

## 식물세포의 일주기성 단백질

황희연 · 부성희\*

경희대학교 식물대사연구센터 및 생명공학원

## Photoperiodic Proteins in Plant Cells

Heeyoun Hwang and Seong Hee Bhoo\*

Graduate School of Biotechnology and Plant Metabolism Research Center, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea

Received September 9, 2010; Accepted September 16, 2010

**In the past 10 years, a lot of plant circadian rhythm researches have published in molecular biology and biochemistry. We discussed with published molecular studies of circadian clock and rhythmic genes in Arabidopsis, rice and algae. However past this studies are not sufficient to explain the whole rhythmic metabolism. Recently many researchers have concerned post-transcriptional, translational and post-translational modification of rhythmic proteins. From the view point of the high-throughput study, we could suggest the proteomic analysis with 2-DE gel electrophoresis and MS/MS techniques for the identification of modified proteins.**

**Key words:** plant, rhythm, protein, post-translational modification

### 서 론

지구상의 대부분의 생물체는 지구가 자전축을 중심으로 자전을 하기 때문에 태양으로부터 기인된 에너지인 빛과 열에너지에 의한 영향을 24시간 주기로 받게 된다. 특히 식물 세포들은 빛을 이용하여 광합성을 할 뿐 아니라 빛 신호를 세포의 성장과 발달에 이용하므로 그 영향이 더 크다고 할 수 있다. 따라서 생물체들은 이러한 24시간의 광 주기에 따라 세포내의 특정 유전자의 전사 및 발현, 특정 단백질의 합성과 분해, 특정 물질의 대사나 움직임과 같은 주기적 리듬을 가지게 되는데 이를 일주기성 리듬이라고 한다. 18세기 de Mairan은 미모사 잎의 일주기성 운동에 대한 연구를 통해 외부 환경요인을 주기적으로 주지 않아도 생물체는 주기성을 바로 잃어버리지 않는다는 결과를 발표하였다. 이를 시작으로 생체시계의 존재에 대해 연구가 진행되었고, 생체시계의 생화학적 분자생물학적 연구는 최근 여러 생물체의 genome sequencing이 완료됨으로써 생체시계와 관련된 유전자에 대한 기능적 연구에 대해 급속하게 진행되었다[Somers, 1999]. 기본적인 생체시계의 원리를 살펴보면 먼저 외부 요인에 의해 주기적으로 일주기 조절 유전자인 1차 생체시계 유전자를 단백질로 발현시키면 이 단백질은 세포 내

에 존재하는 2차 생체시계 유전자의 발현을 억제하게 된다. 1차 유전자의 단백질이 세포 내에 존재하다가 시간이 지남에 따라 분해되어 없어지면 억제력이 감소되어 2차 유전자가 발현되고 발현된 단백질은 다시 1차 유전자의 발현을 유도 하는 negative feedback loop 구조를 완성하게 되는데 이 주기가 24시간으로 되어 생체시계의 일주기성이 완성된다고 알려져 있다 [Gardner 등, 2006; Harmer, 2009] (Fig. 1).

식물의 경우 크게 두 가지 일주기성 외부 영향 요인인 빛과 온도에 대해 반응하는데 몇몇 연구자들의 연구 결과를 통해 나타난 결과를 살펴보면 일반적인 온난한 기후에 사는 식물들에게 온도는 그다지 큰 영향을 주지 못한다고 알려져 있다 [Rensing과 Ruoff, 2002; McClung, 2006]. 반면, 빛은 식물에 있어 일주기를 결정하는데 중요한 역할을 한다고 알려져 있고, 최근 대부분의 식물의 일주기 대사에 대한 연구는 빛의 주기성에 맞추어 연구가 진행되고 있다[McClung, 2006; Harmer, 2009].

