

# 植物体内 $\text{Ca}^{2+}$ 信号转导过程的研究进展

周江菊<sup>1</sup>, 夏快飞<sup>2\*</sup>

(1. 贵州师范大学凯里学院生物科学技术系, 贵州凯里 556000; 2. 中山大学生命科学学院, 广东广州 510275)

**摘要:**  $\text{Ca}^{2+}$  是高等植物细胞内普遍存在的一种信使分子, 在植物体内起着非常广泛的作用, 参与了植物体内多种刺激-反应的藕联过程。本文介绍了植物体内  $\text{Ca}^{2+}$  转移系统,  $\text{Ca}^{2+}$  信号的产生、终止和传递途径,  $\text{Ca}^{2+}$  信号编码的多样性的最近研究进展。

**关键词:** 钙信号; 转导; 植物

**中图分类号:** Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2005)04-0386-07

## Study on $\text{Ca}^{2+}$ signal transduction in plant

ZHOU Jiang-ju<sup>1</sup>, XIA Kuai-fei<sup>2\*</sup>

(1. Department of Biological Science and Biotechnology, Kaili College of Guizhou Normal University, Kaili 556000, China; 2. College of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** Calcium, as a messenger molecule, is known to play a crucial role in stimulus-response coupling for many plant cellular signaling pathways and  $\text{Ca}^{2+}$  signaling can play a fundamental role in many biological effects. The latest studies on the origination, ending and transportation of  $\text{Ca}^{2+}$  signal transduction and the diversity of  $\text{Ca}^{2+}$  coding in plant are reported in this paper.

**Key words:** calcium messenger; transduction; plant

一百年前, 人们已经开始注意到  $\text{Ca}^{2+}$  在生物学上的重要性。长期以来, 人们对  $\text{Ca}^{2+}$  在细胞功能调节上的重要意义的认识, 因为不清楚其作用机理而受到影响。人们常常迷惑不解的是: 一个如此广泛存在的、普通的金属离子是如何调节细胞功能的? 60年代末期, 美籍华人张槐耀(1967)在动物细胞中发现钙调素- $\text{Ca}^{2+}$ 的多功能受体蛋白后, 人们才真正开始对  $\text{Ca}^{2+}$  的作用机理有了深刻的认识, 提出了  $\text{Ca}^{2+}$  也可以像 cAMP 一样作为细胞信使起作用(顾永清, 1994)。70年代后, 这种观点在动物细胞上已被大量的实验所证实。80年代以来, 也取得了一些初步的证据, 说明  $\text{Ca}^{2+}$  在植物细胞中具有类似的作用, 现在对  $\text{Ca}^{2+}$  在植物细胞中的作用的研究非常活跃, 所取得的成果具有深广的意义。

### 1 细胞的钙转移系统

细胞内自由  $\text{Ca}^{2+}$  的分布与转移是形成  $\text{Ca}^{2+}$  信号的基础, 只有对此有所了解后, 才能讨论  $\text{Ca}^{2+}$  信号的产生和终止过程。

#### 1.1 钙在植物细胞中的分布

通常细胞内的钙(总钙)以结合态和自由离子( $\text{Ca}^{2+}$ )两种形式存在。植物细胞内的钙分布不均匀, 在非激活静止状态时, 细胞内自由  $\text{Ca}^{2+}$  浓度约为  $10^{-3} \sim 10^{-7}$  mol/L, 一般认为在  $0.1 \sim 0.6 \mu\text{mol/L}$ , 胞外  $\text{Ca}^{2+}$  浓度约为  $0.1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ , Clend 和 Evens 估计胞外  $\text{Ca}^{2+}$  浓度为  $10^{-5} \sim 10^{-4}$  mol/L, 但 Trewavas 等认为只有  $10^{-6}$  mol/L, 甚至更少(Trewavas 等, 1998; Allen 等, 2001)。细胞内的  $\text{Ca}^{2+}$  浓

收稿日期: 2004-11-15 修订日期: 2005-02-22

作者简介: 周江菊(1966-), 女, 贵州从江人, 副教授, 主要从事植物资源学和生物学教学研究, E-mail: zjj0102626@sohu.com. \* 通讯作者

度不能太高, 溶质中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度如果太高, 会与细胞内的磷酸根产生沉淀, 而磷酸根是细胞能量及物质代谢所必须的, 所以细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ ) 过高对细胞有害, 甚至会致死。细胞内的钙绝大部分以结合态的形式存在, 如与钙结合蛋白、内质网、线粒体、叶绿体, 特别是与液泡结合, 这些都是细胞内的“钙库”。“钙库”中钙含量很高, 但游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度不高。 $\text{Ca}^{2+}$  平时以结合态的形式结合在这些细胞器上, 它的迅速释放和整合对维持细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的稳定平衡及  $\text{Ca}^{2+}$  的信使作用起一个很大的钙缓冲作用 (Bush, 1995)。“钙库”中  $\text{Ca}^{2+}$  的缓冲能力主要是由于存在一类对  $\text{Ca}^{2+}$  高容量、低亲和力的贮钙蛋白有关。由于它们对  $\text{Ca}^{2+}$  的低亲和力, 故当“钙库”中钙通道开放时, 钙蛋白能迅速地和钙解离, 将  $\text{Ca}^{2+}$  释放到胞质中去, 使  $\text{Ca}^{2+}$  信号能准确、迅速的传递。

