

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00748

毛柄短肠蕨红/蓝光嵌合光受体基因的克隆和蛋白质结构分析

杨永霞^{1,2}, 高磊^{1,2}, 王艇¹

1. 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074;
2. 中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要: Phytochrome 3 (PHY3) 是一种特殊的既能吸收红光/远红光又能吸收蓝光的嵌合光受体, 一些隐花植物利用 PHY3 提高在弱光环境下的光敏感性。但是, 有关植物嵌合光受体的序列信息极为匮乏。文章采用反向 PCR 法分离了蕨类植物毛柄短肠蕨红/蓝光嵌合光受体编码基因的全长序列。序列分析表明: 该基因没有内含子, 仅包含一个长度为 4 278 bp 的开放阅读框, 与铁线蕨 *PHY3* 的核苷酸序列具有 80% 以上的一致性。该基因编码一个 1 425 个氨基酸组成的蛋白质, 预测分子量为 157 kDa, 理论等电点 (pI) 为 6.29。结构分析表明, PHY3 是由光敏色素和向光色素蛋白融合而成, 其 N 端序列与光敏色素 N 端序列类似, 包括 PAS、GAF 和 PHY 结构域, 负责结合吸收红光/远红光的藻蓝胆素生色团; 而 C 端与完整的向光色素类似, 由 2 个 LOV 和 1 个 Ser/Thr 激酶结构域组成, 可结合吸收蓝光/UV-A 的生色团黄素单核苷酸 FMN。

关键词: 红/蓝光嵌合光受体; 克隆; 序列分析; 结构预测

Molecular cloning and protein structure analyses of red/blue light chimeric photoreceptor from *Allantodia dilatata* (Bl.) Ching

YANG Yong-Xia^{1,2}, GAO Lei^{1,2}, WANG Ting¹

1. Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China;
2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Phytochrome 3 (PHY3) is a novel chimeric photoreceptor that can respond to both red/far red and blue light. Using this photoreceptor, some cryptogams could enhance light sensitivity under low light environment. But *PHY3* sequence information is still extremely limited. In the present study, a full-length *PHY3* genomic sequence was cloned from a fern *Allantodia dilatata* (Bl.) Ching by inverse PCR approaches. Sequence analysis showed that introns were absent in the gene. It contained a 4 278 bp open reading frame, encoding a deduced protein of 1 425 amino acid residues with a theoretical isoelectric point (pI) of 6.29 and a calculated molecular mass about 157 kDa. Protein domain search and structure analyses indicated that PHY3 originated from the recombination of two different photoreceptors. Its N-terminal section consisted of a putative functional phytochrome chromophore-binding domain including PAS, GAF, and PHY, whereas the C-terminal region possessed a nearly complete phototropin motif with two LOV and one STKc domains.

Keywords: Red/blue light chimeric photoreceptors; Clone; Sequence analyses; Structure prediction

收稿日期: 2008-11-20; 修回日期: 2009-01-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30011597)资助

作者简介: 杨永霞(1980-), 女, 博士, 专业方向: 进化遗传学。E-mail: yyx624@126.com

通讯作者: 王艇 (1969-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 进化遗传学。Tel: 027-87510677; E-mail: tingwang@wbcas.cn

高等植物在进化过程中发展了一套复杂的感光系统,用于感受光信号的强度、方向及光周期^[1-3]。该系统由至少 5 种光受体基因家族组成,主要包括吸收红光/远红光的光敏色素 PHY (Phytochrome)、吸收蓝光/UV-A (UltraViolet) 的隐花色素(Cryptochrome)、吸收蓝光/UV-A 甚至绿光的向光色素 PHOT (Phototropin)、吸收蓝绿光的 ZTL (Zeitlupes)家族以及可能存在但尚未被鉴定的吸收 UV-B 的 UV-B 受体^[4-10]。通过一个复杂的信号转导网络,它们单独作用或两两互作,在植物整个发育时期调控不同的光反应过程^[5,11-13]。此外,在藻类植物转板藻(*Mougeotia scalaris* Hass.)^[14]、藓类植物角齿藓(*Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid.)^[15]和蕨类植物铁线蕨(*Adiantum capillus-veneris* L.)、欧洲鳞毛蕨(*Dryopteris filix-mas* (L.) Schott)、球子蕨(*Onoclea sensibilis* L.)以及姬蕨(*Hypolepis punctata* Mett.)^[16,17]中还鉴定出一种既能吸收红光又能吸收蓝光的嵌合光受体 Phytochrome 3 (PHY3, 转板藻中命名为 MsNEO1 和 MsNEO2)。

