

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.00735

## 藻类基因组研究进展

赖晓娟, 陈海敏, 杨锐, 严小军

宁波大学, 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 宁波 315211

**摘要:** 藻类具有复杂多样的进化历史和生物学特征, 不仅在生态系统中扮演着重要角色, 而且具有许多独特的基因和生物过程。高通量测序技术在藻类研究领域中的应用, 大大促进了藻类基因组学和转录组学的发展, 丰富了藻类基因信息。文章对近年来藻类基因组和转录组的研究进展进行综述, 总结了已完成全基因组测序的不同藻类基因组的特点并进行比较, 对表达序列标签(ESTs)、微阵列和转录组测序技术在藻类转录组研究中的应用做了简要阐述, 主要介绍了藻类基因表达以及小 RNA 的研究进展, 并对该领域可能的发展方向及存在的问题进行了展望。

**关键词:** 藻类; 基因组; 转录组; 高通量测序; 基因

## Advances on the genome of algae

LAI Xiao-Juan, CHEN Hai-Min, YANG Rui, YAN Xiao-Jun

Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China

**Abstract:** Algae possess complex and diverse biology and evolutionary history. They play an important role in the ecosystem. A mass of unique genes and biological processes also make them attractive. The application of high-throughput sequencing approaches to algal research has greatly contributed to the development of algal genomics and transcriptomics, as well as enriched the gene information of algae. In this article, we summarize the advances of algal genomics and transcriptomics, describe and compare the characteristics of different algae genomes, and introduce the application of expression sequence tags (ESTs), microarray and RNA sequencing technique to algal transcriptomics research. Furthermore, the advances of algal gene expression and small RNA are also reviewed in detail. At last, we discuss the challenges and future development of this area.

**Keywords:** algae; genome; transcriptome; high-throughput sequencing; gene

藻类是一个高度多样的生物群体, 是地球上最古老的生命类群之一, 不仅在生态系统中占据重要地位, 而且在进化关系上跨越原核和真核两界, 拥有特殊的进化地位, 因此其系统进化研究一直是生

收稿日期: 2012-12-25; 修回日期: 2013-02-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 40776077), 浙江省重点科技创新团队项目(编号: 2010R50025-7), 浙江省自然科学基金项目(编号: Y5100066), 宁波市创新团队项目(编号: 2011B81007)和宁波市科技攻关项目(编号: 201201C1011016)

作者简介: 赖晓娟, 硕士研究生, 专业方向: 植物生化与分子生物学。E-mail: laixiaojuan204@gmail.com

通讯作者: 陈海敏, 研究员, 研究方向: 海洋药物、活性物质及海洋生物资源利用。E-mail: chenhaiamin@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2013-3-12 16:06:14

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20130312.1606.005.html>

物学家关注的热点。由于进化历史多样,不同的藻类在代谢途径、细胞进程、发育调控以及生活史等方面也都有其独特性。藻类分子水平的研究将有助于我们更快、更准确地了解各种藻类的独特之处,获得丰富的基因信息,以便更好地加以利用。过去几年,高通量测序技术在藻类基因组和转录组研究等方面的应用已取得较大突破,这对藻类基因资源的研究和应用具有重要意义。

## 1 藻类基因组研究进展

与陆地植物相比,藻类基因组学研究还刚刚起步。利用高通量测序技术绘制藻类基因组精细图谱,可以在 DNA 序列水平准确、直观的了解其基因组信息,获得与藻类重要性状相关的功能基因;同时与其他物种进行比较,了解其独特的生物系统,有助于我们加强对藻类的分类和进化研究。目前已有部分真核藻类的全基因组被测序(表 1),但多集中在单细胞藻类。原核蓝藻的基因组学研究一直走在整个生物学的前沿,成果丰富,本文不做介绍。

### 1.1 红藻基因组研究

红藻是一个古老的真核生物群体。目前唯一完成的一个红藻全基因组测序物种是 *Cyanidioschyzon merolae*<sup>[1]</sup>,这是一种来自热酸环境(pH1.5, 45 °C)的单细胞生物。*C. merolae* 的基因组包含 5 331 个基因,其中至少有 86.3%是表达的,除 26 个基因以外其余基因都缺少内含子,核仁中只有 3 个拷贝的核糖体 DNA 单位,有 2 个发动蛋白(Dynamin)基因只参与线粒体和质体的分裂活动。另外,*C. merolae* 和绿色植物拟南芥中的卡尔文循环相关酶类具有相同的保守嵌合起源,这支持初级质体的单一起源假说。该基因组的完成为真核细胞起源、进化和功能研究提供了一个只由简单基因组成的模式系统。此外,牛建峰等<sup>[2]</sup>利用 Solexa 高通量测序,获得了条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)低覆盖度全基因组草图。该基因组草图大小约 220 Mb,包含 26 629 个预测基因,其中 16 409 个基因具有内含子,基因结构分析表明具有内含子的基因平均长度为 2 214 bp,代谢通路分析表明嘌呤代谢是含有蛋白数量最多的代谢途径。目前,*Galdieria sulphuraria* 的测序正在进行中,它是非海洋的单细胞极端生物。更具典型红藻特征的

皱波角叉菜(*Chondrus crispus*)和脐形紫菜(*Porphyra umbilicalis*)的基因组计划最近也已启动。这两个物种在实验室中操作相对简单,而且都是研究较为集中的物种。之前关于 *Porphyra* spp.的研究在分离突变体系、鉴定遗传标记以及遗传转化等方面都已有较大发展,其中条斑紫菜已经成为模式大藻的候选者<sup>[3]</sup>。但是,*C. crispus* 的基因组(150 Mb)比 *P. umbilicalis*(约 400 Mb)小,而且更能代表典型的红藻,因为绝大多数红藻与其亲缘关系较近。这两种红藻的基因组对应用性研究也有帮助,比如 *C. crispus* 的基因组可以了解卡拉胶的生物合成,而 *P. umbilicalis* 则对应于紫菜在数十亿美元的海苔工业中的重要性。

### 1.2 褐藻基因组研究

褐藻的研究多集中在海带目(Laminariales)和墨角藻目(Fucales)这两大群体。由于其基因组较大,生活周期长,不利于实验室培养,因此 Peters 等<sup>[4]</sup>对褐藻中适于进行基因组研究的模式物种进行了筛选,最后找到了一种丝状褐藻长囊水云(*Ectocarpus siliculosus*)。最近,Cock 等<sup>[5]</sup>报道了长囊水云的全基因组序列,这是首个基因组被测序的大型褐藻,其 214 Mb 的基因组含有 16 256 个蛋白编码基因。褐藻是复杂的光合生物,多生长在低潮带或低潮线下的岩石上。长囊水云基因组的一些特征可以解释这类生物对高度多变的潮汐环境的适应性,如出现了一大类光捕获、色素合成基因以及一些新的代谢途径(如卤化物代谢)。其多细胞进化与大量的信号转导基因相关,其中最明显的是出现了受体激酶家族。对多种动物、植物以及长囊水云的受体激酶分子进行聚类分析,发现该基因家族在不同物种中是独立进化的,这在多细胞进化过程中可能至关重要。