## 1.2 钙转移系统

胞质  $\text{Ca}^{2+}$  信号的运转包括:  $\text{Ca}^{2+}$  流入和  $\text{Ca}^{2+}$  从胞质中的输出,  $\text{Ca}^{2+}$  的运输方式大致包括以下 3 种: ①钙离子通道: 利用电子传递产生的电化学势梯度将  $\text{Ca}^{2+}$  主动泵进细胞器内, 存在于线粒体或叶绿体上; ② $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase (钙泵): 依靠水解 ATP 提供能量, 将  $\text{Ca}^{2+}$  泵出胞质, 存在于质膜和内质网上, 它的最适 pH 值为 8, 能被  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  所抑制; ③ $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$  反向传递子: 利用已建立的质子电化学势梯度, 实现  $\text{Ca}^{2+}$  与  $\text{H}^+$  的跨膜交换, 将  $\text{Ca}^{2+}$  泵出胞质, 主要分布在液泡膜上, 也可能存在于质膜和高尔基体上 (Bush, 1995)。从理论上说,  $\text{Ca}^{2+}$  的流入和流出运输系统是钙信号的主要动力学特征。由于具有缓冲能力, 钙结合蛋白是细胞内  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  的最主要调节者, 对  $\text{Ca}^{2+}$  运输途径的研究主要在液泡膜、ER 膜、细胞质膜等对  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  的调节。当然,  $\text{Ca}^{2+}$  通过内膜系统如: 内质网膜、线粒体膜的流动对于研究  $\text{Ca}^{2+}$  信号的运输模式也是很重要的 (Johnson 等, 1995; Santella 等, 1997)。

### 1.2.1 $\text{Ca}^{2+}$ 离子的流入

$[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  的增加主要是通过细胞膜上钙离子通道的  $\text{Ca}^{2+}$  的流入和内部“钙库”上  $\text{Ca}^{2+}$  的释放或二者同时起作用。

$\text{Ca}^{2+}$  从胞外内流是通过细胞质膜钙离子通道。钙离子通道是一种结合蛋白, 它通过构象变化呈开放或关闭状态, 从而控制  $\text{Ca}^{2+}$  流动。在钙通道关闭时, 胞外  $\text{Ca}^{2+}$  以非特异性渗漏形式进入细胞内, 数量甚微; 钙离子通道开放时,  $\text{Ca}^{2+}$  以扩散形式按一定的扩散差从胞外涌入胞内。在植物细胞中对这方

面的报导很少。 $\text{Ca}^{2+}$  离子通道在分子水平上对细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度进行调节。Schachtman 等 (1997) 从小麦中分离到了 LCT1 (低亲和力的阴离子载体), LCT1 的缺失突变体能引起  $\text{Ca}^{2+}$  内流的缺陷, 对于 LCT1 是否是植物体内的离子通道还没有明确的证据, 但 LCT1p 能引起植物体内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的显著增加。尽管这方面的研究报导很少, 但很多的电生理学和生物化学研究表明: 植物细胞内, 特别是在液泡膜和细胞质膜上的  $\text{Ca}^{2+}$  离子通道具有可渗透性, 属于配体门通道。钙离子通道主要位于质膜系统和内膜系统, 下面详细介绍一下植物质膜系统和内膜系统上的钙离子通道。

(1) 细胞质膜系统上的钙离子通道: 在细胞质膜上至少有两种类型的钙离子通道 (White, 1998), 一是高亲和性低选择力的离子通道 (White, 1994); 二是选择性较高的单一性离子通道, 一般它的亲和力较低, 如: 电控门阴离子通道 2 (White, 1994; Pineros 等, 1997)。在各种细胞类型和组织中, 钙离子通道具有各种不同的形式, 如: 胡萝卜和芹菜悬浮培养液中 (Zimmermann 等, 1997) 和拟南芥中茎和根细胞中 (Thion 等, 1996) 具不同的钙离子通道。

(2) 内膜系统上的钙离子通道: 在液泡膜上至少有两种不同的钙离子通道 (Allen 等, 1997), 其中有两个是受体门控钙离子通道, 一是以 1, 4, 5-三磷酸 (InsP3) 作为离子载体; 二是以环 ADP 核糖体 (CADPR) 作为离子载体 (Allen 等, 1994)。用微量注射法将 InsP3 和 CADPR 微量射入保卫细胞中发现, 两种物质均能引起胞质中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高, 以此证明 InsP3 和 CADPR 受体门控钙通道是电压门控钙通道类型, 受控于膜电压的变化, 取决于膜的超极化 (Allen 等, 1994) 和膜的去极化水平 (Allen 等, 1996)。电压门控钙通道类型是缓慢型液泡膜 (SV) 通道,  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  超过 600 nmol/L 才能被激活 (Hedrich 等, 1987), 缓慢型液泡膜通道遵循从  $\text{Ca}^{2+}$  诱导  $\text{Ca}^{2+}$  释放 (CICR) 的原则 (Ward 等, 1994), 一个或两个受体门控钙通道的激活可作为 SV 通道的激活因子。

在成熟植物细胞中, 液泡是最主要的钙库, 但其余一些细胞器中  $\text{Ca}^{2+}$  的信号转导也不容忽视。如: 在没有明显液泡的花粉管和根毛中 (Franklin-Tong 等, 1996), 非液泡膜的  $\text{Ca}^{2+}$  通道起着主要作用。在蔓草卷须的内质网膜上分离到了一种电压门控敏感型  $\text{Ca}^{2+}$  通道 (Klusener 等, 1995)。微注射方法和代谢物检测法被大量用于分析 InsP3 和 CADPR 一

