

毛竹 (*Phyllostachys edulis*) 光系统 I 基因 *LhcaPe02* 全长的克隆与序列分析

唐文莉¹, 彭镇华^{1,2*}, 高 健^{1*}

(1. 国际竹藤网络中心, 国家林业局竹藤科学与技术重点开放实验室, 北京 100102;
2. 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

摘要:根据大麦 *Lhca2* 基因序列的保守区设计 PCR 引物, 采用 RT-PCR 技术与 RACE 技术, 从毛竹中克隆到捕光叶绿素 a/b 结合蛋白基因 *Lhca2* 全长。该基因序列从第 74 bp 开始到第 862 bp 含有 1 个开放阅读框和一个中止密码子, 编码 262 个氨基酸。在 5' 端有 73 bp 的非编码区, 在 3' 端含有 234 bp 的非编码区和 14 bp 的 Poly(A)。此基因定名为 *LhcaPe02* (GenBank: EU121593)。此外, 通过 DNASTAR 软件预测, 该基因编码的蛋白质等电点和分子量分别为 6.14 和 28 095.11 Da, 其编码的氨基酸序列与光合作用密切相关的位点包括 1 个硫解酶活性部位 (thiolases active site), 2 个 4Fe-4S 铁还原氧化蛋白的信号区 (4Fe-4S ferredoxins, iron-sulfur binding region signature) 等。通过 Blast 比较分析, *LhcaPe02* 序列和编码的氨基酸序列分别与玉蜀黍、大麦和水稻的相似性较高。

关键词:毛竹; *LhcaPe02*; 序列特性

中图分类号: S795

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2008)02-0153-06

Cloning and sequence analysis of a full-length gene *LhcaPe02* putative encoding the light harvesting protein in *Phyllostachys edulis*

TANG Wen-li¹, PENG Zhen-hua^{1,2}, GAO Jian¹

(1. International Center for Bamboo and Rattan, Key Laboratory of Bamboo and Rattan Science and Technology of State Forestry Administration, Beijing 100102;
2. Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091)

Abstract: PCR primers were designed according to conserved sequences of *Lhca2* gene of barley. A full length cDNA putative encoding region of *Lhca2* gene was cloned from the first strand of Moso bamboo cDNA through RT-PCR and RACE methods, named as *LhcaPe02* (GenBank accession number: EU035496). The length of *LhcaPe02* is 1 100 bp, which contains an open reading frame encoding 262 amino acids from 74 to 862 position and which has 73 bp and 234 bp untranslated region of 5' end and 3' end respectively, and 14 bp Poly(A) in 3' end. This gene sequence related with photosynthesis has two 4Fe-4S ferredoxins and a thiolases active site. The bioinformatics characterization indicated that the protein encoded by *LhcaPe02* has an amidation site, three casein kinase II phosphorylation sites, six N-myristoylation sites and two protein kinase C phosphorylation sites. The pI and MW of amino acids encoded by *LhcaPe02* were predicted to be 6.14 and 28 095.11 Da, respectively. The sequence homology of DNA sequence and encoding amino acid sequence in *Phyllostachys edulis* was compared with *Zea mays*, *Oryza sativa* and barley.

收稿日期: 2008-01-09

基金项目: “948” 国家林业局引进项目 (2005-4-38, 2004-4-60), “十一五” 科技支撑项目 (2006BAD19B0203) 和国家人事部留学回国人员科技择优资助项目共同资助。

作者简介: 唐文莉 (1981 -), 女, 博士研究生。E-mail: tangwenli@icbr.ac.cn * 通讯作者 (Corresponding author)

Key words: *Phyllostachys edulis*; *LhcaPe02*; characterization of nucleotide sequence

毛竹特产在中国,是中国竹林中分布范围最广、面积最大、经济价值最高的竹种。毛竹的光合速率很高,经常被误作 C_4 植物,而实际是 C_3 植物^[1],那为何它具有如此高的光合速率呢?这正是人们探求的目标,为此作者开始着手于毛竹光系统的研究。

