

植物细胞 cAMP 信使系统

姜晶*

沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161

cAMP Messenger System in Plant Cells

JIANG Jing*

College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China

提要 介绍了作为原核和真核细胞中第二信使的环化单磷酸腺苷(cAMP)信使系统的组成成分及其在植物中的调节作用(包括对离子通道、细胞生长、逆境胁迫, 尤其是植物抗病中的调节功能)的研究进展。

关键词 cAMP; 植物细胞

虽然早已确认 cAMP 是动物细胞中的第二信使, 但对植物细胞中是否也有 cAMP 信使途径一直存有争论。cAMP 作为第二信使并能引起相应的反应在植物细胞中是否普遍存在, 主要有两方面标准: 一是细胞内是否存在 cAMP 信使系统所含有的成分(包括 cAMP 本身、cAMP 合成降解酶系统以及 cAMP 的靶蛋白); 二是外界刺激能否引起胞内 cAMP 浓度变化, 这种变化能否产生相应的生理反应(Assmann 1995)。自 Spiteri 等(1989)用放射免疫分析法测定体内 cAMP 含量之后, 不断有新而准确的检测方法(如酶免疫分析法、液相色谱分析法、快原子轰击质谱法)出现和采用, 近几年来, 由于基因克隆和电生理等技术的应用, 植物细胞中 cAMP 的研究取得了快速进展。

1 植物 cAMP 信使系统的组成

1.1 腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase, AC) AC 是合成 cAMP 的关键酶类。目前主要用组织化学和生物化学方法测定植物组织 AC 的活性来判断植物细胞内是否存在 cAMP 信使系统。组织化学法常用标准的 Wachstein-Meisel 法, 即以 ATP 作为 AC 的底物, 后用电子显微镜检测 ATP 形成 cAMP 过程中释放出的 PPi 与铅或铈形成电子致密沉淀物的多少来代表 AC 活性。用这种方法已分别在玉米 (*Zea mays* L.) 根尖的质膜、内质网及核膜, 豌豆 (*Pisum sativum* L.) 胞质液泡的内膜、质膜外侧上测到 AC 活性。生化方法则是利用放射性标记前体如 ATP 或 5'-三磷酸亚酰胺腺苷, 计算合成具放射性标记的 cAMP 的含量来代表 AC 活性。用这一

方法在苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 根中已发现具有胞质可溶性 AC 酶活性, 其活性依赖于 Ca/CaM (Carricarte 等 1988)。在蓖麻 (*Ricinus communis* L.) 根中检测到可沉积性 AC 酶活性, 其活性受 G 蛋白调控, 以 NaF 和 Mn²⁺ 为辅助因子(Lusini 等 1991)。用快速原子轰击-质谱法(fast atom bombardment-mass spectrum, FAS-MS)在豌豆根中测到 AC 活性, 除了发现其活性对 GTP 有依赖性外, 还发现其有变构动力学的特点(Pacini 等 1993)。AC 反应速度与底物浓度关系呈 S 型曲线, 即低浓度 GTP (100 nmol·L⁻¹) 可激活 AC, 而高浓度 GTP (110 μmol·L⁻¹) 则抑制 AC 活性。因此推测: 低浓度 GTP 可能是 AC 变构的激活因子, 而高浓度 GTP 则是底物 ATP 的竞争剂, 可抑制 AC 活性。

在基因水平上的玉米 AC 克隆推动了植物 cAMP 的研究。人们已从玉米花粉中得到了与真菌 AC 同源的 cDNA 克隆, 将该 cDNA 克隆转化到大肠杆菌 AC 缺陷型菌株 *cyaA* 中, 可引起内源 cAMP 含量增加, 并且由 cAMP 缺陷引起的糖发酵缺陷的分解代谢功能也得到恢复; 同时还证明, cAMP 在花粉管生长和花粉管重新定向生长中起第二信使的作用(Moutinho 等 2001)。这些结果为植物中有 cAMP 存在提供了直接的实验证据。

