

Botanisches Seminar III (Modul 1402) Photorezeptoren
Wintersemester 2014, KIT
Di 8:15 bis 9:45, Botanisches Institut 1, Raum 002

Prof. Tilman Lamparter

Email Kommunikation: Bitte alle Emails im "Betreff" Feld mit "Photorezeptor Seminar" kennzeichnen.

Adresse: tilman.lamparter@kit.edu

1. Vorbereitung für die Bearbeitung der Aufgaben

Am Anfang müssen Aufgaben bearbeitet werden. Erstellen Sie für die Besprechungen eine einfache Internet Seite, in der die Ergebnisse dargestellt werden. Siehe dazu

<http://www.scc.kit.edu/dienste/9226.php>

http://www.scc.kit.edu/downloads/dmk/06_Homepage.pdf und <http://de.selfhtml.org/>. Als Alternative kann von den Teilnehmern Dropbox oder ähnliches eingerichtet werden.

2. Aufgabe: Literatur Internet-Datenbank Recherche über Pubmed und Web of Science

Jeder Studierende bearbeitet eine Art von Photorezeptor. Die Aufgaben beziehen sich in der Regel auf diesen Photorezeptor.

a) NCBI - Pubmed, eine frei zugängliche Internet Literatur Datenbank (basiert auf der Medline Datenbank) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed>. Wie viele Artikel zu dem Stichwort (Name des Photorezeptors) werden gefunden und wie viele *reviews* waren dabei.

b) Datenbank Web of Science, über die KIT Bibliothek.

Link: bibliothek.kit.edu

- links unter dem Reiter: Suchen und Finden
- weiter unter dem Reiter: Fachdatenbanken
- dann unter dem Reiter: Fachdatenbanken DBIS
- in der Liste Fachgebiete über z.B.: Naturwissenschaft allgemein
- in den Treffern findet sich: Web of Science

oder direkt über :

[http://rzblx10.uni-](http://rzblx10.uni-regensburg.de/dbinfo/detail.php?bib_id=kit&colors=&ocolors=&lett=f&titel_id=2142)

[regensburg.de/dbinfo/detail.php?bib_id=kit&colors=&ocolors=&lett=f&titel_id=2142](http://rzblx10.uni-regensburg.de/dbinfo/detail.php?bib_id=kit&colors=&ocolors=&lett=f&titel_id=2142)

Wie viele Artikel finden Sie zu dem Stichwort und wie viele *reviews* sind dabei? Finden Sie heraus, in welcher Zeitschrift die meisten Artikel zu dem Thema erschienen sind und wie viele es waren („Analyze Results“). Welches war der meist zitierte Artikel? Wie viele Zitierungen? War es ein *review*? Falls, ja, sollten Sie auch noch den meist zitierten Original Artikel finden. Lesen Sie den Artikel, mindestens das *abstract*, so dass Sie den Inhalt im Seminar kurz darstellen können. Für Ihr Referat sollten Sie ein aktuelles *review* lesen. Welches wählen Sie aus und warum?

c) Versuchen Sie auch, über das Internet (Wikipedia) mehr Hintergründe über den Photorezeptor (z.B. Geschichte der Entdeckung) herauszufinden. Notieren Sie, in welchem Jahr und wie der Photorezeptor entdeckt wurde. Wichtig ist die Frage, welche/r Chromophor/e verwendet wird/werden.

d) Proteinsuche. Photorezeptoren bestehen aus einem Protein und einem oder mehreren Chromophoren. Die Zahl der bekannten Protein-Sequenzen steigt. Unter dem NCBI-Pubmed Eingang lassen sich auch Protein-Sequenzen finden. Wie viele Einträge mit dem entsprechenden Namen gibt es? Schauen Sie sich die Ergebnis-Liste etwas genauer an. Handelt es sich tatsächlich um den gesuchten Photorezeptor oder um ein irgendwie verwandtes Protein? Versuchen Sie herauszufinden, in welchen Gruppen von Organismen (z.B. Bakterien, Pflanzen, Gymnospermen, Tiere, Pilze) die Photorezeptoren vorkommen. Die Erfahrung zeigt, dass man sehr viele vermeintliche Proteinsequenzen findet, dass aber auch durch den Photorezeptor regulierte Sequenzen dabei sind, die das Ergebnis stark verfälschen können.

