

車軸藻クレブソルミディウムのゲノムから見た植物の陸上化

堀孝一¹, 太田啓之^{1,2}

¹ 東京工業大学・大学院生命理工学研究科
現在の所属：東京工業大学・生命理工学院
〒226-8501 横浜市緑区長津田町 4259 B-65

² 東京工業大学・地球生命研究所
〒152-8550 東京都目黒区大岡山 2-12-1-IE-1

Koichi Hori¹ & Hiroyuki Ohta^{1,2}

Klebsormidium flaccidum genome reveals genome evolution for plant terrestrial adaptation

Key words: charophyte, klebsormidium, genome analysis, land colonization

¹Tokyo Institute of Technology, Department of Biological Sciences.

Present address : Tokyo Institute of Technology, School of Life Science and Technology

² Tokyo Institute of Technology, Earth-Life Science Institute.

地球における生命の歴史において、生命の陸上進出は多様な種を生み出し、現在の生物多様性の礎となっている。最初の生命の陸上進出の過程はいまだ不明な点が多く、植物よりはるか先にバクテリアの陸上進出があったと考えられている(Battistuzzi & Hedges 2009)。しかしながら、動物をはじめとした複雑な陸上生物を発達させ、今日の地球環境を形成するに至った直接の原動力として、光合成によって二酸化炭素を固定し有機物を合成できる植物の陸上進出は大きな役割を果たした事は確かである。本総説では植物の陸上化を解明するにあたって重要な位置づけにある車軸藻植物門のうち、クレブソルミディウム(*Klebsormidium flaccidum*)のゲノム解読と他生物との比較の結果を紹介する。

1. 植物の陸上化について

植物の陸上進出がいつ起きたのかは定かではなく、分子系統解析から有胚植物(陸上植物)の出現の推定年代も諸説あるのが現状である。しかしながら、分子系統解析と胞子の化石より約4億7千万年前にはすでに現生の陸上植物の共通祖先は誕生していたと考えられている(Rubinstein et al. 2010, Clarke et al. 2011, Magallón et al. 2013, Edwards & Kenrick 2015)。

陸上は、乾燥はもちろん強い紫外線、大きな温度変化、重力、栄養の欠乏など様々なストレスが存在する過酷な環境であり、植物が陸上進出するにあたって、これらのストレスに適応する必要があったと思われる。植物の陸上化はこのような当時の陸上環境に大きく影響を受ける一方、酸素濃度の増大(Parnell & Foster 2012)、二酸化炭素固定、風化作用や堆積(Scott & Glasspool 2006)など地球環境の形成に大きく寄与し、相互に深く影響を及ぼしあったと考えられる。

2. 陸上植物の起源

陸上植物は緑色藻類の一群から分岐し、現在の多様な陸上植物へと発展してきたが、どのような植物が陸上に進出し、どうやって陸上環境に適応し発展を遂げていったのだろうか。その解明には陸上植物に近い藻類の特性を明らかにし、他の藻類や陸上植物と比較することが重要なアプローチの一つとして期待される。

多様な藻類が存在する中で細胞分裂の特徴や系統解析から車軸藻植物門(Charophyta)に属する藻類が陸上植物に最も近いと考えられている(Lewis & McCourt 2004, Leliaert et al., 2012)。(車軸藻植物は多系統群であり、分類上の表記はまだ統一されていないが、本稿では Lewis & McCourt 2004 の分類に基づき車軸藻植物の分類を表記した。)車軸藻植物門はクロロキブス藻綱、クレブソルミディウム藻綱、コレオケーテ藻綱、接合藻綱、シャジク藻綱の5つの綱が含まれる(図1)。このなかで後者の3つは特に陸上植物に近いとされ、そのうちどの綱が陸上植物の姉妹群であるかは長らく議論が続いてきた。近年、転写産物情報の蓄積とともに、より精度の高い解析が行われ、現在は接合藻綱が陸上植物の姉妹群とする説が有力となっている(Timme et al. 2012, Wickett et al. 2014)。実際、31種類の保存された配列に基づいた図1の解析結果もそれを支持している。

我々は陸上化にいたる過程のより初期に、どのような遺伝子を獲得したのかという観点で植物の陸上進出について研究を進める事を考え、これらの車軸藻植物のうち比較的初期に分岐し、多細胞性であるがシンプルな体制を持つクレブソルミディウムのゲノム解読を進めた。