收稿 2005-09-09 修定 2006-01-10

资助 国家自然科学基金项目(39930010)和辽宁省教育厅科学研究技术计划项目(05L412)。

*E-mail: jiangjingcau@163.com, Tel: 024-88487143

在模式植物拟南芥基因库的序列查询中, 也发现有类似酵母 AC 的克隆序列。

1.2 磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDE) cAMP 的降解主要由 PDE 完成。目前, 在豌豆、番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.)、大豆 (*Glycine max* L.) 的愈伤组织、燕麦 (*Avena fatua* L.) 苗、菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 苗以及4种药用植物菖蒲 (*Acorus calamus* L.)、红豆蔻 (*Alpinia galangal* L.)、葫芦茶 (*Desmodium triquetrum* L.)、葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 中均发现 PDE 的活性。亚细胞水平定位研究发现植物细胞中 PDE 活性也存在多种类型。如菠菜 (*Spinacia oleacea* L.) 中发现存在于叶绿体和存在于叶绿体外微粒体中两种截然不同的 PDE 活性: 前者最适 pH 为 6.1, 对 3',5'-cGMP 的活性高于 3',5'-cAMP, 以 5'-环核苷酸为主要产物, 受甲基黄嘌呤抑制; 后者最适 pH 为 4.9, 对 2',3'-环核苷酸活性高于 3',5'-环核苷酸的活性 (Brown 等 1980)。Kurosaki 和 Kaburaki (1995) 在胡萝卜 (*Daucus carota* L.) 细胞培养中检测到两种类型的 PDE 酶活性, 包括组成型的 PDE 酶活性和对钙调素敏感型的 PDE 酶活性。另外, 有人在水合 4% 聚乙烯乙二醇和 7.5% 葡聚糖两相系统中可以检测到具有很高的 PDE 酶活性, 并且主要发生在底层的葡聚糖相中 (Ilieva 等 2001)。Genschik 等 (1997) 从拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* L.) 中克隆并鉴定了一个 PDE, 但该酶只能水解 2',3'-环化磷酸核苷。Hofmann 等 (2002) 也得到此酶的蛋白晶体。但迄今还没有在植物中获得只催化 3',5'-cAMP 的 PDE 的分子生物学证据。

1.3 cAMP 下游作用元件 cAMP 下游作用靶分子的研究对确定植物 cAMP 的生理作用来说很重要。在真核生物中, cAMP 的功能主要是由依赖 cAMP 的蛋白激酶对目标蛋白的磷酸化实现的。但近来又有实验证明 cAMP 可以直接作用于离子通道 (Zufall 等 1994)。目前, 植物细胞中的研究主要集中在对依赖 cAMP 蛋白激酶的查寻上。迄今为止, 虽然尚未从植物组织中纯化出 cAMP 依赖的蛋白激酶 A (cAMP-dependent protein kinase A, PKA), 但在多种植物的提取物中证明依赖于 cAMP 磷酸化作用是存在的, 如浮萍 (*Lemna minor*

L.)、玉米、椰子 (*Cocos nucifera* L.) 和水稻 (*Oryza sativa* L.) 等。现已在几种植物中发现有类似动物 PKA 的调节亚基 (即 cAMP 的结合蛋白) 和催化亚基。而且近年来报道的几个植物蛋白激酶基因与动物中 PKA 和蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 催化亚基高度同源。如 Lawton 等 (1989)、Biermann 等 (1990)、Hayashida 等 (1993)、Lin 等 (1991) 分别从豌豆、菜豆、水稻、玉米中克隆到类似 PKA 的催化亚基。尽管如此, 但植物细胞中 cAMP 的结合蛋白能否如动物 PKA 调节亚基生理功能那样去调节某些植物细胞蛋白激酶, 并且在植物中与动物 PKA 序列同源的基因产物能否在植物体内真正发挥某些生理作用等尚不清楚, 还需进一步查证。另外, 虽然植物与动物 PKA 的催化亚基相似, cAMP 能激活 PKA 的催化亚基, 但并不能完成调节亚基的抑制作用, 所以植物体内可能还需其他酶的协助功能完成 PKA 的调节功能。

动物细胞中, cAMP 可直接影响基因的表达。在许多 cAMP 诱导的基因的启动子区都存在一个回文结构的序列单元: 5' TGACGTCA 3'。这种 cAMP 响应元件 (cAMP response element, CRE) 是典型的增强子结构, 可由细胞核内的 CREB/ATF (CREB/activating transcription factor) 所识别 (Montminy 等 1986)。但在植物细胞中 CREB 的作用模式还不清楚。Inamdar 等 (1991) 首先在高等植物豌豆、大豆、花椰菜 (*Brassica oleracea* L.) 和小麦 (*Triticum aestivum* L.) 等高等植物中检测到了 CREB 的存在。稍后, 这一研究小组又从蚕豆 (*Vicia faba* L.) 中分离得到了 CREB 的 cDNA 克隆, 查明它们在序列和生化性质上都与动物 CREB 极为相似 (Ehrlich 等 1992)。