受体门钙通道,如:气孔关闭(Gilroy等,1990),渗透调节(Cho等,1993),花粉管在自交不亲和反应中(Frankling-Tong等,1996),ABA诱导的CADPR-钙信使(Wu等,1997)。

1.2.2  $\text{Ca}^{2+}$  离子的流出  $\text{Ca}^{2+}$  的流出主要通过  $\text{Ca}^{2+}$  运转子的作用,  $\text{Ca}^{2+}$  运转子主要有“钙泵”和  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$  方向运转子,这两种运转子最大的不同在于它们的动力学特性。  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  方向运转子适合于在胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度高时起运转作用,它是高容量、低亲和力( $K_{m\text{Ca}}=10\sim 15\ \mu\text{mol/L}$ )的;“钙泵”则是低容量、高亲和力的( $K_m=0.1\sim 2\ \mu\text{mol/L}$ )。  $\text{Ca}^{2+}$  运转子的作用是:①在信号转导过程中补充由钙离子通道从“钙库”中流入胞质的  $\text{Ca}^{2+}$  进入“钙库”;②将  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  恢复到静息态水平;③为专一的生物化学反应提供足够的  $\text{Ca}^{2+}$  和其余二价阳离子;④为膜的相互作用(如:膜泡运输和膜泡融合等)提供  $\text{Ca}^{2+}$ 。

(1)钙泵:从二十世纪70年代到90年代,大量的生物化学研究表明在植物中存在有多种类型的“钙泵”,80年代流行的假设是一种膜上存在有一种“钙泵”,因此主要的方法集中在分离出各种特异的膜,研究与它相连的“钙泵”的活性。然而实验结果发现,所有的“钙泵”都被钒酸盐所抑制,因为它们彼此具有很多的相似性,所以区分各种“钙泵”的性质和关系是很困难的。因此,到了90年代,主要是根据它们的生物化学活性对“钙泵”进行分类。

钙泵是P型ATPase,即  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase,直接以ATP为能量驱动离子运输。根据其生物化学特性可以将“钙泵”分为两种类型(Woo等,2000):II A型(ER-型)和II B型(PM-型)。ER-型:对钙调素不敏感,对CAP敏感,缺氧胁迫能导致它的大量增加;PM-型:被钙调素类似物所激活,存在于细胞质膜和其它膜上。两种植物  $\text{Ca}^{2+}$  泵的分子生物学证据是:根据其蛋白质序列与动物PMCA(Carafoli,1991)或SERCA(Geisler等,2000)的相似性进行区分。II A型:与动物SERCA具50%~55%同源性,与PMCA却只有28%~33%同源性;II B型:与hPMCA4具50%的同源性,与SERCA只有31%的同源性,不像动物PMCA,II B同类物具有一条长的羧基尾巴。AcACA1是拟南芥中四种或更多的II A型(ER-型)“钙泵”中的一种;AcACA2是七种或更多II B型“钙泵”中的一种。

PM-型钙泵首先是在动物细胞中发现的,随后在植物细胞中的膜(如:细胞质膜、液泡膜、内质网

膜)上广泛发现。在幼嫩的植物分裂细胞中广泛存在,如:幼苗、悬浮细胞等。这与在茎与根的顶端比成熟组织发现有更多的钙调素一致(Zielinski,1998)。由钙调素亲和层析得到了几种钙调素依赖型  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase,如,液泡:从花椰菜小花中分离到的分子量为111kDa的  $\text{Ca}^{2+}$  泵(Evans等,1998),它对钙调素的亲和力较低,0.1~0.2  $\mu\text{mol/L}$  的钙调素只能激活50%的  $\text{Ca}^{2+}$  泵活性。PM-型钙泵由结合的钙调素所产生,与动物中的II B型钙泵有两点不同:①植物细胞内的II B型钙泵调控区域分布在N端,而动物中的II B型钙泵分布在C端;②植物细胞中的II B型钙泵并不只专一存在于细胞质膜,在非细胞质膜上也有,如:ACA2p(内质网膜);BCA1p(液泡形成体)上也存在。II A型钙泵和II B型钙泵在以下三个方面不同:①II A型钙泵主要分布在内质网膜上,II B型钙泵主要分布在细胞质膜上;②它们分别有不同的抑制剂;③II B型钙泵被钙调素直接激活(Evans等,1998)。

目前已分离到很多钙泵的编码序列,如,编码II A型钙泵的序列有:来自于番茄的LCA1(Wimmers等,1992),来自于水稻的OCA1(Chen等,1997),来自于拟南芥的ECA1/ACA3(Liang等,1997)。已得到的II A型钙泵的编码序列有:来自于拟南芥的ACA2(Harper等,1998),来自于 *Brassica oleracea* 的BCA1(Malmstrom等,1997)。

(2)  $\text{Ca}^{2+}/\text{nH}^+$  反向传递子:存在于液泡膜、质膜和高尔基体的第二种将  $\text{Ca}^{2+}$  移出细胞外的交换器- $\text{Ca}^{2+}/\text{nH}^+$  反向传递子不直接用ATP作为能源,主要是用质子动力势作为胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的动力。在植物细胞内存在三种  $\text{Ca}^{2+}/\text{nH}^+$  反向传递子(Blackford等,1990)。第一个  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  反向运转子已经被克隆,其功能表达蛋白是cAX1p(Calcium exchange 1)(Hirschi等,1996)。这个基因能恢复在高钙培养基中缺少液泡  $\text{Ca}^{2+}$  运输的酵母突变株的生长。燕麦根液泡中  $\text{Ca}^{2+}$  的动力学研究表明CA1p在低钙水平( $K_{m1s}=13\ \mu\text{mol/L}$ )运输  $\text{Ca}^{2+}$ (Schumaker等,1986,1987)。CA1p并不只分布在液泡膜上,质膜上也有  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  反向运转子的分布。因对  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  反向运转子的定位需要从整个细胞水平上进行研究。