최근, 20여 년 전 개발된 단백질체 연구법의 기술적 진보를 통해 다량의 단백질 발현 양상을 단시간에 쉽게 확인할 수 있게 되었다. 이러한 기술은 여러 생화학적 분자생물학적 기술과 연계하여 생화학, 분자생물학의 발전에 큰 공헌을 하고 있다. 하지만 이러한 단백질체 기술을 이용한 일주기성에 대한 연구가 상대적으로 많지 않은데, 이는 단백질체 연구법이 가진 한계 때문이다[Karp와 Lilley, 2007]. 일주기성 연구는 장시간 동안 시간에 따라 생물체를 수확 또는 채취하여 시간대별 단백질의 양을 비교하여 일주기성 단백질을 동정해야 하는데, 그에 따

\*Corresponding author  
Phone: +82-31-201-2632, Fax: +82-31-201-2157  
E-mail: shbhoo@khu.ac.kr

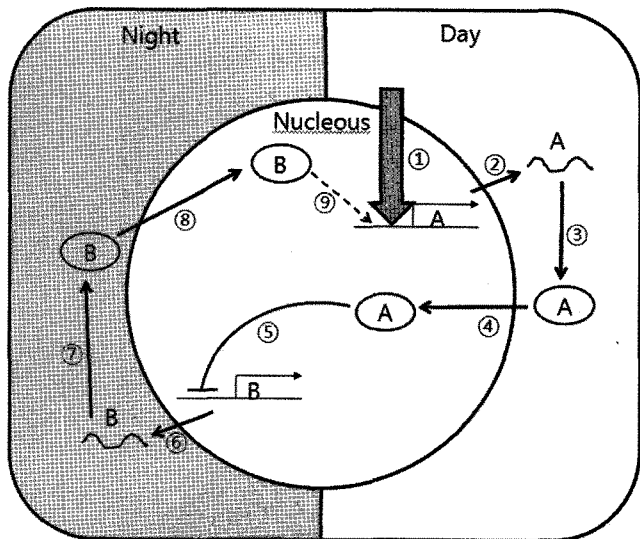


Fig. 1. The circadian clock, negative feed back loop model. At first, the light signal was transmitted and entrained to gene A (①). Gene A will be transcribed (②), translated (③), and transported to the nucleus (④). During day time, the protein A suppresses the transcription of gene B (⑤). In the dark, the protein A is degraded then gene B will be transcribed (⑥), and translated (⑦). Expressed protein B is transported into the nucleus (⑧). Although the protein B indirectly enhances other related unknown genes (⑨), this negative feed back loop model has been strongly supported by various researches.

라 다른 연구에 비해 동시에 비교해야 하는 실험 재료가 많다. 게다가, 단백질체 연구의 현재까지 기술력으로는 동일한 조건에서 여러 개의 시료를 처리하기가 까다로운 이러한 한계 때문에 단백질체 연구를 통한 각 생물체의 일주기성에 대한 연구가 최근 10여 년간 약 6-7편의 논문에 그치고 있다. 발표된 논문들도 대부분 동물 시스템에서의 조직적 발현 양상에 관한 연구가 대부분이며, 식물에 대한 연구는 극히 소수에 불과하다. 종합해보면 일주기성 신호전달의 중심인 생체시계에 대한 분자생물학적 연구는 많이 진행되어 상당부분 알려져 있지만, 상대적으로 그 생체시계로부터 전달되는 신호전달과정과 관련된 단백질들은 많이 알려지지 않았다. 최근 microarray 방법을 이용하여 다량의 일주기성 관련 유전자를 동정한 연구 결과가 발표되었는데 실제 전사체의 발현과 단백질의 발현이 일치하지 않는 경우가 많아 높은 단백질체 연구를 통한 검증이 수반되어야 할 것이다.

이번 연구를 통해 얻고자 하는 점은, 최근까지의 보고된 식물의 일주기성 연구에 대해 고찰하고 동물 시스템에서의 연구 진행 속도에 비하여 상대적으로 연구의 진행속도가 느린 식물 시스템에서의 전사체 혹은 단백질체를 이용한 일주기성 연구 상황에 대해 점검해 보려 하며, 또 그에 따라 앞으로 나아가야 할 연구방향을 제시하는데 있다.