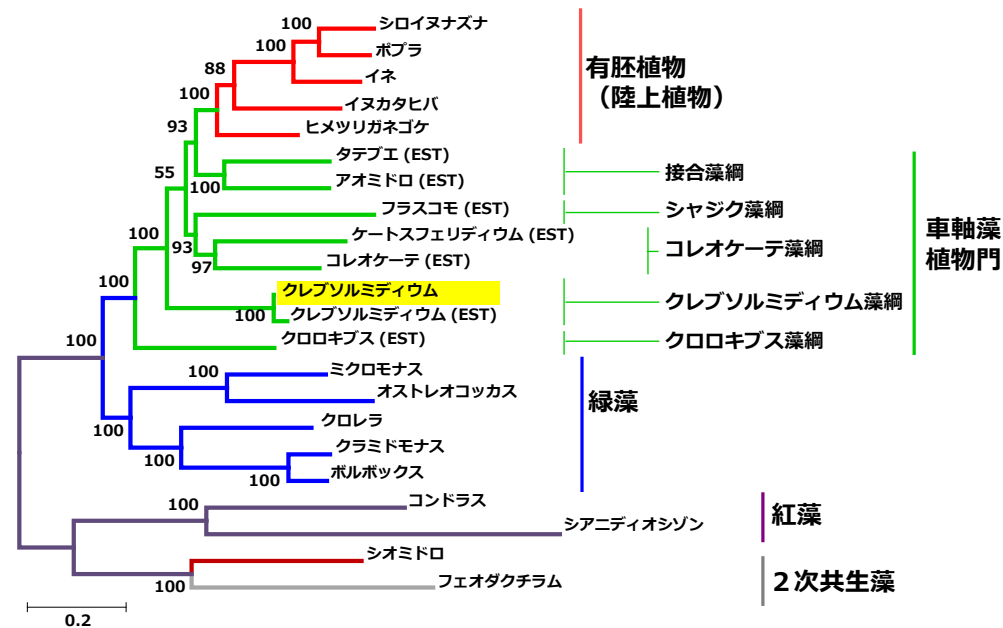


図1 31種類の保存されたタンパク質による系統樹
21生物種に共通して保存された核コードのタンパク質配列(一部EST配列から推定)を基に作成した最尤系統樹(Hori et al. 2014. Fig. 2を改変)

3. クレブソルミディウムとは

クレブソルミディウムは糸状性の多細胞の藻類であり、遊走子による無性生殖は報告されているが、細胞分化や有性生殖は報告されていない(図2a)。生息環境は淡水および陸上の湿潤な環境であり、世界中に分布する。藻類ではあるが、ある程度陸上環境に適応した気生藻類であり、乾燥(Morison & Sheath 1985, Elster et al. 2008, Karsten & Holzinger 2012)や凍結

K. Hori & H. Ohta-2

(Elster et al. 2008, Nagao et al. 2008)などストレスの強い環境でもある程度耐え、環境が良くなると再び増殖する事ができる。非常に身近な藻類でもあり、直遮光の当たらないコンクリート壁や路面などで水抜きパイプの脇など湿気の多い所にしばしば群集を形成している (図 2b, c)。どのような機構により、陸上環境へ適応しているのか明らかではないが、陸上環境への適応を明らかにしていくうえで非常に興味深い。ただし、クレブソルミディウムと陸上植物が分岐してから、クレブソルミディウムも独自の進化を遂げており、クレブソルミディウムと陸上植物に共通している形質が、真に共通派生形質であるのか注意を払う必要がある。

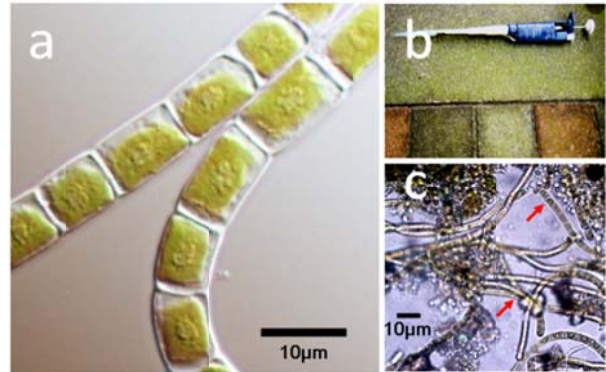


図2 クレブソルミディウムの顕微鏡写真
 a. *K. flaccidum* NIES-2285 株 (固体培地にて生育)
 b. クレブソルミディウムと思われる藻類が生育していたコンクリート路面
 c. (b)から採取した藻類の顕微鏡写真

4. 車軸藻植物門 *Klebsormidium flaccidum* (クレブソルミディウム) のゲノム解読

我々は国立環境研究所微生物系統保存施設より分譲を受けることができる *Klebsormidium flaccidum* NIES-2285 株 (以下本稿では *K. flaccidum* NIES-2285 株をクレブソルミディウムと表記した。) を用いてドラフトゲノム配列の解読を行った。ゲノム解読には 454 GS FLX Titanium と Illumina GAIIx の超並列シーケンサーを用いて約 6.1 Gb のゲノム配列と、約 578 Mb の転写産物配列を取得した。これらの配列をアセンブルした結果約 104 Mbp (1812 scaffolds, ピークカバー率:40 倍) の核ゲノム配列と葉緑体ゲノム (約 181 kbp), ミトコンドリアゲノム (約 106 kbp), 転写産物 (17,422 座位, 約 21 Mb) を再構築する事ができた。クレブソルミディウムの核ゲノムサイズは核の蛍光染色像から約 117 Mbp 程度と推定され、フォスミドライブラリーの端読みの結果 20%強程度の反復配列領域があると推定されたことから、配列決定が困難な反復配列領域などを除いてゲノムのほぼ全域の解読が完了した。ついで転写産物情報や配列解析などからタンパク質をコードする核ゲノムの 16,063 遺伝子, 葉緑体の 117 遺伝子, ミトコンドリアの 35 遺伝子を予測し, 既知の機能が明らかな遺伝子との類似性などから, これら 16,215 遺伝子の機能予測を行った (Hori et al. 2014, http://www.plantmorphogenesis.bio.titech.ac.jp/~algae_genome_project/klebsormidium/)。