序列分析表明,铁线蕨 PHY3(AcPHY3) 没有内含子,仅包含一个连续的开放阅读框^[16]。其编码蛋白的氨基(N)端与 PHY N 端类似,能够结合吸收红光/远红光生色团的前体——藻蓝胆素(PΦB: phytochromobilin), AcPHY3 蛋白和发色团藻蓝胆素结合后具有和普通 PHY 相似的吸收光谱^[17];而 AcPHY3 蛋白羧基(C)端与完整的 PHOT 类似,包括 2 个 LOV (Light, Oxygen and voltage)结构域和 1 个 Ser/Thr 激酶结构域(Serine/threonine kinase)^[17-19]。AcPHY3 C 端的两个 LOV 结构域能够结合吸收蓝光/UV-A 的生色团黄素单核苷酸 FMN (Flavin mononucleotide),并具有和种子植物 PHOT LOV 结构域类似的吸收和荧光光谱^[19]。因此,AcPHY3 兼具吸收红光和蓝光的能力;这不仅拓宽了向光反应的光谱范围,也使得蕨类植物能够感受自然环境下的低光信号^[17,20],提高了在林荫密布生境下的适应性。拟南芥突变体表达以及转录物的检测研究也表明,两个独立的、分别吸收红光和蓝光信号的双通道光感受系统通过一个单独的色素蛋白协同作用,提高了嵌合光受体的光敏感性和低光遮蔽环境下的适应性^[19]。

目前,有关植物嵌合光受体的序列信息极为匮乏。在蕨类植物中,仅报道有一条铁线蕨全长 PHY3 序列^[16]。本研究从蕨类植物毛柄短肠蕨 *Allantodia*

dilatata (Bl.) Ching 中分离了全长红/蓝光嵌合光受体基因 *AdPHY3*, 并对其序列和蛋白结构进行了分析,以期为进一步研究该基因的起源和进化奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料和试剂

毛柄短肠蕨为中国科学院武汉植物园收集、种植。大肠杆菌感受态细胞 DH5α 为本实验室保存。pMD19-T 载体、普通 Taq 酶、高保真 LA Taq 酶、dNTP 等试剂购自宝生物工程(大连)有限公司 (TaKaRa); Sph I 和 T4 DNA 连接酶购于 NEB 公司; DNA 凝胶纯化回收试剂盒购于 Promega 公司。

1.2 基因组总 DNA 的提取及 PHY3 全长基因的克隆、测序

取 1~2 g 幼嫩叶片,用液氮冷冻研磨后采用改进的 CTAB 法提取 DNA^[21]。利用 GenBank 中收录的转板藻 *MsNEO1*、*MsNEO2* 基因序列(登录号: AB206967, AB206966)和铁线蕨 PHY3 基因序列(登录号: AB012082),分别在起始密码子上游和保守结构域区段利用 Primer 5.0 软件设计 5 对特异性和简并性引物 (5'-GSP F1/R1、M-GSP F1/R1、M-GDP F2/R2、M-GSP F3/R3 以及 M-GDP F4/ M-GSP R4, 表 1)。引物由 Invitrogen 公司合成。PCR 反应总体积为 20 μL, 其中包含 10×PCR 缓冲液 2 μL, MgCl₂ 2 mmol/L, 4 种 dNTPs 各 0.2 mmol/L, 引物 0.4 mol/L, 基因组 DNA 200 ng 和 1 U Taq DNA 聚合酶。PCR 扩增条件为: 94 预变性 5 min; 94 变性 30 s, 62 复性(复性温度随不同引物变化)30 s, 72 延伸 1.5 min, 共 35 个循环; 72 延伸 15 min。对于 3 端非保守区采用反向 PCR 法(Inverse PCR)^[22] 扩增。毛柄短肠蕨基因组 DNA 首先用 Sph I 酶于 37 酶切 16 h, 灭活后用 T4 DNA 连接酶于 16 连接 16 h。稀释后的连接产物作为 PCR 扩增的模版。IPCR 第一轮使用引物 3'-GSP F1/R1, 第二轮使用引物 3'-GSP F2/R2 扩增, 引物序列见表 1, 两轮 PCR 均采用 LA Taq 酶完成, PCR 扩增条件同上。PCR 扩增产物采用 1% 琼脂糖凝胶分离。回收纯化后连接到 pMD19-T 载体, 转化大肠杆菌 DH5α 感受态细胞, 然后涂布于加有 X-gal 和 IPTG 的

