

专论与综述 Reviews

植物环核苷酸门控通道(CNGC)基因家族的结构与功能

王月, 侯和胜*

辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁大连 116029

Structure and Function of Plant Cyclic Nucleotide-gated Channel (CNGC) Gene Family

WANG Yue, HOU He-Sheng*

College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029, China

提要: 环核苷酸门控通道(CNGC)是近年来被确认的在动植物细胞中普遍存在的离子通道基因家族。文章就近年来植物中 CNGC 基因的种类、分子结构、作用机制及其在植物生长发育中的功能的研究进展作了概述。

关键词: 环核苷酸门控通道(CNGC); 离子吸收; 信号转导

生物在进化过程中, 形成了包括离子通道、离子泵和载体的复杂的营养吸收和转运系统。通过电生理学和分子生物学技术, 人们已经确定了这些转运系统的存在。而且, 有许多转运蛋白已经在基因水平上得到确认, 这些转运蛋白在行使功能时受细胞内外不同因子的调控, 因此, 遂表现出信号转导和代谢调节的作用, 在生长发育中有某些调控功能。

1985年, Fesenko 等报道, cGMP 能直接活化视网膜杆状细胞中对光依赖的通道, 即环核苷酸门控通道(cyclic nucleotide-gated channel, CNGC), 由此揭开了 CNGC 研究的序幕(王正朝等 2006)。已经证明, 动物组织和细胞中, CNGC 的特异性功能可介导视杆细胞光感受器的光转换和嗅觉神经元的嗅觉转换(董先平等 2002)。人们已经在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、大麦(*Hordeum vulgare*)、水稻(*Oryza sativa*)、玉米(*Zea mays*)等许多植物中发现了 CNGC 的存在(Talke 等 2003), 但对它们的功能还不完全清楚。

1 植物 CNGC 家族的种类和分布

植物 CNGC 离子通道是 1998 年在筛选大麦钙调素结合转运蛋白(*Hordeum vulgare* CaM-binding transporter, HvCBT1)时首次确认的(Schuurink 等 1998; Mäser 等 2001)。目前, 人们已经确定单子叶植物和双子叶植物中都存在 CNGC。在拟南芥基因组中有 20 个编码 CNGC 的基因序列, 水稻

基因组中有 16 个类似假定序列(Yuan 等 2003), 另外, 在烟草(*Nicotiana tabacum*)、菜豆(*Phaseolus vulgaris*)等植物中都发现了许多 CNGC 同源序列(Talke 等 2003), 说明植物 CNGC 离子通道基因可能是一个较大的基因家族。在 GenBank 中, 还可以通过搜索查询(BLAST queries)找到植物的 CNGC 同源序列(表 1)。

图 1 展示的是拟南芥 CNGC 基因家族成员间以及它们与部分水稻中假定的 CNGC 和烟草 CNGC 之间的亲缘关系。如图 1 所示, 根据 CNGC 序列中的 2 个功能结构域, 比较所有序列的结果表明, CNGC 主要分成 4 个亚群(I、II、III、IV), 其中, I、II、III 亲缘关系很近, 而且各组成员之间也比较近; 第 IV 亚群与其他亚群的关系较远, 它又分为 IV A 组和 IV B 组 2 个亚组, 这 2 个亚组中成员间的距离也相对较远。

水稻基因组序列草图中包含许多与 AtCNGC 有同源性的序列, 拟南芥的 CNGC 系统发育中的亚群分区也适合于水稻, 说明这 5 个 CNGC 亚群在植物进化区分为单子叶植物和双子叶植物之前可能就已经形成。另外, 众多不同植物中存在的

收稿 2006-10-13 修定 2006-12-26

资助 国家自然科学基金(30671439)。

*通讯作者(E-mail: hesheng-hou@126.com; Tel: 0411-84259112)。

表1 部分植物中的CNGC相关生物学信息(Mäser等2001; Talke等2003)