5. クレブソルミディウムと他生物種の遺伝子比較解析

ゲノム解析の次の段階として, クレブソルミディウムの遺伝子を 5 種の陸上植物および 9 種の藻類と比較した。これらの生物の全タンパク質配列をクラスタリングし, 比較生物種内において, 藻類のみに存在するタンパク質か陸上植物のみに存在するタンパク質か分類を行った結果, クレブソルミディウムの 1,238 タンパク質 (約 8 %) は陸上植物に特異的である事が明らかとなった (図 3)。また各生物種内の類似遺伝子を遺伝子ファミリーとしてまとめると, 陸上植物は藻類より多くの遺伝子を保持しているが, 主に遺伝子重複により遺伝子数が増加していることが, 総遺伝子数と遺伝子ファミリー数をプロットする事ではっきりと見

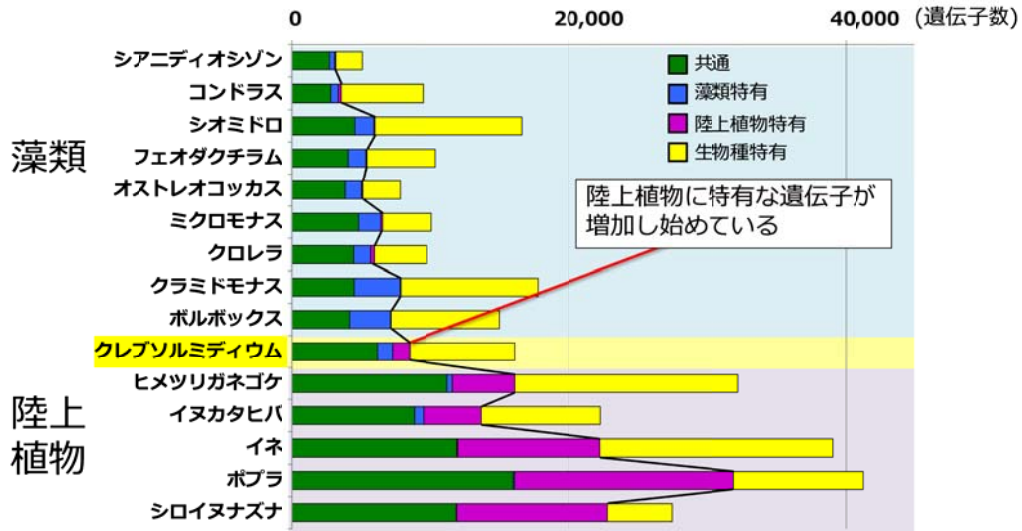


図3 15生物種間での遺伝子比較

15生物種の全タンパク質配列をクラスタリングし、クラスター内の他生物種のタンパク質が、藻類と陸上植物のどちらに特有であるかを基にして分類を行った。(Hori et al. 2014, Fig. 3a を改変)

て取れる(図4)。クレブソルミディウムは他の藻類と遺伝子数あたりの遺伝子ファミリー数はあまり変わらなかったことから、遺伝子重複は植物が組織分化を獲得し、陸上の複雑な環境に応答していく過程で有効に働いたのではないかと考えられる。しかしながら基部陸上植物であるゼニゴケは遺伝子の重複が少ないとの報告もあり(大和・河内, 2012), 遺伝子重複の推移と植物の陸上化の関与を明らかにするためにはより多くの車軸藻植物と基部陸上植物の比較解析がキーポイントとなっていくであろう。

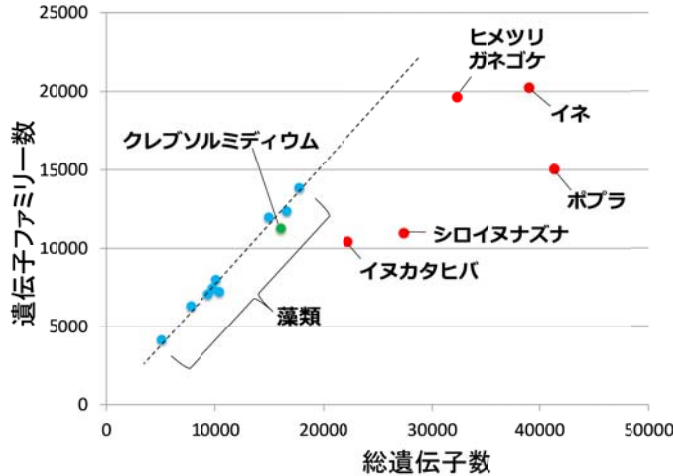


図4 15生物種の総遺伝子数と遺伝子ファミリー数のプロット

各生物種内の類似遺伝子を遺伝子ファミリーとしてまとめ、総遺伝子と遺伝子ファミリー数でプロットした。藻類は図3と同じ種を使用している。点線は藻類のプロットの近似曲線である。

また我々は遺伝子ファミリーのほか、タンパク質を構成するパーツと考えられるタンパク質ドメインの構成についても比較解析を行った。各生物種のドメインの種類数や、その組み合わせパターンと総遺伝子数をプロットした結果、ドメインの種類数は陸上植物ですでに頭打ちになっているが、その組み合わせパターンは被子植物でさらに増加していることが明らかとなった(図5)。また解析した5種の陸上植物に共通するドメインや、その組み合わせパターンを藻類がどれだけ獲得しているかを調べた結果、クレブソルミディウムでは陸上植物に共通する90.7%のドメインと84.3%のドメインの組み合わせパターンを獲得しており、他の藻類より2~3割程度高いことが分かった(図6)。これらのことはクレブソルミディウムが陸上植物に共通のタンパク質の機能を作るうえで多くの基本的なパーツをすでに獲得して

