

有前景的模式植物小立碗藓的研究新进展

刘艳, 曹同*, 陈静文

(上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要: 小立碗藓是在分子生物学研究方面有广阔应用前景的模式植物。该文主要综述了有关小立碗藓在功能基因组学、进化和适应性及植物生理等方面最新的研究进展。

关键词: 小立碗藓; 模式植物; 功能基因组学; 进化; 适应性

中图分类号: Q949.35 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)01-0090-05

Advances on the study of the moss *Physcomitrella patens*, a potential model plant

LIU Yan, CAO Tong*, CHEN Jing-Wen

(College of Life and Environmental Science, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: The moss *Physcomitrella patens* is a potential model plant for the study of molecular biology. The updated advances in aspects of functional genomics, evolution, adaption and plant physiology of *Physcomitrella patens* are introduced and reviewed.

Key words: *Physcomitrella patens*; model plant; functional genomics; evolution; adaption

有关小立碗藓的生物学特征、生活史、研究历史等已有相关报道(董文等, 2004; Schaefer等, 2001; 赵奂等, 2004)。在查阅文献的基础上, 本文主要介绍近年来有关小立碗藓在功能基因组学、进化和适应性及植物生理等方面的研究新进展。

苔藓植物中的小立碗藓(*Physcomitrella patens* (Hedw.) B. S. G.) 隶属葫芦藓科(Funariaceae)小立碗藓属(*Physcomitrella*)。基因组大小为 511 Mb, 分布在 27 条染色体上(Reski等, 2004; Schween等, 2003)。目前它的叶绿体 DNA 全序列已经确定, 大小为 122, 890 bp, 含有 83 种蛋白质, 31 个 tRNA, 4 个 rRNA 和 1 个假基因(Sugiura等, 2003)。2004 年在德国召开的第七届国际苔藓植物学研讨会上, 正式启动了对小立碗藓全基因测序的工作(www.plant-biotech.net/moss2004)。小立碗藓作为植物分子生物学的研究材

料, 具有其独特的优势: 容易培养; 基因组与外源基因极高的同源重组率; 生活史中单倍体的配子体阶段占优势, 基因敲除后突变表型易于观察; 另外, 苔藓植物与种子植物具有相似的光和胁迫反应系统、相似的激素以及相似的细胞分裂分化和细胞器作用特征。因此, 小立碗藓有望成为继拟南芥之后植物界中又一模式植物。近年来, 越来越多的学者以小立碗藓为材料从事功能基因组学、发育生物学、植物生理、系统进化等方面的研究, 取得了新进展。

1 功能基因组学的研究

1.1 基因打靶与同源重组

基因打靶(gene targeting)是 20 世纪 80 年代发展起来的一项重要的分子生物学技术, 是利用基因转

收稿日期: 2005-03-14 修回日期: 2005-09-07

基金项目: 国家自然科学基金重大项目(90202019); 国家自然科学基金面上基金(30370111) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (90202019, 30370111)]

作者简介: 刘艳(1981-), 女, 重庆人, 硕士生, 主要从事植物分子生态学研究。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: CT1946@263.net)

移方法,将外源 DNA 序列导入靶细胞后,通过外源 DNA 序列与靶细胞内染色体上同源 DNA 序列间的重组,将外源 DNA 定点整合入靶细胞基因组上某一确定的位点,或对某一预先确定的靶位点进行定点突变,从而改变细胞遗传特性的方法(Capecci, 1989)。基因打靶(基因敲除)作为功能基因组学方法,在动物小鼠和酵母中使用最为广泛。