高等植物和绿藻的光系统 I (PSI) 复合物由 PSI 核心复合物 (PSI-CC) 和捕光色素蛋白复合体 I (LHCI) 两部分组成。根据荧光发射波长的不同, LHCI 又分为 LHCI-730 和 LHCI-680 两部分,其中 LHCI-730 是由 *Lhca1* 和 *Lhca4* 形成的异源二聚体; LHCI-680 由 *Lhca3* 和 *Lhca2* 形成的同源二聚体^[2,3]。近年来对油松 (*Pinus tabulaeformis* Carr.)、毛白杨 (*Populus tomentosa* Carr.)、豌豆 (*Pisum sativum* L.) 和菠菜 (*Spinacia oleracea* L.) 等植物的研究也证明了确实存在两种 PSI, 并且认为这种存在具有一定普遍性^[4]。从高等植物叶绿体中可分离得到在体积、结构与组成上存在差异的光系统 I 色素蛋白复合物,它们在类囊体膜上的分布是不均匀的,光系统 I 的这种特性与其物质组成密切相关。在类囊体垛叠区存在的 PSI 复合物与非垛叠区的 PSI 在物质组成与结构上有所不同,这也许是 PSI 复合物对类囊体膜空间分割的一种适应性表现^[5]。近年来拟南芥 *Lhca* 基因又发现了两个新类型 *Lhca5* 和 *Lhca6*, 因为它们的表达量非常低致使以前根本没有被识别到^[6]。

PSI 相对于 PS II 在植物上的研究而言较少, PSI 的研究主要是以菠菜、豌豆、大麦等草本植物或光合细菌等为实验材料,已经研究了其蛋白组成和基因结构^[7], PSI 的结构生物学研究也已取得很大进展, 4Å 分辨率的晶体结构数据已经为 PSI 结构提供了非常重要的信息,未来更高分辨率的结构数据将会极大的推进对 PSI 结构的最终认识^[8]。而林木及森林植物上的光系统研究非常少,目前仅在绿竹上克隆了 PS II *Lhcb* 基因^[9,10]。本研究首次从毛竹中克隆了光系统 I 的 *Lhca2* 基因,为进一步研究竹子光合反应中心对环境因子响应的基因和蛋白调控机制奠定了基础,同时 *LhcaPe02* 基因的克隆为研究 LHCI 家族基因在毛竹中的功能创造了条件。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

植物材料: 当年生毛竹 (*Phyllostachys edulis* (Carr.) Lehaie) 实生苗的幼嫩新鲜叶片。

试剂: pGEM-T easy 载体 (Promega); RNase A (TakaRa); Taq DNA 聚合酶 (TakaRa); IPTG、X-gal、氨苄青霉素; cDNA 合成试剂盒 (Clontech); Trizol RNA 提取试剂盒 (Invitrogen)。

1.2 总 RNA 提取与 cDNA 合成

采用 Trizol reagent 提取毛竹幼嫩新鲜叶片 RNA, 取 50 ~ 100 mg 新鲜毛竹叶片液氮下研成粉末于 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mL Trizol 提取液, 混匀, 室温静置 5 min, 加入 200 μ L 的新鲜氯仿, 剧烈震荡 15 s, 室温静置 2 ~ 3 min, 12 000 g 离心 15 min, 吸取上清液至一新离心管, 加入 500 μ L 异丙醇, 室温放置至少 10 min, 12 000 g 离心 10 min, 弃上清液, 沉淀加入 1 mL 75% 乙醇, 涡旋混匀, 75 00 g 离心 5 min, 沉淀稍干燥, 溶于 30 μ L 超纯水, 保存于 -20℃ 备用。

严格按照 Promega 公司的反转录试剂盒合成 cDNA。采用 Clontech 公司的 SMARTTM RACE cDNA Amplification Kit 合成 5' 和 3' cDNA。

1.3 *Lhca2* 基因的克隆与测序

1.3.1 保守片段的克隆 引物 1 和 2 根据大麦 (*Hordeum vulgare*) *Lhca2* 基因序列的保守区设计。

引物 1: 5'-ACACCGCCGGGAGCAGGAGTA-3'

引物 2: 5'-CGGCGAGGTGAGCGAAGAGGTTGT-3'