e) Swissprot, UniProtKB:

<http://www.expasy.ch/sprot/>

Wie viele Einträge finden Sie hier? Es gibt die Möglichkeit, unterschiedliche Datenbanken anzuwählen. Bitte kurz beschreiben, welche und warum.

f) Suchen Sie in der Datenbank ein typisches Rhodopsin, Phytochrom, Phototropin, Cryptochrom, Photolyase, BLUF Protein. Es sollte je eine Sequenz sein, zu der auch Artikel publiziert wurden. Alle Sequenzen sollten im FASTA Format als Textdatei auf Ihrem Computer gespeichert werden. Ein Beispiel:

```
>tr|B5XQZ5|B5XQZ5_KLEP3 BLUF domain/cyclic diguanylate phosphodiesterase
OS=Klebsiella pneumoniae (strain 342) GN=KPK_2789 PE=4 SV=1
MLTTLIYRSQVDPARPLTDLDALIHRASGKNMPLGITGILLFNGQQFFQVLEGNEEILES
LFSKIQFDPHRDVELMRDYSAYRRFRDVGMRMLDLRYHENNAAVEEILRFSTFGETEP
VNDRMFRLISAFIADGGRYCLPESLQPSRWSMTPAVGNASPRNLTDQPCQFALQAIVEPA
KRRVSSFALIRSPTEGGSPVEMFAAIAAEDRYRFDLESKAFAFSLAARLPLGKQQLAVNL
LPGSLYNHPDAVGWLMNDNLLAAGLRPEQVLIIEVTETEVISCDFQFRKVLKALRVAGMKLA
IDDFGAGYSGLSLLTRFQPDKIKVDAELVRDIHISGTKQAIVASVVRCCEDLGITVVAEG
VETIEEWCWLQSVGIRLFQGFLEFSRPFCLNGIGEICWPFVARQATDL
```

g) Sie sollten für die Besprechung die Ergebnisse auf Ihrer Internet Seite (oder Dropbox) darstellen. Die Ergebnisse werden gemeinsam durchgesprochen. Die FASTA Dateien (mit Sequenzen) sollten alle darin enthalten sein.

3. Aufgabe: Protein Domänen

Die Sequenzen aus Aufgabe 1 f) werden nun auf ihre Domänen-Struktur untersucht. Dazu SMART

<http://smart.embl-heidelberg.de/>

aufrufen. Man erhält für jedes Protein die Domänen-Darstellung.. Alternativ PFAM testen:

<http://pfam.sanger.ac.uk/search>.

Die Domänen sollten in einer Textdatei zusammengestellt werden:

```
>tr|B5XQZ5|B5XQZ5_KLEP3      BLUF      domain/cyclic      diguanylate
phosphodiesterase
SMART: EAL Domäne von 148 bis 391
PFAM: BLUF Domäne von 2 bis 94; EAL Domäne von 157 bis 368
```

Bitte das Ergebnis in Ihre Internet-Seite integrieren. Die Domänen werden besprochen.

4. Aufgabe , Auswahl von Protein-Sequenzen in einzelnen Organismen

a) Welche Photorezeptoren bzw. Photolyasen gibt es in Ihrem Modellorganismus? Finden Sie über BLAST möglichst alle Photorezeptor Proteinsequenzen (keine doppelten) aus diesem

Organismus. Andere Hilfsmittel wie Literatur – Recherche können helfen.

Details zur BLAST-Suche:

- Kopieren Sie die FASTA Protein-Sequenz (diese Sequenz ist im *single letter code* angegeben, wenn Zeilen mit Zahlen beschriftet sind, können diese mit kopiert werden).
- Öffnen Sie BLAST: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>
- Klicken Sie dort auf "Protein-protein BLAST (blastp)".
- Fügen Sie die Protein Sequenz des bekannten Photorezeptors in das vorgesehene Fenster ein. Auf den Button "BLAST" klicken (sollte unten links sein). Was passiert?
- Führen Sie eine erneute Suche durch und schränken dafür die Suche auf die gewählte Art ein (unter "Options" auf der Seite, auf der die Sequenz eingegeben wird). Inwiefern hat sich das Ergebnis verändert? Zu den Fragen Notizen machen, in der Besprechung erläutern. Die Photorezeptor Sequenz im FASTA Format speichern.