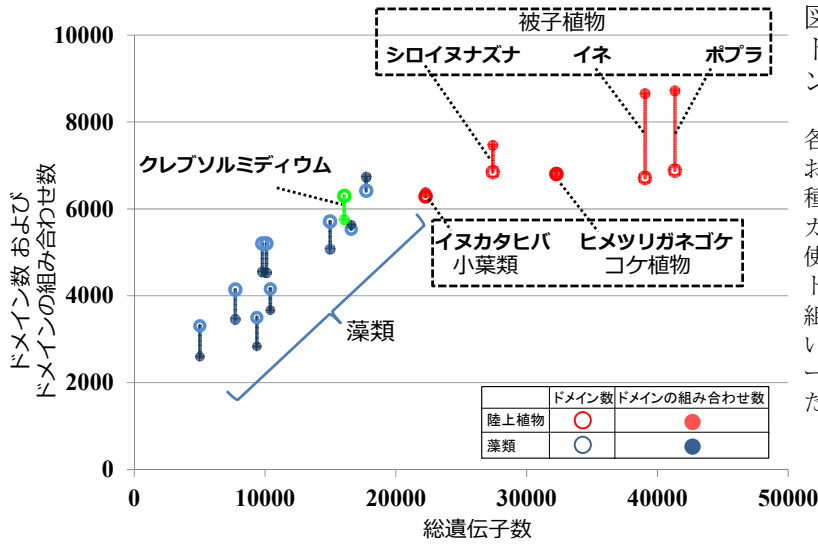


図5 15 生物種の総遺伝子数とドメインの種類数およびドメインの組み合わせ数のプロット

各生物種内の全タンパク質の pfamA および pfamB を検索し、ドメインの種類数および組み合わせパターンをカウントした。藻類は図3と同じ種を使用している。多くの藻類において、ドメインの種類数よりもドメインの組み合わせパターンが少なくなっているのは、ドメインの組み合わせパターンが少なく決まった組合せが多いためである。

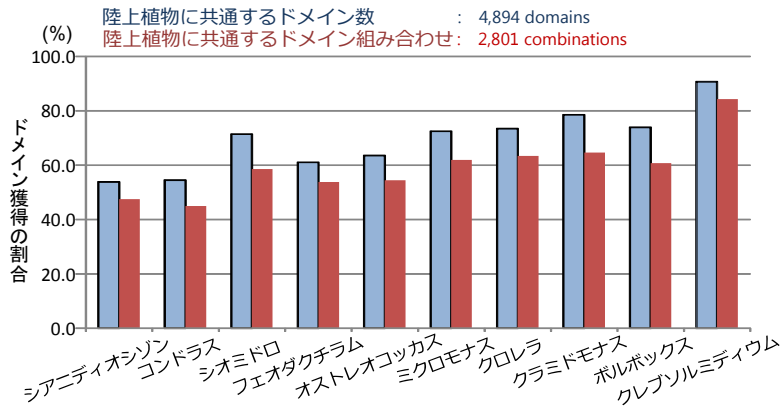


図6 陸上植物に共通するドメインおよびドメインの組み合わせの獲得率

ヒメツリガネゴケ, イヌカタヒバ, イネ, ポプラ, シロイヌナズナに共通する pfam ドメイン (4,894 ドメイン) および、ドメインの組み合わせパターン (2,801 パターン) のうちそれぞれの藻類で獲得している割合。

いることを意味する。クレブソルミディウムは車軸藻植物の中で早いうちに分岐し、非常にシンプルな体制であるにもかかわらず、陸上植物特有の様々なシステムを、原始的な形であったとしても予想以上に獲得しているかもしれない。

以上の結果をまとめると、植物が陸上に適応していく過程で遺伝子の多様性の獲得は、次の3段階のステップに分けられると考えられる (図7)。

- i) 陸上植物の共通祖先である緑藻からクレブソルミディウムが分岐するまでの間は遺伝子数の増加が遺伝子の種類の増加をもたらしたと考えられる。
- ii) コケ, シダ植物のように陸上環境により適応し、組織分化が形成されるには、同遺伝子族の中でバリエーションを増加させ、細かな機能調節や発現調節を可能にしたと考えられる。
- iii) 種子植物のような高度な陸上環境への適応と組織分化を可能にするには既存のパーツの新しい組み合わせを生み出し、新しい機能の遺伝子を生み出したことが重要だったと考えられる。

このような過程の中でクレブソルミディウムの祖先は、陸上植物が多細胞体の構築や陸上環境に適応するために発達させていった遺伝子, あるいはそのパーツの多くをすでに獲得していた事が推定された。