### 1.3 绿藻基因组研究

绿藻中完成基因组测序的物种较多,相比较于红藻和褐藻,绿藻的工业应用较少,目前还没有绿藻大藻的基因组测序计划。*Ostreococcus tauri*、*Ostreococcus lucimarinus* 是两种微小的真核海洋绿藻,它们的基因组测序相继在 2006 年<sup>[6]</sup>和 2007 年<sup>[7]</sup>完成。*Ostreococcus* spp.是已知的最小自生型真核生物,它们的基因组非常小且高度紧凑。通常情况下,基因组紧凑常伴随着基因数目的减少,但 *O. tauri* 的

基因组却保留有较大的基因数量。Keeling 等<sup>[8]</sup>认为造成 *O. tauri* 基因组紧凑的原因是内含子数量少、内含子长度减少以及基因间隔区较小等。通过对 *Ostreococcus* 两个物种基因组的比较发现,只有 18 号染色体的核心区域是保守的,其余染色体均以不同的方式进化,这在一定程度上反应了物种在形成过程和适应性上的差异。*Ostreococcus* 的基因组也显示了其可能利用  $C_4$  途径作进行  $CO_2$  同化,这也许是浮游微藻的一种适应策略。这两种基因组还富含编码含硒酶的序列,这似乎也是海洋微藻的一个典型特征<sup>[7]</sup>。

单细胞绿藻莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的基因组也已被报道<sup>[9]</sup>,大小约为 120 Mb,并鉴定了其与叶绿体和真核鞭毛起源相关的蛋白。Prochnik 等<sup>[10]</sup>报道了多细胞绿藻团藻 *Volvox carteri* 的基因组,大小为 138 Mb,包含大约 14 500 个基因,约为人类基因总数的一半。虽然团藻 *V. carteri* 和莱茵衣藻在复杂程度和生活史方面都有很大差异,但二者基因组的蛋白编码潜能比较相似。与莱茵衣藻相比,在团藻 *V. carteri* 细胞内只发现了极少数该生物特有的基因,由此推断,从单细胞生物演变为多细胞生物大幅增多基因数目并非是必要的。小球藻 *Chlorella variabilis* 是草履虫的胞内共生单细胞光合绿藻。Blanc 等<sup>[11]</sup>对 *C. variabilis* NC64A 46 Mb 的基因组进行了测序,分析发现其中有大量的蛋白家族参与适应共生关系。虽然普遍认为 *Chlorella* spp.不会运动,进行无性繁殖,但是 NC64A 的基因组编码所有已知的特定减数分裂蛋白,而且发现了与鞭毛相关的部分蛋白,因此推测小球藻可能保留有鞭毛衍生结构并能进行有性繁殖。通过分析其植物激素通路,发现激素的合成和信号转导功能可能先于陆地植物进化前建立。*Chlorella* 能够产生类似几丁质的细胞壁,这可能是通过横向基因转移从病毒、原核生物或者真菌中获得的。*C. variabilis* NC64A 基因组对我们了解绿藻的进化、其与病毒的相互作用以及真核生物间的共生有重要意义。

#### 1.4 硅藻及其他藻类基因组研究

假微型海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)<sup>[12]</sup>是首个被测序的海洋微藻。硅藻属于不等鞭毛类,与动物和绿色植物都相距较远,但是基因组测序发现,

作为一个光合生物,在全基因组水平以及在某个特定代谢途径,其特征与动物和植物都有相似性,比如, *Thalassiosira* 拥有一个完整的尿素循环,这是动物的一个典型特征。而对三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)<sup>[13]</sup>的基因组测序鉴定了数百个似乎来自细菌的基因,这可能是通过横向基因转移获得的。这些基因至少占到了整个基因组的 5%,这个比例要明显高于其他自生型真核生物。推测基因转移在硅藻进化中是普遍存在的,这些基因可能在代谢调控和环境应答等方面起重要作用。两种硅藻的基因组都显示了其拥有可能编码  $C_4$ -光合作用的所有酶<sup>[14]</sup>,可能  $C_4$ -光合作用为其在  $CO_2$  限制条件下(比如水华)的生存提供重要帮助。研究表明,很多硅藻都可能利用基于  $C_4$  途径的  $CO_2$  同化机制<sup>[15]</sup>。

最近 *Science* 上又报道了一种灰胞藻(*Cyanophora paradoxa*)的全基因组序列<sup>[16]</sup>,被认为阐明了植物的演化史。灰胞藻门(Glaucophyte)是一类只由 13 种独特的微观淡水蓝绿藻组成的种群,存在时间极久,有些学者认为它是最原始的藻类。*C. paradoxa* 的基因组和转录组数据为植物界初级质体的单一起源提供了有力证据。它保留有和植物、藻类相同的淀粉合成、发酵、质体蛋白转移等原始特征,但是缺少真核生物典型的捕光复合体蛋白。它与衣原体样的一些细菌也有共同祖先。此外,还有一些不常见的藻类基因组也已被测序或已列入测序计划(表 1)。

#### 1.5 藻类基因组的特色比较

系统进化是藻类研究的一个重要方面。质体起源于内共生的光合微生物,这是一个被普遍接受的假说,但争论在于不同藻类的质体是起源于同一祖先还是有多个不同的祖先,即存在单一起源还是多起源的问题。近来获得的基因组数据为其提供了可靠证据,原始红藻 *C. merolae* 和灰胞藻 *C. paradoxa* 的基因组测序结果均表明初级质体是单一起源。此外,在绿藻小球藻 *C. variabilis*、硅藻三角褐指藻和灰胞藻 *C. paradoxa* 的基因组中均发现了横向基因转移现象,可以推测这些基因在其适应环境和进化中可能至关重要。藻类光合作用基因的研究也一直经久不衰,近来的基因组测序结果有一个共同的新发现,即藻类中也存在  $C_4$ -光合作用。两种绿藻