b) Domänen-Anordnung der neuen Photorezeptoren: Sie sollten die erste Zeile so editieren, dass der Artname (5 Zeichen) vorne steht und dahinter eine eindeutige Bezeichnung für das Protein (max. weitere 5 Zeichen). Der Name der Datei sollte *.fasta lauten, wobei * für Artnamen und Protein-Bezeichner steht (z.B. ArathPhyA steht für Phytochrom A aus *Arabidopsis thaliana*). Angaben zu den Protein-Sequenzen müssen in der Excel Tabelle eingetragen werden (vorgegebenes Format). Welche Protein-Domänen finden Sie in der Sequenz? Diese sollten wieder in einer Textdatei zusammengestellt werden.

c) Alle Ergebnisse sollten in einer Textdatei zusammengestellt werden. Bitte in Ihre Internet-Seite einbauen.

5. Aufgabe: Auswahl von Protein-Sequenzen für phylogenetische Studien

Ziel dieser Aufgabe ist es, zwischen 30 und 40 homologe Vertreter zu finden, um damit phylogenetische Analysen durchführen zu können. In der Auswahl sollten möglichst alle Bereiche der Organismen vertreten sein.

Mit BLAST kann man herausfinden, in welchen Organismen homologe Proteine vorkommen. Die Suche muss mehrmals durchgeführt werden und, jedesmal auf eine andere Organismen-Gruppe eingeschränkt. Alle ausgewählten Sequenzen sollten im *.fasta Forma gespeichert werden. Bitte für alle Sequenzen die Domänen überprüfen, wie in Aufgabe 4 b) beschrieben.

Für den Stammbaum sollten Sie in den aufgelisteten Gruppen nach Photorezeptoren suchen (also die Suche einschränken):

Gruppen nach tolweb.org

Proteobakteria

alpha beta gamma

Cyanobacteri Firmicutes

Chlorobi

Actinobacteria

Planctomycetes

Thermotogae

Archaea

Alveolata

Stramenopiles

Radiolaria

Euglenozoa

Fungi

Green algae

Rhodophyta

Embryophyta

Ctenophora

Cnidaria etc

Placozoa

Mollusca

Annelida etc

Arthropoda

Echinodermata

Chordata Untergruppen

Bitte *.fasta Dateien aneinanderhängen (concatenieren) und auf Internet Seite einbauen.

Phototropin: Suche zunächst mit pflanzlicher Sequenz in Pflanzen; zweite Suche auf LOV Domäne beschränkt, von pflanzlichen Phototropinen sollen die LOV1 und LOV2 Domänen vorhanden sein; ein Stammbaum mit full length pflanzlichen Sequenzen, einer mit LOV aus allen Organismen.

Rhodopsin: Suche mit Vertebraten Rhodopsin, Melanopsin ist auch interessant, interessant sind auch die Verhältnisse bei Arthropoden. Gibt es Homologe in Prokaryonten?

Bacteriorhodopsin: Suche mit Bacteriorhodopsin aus Halobacterium ..

Phytochrom: Auf PAS GAF PHY beschränken

Cryptochrom / Photolyase: Alle drei Referenten sollen sich zusammen schließen und Sequenzen aus folgenden Gruppen auswählen CryDASH, CPD Photolyase 1-3. Animal Cry, 6-4 PL, Plant Cry, FeS BCP. Falls unklar, bitte rechtzeitig fragen.

6. Aufgabe: Sequenz alignments mit Clustal Ω, Muscle und MAFFT

Multiple *alignments* sind sehr wichtig für die Charakterisierung von Proteinen. Das früher meist verwendete Programm ClustalW wird abgelöst von Clustal Ω Muscle und MAFFT. Die Programme laufen auf dem eigenen Computer.