## 2 钙信号的产生、终止和传递途径

钙信号的产生和终止是胞内  $\text{Ca}^{2+}$  增减、波动

的结果。当细胞受到外部刺激时,从质外体经质膜或胞内“钙库”向胞液运输的  $\text{Ca}^{2+}$  量增加,胞液中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度提高后,通过激活  $\text{Ca}^{2+}$  调节的靶酶,  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的蛋白激酶(CDPK 或  $\text{pKCa}^{2+}$ )或蛋白磷酸酶,或与  $\text{Ca}^{2+}$  受体蛋白(如:CaM)结合,再通过激酶将  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化所蕴含的外界信息表达为生理生化过程,完成信息传递之后,  $\text{Ca}^{2+}$  通过细胞中浓度调节又回落到静息态水平,这时  $\text{Ca}^{2+}$  与受体蛋白分离。这样通过  $\text{Ca}^{2+}$  在胞质内的浓度变化,可以把细胞外的信息传递到细胞内,调节相应的生理过程。

$\text{Ca}^{2+}$  信号转移途径可分为两个步骤:主要传感蛋白,下游产物。一些下游产物预示着钙信使和离子通道的终点。保卫细胞中,在气孔关闭过程中与盐离子丢失有关的离子通道是被  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  和磷酸化作用所引起的(Schmidt 等,1995)。在 SV 型离子通道中  $\text{Ca}^{2+}$  的激活是与钙调素的介导有关(Schultz-Lessdorf 等,1995)。

钙依赖性蛋白激酶(CDPKs)是独一无二的激酶家族,由具四个结合钙离子手型 EF 臂的 C 末端钙调素控制。它们很可能是重要的主要  $\text{Ca}^{2+}$  信号传感器,首次在植物和原生动物中分离(Zhao 等,1993)。在拟南芥中已分离到了超过 12 种 cDPK 亚家族(Hrabak 等,1996)。

根据 CDPK 具多种同工异型蛋白可以推测大多数钙调蛋白激酶的活性是由 CDPK 途径激活的(Satterlee 等,1998)。一些 CDPK 同工异型体明显地具有调控信号途径,如:在暂时基因表达系统中,只有 CDPK 的 2 种同工异型体诱导 ABA/胁迫调控启动子 HVA-1 的表达(Sheen,1996)。生物化学研究表明,不同的同工异型体具不同的产物专一性(Lee 等,1998),不同的同工异型体具有不同的活化钙离子浓度域值,以上实验表明不同的同工异型体具不同编码的钙信号。尽管不同钙信号的同工异型体的亚细胞定位仍没有完成,但有点可以确定,即在胞质的膜上分布有多种不同的同工异型体。

钙信号中还有一些信号分子,如 P1-PLC (plants possess  $\text{Ca}^{2+}$ -activated phosphoinositide specific phospholipase C) (Huang 等,1995) 在 CICR 中起着 InsP3 的作用,引起的  $\text{Ca}^{2+}$  改变能进一步激活 InsP3 的产生。对 P1-PLCs 的克隆表明它能被  $\text{Ca}^{2+}$  激活,且与哺乳动物中的 PLC8 同类物具相似性(Kopka 等,1998)。

### 3 钙信号编码的专一性问题

植物细胞中与  $\text{Ca}^{2+}$  有关的各种刺激—反应藕联过程引出这样一个问题:同一信使怎样才能调控不同的反应?  $\text{Ca}^{2+}$  信号机制的哪一点对于理解单一信使怎样能产生多个信号有关? 关键问题包括持续时间、频率、 $\text{Ca}^{2+}$  信号的定位、与细胞内其它分子的相互作用,以及在反应细胞中反映“生理地址”的信号途径(McAinsh 等,1997)。这一系列问题在动物中已得到了很好的阐述,在植物细胞中的研究却没有这么详尽。

#### 3.1 $[\text{Ca}^{2+}]$ 的瞬时变化和下游反应

大量试验表明:不同的刺激能引起植物细胞内单一  $[\text{Ca}^{2+}]$  的瞬时变化,如,触摸或冷胁迫引起  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  的快速增加。 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  的增加来源于液泡和质膜(Knight 等,1991);缺氧胁迫引起  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$  的瞬时增加、发光体(Knight 等,1996)、高渗透压胁迫(Takahashi 等,1997)引起的结果与之一样。