表 1 藻类基因组测序计划<sup>[17]</sup>

分类	物种	品系	基因组大小 (Mb)	完成情况及参考文献
Rhodophyta, Cyanidiaceae (红藻)	<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	10D	16.5	[1]
Rhodophyta, Cyanidiaceae (红藻)	<i>Galdieria sulphuraria</i>			进行中
Rhodophyta, Florideophyceae (红藻)	<i>Chondrus crispus</i>		150	进行中
Rhodophyta, Bangiophyceae (红藻)	<i>Porphyra umbilicalis</i>		300~400?	进行中
Heterokonta, Phaeophyceae (褐藻)	<i>Ectocarpus siliculosus</i>	Ec 32	214	[5]
Plantae, Prasinophyceae (绿藻)	<i>Bathycoccus prasinos</i>	Bban7		待定
Plantae, Prasinophyceae (绿藻)	<i>Ostreococcus tauri</i>	OTH95	12.6	[6]
Plantae, Prasinophyceae (绿藻)	<i>Ostreococcus lucimarinus</i>	CC9901	13.2	[7]
Plantae, Prasinophyceae (绿藻)	<i>Ostreococcus</i> sp.	RCC809		已完成
Plantae, Prasinophyceae (绿藻)	<i>Micromonas pusilla</i>	RCC827	15	[18]
Plantae, Prasinophyceae (绿藻)	<i>Micromonas pusilla</i>	CCMP1545	15	[18]
Plantae, Chlorophyceae (绿藻)	<i>Dunaliella salina</i>	CCAP19/18	130	进行中
Plantae, Trebouxiophyceae (绿藻)	<i>Chlorella vulgaris</i>	C-169	40	进行中
Plantae, Chlorophyceae (绿藻)	<i>Chlorella</i> sp.	NC64A	46.2	[11]
Plantae, Chlorophyceae (绿藻)	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	CC-503	120	[9]
Plantae, Chlorophyceae (绿藻)	<i>Volvox carteri</i>	UTEX2908	140	[10]
Heterokonta, Bacillariophyceae (硅藻)	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	CCMP1335	34.5	[12]
Heterokonta, Bacillariophyceae (硅藻)	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	CCAP1055/1	20	[13]
Heterokonta, Bacillariophyceae (硅藻)	<i>Pseudo-nitzschia multiseries</i>	CLN-47	250	进行中
Heterokonta, Bacillariophyceae (硅藻)	<i>Fragilariopsis cylindrus</i>	CCMP1102	35	进行中
Plantae, Glaucophyta	<i>Cyanophora paradoxa</i>	CCMP329	70	[16]
Heterokonta, Chrysophyceae	<i>Ochromonas</i>	CCMP1393		进行中
Haptophyta, Prymnesiophyceae	<i>Phaeocystis globosa</i>			待定
Haptophyta, Prymnesiophyceae	<i>Phaeocystis antarctica</i>			待定
Haptophyta, Prymnesiophyceae	<i>Emiliania huxleyi</i>	CCMP1516	220	已完成
Cryptophyta, Cryptophyceae	<i>Guillardia theta</i>	CCMP2712		进行中
Rhizaria, Chlorarachniophyceae	<i>Bigeloviella natans</i>	CCMP2755		进行中
Heterokonta, Pelagophyceae	<i>Aureococcus anophagefferens</i>	CCMP1984	32	已完成

注：以上所列为真核藻类基因组，原核蓝藻基因组请参看网站 <http://genome.kazusa.or.jp/cyanobase>；表中相关信息均参考自相关文献及网站 <http://www.jgi.doe.gov/genome-projects/>。

*O. tauri*、*O. lucimarinus* 和两种硅藻假微型海链藻、三角褐指藻的基因组都拥有编码  $C_4$ -光合作用相关的酶类，提示这也许是海洋浮游微藻的一个适应策略。

此外，单就各种藻的基因组而言也都各有其特点，如红藻 *C. merolae* 的绝大多数基因能够表达，很少有内含子，而由于 *C. merolae* 来自高热环境，因而其基因可能都具有耐热性；褐藻长囊水云基因组出现了一些新的代谢途径(如卤化物代谢)以及信号转导相关的受体激酶基因家族，绿藻 *Ostreococcus* 的基因组富含编码含硒酶的序列，假微型海链藻拥有一个完整的尿素循环，目前这些在其他藻类中都还

未有发现。总的来说，目前各种藻的基因组信息还未得到很好的解读，这也在一定程度上限制了功能基因的研究，如硅藻细胞壁的形成机理虽然一直备受关注，但目前也鲜有其相关基因信息。

## 2 藻类转录组研究进展

随着后基因组时代的到来，转录组学、蛋白质组学、代谢组学等各种组学技术相继出现，其中转录组学是率先发展起来以及应用最广泛的技术<sup>[19]</sup>。过去十几年，藻类领域转录组研究的主流是利用表达序列标签(Express sequence tags, ESTs)以及微阵列



(Microarray)等技术来寻找新基因或进行基因表达水平研究,这其中又以研究藻类在胁迫条件下的基因表达居多。近年来,随着新一代测序平台的发展以及市场化,转录组测序(RNA sequencing, RNA-seq)技术逐渐被应用到藻类领域的研究,并取得了一系列重要成果。

## 2.1 藻类 EST 研究

藻类中 EST 的研究一直是热点,也获得了较丰富的研究成果,几乎涵盖了红藻、褐藻、绿藻以及硅藻等其中主要的研究物种。近年来,越来越多藻类物种的 cDNA 文库被构建并获得了大量的 EST 信息。以下选取近年来几种典型的 EST 研究作介绍。

Fan 等<sup>[20]</sup>从孢子体坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)中获得了 5 318 条 EST 序列,经聚类形成 2 535 条非冗余序列,其中只有 32.2%序列与公共数据库中的序列有相似性,功能分类显示绝大多数 EST 与其保守的生物代谢过程相关,并且首次发现坛紫菜中可能存在抗氰呼吸及 C<sub>4</sub> 固碳途径,此外还发现了细胞信号转导相关的多种蛋白及蛋白家族基因,如 HSP70 家族。密码子分析表明,坛紫菜在进化过程中可能也经受过高 GC 压力的影响。

为研究褐藻墨角藻(*Fucus*)在非生物胁迫下的应答基因, Pearson 等<sup>[21]</sup>研究了两种墨角藻的 EST 文库。分别从热激和干燥条件下的 *F. serratus* 中获得 2 503、1 290 个 Unigene,从干燥条件下的 *F. vesiculosus* 中获得 2 409 个 Unigene。发现在热激处理的文库中大量存在翻译后修饰相关基因,包括许多分子伴侣,最多的是小热激蛋白、HSP90 和 HSP70 的家族成员,在耐干燥的 *F. vesiculosus* 中大量表达至少 17 种核糖体蛋白和 2 种泛素-核糖体蛋白融合基因,提示核糖体的功能在其适应潮间带环境中具有重要作用。