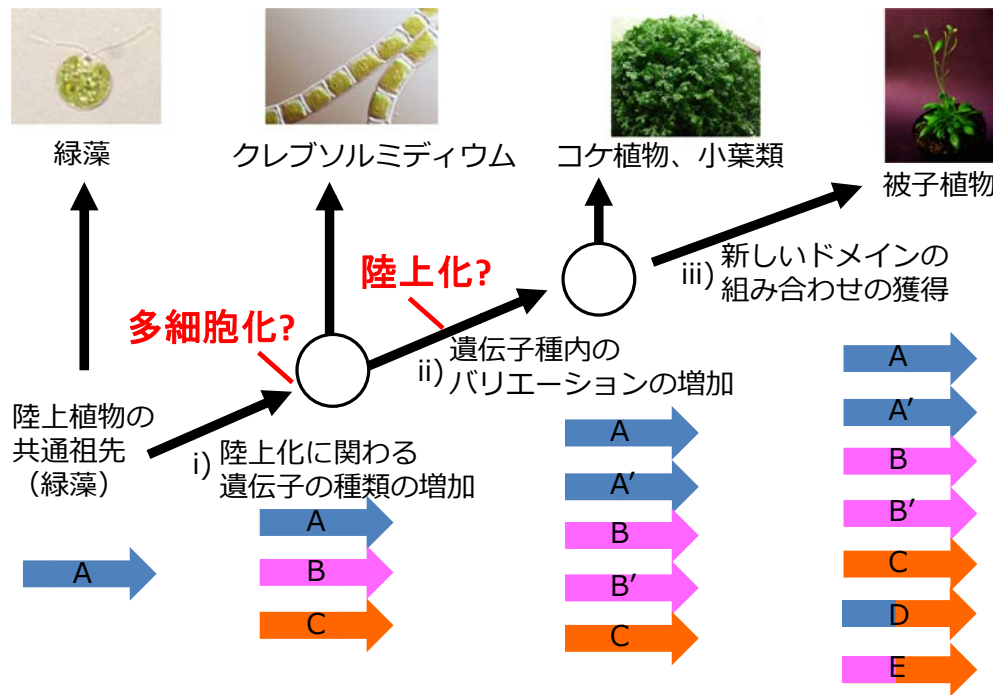


図7 植物の陸上化の過程と遺伝子多様性の獲得

6. クレブソルミディウムにおける植物ホルモン関連因子

クレブソルミディウムの遺伝子と藻類、陸上植物の遺伝子を比較した結果、情報伝達、環境応答、細胞壁合成、植物ホルモン関連因子などに関わる因子に、陸上植物で大幅に増加しているものや、陸上植物特異的なものが多い傾向が明らかとなった(Hori et al. 2014)。

中でも植物ホルモン情報伝達は陸上植物の環境応答において重要な役割を担っている。そこでクレブソルミディウムにおいて植物ホルモンの合成系遺伝子を探索した結果、主要な植物ホルモン合成系が存在していることが推定された。またクレブソルミディウムの植物ホルモンの測定を行った結果、オーキシン、アブシジン酸、サイトカイニン、ジャスモン酸、サリチル酸と多数の植物ホルモンがクレブソルミディウムに存在することが明らかとなった。さらに植物ホルモンのシグナル情報伝達系の関連因子の詳細な解析を行った結果、いくつかの受容体、輸送系や情報伝達系が存在しており、クレブソルミディウムにおいても何らかの植物ホルモン応答が存在していることが示唆された(図8)。

その一方でTIR1(オーキシン受容体)、COI1(ジャスモン酸受容体)などのユビキチン依存性タンパク質分解を介した情報伝達経路の多くが存在しておらず、ABA受容体のPYR/PYL/RCARも存在していないことが明らかとなった。これらの受容体は、現在の植物ホルモン情報伝達において主要な経路を担っていると考えられており、植物ホルモン間のクロストークを生み出す経路としても知られている。クレブソルミディウムの植物ホルモン伝達経路は陸上植物の主要な情報伝達経路を獲得する前段階にあると考えられ、陸上植物の主要な経路とは異なった原始的な植物ホルモン伝達経路である可能性が考えられる。次の課題は、クレブソルミディウムの植物ホルモンの作用や伝達経路を明らかにし、植物が陸上に進出する過程で、植物ホルモンの起源や役割をどのように発達させてきたか解明していくことである。