同源重组频率低是对高等真核生物进行基因打靶的最大障碍。植物基因打靶频率一直徘徊在 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ 之间(Puchta, 2002),即使模式植物拟南芥的最高打靶频率也只有 10^{-4} (Kempin 等, 1997),而小立碗藓的细胞核 DNA 同源重组率高达 $10^{-3} \sim 10^{-4}$ (Schaefer 等, 1997),是迄今发现的同源重组率最高的高等植物,堪与酵母媲美。基因打靶的可行性使得小立碗藓在植物功能基因组研究中,有望成为新的模式植物。聚乙二醇(PEG)介导法和基因枪法已成功应用于小立碗藓的遗传转化(Knight 等, 1995; Schaefer 等, 1991),尤其是 PEG 介导法对于小立碗藓极为有效(Schaefer, 2001)。最近,Hohe 等(2004)又对该方法进行了改进,使其更有利于有效、快速地产生大量小立碗藓基因敲除突变植株。

为什么基因打靶在小立碗藓中行之有效,其机理目前尚不清楚。Schaefer(2001)提出两种假设:第一,可能与苔藓植物世代周期中单倍体的配子体占优势有关;第二,可能与细胞周期有关,外源 DNA 进入小立碗藓基因组多在 G2/M 转变期。Schween 等(2003)也认为小立碗藓同源重组率高的原因可能与它独特的细胞周期有关。小立碗藓包括两种细胞类型:茎丝体(caulonema)和绿丝体(chloronema)。用于转化的原生质体都是从绿丝体分离得到的,绿丝体细胞在 G2/M 转变期占多数,而茎丝体细胞在 G1/S 转变期占多数。

目前基因打靶技术在小立碗藓中主要用于研究基因结构与功能、表达与调控、研究细胞生活周期调控机制等方面。例如,磷酸肌醇信号途径对植物中细胞内外信号反应有重要作用。为了阐明磷酸肌醇磷脂酶 C(PI-PLC)的功能,在小立碗藓中通过同源重组打靶编码 PI-PLC 的基因 PpPLC1,发现打靶后的突变体在配子体形成的时候相对野生型而言,伴随着对细胞分裂素敏感性的降低,原丝体明显减少,植株颜色更苍白。这是叶绿体分化的改变和叶绿素水平降低的结果。同时,敲除后的突变体在黑暗中向地生长能力明显减弱。这些现象说明 PpPLC1 在细胞分裂

素信号和向重力性方面有重要作用(Repp 等, 2004)。

在小立碗藓中敲除 *ftsZ* 基因,发现突变株的每个细胞内出现一个巨大的叶绿体,而在正常细胞中大约有 50 个叶绿体,说明该基因对叶绿体分裂起作用(Strepp 等, 1998)。打靶 *Delta-6* 脂酰基去饱和酶基因,小立碗藓的脂肪酸组成发生明显变化,亚油酸含量大幅增长,花生四烯酸消失(Girke 等, 1998)。而正常的小立碗藓中富含花生四烯酸(占总脂肪酸的 30%以上)(Grimsley 等, 1980)。表皮细胞在蕨类、苔藓、绿藻植物中发育成假根,假根的功能类似种子植物的根毛,能从土壤中吸收水分和营养物质。实验表明,植物激素与亮氨酸拉链 I 基因 Pphb7 的同源结构域,参与了小立碗藓表皮细胞的分化(Sakakibara 等, 2003)。trnR-CCG 是苔藓植物质体基因组中 3 个精氨酸 tRNA 基因之一(trnR-CCG, trnR-ACG 和 trnR-UCU),原先以为它对质体功能起作用,但以小立碗藓为研究对象,通过同源重组敲除该基因后发现转化株生长正常。说明小立碗藓中 trnR-CCG 基因对质体功能不起实质作用(Sugiura 等, 2004)。

另外,以小立碗藓为材料,利用其同源重组率高的特点,应用基因打靶技术,还对其它一些基因进行了研究。如叶绿素-a/b-结合蛋白(CAB)的基因家族成员 ZLAB1(Hofmann 等, 1999)、削弱芽分化的 *mcb1* 基因(Girod 等, 1999)、不影响光敏色素介导发育的 GH3 基因(Bierfreund 等, 2004)等。