Alkayal 等<sup>[22]</sup>对杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)在高盐处理下的基因表达情况进行了研究,获得了 1 401 个转录本,功能分类发现其中 35.7%与蛋白合成相关,21.4%与能量(光合作用)相关,13.8%与初级代谢相关。此外还发现 RNA 干扰和信号转导通路与其渗透压胁迫的适应相关。随后, Zhao 等<sup>[23]</sup>也构建了杜氏盐藻的 cDNA 文库,获得了 2 282 条 EST 序列,并结合数据中的其他所有杜氏盐藻的 EST 序列进行分

析,结果发现其中有 56.1%的序列能够在蛋白数据库中找到相似序列,意味着剩余大量的基因可能是 *Dunaliella* 特有的。最近, Woongisic 等<sup>[24]</sup>又从一种南极喜寒绿藻(*Pyramimonas gelidicola*)中获得了 2 112 条 EST 序列,这对极地生物耐寒基因的研究具有重要意义。

## 2.2 微阵列技术在藻类转录组研究中的应用

微阵列(Microarray)技术是开发最早也是目前应用较广的高通量转录组检测技术,但是基于杂交技术的微阵列技术只限于已知序列,无法检测新的 RNA<sup>[25]</sup>。过去,由于藻类序列信息的相对缺乏,给该技术在藻类中的广泛应用带来了一定困难。近年来,随着越来越多藻类物种的基因组被测序, EST 序列信息也越来越丰富,使得微阵列技术在藻类领域的应用取得了较好发展。

红藻条斑紫菜的 EST 信息相对来说比较丰富。周晓君等<sup>[26]</sup>选择 467 个包含条斑紫菜功能基因的基因克隆制备 cDNA 微阵列,首次将 cDNA 微阵列技术应用到紫菜当中,以研究不同世代的条斑紫菜基因表达差异。分析发现, 55 个基因在配子体中表达量上调,其中与已知或推测功能基因相匹配的有 21 个; 86 个基因在孢子体中表达量上调,其中 24 个与已知功能基因相匹配。证明了优化的 cDNA 微阵列制备技术用于条斑紫菜基因表达分析具有高效性和实用性。此外,微阵列技术也已被用于研究江蓠 *Gracilaria changii* 对不同胁迫的响应<sup>[27,28]</sup>。

Dittami 等<sup>[29]</sup>用 EST 构建的微阵列对褐藻长囊水云在 3 种非生物胁迫条件下(低盐度、高盐度和氧化胁迫)的转录组变化进行研究,发现 70%的表达基因至少对一种胁迫有响应,包括一些与陆生植物相似的变化,比如生长相关基因等,但是也发现了大量长囊水云特有的胁迫调控基因。长囊水云在适应非生物胁迫环境中,其转录组经历了大量的重编程。此外还通过功能预测鉴定了一些胁迫应答基因和相关通路。

Kim 等<sup>[30]</sup>采用 778 个 EST 构建的微阵列来研究杜氏藻(*Dunaliella*)在低盐度和高盐度条件下的基因表达差异,发现了 142 个差异表达基因。低盐条件下 28 个基因表达上调, 57 个下调。高盐条件下, 43 个基因表达上调, 69 个下调,其中有 55 个基因对两

种条件都有响应。一些常见的胁迫应答基因在两种条件下都会表达上调。这是首次利用大规模的转录组比较分析来研究 *Dunaliella* 对盐度的适应机制。

### 2.3 高通量测序技术在藻类转录组研究中的应用

RNA-Seq, 即 RNA 测序又称转录组测序, 是最近发展起来的利用深度测序技术进行转录组分析的技术<sup>[31]</sup>, 该技术无需预先针对已知序列设计探针, 即可对任意物种的整体转录活动进行检测, 因此对具有特殊进化意义及发育特点的非模式生物, 尤其是藻类来说非常重要。目前, RNA-Seq 技术已被应用于藻类研究中的新基因的发现、基因表达、进化分析以及代谢途径确定等方面。与藻类传统的 EST 研究相比较, 转录组测序最大的特点是数据量大而且准确性高, 更有利于系统分析, 这从以下的研究成果中可以明显看出。

#### 2.3.1 藻类基因表达研究

Yang 等<sup>[32]</sup>利用 Solexa 技术对不同生理状态和不同胁迫处理的条斑紫菜混合样品进行测序, 共获得 13 333 334 条高质量序列, 碱基总量为  $12 \times 10^9$  nt, 组装后得到 31 538 条 Unigene。发现了大量抗逆相关基因, 其中 211 个涉及耐干燥、31 个涉及耐高光、10 个涉及类黄酮合成、48 个涉及活性氧清除以及 208 个涉及其他抗逆过程, 这显示条斑紫菜中存在复杂多样的抗逆系统。并发现存在一条近乎完整的  $C_3/C_4$  碳固定途径。比对结果显示有 56.7% 的 Unigene 没有找到同源序列, 说明这些可能代表了条斑紫菜特有的新基因。此外还对其中的散布重复序列 (TEs) 以及简单重复序列 (SSRs) 的类型、比例进行了分析。

为研究微藻中与生物燃料相关的基因及通路, Yazdi 等<sup>[33]</sup>应用高通量测序技术对非模式微藻杜氏藻 (*Dunaliella tertiolecta*) 转录组进行了测序, 获得了平均长度为 400 碱基的 1 363 336 条高质量序列, 组装后得到 33 307 条 isotig 和 376 482 条 singleton。通过 GO 和 KEGG 比对以及同源分析, 鉴定了 *D. tertiolecta* 中绝大多数与脂质、淀粉合成相关的基因和代谢通路。这对分子遗传、功能基因组学以及生物燃料代谢工程的研究有一定意义。

浒苔 (*Ulva prolifera*) 是形成绿潮的典型植物, 能

够在短时间内大量繁殖, 推测其光合作用尤其是碳固定途径一定非常高效。为此, Xu 等<sup>[34]</sup>对其进行了转录组测序。在其数据中, 参与  $C_3$ -和  $C_4$ -光合作用的基因都有被找到, 功能分析发现了  $C_4$  途径的关键酶丙酮酸磷酸双激酶 (PPDK)、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEC) 和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (PCK)。为了进一步研究其是否执行  $C_4$  通路, 对不同胁迫条件下 1,5-二磷酸核酮羧化酶/氧化酶大亚基 (*rbcL*) 和 PPDK 的基因表达及其酶活性进行了测定, 结果显示两者都有明显升高, 推测 PPDK 活性可能对浒苔的  $C_4$  光合作用转变有重要作用, 这有助于研究浒苔的广泛分布及黄海的水华频发现象。