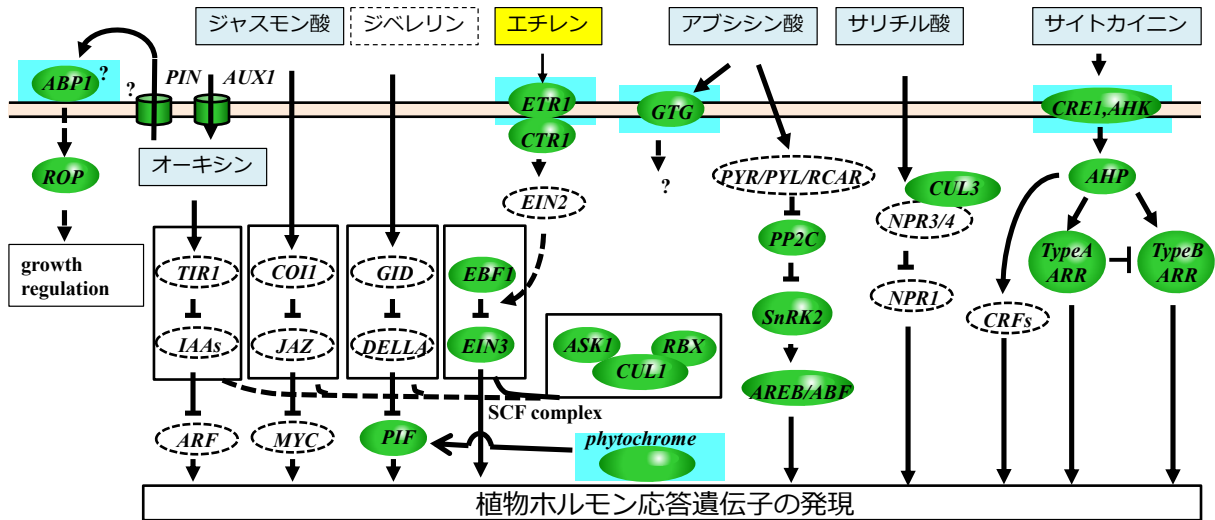


図8 クレブソルミディウムに検出された植物ホルモンと類似遺伝子が見出された情報伝達因子

植物ホルモンのうち検出されたものは水色のボックスで示した。エチレンは未測定である。陸上植物で明らかとなっている情報伝達因子のうち、クレブソルミディウムで類似遺伝子が存在していたものを緑で示した。点線は類似遺伝子が見つからない。

7. クレブソルミディウムにおける転写因子

植物ホルモンの他に、転写因子も環境応答に関わる非常に重要な因子である。Plant Transcription Factor Database v3.0 (Jin et al. 2013)の分類法に基づいて 58 種類の転写因子の同定を行った結果、クレブソルミディウムから 266 遺伝子の転写因子が同定された (図9)。他の藻類と比べると若干多いものの、陸上植物と比較すると圧倒的に少ない。全遺伝子に占める割合も約 1.5%と他の藻類と同程度であり、陸上植物の全遺伝子に占める転写因子の割合より少ないものであった。しかしながらその種類を比較すると、他の藻類より格段にバリエーションが増えていることがわかる (図10a)。またクレブソルミディウムと陸上植物の共通祖

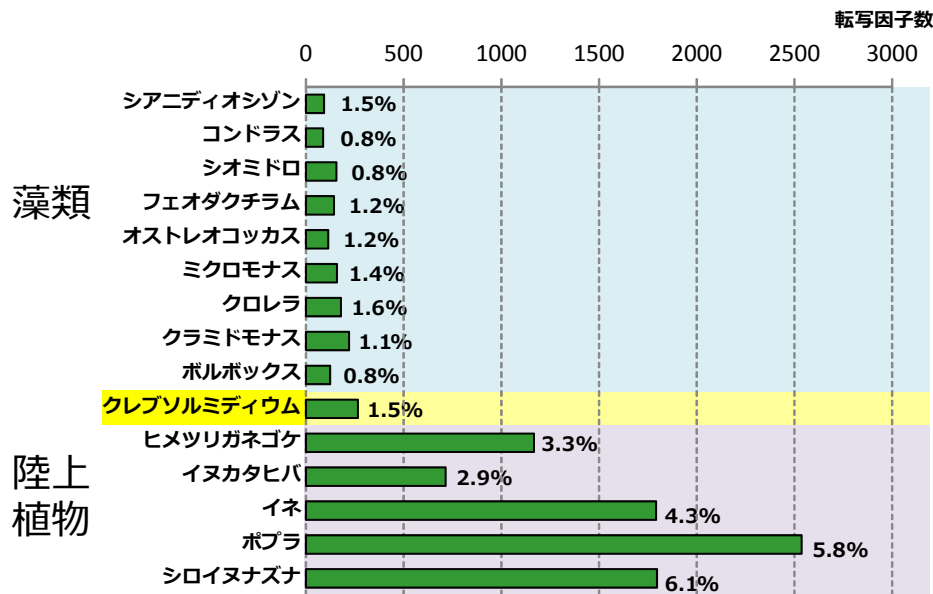


図9 15 生物種において検出された転写因子数
図内の数値は全遺伝子に占める転写因子の割合を示す。

先が分岐した後も転写因子の種類が増加がみられ、植物の陸上化の前後で転写因子の種類、数が増加し、多様な遺伝子制御を身に着けたことが伺える。さらに転写因子に限ったドメインの組み合わせ数をプロットした結果、被子植物ではドメインの組み合わせパターンを増加させており、転写因子の多様化は項目5で述べた遺伝子の多様性の獲得過程の典型的な例と考えられた(図10b)。このような転写因子の種類増加や、組み合わせパターンの増加は、急激に遺伝子ネットワークを指数的に複雑化させた事は間違いないであろう。このことは、陸上に進出した植物が、様々なストレス環境に柔軟に適応し、様々な組織を分化させ、多様な細胞の状態を実現できるようになった大きな要因と考えられる。以上の結果から、陸上植物との車軸藻植物の共通祖先のなかで、比較的早くに分岐したクレブソルミディウムがシンプルな体制を持つにもかかわらず、陸上植物の礎となる基本的な遺伝子制御ネットワークを獲得しており、陸上環境に適応していく過程で遺伝子重複とドメインの組み合わせ方を利用して、既存の遺伝子制御ネットワークを転用して発達させていったという陸上進出のための戦略が見えてくる。今後植物ホルモンの発達と同様、クレブソルミディウムの転写因子が何に応答し、何を制御しているのか明らかにすることが重要となってくると思われる。