$\text{Ca}^{2+}$  信号与各级下游反应产物联系方式的最简单假设是  $\text{Ca}^{2+}$  瞬时变化的强度反应了刺激的强度,同时决定了下游产物的强度。Malho 等分析了  $\text{Ca}^{2+}$  瞬时变化的数据与 11 种不同刺激的关系,指出由于刺激不同引起  $\text{Ca}^{2+}$  信号的滞后时间、上升时间、持续时间的不同。如,风与触动引起的  $\text{Ca}^{2+}$  信号的上升时间  $< 1$  s,瞬时的持续时间仅 15 s,烟草中的高渗透压胁迫的滞后时间是 30 s,上升时间是 60 s,信号持续时间 150 s。烟草中,高渗透压胁迫引起的  $[\text{Ca}^{2+}]$  的瞬时变化呈双相变化:先是缓慢的少量的增加,紧接着是迅速的大量的瞬时增加。两个时期都依赖于胞外  $[\text{Ca}^{2+}]$  的增加,尽管这两个时期对液泡泵  $\text{H}^+$ -ATPase 抑制剂巴弗洛霉素和蛋白激酶抑制剂 K-252a 显示不同的敏感性。拟南芥中,由于干旱和缺氧胁迫引起的  $[\text{Ca}^{2+}]$  瞬时变化的强度能被预先的干旱和缺氧胁迫处理所影响(Knight 等,1998)。

然而,植物中  $\text{Ca}^{2+}$  信号和下游产物有更复杂的关系。渗透和盐胁迫能产生相似的  $\text{Ca}^{2+}$  强度和持续时间,在不同水平引起 p5cs 基因地表达, p5cs 基因编码了一种与脯氨酸合成系统有关的酶(Knight 等,1991);编码控制光敏色素的查耳酮合成酶基因被 cAMP 正调控,且被  $\text{Ca}^{2+}$ /钙调素负调控。然而大豆中钙/钙调素对 UV 光的光应是正调控(Frohnmeier 等,1998)。

### 3.2 钙信号的时空性—Ca<sup>2+</sup>振荡和钙波

钙信号的动力学常常表现为细胞内 Ca<sup>2+</sup> 水平有波动或振荡特征,尽管有各种各样的表现,但常有恒定的基线,周期性出现 Ca<sup>2+</sup> 峰,称为 Ca<sup>2+</sup> 振荡 (Ca<sup>2+</sup> oscillation) (Subbaiah 等,1994; Schonknecht 等,1998)。各种 Ca<sup>2+</sup> 振荡周期一般以秒计,但也有持续到分的,其频率也不同。但对相同的细胞或特定刺激来说,反应往往是相当恒定的,因而很像是细胞的“指纹”。下游产生对 Ca<sup>2+</sup> 信号的重复反应在植物中只有少数几例报导。生长在厌氧环境中的拟南芥的缺氧基因地表达发生在 Ca<sup>2+</sup> 重复峰之后 (Subbaiah 等,1994)。花粉管顶端的 Ca<sup>2+</sup> 梯度分布的振荡与花粉管生长有关 (McAinsh 等,1995)。在保卫细胞中,外部 Ca<sup>2+</sup> 浓度和 ABA 能影响 Ca<sup>2+</sup> 振荡 (Staxen 等,1996),Ca<sup>2+</sup> 瞬时变化的强度和频率依赖于外部的 Ca<sup>2+</sup> 浓度。将培养细胞的悬浮保卫细胞移到高浓度的外部溶液中 (1.0 mmol/L),短时间内能引起 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub> 大量的增加 (>859 nmol/L),而低浓度的外部 Ca<sup>2+</sup> 浓度产生小的 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub> 增加 (达到 600 nmol/L)。Ca<sup>2+</sup> 对不同的 Ca<sup>2+</sup> 振荡模式是具专一性的,其机制与 Ca<sup>2+</sup> 依赖性磷酸酶和 Ca<sup>2+</sup> 非依赖性蛋白激酶有关 (McAinsh 等,1997)。

关于 Ca<sup>2+</sup> 振荡与 Ca<sup>2+</sup> 波产生的生物学意义有许多推测,如,一种看法是认为 Ca<sup>2+</sup> 振荡代表一种信息编码方式,即以频率编码方式代替幅度 (Ca<sup>2+</sup> 浓度) 编码方式,细胞内信号从而可转化为恒定幅度上的振荡频率,其优点是具有较高的信噪比,极高保真程度,特别是在低浓度激动剂的情况下;另一种看法是细胞的刺激因素种类众多,如各种各样激素、环境因素等。只有振荡编码胞内多种 Ca<sup>2+</sup> 信号是不够的,频率编码 Ca<sup>2+</sup> 信号大大提高了 Ca<sup>2+</sup> 信号的多样性;还有一种说法是在持续刺激的情况下, Ca<sup>2+</sup> 信号如果振荡变动过大会造成细胞的伤害,波动的方式减少了这种伤害,持续的刺激也常常造成细胞的脱敏作用, Ca<sup>2+</sup> 振荡也许还有减少脱敏作用的意义。

### 3.3 Ca<sup>2+</sup> 信号的空间定位

Ca<sup>2+</sup> 信号的机制在研究植物信号转移中的有些方面是非常少的,如,信号的专一性定位。将水母发光蛋白分别注入叶绿体或胞质中,发现将它们从光照转入黑暗条件之后,叶绿体和胞质 Ca<sup>2+</sup> 浓度呈现昼夜节律的振荡反应 (Johnson 等,1995);热胁迫诱导烟草胞质中的 Ca<sup>2+</sup> 增加,但叶绿体中的 Ca<sup>2+</sup> 浓度不增加。