以毛竹 cDNA 为模板, 进行梯度 PCR。引物 1 和 2 反应条件为 94℃, 预变性 5 min; 94℃, 1 min; 66 ~ 69℃, 1 min; 72℃, 2 min, 35 个循环; 72℃ 延伸 10 min。回收 PCR 产物, 取 5 μ L 回收的 DNA 片段连接到 T-easy 载体上, 转化大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH 5 α 菌株, 蓝白斑筛选, 质粒提取, 酶切鉴定片段大小后进行测序鉴定。

1.3.2 5' 和 3' 末端的克隆和测序 引物 3 根据上面扩增出的片段序列和 RACE 试剂盒引物的要求重新设计, 均由上海生工合成。

引物 3: 5'-ACTTCACCGACACCACCACCTCTTCA-3'

引物 3 应用于 3' 末端扩增, 反应条件为: 94℃, 30 s; 72℃, 3 min, 5 个循环; 94℃, 30 s; 70℃, 30 s; 72℃, 3 min, 5 个循环; 94℃, 30 s; 68℃, 30 s; 72℃, 3 min, 25 个循环。

引物 4: 5'-CCGAGCGGGTCAAACCACAGTCCA-3'

引物 4 用于扩增 5' 端扩增, 反应条件为: 94℃, 30 s; 68℃, 30 s; 72℃, 3 min, 30 个循环。UPM (10 \times Universal A Mix) 和 NUP (Nested Universal Primer A) 为 RACE 所带的通用引物。

PCR 产物电泳分析后用上海申能博采生物回收试剂盒回收目的片段 DNA, 采用 Promega 连接试剂盒, 连接 16 ~ 18 h。取 5 μ L 连接产物加入 45 μ L 的感受态细胞中, 1 800 V 电击转化, 用 500 μ L SOC 洗转化杯, 转入 1.5 mL 离心管中 37 $^{\circ}$ C 水浴 30 min。取 200 μ L 液体涂于加氨苄青霉素的 LB 平板中, 放入 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜。经蓝白斑筛选, 挑蓝斑附近的单菌落白斑, 放入 5 mL LB 加氨苄青霉素液体培养基中, 37 $^{\circ}$ C, 180 r \cdot min $^{-1}$, 摇菌 16 ~ 18 h。收取菌液装满 1.5 mL 离心管, 提取质粒, 8 000 r \cdot min $^{-1}$, 1 min, 弃上清。加 solution I 100 μ L \cdot 管 $^{-1}$, 剧烈震荡, vortex, 加 solution II 200 μ L \cdot 管 $^{-1}$, 轻轻混匀, 冰

浴 5 min, 加入 solution III 150 μ L \cdot 管 $^{-1}$, 混匀, 冰浴 5 min, 13 000 r \cdot min $^{-1}$, 离心 5 min, 上清转入新管中, 加 2 倍体积无水乙醇混匀, -20 $^{\circ}$ C 沉淀 20 ~ 30 min, 13 000 r \cdot min $^{-1}$, 离心 5 min, 弃上清, 沉淀加 1 mL 70% 乙醇洗, 1 3000 r \cdot min $^{-1}$, 离心 5 min, 弃上清, 晾干, 加 30 μ L 超纯水溶解^[11]。质粒经 *EcoR* I 酶切图谱分析后, 进行测序鉴定。

