

植物 Ca^{2+} -CaM 信号系统及其调控研究进展*

张君诚^{1,2}, 孟玉环², 宋育红¹, 刘思衡², 庄伟建²

(1. 三明学院应用生物技术研究, 福建三明 365004; 2. 福建农林大学作物学院油料研究所, 福州 350002)

摘要: Ca^{2+} 信号通路是植物中信号转导已确认的主要途径。CaM(钙调蛋白)是目前已知胞内 Ca^{2+} 信号受体中最重要的一种,它参与了多种生理活动的调节。文章对钙在植物细胞中的存在形式、钙作为植物信号转导中第二信使的作用、植物钙调蛋白的结构和生理功能等问题进行了综述和探讨。

关键词: CaM(钙调蛋白); Ca^{2+} ; 信号转导; 生理; 植物

中图分类号: Q945.12

文献标识码: A

文章编号: 1672-6693(2005)04-0049-04

Research Developments of Ca^{2+} -CaM Signal System and Its Regulation in Plant

ZHANG Jun-cheng^{1,2}, MENG Yu-huan², SONG Yu-hong¹, LIU Si-heng², ZHUANG Wei-jian²

(1. Institute of Applied Biotechnology, Sanming College, Sanming Fujian 365004;

2. College of Crop Sciences, Fujian Agricultural & Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Ca^{2+} plays important roles in the plant signal transduction. CaM is the most important Ca^{2+} signal receptors in plant cells, which participating a lots of physiological regulators. In this paper, existed modes in plant cells, functions as plant Calcium signal transduction, structures and physiological functions of plant CaM are also investigated and described.

Key words: CaM; Ca^{2+} ; signal transduction; physiology; plant

生物新陈代谢及生长发育受遗传信息的调控,遗传基因决定个体发育的潜在模式,其实现程度受控于环境信息。细胞信号转导主要是研究细胞感受、转导环境刺激的分子途径及其调控的基因表达和生理反应。在细胞水平上,钙在细胞分裂、极性形成、生长、分化、凋亡等过程中均有重要的调节功能^[1,2]。 Ca^{2+} 信号通路是植物中已确认的主要信号转导途径。目前已经发现多种刺激因素,如机械刺激、低温、红光、植物激素、真菌激发子、缺氧和水分胁迫等,作用于不同的植物细胞,最初反应几乎都是首先引起胞内 Ca^{2+} 浓度变化^[3]。CaM 是目前已知胞内 Ca^{2+} 信号受体中最重要的一种,参与了多种生理活动的调节。以 Ca^{2+} 和 CaM(钙调素)为核心的钙信使系统在植物对外界信号的感受、传递和响应过程中起作用^[4,5]。

1 钙在植物细胞中的存在形式

钙在细胞中以多种形式存在。细胞中的钙(即

总钙)含量在 0.1 ~ 10 mmol/L,其可分为游离钙、结合钙和贮存钙。游离钙在细胞中以自由状态存在,含量很低,在 6 ~ 10 mmol/L 以下;结合钙和某些物质的亲和力很强,在细胞中常与其它结构成分紧密结合。这些钙不与焦磷酸钾反应,但可用 X 射线测出。贮存钙占总钙的大部分,含量在 6 ~ 10 mmol/L 以上,常位于细胞器和细胞壁中,当细胞的生理活动需要增加钙浓度时,这些暂时贮存的钙则从贮存位点释放出来,运输到细胞所需部位或个体的其他部位,因而这类钙又称为松弛结合钙。贮存钙与游离钙的区别在于量较大,常贮存在细胞的一些特定部位,它与结合钙的区别在于亲和力较弱,与碳水化合物、磷化合物等结合得不紧,可被转换成其它形式的钙或被运输到细胞其它部位。因而,贮存钙也可称为是一种松弛结合、可被交换的钙^[6]。不同形式的钙具有不同的生理功能,在组织、细胞中分布位点也不同,在一定生理条件下,这 3 种类型的钙也可互相转换^[7,8]。

* 收稿日期 2005-03-11 修回日期 2005-10-11

资助项目:国家自然科学基金(30070481);福建省三明市科技项目(2003-C-3)