1.2 基因捕捉和 RNA 干扰

基因捕捉(gene trap)最大的优点是并不需要产生可见的突变来筛选突变子,而是基于报道基因的表达来识别基因。它不但可以分离基因,还能鉴定基因功能。主要包括增强子捕捉、启动子捕捉和基因捕捉。相关文献报导(Dubreucq 等, 2000; Lechner 等, 2002; Swaminathan 等, 2000)说明,基因捕捉方法的应用潜力是巨大的。Hiwatashi 等(2001)在小立碗藓中构建了 235 个基因捕捉和 1 073 个增强子捕捉,鉴定出一个酸性葡萄糖苷酶基因 PpGLU。

RNA 干扰(RNAi)现在广泛用于抑制真核生物体一些基因的表达,从而为解析基因的功能开辟了新的途径,也为植物功能基因组学的研究,提供了新的思路和技术平台。Bezanilla 等(2003)将 RNA 干扰技术运用于小立碗藓,取得了成功,为小立碗藓功能基因组研究增添又一个有力工具。

1.3 表达序列标签和细菌人工染色体库

表达序列标签(Expressed Sequence Tags, ESTs)

是长约 150~500 bp 的基因表达序列片段。EST 技术是将 mRNA 反转录成 cDNA 并克隆到载体构建成 cDNA 文库后,大规模随机挑选 cDNA 克隆,对其 5' 或 3' 端进行一步测序,所获序列与基因数据库已知序列比较,从而获得对生物体生长发育、繁殖分化、遗传变异等一系列生命过程认识的技术。1 个 EST 代表生物体某种组织某一个时期的 1 个表达基因。从公共数据库中可查到的关于小立碗藓的 ESTs 达 67 000 条,它们来自不同组织的 cDNA,代表了小立碗藓整个生活史的基因表达情况(Rensing 等,2002)。

细菌人工染色体(Bacterial Artificial Chromosome, BAC)是第二代大片段 DNA 的克隆载体系统,具有嵌合率低、遗传稳定性好、转化效率高、筛选基因方便等优点。Liang 等(2004)构建了一个小立碗藓 BAC 库,共收集到 49 920 个细菌人工染色体克隆。相信将来更多小立碗藓 BAC 库的建立,将在其功能基因组研究中发挥重要作用。

1.4 蛋白质组学(Proteomics)

要完全阐述基因功能,仅仅靠基因序列是远远不够的,因此,以阐明生物体内蛋白质的表达模式和功能模式为目标的蛋白质组学是功能基因学研究的重要内容之一。目前已经从小立碗藓的原丝体中鉴定出 306 种蛋白质(Sarnighausen 等,2004),这将为蛋白质组学领域的进一步研究奠定基础。

UBP34 是一个可溶解的 34kDa 蛋白质。Brun 等(2004)通过光亲和标签与一种尿素细胞分裂素拮抗剂作用确定其在小立碗藓中存在,它属于植物细胞内与致病相关的(IPR)蛋白质家族。虽然这一类蛋白质在植物界普遍存在,但仍然不清楚它们的功能。利用反向遗传的方法,通过同源重组在 UBP34 位点进行敲除,产生突变体。在各种条件下生长的敲除植物不表现出任何可见的表型变化。

在陆生植物中,质体分化蛋白 FtsZ 有几种不同的同型(isoform),它们在叶绿体中呈现丝状、环状、网状结构。在小立碗藓中发现了一种新的 FtsZ 同型,呈环状,不仅在叶绿体,在细胞质中也存在。这是首次报道 FtsZ 同型在真核细胞质中存在,这种蛋白质在苔藓植物中可能将细胞和细胞器的分化联系起来(Kiessling 等,2004)。

2 进化及适应性研究

苔藓植物在植物系统进化树上位于藻类之后、蕨

类和种子植物之前,独特的演化位置使得小立碗藓成为研究陆生植物进化的理想物种。

苔藓植物和开花植物大约在 40 亿年前分支。通过建立小立碗藓 EST 库,将其和拟南芥的基因组比较,发现至少 66% 的拟南芥基因与小立碗藓基因有同源性,这支持了双倍体的开花植物是从单倍体占优势的祖先进化而来的假说,同时说明苔藓植物中一些特有的基因在开花植物世系中已经丢失(Nishiyama 等,2003)。