## 본 론

**Arabidopsis.** 쌍자엽 식물로서 *arabidopsis*는 세대주기가 4주로 비교적 짧고 종자의 수확량이 많아 유전학적 연구에 용이하

다고 알려져 상대적으로 genome분석이 빨리 끝나게 되었다. 쌍자엽 식물 더 나아가 식물계의 대표 식물로서 생체시계와 그에 따른 생체 리듬에 대한 연구가 많이 진행되었다[Harmer, 2009; Salome와 McClung, 2004]. 주로 적색광을 수용하는 phytochrome과 주로 청색광을 수용하는 cryptochrome, phototropin 등은 빛을 받아들여 식물체 내의 신호전달을 시작하는 생체리듬의 첫 단계에서 역할을 하며, 이때 전달된 신호가 생체 시계로 전달되기도 하고 일부는 아직 알려지지 않은 경로를 통해 여러 가지 대사로 전달이 된다[Chen 등, 2004]. 이 빛의 신호를 받아들여 자체의 리듬을 만들어 내는 생체시계는 *arabidopsis*의 경우 LHY, CCA1을 중심으로 TOC1, PRR3, PRR7, PRR9, ZTL, GI 등 크게 세 개의 feedback loop를 이루고 있는 것으로 알려져 있다[Harmer 2009; McClung 2006]. 그리고 생체시계로부터 전달되는 신호가 여러 가지 대사에 영향을 미치는데 가장 많이 알려진 개화과정의 경우에는 생체시계로부터 전달된 신호가 개화과정에 관련된 단백질인 CO, FT, FLC 등 개화를 조절하는 유전자에 순차적으로 신호전달이 되어 개화 시기가 조절된다고 알려져 있다[Putterill 등, 1995; Onouchi 등 2001; Edwards 등, 2006; Izawa, 2007]. 하지만, 이러한 생체시계보다 하위단계에 대하여 고전적인 분자생물학적인 방법으로는 수많은 관련 유전자의 역할을 모두 규명해 내기에 많은 시간이 소요될 것으로 예상되기 때문에, 전사체 연구를 microarray 법을 통해 생체시계에 의해 조절되는 여러 유전자를 한꺼번에 찾는 연구도 진행되었다[Harmer 등, 2000; Schäffer 등, 2001]. 그 결과 실험에 사용된 전체 유전자의 약 3-10%가 생체시계에 의해 조절되며, 대부분이 대사과정과 생합성과정 그리고 신호전달과정에 관련되어 있다고 알려진 유전자들이 생체시계에 의해 조절된다고 알려졌다.

**Rice.** 인간생활에 있어 중요한 작물 식물체이자 단자엽 식물의 대표 식물로서 *rice*도 연구가 많이 진행되었다. Murakami 등은 *arabidopsis*의 생체시계 유전자인 PRR들, CCA1 그리고 ZTL에 대하여 각각 강한 유사성을 보이는 유전자들을 *rice*에서 찾아내었고, 그 역할을 규명하여 이들이 *rice*의 생체시계에 연관되어 있을 것이라는 결과를 발표했다[Murakami 등, 2007]. 또한 장일식물인 *arabidopsis*와 같이 단일식물인 *rice*도 개화과정에 생체시계가 관여한다고 알려져 있는데, 그 구조는 비슷하지만 관련된 유전자가 조금씩 다르며, *arabidopsis*의 CO가 FT의 음성적 조절자 인데 반해 *rice*의 Ehd1은 FT와 비슷한 유전자인 Hd3a에 양성적 조절자로서 역할을 한다는 점이 다르다고 알려져 있다[Kojima 등, 2002; Hayama 등, 2003; Doi 등, 2004; Izawa 등, 2010].

Mockler 등은 Plant Diurnal Project라는 이름으로 식물의 일주기성과 생체시계에 관련된 전사체 연구로 microarray를 통해 분석한 결과를 database화 하여 발표하였다(<http://diurnal.cgrb.oregonstate.edu/>). 여기서 *arabidopsis* 뿐만 아니라 *rice*에 대한 결과도 확인할 수 있는데, 지속된 어둠의 조건에서의 내재된 생체리듬에 관련된 실험 군이 없고, 몇몇 유전자에 대해서는 아직 data를 찾을 수 없는 경우도 있지만, 그 외의 환경조건 특히 온도의 변화 부분도 포함하여 대부분의 유전자에 대해서 data를 제공한다[Mockler 등, 2007].