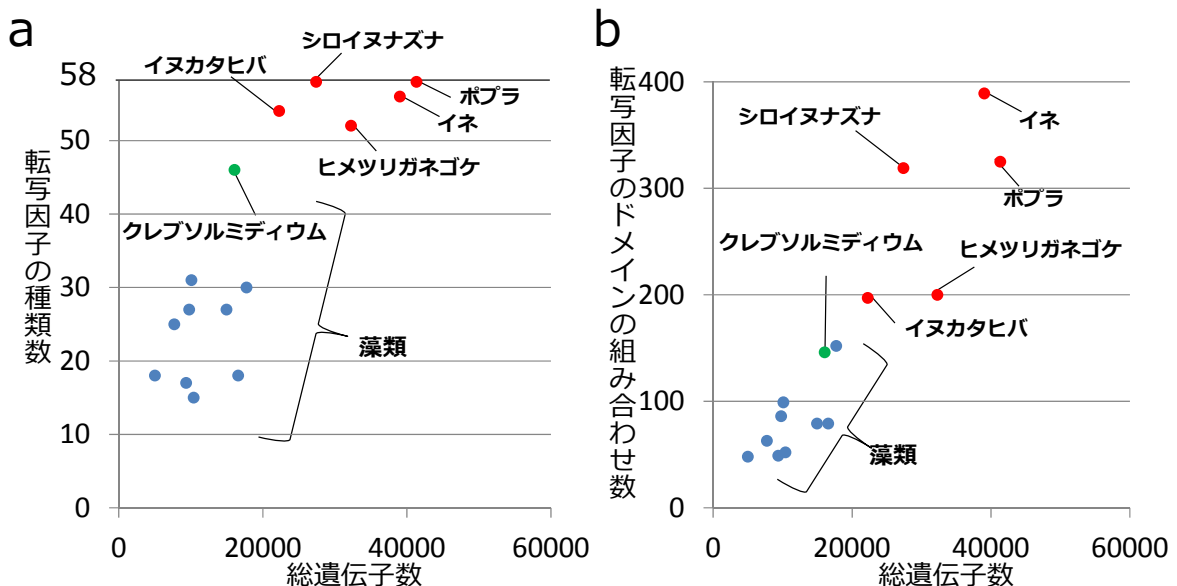


図10 15生物種の転写因子の種類数、ドメインの組み合わせ数と総遺伝子数の関係

- 各生物種内の転写因子の種類数と総遺伝子数のプロット
- 各生物種内の転写因子におけるドメインの組み合わせ数と総遺伝子数のプロット

8. 今後の展望

クレブソルミディウムのゲノム解読により、植物の陸上進出前の段階ですでに陸上化を可能とするような因子が出現していることが分かってきた。クレブソルミディウム以外にも車軸藻植物のゲノム解読が進んでおり、今後陸上進出の過程で起きたゲノムの変化をより詳細に調べることができるようになっていこう。今後さらに植物の陸上化を明らかにしていくためには、これらの因子が陸上化前の車軸藻植物にどのような影響を与えたのか解明することが次の段階であると思われる。車軸藻植物は淡水と陸上との際に生息しているものが多く、部分的ながらこれらの因子が半陸上状態の生育に有利であり、徐々により厳しい陸上環

境に生育を広げていくにあたって、機能の多様化や強化を成し遂げた事が考えられる。また他の可能性として、前適応として共通祖先では異なる機能を担っており、陸上化にあたって予想外に有利に働いた因子がある可能性も考えられる。個々の具体的な因子の進化過程を明らかにするためには、実験的にその機能を実証することが必要であり、遺伝子操作系を確立し、培養法、実験系もより扱いやすくしていくことが必須である。このことは植物の陸上化の解明のみならず藻類研究の発展にも大きく貢献するであろう。車軸藻植物門では接合藻綱のヒメミカヅキモ、タテブエが、それぞれパーティクルボンバードメント法、アグロバクテリウム法によって形質転換に成功しており(Abe et al. 2011, Sørensen et al. 2014), 我々もクレブソルミディウムで急ぎ形質転換系の確立を進めている。今後クレブソルミディウムを初めとして様々な車軸藻植物がモデル藻類として確立し、植物の陸上化を含め、生物進化のありかたが垣間見えることを期待している。

謝辞

本研究は日本学術振興会、平成21年度～平成25年度グローバルCOEプログラム「地球から地球たちへ」の一環として推進され、平成23年度から現在まで科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業(CREST)「植物栄養細胞をモデルとした藻類脂質生産系の戦略的構築」の一環として加速的に推進されている。また一部は平成24年度からの文部科学省WPIプログラム、地球生命研究所に引き継がれている。なお *Klebsormidium flaccidum* NIES-2285 は国立環境研究所、微生物系統保存施設より分譲頂いた。また本研究はクレブソルミディウム解析チーム(http://www.plantmorphogenesis.bio.titech.ac.jp/~algae_genome_project/klebsormidium/kf_team.htm)による共同研究であり、全員の多大な貢献があつての研究となった。ここに記して深く感謝の意を表したい。