Kroemer 等(2004)为了研究与胁迫相关基因在小立碗藓中的调控,分离了两个表现出与来自不同种子植物中高度保守的小的憎水蛋白同源的 cDNAs。相应的基因通过脱水、盐、山梨糖醇、冷和激素脱落酸进行调控,实验揭示在这些基因的控制中含有重叠途径。因此认为对非生物胁迫反应的信号途径可能在陆生植物的进化过程中发生了改变。在陆生植物中,质体分化蛋白 FtsZ 由一个小型核基因家族编码的。Rensing 等(2004)介绍了小立碗藓中两种新的 FtsZ 基因,比较两种植物 FtsZ 基因家族成员的基因结构。经序列特征比较和系统发生分析,证明在苔藓、蕨类和种子植物分支前,这些基因已被复制。

植物对非生物胁迫的适应性研究主要集中于分离对胁迫作出反应的相关基因,作为理解适应过程背后隐藏的分子事件的手段。不少苔藓植物高度耐旱、耐盐,这使得小立碗藓可能成为识别胁迫适应基因有价值的来源。

最近,Minami 等(2005)测试了低温对小立碗藓原丝体细胞的影响。在低温 0~10 °C 范围培养原丝体细胞,其冰冻耐受性明显增加,在 0 °C 持续培养几天,耐受性达到最大。与其它高等植物不同的是小立碗藓组织中内生脱落酸浓度或分泌到培养基中的脱落酸(ABA)并不因为低温处理而升高。增加活性炭、从培养基中除去 ABA 并不影响原丝体细胞对低温介导的冰冻耐受性。结果说明苔藓植物有独立的 ABA 冷信号途径,导致胁迫相关基因表达和冰冻耐受性的获得。

Frank 等(2005)研究了小立碗藓对不同非生物胁迫条件:盐、渗透压和脱水的耐受程度。与其它植物如拟南芥相比,它表现出对非生物胁迫较高的耐受性。实验发现,小立碗藓对 NaCl 的耐受浓度达 350 mmol/L;对山梨糖醇的耐受浓度达 500 mmol/L;失水 92% 的情况下仍能顺利恢复。从它的 EST 数据库寻找表现出与种子植物和细菌胁迫相关的同源基因,共鉴定出 45 个,它们将作为分子标记和潜

在靶点用于未来功能分析。

3 植物生理

在许多种子植物中,生物钟控制 Lhcb 基因家族许多成员的表达(Fejes 等,1998;Kay 等,1993),该基因家族编码 PSII 中光捕获叶绿素 a/b-结合蛋白(LHCII 蛋白质)(Jansson,1999)。研究发现,这种生物钟调控在较低等的苔藓植物小立碗藓中也同样存在(Aoki 等,2004)。此外,在小立碗藓中 PpCOL1 基因的表达也受生理钟控制(Shimizu 等,2004)。

利用可诱导的植物激素报导基因体系研究小立碗藓中植物激素的分布,发现在分化的和个体发育初期的细胞中植物激素浓度最高(Bierfreund 等,2003)。另外,6 个在小立碗藓芽形成过程中表达的特定基因已被鉴定出来(Brun 等,2003)。

种子植物与哺乳动物蛋白质 N-糖基化的不同之处在于种子植物中存在 xylosyl 和 1,3-fucosyl 残基。这些植物特异糖残基的免疫性在人体中会出现过敏反应,使得种子植物不能用于生产重要的药用蛋白。研究发现小立碗藓蛋白质 N-糖基化与种子植物中的相似(Koprivova,2003;Vietor 等,2003)。通过同源重组在小立碗藓中打靶上述两个残基位点,修改后的蛋白质不再产生过敏反应(Decker 等,2004)。这表明,小立碗藓是极有前景的生物制药材料。另外,利用它基因打靶的优势,也可用于研究植物界中蛋白质 N-糖基化生物学意义。

