawachi, M. *et al.* 1996. *Prasinoderma coloniale* gen. et sp. nov., a new pelagic coccoid prasinophyte from the western Pacific Ocean. *Phycologia* 35: 170–176. doi:10.2216/i0031-8884-35-2-170.1
- Junkins, E. N., Stamps, B. W., Corsetti, F. A., Oremland, R. S., Spear, J. R. & Stevenson, B. S. 2019. Draft genome sequence of *Picocystis* sp. strain ML, cultivated from Mono Lake, California. *Microbiol. Resour. Announc.* 8: 17–19. doi:10.1128/MRA.01353-18
- Kozioł, A. G., Borza, T., Ishida, K.-I., Keeling, P., Lee, R. W. & Durnford, D. G. 2007. Tracing the evolution of the light-harvesting antennae in chlorophyll *a/b*-containing organisms. *Plant Physiol.* 143: 1802–1816. doi:10.1104/pp.106.092536
- Kropat, J., Tottey, S., Birkenbihl, R. P., Depège, N., Huijsen, P. & Merchant, S. 2005. A regulator of nutritional copper signaling in *Chlamydomonas* is an SBP domain protein that recognizes the GTAC core of copper response element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 18730–18735. doi:10.1073/pnas.0507693102
- Lamesch, P., Berardini, T. Z., Li, D. *et al.* 2012. The Arabidopsis information resource (TAIR): improved gene annotation and new tools. *Nucleic Acids Res.* 40: D1202–D1210. doi:10.1093/nar/gkr1090
- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H. *et al.* 2012. Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 31: 1–46. doi:10.1080/07352689.2011.615705
- Leliaert, F., Tronholm, A., Lemieux, C. *et al.* 2016. Chloroplast phylogenomic analyses reveal the deepest-branching lineage of the Chlorophyta, Palmophyllophyceae class. nov. *Sci. Rep.* 6: 25367. doi:10.1038/srep25367
- Leliaert, F., Verbruggen, H. & Zechman, F. W. 2011. Into the deep: new discoveries at the base of the green plant phylogeny. *Bioessays* 33: 683–692. doi:10.1002/bies.201100035
- Lemieux, C., Otis, C. & Turmel, M. 2007. A clade uniting the green algae *Mesostigma viride* and *Chlorokybus atmophyticus* represents the deepest branch of the Streptophyta in chloroplast genome-based phylogenies. *BMC Biol.* 5: 2. doi:10.1186/1741-7007-5-2
- Lemieux, C., Turmel, M., Otis, C. & Pombert, J.-F. 2019. A streamlined and predominantly diploid genome in the tiny marine green alga *Chloropicon primus*. *Nat. Commun.* 10: 4061. doi:10.1038/s41467-019-12014-x
- Li, L., Wang, S., Wang, H. *et al.* 2020. The genome of *Prasinoderma coloniale* unveils the existence of a third phylum within green plants. *Nat. Ecol. Evol.* 4: 1220–1231. doi:10.1038/s41559-020-1221-7
- Lopes dos Santos, A., Pollina, T., Gourvil, P. *et al.* 2017. Chloropicophyceae, a new class of picophytoplanktonic prasinophytes. *Sci. Rep.* 7: 14019. doi:10.1038/s41598-017-12412-5
- Lovering, A. L., Safadi, S. S. & Strynadka, N. C. J. 2012. Structural perspective of peptidoglycan biosynthesis and assembly. *Annu. Rev. Biochem.* 81: 451–478. doi:10.1146/annurev-biochem-061809-112742