物种	蛋白名称	基因代码	基因登陆号	蛋白登陆号	别称	肽链长度 (氨基酸数目)	内含子
拟南芥	CNGC1	At5g53130	NM_124692	NP_200125	MFH8.6	716	7
	CNGC2	At5g15410	NM_121545	NP_197045	DND1	726	7
	CNGC3	At2g46430	NM_130207	NP_566075	F11C10.12	706	7
	CNGC4	At5g54250	NM_180857	NP_851188	DND2 (HLM1)	694	7
	CNGC5	At5g57940	NM_125179	NP_200602	MT120.20	717	7
	CNGC6	At2g23980	NM_127960	NP_200602	T29E15.8	747	7
	CNGC7	At1g15990	NM_101467	NP_173051	T24D18.9	709	4
	CNGC8	At1g19780	NM_101834	NP_173408	F14P1.12	728	4
	CNGC9	At4g30560	NM_119202	NP_194785	F17I23.100	733	5
	CNGC10	At1g01340	NM_100016	NP_563625	ACBK (F6F3.1)	706	6
	CNGC11	At2g46440	NM_130208	NP_182167	F11C10.13	621	7
	CNGC12	At2g46450	NM_180123	NP_850454	F11C10.14	636	7
	CNGC13	At4g01010	NM_116329	NP_192010	F3I3.1	696	6
	CNGC14	At2g24610	NM_179725	NP_850056	F25P17.9	726	6
	CNGC15	At2g28260	NM_128386	NP_180393	T3B23.70	678	5
	CNGC16	At3g48010	NM_114670	NP_190384	T17F15.120	705	6
	CNGC17	At4g30360	NM_119182	NP_194765	F17I23.300	720	5
	CNGC18	At5g14870	NM_121491	NP_196991	T9L3.170	706	5
	CNGC19	At3g17690	NM_112650	NP_188396	CNBT2 (MKP6.6)	743	9
	CNGC20	At3g17700	NM_112651	NP_566585	CNBT1 (MKP6.2)	764	10
烟草	NtCBP4	—	AF079872	AAF33670	—	708	—
	NtCBP7	—	AF079871	AAF33669	—	702	—
水稻*	—	—	—	AAK16188	—	782	—
	—	—	—	BAB92547**	—	673	—
菜豆	PvCNGC-A	—	AF492816	AAN65364	—	373	—
	PvCNGC-B	—	AF492817	AAN65365	—	106	—
	PvCNGC-C	—	AF492818	AAN65366	—	566	—

* 假定的; ** 不再继续使用。

CNGC 说明它们在植物生理过程中的重要性, 均属于同一亚群, 但来自不同植物的 CNGC 可能具有相似的生理功能。

2 植物 CNGC 的分子结构及作用机制

2.1 植物 CNGC 的分子结构

植物 CNGC 属于多基因编码的离子通道超家族成员, 与 Shaker 型钾离子电压门控通道的分子结构有很高的相似性 (Bridges 等 2005)。植物 CNGC 结构包括 6 个跨膜区 (S1~S6)、S5 和 S6 之间的孔区 (P loop) 及 C 端的钙调素结合域 (calmodulin binding domain, CaMBD) 和环核苷酸结合域 (cyclic nucleotide binding domain, CNBD) (图 2)。其中, 跨膜区 S4 带有 1 个正电荷, 是电压门控通道中的电压传感器 (Kaupp 和 Seifert 2002), 但当 CNGC 通道处于开放状态时, S4 却是被锁定的。在 S5 和 S6 之间是包含 20~30 个氨基酸的离子传导孔区, 即 P 结

构域, 也称之为 P 环, 它是 CNGC 通道的离子选择过滤器。但与 Shaker 通道不同, CNGC 的 P 结构域没有 K⁺ 高度选择性基序, 即带有 K⁺ 高度选择通道标志的酪氨酸-甘氨酸-天冬氨酸/谷氨酸基序 (Flynn 等 2001)。如图 2 所示, 动植物的 CNGC 的 N 末端和 C 末端都延伸进入到细胞质中, 除了 CaMBD 的位置不同以外, 其他基本相同。其中, CNBD 在多肽的 C 末端, 由 3 个 α 螺旋 (α A、 α B、 α C) 和 2 个 β 折叠 (β 1 和 β 2) 构成, β 1 和 β 2 组成的片层结构位于 α A 和 α B 之间。动物 CNGC 的 CaMBD 位于多肽的 N 末端的上游, 而 CaMBD 在植物 CNGC 中则位于 C 末端, 在被截短的 CNBD 的 α C 螺旋的开头。因此, 植物 CNBD 是一个重叠结合域, 它既参与环核苷酸的结合, 又参与钙调蛋白的结合。

从进化的角度看, 目前, 人们仅在动植物的

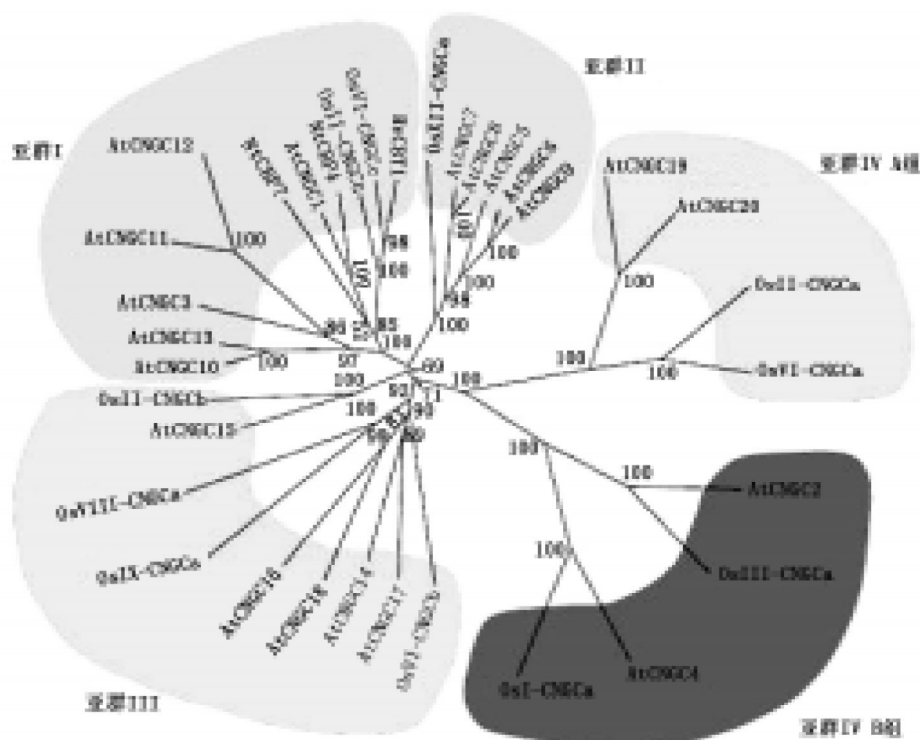


图1 植物CNGC转运蛋白系统树(Talke等2003)