2 结果与分析

2.1 基因保守片段的克隆与分析

图 1A 中 6 个孔分别为不同温度梯度的 PCR 产物, 大小约为 400 bp, 图 1B 为 *EcoR* I 酶切产物。

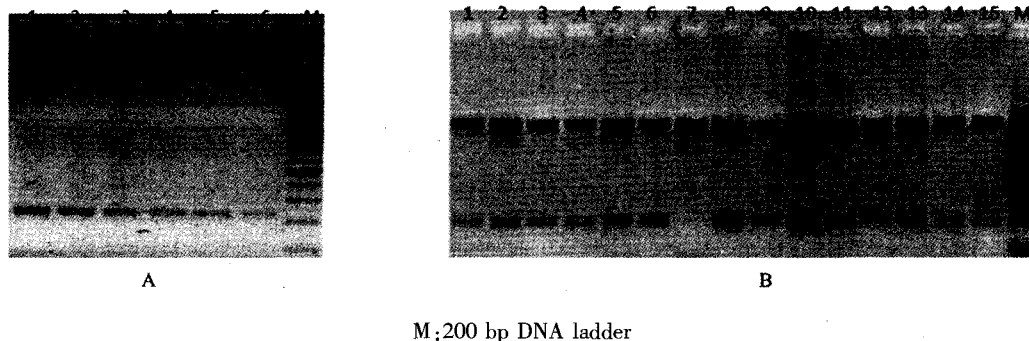


图 1 A、B 图分别为 RT-PCR 产物和 *EcoR* I 酶切电泳

Figure 1 RT-PCR products (A) and *EcoR* I digested products (B) checked by electrophoresis

2.2 5'和 3'RACE 扩增与分析

图 2 中 A 图 1 上方条带为所需 600 bp 片段, 2 为另一对引物所扩增条带, 因浓度较低, 在后期实验

中未使用, 3 和 4 为未加模板的对照; B 图 1 和 2 均为 3' 末端所扩增片段大约 700 bp; C 图 5 为酶切正确大小; D 图 3 为酶切正确大小。

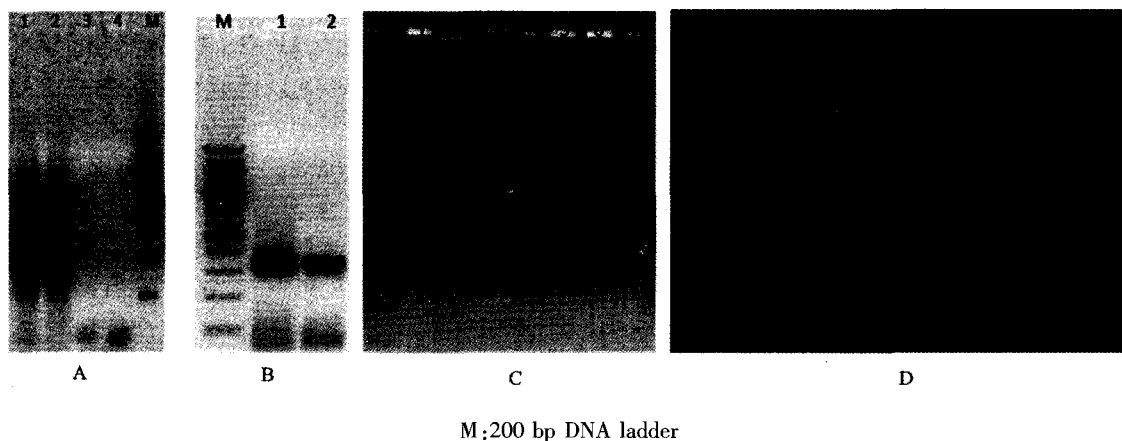


图 2 A、B 分别为 5' 端、3' 端 RACE-PCR 产物, C 和 D 分别为 *EcoR* I 酶切电泳

Figure 2 A and B are 5' end and 3' end RACE-PCR products respectively, C and D are *EcoR* I digested products of 5' end and 3' end checked by electrophoresis respectively

2.3 序列分析与 cDNA 全长的克隆

通过对测序基因片段序列的拼接获得了一个

cDNA 全长为 1 100 bp 的基因(图 3), 对序列进行分析, 结果显示该基因序列从第 74 bp 开始到第

862 bp 含有 1 个开放阅读框 (open reading frame, ORF) 和一个中止密码子, 编码 262 个氨基酸。在 5' 端有 73 bp 的非编码区, 在 3' 端含有 234 bp 的非编码区 (untranslated region, UTR) 和 Poly (A) 14 bp。此基因定名为 *LhcaPe02* (GenBank: EU121593)。此外, 通过 DNASTAR 软件预测, *LhcaPe02* 编码的蛋白质等电点和分子量分别为 6.14 和 28 095.11 Da。

根据 NPS@ PROSCAN results, 氨基酸序列中方框 1 是氨基化合物位点 (amidation site); 方框 2 是蛋白激酶 C 磷酸化位点 (protein kinase C phosphorylation site); 方框 3 是酪蛋白激酶 II 磷酸化位点 (casein kinase II phosphorylation site); 方框 4 是 N-肉豆蔻酰位点 (N-myristoylation site)。