- Makita, Y., Suzuki, S., Fushimi, K. *et al.* 2021. Identification of a dual orange/far-red and blue light photoreceptor from an oceanic green picoplankton. *Nat. Commun.* 12: 3593. doi.org/10.1038/s41467-021-23741-5
- Marin, B. & Melkonian, M. 2010. Molecular phylogeny and classification of the Mamiellophyceae class. nov. (Chlorophyta) based on sequence comparisons of the nuclear- and plastid-encoded rRNA operons. *Protist* 161: 304–336. doi.10.1016/j.protis.2009.10.002
- Maruyama, S. & Kim, E. 2013. A modern descendant of early green algal phagotrophs. *Curr. Biol.* 23: 1081–1084. doi.10.1016/j.cub.2013.04.063
- Melkonian, M. 1982. Structural and evolutionary aspects of the flagellar apparatus in green algae and land plants. *Taxon* 31: 255–265. doi.10.2307/1219989
- Moreau, H., Verhelst, B., Couloux, A. *et al.* 2012. Gene functionalities and genome structure in *Bathycoccus prasinos* reflect cellular specializations at the base of the green lineage. *Genome Biol.* 13: R74. doi.10.1186/gb-2012-13-8-r74
- Moreno-Risueno, M. Á., Martínez, M., Vicente-Carbajosa, J. & Carbonero, P. 2007. The family of DOF transcription factors: from green unicellular algae to vascular plants. *Mol. Genet. Genomics* 277: 379–390. doi.10.1007/s00438-006-0186-9
- Nakayama, T., Marin, B., Kranz, H. D. *et al.* 1998. The basal position of scaly green flagellates among the green algae (Chlorophyta) is revealed by analyses of nuclear-encoded SSU rRNA sequences. *Protist* 149: 367–380. doi.10.1016/S1434-4610(98)70043-4
- Palenik, B., Grimwood, J., Aerts, A. *et al.* 2007. The tiny eukaryote *Ostreococcus* provides genomic insights into the paradox of plankton speciation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 7705–7710. doi.10.1073/pnas.0611046104
- Parra, G., Bradnam, K. & Korf, I. 2007. CEGMA: a pipeline to accurately annotate core genes in eukaryotic genomes. *Bioinformatics* 23: 1061–1067. doi.10.1093/bioinformatics/btm071
- Pröschold, T. & Leliaert, F. 2007. Systematics of the green algae : conflict of classic and modern approaches. In: Brodie J. A. & Lewis J. (eds.) *Unravelling the algae: the past, present, and future of algal systematics*. pp.123–154. CRC Press, London.
- Rinerson, C. I., Rabara, R. C., Tripathi, P., Shen, Q. J. & Rushton, P. J. 2015. The evolution of WRKY transcription factors. *BMC Plant Biol.* 15: 66. doi.10.1186/s12870-015-0456-y
- Rockwell, N. C. & Lagarias, J. C. 2020. Phytochrome evolution in 3D: deletion, duplication, and diversification. *New Phytol.* 225: 2283–2300. doi.10.1111/nph.16240
- Safi, A., Medici, A., Szponarski, W., Ruffel, S., Lacombe, B. & Krouk, G. 2017. The world according to GARP transcription factors. *Curr. Opin. Plant Biol.* 39: 159–167. doi.10.1016/j.pbi.2017.07.006
- Shiratori, T., Suzuki, S., Kakizawa, Y. & Ishida, K. 2019. Phagocytosis-like cell engulfment by a planctomycete bacterium. *Nat. Commun.* 10: 5529. doi.10.1038/s41467-019-13499-2
- Stamps, B. W., Nunn, H. S., Petryshyn, V. A. *et al.* 2018. Metabolic capability and phylogenetic diversity of Mono Lake during a bloom of the eukaryotic phototroph *Picocystis* sp. strain ML. *Appl. Environ. Microbiol.* 84: 1–15. doi.10.1128/AEM.01171-18
- Steadman Tyler, C. R., Hovde, B. T., Daligault, H. E. *et al.* 2019. High-quality draft genome sequence of the green alga *Tetraselmis striata* (Chlorophyta) generated from PacBio sequencing. *Microbiol. Resour. Announc.* 8: 1–2. doi.10.1128/MRA.00780-19
- Stewart, K. D. & Mattox, K. R. 1978. Structural evolution in the flagellated cells of green algae and land plants. *Biosystems* 10: 145–152. doi.10.1016/0303-2647(78)90036-9
- Suda, S., Watanabe, M. M. & Inouye, I. 1989. Evidence for sexual reproduction in the primitive green alga *Nephroselmis olivacea* (Prasinophyceae). *J. Phycol.* 25: 596–600. doi.10.1111/j.1529-8817.1989.tb00266.x
- Suda, S., Watanabe, M. M. & Inouye, I. 2004. Electron microscopy of sexual reproduction in *Nephroselmis olivacea* (Prasinophyceae, Chlorophyta). *Phycol. Res.* 52: 273–283. doi.10.1111/j.1440-183.2004.00346.x
- Sym, S. D. 2015. Basal lineages of green algae – their diversity and phylogeny. In: Ohtsuka, S., Suzuki, T., Horiguchi, T., Suzuki, N. & Not, F. (eds.) *Marine protists*. pp. 89–105. Springer Japan, Tokyo.
- van Baren, M. J., Bachy, C., Reistetter, E. N. *et al.* 2016. Evidence-based green algal genomics reveals marine diversity and ancestral characteristics of land plants. *BMC Genomics* 17: 267. doi.10.1186/s12864-016-2585-6
- Vannier, T., Leconte, J., Seeleuthner, Y. *et al.* 2016. Survey of the green picoalga *Bathycoccus* genomes in the global ocean. *Sci. Rep.* 6: 37900. doi.10.1038/srep37900
- Viprey, M., Guillou, L., Ferréol, M. & Vault, D. 2008. Wide genetic diversity of picoplanktonic green algae (Chloroplastida) in the Mediterranean Sea uncovered by a phylum-biased PCR approach. *Environ. Microbiol.* 10: 1804–1822. doi.10.1111/j.1462-2920.2008.01602.x
- Worden, A. Z., Lee, J.-H., Mock, T. *et al.* 2009. Green evolution and dynamic adaptations revealed by genomes of the marine picoeukaryotes *Micromonas*. *Science* 324: 268–272. doi.10.1126/science.1167222
- Yau, S., Hemon, C., Derelle, E., Moreau, H., Piganeau, G. & Grimsley, N. 2016. A viral immunity chromosome in the marine picoeukaryote, *Ostreococcus tauri*. *PLoS Pathog.* 12: e1005965. doi.10.1371/journal.ppat.1005965
- Yau, S., Krasovec, M., Benites, L. F. *et al.* 2020. Virus-host coexistence in phytoplankton through the genomic lens. *Sci. Adv.* 6: eaay2587. doi.10.1126/sciadv.aay2587
- Zechman, F. W., Verbruggen, H., Leliaert, F. *et al.* 2010. An unrecognized ancient lineage of green plants persists in deep marine waters. *J. Phycol.* 46: 1288–1295. doi.10.1111/j.1529-8817.2010.00900.x

(2021 年 5 月 17 日受付, 2021 年 5 月 31 日受理)

通信担当編集委員: 平川 泰久