LB 培养基平板, 培养过夜。挑取白斑, 用 M13 引物扩增检测。筛选出的预期大小的阳性克隆送 In-vitrogen 公司, 采用 ABI PRISM 3730 DNA 测序仪进行双向克隆测序, 每个片段至少测 3 个克隆。不同引物对扩增出的重叠区段用 DNAMAN 软件进行序列拼接。

表 1 克隆试验所用引物序列

引物名称	引物序列 (5'→3')
5-GSP F1	TCAGCAATGTCCGCAAGACGAAG
5-GSP R1	TAGGCCATCACCCGATCGTAGC
M-GSP F1	GATGGCCTACAAGTTCCACGAG
M-GSP R1	TGGCAGGGGTAGTGATAGA
M-GDP F2	ATCACGCCCAATTCCGAYTTC
M-GDP R2	TGHACTCCGATGAAGTACTGGA
M-GSP F3	GAGGTGCTCGGTGAGAACTG
M-GSP R3	CTCGGGCTTGAGGTCTCGGTAG
M-GDP F4	GSHATGATGGATCACCCATTC
M-GSP R4	CGGATGAGAGGCCAGTCGATG
3-GSP F1	GAGGACTGGTGGGCGTTGGGAATC
3-GSP R1	ATCCCTCCGTGTACTTGCTAACC
3-GSP F2	GGGCAAGCGATGTCAAGAAGCAC
3-GSP R2	CGGTAAGATTGAAGAACCCTGTG

注: GSP 为基因特异性引物, GDP 为简并引物。

1.3 序列分析

利用 NCBI 的 Blast、ORF finder 和 BankIt 分别进行核酸序列比较、阅读框架确定及序列在线提交。运用 DNASTAR 软件推测蛋白质序列, Expasy ProtParam^[23]软件分析蛋白质的分子量、等电点和氨基酸组成。蛋白质结构功能域用 PROSITE^[24]和 SMART^[25]软件进行预测。蛋白质疏水性分析、跨膜区预测、信号肽和螺旋卷曲分析分别采用 ProtScale (<http://www.expasy.ch/tools>)、TMPred^[26]、SignalP^[27]和 Coils^[28]软件进行。使用在线工具 SOPMA^[29] (<http://www.expasy.org>) 预测二级结构并计算各种二级结构所占的百分比。同时将推测的氨基酸序列提交瑞士生物信息研究所 (European Bioinformatics Institute: <http://www.isb-sib.ch/>) Swiss-model, 基于同源建模的原理进行毛柄短肠蕨 PHY3 蛋白质的三维结构预测。

2 结果与分析

2.1 毛柄短肠蕨 PHY3 全长基因的克隆和测序

利用 5 对引物(5-GSP F1/R1、M-GSP F1/R1、

M-GDP F2/R2、M-GSP F3/R3 以及 M-GDP F4/M-GSP R4)克隆得到 *AdPHY3* 基因的 5 个片段(图 1, 泳道 A~E)。测序后, 去除载体序列, 分别得到 654、849、1623、846 以及 731 bp 的 5 个相互重叠的片段。进一步反向 PCR 克隆得到基因 3 端及终止密码子下游部分序列(图 1, 泳道 F), 测序获得 536 bp 的序列。将这些重叠区段拼接后得到长度为 4 428 bp 的毛柄短肠蕨嵌合光受体基因序列。

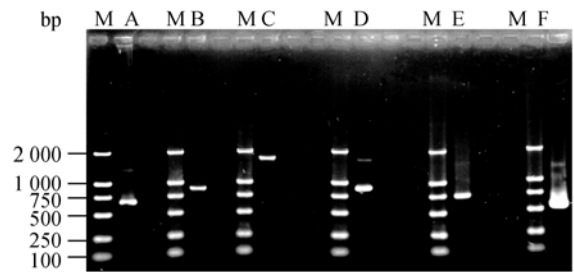


图 1 PCR 扩增产物的电泳检测

M: DL2000 分子量标记; A~E: 采用普通 PCR, 利用引物 5-GSP F1/R1, M-GSP F1/R1, M-GDP F2/R2, M-GSP F3/R3 和 M-GDP F4/M-GSP R4 扩增得到的产物; F: 采用反向 PCR, 利用引物 3-GSP F2/R2 扩增得到的产物。