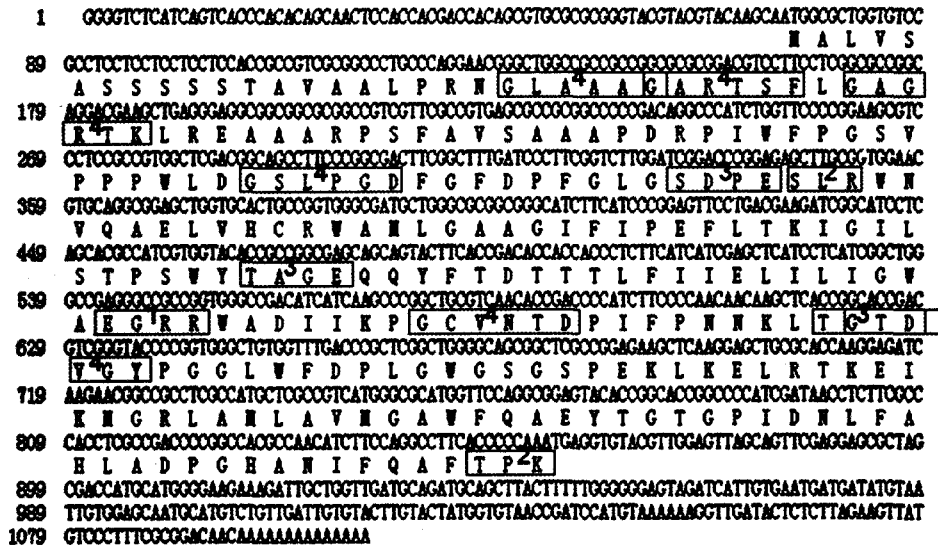


图 3 *LhcaPe02* 基因序列和阅读框

Figure 3 Sequence and open reading frame of *LhcaPe02*

核酸序列含有 5 个 EGF-like 域信号 (EGF-like domain signature); 1 个 EGF_1 (EGF-like domain signature 1); 1 个特殊昆虫的刺激神经的毒素家族 (Janus-faced atracotoxin (J-ACTX) family signature); 12 个 VWFC 域信号 (VWFC domain signature); 4 个哺乳动物 defensins 信号 (mammalian defensins signature); 1 个 Integrins beta chain cysteine-rich domain signature; 3 个过敏毒素域信号 (anaphylatoxin domain signature); 1 个硫解酶活性位点 (thiolasases active site), 2 个 4Fe-4S 铁还原氧化蛋白的信号区 (4Fe-4S ferredoxins, iron-sulfur binding region signature)。其中与光合作用有关的位点是 4Fe-4S 铁还原氧化蛋白

的信号区和硫解酶活性位点。水稻 *Lhca2* (NM001066625.1) 基因序列含有 2 个 2Fe-2S 铁还原氧化蛋白的信号区 (2Fe-2S ferredoxins, iron-sulfur binding region signature)。和光合有关的位点中, 毛竹与水稻相比没有 2Fe-2S 铁还原氧化蛋白的信号区, 而是具有 4Fe-4S 铁还原氧化蛋白的信号区和硫解酶活性位点。与毛竹 *Lhca2* 基因相似性高的植物中, 玉蜀黍 (AY105356) 含有 1 个 4Fe-4S 铁还原氧化蛋白的信号区, 3 个 2Fe-2S 铁还原氧化蛋白的信号区和 1 个硫解酶活性位点, 而大麦属 (X84308) 只含有 3 个 2Fe-2S 铁还原氧化蛋白的信号区 (见表 1)。