作者简介:张君诚(1968-)男,福建顺昌人,副教授,博士,研究方向为植物分子生物学。

2 钙作为植物信号转导中第二信使的作用

钙作为第二信使在植物信号转导中的作用一直是植物生理学、细胞生物学和发育生物学研究的热点。实验业已证明,启动 Ca^{2+} 信使系统的中心环节是胞质中 Ca^{2+} 浓度的改变^[5]。杨弘远^[9]将研究的结果概括为以下几个要点(1)钙在植物生理活动中起广泛的作用。由各种外界与内在的信号因子(如光、温度、盐、触动、重力、辐射、激素等)所导致的植物反应,大多和钙信号转导有关。钙在细胞分裂、极性形成、生长、分化、衰老、凋亡等生命过程中均起重要的调节功能(2)胞质游离钙 $[\text{Ca}^{2+}]_c$ 的瞬间变化,是细胞响应各种刺激信号的初始事态,由此而诱发以后一系列信号转导的下游事态。 $[\text{Ca}^{2+}]_c$ 的瞬间增加有两种可能的来源:一是胞外 Ca^{2+} 通过 Ca^{2+} 通道的开启进入胞内;二是胞内钙库(如内质网、液泡等)向胞质释放出 Ca^{2+} (3)钙信号通过钙靶蛋白进行信号转导。钙调素(CaM)是迄今已证明分布最广、功能最多、分子结构高度保守的钙靶蛋白。钙靶蛋白又通过和其它靶蛋白分子(如各种蛋白激酶)结合而启动基因表达与细胞生命活动,从而构成钙信号转导复杂体系。有人将所有与信号转导有关的蛋白质整体称为 transducon,包括各种受体、通道、CaM、蛋白激酶、磷酸酶、 Ca^{2+} -ATP 酶等(4)钙信号系统中的各种分子在细胞中具有严格的分布,它们在细胞壁、质膜、胞质溶胶、细胞器、细胞骨架、细胞核等部位定位,是复杂细胞网络(cytonet)中的重要组成成分,以保证各项细胞生命活动的平衡,实现细胞结构与功能的统一^[10]。

3 植物钙调蛋白的结构和生理功能

3.1 钙调蛋白的结构

钙调蛋白(Calmodulin, CaM)作为 Ca^{2+} 的受体,是一种分布最广、功能最重要的钙依赖性调节蛋白,在 Ca^{2+} -CaM 信号传导系统中起着关键作用。1967年,美籍华人张槐耀首次在牛脑中发现了钙调蛋白,现已明确,其在真核生物中广泛存在。CaM 又称为钙调素,是由 19 种 148 个氨基酸组成的单链可溶性球蛋白,分子量约 16 700,具较好的热稳定性、酸性和保守性,其中有 1/3 是带有酸性侧链的谷氨酸和天冬氨酸,但不含胱氨酸和脯氨酸,具有 EF 和 CD 两种手型结构,在空间构型上具有很大的灵活性和化学上的稳定性,因而可供带负电荷的羧基与 Ca^{2+} 结合,产生 Ca^{2+} 结合部位。结合后分子构象发生改

变,CaM 的疏水区呈激活态,增加催化活性^[11]。

3.2 CaM 与 Ca^{2+} 的结合及钙调蛋白的作用原理

如前所述,钙调素是植物细胞中胞内 Ca^{2+} 最重要的多功能受体蛋白。钙调素自身并没有酶活性,只有其活化后进一步与其靶蛋白中的短肽序列结合,才能诱发其结构变化,从而调控植物细胞分裂、伸长、生长、发育和抗逆等。CaM 作用机理要点是: Ca^{2+} 与 CaM 结合而激活 CaM,活化了的 Ca^{2+} -CaM 再与多种酶结合从而调节酶活力,最终引起生理生化反应,继而调控植物的细胞分裂、伸长、生长、发育和抗逆等^[12,13]。

因此,同 Ca^{2+} 的结合是 CaM 活化的重要条件。普遍认为 CaM 的 4 个 Ca^{2+} 结合区中,N 端的 I、II 区为低亲和力区,C 端的 III、IV 区为高亲和力区^[14]。两个成对的结合区之间也存在协同作用。对 CaM 溶液的晶体学分析和核磁共振研究表明:CaM 分子一端的两个 Ca^{2+} 结合手型结构是相互关联的,在这两个结合区中,相互对应的结合 Ca^{2+} 的环结构的肽段之间形成了反平行的 β -片层结构,这样二者之间不可避免地表现对 Ca^{2+} 结合的协同性,即两个手型结构同时结合 Ca^{2+} 时,对 Ca^{2+} 的亲和力要大大高于单独一个手型结构对 Ca^{2+} 的亲和力。这种协同性可能和 CaM 结合 Ca^{2+} 的构象变化有关。