拟南芥 CNGC 的名称是根据帕斯卡命名法命名的。水稻的假定 CNGC 的名称是根据它们所在染色体的名称进行的初步命名。图中 At 为拟南芥, Os 为水稻, Nt 为烟草, HvCBT1 为小麦钙调素结合转运蛋白。水稻 CNGC 中, a、b、c 表示在同一条染色体上的不同的 CNGC。

多种细胞组织中鉴别出 CNBD 转运蛋白或离子通道, 而已知序列的单细胞真菌类则缺乏此类通道蛋白。因为植物是在动物和真菌进化区分之前进化形成的, 这说明, 或是单细胞真菌已经失去了 CNGC 通道基因, 或是植物和动物的 CNGC 是各自独立进化的, 二者有不同的功能。

很早就认为哺乳动物的功能性 CNGC 是异四聚体复合物(heterotetramer), 有6个不同基因编码动物 CNGC 蛋白, 分别是4个A亚单位(A1~A4)和2个B亚单位(B1、B3), 动物 CNGC 蛋白是由这2种亚单位组成的异四聚体复合物(Kaup和Seifert 2002)。生化分析也证明, 牛视杆细胞(bovine rod)中 CNGC 是由3A1:1B1组成(Zhong等2002), 以及嗅觉神经元中的 CNGC 是由2A2:1A4:1B1组成的等。植物 CNGC 也可能是异四聚体复合物, 但目前还不知道有哪些亚单位可能组合在一起, 而共同形成功能通道, 且对植物 CNGC 是否编码A或B亚单位还尚不清楚。植物中有庞大的 CNGC 基因家族存在, 这为证明异源多聚体通道存在多

样性、高度功能多样性以及专一性的说法提供了依据。

2.2 植物CNGC的作用机制 作为膜上的非选择性配体阳离子门控通道, 植物中的 CNGC 是信号转导级联系统(signal transduction cascades)的组成部分。通过这种级联反应, 它们将细胞外部信号转变为能够跨过细胞膜的阳离子流对细胞起作用(Zagotta和Siegelbaum 1996; Flynn等2001)。动物 CNGC 分布于化学感受器和光感受器中, 参与膜外信号的转换。例如, 当气味分子与化学感受器中的G蛋白耦联型受体结合时, 可激活腺苷酸环化酶, 产生cAMP, 开启cAMP门控阳离子通道(cAMP-gated cation channel), 引起钠离子内流, 膜去极化, 产生神经冲动, 最终形成嗅觉或味觉。植物 CNGC 能够直接被激活, 也可以通过与环核苷酸(cAMP/cGMP)的可逆性结合被激活, 但其门控作用主要依赖于cAMP和cGMP的存在(Leng等1999, Balague等2003), 同时受Ca²⁺调控。环核苷酸信号的产生和消退则依赖于腺嘌

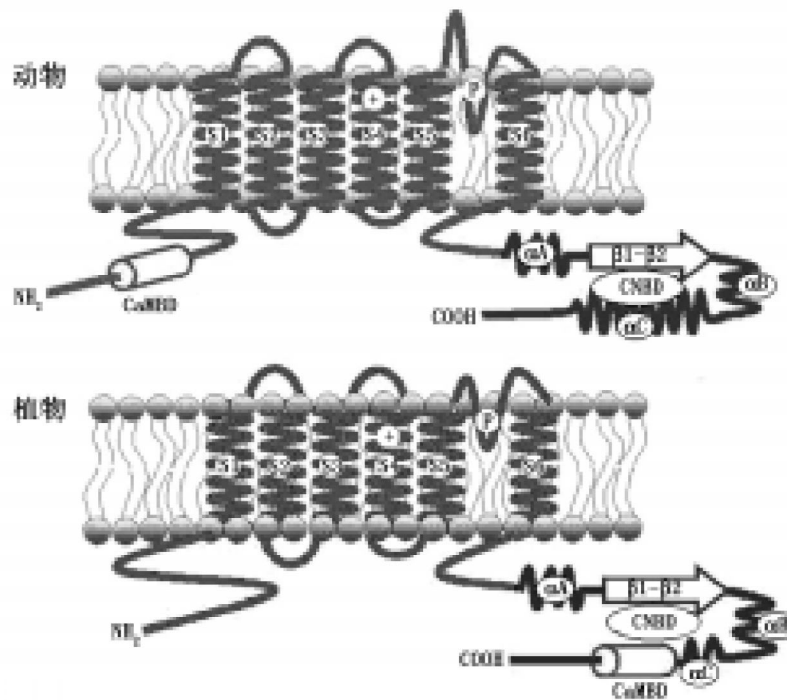


图2 动植物CNGC的膜拓扑结构示意图(Hua等2003)