表 1 毛竹 *Lhca2* 序列蛋白位点花样与其他物种的比较

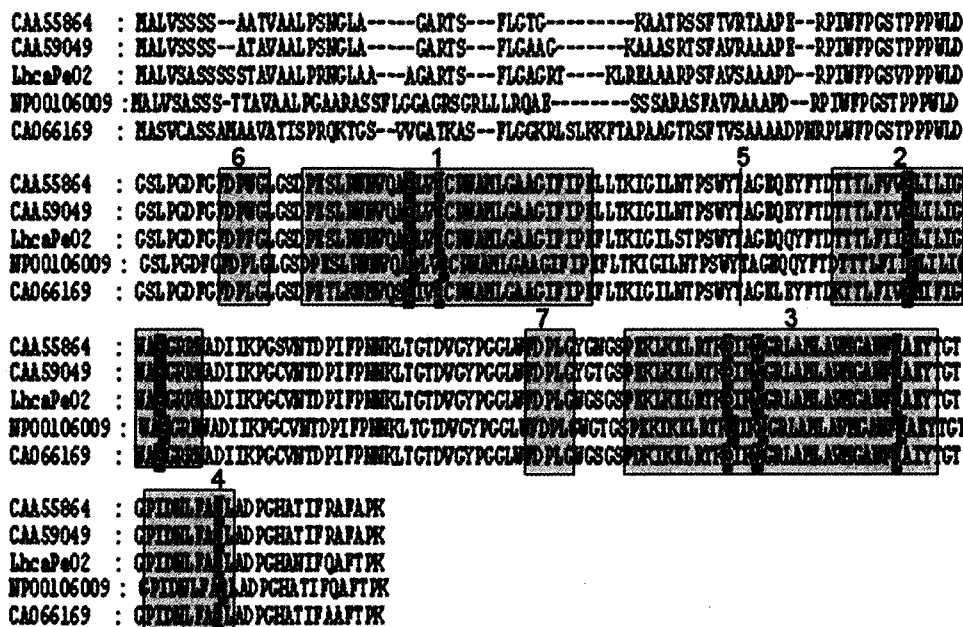
Table 1 Compared *Lhca2* PROSITE motifs on sequence with other plants

名称 Name	GenBank accession	4Fe-4S	2Fe-2S	Thiolasases	VWFC	Integrins beta	Defensins	JACTX	EGF	Anaphylatoxin	CTCK	IGFBP
<i>Phyllostachys eduli</i>	EU121593	2	0	1	12	1	4	1	5	3	1	0
<i>Oryza sativa</i>	NM001066625	0	2	0	18	1	3	0	3	4	1	1
<i>Zea mays</i>	AY105356	1	3	1	16	1	1	0	3	3	0	1
<i>Hordeum vulgare</i>	X84308	0	3	0	12	1	4	0	2	4	1	0

2.4 与其他物种的 *Lhca2* 家族基因比对

通过 blast 软件分析,在 NCBI 核酸数据库中,与毛竹 *Lhca2* 有同源性的 *Lhc* 家族基因或光系统中的类似基因共有 72 条,这些基因来自大麦 (*Hordeum vulgare*)、水稻 (*Oryza sativa*)、玉蜀黍 (*Zea mays*) 等 10 余种不同的物种。Blast 比较结果中的 Score 分值为 56.5 ~ 1 064,其中 *Lhca2* 与玉蜀

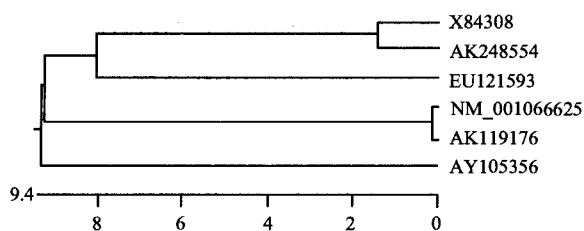
黍序列相似性最高,Score 分值为 1 064,一致性 (identity) 为 89%;其次是大麦,得分值为 1 053,一致性为 86%;再次是水稻,得分值为 1 053,一致性达到 95%。而在蛋白数据库中,类似基因有 101 条,分值为 162 ~ 463,与毛竹 *Lhca2* 同源性最高的是水稻,得分 463,然后是大麦,得分为 446,再次是黑麦草属 (*Lolium temulentum*),得分为 439 分。



NP00106009: *Oryza sativa* (japonica cultivar-group); CAA55864: *Lolium temulentum*;
CAA59049: *Hordeum vulgare*; CA066169: *Vitis vinifera*