在许多动物细胞中,很多 Ca<sup>2+</sup> 信号都可产生增加 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 波,在植物中却很少有 Ca<sup>2+</sup> 波。高渗透胁迫引起黑角菜属的海藻细胞中产生 Ca<sup>2+</sup> 波, Ca<sup>2+</sup> 产生的速度至少是 5~10 μmol/s,相当于动物细胞中 Ca<sup>2+</sup> 波产生的速率。在电流刺激的保卫细胞中可产生 Ca<sup>2+</sup> 波 (Grabov 等,1998),ABA 能影响 Ca<sup>2+</sup> 信号的电压、域值大小、持续时间。相应地,在海藻假根和花粉管中都能产生 Ca<sup>2+</sup> 波, Ca<sup>2+</sup> 波的产生来源于内质网区域而不是大液泡。通过水母发光蛋白转化植物和把水母发光蛋白注射入不同的细胞区域的病理生态研究发现,细胞内不同的“钙库”引起不同的 Ca<sup>2+</sup> 信号分布。如液泡和细胞质膜 Ca<sup>2+</sup> 的流动与冷胁迫和干旱中 Ca<sup>2+</sup> 有很大关系,而缺氧胁迫信号的产生却有不同“钙库” (Price 等,1994)。

## 4 结束语

植物钙调素和钙调素相关蛋白是由多个基因家族编码的,在植物细胞内具有不同的时空表达,它的多样性是 Ca<sup>2+</sup>-CaM 信号转导多样性的基础 (Zielinski,1998)。因此对 CaM 及 CaM 相关蛋白在细胞内的分布、三维结构、基因分离、与 Ca<sup>2+</sup> 结合的方式、CaM 及其相关蛋白的分离以及 CaM 的生理功能等一直是科学家们研究的热点,也是了解 Ca<sup>2+</sup>-CaM 信号转导基础。CaM 本身是不具有酶的活性的,它必须与 Ca<sup>2+</sup> 及 CaM 相关蛋白结合后才具有酶活性功能 (Zielinski,1998),而 Ca<sup>2+</sup>-CaM 信号转导的差异性主要依赖于它的靶蛋白,因此分离出更多的靶蛋白仍将是今后的研究热点之一。了解 CaM 在亚细胞中的分布对 CaM 功能的研究有重要的作用,需要借助形态学、遗传学、分子生物学等多个方面的研究手段对 CaM 的时空分布进行研究,以更好掌握 CaM 所介导的信号转导的作用。另外 CaM 与不同靶蛋白的作用模式以及 CaM 家族的庞大功能等方面有待进行更深入的探讨研究。

### 参考文献:

- 顾永清. 1994. 钙调素的生理功能[J]. 生物学通报, 29(10): 12-14.
- Allen GJ, Schroeder JI. 2001. Combining genetics and cell biology to crack the code of plant cell calcium signaling[J]. *Sci STKE* 1, RE13.
- Allen GJ, Sanders D. 1994. Two voltage-gated calcium release channels coreside in the vacuolar membrane of guard cells [J]. *Plant Cell*, 6: 685-694.