呤环化酶和鸟嘌呤环化酶(adenylyl and guanylyl cyclases), 以及能将环核苷酸水解为ATP和GTP的磷酸二酯酶(phosphodiesterase) (Trewavas等2002)。当环核苷酸与通道蛋白结合时就会诱导蛋白发生构像变化, 促使其P区域发生旋转, 接着通道大门打开, 从而促进阳离子的跨膜移动。

植物的CNBD是一个重叠结合域, 因此CaM与植物CNGC的结合就会干扰CNGC与环核苷酸的结合, 进而影响通道的激活(Arazi等2000), 这也意味着由CaM调节的植物CNGC与动物CNGC具有不同的调节机制(Varnum和Zagotta 1997; Trudeau和Zagotta 2002)。作为胞质的第二信使, CaM、环核苷酸和 Ca^{2+} 可与CNGC相互发生作用, 并且能以一种整合的形式控制离子通过此种植物离子通道(图3)。当CNGC与环核苷酸结合被激活后, 通道打开, 胞外 Ca^{2+} 内流。胞内 Ca^{2+} 的增多, 一方面会导致 Ca^{2+} 依赖蛋白激酶(calcium-dependent protein kinases, CDPKs)的激活, 进而引起下游靶蛋白的磷酸化; 另一方面受 Ca^{2+} 激活的钙调蛋白会与CNGC结合, 阻止CNGC与环核苷酸的结合, 通道活性受抑制, 从而限制 Ca^{2+} 的进一步内流。这种反馈机制有效调控了 Ca^{2+} 信号的

转导, 而这种功能上的相互作用主要依赖于胞质中自由 Ca^{2+} 的含量。Hua等(2003)报道, 当胞质中的 Ca^{2+} 含量增加时, 在不另加CaM的情况下, 通道的cAMP活性就会受到抑制。因此认为CNGC是连接环核苷酸与 Ca^{2+} 信号转导之间的纽带。

3 植物CNGC的主要功能

植物CNGC家族成员的数量众多, 这说明它们的生理功能可能会有很大的差异。近年来, 应用各种植物的不同CNGC核苷酸编码序列在蛙卵母细胞、动物细胞以及适当的酵母突变体中的表达, 为对众多的植物离子通道的研究提供了很大的帮助。但由于CNGC在这些异源系统中的功能性表达经常出现顽拗现象(recalcitrance), 因此用这种方式对植物CNGC通道特性的鉴定受到了一定的阻碍(Mercier等2004; Ali等2006)。随着生物技术的不断发展和新表达体系的发现, 近年来对植物CNGC的研究主要围绕以下方面展开。

3.1 CNGC与植物细胞的离子转运 CNGC对离子的选择性比较低, 动物CNGC可以非选择性地转导 Na^+ 、 Ca^{2+} 和 K^+ (Kramer和Molokanova 2001; Bridges等2005; Flynn等2001), 但植物CNGC在某些方面显然与动物不同。例如, 对于 Na^+ 来

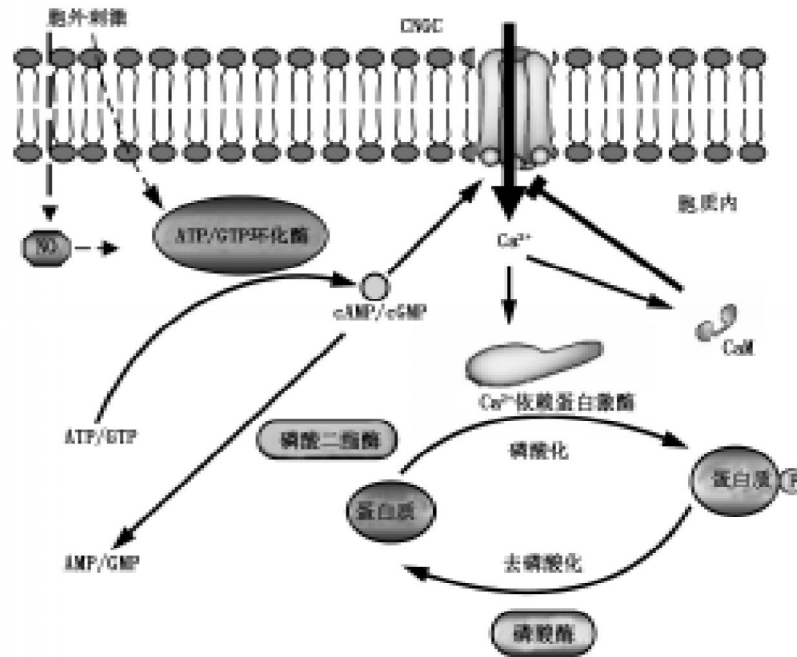


图3 植物CNGC对环核苷酸和Ca²⁺信号转导的整合和作用模式(Talke等2003)