#### 2.3.2 藻类小 RNA 研究

转录组学研究的一个重要方面是发现和分析非编码 RNA (Non-coding RNA ncRNA)。ncRNA 按其功能可分为看家 ncRNA 和调节 ncRNA, 后者主要包括长链 ncRNA (lncRNA) 和以 microRNA 为代表的小 ncRNA (Small ncRNA)<sup>[35]</sup>。microRNA (miRNA) 是一类长约 21 nt 的内源单链小 RNA 分子, 是非常重要的转录后调控因子, 研究发现其在个体发育调控、细胞分化、逆境应答等生物进程中起重要作用<sup>[36]</sup>, 因此也是目前研究的热点。

相较于高等植物, 藻类小 RNA 的研究还较少, 但也有报道。2007 年, Molnár 等<sup>[37]</sup>首次发现单细胞绿藻莱茵衣藻中存在 miRNA, 并发现其进化前体以及 siRNA 的种类与高等植物类似, 这提示复杂的 RNA 干扰系统可能先于多细胞进化, 是原始真核细胞的一个特征。随后 Liang 等<sup>[38]</sup>通过构建条斑紫菜的小 RNA 文库并对其进行 Solexa 高通量测序, 获得了 13 324 条 miRNA 序列, 代表了 224 个保守的 miRNA 家族。发现 7 条紫菜特有的新的 miRNA, 并通过序列同源搜索对其靶基因进行了预测。硅藻假微型海链藻内源性的小 RNA 已被报道<sup>[39]</sup>。通过构建其小 RNA cDNA 文库并同时用 454 系统和 SOLID 系统进行高通量测序, 发现一组核心小 RNA 的存在, 包括新的 microRNA、重复相关的小干扰 RNA 以及内源性的小干扰 RNA。硅藻中的小 RNA 系统 (如 RNAi 机制) 与植物相似, 高比例的小干扰 RNA 来源于基因组中编码蛋白区和重复区域。为研究浒苔的 miRNA 及其在漂浮浒苔快速增殖中的可能作用,

黄爱优等<sup>[40]</sup>采用 Solexa 测序的方法对浒苔小 RNA 进行测序并做了相关的生物信息学分析,结果表明,浒苔中存在丰富的小 RNA, siRNA 数目众多,表明浒苔中可能存在复杂的 siRNA 沉默机制。小 RNA 分子长度最多的为 25nt,与拟南芥情况不一样<sup>[41]</sup>。浒苔小 RNA 中有部分和植物 miRNA 有高度同源性,表明浒苔 miRNA 调控方式可能与植物有一定相似性。

### 3 藻类其他相关方面的研究

藻类中唯一有明确模式物种地位的是绿藻莱茵衣藻,近年来随着几种藻类全基因组测序的完成,藻类模式物种的数量也在增加。两种微小绿藻 *Ostreococcus* 的基因组高度紧凑,绝大多数的蛋白仅有单个基因编码,而且它们适于进行高效的遗传转化操作,这使得其成为分析某些细胞进程的候选生物<sup>[42]</sup>。原始红藻 *C. merolae* 的测序已完成,它能够为细胞生物学的研究提供模式系统,比如细胞器的分化、遗传等<sup>[43]</sup>。三角褐指藻有望成为一种新的细胞模型,它能够被转化,因此可以利用 RNA 干扰(RNAi)技术对其进行基因敲除<sup>[44]</sup>。褐藻长囊水云也已成为研究一些发育进程的模式物种,比如生活史的调控机制等。随着一些新的技术手段的应用,这些新模式物种将为我们深入了解藻类及植物生物学做出更大贡献。

随着几种藻类小 RNA 的鉴定及其调控机制研究的展开, RNA 干扰技术有望在藻类功能基因研究领域得到发展。目前, RNA 干扰在藻类中的研究已有报道,如在体外通过电穿孔将 dsRNA 转入眼虫藻 *Euglena gracilis* 细胞中实现基因沉默已经获得成功<sup>[45]</sup>。外源合成的 dsRNA 通过显微注射进入无隔藻 *Vaucheria frigida* 大而多核的细胞,观察到的 RNAi 效应持续时间可达 6 个月<sup>[46]</sup>。在绿藻杜氏盐藻中,通过电穿孔将包含 IR 的质粒 DNA 转入细胞,在 7 d 后观察到了靶 mRNA 水平最大程度的降低<sup>[47]</sup>。虽然目前还没有建立稳定的转化方法和选择标记,但是这种通过体外合成 dsRNAs 或转入 DNA 结构从而实现瞬时基因表达抑制的技术有望在藻类中得到广泛应用。目前需要建立一种能将核酸(RNA 或 DNA)有效转入细胞或者一条通路(通常表达一个共转染报告基因)的方法,从而通过表型评价来区分已经接纳外源大分子的细胞<sup>[48]</sup>。

### 4 结语与展望

目前,基因组学方法被用来解释藻类生物学的许多问题,随着几种藻类基因组的测序完成,比较基因组学方法已被用于研究藻类代谢途径、进化史以及多细胞起源等。国际生物基因资源研究的特点,一方面是从模式生物基因组学入手,研究生物个体发育和系统发育的规律以及生物对环境的响应机制;另一方面是从实际应用入手,进行基因组序列测定,并分离、克隆和表达有用的功能基因<sup>[2]</sup>。就目前的研究进展来看,藻类基因组学在第一方面已经有所推进,如关于质体起源问题,原始红藻 *C. merolae* 和灰胞藻 *C. paradoxa* 的基因组测序结果均支持初级质体的单一起源;在光合作用基因研究方面,两种微小绿藻、两种硅藻的基因组以及红藻条斑紫菜、坛紫菜、绿藻浒苔的转录组均显示其可能利用 C<sub>4</sub> 途径作进行 CO<sub>2</sub> 同化,提示 C<sub>4</sub>-光合作用可能是藻类适应环境的一种策略;此外,大藻褐藻长囊水云基因组中发现的一些新的代谢途径(如卤化物代谢)以及信号转导相关的受体激酶基因家族等也显示了其独特的环境适应性。在功能基因研究方面,目前大藻多集中进行胁迫条件下的基因表达研究以及相关应答基因的筛选,较少有深入研究,微藻则更多的是关注其与生物燃料相关的基因及通路,与实际应用相联系。