3.3 钙调蛋白的生理功能

CaM 生理功能的研究涉及面相当广泛,在酶活性调节、细胞分裂与分化、细胞骨架与细胞运动、光合作用、激素反应、核内酶系统及基因表达等生理过程中,都有 CaM 参与^[14]。细胞内 Ca^{2+} 浓度的变化作为一种重要的调节信号,对多种细胞代谢活动均具调控作用。细胞自由 Ca^{2+} 的分布与转移是形成 Ca^{2+} 信号的基础。当细胞接受环境刺激后,胞外钙离子的涌入和胞内钙库的释放会使胞质自由 Ca^{2+} 浓度升高,升高后的 Ca^{2+} 会启动钙信号途径,激活 CaM,CaM 会进一步激活 CaM 依赖的蛋白激酶(CaMK)或 CaM 结合蛋白(CaMBPs),蛋白激酶的活化会导致代谢的关键酶或转录因子活化,从而完成对细胞代谢活动或某些基因表达的调节^[28]。近年来关于 CaMK 和 CaMBPs 的研究也业已成为钙信号系统研究的新的热点和焦点^[30]。

Gunther 等^[15]在对光敏素调控基因表达的研究中发现了光敏素信号传导系统中 Ca^{2+} 和 CaM 的作用。他们巧妙利用细胞微注入(microinjection)技术,即用缺乏活性光敏素(PhyA)番茄突变 aurea 做受体,将小麦 cab 基因(编码 PS 的叶绿素 a/b 结合蛋白)的启动子和报告基因 GUS(编码 β -葡萄糖苷

酶)的融合基因注入,在注入燕麦 PhyA 时,可以观察到在红光照射下, aurea 植株中有 cab - GUS 基因的表达,而在瞬间红光之后给予远红光照射则 cab - GUS 不表达,这说明外源加入的 PhyA 可以在转录水平上调控 cab 基因的表达。另外,他们将 cab - GUS 基因和有 Ca^{2+} 结合的活性牛脑 CaM 注入 aurea 植株,发现活性 CaM 也可使 cab - GUS 基因表达,而且这种表达只发生在 CaM 注入的细胞中,而在临近细胞则不表达,用没有结合 Ca^{2+} 的非活性 CaM 注入细胞并不能启动 cab - GUS 基因的表达。同样用纯化的矮牵牛 CaM 也可有效地启动 cab - GUS 基因的表达。这说明 CaM 参与了光敏素调控的基因表达过程。李红兵等^[16]发现胞外 CaM 有促进白芷悬浮细胞增殖的作用,边艳青等^[17]发现外源 CaM 可促进白芷原生质体壁再生和第一次分裂。Grangwani 等^[18]发现 CaM 可激活从浮萍属植物中得到的环核苷酸磷酸二酯酶的活性,Preisig 等^[19]发现在烟草的植物抗毒素合成中也有 CaM 的参与,这些都表明了 CaM 的生理作用是一个广阔的研究领域。