说,并不是所有的CNGC都能自由地转导,CNGC2对Na⁺就有排斥性(Leng等2002;Hua等2003;Balague等2003)。有研究指出,cAMP和cGMP在植物气孔的开放中起作用,并发现在气孔运动过程中出现环核苷酸信号转导和Ca²⁺和K⁺离子流。在蚕豆(*Vicia faba*)保卫细胞原生质体的电生理学实验中,发现cAMP可抵消由脱落酸或Ca²⁺诱导的整个细胞对K⁺离子流内流的抑制(Jin和Wu 1999)。植物生长素诱导的鸭趾草(*Commelina communis*),其气孔开放可以通过提高cGMP和Ca²⁺水平进行调节(Cousson和Vavasseur 1998;Cousson 2001)。此外,还有人指出,cAMP和cGMP参与细胞分裂素调节的气孔开放(Pharmawati等2001)。但这些实验并没有完全说明环核苷酸是如何影响离子流动的。

通过植物CNGC在爪蟾卵母细胞中的异源系统功能性表达,Leng等(1999,2002)采用双电极电压膜片钳技术,在表达AtCNGC2、AtCNGC1和NtCBP4的卵母细胞中观察到cAMP诱导的内向整流阳离子流。AtCNGC2显示出对K⁺通透性要远远高于Na⁺,说明它是K⁺选择性通道。采用全细胞膜片钳技术记录AtCNGC2在人胚胎肾脏细胞(human embryonic kidney, HEK)中的表达也得到

了相似的结果。在HEK细胞系统中,当细胞外Mg²⁺浓度增加时,由AtCNGC2调节的胞内Ca²⁺的增加就会受到阻碍。AtCNGC4在爪蟾卵母细胞中的功能性表达,显示出它对K⁺和Na⁺的透性基本相同(Balague等2003)。但电生理学研究表明,AtCNGC1和AtCNGC2是内向整流形式(即可使K⁺流入细胞)的电压依赖型,而AtCNGC4则不是。Sunkar等(2000)在研究烟草NtCBP4时,发现其过量表达会导致烟草对Pb²⁺产生过敏反应,而删掉部分胞质C端(删掉部分CaMBD和CNBD)的NtCBP4蛋白表达,会导致转基因植物表现出很高的耐Pb²⁺性(Sunkar等2000),说明NtCBP4对Pb²⁺具有透性。然而,一些动物Ca²⁺通道却显示出有限的Pb²⁺透性,这说明NtCBP4对Ca²⁺有透性,可能与Ca²⁺的运输有关。NtCBP4与AtCNGC1的基因序列具有很高的同源性,说明AtCNGC1与NtCBP4可能是负责Pb²⁺进入植物细胞的转运途径中的组成部分。

从CNGC在异源系统中的表达和NtCBP4在植物中的过量表达得到的数据,说明植物CNGC对一价和二价阳离子有透性。另外,CNGC孔区选择性滤器的氨基酸组成与其他离子通道不同,这就不能排除CNGC对其他阳离子[如NH₄⁺或过渡金

属元素(transition metal)]也有透性的可能性,对此仍需进一步研究验证。

3.2 CNGC与植物病原体防御应答 为了对病原体的侵袭做出应答,植物必须具备复杂的信号转导及防御机制以保护自身。其中最有效、最直接的抗性反应就是过敏反应(hypersensitive response, HR)。已经证实, Ca^{2+} 、 K^+ 和环核苷酸在植物防御应答的早期信号转导中起一定的作用。例如,在法国豆(*Phaseolus vulgaris*)细胞中,抵抗细菌的活性氧类物质的产生就需要 cAMP 和 Ca^{2+} 的存在(Bindschedler等2001);而在烟草细胞悬浮培养液中, cAMP 能诱导防御基因的表达(Durner 等1998)。Clough 等(2000)在对拟南芥突变体 *Atcngc2-1/dnd1* (defence no death)进行定位时发现, AtCNGC2 参与植物细胞死亡过程。此种突变体的基因突变是由于 *AtCNGC2* 基因中的一个碱基由 G 变为 A 而在基因内部产生新的终止密码子位点,从而导致植物不能在病原体侵染时产生超敏反应。另一个是通过将含有 42 个碱基的 T-DNA 插入到第 4 个内含子中而形成突变基因的 *AtCNGC2* 突变体 *Atcngc2-2*, 也像 *dnd1* 一样对病原体的感染不发生过敏反应(Clough 等 2000; Balague 等 2003)。T-DNA 插入 *AtCNGC4* 基因获得的突变体 *hlm1* (hypersensitive-response-like lesionmimic 1)对病原体感染也表现出具保卫而不致死的功能(defence no death), 故也称 *dnd2* (Balague 等 2003)。因此在突变体中, 具有功能的 CNGC 的丢失就会在一定程度上妨碍环核苷酸的信号转导和离子的流动, 以致这些早期的信号反应受到干扰, 导致下游的抗性反应持续处于激活状态。这些都证明 CNGC2 和 CNGC4 与植物病原体抗性反应有关。但是 CNGC2 与 CNGC4 在对一些化学物质信号的转导和对病原体的防御应答也表现出不同的特点。虽然 *dnd1* 和 *hlm1* 都表现为过敏反应丧失, 但 *dnd1* 表现出的是完整的基因对病原体的抗性(Talke 等 2003), 而 *hlm1* 只对某些病原体表现出抗性。AtCNGC2 在叶子中基本上表达并且可以通过感染而受到抑制; 而 AtCNGC4 则是通过感染诱导才进行表达的(Kohler 等 2001; Balague 等 2003)。Yoshioka 等(2006)的研究表明, CNGC11 和 CNGC12 也参与植物对抗病信号的转导, 从而证