基因组学和转录组学研究的首要前提是获得大量的序列数据,但是目前藻类的序列信息仍十分片段化,藻类许多群体在分子水平上还知之甚少。今后的工作需要更多的藻类物种进行测序,而由于大多数藻类的基因组比较庞大,测序费用高昂,因此利用新一代测序技术对转录本进行测序分析会是一个不错的策略。另外,随着高通量测序技术的发展,得到的信息量也在爆炸式增长,但如何处理庞大的数据量所带来的信息学难题,比如如何更好地诠释、比对和鉴定多个类似的同源基因,如何确定最佳测序量、获得高质量的转录图谱等都有待开展。此外,藻类的测序结果中有非常高比例的基因在公共数据库中找不到对应信息,如硅藻假微型海链藻的基因组中有将近一半的基因是新的。将来一个主要挑战是了解这些新基因的功能,而发展一些微藻和大藻的模式物种将有望朝这个目标迈进一大步。



## 参考文献(References):

- [1] Matsuzaki M, Misumi O, Shin-i T, Maruyama S, Takahara M, Miyagishima SY, Mori T, Nishida K, Yagisawa F, Nishida K, Yoshida Y, Nishimura Y, Nakao S, Kobayashi T, Momoyama Y, Higashiyama T, Minda A, Sano M, Nomoto H, Oishi K, Hayashi H, Ohta F, Nishizaka S, Haga S, Miura S, Morishita T, Kabeya Y, Terasawa K, Suzuki Y, Ishii Y, Asakawa S, Takano H, Ohta N, Kuroiwa H, Tanaka K, Shimizu N, Sugano S, Sato N, Nozaki H, Ogasawara N, Kohara Y, Kuroiwa T. Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*10D. *Nature*, 2004, 428(6983): 653–657. DOI
- [2] 牛建峰, 高胜寒, 骆迎峰, 袁野, 王广策, 胡松年. 条斑紫菜低覆盖度基因组草图分析. *海洋科学*, 2011, 35(6): 76–81.
- [3] Sahoo D, Tang XR, Yarish C. *Porphyra*-the economic seaweed as a new experimental system. *Curr Sci*, 2002, 83(11): 1313–1316.
- [4] Peters AF, Marie D, Scornet D, Kloareg B, Cock JM. Proposal of *Ectocarpus siliculosus* (Ectocarpales, Phaeophyceae) as a model organism for brown algal genetics and genomics. *J Phycol*, 2004, 40(6): 1079–1088. DOI
- [5] Cock JM, Sterck L, Rouzé P, Scornet D, Allen AE, Amoutzias G, Anthouard V, Artiguenave F, Aury JM, Badger JH, Beszteri B, Billiau K, Bonnet E, Bothwell JH, Bowler C, Boyen C, Brownlee C, Carrano CJ, Charrier B, Cho GY, Coelho SM, Collén J, Corre E, Silva CD, Delaga L. The *Ectocarpus* genome and the independent evolution of multicellularity in brown algae. *Nature*, 2010, 465(7298): 617–621. DOI
- [6] Derellea E, Ferraz C, Rombauts S, Rouzé P, Worden AZ, Robbens S, Partensky F, Degroove S, Echeynié S, Cooke R, Saeys Y, Wuyts J, Jabbari K, Bowler C, Panaud O, Piégue B, Ball SG, Ral JP, Bouget FY, Piganeau G, De Baets B, Picard A, Delseny M, Demaille J, van de Peer Y, Moreau H. Genome analysis of the smallest free-living eukaryote *Ostreococcus tauri* unveils many unique features. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(31): 11647–11652. DOI
- [7] Palenik B, Grimwood J, Aerts A, Rouzé P, Salamov A, Putnam N, Dupont C, Jorgensen R, Derelle E, Rombauts S, Zhou KM, Otilar R, Merchant SS, Podell S, Gaasterland T, Napoli C, Gendler K, Manuell A, Tai V, Vallon O, Piganeau G, Jancek S, Heijde M, Jabbari K, Bowler C, Lohr M, Robbens S, Werner G, Dubchak I, Pazour GJ, Ren QH, Paulsen I, Delwiche C, Schmutz J, Rokhsar D, van de Peer Y, Moreau H, Grigoriev IV. The tiny eukaryote *Ostreococcus* provides genomic insights into the paradox of plankton speciation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(18): 7705–7710. DOI
- [8] Keeling PJ. *Ostreococcus tauri*: seeing through the genes to the genome. *Trends Genet*, 2007, 23(4): 151–154. DOI
- [9] Merchant SS, Prochnik SE, Vallon O, Harris EH, Karpowicz SJ, Witman GB, Terry A, Salamov A, Fritz-Laylin LK, Maréchal-Drouard L, Marshall WF, Qu LH, Nelson DR, Sanderfoot AA, Spalding MH, Kapitonov VV, Ren QH, Ferris P, Lindquist E, Shapiro H, Lucas SM, Grimwood J, Schmutz J, Cardol P, Cerutti H, Chanfreau G, Chen CL, Cognat V, Croft MT, Dent R, Dutcher S, Fernández E, Fukuzawa H, González-Ballester D, González-Halphen D, Hallmann A, Hanikenne M, Hippler M, Inwood W, Jabbari K, Kalanon M, Kuras R, Lefebvre PA, Lemaire SD, Lobanov AV, Lohr M, Manuell A, Meier I, Mets L, Mittag M, Mittelmeier T, Moroney JV, Moseley J, Napoli C, Nedelcu AM, Niyogi K, Novoselov SV, Paulsen IT, Pazour G, Purton S, Ral JP, Riaño-Pachón DM, Riekhof W, Rymarkis L, Schroda M, Stern D, Umen J, Willows R, Wilson N, Zimmer SL, Allmer J, Balk J, Bisova K, Chen CJ, Elias M, Gendler K, Hauser C, Lamb MR, Ledford H, Long JC, Minagawa J, Page MD, Pan JM, Pootakham W, Roje S, Rose A, Stahlberg E, Terauchi AM, Yang PF, Ball S, Bowler C, Dieckmann CL, Gladyshev VN, Green P, Jorgensen R, Mayfield S, Mueller-Roeber B, Rajamani S, Sayre RT, Brokstein P, Dubchak I, Goodstein D, Hornick L, Huang YW, Jhaveri J, Luo YG, Martínez D, Ngau WC, Otilar B, Poliakov A, Porter A, Szajkowski L, Werner G, Zhou K, Grigoriev IV, Rokhsar DS, Grossman AR. The *Chlamydomonas* genome reveals the evolution of key animal and plant functions. *Science*, 2007, 318(5848): 245–250. DOI
- [10] Prochnik SE, Umen J, Nedelcu AM, Hallmann A, Miller SM, Nishii I, Ferris P, Kuo A, Mitros T, Fritz-Laylin LK, Hellsten U, Chapman J, Simakov Oleg, Rensing SA, Terry A, Pangilinan J, Kapitonov V, Jurka J, Salamov A, Shpiro H, Schmutz J, Grimwood J, Lindquist E, Lucas S, Grigoriev IV, Schmitt R, Kirk D, Rokhsar DS. Genomic analysis of organismal complexity in the multicellular green alga *Volvox carteri*. *Science*, 2010, 329(5988): 223–226. DOI
- [11] Blanc G, Duncan G, Agarkova I, Borodovsky M, Gurnon J, Kuo A, Lindquist E, Lucas S, Pangilinan J, Polle J, Salamov A, Terry A, Yamada T, Dunigan DD, Grigoriev IV, Claverie JM, van Etten JL. The *Chlorella variabilis* NC64A genome reveals adaptation to photosymbiosis, coevolution with viruses, and cryptic sex. *Plant Cell*, 2010, 22(9): 2943–2955. DOI