图 4 *LhcaPe02* (EU121593) 基因编码的氨基酸与其他物种 *Lhca2* 家族基因编码的氨基酸序列的多序列比较

Figure 4 Multiple sequences alignments of amino acids encoded by *LhcaPe02* blast with amino acids encoded by the different *Lhca2* family genes from other plants



X84308, AK248554: *Hordeum vulgare*; NM001066625, AK119176; *Oryza sativa*; AY105356; *Zea mays*

图 5 毛竹 *Lhca2* 基因和其他植物同源基因的进化树分析
Figure 5 Phylogenetic analysis of the sequences

利用原始的序列分析,花样搜寻和蛋白折叠识别来比较蛋白结构模型是一种准确的结构预测方法,它们家族的蛋白三维结构比原始序列更加保守,*Lhca2* 基础同源的 3D 结构被用来预测 LHC I 蛋白

的结构特色,对 PS I-LHC I 复合物外围捕光组织的结构功能的理解是非常重要的^[9]。

图 4 中方框 1 ~ 4 为较大保守蛋白折叠序列的螺旋区 (helical regions of the sequence with largely conserved protein fold),分别为螺旋 B、C、A 和 D;方框 1、2 和 3 是膜螺旋而方框 4 是 C 端的内腔螺旋;方框 2 中两个“E”分别是保守的色素位点和可能的叶绿素基体,方框 5 和 6 是类胡萝卜素保守花样 (carotenoid-retaining motifs)^[12-14]。

用 DNASTar 软件,对不同物种的 *Lhca2* 基因进行聚类分析,得到系统进化树(图 5),从图 5 中可以看出:毛竹 *Lhca2* (EU121593) 与大麦属最为接近,其次是水稻属,最后是玉蜀黍。它们同为单子叶植物,这为禾本科植物亲缘关系和系统分类的研究提供了参考。

3 讨论

作者在用 DNASTar 软件对不同物种的 *Lhca2* 基因进行聚类分析(图 5)时,得到的结果是大麦属最为接近,其次是水稻属,最后是玉蜀黍。核酸序列 Blastn 结果一致性前 3 位分别是玉蜀黍、大麦和水稻;而该基因编码的氨基酸序列 Blast 结果的前 3 位分别是水稻、大麦和黑麦属。这个结论说明毛竹 *Lhca2* 与单子叶的水稻和大麦的 *Lhca2* 关系较近。毛竹、水稻、豌豆和大麦 *Lhca2* 基因编码的蛋白均有 4 种结合位点(氨基化合物位点、蛋白激酶 C 磷酸化位点、酪蛋白激酶 II 磷酸化位点和 N-肉豆蔻酰位点),但是 4 种位点所含的数量是不同的,这可能预示着 4 种植物 *Lhca2* 基因编码的蛋白功能稍有不同。与水稻 *Lhca2* (NM001066625.1) 基因序列比较,毛竹没有 2Fe-2S 铁还原氧化蛋白的信号区,而是具有 4Fe-4S 铁还原氧化蛋白的信号区和硫解酶活性部位。与毛竹 *Lhca2* 基因相似性高的植物中,玉蜀黍(AY105356)含有 1 个 4Fe-4S 铁还原氧化蛋白的信号区,3 个 2Fe-2S 铁还原氧化蛋白的信号区和 1 个硫解酶活性位点,而大麦属(X84308)只含有 3 个 2Fe-2S 铁还原氧化蛋白的信号区,几者不同的原因还有待深入探讨。

在拟南芥中 *Lhca1*, *Lhca2*, *Lhca3* 和 *Lhca4* 基因都是以单拷贝形式存在于基因组中,以二聚体形式单独地结合 PSI^[15]。竹子中 *Lhca2* 基因以何种形式结合在 PSI 上,有待深入研究。

近年来研究发现低温光照情况下,PS I 更易受到影响。目前有关低温弱光处理对植物光合器官功能影响的报道不多,陈启林等曾发现低温弱光条件下黄瓜类囊体膜发生了解耦联。研究认为光合磷酸化解耦联与类囊体膜蛋白磷酸化和光合机构光能分配密切相关^[16]。低温对植物造成的伤害是多方面的,但光合作用是受低温影响最明显的过程之一^[17,18]。毛竹天然分布于亚热带,其往北分布的限制因子之一是低温,孙启祥研究认为低温导致毛竹的 PS II 受到破坏^[19],低温是否也影响了毛竹的 PSI,林内弱光下毛竹仍保持高的光合效率,是否又与其利用弱光的能力较强有关? *LhcaPe02* 基因的克隆将为在分子水平上揭示 PSI 的功能及其基因表达调控的研究提供基础,对毛竹 PSI 的研究将有助于解释这些现象。

参考文献:

[1] 黄启民,杨迪蝶,高爱新,等. 不同条件下毛竹光合作

用的研究[J]. 竹类研究,1989(2):8-18.