国际上,在小立碗藓研究方面具有代表性的学者有德国 Freiburg 大学的 Ralf Reski(Bierfreund 等,2004;Kroemer 等,2004;Reski 等,2004);瑞士 Lausanne 大学的 Didier G. Schaefer 和 Jean-Pierre Zryd(Brun 等,2004;Schaefer,2001;Schaefer 等,1991,1997,2001);英国 Leeds 大学的 David J. Cove(Reski 等,2004)以及日本国家基础生物研究所的 Mitsuyasu Hasebe(Hattori 等,2004)等。而国内学术界对于小立碗藓的研究工作尚属起步阶段,仅有以综述为主的零星报道(董文等,2004;Liang 等,2004;刘祥林等,2004;赵奂等,2004)。最新的研究进展表明,小立碗藓有了广阔的前景,有望成为植物分子生物学领域又一个模式植物,应该引起学术界尤其是国内同行的充分重视。

参考文献:

Aoki S, Kato S, Ichikawa K, et al. 2004. Circadian expression of the

PpLhcb2 gene encoding a major light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein in the moss *Physcomitrella patens*[J]. *Plant Cell Physiol*, 45(1):68-76

Bezanilla M, Pan A, Quatrano RS. 2003. RNA interference in the moss *Physcomitrella patens*[J]. *Plant Physiol*, 133(2):470-474

Bierfreund NM, Reski R, Decker EL. 2003. Use of an inducible reporter gene system for the analysis of auxin distribution in the moss *Physcomitrella patens*[J]. *Plant Cell Rep*, 21(12):1143-1152

Bierfreund NM, Tintelnot S, Reski R, et al. 2004. Loss of GH3 function does not affect phytochrome-mediated development in a moss, *Physcomitrella patens*[J]. *J Plant Physiol*, 161(7):823-835

Brun F, Gonneau M, Laloue M, et al. 2003. Identification of *Physcomitrella patens* genes specific of bud and gametophore formation [J]. *Plant Sci*, 165(6):1267-1274

Brun F, Schaefer DG, Laloue M, et al. 2004. Knockout of UBP34 in *Physcomitrella patens* reveals the photoaffinity labeling of another closely related IPR protein[J]. *Plant Sci*, 167(3):471-479

Capecchi MR. 1989. Altering the genome by homologous recombination [J]. *Science*, 244:1288-1292

Decker EL, Reski R. 2004. The moss bioreactor[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 7(2):166-170

Dong W(董文), Li W(李卫), Guo GQ(郭光沁), et al. 2004. The moss *Physcomitrella patens*, a new model system for functional genomics(苔藓植物小立碗藓,功能基因组学研究新的模式系统)[J]. *Hereditas(遗传)*, 26(4):560-566

Dubreucq B, Berger N, Vincent E, et al. 2000. The *Arabidopsis* AtEPR1 extensin-like gene is specifically expressed in endosperm during seed germination[J]. *Plant J*, 23:643-652

Fejes E, Nagy F. 1998. Molecular analysis of circadian clock-regulated gene expression in plants: features of the 'output' pathways [M]//Lumsden P J, Millar A J(eds). *Biological Rhythms and Photoperiodism in Plants*. Oxford: BIOS Scientific Publishers:99-118

Frank W, Ratnadewi D, Reski R. 2005. *Physcomitrella patens* is highly tolerant against drought, salt and osmotic stress[J]. *Planta*, 220(3):384-394

Gerke T, Schmidt H, Zahringer U, et al. 1998. Identification of a novel delta 6-acyl-group desaturase by targeted gene disruption in *Physcomitrella patens*[J]. *Plant J*, 15:39-48