**Algae.** *Chlamydomonas reinhardtii*는 조류이지만 광합성을 하며 세포벽을 지니고 있어 식물의 특징을 가지고 있고, 또, 동물의 sperm cell처럼 flagellum을 가지고 있어서 운동성을 지니고 있는 동물적 특징을 동시에 지녔는데, 특히 빛에 따라 flagellum을 이용해서 광합성을 하기 위해 또 한편으로는 광 위해를 피하기 위해 주기적인 운동을 하는 phototaxis를 가진다. 이에 따라 *C. reinhardtii*는 내재된 생체 리듬을 연구하는데 있어 대표 생물체로서 연구가 진행되어, 엽록체와 핵 내의 유전자들 중 생체시계에 의해 조절되는 여러 유전자들을 찾긴 했지만, 아직 생체 시계 유전자들과 생체 시계 모델은 명확히 규명되지 않고 있다[Bruce, 1970; Mittag과 Wagner, 2003; Breton과 Kay, 2005]. Matsuo 등은 luciferase를 표시단백질로 붙여 한번에 여러 유전자의 발현 양상을 보는 연구를 했는데, 그 결과 per-1, per-4 등 몇몇 다른 생물 시스템에서 생체시계 유전자와 유전서열이 유사한 유전자가 발견되었다[Matsuo 등, 2006]. 그리고, 다른 연구팀에 의해 arabidopsis의 생체시계 관련된 유전자인 TOC1, ZTL, LUX와 유전서열이 유사한 유전자들이 발견되었고 그것들의 knockout mutant가 생체 리듬이 24시간이 아닌 21시간, 28시간 혹은 아예 리듬이 깨어지는 현상으로 보아 이들 유전자들이 생체 시계에 관련된 유전자라는 것을 밝혀내었다[Harmon 등, 2005].

**단백질체 연구의 동향.** 최근까지 생체 리듬에 대한 단백질체 연구의 대부분은 동물에서 이뤄졌는데, 쥐의 송과선에서 37개의 생체시계 관련된 단백질을 찾은 보고와[Møller 등, 2007], 시상하부와 후복막의 지방조직에서 각각 5개, 22개의 생체시계에 관련된 단백질을 찾은 보고가 있다[Mishra 등, 2009]. 또, Tsuji 등은 생쥐의 망막조직에서 생체시계 관련된 단백질을 11개 찾아냈다[Tsuiji 등, 2007]. 반면 식물의 경우 Algae인, *C. reinhardtii*에서 heparin chromatography법을 통해 핵산에 결합되는 단백질 중 생체리듬에 관련된 단백질을 찾는 연구에서 2개의 단백질을 보고 하였다[Wagner 등, 2004]. 그 외엔 아직까지 arabidopsis나 rice 등 고등 식물에서의 단백질체 연구방법을 통한 결과는 발표되고 있지 않지만, 본 연구팀의 최근 연구 결과, rice에서 51개의 단백질이 빛에 의해 조절되며 그 중 6개의 단백질은 생체 리듬에 연관되어 있다는 결과를 얻었고, Plant Diurnal Project에서 제공하는 microarray data와 비교를 한 결과, 전사체에서 리듬을 보였던 대부분의 유전자들이 단백질 수준에서도 리듬을 보였지만, 그 리듬의 패턴 즉, 시간별로 발현이 최대량을 보이는 시간의 간격이 유전자 마다 달랐다는 사실을 확인할 수 있었다[결과 논문 투고 중].