明它们的生理功能可能是参与植物病原体防御应答。

3.3 CNGC与植物的生长发育和逆境胁迫 CNGC2 和 CNGC4 除了参与植物的病原体防御应答的信号转导外, 还对植物的生长发育起一定的作用。Chan 等(2003)研究 2 个拟南芥 CNGC2 突变株 (*Atcngc2-1*和*Atcngc2-2*)与野生型受到各种不同离子胁迫的结果表明, 突变株仅对 Ca^{2+} 有显著的敏感性, 在 Ca^{2+} 胁迫的条件下, 突变体和野生型植株生长受阻的差异最为明显, 并且还观察到, 当生长环境中的 Ca^{2+} 浓度增加时, 突变体植株的繁殖能力也大大下降。

Ali等(2006)将酵母 K^+ 吸收缺失突变体(*trk1, 2*)、大肠杆菌 K^+ 吸收缺失突变体(LB650)以及酵母 Ca^{2+} 吸收突变体 *mid1* 和 *cch1*, 应用于鉴定拟南芥 CNGC 的功能中, 并以之确定影响植物 CNGC 在异源系统中的功能的培养和生理条件。他们的实验表明, AtCNGC1 可在 LB650 中表达, 这证明没有内源 CaM 的大肠杆菌突变体也能用于植物 CNGC 的功能鉴定。AtCNGC2 和 AtCNGC4 的表达可增强 *trk1, 2* 抗潮霉素的能力和促进突变体在有潮霉素存在条件下的生长, 而 AtCNGC1 则缺少这种功能。在外部 K^+ 浓度很低的情况下, 删除 AtCNGC1 中的 CaMBD 可促进 *trk1, 2* 的生长, 但对 LB650 则没有效果, 说明酵母的 CaM 可以与这种植物离子通道结合并对其有负调节作用。绿色荧光蛋白和 AtCNGC1 的融合蛋白在缺少 AtCNGC1 通道的异源体系统中表达的 Northern 分析结果证明, 在有活性的 cAMP 配体存在时, 被删除掉 CaMBD 的 AtCNGC1 的表达可提高 *trk1, 2* 的细胞内 K^+ 的含量。这项实验首次证明, 删除掉 CaMBD 的植物 CNGC 仍然能够保留它离子通道的功能, 酵母的 CaM 能与其结合并可能对它进行负调节。

Li 等(2005)将从拟南芥中分离出来的 *AtCNGC10* 基因分别转入到 LB650、CY162 和 *akt1-1* 中进行功能性表达的结果显示, AtCNGC10 对广谱 K^+ 通道阻断剂四乙铵表现出非敏感性, 并且缺少典型的 K^+ 信号基序。将正义的 35S-*AtCNGC10* 基因转入到缺少 AtCNGC10 的 K^+ 吸收功能的拟南芥 *akt1-1* 突变体后, 在有限的 K^+ 条件下, 突变体生长状况比以前好很多, 其生长率是未转入

AtCNGC10 突变株同期生长率的 1.7 倍。CaM 和 *AtCNGC10* 在大肠杆菌中的共表达显示 Ca^{2+}/CaM 可抑制细胞生长。然而, 对 *AtCNGC10* 依赖的类型中 cGMP 可以通过 Ca^{2+}/CaM 反转这种抑制。在大肠杆菌中的表达证明 *AtCNGC10* 没有耐 Cs^+ 性, 但在转基因 *AtCNGC10* 的酵母 K^+ 吸收突变体中, 当 K^+ 浓度很低时, 却表现出很高的 Na^+ 和 Cs^+ 耐性。在 K^+ 浓度相同的生长条件下, 反义 *AtCNGC10* 的转基因拟南芥对 K^+ 的吸收量是哥伦比亚野生型的一半。这些证明 *CNGC10* 在植物中有调节 K^+ 吸收的功能。