<http://www.clustal.org/omega/>

<http://www.drive5.com/muscle/>

<http://mafft.cbrc.jp/alignment/software/>

Durch das *alignment* kann man herausfinden, welche Nukleotide bzw. Aminosäuren homolog zueinander sind, was konservierte Bereiche sind etc.. Für das Erstellen eines Phylogenie-Stammbaums werden Sequenzen verwendet, die zuvor einem *alignment* unterworfen wurden.

Jede FASTA Datei enthält eine Kopfzeile, die mit ">" beginnt. Von den *alignment* Programmen wird der Text dieser Zeile bis zum ersten Leerzeichen als Bezeichnung für die nachfolgende Sequenz ausgewählt. Daher sollte der Anfang der Zeile so editiert werden, dass später eine verständliche Bezeichnung da steht. Auch wenn die *alignment* Programme mehr als 10 Zeichen darstellen, sollte die Länge bis zum Leerzeichen auf 10 Zeichen begrenzt werden (der Text dahinter sollte aber erhalten bleiben).

Das *alignment* lässt sich in der Regel einfach starten. Je nach Rechnerkapazität kann es einige Minuten dauern. Die Dateien sollen im Clustal (*.aln) Format und im PHYLIP Format gespeichert werden. Außerdem soll das *alignment* im *postscript* Format abgespeichert werden. Aus dieser Datei eine *.pdf Datei erstellen (z.B. <http://shbox.de/freepdf.htm>). Für die Umwandlung der Dateiformate wird das alte ClustalX 2 benötigt.

Für die Programme gibt es *userguides*. Für ein *alignment* mit Muscle: In powershell tippt man: muscle -in seqs.fa -out seqs.afa. "seqs" steht dabei für die Dateinamen. Die Sequenzen müssen im fasta Format vorliegen.

7. Aufgabe: Stammbaum mit PHYLIP PHYML MEGA und ITOL

a) **PHYLIP** Das Phylip Programmpaket ist zu erhalten über:

<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>

Auch dieses Programm (genauer eine Ansammlung von Programmen) muss auf dem lokalen Rechner installiert werden. Für die Erstellung eines Stammbaums müssen mehrere Einzel-Programme nacheinander aufgerufen werden. In der Regel benutzt das Programm die Datei "*infile*" (im gleichen Verzeichnis) als Eingabe und schreibt das Ergebnis in die Datei "*outfile*". Die Ausgabe eines Programms wird in der Regel als Eingabe des nächsten benutzt werden. Die Dateien "*infile*" und "*outfile*" müssen entsprechend "von Hand" umbenannt werden. Es gibt für die Generierung von Stammbäumen verschiedene Algorithmen, viele sind in PHYLIP enthalten. Die Programme NEIGHBOR und FITCH wenden distanzbasierten Algorithmen an, außerdem gibt es Maximum Likelihood (PROML) und Parsimony (PROTPARS). Hier wenden wir FITCH und PROML an (Besprechung).

Für FITCH gilt folgende Reihenfolge der Einzelprogramme:

PROTDIST (mit der *alignment* Datei im PHYLIP Format als "*infile*")

FITCH (mit der *outfile* von PROTDIST als *infile*)

FITCH liefert eine *outfile* und eine *outtree*. Beide anschauen.

Die *outtree* Datei zu *intree* umbenennen.

Textdatei enthält das Ergebnis im Newick Format.

DRAWTREE, damit wird der Stammbaum (das Ergebnis von FITCH) grafisch dargestellt.

Für dieses Programm muss eine *fontfile* auf dem Verzeichnis vorhanden sein, diese aus der vorhandenen Datei *font1* kopieren.

Das Ergebnis sollte ebenfalls im *postscript* Format abgespeichert werden. Aus dieser Datei eine *.pdf Datei erstellen (zB <http://shbox.de/freepdf.htm>). Diese bitte in die Internet-Seite einbauen.

Für PROML gilt folgende Reihenfolge:

PROML (mit der *alignment* Datei im PHYLIP Format als "*infile*")

DRAWTREE (mit *outtree* als *intree*)

Bitte bauen Sie die *.pdf Dateien der beiden Stammbäume in Ihre Internet Seite ein.