- [2] 陈伟,阳振乐,李良璧,等. Triton X-100 对 70℃ 处理后光系统 I 颗粒耗氧速率的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报,2005,31(3):298-304.
- [3] Robin G Walters, Peter Horton. Structural and functional heterogeneity in the major light-harvesting complexes of higher plants[J]. Photosynthesis Research, 1999, 61:77-89.
- [4] 高荣孚,郑彩霞,童年,等. 高等植物光系统 I 的研究(1)[J]. 北京林业大学学报,1997,19(1):13-20.
- [5] 郁飞,唐崇钦,辛越勇,等. 光系统 I (PSI) 的结构与功能研究进展[J]. 植物学通报,2001,18(3):266-275.
- [6] 郑彩霞,高荣孚. 高等植物光系统 I 的研究(II)-豌豆 PS I 复合物的类脂及脂肪酸组成[J]. 北京林业大学学报,2000,22(1):7-11.
- [7] Chitnis P R. Photosystem I: function and physiology[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 2001, 52:593-626.
- [8] Subramanyam Rajagopal, David Joly, Alain Gauthier, et al. Protective effect of active oxygen scavengers on protein degradation and photochemical function in photosystem I submembrane during light stress [J]. FEBS Journal, 2005, 272:892-902.
- [9] 高志民,李雪平,岳永德,等. 绿竹 *cab-D02* 基因的克隆及其表达载体的构建[J]. 分子植物育种,2007,5(3):1-5.
- [10] 高志民,李雪平,彭镇华,等. 竹子捕光叶绿素 a/b 结合蛋白基因全长的克隆和序列分析[J]. 林业科学,2007,43(3):34-38.
- [11] 萨姆布鲁克 J,拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂,等译. 北京:科学出版社,2002:27-28.
- [12] Haruhiko Teramoto, Taka-aki Ono, Jun Minagawa. Identification of *Lhcb* gene family encoding the light-harvesting chlorophyll-a/b protein of photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Plant Cell Physiology, 2001, 42(8):849-856.
- [13] Alexander N Melkozernov, Robert E Blankenship. Structural and functional organization of peripheral light-harvesting system in photosystem I [J]. Photosynthesis Research, 2005, 85:33-50.
- [14] Ryutaro Tokutsu, Haruhiko Teramoto, Yuichiro Takahashi, et al. The light-harvesting complex of photosystem I in *Chlamydomonas reinhardtii*: protein composition, gene structures and phylogenetic implications [J]. Cell Physiology, 2004, 45, 2:138-145.
- [15] Frank Klimmek, Andreas Sjödin, Christos Noutsos, et al. Abundantly and rarely expressed *Lhc* protein genes exhibit distinct regulation patterns in plants [J]. Plant Physiology, 2006, 140(3):793-804.
- [16] 陈启林,山仑,程智慧. 低温弱光对黄瓜和菠菜类囊体跨膜质子梯度的影响[J]. 西北植物学报,2002,22(4):839-844.
- [17] 郭军伟,魏慧敏,吴守锋,等. 低温对水稻类囊体膜蛋白磷酸化及光合机构光能分配的影响[J]. 生物物理学报,2006,22(3):197-202.
- [18] Massacci A, Iannelli Ma. The effect of growth at low temperature on photosynthetic characteristics and mechanisms of photoprotection of maize leaves [J]. J Exp Bot, 1995, 46:119-127.
- [19] 孙启祥,彭镇华. 低温胁迫对竹子叶绿素荧光诱导动力学的影响[C]//中国竹业发展论坛论文集. 杭州,2005:42-50.