引用文献

- Abe, J., Hori, S., Tsuchikane, Y., Kitao, N., Kato, M. & Sekimoto, H. 2011. Stable nuclear transformation of the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. *Plant Cell Physiol.* 52: 1676-1685.
- Battistuzzi, F.U. & Hedges, S.B. 2009. A major clade of prokaryotes with ancient adaptations to life on land. *Mol Biol Evol.* 26:335-343
- Clarke, J.T., Warnock, R.C.M. & Donoghue, P.C.J. 2011. Establishing a time-scale for plant evolution. *New Phytol.* 192: 266-301
- Edwards, D. & Kenrick, P. 2015. The early evolution of land plants, from fossils to genomics: a commentary on Lang (1937) 'On the plant-remains from the Downtonian of England and Wales'. *Phil. Trans. R. Soc. B* 370: 20140343.
- Elster, J., Degma, P., Kováčik, L., Valentová, L., Šramková, K., & Pereira, A. B. 2008. Freezing and desiccation injury resistance in the filamentous green alga *Klebsormidium* from the Antarctic, Arctic and Slovakia. *Biologia* 63: 843-851.
- Hori, K., Maruyama, F., Fujisawa, T., Togashi, T., Yamamoto, N., Seo, M., Sato, S., Yamada, T.,

- Mori, H., Tajima, N., Moriyama, T., Ikeuchi, M., Watanabe, M., Wada, H., Kobayashi, K., Saito, M., Masuda, T., Sasaki-Sekimoto, Y., Mashiguchi, K., Awai, K., Shimojima1, M., Masuda, S., Iwai1, M., Nobusawa, T., Narise, T., Kondo, S., Saito, H., Sato, R., Murakawa, M., Ihara, Y., Oshima-Yamada, Y., Ohtaka, K., Satoh, M., Sonobe, K., Ishii, M., Ohtani, R., Kanamori, M., Honoki, R., Miyazaki, D., Mochizuki, H., Umetsu, J., Higashi, K., Shibata, D., Kamiya, Y., Sato, N., Nakamura, Y., Tabata, S., Ida, S., Kurokawa, K., Ohta, H. 2014. *Klebsormidium flaccidum* genome reveals primary factors for plant terrestrial adaptation. *Nat. Commun.* 5: 3978.
- Jin, J., Zhang, H., Kong, L., Gao, G. & Luo, J. 2013. PlantTFDB 3.0: a portal for the functional and evolutionary study of plant transcription factors. *Nucl. Acids Res.*, 42(D1):D1182-D1187.
- Karsten, U. & Holzinger, A. 2012. Light, temperature, and desiccation effects on photosynthetic activity, and drought-induced ultrastructural changes in the green alga *Klebsormidium dissectum* (Streptophyta) from a high alpine soil crust. *Microb. Ecol.* 63: 51–63.
- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., & De Clerck, O. 2012. Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Crit. Rev. Plant Sci.* 31: 1-46.
- Lewis, L. A., & McCourt, R. M. 2004. Green algae and the origin of land plants. *Am. J. Bot.* 91: 1535-1556.
- Magallón S, Hilu KW & Quandt D. 2013. Land plant evolutionary timeline: gene effects are secondary to fossil constraints in relaxed clock estimation of age and substitution rates. *Am J Bot.* 100: 556-573
- Morison, M. O. & Sheath, R. G. 1985. Response to desiccation stress by *Klebsormidium rivulare* (Ultrichales, Chlorophyta) from a Rhode Island stream. *Phycologia* 24: 129–145.
- Nagao, M., Matsui, K. & Uemura, M. 2008. *Klebsormidium flaccidum*, a charophycean green alga, exhibits cold acclimation that is closely associated with compatible solute accumulation and ultrastructural changes. *Plant Cell Environ.* 31: 872–885.
- Parnell, J. & Foster, S. 2012. Ordovician ash geochemistry and the establishment of land plants. *Geochem. Trans.* 13, 7.
- Rubinstein C.V., Gerrienne, P., de la Puente, G.S., Astini, R.A. & Steemans, P. 2010. Early Middle Ordovician evidence for land plants in Argentina (eastern Gondwana). *New Phytol.* 188: 365-369
- Scott, A. C. & Glasspool, I. J. 2006. The diversification of Paleozoic fire systems and fluctuations in atmospheric oxygen concentration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 10861-10865.
- Sørensen, I., Fei, Z., Andreas, A., Willats, W. G., Domozych, D. S. & Rose, J. K. 2014. Stable transformation and reverse genetic analysis of *Penium margaritaceum*: a platform for studies of charophyte green algae, the immediate ancestors of land plants. *Plant J.* 77: 339-351.
- Timme, R. E., Bachvaroff, T. R. & Delwiche, C. F. 2012. Broad phylogenomic sampling and the sister lineage of land plants. *PLoS ONE* 7, e29696.
- Wickett, N.J., Mirarab S., Nguyen, N., Warnow, T., Carpenter, E., Matasci, N., Ayyampalayam, S., Barker, M., Burleigh, J.G., Gitzendanner, M.A., Ruhfel, B.R, Wafula, E., Der, J.P, Graham, S.W., Mathews, S., Melkonian, M., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Miles, N.W., Rothfels, C.J., Pokorny, L.,

Shaw, A.J., DeGironimo, L., Stevenson, D.W., Surek, B., Villarreal, J.C., Roure, B., Philippe, H., dePamphilis, C.W., Chen, T., Deyholos, M.K., Baucom, R.S., Kutchan, T.M., Augustin, M.M., Wang, J., Zhang, Y., Tian, Z., Yan, Z., Wu, X., Sun, X., Ka-Shu Wong, G. & Leebens-Mack J. 2014. Phylotranscriptomic analysis of the origin and early diversification of land plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, E4859-E4868.

大和勝幸, 河内孝之 2012. 見えてきたゼニゴケゲノム 植物科学最前線 3:71.