Anleitung für *bootstrapping* mit PHYLIP Version 3.6

So haben Sie Ihren Stammbaum ohne *bootstrapping* erstellt:

Gegeben waren X alignte Sequenzen

Abstände berechnen (**PROTDIST**)

Die Abstandsmatrix verwenden um einen Stammbaum zu berechnen (**FITCH**)

Von FITCH wird eine "Stammbaumdatei" generiert (*outtree*)

Diese Datei verwenden, um den Stammbaum zu zeichnen (**DRAWTREE**)

Wenn man bootstrap values berechnen möchte, sieht der Ablauf wie folgt aus:

SECBOOT

PROTDIST

FITCH

CONSENSE

Das Programm SECBOOT generiert eine Zahl (Y) von Gruppen von Sequenzen, die Mutationen enthalten. Man kann diese Zahl als Parameter angeben, typischerweise Y=100 oder Y=1000. (Zum Verständnis: Es sind nun insgesamt $X * Y$ Sequenzen.)

Bei den nachfolgenden PROTDIST und FITCH Programmen muss dann immer gesagt werden, dass man mehrere Gruppen von Sequenzen hat und wie viele es sind (Y).

Mit CONSENSE wird nun ein Stammbaum berechnet, der auf der Basis der vorherigen Analyse am wahrscheinlichsten ist. Außerdem werden für diesen Stammbaum die *bootstrap values* berechnet, diese können zwischen 0 und Y liegen. Man erhält mit DRAWTREE einen Stammbaum, bei dem die Länge der Äste den *bootstrap values* entspricht.

Man möchte nun aber einen Stammbaum haben, bei dem Ast-Längen den tatsächlichen Abständen zwischen den Proteinsequenzen entsprechen. Dazu muss man erneut die Abstände berechnen (also mit PROTDIST). Die Gesamt-Information wird nun zusammengefügt zu einem Stammbaum, dessen Verzweigung von CONSENSE vorgegeben ist, dessen Astlängen aber von PROTDIST bestimmt werden. In diesem Stammbaum sollten nun die *bootstrap values* irgendwie (z.B. durch Farben oder durch Beschriftung mit Zahlen) sichtbar gemacht werden.

b) PhyML

<http://atgc.lirmm.fr/phyml/>

Bitte Programm auf eigenem Computer ausführen.

c) Mega

Mit Mega kann unter einer Oberfläche man Sequenzen einlesen, alignments durchführen und Stammbäume erstellen. Maximum Likelihood, Maximum Parsimony, Neighbor Joining und UPGMA sind möglich. Zur Zeit gilt Version 6 (<http://www.megasoftware.net/>)

d) Die Stammbäume mit ITOL darstellen (www.itol.embl.de)

7. Aufgabe: Darstellung von Protein Strukturen

Protein Database, Struktur auf der Seite <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> starten. Geben Sie den Namen Ihres Photorezeptors als Suchbegriff ein. So können Sie die neuesten Strukturen finden. Eine unvollständige und etwas veraltete Liste finden Sie hier:

2O9C 3C2W 2VEA 3G6O für Phytochrom

1N9L und 1G28 für LOV Domäne von Phototropin

1DNP 3FY4 3CVU 3CVW für Photolyase

1U3C für Cryptochrom von Arabidopsis

1F88 für Rhodopsin

1GU8 für Sensory Rhodopsin

Sie sollten eines oder mehrere 3D Bilder Ihres Photorezeptors machen, die in Ihrem Seminar Vortrag gezeigt werden. Es ist wichtig, dass der Chromophor sichtbar ist und dass man einige Aussagen treffen kann. Vor allem geht es um die Frage, welche Konformationsänderungen durch Licht ausgelöst werden. Dazu das Programm PYMOL benutzen, welches auf Ihrem lokalen Rechner installiert werden soll. Für die Darstellung mit PYMOL:

Speichern Sie dafür zunächst die *.pdb Datei. Diese kann mit einem Text Editor gelesen werden. Öffnen Sie die pdb Datei mit Pymol. Über "action" "preset" "publication" erhält man in der Regel bereits ein gutes Bild.