Ca^{2+} -CaM 信号系统在植物有性生殖过程中同样起着特别重要的作用,在植物生理学、发育生物学、细胞生物学研究中,钙-钙调蛋白也一直是热点。钙-钙调蛋白动态研究已涉及植物雌雄配子形成^[20]、花粉管生长^[21]、生殖核分裂^[22]、藻类植物卵及合子极性建立^[23]、助细胞退化^[24]、幼胚发育中的极性分布^[25]及种子萌发^[26]等各个方面。龚明等人对 CaM 在花粉萌发中的作用进行了一系列的研究:他们从松树中纯化 CaM 并进行了序列分析,在氨基酸组成上同菠菜 CaM 有很高的同源性。用 EGTA、A23187、 W_7 、GPZ 等 Ca^{2+} 和 CaM 抑制剂研究松树花粉的萌发过程,结果表明,花粉萌发过程中 Ca^{2+} 水平的升高和降低以及 CaM 活性的抑制导致花粉细胞总脂、中性脂、极性脂、磷脂、自由脂肪酸正常代谢的抑制,并干扰正常萌发所导致的脂肪酸组成的改变,最终抑制花粉萌发和花粉管生长^[27]。他们还在利用 TFP、CPZ、 W_7 等 CaM 的抑制剂以及一种 W_7 的类似物 W_5 观察其对松树和烟草花粉萌发和花粉管生长的效应时,发现 CaM 抑制剂可以抑制花粉萌发和花粉管的生长,而外加牛脑 CaM 和玉米 CaM 可解除抑制作用,并指出外源 CaM 的作用可能和花粉(管)壁有关。王立安^[28]等利用影响钙调素与钙调素依赖蛋白激酶作用位点的抑制剂 KN - 93,研究钙信号途径参与了稻瘟病菌孢子萌发,及疏水条件下附着胞形成过程的调控情况发现:随着抑制剂浓度的增加,抑制剂对孢子萌发和附着胞形成过程的抑

制作用明显增强,同一浓度下,抑制剂对附着胞形成过程的抑制作用大于孢子萌发过程;抑制剂影响孢子萌发和附着胞形成过程在萌发早期(1~4h)最有效,在完全被抑制、不能萌发的孢子内出现了许多颗粒状囊泡;抑制剂可使附着胞形态明显变小甚至不能形成。

4 小结与展望

近年来,对钙信号的研究,包括对钙信号的产生、传导及最终靶蛋白的研究,越来越受到人们的重视。在方法上,可以利用分子生物学手段,如鉴定并克隆那些控制 Ca^{2+} 流入与流出胞质的 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ 反向转运子及 Ca^{2+} 通道的基因;或利用反向遗传学方法从拟南芥鉴定已知的 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ 反向转运子的突变体,利用这种方法已得到高等植物中第一个 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ 反向转运子的遗传突变体^[29];吕应堂等^[30]利用人工合成的钙调素基因,使其在大肠杆菌里表达,并用同位素 ^{35}S 代谢标记和亲和层析纯化 ^{35}S 标记的钙调素,筛选植物 cDNA 表达文库,在国际上首次获得编码植物钙调素结合蛋白的 cDNAs,为探索钙/钙调素介导的信号转导途径的作用机理奠定了分子基础,这一方法已被广泛用于植物钙调素结合蛋白基因的分离与鉴定。作者认为,经过类似的艰苦工作,可以逐步在细胞和分子水平上弄清楚各信号系统之间的相互关系,阐释各信号系统之间的交流如何构成了一个网络以相互协调,共同调控使细胞完成其生长发育进程及处理与外界环境的关系等问题。

参考文献:

- [1] 陈绍荣,梁述平,吕应堂. 钙和钙调素信号传导作用的分子机制 [A]. 林忠平. 走向 21 世纪的植物分子生物学 [C]. 北京: 科学出版社, 2000. 266-270.
- [2] POOVAIH A S, READY A S N. Calcium and Signal Transduction in Plants [J]. Crit Rev Plant Sci, 1993, 12: 185-211.
- [3] BUSH D S. Calcium Regulation in Plant Cell and its Role in Signaling [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio, 1995, 46: 95-122.
- [4] SNEDDEN W A, FROMM H. Calmodulin as a Versatile Calcium Signal Transducer in Plants [J]. New Phytol, 2001, 151: 35-66.
- [5] RUDD J J, FRANKLIN-TONG V E. Unravelling Response-Specificity in Ca^{2+} Signaling Pathways in Plant Cells [J]. New Phytol, 2001, 151: 7-33.
- [6] WICK S M, HELPLER P K. Selective Localization of Intra-Cellular Ca^{2+} with Potassium Antimonate [J]. J Histochem