2.2 毛柄短肠蕨 PHY3 基因序列分析

将克隆到的 *AdPHY3* 序列提交 GenBank, 登录号为 FJ455447。通过与铁线蕨 *PHY3* cDNA 序列比较以及 ORF finder 分析发现, 它包含起始和终止密码子, 7~4284 bp 为一个开放阅读框, 不具内含子, 序列 GC 含量为 60.78%。该基因编码 1 425 个氨基酸; 其中碱性氨基酸(Arg, Lys) 161 个, 强酸性氨基酸 (Asp, Glu) 175 个, 疏水氨基酸 (Ala, Ile, Leu, Phe, Trp, Val) 495 个, 不带电荷的极性氨基酸 (Asn, Cys, Gln, Ser, Thr, Tyr) 324 个。20 种氨基酸中含量最高的为亮氨酸(10.20%), 其次是丙氨酸(9.1%)、甘氨酸(8.0%)和精氨酸(7.4%)。预测蛋白质分子量为 157 kDa, 理论等电点(pI) 6.29, 在 pH 7.0 的环境中带有 8.3 个电荷。

图 2 给出的是毛柄短肠蕨 PHY3 蛋白质疏水性分析结果。其疏水性最大值为 2.5, 有 3 处疏水峰 >2; 最大亲水峰有两处, 都达 -3 以下。在 70~90、670~693 和 1312~1333 位氨基酸间找到分值很高的 3 个跨膜螺旋区; 其中 70~90 和 1312~1333 位氨基酸间的跨膜螺旋最可能的方向为从膜内到膜外, N 端在胞内。

推测毛柄短肠蕨PHY3 蛋白为跨膜蛋白。用SignalP对毛柄短肠蕨PHY3 蛋白序列在线搜索, 寻找信号肽序列, 发现该蛋白存在信号肽的概率极低, 不存在信号肽酶切位点, 很可能是一种非分泌蛋白。螺旋卷曲分析显示, 这个蛋白质中有 3 个明显的卷曲螺旋。

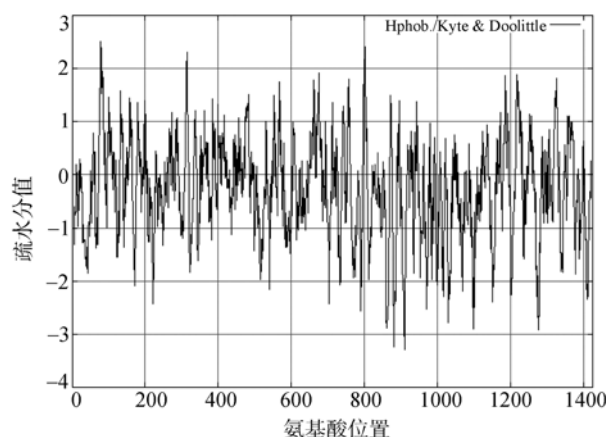


图 2 毛柄短肠蕨 PHY3 蛋白疏水性分析

与其他已经报道的嵌合光受体基因比较发现, *AdPHY3* 与铁线蕨 *PHY3* 基因核苷酸序列同源性达 80%, 与 *M. scalaris* 嵌合光受体 *MsNEO1* 和 *MsNEO2* 的同源性则较低(<27%)。此外, 毛柄短肠蕨 *PHY3* 5 端核苷酸序列与植物光敏色素基因 *PHY* 具有一定的同源性: 与铁线蕨 *PHY1* 和 *PHY2*(AB016168 和 AB016232) 的序列一致性为 30.5% 和 30.3%; 与藻类植物转板藻 *PHY*(AB206965) 为 29.2%; 与藓类植物角齿藓 *PHY1*、*PHY2*、*PHY3* 和 *PHY4*(U87632、U72993、AY123149 和 EU122393) 分别为 26.8%、31.2%、32.5% 和 31.6%; 与裸子植物长白松 *PHYP*(EU203168) 序列一致性达 35.3%; 而与被子植物拟南芥 *PHYA~E* (X17341、X17342、X17343、X76609 和 X76610) 的序列一致性介于 26.6%~27.9%。毛柄短肠蕨 *PHY3* 3 端序列则与植物向光色素基因 *PHOT* 一致性较高: 与铁线蕨 *PHOT1* 和 *PHOT2* (AB037188, AB115545)、转板藻 *PHOTA* 和 *PHOTB* (AB206963, AB206964)、长白松 *PHOT1* (AY093427)、拟南芥 *PHOT1* 和 *PHOT2* (NM_114447, NM_180879) 以及水稻 *NPH1* (AB018443) 的序列同源性分别为 39.5%、41.6%、47.4%、46.1%、43.4%、43.9%、45% 和 50.8%。