最近, Gobert 等(2006)通过对 T-DNA 插入拟南芥 *CNGC3* 基因的不同位点而获得的 3 个独立突变系 (*Atcngc3-1*、*Atcngc3-2*、*Atcngc3-3*) 的实验验证了非选择性离子通道 *CNGC3* 在植物生长发育中的生理功能。主要包括以下几点: (1) 对这 3 株突变系和野生型的种子分别进行 Na^+ 、 K^+ 和 NH_4^+ 的盐胁迫时, 只有在 Na^+ 浓度增加的情况下, 突变体和野生型的种子萌发率差异最为明显。说明 *AtCNGC3* 在种子萌发时对 Na^+ 胁迫有一定的抵御作用, 而与 K^+ 和 NH_4^+ 等阳离子无关。(2) 分别用不同的阳离子对 3 株突变体和野生型的幼株进行胁迫时, 只有在 Na^+ 和 K^+ 的浓度增加的情况下, 突变体生长明显好于野生型植株。这说明 *AtCNGC3* 在细胞中可能参与对 Na^+ 和 K^+ 离子的吸收和转运。(3) 分析突变株中离子含量和组成的结果表明, 培养基中 K^+ 浓度增加时, 突变体中的 K^+ 积累量远远少于野生型, 其他离子含量则没有明显差别。但 *AtCNGC3* 对 Na^+ 离子流的控制只是短时间的。说明 *AtCNGC3* 参与植物的离子吸收是有限度的。(4) *AtCNGC3* 在酵母不同阳离子缺失突变体系中表达, 进一步证明它是转运 Na^+ 和 K^+ 的离子通道, 而对 Ca^{2+} 的吸收运输作用很小。(5) *GUS-AtCNGC3* 融合基因在转基因拟南芥中的表达显示, *AtCNGC3* 主要在种子的胚芽、根部的表皮和皮层中高度表达; 在中柱中没有; 幼苗中表达很少; 在叶子生长发育的过程中, 其表达量逐渐增加, 并广泛地分布在维管束周围。(6) *AtCNGC3* 定位于细胞膜上; *AtCNGC3* 几乎没有改变植物向地性和抵抗病原体侵袭的能力, 它很少参与重金属离子的吸收和转运。

4 结语

综上所述, 作为膜上的非选择性配体阳离子门控通道, 植物 *CNGC* 对植物细胞的离子转运、植物病原体防御应答、植物的生长发育以及抗胁迫性都有作用。虽然这方面的研究已取得了很大的进步, 但由于它们在异源系统中的功能表达受到一定的阻碍, 因此对众多植物 *CNGC* 的具体功能特性了解和认识还不很清楚。至于植物 *CNGC* 家族成员之间是如何相互作用和调节植物对各种离子吸收转运的, 以及其对病原体防御应答的调节也知之甚少。这些都是植物 *CNGC* 家族研究的方向。

参考文献

- 董先平, 智刚, 徐天乐(2002). 钙调素参与离子通道和受体功能的调控. 自然科学进展, 12: 232~239
- 王正朝, 黄瑞华, 潘玲梅, 李学斌, 石放雄(2006). 环核苷酸门控离子通道的结构、功能及活性调节. 中国生物化学与分子生物学报, 22 (4): 282~288
- Ali R, Zielinski RE, Berkowitz GA (2006). Expression of plant cyclic nucleotide-gated cation channels in yeast. J Exp Bot, 57: 125~138
- Arazi T, Kaplan B, Fromm H (2000). A high-affinity calmodulin-binding site in a tobacco plasma-membrane channel protein coincides with a characteristic element of cyclic nucleotide-binding domains. Plant Mol Biol, 42 (4): 591~601
- Balague C, Lin BQ, Alcon C, Flottes G, Malmstrom S, Kohler C, Neuhaus G, Pelletier G, Gaymard F, Roby D (2003). HLM1, an essential signaling component in the hypersensitive response, is a member of the cyclic nucleotide-gated channel ion channel family. Plant Cell, 15: 365~379
- Bindschedler LV, Minibayeva F, Gardner SL, Gerrish C, Davies DR, Bolwell GP (2001). Early signalling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca^{2+} . New Phytologist, 151: 185~194
- Bridges D, Fraser ME, Moorhead GBG (2005). Cyclic nucleotide binding proteins in the *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* genomes. BMC Bioinformatics, 6:6 doi:10.1186/1471-2105-6-6
- Chan CWM, Schorrak LM, Smith RK Jr, Bent AF, Sussman MR (2003). A cyclic nucleotide-gated ion channel, *CNGC2*, is crucial for plant development and adaptation to calcium stress. Plant Physiol, 132: 728~731
- Clough SJ, Fengler KA, Yu IC, Lippok B, Smith RK Jr, Bent AF (2000). The *Arabidopsis dnd1* "defense, no death" gene encodes a mutated cyclic nucleotide-gated ion channel. Proc Natl Acad Sci USA, 97: 9323~9328
- Cousson A (2001). Pharmacological evidence for the implication of both cyclic GMP-dependent and -independent transduction pathways within auxin-induced stomatal opening in *Commelina communis* L. Plant Sci, 161: 249~258