**전사 후 조절과정이 생물학적 리듬에 미치는 영향.** 분자생물학적 기법으로 최근까지 식물의 생체 시계 유전자에 대해 연구했지만 생체 시계 메커니즘에 대해서 아직 명확하게 모두 밝혀진 것은 아니다[Harmer, 2009]. 최근 전사 후 조절과정이 생체 시계 메커니즘에 관여하고 있다는 보고가 잇따르고 있다. ZTL은 생체시계 조절관련 유전자이며, 청색광을 받아들일 수 있는 부분이 존재하지만[Kim 등, 2007] 또 다른 부분인 F-box는 단백질 분해로 이끄는 E3 ubiquitin ligase complex의 일부분으로 존재하여 ZTL에 의해 GI, PRR5와 TOC1이 분해되는데, 그 기작이 빛에 의해 조절된다고 알려져 있다[Han 등, 2004; Kiba

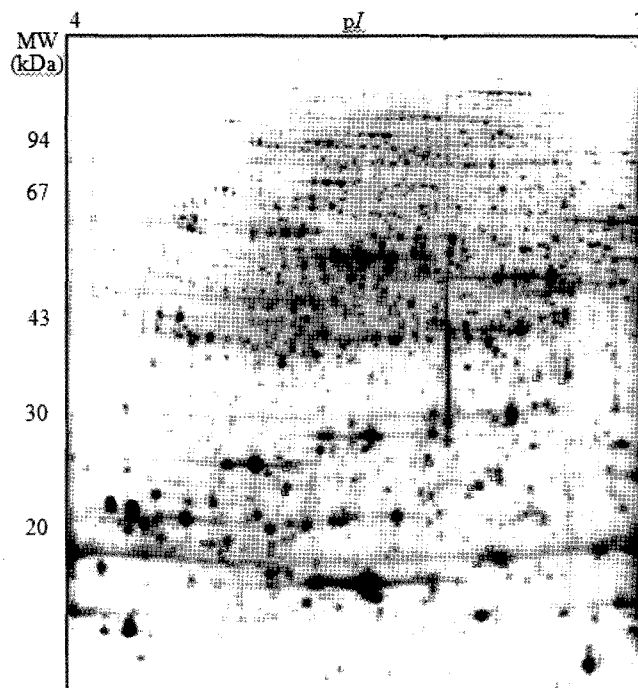


Fig. 2. Rhythmic protein positions of rubisco large subunit (RBCL) and small subunit (RBCS) in 2-DE gel image of rice leaf proteins.

등 2007; Fujiwara 등, 2008]. 또 다른 생체시계 유전자인 PRR3, PRR7, PRR9은 ZTL과 연관이 없이 빛에 의해 조절되므로 ZTL외에 다른 조절자가 있다는 사실을 간접적으로 증명해준다[Farre와 Kay, 2007; Ito 등, 2007; Fujiwara 등, 2008]. 단백질 인산화 과정도 전사 후 조절과정 중 하나로서 생체시계 조절에 중요한 영향을 미치는데, 생체 시계 유전자 중 하나인 CCA1의 인산화가 생물체 전체의 리듬의 기간을 줄여주는 연구결과가 발표되었다[Daniel 등, 2004; Portoles와 Más, 2007]. 특히 단백질 인산화 과정이 생체 시계 조절에 있어 중요하다라는 것은 동물, 균사체 그리고 광합성 세균인 cyanobacteria의 예에서도 찾아 볼 수가 있다[Nakajima 등, 2005; Gallego와 Virshup, 2007]. 한편으로 본 연구진의 연구결과로서 단백질 수준에서의 발현 패턴과 전사체 수준의 발현 패턴이 서로 비슷한 유전자가 25%에 불과하며 6시간 12시간 심지어는 18시간 차이가 나는 유전자들이 골고루 발견되었다. 그리고, rubisco large subunit, small subunit 등은 2-D gel상의 수 개의 spot들이 하나의 단백질로 확인되었지만 각각 다양한 위치에서 서로 다른 패턴을 보이는 것으로 관찰되었으며(Fig. 2), MS/MS를 통해 직접적으로 어떤 단백질 변화과정이 있었는지에 대해 규명하지는 않았지만, 2-D gel상에서 서로 다른 위치에 존재하는 spot의 경우 pI와 분자량이 변했다고 볼 수 있기 때문에 전사 후 조절과정이 있었고, 그 과정도 일정부분 빛에 의해 혹은 2-3 spot의 경우 빛에 의해 조절되었다고 추론해볼 수 있다(Table 1).