- Cytochem ,1982 ,30 :1190-1204.
- [7] BUSH D S. Regulation of Cytosolic Calcium in Plants[J]. Plant Physiol ,1993 ,103 :7-13.
- [8] MCAINS M R ,WEBB A A R ,TAYLOR J E ,et al. Stimulus Induce Do Scillation Singuard Cell Cytosolic Free Calcium [J]. Plant Cell ,1995 ,7 :1207-1219.
- [9] 杨弘远. 钙在有花植物受精过程中的作用[J]. 植物学报 ,1999 ,41 :1 027-1 035.
- [10] 孔海燕 ,贾桂霞 ,温跃戈. 钙在植物花发育过程中的作用[J]. 植物学通报 ,2003 ,20(2) :168-177.
- [11] 孙大业. 植物细胞信号传导研究进展[J]. 植物生理学通讯 ,1996 ,32(2) :81-91.
- [12] 王朝晖 ,孙大业. 植物钙调素研究进展[J]. 植物学通报 ,1997 ,14(1) :1-7.
- [13] 刘贵山 ,陈珈. 钙依赖蛋白激酶(CDPKs)在植物钙信号转导中的作用[J]. 植物学通报 ,2003 ,20(2) :160-167.
- [14] 孙大业 ,郭艳林. 细胞信号系统[M]. 北京 :科学出版社 ,1991.
- [15] NEUHAUS G ,BOWLER C ,KERN R ,et al. Calcium/Calmodulin-dependent and Independent Phytochrome Signal Transduction Pathways[J]. Cell ,1993 ,73 :937-952.
- [16] 李红兵 ,程刚 ,孙大业. 细胞外钙调素对白芷悬浮培养细胞增殖的作用[J]. 科学通报 ,1992 ,37(19) :1 804-1 807.
- [17] 边艳青 ,孙大业. 外源钙调素对白芷原生质体再生和第一次分裂的影响[J]. 植物生理学报 ,1994 ,20(3) :293-297.
- [18] GANGWANI L ,KHURANA J P ,MAHESHWARI S C. Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase From Lemna Paucicostata :Effect of Calmodulin and Theophyllin[J]. Phytochemistry ,1994 ,35 :857-861.
- [19] PREISIG C L ,MOREAU R A. Effects of Potential Signal Transduction Antagonists on Phytoalexin Accumulation in Tobacco[J]. Phytochemistry ,1994 ,36 :857-863.
- [20] TRILAPUR U K ,VANWENT J L ,CRESTI M. Visualization of Membrane Calcium and Calmodulinin Embryo Sacs in Situ and Isolated From *Petunia hybrida* L. and *Nicotiana tabacum* L.[J]. Ann Bot ,1993 ,71 :161-167.
- [21] MAIH Q R ,READ N D ,PAIS M S. Role of Cytosolic Free Calcium in the Reorientation of Pollen Tube Growth [J]. Plant J ,1994(5) :331-341.
- [22] 范六民 ,杨弘远 ,周嫦. 外源 Ca^{2+} 对烟草花粉管生长和生殖核分裂的影响[J]. 植物学报 ,1997 ,39 :899-904.
- [23] SHAW S L ,QUATRANO R S. Polar Localization of a Dihydropyridine Receptor on Living Focus Zygotes [J]. J Cell Sci ,1996 ,109 :335-342.
- [24] CHAUBAL R ,REGER B J. Prepollination Degeneration in Nature Synergids of Pearl Millet :An Exzamination Using Fixation to Localize Calcium[J]. Sex Plant Reprod ,1993 ,6 :225-238.
- [25] 赵洁 ,周嫦 ,杨弘远. 小麦分离合子与幼胚中膜钙和钙调素的分布[J]. 植物学报 ,1998 ,40(1) :28-32.
- [26] COCUCCI M ,NEGRINI N. Calcium-calmodulin in Germination of Phacelia Tanacetifolia Seed :Effects of Light , Temperature , Fusicoccin and Calcium-calmodulin Anagonists [J]. Phsiol Plant ,1991 ,82 :143-149.
- [27] 龚明 ,杨中汉 ,曹宗巽. 钙调素对花粉萌发和花粉管生长的影响[J]. 植物生理学报(英文) ,1994 ,20(3) :240-248.
- [28] 王立安 ,王源超 ,李昌文 ,等. Ca^{2+} 信号途径参与稻瘟病菌分生孢子萌发及附着胞形成的调控[J]. 菌物系统 ,2003 ,22(3) :457-465.
- [29] 宋秀芬 ,洪剑明. 植物细胞中钙信号的时空多样性与信号转导[J]. 植物学通报 ,2001 ,18(4) :436-444.
- [30] 张蕾 ,吕应堂. 植物受体蛋白激酶的研究进展[J]. 生命科学 ,2002 ,14(2) :94-98.

(责任编辑 许文昌)