Girod P A, Fu H, Zryd JP, et al. 1999. Multiubiquitin chain binding subunit MCB1(RPN10) of the 26S proteasome is essential for developmental progression in *Physcomitrella patens*[J]. *Plant Cell*, 11:1457-1472

Grimsley NH, Grimsley JM, Hartmann E. 1980. Fatty acid composition of mutants of the moss *Physcomitrella patens* [J]. *Phytochemistry*, 20:1519-1524

Hattori M, Hasebe M, Sugita M. 2004. Identification and characterization of cDNAs encoding pentatricopeptide repeat proteins in the basal land plant, the moss *Physcomitrella patens* [J]. *Gene*, 343(2):305-311

Hiwatashi Y, Nishiyama T, Fujita T, et al. 2001. Establishment of gene-trap and enhancer-trap systems in the *Physcomitrella patens*

- [J]. *Plant J*, **28**:105—116
- Hofmann AH, Codón AC, Ivascu C, *et al.* 1999. A specific member of the cab multigene family can be efficiently targeted and disrupted in the moss *Physcomitrella patens*[J]. *Mol Gen Genet*, **261**:92—99
- Hohe A, Egner T, Lucht JM, *et al.* 2004. An improved and highly standardised transformation procedure allows efficient production of single and multiple targeted gene-knockouts in a moss, *Physcomitrella patens*[J]. *Current Genet*, **44**(6):339—347
- Jansson S. 1999. A guide to the genes and their relatives in *Arabidopsis*[J]. *Trends Plant Sci*, **4**:236—240
- Kay S, Millar AJ. 1993. Circadian-regulated cab gene transcription in higher plants[M]//M. W. Yong (editor), *Molecular Genetics of Biological Rhythms*. New York: Marcel Dekker, 73—90
- Kempin SA, Liljegre SJ, Block LM, *et al.* 1997. Targeted disruption in *Arabidopsis*[J]. *Nature*, **389**:802—803
- Kiessling J, Martin A, Gremillon L, *et al.* 2004. Dual targeting of plastid division protein FtsZ to chloroplasts and the cytoplasm[J]. *EMBO Reports*, **5**(9):889—894
- Knight CD, Sehgal A, Atwal R, *et al.* 1995. Molecular responses to abscisic acid and stress are conserved between moss and cereals [J]. *Plant Cell*, **7**:499—506
- Koprovova A. 2003. N-glycosylation in the moss *Physcomitrella patens* is organized similarly to that in higher plants[J]. *Plant Bio*, **15**(6):582—591
- Kroemer K, Reski R, Frank W. 2004. Abiotic stress response in the moss *Physcomitrella patens*: evidence for an evolutionary alteration in signaling pathways in land plants[J]. *Plant Cell Rep*, **22**(11):864—870
- Lechner E, Goloubinoff P, Genschik P, *et al.* 2002. A gene trap dissociation insertion line, associated with a RING-H2 finger gene, shows tissue specific and developmental regulated expression of the gene in *Arabidopsis*[J]. *Gene*, **290**:63—71
- Liang CH Y, Xi Y, Shu J, *et al.* 2004. Construction of a BAC library of *Physcomitrella patens* and isolation of a LEA gene[J]. *Plant Sci*, **167**(3):491—498
- Liu XI(刘祥林), He YK(何奕昆), Xi Y(习阳). 2004. Application of gene targeting in *Physcomitrella patens* (基因打靶技术在模式植物小立碗藓的应用)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), **40**(3):369—372
- Minami A, Nagao M, Ikegami K, *et al.* 2005. Cold acclimation in bryophytes: low-temperature-induced freezing tolerance in *Physcomitrella patens* is associated with increases in expression levels of stress-related genes but not with increase in level of endogenous abscisic acid[J]. *Planta*, **220**(3):414—423