## 결론

식물에 있어 빛은 자연계에서 살아남기 위해 필요한 가장 중요한 인자 중 하나이며, 특히 온대지방에서 서식하는 식물의 경

Table 1. Rubisco large and small subunits identified by MALDI-TOF MS

Spot	Protein name	pI		M.W.		Peak time (LD)	
		Theoretical	Experimental	Theoretical	Experimental	Transcript	Protein
L1	Rubisco large subunit	6.3	6.5	54.3	51.1	17	0
L2	Rubisco large subunit	6.3	6.4	54.3	34.2	17	6
L3	Rubisco large subunit	6.3	6.6	54.3	34.1	17	0
L4	Rubisco large subunit	6.3	6.0	54.3	30.0	17	12
L5	Rubisco large subunit	6.3	5.2	54.3	25.6	17	12
L6	Rubisco large subunit	6.3	5.2	54.3	24.7	17	12
L7	Rubisco large subunit	6.3	5.5	54.3	27.9	17	12
L8	Rubisco large subunit	6.3	6.0	54.3	25.0	17	12
L9	Rubisco large subunit	6.3	6.2	54.3	22.6	17	6
L10	Rubisco large subunit	6.3	6.3	54.3	24.5	17	6
S1	Rubisco small subunit	6.8	4.6	15.0	18.2	8	12
S2	Rubisco small subunit	6.8	4.8	15.0	18.7	8	12
S3	Rubisco small subunit	6.8	4.9	15.0	18.0	8	18
S4	Rubisco small subunit	6.8	4.9	15.0	17.8	8	0
S5	Rubisco small subunit	6.8	5.4	15.0	21.2	8	6
S6	Rubisco small subunit	6.8	6.2	15.0	17.8	8	6
S7	Rubisco small subunit	6.8	6.3	15.0	17.8	8	6
S8	Rubisco small subunit	6.8	6.4	15.0	17.8	8	6

pI, isoelectric point; M.W., molecular weight.

우 빛의 주기가 기후 변화를 예측하는데 중요한 인자가 되기 때문에 빛의 주기를 인식하는 것은 식물체 자신의 생활 cycle 을 변화 시키는데 중요한 인자가 되며 빛의 주기를 인식하는데 있어 결정적인 역할을 생체 시계가 담당한다고 알려져 있다 [Kobayashi와 Weigel, 2010]. 이러한 생체 시계에 대한 연구는 식물체의 전반적인 이해의 측면에서 많은 도움이 된다고 생각되며, 지난 10년간 분자생물학적 연구뿐만 아니라 전사체, 단백질체에 대한 연구가 상당부분 진전이 있었지만, 생체시계에 관련된 부분도 아직 명확하게 모두 밝혀지지 못했다 [Harmer, 2009]. 이러한 점에 있어 한 두 가지의 유전자에 대한 역할 규명도 중요하지만, 한꺼번에 많은 유전자를 동시에 확인 할 수 있는 방법이 절실히 요구되며, 전사체의 발현 패턴과 실제로 기능을 갖는 단백질의 발현 패턴이 서로 연관이 크지 않다는 그 동안의 연구에 의해 알게 되었고, 이 부분에 대해 지속적인 연구와 많은 노력이 요구된다고 할 수 있겠다 [Wagner 등, 2005]. 특히, 단백질의 전사 후 변형과정이 생체시계와 관련 있다는 것이 최근에 밝혀지고 있으며, 그에 따른 다른 단백질들에 대한 연구를 다량으로 처리하기 위해서는 MS/MS를 통한 단백질체 연구법이 절실히 요구된다고 할 수 있겠다. 또한, microarray나 그 외의 전사체 연구와 단백질체 연구를 종합적으로 고려하는 system biology의 측면에서도 지속적인 연구가 진행되어야 한다고 생각한다.

## 초 록

지난 10년간 분자 식물 일주기성에 대해 분자 생물학적, 생화학적인 연구가 많이 진행되었다. 본 연구에서는 식물의 *Arabidopsis*, rice 그리고 algae에서 지금까지 발표된 연구들을 종합하고 고찰해보려 했다. 그 결과, 아직까지도 주기성 대사의 모

든 부분을 설명하기엔 부족한 부분이 많다는 것을 알 수 있었다. 최근 주기성 단백질들의 전사후, 번역 그리고 번역후 변형과정에 대해 많은 연구자들이 관심을 갖기 시작했다. 이러한 부분에서 앞으로는 다량의 단백질을 한번에 볼 수 있는 2-DE gel electrophoresis와 MS/MS 기술이 절실히 요구된다고 할 수 있겠다.