8. Referate

Jeder Studierende soll zunächst einen Überblick über allgemeine Eigenschaften der Photorezeptor Gruppe geben. Dazu können Sie sich auf einen aktuellen *review* Artikel beziehen. Im Vortrag sollen selbst erstellte Bilder gezeigt werden. Folgende Punkte sind wichtig:

- Chromophor-Identität
- Aus welchen Protein Domänen besteht der Photorezeptor?
- Wie sieht die 3-D Struktur des Photorezeptors aus?
- wie wird der Photorezeptor durch Licht aktiviert ?
- was ist seine biologische Funktion
- Phylogenie

Im zweiten Teil wird ein aktueller wissenschaftlicher Artikel vorgestellt. Unten folgen Vorschläge für Artikel. Bitte suche Sie sich einen Artikel aus und teilen mir mit, welcher es ist. Zeitvorgaben für Vortrag 30-40 min.

Phytochrom (Soy et al., 2014; Toledo-Ortiz et al., 2014; Casson and Hetherington, 2014)

BLUF Proteine (Ren et al., 2012; Yuan et al., 2011; Stierl et al., 2014; Bitrian et al., 2013)

Pflanzliche Cryptochrome (Hughes et al., 2012; Liu et al., 2013a; Meng et al., 2013; Asimgil and Kavakli, 2012; Sharma et al., 2014)

Photolyasen (Liu et al., 2013b; Laptinok et al., 2013; Guzman-Moreno et al., 2014)

Tierische Cryptochrome (Lande-Diner et al., 2013; Maywood et al., 2013; Yoo et al., 2013; Engelen et al., 2013; Cui et al., 2014; Du et al., 2014)

Rhodopsin (Maclaurin et al., 2013; Kaya et al., 2014; Sato et al., 2014)

Bacteriorhodopsin und Sensory Rhodopsin (Wang et al., 2014; Okajima et al., 2014; Schmidt et al., 2014; Kim et al., 2014)

Phototropin und LOV Domänen (Wang et al., 2014; Okajima et al., 2014; Schmidt et al., 2014)

Optogenetics (Chaudhury et al., 2013; Kim et al., 2013)

Reference List

Asimgil,H. and Kavakli,I.H. (2012). Purification and characterization of five members of photolyase/cryptochrome family from Cyanidioschyzon merolae. *Plant Sci.* 185, 190-198.

Bitrian,M., Gonzalez,R.H., Paris,G., Hellingwerf,K.J., and Nudel,C.B. (2013). Blue-light-dependent inhibition of twitching motility in *Acinetobacter baylyi* ADP1: additive involvement of three BLUF-domain-containing proteins. *Microbiology-Sgm* 159, 1828-1841.

Casson,S.A. and Hetherington,A.M. (2014). phytochrome B Is Required for Light-Mediated Systemic Control of Stomatal Development. *Current Biology* 24, 1216-1221.

Chaudhury,D., Walsh,J.J., Friedman,A.K., Juarez,B., Ku,S.M., Koo,J.W., Ferguson,D., Tsai,H.C., Pomeranz,L., Christoffel,D.J., Nectow,A.R., Ekstrand,M., Domingos,A., Mazei-Robison,M.S., Mouzon,E., Lobo,M.K., Neve,R.L., Friedman,J.M., Russo,S.J., Deisseroth,K., Nestler,E.J., and Han,M.H. (2013). Rapid regulation of depression-related behaviours by control of midbrain dopamine neurons. *Nature* 493, 532-+.

Choi,H., Jeong,S., Kim,D.S., Na,H.J., Ryu,J.S., Lee,S.S., Nam,H.G., Lim,P.O., and Woo,H.R. (2014). The homeodomain-leucine zipper ATHB23, a phytochrome B-interacting protein, is important for phytochrome B-mediated red light signaling. *PHYSIOL PLANT* 150, 308-320.

Cui,Y., Choudhury,S.R., and Irudayaraj,J. (2014). Quantitative real-time kinetics of optogenetic proteins CRY2 and CIB1/N using single-molecule tools. *Analytical Biochemistry* 458, 58-60.

Du,X.L., Wang,J., Pan,W.S., Liu,Q.J., Wang,X.J., and Wu,W.J. (2014). Observation of Magnetic Field Effects on Transient Fluorescence Spectra of Cryptochrome 1 From Homing Pigeons. *Photochemistry and Photobiology* 90, 989-996.