2.3 毛柄短肠蕨 PHY3 功能域预测

PROSITE 和 SMART 预测的毛柄短肠蕨 PHY3 蛋白功能结构域如图 3 所示。其 N 端含有 PAS (Per/Arnt/Sim)、GAF (cGMP-specific phosphodiesterase /adenylate cyclases/formate hydrogen lyase transcription) 和 PHY 结构域 (Phytochrome domain); C 端含有两个 LOV 结构域和一个 STKc 结构域。预测出的毛柄短肠蕨 PHY3 蛋白结构具有典型的红/蓝光嵌合光受体的结构特征。因此, 它的 GAF 结构域可能同样可以通过共价键与四吡咯环生色团 PΦB 链接, 而 LOV1 和 LOV2 与生色团 FMN 结合, 表现出与其他红/蓝光嵌合光受体类似的结构和功能。

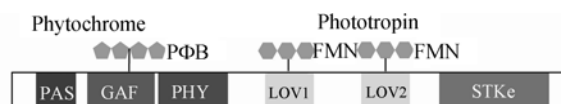


图 3 毛柄短肠蕨 PHY3 蛋白结构示意图

2.4 毛柄短肠蕨 PHY3 蛋白高级结构预测

毛柄短肠蕨 PHY3 蛋白二级结构中含有 37.26% 的 α 螺旋、16.00% 的 β 折叠、8.84% 的转角和 37.89% 的无规则卷曲, 亦即有 53.26% 的残基 (α 螺旋和 β 折叠) 可能暴露于蛋白质表面, 46.74% 的残基 (转角和无规则卷曲) 位于蛋白质内部。 α 螺旋和无规则卷曲构成了二级结构的主要成分。

图 4 (A~D) 给出了不同结构域的三维结构模拟结果。嵌合光受体 PAS 和 GAF 结构域同光敏色素 PAS 和 GAF 具有类似的空间结构 [30], 它们通过一个 8 字形套索连接在一起 (图 4A, 绿色部分)。GAF 结构域的 6 个反向平行的 β 折叠被两侧的 3 个和 2 个 α 螺旋包围在中间, 形成“三明治”结构, 它含有与四吡咯环生色团 PΦB 链接的保守半胱氨酸残基 (Cys298) (图 4A, 紫色球体)。而 LOV1 (图 4B) 和 LOV2 (图 4C) 呈现出 PAS 家族典型的 α/β 型结构, 由 5 个反向平行的 β 折叠 ($\beta 1 \sim \beta 5$)、3 个 α 螺旋 ($\alpha 1 \sim \alpha 3$) 以及一个 3_{10} 螺旋 (α') 组成, 其中 3_{10} 螺旋由保守的 NCRFLQ 残基构成, 它对光激活反应以及随后的下游信号传导具有重要作用 [31], 其中, $\alpha'A$ 、 $\alpha 3$ 以及 $\beta 3 \sim \beta 5$ 包含了 11 个与生色团 FMN 结合的氨基酸残基 (图 4B、4C, 紫色部分)。嵌合光受体 STKc 结构域呈现出与 PKA