**Key words:** plant, rhythm, protein, post-translational modification

## 감사의 글

본 연구는 2008년 경희대학교의 교원 연구년제 지원에 의해 수행되었음 (KHU 20080029).

## 참고문헌

- Breton G and Kay SA (2006) Circadian rhythms lit up in *Chlamydomonas*. *Genome Biol* 7, 215.
- Bruce VG (1970) The biological clock in *Chlamydomonas reinhardtii*. *J Protozool* 17, 328-334.
- Chen M, Chory J, and Fankhauser C (2004) Light signal transduction in higher plants. *Annu Rev Genet* 38, 87-117.
- Daniel X, Sugano S, and Tobin EM (2004) CK2 phosphorylation of CCA1 is necessary for its circadian oscillator function in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 101, 3292-3297.
- Doi K, Izawa T, Fuse T, Yamanouchi U, Kubo T, Shimatani Z, Yano M, and Yoshimura A (2004) Ehd1, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls FT-like gene expression independently of Fd1. *Genes & Dev* 18, 926-936.
- Edwards KD, Anderson PE, Hall A, Salathia NS, Locke JCW et

- al. (2006) FLOWERING LOCUS C mediated natural variation in the high-temperature response of the *Arabidopsis* circadian clock. *Plant Cell* **18**, 639-650.
- Farre EM and Kay SA (2007) PRR7 protein levels are regulated by light and the circadian clocks in *Arabidopsis*. *Plant J* **52**, 548-60.
- Fujiwara S, Wang L, Han L, Suh SS *et al.* (2008) Post-translational regulation of the *Arabidopsis* circadian clock through selective proteolysis and phosphorylation of pseudo-response regulator proteins. *J Biol Chem* **283**, 23073-23083.
- Gallego M and Virshup DM (2007) Post-translational modifications regulate the ticking of the circadian clock. *Nat Rev Mol Cell Biol* **8**, 139-148.
- Gardner MJ, Hubbard KE, Hotta CT, Dodd AN, and Webb AAR (2006) How plants tell the time. *Biochem J* **397**, 15-24.
- Han L, Mason M, Risseuw EP, Crosby WL, and Somers DE (2004) Formation of an SCF (ZTL) complex is required for proper regulation of circadian timing. *Plant J* **40**, 291-301.
- Harmer SL, Hogenesch JB, Straume M, Chang HS *et al.* (2000) Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock. *Science* **290**, 2110-2113.
- Harmer SL (2009) The circadian system in higher plants. *Annu Rev Plant Biol* **60**, 357-377.
- Harmon FG, Imaizumi T, and Kay SA (2005) The plant circadian clock: review of a clockwork *Arabidopsis*. In *Endogenous Plant Rhythms*. Edited by Hall A., McWatters H.G. Oxford Blackwell. **21**, 1-23.
- Hayama R, Yokoi S, Tamaki S, Yano M, and Shimamoto K (2003) Adaptation of photoperiodic control pathways produces short-day flowering in rice. *Nature* **422**, 719-722.
- Ito S, Nakamichi N, Kiba T, Yamashino T, and Mizuno T. (2007) Rhythmic and light-inducible appearance of clock-associated pseudoregulator protein PRR9 through programmed degradation in the dark in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* **48**, 1644-1651.
- Izawa T (2007) Adaptation of flowering-time by natural and artificial selection in *Arabidopsis* and rice. *J Exp Bot* **58**, 3091-3097.
- Izawa T, Oikawa T, Sugiyama N, Tanisaka T, Yano M. and Shimamoto K (2010) Phytochrome mediates the external light signal to repress FT orthologs in photoperiodic flowering of rice. *Genes & Dev* **16**, 2006-2020.
- Karp NA and Lilley KS (2007) Identification of clock genes using difference gel electrophoresis. *Methods Mol Biol* **362**, 265-287.
- Kiba T, Henriques R, Sakakibara H, and Chua NH (2007) Targeted degradation of PSEUDO-RESPONSE REGULATOR 5 by an SCFZTL complex regulates clock function and photomorphogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* **19**, 2516-2530.