- [12] Armbrust EV, Berges JA, Bowler C, Green BR, Martinez D, Putnam NH, Zhou SG, Allen AE, Apt KE, Bechner M, Brzezinski MA, Chaal BK, Chiovitti A, Davis AK, Demarest MS, Detter JC, Glavina T, Goodstein D, Hadi MZ, Hellsten U, Hildebrand M, Jenkins BD, Jurka J, Kapitonov VV, Kröger N, Lau WW, Lane TW, Larimer FW, Lippmeier JC, Lucas S, Medina M, Montsant A, Obornik M, Parker MS, Palenik B, Pazour GJ, Richardson PM, Rynearson TA, Saito MA, Schwartz DC, Thamatrakoln K, Valentin K, Vardi A, Wilkerson FP, Rokhsar DS. The Genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution, and metabolism. *Science*, 2004, 306(5693): 79–86. DOI
- [13] Bowler C, Allen AE, Badger JH, Grimwood J, Jabbari K, Kuo A, Maheswari U, Martens C, Maumus F, Otillar RP, Rayko E, Salamov A, Vandepoele K, Beszteri B, Gruber A, Heijde M, Katinka M, Mock T, Valentin K, Verret F, Berges JA, Brownlee C, Cadoret JP, Chiovitti A, Choi CJ, Coesel S, De Martino A, Detter JC, Durkin C, Falciatore A, Fournet J, Haruta M, Huysman MJ, Jenkins BD, Jiroutova K, Jorgensen RE, Joubert Y, Kaplan A, Kröger N, Kroth PG, La Roche J, Lindquist E, Lommer M, Martin-Jézéquel V, Lopez PJ, Lucas S, Mangogna M, McGinnis K, Medlin LK, Montsant A, Secq MP, Napoli C, Obornik M, Parker MS, Petit JL, Porcel BM, Poulsen N, Robison M, Rychlewski L, Rynearson TA, Schmutz J, Shapiro H, Siat M, Stanley M, Sussman MR, Taylor AR, Vardi A, von Dassow P, Vyverman W, Willis A, Wyrwicz LS, Rokhsar DS, Weissenbach J, Armbrust EV, Green BR, van de Peer Y, Grigoriev IV. The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes. *Nature*, 2008, 456(7219): 239–244. DOI
- [14] Kroth PG, Chiovitti A, Gruber A, Martin-Jezequel V, Mock T, Parker MS, Stanley MS, Kaplan A, Caron L, Weber T, Maheswari U, Armbrust EV, Bowler C. A model for carbohydrate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* deduced from comparative whole genome analysis. *PLoS ONE*, 2008, 3(1): e1426. DOI
- [15] McGinn PJ, Morel FM. Expression and inhibition of the carboxylating and decarboxylating enzymes in the photosynthetic C4 pathway of marine diatoms. *Plant Physiol*, 2008, 146(1): 300–309.
- [16] Price DC, Chan CX, Yoon HS, Yang EC, Qiu H, Weber AP, Schwacke R, Gross J, Blouin NA, Lane C, Reyes-Prieto A, Durnford DG, Neilson JA, Lang BF, Burger G, Steiner JM, Löffelhardt W, Meuser JE, Posewitz MC, Ball S, Arias MC, Henrissat B, Coutinho PM, Rensing SA, Symeonidi A, Doddapaneni H, Green BR, Rajah VD, Boore J, Bhattacharya D. *Cyanophora paradoxa* genome elucidates origin of photosynthesis in algae and plants. *Science*, 2012, 335(6070): 843–847. DOI
- [17] Cock JM, Tessmar-Raible K, Boyen C, Viard F. Introduction to marine genomics. Netherlands: Springer, 2010: 184–186.
- [18] Worden A Z, Lee JH, Mock T, Rouzé P, Simmons MP, Aerts AL, Allen AE, Cuvelier ML, Derelle E, Everett MV, Foulon E, Grimwood J, Gundlach H, Henrissat B, Napoli C, McDonald SM, Parker MS, Rombauts S, Salamov A, Von Dassow P, Badger JH, Coutinho PM, Demir E, Dubchak I, Gentemann C, Eikrem W, Gready JE, John U, Lanier W, Lindquist EA, Lucas S, Mayer KF, Moreau H, Not F, Otillar R, Panaud O, Pangilinan J, Paulsen I, Piegu B, Poliakov A, Robbens S, Schmutz J, Toulza E, Wyss T, Zelensky A, Zhou KM, Armbrust EV, Bhattacharya D, Goodenough UW, van de Peer Y, Grigoriev IV. Green evolution and dynamic adaptations revealed by genomes of the marine picoeukaryotes *Micromonas*. *Science*, 2009, 324(5924): 268–272. DOI
- [19] Lockhart DJ, Winzeler EA. Genomics, gene expression and DNA arrays. *Nature*, 2000, 405(6788): 827–836. DOI
- [20] Fan XL, Fang YJ, Hu SN, Wang GC. Generation and analysis of 5318 expressed sequence tags from the filamentous sporophyte of *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta). *J Phycol*, 2007, 43(6): 1287–1294. DOI
- [21] Pearson GA, Hoarau G, Lago-Leston A, Coyer JA, Kube M, Reinhardt R, Henckel K, Serrão ET, Corre E, Olsen JL. An expressed sequence tag analysis of the intertidal brown seaweeds *Fucus serratus* (L.) and *F. vesiculosus* (L.) (Heterokontophyta, Phaeophyceae) in response to abiotic stressors. *Mar Biotechnol*, 2010, 12(2): 195–213. DOI
- [22] Alkayal F, Albion RL, Tillett RL, Hathwaik LT, Lemos MS, Cushman JC. Expressed sequence tag (EST) profiling in hyper saline shocked *Dunaliella salina* reveals high expression of protein synthetic apparatus components. *Plant Sci*, 2010, 179(5): 437–449. DOI
- [23] Zhao R, Cao Y, Xu H, Lv LF, Qiao DR, Cao Y. Analysis of expressed sequence tags from the green alga *Dunaliella salina* (Chlorophyta). *J Phycol*, 2011, 47(6): 1454–1460. DOI
- [24] Jung W, Lee SG, Kang SW, Lee YS, Lee JH, Kang SH, Jin ES, Kim HJ. Analysis of expressed sequence tags from the antarctic psychrophilic green algae, *Pyramimonas gelidicola*. *J Microbiol Biotechnol*, 2012, 22(7): 902–906. DOI
- [25] 祁云霞, 刘永斌, 荣威恒. 转录组研究新技术: RNA-Seq 及其应用. *遗传*, 2011, 33(11): 119–1202.