Engelen,E., Janssens,R.C., Yagita,K., Smits,V.A.J., Van Der Horst,G.T.J., and Tamanini,F. (2013). Mammalian TIMELESS Is Involved in Period Determination and DNA Damage-Dependent Phase Advancing of the Circadian Clock. *Plos One* 8.

Fixen,K.R., Baker,A.W., Stojkovic,E.A., Beatty,J.T., and Harwood,C.S. (2014). Apo-bacteriophytochromes modulate bacterial photosynthesis in response to low light. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, E237-E244.

Guzman-Moreno,J., Flores-Martinez,A., Briebe,L.G., and Herrera-Estrella,A. (2014). The *Trichoderma reesei* Cry1 Protein Is a Member of the Cryptochrome/Photolyase Family with 6-4 Photoproduct Repair Activity. *Plos One* 9.

Hughes,R.M., Vrana,J.D., Song,J.Q., and Tucker,C.L. (2012). Light-dependent, Dark-promoted Interaction between Arabidopsis Cryptochrome 1 and Phytochrome B Proteins. *J. Biol. Chem.* 287, 22165-22172.

Igamberdiev,A.U., Eprintsev,A.T., Fedorin,D.N., and Popov,V.N. (2014). Phytochrome-mediated regulation of plant respiration and photorespiration. *Plant Cell and Environment* 37, 290-299.

Kaya,A.I., Lokits,A.D., Gilbert,J.A., Iverson,T.M., Meiler,J., and Hamm,H.E. (2014). A Conserved Phenylalanine as a Relay between the alpha 5 Helix and the GDP Binding Region of Heterotrimeric G(i) Protein alpha Subunit. *J. Biol. Chem.* 289, 24475-24487.

Kim,S.Y., Adhikari,A., Lee,S.Y., Marshel,J.H., Kim,C.K., Mallory,C.S., Lo,M., Pak,S., Mattis,J., Lim,B.K., Malenka,R.C., Warden,M.R., Neve,R., Tye,K.M., and Deisseroth,K. (2013). Diverging neural pathways assemble a behavioural state from separable features in anxiety. *Nature* 496, 219-223.

Kim,S.Y., Yoon,S.R., Han,S., Yun,Y., and Jung,K.H. (2014). A role of *Anabaena* sensory rhodopsin transducer (ASRT) in photosensory transduction. *Molecular Microbiology* 93, 403-414.

Lande-Diner,L., Boyault,C., Kim,J.Y., and Weitz,C.J. (2013). A positive feedback loop links circadian clock factor CLOCK-BMAL1 to the basic transcriptional machinery. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 16021-16026.

Laptenok,S.P., Bouzhir-Sima,L., Lambry,J.C., Myllykallio,H., Liebl,U., and Vos,M.H. (2013). Ultrafast real-time visualization of active site flexibility of flavoenzyme thymidylate synthase ThyX. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 8924-8929.

Liu,H.T., Wang,Q., Liu,Y.W., Zhao,X.Y., Imaizumi,T., Somers,D.E., Tobin,E.M., and Lin,C.T. (2013a). Arabidopsis CRY2 and ZTL mediate blue-light regulation of the transcription factor CIB1 by distinct mechanisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 17582-17587.

Liu,Z.Y., Zhang,M., Guo,X.M., Tan,C., Li,J., Wang,L.J., Sancar,A., and Zhong,D.P. (2013b). Dynamic determination of the functional state in photolyase and the implication for cryptochrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 12972-12977.

Maclaurin,D., Venkatachalam,V., Lee,H., and Cohen,A.E. (2013). Mechanism of voltage-sensitive fluorescence in a microbial rhodopsin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 5939-5944.

Mannen,K., Matsumoto,T., Takahashi,S., Yamaguchi,Y., Tsukagoshi,M., Sano,R., Suzuki,H., Sakurai,N., Shibata,D., Koyama,T., and Nakayama,T. (2014). Coordinated transcriptional regulation of isopentenyl diphosphate biosynthetic pathway enzymes in plastids by phytochrome-interacting factor 5. *Biochemical and Biophysical research communications* 443, 768-774.