- Nishiyama T, Fujita T, Shir-I T, *et al.* 2003. Comparative genomics of *Physcomitrella patens* gametophytic transcriptome and *Arabidopsis thaliana*: Implication for land plant evolution[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, **100**(13):8 007—8 012
- Puchta H. 2002. Gene replacement by homologous recombination in plants[J]. *Plant Mol Biol*, **48**:173—182
- Rensing SA, Kiessling J, Reski R, *et al.* 2004. Diversification of ftsZ during early land plant evolution[J]. *J Mol Evol*, **58**(2):154—162
- Rensing SA, Rombauts S, Van de Peer Y, *et al.* 2002. Moss transcriptome and beyond[J]. *Trends Plant Sci*, **7**(12):535—538
- Repp A, Mikami K, Mittmann F, *et al.* 2004. Phosphoinositide-specific phospholipase C is involved in cytokinin and gravity responses in the moss *Physcomitrella patens*[J]. *Plant J*, **40**(2):250—259
- Reski R, Cove DJ. 2004. *Physcomitrella patens*[J]. *Current Biol*, **14**(7):261—262
- Sakakibara K, Nishiyama T, Sumikawa N, *et al.* 2003. Involvement of auxin and a homeodomain-leucine zipper I gene in rhizoid development of the moss *Physcomitrella patens* [J]. *Development (Cambridge)*, **130**(20):4 835—4 846
- Sarnighausen E, Wurtz V, Heintz D, *et al.* 2004. Mapping of the *Physcomitrella patens* proteome[J]. *Phytochemistry*, **65**(11):1 589—1 607
- Schaefer DG. 2001. Gene targeting in *Physcomitrella patens*[J]. *Curr Opin Plant Biol*, **4**(2):143—150
- Schaefer DG, Zryd J P. 1997. Efficient gene targeting in the moss *Physcomitrella patens*[J]. *Plant J*, **11**(6):1 195—1 206
- Schaefer DG, Zryd JP. 2001. The moss *Physcomitrella patens*, now and then[J]. *Plant Physiol*, **127**(4): 1 430—1 438
- Schaefer DG, Zryd JP, Knight CD, *et al.* 1991. Stable transformation of the moss *Physcomitrella patens*[J]. *Mol Gen Genet*, **226**:418—424
- Schween G, Gorr G, Hole A, *et al.* 2003. Unique tissue-specific cell cycle in *Physcomitrella*[J]. *Plant Biol*, **5**(1): 50—58
- Shimizu M, Ichikawa K, Aoki S. 2004. Photoperiod-regulated expression of the PpCOL1 gene encoding a homolog of CO/COI proteins in the moss *Physcomitrella patens*[J]. *Biochemand Biophysical Res Commun*, **324**(4):1 296—1 301
- Strepp R, Scholz S, Kruse S, *et al.* 1998. Plant nuclear gene knockout reveals a role in plastid division for the homolog of the bacterial cell division protein Ftsz, an ancestral tubulin[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, **95**:4 368—4 373
- Sugiura C, Kobayashi Y, Aoki S, *et al.* 2003. Complete chloroplast DNA sequence of the moss *Physcomitrella patens*: evidence for the loss and relocation of rpoA from the chloroplast to the nucleus[J]. *Nucleic Acids Res*, **31**(18):5 324—5 331
- Sugiura C, Sugita M. 2004. Plastid transformation reveals that moss tRNA-CCG is not essential for plastid function[J]. *Plant J*, **40**(2):314—321
- Swaminathan K, Yang YZ, Grotz C, *et al.* 2000. An enhancer trap line associated with a D-class cyclin gene in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, **124**:1 658—1 667
- Vietor R, Loutelier-Bourhis C, Fitchette AC, *et al.* 2003. Protein N-glycosylation is similar in the moss *Physcomitrella patens* and in higher plants[J]. *Planta*, **218**(2):269—275
- Zhao H(赵奂), Zhao XG(赵晓刚), He YK(何奕昆), *et al.* 2004. *Physcomitrella patens*, a potential model system in plant molecular biology(植物分子生物学研究极具前景的模式系统——小立碗藓)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报), **21**(2):129—138