- Allen GJ, Sanders D. 1997. Vacuolar ion channels of higher plants[J]. *Adv Bot Res*, **25**: 218—252.
- Allen GJ, Sanders D. 1996. Control of ionic currents in guard cell vacuoles by cytosolic and lumenal calcium[J]. *Plant J*, **10**: 1 055—1 067.
- Blackford S, Rea PA, Sanders D. 1990. Voltage sensitivity of  $\text{H}^+$  /  $\text{Ca}^{2+}$  antiport in higher plant tonoplast suggests a role in vacuolar calcium accumulation[J]. *J Biol Chem*, **265**: 9 617—9 620.
- Bush DS. 1995. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **46**: 95—122.
- Carafoli E. 1991. Calcium pump of the plasma membrane[J]. *Physiol Rev*, **71**: 129—153.
- Chen XF, Chang MC, Wang BY, et al. 1997. Cloning of a  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase gene and the role of cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  in the gibberellin-dependent signaling pathway in aleurone cells[J]. *Plant J*, **11**: 363—371.
- Cho MH, Shears SB, Boss WF. 1993. Changes in phosphatidylinositol metabolism in response to hyperosmotic stress in *Daucus carota* L. cells grown in suspension culture [J]. *Plant Physiol*, **103**: 637—647.
- Clapham DE. 1995. Calcium signaling[J]. *Cell*, **80**: 259—279.
- Evans DE, Williams LE. 1998. P-type calcium ATPase in higher plants—biochemical, molecular and functional properties[J]. *Biochim Biophys Acta*, **1376**: 1—25.
- Franklin-Tong VE, Drobak BK, Allan AC, et al. 1996. Growth of pollen tubes of *Papaver rhoeas* is regulated by a slow-moving calcium wave propagated by inositol 1, 4, 5-trisphosphate[J]. *Plant Cell*, **8**: 1 305—1 321.
- Frohnmeyer H, Bowler C, Zhu JK, et al. 1998. Different roles for calcium and calmodulin in phytochrome- and UV-regulated expression of chalcone synthase[J]. *Plant J*, **13**: 763—772.
- Geisler M, Axelsen K, Harper JF, et al. 2000. Molecular aspects of higher plant P-type Ca-ATPases[J]. *Biochim Biophys Acta*, **51**: 433—462.
- Gilroy S, Read ND, Trewavas AJ. 1990. Elevation of cytoplasmic calcium by caged calcium or caged inositol trisphosphate initiates stomatal closure[J]. *Nature*, **346**: 769—771.
- Grabov A, Blatt MR. 1998. Membrane voltage initiates  $\text{Ca}^{2+}$  waves and potentiates  $\text{Ca}^{2+}$  increases with abscisic acid in stomatal guard cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**: 4 778—4 783.
- Harper JF, Hong B, Hwang L, et al. 1998. A novel calmodulin-regulation  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase (ACA2) from *Arabidopsis* with an N-terminal autoinhibitory domain [J]. *J Biol Chem*, **273**: 1 099—1 106.
- Hedrich R, Neher E. 1987. Cytoplasmic calcium regulates voltage dependent ion channels in plant vacuoles[J]. *Nature*, **329**: 833—836.
- Hirschi KD, Zhen RG, Cunningham KW, et al. 1996. An  $\text{H}^+$  /  $\text{Ca}^{2+}$  antiporter from *Arabidopsis*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 8 782—8 786.
- Hrabak EM, Dickmann LJ, Satterlee JS, et al. 1996. Characterization of eight new members of the calmodulin-like domain protein kinase gene family from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, **31**: 405—412.
- Huang CH, Tate BF, Crain RC, et al. 1995. Multiple phosphoinositide-specific phospholipases C in oat roots; Characterization and partial purification[J]. *Plant J*, **8**: 257—267.
- Johnson C, Knight MR, Kondo T, et al. 1995. Circadian oscillations in cytosolic and chloroplast free calcium in transgenic luminous plants[J]. *Science*, **269**: 1 863—1 866.
- Klusener B, Boheim G, Liss H, et al. 1995. Gadolinium-sensitive voltage-dependent calcium release channels in the endoplasmic reticulum of a higher plant mechanoreceptor organ [J]. *EMBO J*, **14**: 2 708—2 714.
- Knight H, Brand S, Knight MR. 1998. A history of stress alters drought calcium signaling pathways in *Arabidopsis*[J]. *Plant J*, **16**: 681—687.
- Knight H, Trewavas AJ, Knight MR. 1996. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation [J]. *Plant Cell*, **8**: 489—503.
- Knight MR, Campbell AK, Smith SM, et al. 1991. Transgenic plant aequorin reports the effects of cold shock and elicitors on cytoplasmic calcium[J]. *Nature*, **352**: 524—526.
- Kopka J, Pical C, Gray JE, et al. 1998. Molecular and enzymatic characterization of three phosphoinositide-specific phospholipase C isoforms from potato[J]. *Plant Physiol*, **116**: 239—250.
- Lee JY, Yoo BC, Harmon AC. 1998. Kinetic and calcium-binding properties of three calcium-dependent protein kinase isoenzymes from soybean[J]. *Biochemistry*, **37**: 6 801—6 809.
- Liang F, Cunningham KW, Harper JF, et al. 1997. ECA1 complements yeast mutants defective in  $\text{Ca}^{2+}$  pumps and encodes an endoplasmic reticulum-type  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94**: 8 579—8 584.
- Malmstrom S, Askerlund P, Palmgren MG. 1997. A calmodulin-stimulated  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase from plant vacuolar membranes with a putative regulatory domain at its N-terminus [J]. *FEBS Lett*, **400**: 324—328.
- McAinsh MR, Brownlee C, Hetherington AM. 1997. Calcium ions as second messengers in guard cell signal transduction [J]. *Physiol Plant*, **100**: 16—29.
- McAinsh MR, Webb AAR, Taylor JE, et al. 1995. Stimulus-induced oscillations in guard cell cytoplasmic free calcium [J]. *Plant Cell*, **7**: 1 207—1 219.
- Pineros M, Tester M. 1997. Calcium channels in plant cells: Selectivity, regulation and pharmacology[J]. *J Exp Bot*, **48**: 551—557.
- Price AH, Taylor A, Ripley SJ, et al. 1994. Oxidative signals in tobacco increase cytosolic calcium[J]. *Plant Cell*, **6**: 1 301—1 310.
- Santella L, Carafoli E. 1997. Calcium signaling in the cell nucleus[J]. *FASEB J*, **11**: 1 091—1 109.
- Satterlee JS, Sussman MR. 1998. Unusual membrane-associated protein kinases in higher plants[J]. *J Membr Biol*, **164**: 205—213.
- Schachtman DP, Kumar R, Schroeder JI, et al. 1997. Molecular and functional characterization of a novel low-affinity cation transporter (LCT1) in higher plants[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94**: 11 079—11 084.
- Schmidt C, Schelle T, Liao YJ, et al. 1995. Strong regulation of slow anion channels and abscisic acid signaling in guard cells