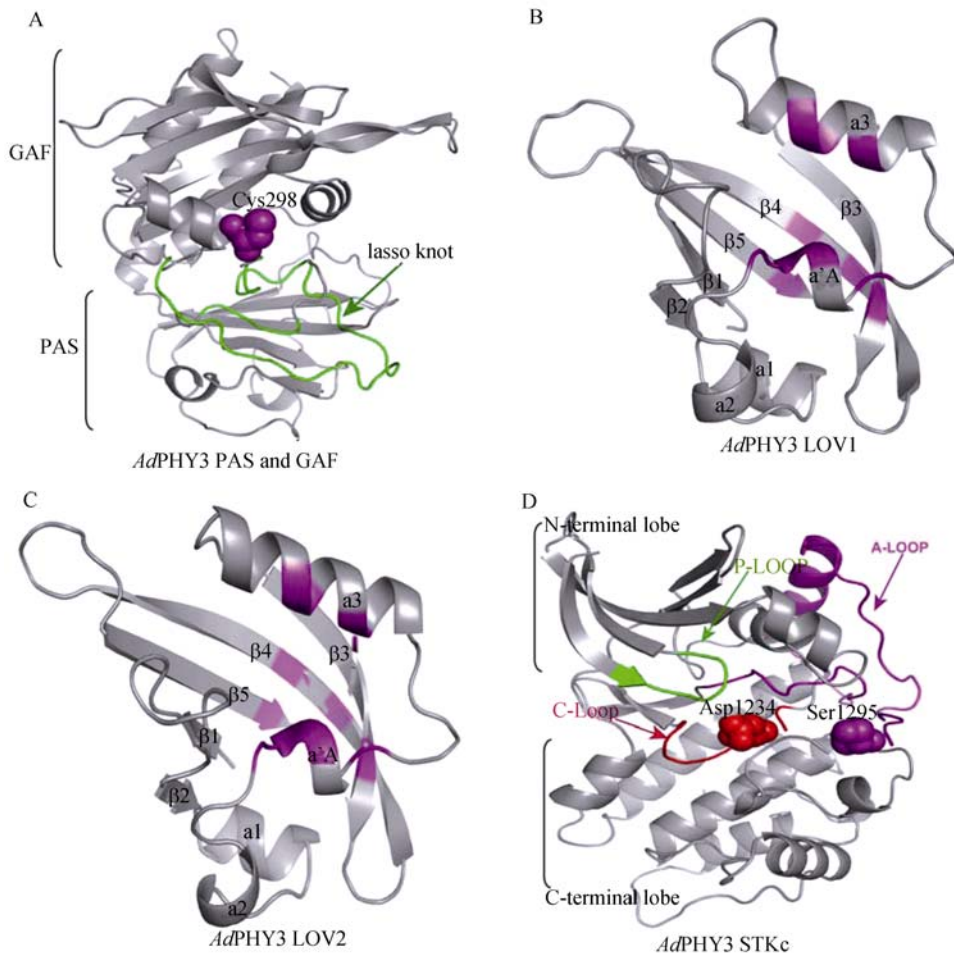


图 4 毛柄短肠蕨 *PHY3* 蛋白不同结构域三维结构示意图

A: 紫色球体显示 GAF 结构域保守的半胱氨酸残基, 箭头所指绿色无规则卷曲结构显示 GAF 和 PAS 结构域形成的 8 字形缠绕套索结构; B、C: 紫色部分表示与生色团 FMN 结合的部位; D: 绿色、红色和紫色分别显示 STKc 结构域 ATP 结合位点、催化位点和激活位点所形成的环, 其中保守的天冬氨酸残基和丝氨酸残基分别用红色和紫色球体显示。

(c-AMP-dependent protein kinase A: 环磷酸腺苷自磷酸化蛋白激酶A)结构域类似的结构^[32], 其N端主要由 β 折叠构成, 含有保守的GSGDTG残基构成的P-loop(Phosphate-binding loop: ATP结合位点)(图 4D, 绿色部分); C端主要由 α 螺旋构成, 含有PKA类似的催化C-(catalytic)loop和激活环A-(activation) loop(图 4D, 红色和紫色部分)。其中C-loop包含催化磷酸化反应的关键性位点——天冬氨酸残基(Asp1234)(图 4D, 红色球体); 而A-loop区域保守的磷酸化作用位点(Ser1295)(图 4D, 紫色球体)对于激酶活性的完全表达是必须的^[33]。

3 讨论

本研究中, 我们克隆并测得毛柄短肠蕨 *PHY3*

基因的全长序列。毛柄短肠蕨 *PHY3* 含 3 个跨膜螺旋区, 具有明显的亲水和疏水区, 没有发现信号肽序列, 这些特点暗示毛柄短肠蕨 *PHY3* 可能与铁线蕨 *PHY3* 一样, 为质膜定位蛋白^[16]。毛柄短肠蕨 *PHY3* 编码的蛋白质分子中还有 3 个明显的卷曲螺旋区; 卷曲螺旋是蛋白质的一种重要的空间结构, 可以通过构象改变参与信号传导过程^[34]。这些均提示毛柄短肠蕨 *PHY3* 是一个有生物学功能的膜蛋白。

毛柄短肠蕨 *PHY3* 基因的 5 端和 3 端分别与 *PHY* 和 *PHOT* 具有约 26%~50% 的同源性, 显示该基因可能是由来源不同的两个基因重组而成。此外, 毛柄短肠蕨和铁线蕨 *PHY3* 基因都完全缺失内含子, 也反映出它可能是由原本具外显子—内含子结构的 *PHOT* 基因经反转录转座作用后再与 *PHY* 片段融合