- Cousson A, Vavasseur A (1998). Putative involvement of cytosolic Ca^{2+} and GTP-binding proteins in cyclic-GMP-mediated induction of stomatal opening by auxin in *Commelina communis* L. *Planta*, 206: 308~314
- Durner J, Wendehenne D, Klessig DF (1998). Defence gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 10328~10333
- Flynn GE, Johnson JP, Zagotta WN (2001). Cyclic nucleotide-gated channels: shedding light on the opening of a channel pore. *Nat Rev Neurosci*, 2 (9): 643~652
- Gobert A, Park G, Amtmann A, Sanders D, Maathuis FJM (2006). *Arabidopsis thaliana* Cyclic Nucleotide Gated Channel 3 forms a non-selective ion transporter involved in germination and cation transport. *J Exp Bot*, 57: 791~800
- Hua BG, Mercier RW, Leng Q, Berkowitz GA (2003). Plants do it differently. A new basis for potassium/sodium selectivity in the pore of an ion channel. *Plant Physiol*, 132: 1353~1361
- Jin X-C, Wu W-H (1999). Involvement of cyclic AMP in ABA- and Ca^{2+} -mediated signal transduction of stomatal regulation in *Vicia faba*. *Plant Cell Physiol*, 40: 1127~1133
- Kaupp UB, Seifert R (2002). Cyclic nucleotide-gated ion channels. *Physiol Rev*, 82 (3): 769~824
- Kohler C, Merkle T, Roby D, Neuhaus G (2001). Developmentally regulated expression of a cyclic nucleotide-gated ion channel from *Arabidopsis* indicates its involvement in programmed cell death. *Planta*, 213 (3): 327~332
- Kramer RH, Molokanova E (2001). Modulation of cyclic-nucleotide-gated channels and regulation of vertebrate phototransduction. *J Exp Biol*, 204: 2921~2931
- Leng Q, Mercier RW, Hua BG, Fromm H, Berkowitz GA (2002). Electrophysiological analysis of cloned cyclic nucleotide-gated ion channels. *Plant Physiol*, 128: 400~410
- Leng Q, Mercier RW, Yao WZ, Berkowitz GA (1999). Cloning and first functional characterization of a plant cyclic nucleotide gated cation channel. *Plant Physiol*, 121 (3): 753~761
- Li XL, Borsics T, Harrington HM, Christopher DA (2005). *Arabidopsis* AtCNGC10 rescues potassium channel mutants of *E. coli*, yeast and *Arabidopsis* and is regulated by calcium/calmodulin and cyclic GMP in *E. coli*. *Funct Plant Biol*, 32: 643~653
- Mäser P, Thomine S, Schroeder JI, Ward JM, Hirschi K, Sze H, Talke IN, Amtmann A, Maathuis FJM, Sanders D et al (2001). Phylogenetic relationships within cation transporter families of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 126 (4): 1646~1667
- Mercier RW, Rabinowitz NM, Ali R, Gaxiola RA, Berkowitz GA (2004). Yeast hygromycin sensitivity as a functional assay of cyclic nucleotide gated cation channels. *Plant Physiol Biochem*, 42: 529~536
- Pharmawati M, Maryani MM, Nikolakopoulos T, Gehring C, Irving HR (2001). Cyclic GMP modulates stomatal opening induced by natriuretic peptides and immunoreactive analogues. *Plant Physiol Biochem*, 39: 385~394
- Schuurink RC, Shartz SF, Fath A, Jones RL (1998). Characterization of a calmodulin-binding transporter from the plasma membrane of barley aleurone. *Plant Biol*, 95 (4): 1944~1949
- Sunkar R, Kaplan B, Bouché N, Arazi T, Dolev D, Talke IN, Maathuis FJM, Sanders D, Bouchez D, Fromm H (2000). Expression of a truncated tobacco *NtCBP4* channel in transgenic plants and disruption of the homologous *Arabidopsis* *CNGC1* gene confer Pb^{2+} tolerance. *Plant J*, 24 (4): 533~542
- Talke IN, Blaudez D, Maathuis FJM, Sanders D (2003). CNGCs: prime targets of plant cyclic nucleotide signalling? *Trends Plant Sci*, 8 (6): 286~293
- Trewavas AJ, Rodrigues C, Rato C, Malhó R (2002). Cyclic nucleotides: the current dilemma! *Curr Opin Plant Biol*, 5: 425~429
- Trudeau MC, Zagotta WN (2002). Mechanism of calcium/calmodulin inhibition of rod cyclic nucleotide-gated channels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99 (2): 8424~8429
- Varnum MD, Zagotta WN (1997). Interdomain interactions underlying activation of cyclic nucleotide-gated channels. *Science*, 278: 110~113
- Yoshioka K, Moeder W, Kang H-G, Kachroo P, Masmoudi K, Berkowitz G, Klessig DF (2006). The chimeric *Arabidopsis* CYCLIC NUCLEOTIDE-GATED ION CHANNEL11/12 activates multiple pathogen resistance responses. *Plant Cell*, 18: 747~763
- Yuan Q, Ouyang S, Liu J, Suh B, Cheung F, Sultana R, Lee D, Quackenbush J, Buell CR (2003). The TIGR rice genome annotation resource: annotating the rice genome and creating resources for plant biologists. *Nucleic Acids Res*, 31 (1): 229~233
- Zagotta WN, Siegelbaum SA (1996). Structure and function of cyclic nucleotide-gated channels. *Annu Rev Neurosci*, 19: 235~263
- Zhong H, Molday LL, Molday RS, Yau KW (2002). The heteromeric cyclic nucleotide-gated channel adopts a 3A:1B stoichiometry. *Nature*, 420: 193~198