Maywood,E.S., Drynan,L., Chesham,J.E., Edwards,M.D., Dardente,H., Fustin,J.M., Hazlerigg,D.G., O'Neill,J.S., Codner,G.F., Smyllie,N.J., Brancaccio,M., and Hastings,M.H. (2013). Analysis of core circadian feedback loop in suprachiasmatic nucleus of mCry1-luc transgenic reporter mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 9547-9552.

Meng,Y.Y., Li,H.Y., Wang,Q., Liu,B., and Lin,C.T. (2013). Blue Light- Dependent Interaction between Cryptochrome2 and CIB1 Regulates Transcription and Leaf Senescence in Soybean. *Plant Cell* 25, 4405-4420.

Okajima,K., Aihara,Y., Takayama,Y., Nakajima,M., Kashojiya,S., Hikima,T., Oroguchi,T., Kobayashi,A., Sekiguchi,Y., Yamamoto,M., Suzuki,T., Nagatani,A., Nakasako,M., and Tokutomi,S. (2014). Light-induced Conformational Changes of LOV1 (Light Oxygen Voltage-sensing Domain 1) and LOV2 Relative to the Kinase Domain and Regulation of Kinase Activity in Chlamydomonas Phototropin. *J. Biol. Chem.* 289, 413-422.

Ren,S., Sawada,M., Hasegawa,K., Hayakawa,Y., Ohta,H., and Masuda,S. (2012). A PixD-PapB Chimeric Protein Reveals the Function of the BLUF Domain C-Terminal alpha-Helices for Light Signal Transduction. *Plant and Cell Physiology* 53, 1638-1647.

Sato,K., Yamashita,T., and Shichida,Y. (2014). Contribution of Glutamic Acid in the Conserved E/DRY Triad to the Functional Properties of Rhodopsin. *Biochemistry* 53, 4420-4425.

Schmidt,D., Tillberg,P.W., Chen,F., and Boyden,E.S. (2014). A fully genetically encoded protein architecture for optical control of peptide ligand concentration. *Nature Communications* 5.

Sharma,P., Chatterjee,M., Burman,N., and Khurana,J.P. (2014). Cryptochrome 1 regulates growth and development in Brassica through alteration in the expression of genes involved in light, phytohormone and stress signalling. *Plant Cell and Environment* 37, 961-977.

Soy,J., Leivar,P., and Monte,E. (2014). PIF1 promotes phytochrome-regulated growth under photoperiodic conditions in Arabidopsis together with PIF3, PIF4, and PIF5. *Journal of Experimental Botany* 65, 2925-2936.

Stierl,M., Penzkofer,A., Kennis,J.T.M., Hegemann,P., and Mathes,T. (2014). Key Residues for the Light Regulation of the Blue Light-Activated Adenylyl Cyclase from Beggiatoa sp. *Biochemistry* 53, 5121-5130.

Toledo-Ortiz,G., Johansson,H., Lee,K.P., Bou-Torrent,J., Stewart,K., Steel,G., Rodriguez-Concepcion,M., and Halliday,K.J. (2014). The HY5-PIF Regulatory Module Coordinates Light and Temperature Control of Photosynthetic Gene Transcription. *Plos Genetics* 10.

Wang,Y., Noguchi,K., Ono,N., Inoue,S., Terashima,I., and Kinoshita,T. (2014). Overexpression of plasma membrane H⁺-ATPase in guard cells promotes light-induced stomatal opening and enhances plant growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 533-538.

Yoo,S.H., Mohawk,J.A., Siepk, S.M., Shan,Y.L., Huh,S.K., Hong,H.K., Kornblum,I., Kumar,V., Koike,N., Xu,M., Nussbaum,J., Liu,X.R., Chen,Z., Chen,Z.J.J., Green,C.B., and Takahashi,J.S. (2013). Competing E3 Ubiquitin Ligases Govern Circadian Periodicity by Degradation of CRY in Nucleus and Cytoplasm. *Cell* 152, 1091-1105.

Yuan,H., Dragnea,V., Wu,Q., Gardner,K.H., and Bauer,C.E. (2011). Mutational and Structural Studies of the PixD BLUF Output Signal That Affects Light-Regulated Interactions with PixE. *Biochemistry* 50, 6365-6375.