产生的^[35]。蛋白质结构域预测和三维结构模拟都发现, 毛柄短肠蕨PHY3 表现出与铁线蕨PHY3 类似的结构特征: 其N端与植物光敏色素类似, 具有与 PΦB 链接的重要氨基酸残基(Cys298), 可以吸收红光/远红光; 而C端却与向光色素类似, 包含两个结构相似的LOV结构域以及与PKA类似的STKc结构域, 同时还保留有很多关键性位点(例如Asp1234 和Ser1295), 表现出与蓝光受体类似的结构特性。这说明毛柄短肠蕨PHY3 和铁线蕨PHY3 功能一致, 通过整合红光感受系统与蓝光信号转导系统, 可以提高在弱光环境下的光敏感性和光利用效率^[17]。毛柄短肠蕨和铁线蕨所处生境类似, 大都生长在阴暗潮湿的林下或溪边, 它们极可能选择相似的信号转导机制对光强、光质及光周期作出局部适应性反应。

另一方面, 虽同为嵌合光受体基因, 但毛柄短肠蕨和铁线蕨PHY3 基因与转板藻嵌合光受体MsNEO基因相比, 序列相似性很低(<27%); 更为重要的是, 蕨类植物PHY3 基因没有内含子结构, 而藻类MsNEO则含有 26 个内含子, 被认为是PHY与PHOT基因外显子改组的产物^[14]。虽然结构上有着明显的差异, 但铁线蕨和转板藻嵌合光受体却都能利用红光和蓝光调节植物的向光性和叶绿体运动^[14, 17], 说明蕨类植物和藻类的嵌合光受体基因有可能是独立起源, 属趋同进化的产物^[14]。

近来发现, 在白垩纪, 伴随被子植物的兴起, 陆地生态系统发生明显改变^[20], 但是蕨类植物非但没有衰退, 反而利用被子植物演化所提供的新的生态机会发生了新一轮物种形成过程^[20]。蕨类植物的嵌合光受体基因PHY3 也许正是它们适应当时生态环境的体现, 对其在林荫密布的生境下成功繁衍、进化并延续至今起着关键作用^[17, 20]。我们将在本研究结果的基础上, 进一步对蕨类植物PHY3 的适应性分子进化展开分析。

参考文献(References):

- [1] Sullivan JA, Deng XW. From seed to seed: the role of photoreceptors in *Arabidopsis* development. *Dev Biol*, 2003, 260(2): 289–297.[\[DOI\]](#)
- [2] Campbell TJ, Liscum E. Plant photobiology 2001: a thousand points of enlightenment from receptor structures to ecological adaptation. *Plant Cell*, 2001, 13(8): 1704–1710.[\[DOI\]](#)
- [3] Pepper AE, Seong-Kim M, Hebst SM, Ivey KN, Kwak SJ, Broyles DE. shl, a new set of *Arabidopsis* mutants with exaggerated developmental responses to available red, far-red, and blue light. *Plant Physiol*, 2001, 127(1): 295–304.[\[DOI\]](#)
- [4] Ulm R, Nagy F. Signalling and gene regulation in response to ultraviolet light. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8(5): 477–482.[\[DOI\]](#)
- [5] Casal JJ. Phytochromes, cryptochromes, phototropin: photoreceptor interactions in plants. *Photochem Photobiol*, 2000, 71(1): 1–11.[\[DOI\]](#)
- [6] Nagy F, Schäfer E. Phytochromes control photomorphogenesis by differentially regulated, interacting signaling pathways in higher plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53: 329–355.[\[DOI\]](#)
- [7] Briggs WR, Christie JM. Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors. *Trends Plant Sci*, 2002, 7(5): 204–210.[\[DOI\]](#)
- [8] Imaizumi T, Tran HG, Swartz TE, Briggs WR, Kay SA. FKF1 is essential for photoperiodic-specific light signalling in *Arabidopsis*. *Nature*, 2003, 426(6964): 302–306.[\[DOI\]](#)
- [9] Quail PH. Phytochrome photosensory signalling networks. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(2): 85–93.[\[DOI\]](#)
- [10] Cashmore AR, Jarillo JA, Wu YJ, Liu D. Cryptochromes: blue light receptors for plants and animals. *Science*, 1999, 284(5415): 760–765.[\[DOI\]](#)
- [11] Folta KM, Spalding EP. Unexpected roles for cryptochrome 2 and phototropin revealed by high-resolution analysis of blue light-mediated hypocotyl growth inhibition. *Plant J*, 2001, 26(5): 471–478.[\[DOI\]](#)
- [12] Stowe-Evans EL, Luesse DR, Liscum E. The enhancement of phototropin-induced phototropic curvature in *Arabidopsis* occurs via a photoreversible phytochrome A-dependent modulation of auxin responsiveness. *Plant Physiol*, 2001, 126(2): 826–834.[\[DOI\]](#)
- [13] Lin C. Blue light receptors and signal transduction. *Plant Cell*, 2002, 14(Suppl): 207–225.
- [14] Suetsugu N, Mittmann F, Wagner G, Hughes J, Wada M. A chimeric photoreceptor gene, NEOCHROME, has arisen twice during plant evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(38): 13705–13709.[\[DOI\]](#)
- [15] Thummler F, Dufner M, Kreisl P, Dittrich P. Molecular cloning of a novel phytochrome gene of the moss *Ceratodon purpureus* which encodes a putative light-regulated protein kinase. *Plant Mol Biol*, 1992, 20(6): 1003–1017.[\[DOI\]](#)