- by phosphorylation and transduction and dephosphorylation events[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **92**:9 535—9 539.
- Schonknecht G, Bauer CS, Simonis W. 1998. Light-dependent signal transduction and transient changes in cytosolic  $Ca^{2+}$  in a unicellular green alga[J]. *J Exp Bot*, **49**:1—11.
- Schultz-Lessdorf B, Hedrich R. 1995. Protons and calcium modulate SV-type channels in the vacuolar-lysosomal compartment-channel interaction with calmodulin inhibitors[J]. *Planta*, **197**:655—671.
- Schumaker KS, Sze H. 1986. Calcium transport into the vacuole of oat roots. Characterization of  $H^+ / Ca^{2+}$  exchange activity[J]. *J Biol Chem*, **261**: 12 172—12 178.
- Schumaker KS, Sze H. 1987. Inositol 1,4,5-trisphosphate releases  $Ca^{2+}$  from vacuolar membrane vesicles of oat roots [J]. *J Biol Chem*, **262**:3 944—3 946.
- Sheen J. 1996.  $Ca^{2+}$ -dependent protein kinases and stress signal transduction in plants[J]. *Science*, **274**:1 900—1 902.
- Staxen L, Montgomery LT, Hetherington AM, et al. 1996. Do oscillations in cytoplasmic free calcium encode the ABA signaling in stomatal guard cells? [J]. *Plant Physiol*, **111**(suppl): 151.
- Subbiah CC, Bush DS, Sachs MM. 1994. Elevation of cytosolic calcium precedes anoxic gene expression in maize suspension cultured cells[J]. *Plant Cell*, **6**:1 747—1 762.
- Takahashi K, Isobe M, Knight MR, et al. 1997. Hypo-osmotic shock induces increases in cytosolic  $Ca^{2+}$  in tobacco suspension culture cells[J]. *Plant Physiol*, **113**:587—594.
- Thion L, Mazars C, Thuleau P, et al. 1996. Activation of plasma membrane voltage-dependent calcium-permeable channels by disruption of microtubules in carrot cells [J]. *FEBS Lett*, **340**:45—50.
- Trewavas AJ, Maho R. 1998. Calcium signaling in plant cells: the big network! [J]. *Curr Opin Plant Biol*, **1**:11—21.
- Ward JM, Schroeder JI. 1994. Calcium activated K 1 channels and calcium-induced calcium release by slow vacuolar ion channels in guard cell vacuoles implicated in the control of stomatal closure[J]. *Plant Cell*, **6**:669—683.
- White PJ. 1998. Calcium channels in the plasma membrane of root cells[J]. *Ann Bot*, **81**:173—183.
- White PJ. 1994. Characterization of a voltage-dependent cation channel from the plasma membrane of rye (*Secale cereale* L.) roots in planar lipid bilayers[J]. *Planta*, **193**:186—193.
- Wimmers LE, Ewing NN, Bennett AB. 1992. Higher plant  $Ca^{2+}$ -ATPase: Primary structure and regulation of mRNA abundance by salt[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, **89**:9 205—9 209.
- Woo SK, Dahl SC, Handler JS, et al. 2000. Bidirectional regulation of tonicity-responsive enhancer binding protein in response to changes in tonicity[J]. *Am J Physiol*, **278**:1 006—1 012.
- Wu Y, Kuzma J, Marechal E, et al. 1997. Abscisic acid signaling through cyclic ADP-ribose in plants[J]. *Science*, **278**:2 126—2 130.
- Zhao Y, Kappes B, Franklin RM. 1993. Gene structure and expression of an unusual protein kinase from *Plasmodium falciparum* homologous at its carboxyl terminus with the EF hand calcium-binding proteins[J]. *J Biol Chem*, **268**:4 347—4 354.
- Zielinski RE. 1998. Calmodulin and calmodulin-binding proteins in plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **49**:697—725.
- Zimmermann S, Nürnberg T, Frachisse JM, et al. 1997. Receptor-mediated activation of a plant  $Ca^{2+}$ -permeable channel involved in pathogen defense[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94**:2 751—2 755.

(上接第 385 页 Continue from page 385)

- Pan XY(潘晓云), Cao QD(曹琴东), Wang GX(王根轩). 2002. Comparative study of the photosynthetic characteristics of *Prunus amygdalus* and *P. persica*(扁桃与桃光合作用的比较研究)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), **29**:403—407.
- Su WH(苏文华), Zhang GH(张光辉), Wang CY(王崇云). 2001. Preliminary studies on the physiological ecology of photosynthesis of *Erigeron breviscapus*(短葶飞蓬光合生理生态的初步研究)[J]. *J Yunnan Univ*(云南大学学报(自然科学版)), **23**:142—145.
- Tadashi H, Hsiao TC. 1999. Some characteristics of reduced leaf photosynthesis at midday in maize growing in the field [J]. *Field Crops Res*, **62**:53—62.
- Wei YQ(魏玉清), Xu X(许兴), Zheng GQ(郑国琦). 2002. Study on photosynthetic characteristics of main constructive plants *Cynanchum komarovii* in Maowusu sandland(毛乌素沙地牛心朴子叶片的光合特征研究)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **22**:1 365—1 371.
- Xu DQ(许大全). 1997. Some problems in stomatal limitation analysis of photosynthesis(光合作用气孔限制分析中的一些问题)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), **33**:241—244.
- Yang QE(杨亲二). 2002. Cytology of ten species in *Anemone*, one in *Anemone* and six in *Clematis*(Trib. Anemoneae, Ranunculaceae) from China(国产毛茛科银莲花族十七种植物的细胞学研究)[J]. *Acta Phytot Sin*(植物分类学报), **40**:396—405.
- Yuan YL(原雅玲), Zhao JL(赵锦丽), Xu WP(徐卫平). 1997. Anemone of morphology characteristic and introduction apply study(银莲花的形态特征及引种应用研究)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **17**(5):137—136.
- Zhang MQ(张木清), Lu JL(吕建林), Chen RK(陈如凯). 1998. Diurnal variation of photosynthetic rate in sugarcane and its responses to light and temperature(甘蔗光合速率的日变化及其对光温的响应)[J]. *J Fujian Agri Univ*(福建农业大学学报), **27**:397—401.
- Zhang SY(张树源), Wu Hai(武海), Wu Z(吴妹). 1999. Photo-inhibition of photosynthesis of plants leaves in Qinghai plateau and Shanghai plain locality(青海高原及上海平原地区植物叶片光合作用的光抑制)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **19**:56—66.