- [26] 周晓君, 茅云翔, 王孟强, 孔凡娜, 隋正红, 张学成. 条斑紫菜 cDNA 微阵列制备及其在世代差异基因表达检测中的应用. 高技术通讯, 2006, 16(12): 1300–1305.
- [27] Ho CL, Teoh S, Teo SS, Rahim RA, Phang SM. Profiling the transcriptome of *Gracilaria changii* (Rhodophyta) in response to light deprivation. *Mar Biotechnol*, 2009, 11(4): 513–519. DOI
- [28] Teo SS, Ho CL, Teoh S, Rahim RA, Phang SM. Transcriptomic analysis of *Gracilaria changii* (Rhodophyta) in response to hyper- and hypoosmotic stresses. *J Phycol*, 2009, 45(5): 1093–1099. DOI
- [29] Dittami SM, Scornet D, Petit JL, Ségurens B, Da Silva C, Corre E, Dondrup M, Glatting KH, König R, Sterck L, Rouzé P, van de Peer Y, Cock JM, Boyen C, Tonon T. Global expression analysis of the brown alga *Ectocarpus siliculosus* (Phaeophyceae) reveals large-scale reprogramming of the transcriptome in response to abiotic stress. *Genome Biol*, 2009, 10(6): R66. DOI
- [30] Kim MJ, Park S, Polle JEW, Jin E. Gene expression profiling of *Dunaliella* sp. acclimated to different salinities. *Phycol Res*, 2010, 58(1): 17–28. DOI
- [31] Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Rev Genet*, 2009, 10(1): 57–63. DOI
- [32] Yang H, Mao YX, Kong FN, Yang GP, Ma F, Wang L. Profiling of the transcriptome of *Porphyra yezoensis* with Solexa sequencing technology. *Chinese Sci Bull*, 2011, 56(20): 2119–2130. DOI
- [33] Rismani-Yazdi H, Haznedaroglu BZ, Bibby K, Peccia J. Transcriptome sequencing and annotation of the microalgae *Dunaliella tertiolecta*: pathway description and gene discovery for production of next-generation biofuels. *BMC Genomics*, 2011, 12: 148. DOI
- [34] Xu JF, Fan X, Zhang XW, Xu D, Mou S, Zheng Z, Miao JL, Ye NH. Evidence of coexistence of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> photosynthetic pathways in a green-tide-forming alga, *Ulva prolifera*. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37438. DOI
- [35] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell*, 2009, 136(4): 629–641. DOI
- [36] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116(2): 281–297. DOI
- [37] Molnár A, Schwach F, Studholme DJ, Thuenemann EC, Baulcombe DC. miRNAs control gene expression in the single-cell alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Nature*, 2007, 447(7148): 1126–1129. DOI
- [38] Liang CW, Zhang XW, Zou J, Xu D, Su F, Ye NB. Identification of miRNA from *Porphyra yezoensis* by high-throughput sequencing and bioinformatics analysis. *PLoS One*, 2010, 5(5): e10698. DOI
- [39] Norden-Krichmar TM, Allen AE, Gaasterland T, Hildebrand M. Characterization of the small RNA transcriptome of the diatom, *Thalassiosira pseudonana*. *PLoS One*, 2011, 6(8): e22870. DOI
- [40] 黄爱优, 王广策, 何林文, 牛建峰, 张宝玉. 浒苔小RNA高通量测序及相关生物信息学分析. 科学通报, 2011, 56(24): 1993–1998. DOI
- [41] Lu C, Tej SS, Luo SJ, Haudenschild CD, Meyers BC, Green PJ. Elucidation of the small RNA component of the transcriptome. *Science*, 2005, 309(5740): 1567–1569. DOI
- [42] Moulager M, Corellou F, Vergé V, Escande ML, Bouget FY. Integration of light signals by the retinoblastoma pathway in the control of S phase entry in the picophytoplanktonic cell *Ostreococcus*. *PLoS Genet*, 2010, 6(5): e1000957. DOI
- [43] Fujiwara T, Misumi O, Tashiro K, Yoshida Y, Nishida K, Yagisawa F, Imamura S, Yoshida M, Mori T, Tanaka K, Kuroiwa H, Kuroiwa T. Periodic gene expression patterns during the highly synchronized cell nucleus and organelle division cycles in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *DNA Res*, 2009, 16(1): 59–72. DOI
- [44] De Riso V, Raniello R, Maumus F, Rogato A, Bowler C, Falciatore A. Gene silencing in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(14): e96. DOI
- [45] Ishikawa T, Nishikawa H, Gao Y, Sawa Y, Shibata H, Yabuta Y, Maruta T, Shigeoka S. The pathway via D-galacturonate/L-galactonate is significant for ascorbate biosynthesis in *Euglena gracilis*: identification and functional characterization of aldonolactonase. *J Biol Chem*, 2008, 283(45): 31133–31141. DOI
- [46] Takahashi F, Yamagata D, Ishikawa M, Fukamatsu Y, Ogura Y, Kasahara M, Kiyosue T, Kikuyama M, Wada M, Kataoka H. AUREOCHROME, a photoreceptor required for photomorphogenesis in stramenopiles. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(49): 19625–19630. DOI
- [47] Sun G, Zhang X, Sui Z, Mao Y. Inhibition of pds gene expression via the RNA interference approach in *Dunaliella salina* (Chlorophyta). *Mar Biotechnol (NY)*, 2008, 10(3): 219–226. DOI
- [48] Cerutti H, Ma X, Msanne J, Repas T. RNA-mediated silencing in algae: biological roles and tools for analysis of gene function. *Eukaryot Cell*, 2011, 10(9): 1164–1172. DOI