- [16] Nozue K, Kanegae T, Imaizumi T, Fukuda S, Okamoto H, Yeh KC, Lagarias JC, Wada M. A phytochrome from the fern *Adiantum* with features of the putative photoreceptor NPH1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(26): 15826–15830. [\[DOI\]](#)
- [17] Kawai H, Kanegae T, Christensen S, Kiyosue T, Sato Y, Imaizumi T, Kadota A, Wada M. Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. *Nature*, 2003, 421(6920): 287–290. [\[DOI\]](#)
- [18] Kasahara M, Kagawa T, Sato Y, Kiyosue T, Wada M. Phototropins mediate blue and red light-induced chloroplast movements in *Physcomitrella patens*. *Plant Physiol*, 2004, 135(3): 1388–1397. [\[DOI\]](#)
- [19] Kanegae T, Hayashida E, Kuramoto C, Wada M. A single chromoprotein with triple chromophores acts as both a phytochrome and a phototropin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(47): 17997–18001. [\[DOI\]](#)
- [20] Schneider H, Schuettelpelz E, Pryer KM, Cranfill R, Magallon S, Lupia R. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature*, 2004, 428(6982): 553–557. [\[DOI\]](#)
- [21] Sambrook J, Fritsh EF, Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 2001.
- [22] Huang SH. Inverse PCR approach to cloning cDNA ends. *Methods Mol Biol*, 1997, 69: 89–96.
- [23] Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, Duvaud S, Wilkins MR, Appel RD, Bairoch A. The Proteomics Protocols Handbook. Humana Press, New Jersey, 2005, 571–607.
- [24] Hofmann K, Bucher P, Falquet L, Bairoch A. The PROSITE database, its status in 1999. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(1): 215–219. [\[DOI\]](#)
- [25] Letunic I, Copley RR, Pils B, Pinkert S, Schultz J, Bork P. SMART 5: domains in the context of genomes and networks. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(Suppl.): 257–260. [\[DOI\]](#)
- [26] Hofmann K, Stoffel W. TMbase—A database of membrane spanning proteins segments. *Biol Chem Hoppe-Seyler*, 1993, 374(47): 166.
- [27] Emanuelsson O, Brunak S, von Heijne G, Nielsen H. Locating proteins in the cell using TargetP, SignalP and related tools. *Nat Protoc*, 2007, 2(4): 953–971. [\[DOI\]](#)
- [28] Lupas A, Van Dyke M, Stock J. Predicting coiled coils from protein sequences. *Science*, 1991, 252(5010): 1162–1164. [\[DOI\]](#)
- [29] Geourjon C, Deleage G. SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments. *Comput Appl Biosci*, 1995, 11(6): 681–684.
- [30] Wagner JR, Brunzelle JS, Forest KT, Vierstra RD. A light-sensing knot revealed by the structure of the chromophore-binding domain of phytochrome. *Nature*, 2005, 438(7066): 325–331. [\[DOI\]](#)
- [31] Crosson S, Moffat K. Structure of a flavin-binding plant photoreceptor domain: insights into light-mediated signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(6): 2995–3000. [\[DOI\]](#)
- [32] Akamine P, Madhusudan, Wu J, Xuong NH, Ten Eyck LF, Taylor SS. Dynamic features of cAMP-dependent protein kinase revealed by apoenzyme crystal structure. *J Mol Biol*, 2003, 327(1): 159–171. [\[DOI\]](#)
- [33] Tokutomi S, Matsuoka D, Zikihara K. Molecular structure and regulation of phototropin kinase by blue light. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1784(1): 133–142.
- [34] Singh M, Berger B, Kim PS, Berger JM, Cochran AG. Computational learning reveals coiled coil-like motifs in histidine kinase linker domains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(6): 2738–2743. [\[DOI\]](#)
- [35] Buzdin AA. Retroelements and formation of chimeric retrogenes. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61(16): 2046–2059.