- Kim WY, Fujiwara S, Suh SS, Kim J *et al.* (2007) ZEITLUPE is a circadian photoreceptor stabilized by GIGANTEA in blue light. *Nature* **449**, 356-360.
- Kobayashi Y and Weigel D (2010) Move on up, it's time for change-mobile signals controlling photoperiod-dependent flowering. *Genes & Dev* **21**, 2371-2384.
- Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, Monna L, Sasaki T, Araki T, and Yano M (2002) *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis* FT gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol* **43**, 1096-1105.
- Matsuo T, Onai L, Okamoto K, Minagawa J, and Ishiura M. (2006) Real-time monitoring of chloroplast gene expression by luciferase reporter: evidence for nuclear regulation of chloroplast circadian period. *Mol Cell Biol* **26**, 863-881.
- McClung CR (2006) Plant circadian rhythms. *Plant Cell* **18**, 792-803.
- Mishra A, Cheng CH, Lee WC, and Tsai LL (2009) Proteomic changes in the hypothalamus and retroperitoneal fat from male F334 rats subjected to repeated light-dark shifts. *Proteomics* **9**, 4012-4028.
- Mittag M and Wagner V (2003) The circadian clock of the unicellular eukaryotic model organism *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biol Chem* **384**, 689-695.
- Mockler TC, Michael TP, Priest HD, Shen R *et al.* (2007) The DIURNAL project: DIURNAL and circadian expression profiling, model-based pattern matching, and promoter analysis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* **72**, 353-363.
- Møller M, Sparre T, Bache N, Roepstorff P, and Vorum H (2007) Proteomic analysis of day-night variation in protein levels in the rat pineal gland. *Proteomics* **7**, 2009-2018.
- Murakami M, Tago Y, Yamashino T, and Mizuno T (2007) Comparative overviews of clock-associated genes of *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. *Plant Cell Physiol* **48**, 110-121.
- Nakajima M, Imai K, Ito H, Nishiwaki T *et al.* (2005) Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC Phosphorylation in vitro. *Science* **308**, 414-415.
- Onouchi H, Igeno MI, Perilleux C, Graves K, and Coupland G (2000) Mutagenesis of plants overexpressing of CONSTANS demonstrates novel interactions among *Arabidopsis* flowering-time genes. *Plant Cell* **12**, 885-900.
- Portoles S and Más P (2007) Altered oscillator function affects clock resonance and is responsible for the reduced day-length sensitivity of CKB4 overexpressing plants. *Plant J* **51**, 966-977.
- Putteril J, Robson F, Lee K, Simon R, and Coupland G (1995) The CONSTANS gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell* **80**, 847-857.
- Rensing L and Ruoff P (2002) Temperature effect on entrainment, phase shifting, and amplitude of circadian clocks and its molecular bases. *Chronobiol Int* **19**, 807-864.
- Salome PA and McClung CR (2004) The *Arabidopsis thaliana* clock. *J Biol Rhythms* **19**, 425-435.
- Schäffer R, Landgraf J, Accerbi M, Simon V *et al.* (2001) Microarray analysis of diurnal and circadian-regulated genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **13**, 113-123.
- Somers DE (1999) The physiology and molecular bases of the plant circadian clock. *Plant Physiol* **121**, 9-19.
- Tsuji T, Hirota T, Takemori T, Komori M *et al.* (2007) Circadian proteomics of mouse retina. *Proteomics* **7**, 3500-3508.
- Wagner V, Fiedler M, Markert C, Hippler M, and Mittag M (2004) Functional proteomics of circadian expressed proteins from *Chlamydomonas reinhardtii*. *FEBS Lett* **559**, 129-135.
- Wagner V, Gessner G, and Mittag M (2005) Functional proteomics: a promising approach to find novel components of the circadian system. *Chronobiol Int* **22**, 403-415.