人们在研究受 cAMP 调控的植物生理过程中发现, 植物 cAMP 的生理功能并不一定通过磷酸化蛋白才能表现出来, 如 cAMP 可以调节 K⁺ 通道活性。拟南芥中两种 K⁺ 通道 KAT1 和 AKT1 不仅在蛋白结构上与果蝇的 Eag 通道有一定的相似性, 而且其基因序列还与环核苷酸调控通道有很高的同源性 (Guy 等 1991)。Eag (ether-à-go-go) 基因编码一个电压门控的 K⁺ 通道, 该通道蛋白与 CNGCs

(cyclic nucleotide-gated channels)具有同源性,受内源 cAMP 调控(Brüggenmann 等 1993)。Kurosaki (1997)的研究结果为 cAMP 直接调控 K^+ 通道的观点提供了更为直接的实验证据:他们发现,用双丁酰 cAMP (dibutyryl-cAMP, db-cAMP)或是 AC 激活剂毛喉素 (forskolin, FK)处理胡萝卜细胞,会引起胞外 K^+ 浓度的快速降低,这一作用可以为 K^+ 通道阻遏剂抑制;而由 cAMP 引起的胞内钙的增加,也会为 K^+ 通道阻遏剂抑制。这些证据表明, K^+ 通道在 cAMP 与 Ca^{2+} 的互作 (cross-talk) 中起作用,胞内 cAMP 浓度增加引起外向 K^+ 电流增加,从而激活依赖电压的 Ca^{2+} 通道的激活,于是胞内 Ca^{2+} 浓度增加。

植物细胞中还可能存在一类受环核苷酸调控的离子通道 CNGCs, 该通道对离子的选择性比较低,能够转运 Na^+ 、 K^+ 或 Ca^{2+} 。目前,一些研究者已分别从大麦 (*Hordeum vulgare* L.) 糊粉层质膜 (Schoorink 等 1998)、烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 原生质体膜 (Arazi 等 2000) 和拟南芥 (Leng 等 1999; Kohler 等 1999) 中检测到对 cAMP 和 cGMP 响应并且受钙调控的 CNGCs。其中拟南芥的 CNGCs 包含 6 个可能的跨膜区,在跨膜的 S5 和 S6 之间有孔道形成区,在胞质的 C 端一个 CN 结合位点与钙调素结合区相互有重叠 (Kohler 和 Neuhaus 2000)。这样, CNGCs 将 Ca^{2+} 和 cAMP 信号途经联系在一起,继而能进行对话 (cross-talk)。

2 植物细胞中 cAMP 的生理功能

尽管植物细胞中 cAMP 信号系统的某些成分在基因水平上尚未分离、克隆,但研究表明 cAMP 具有多种生理功能。与 cAMP 相关的生理功能的相继发现,为植物细胞中存在 cAMP 信号途径积累了越来越多的实验证据。

2.1 调控离子通道 离子通道是 cAMP 作用的下游靶分子, cAMP 对离子通道的调节是其介导某些生理调节功能的一种普遍方式,在细胞信号传递过程中占有极其重要的位置。在植物细胞中, cAMP 既可直接调控通道活性 (见 1.3 小节),又可通过磷酸化作用间接调控离子通道的活性。Li 等 (1994) 首次报道了 cAMP 对蚕豆叶肉细胞外向 K^+ 通道活性有促进作用。外向 K^+ 电流的增大与 cAMP

剂量呈正相关,并且对 cAMP 专一,而对 AMP、cGMP 和 GMP 不敏感。PKA 的抑制剂 PKI 和 Rp-cAMP 均可抑制 cAMP 对叶肉细胞外向 K^+ 通道的促进作用。同时,动物 PKA 的催化亚基在无 cAMP 存在时,也能使蚕豆叶肉细胞的 K^+ 电流增大。这说明叶肉细胞中外向通道活性不仅受 cAMP 调节,而且 cAMP 是通过磷酸化发挥这种调节作用的。另外, Jin 和 Wu (1999) 报道,增加胞内 cAMP 浓度可明显逆转由 ABA 和 Ca^{2+} 对内向钾通道的抑制作用。最近, Maathuis 和 Sanders (2001) 从拟南芥根中鉴定出了一种不依赖电压的非选择性阳离子通道,该通道的开放几率可为胞质侧的环核苷酸 (如 cAMP) 抑制;培养介质中加入可跨膜的 cAMP 会减少细胞对 Na^+ 的吸收,在表型特征上可观察到植物更加抗盐。Zhang 等 (2001) 报道,在小麦耐铝品系和铝敏感品系中 Al^{3+} 能够抑制顶端细胞中的外向 K^+ 通道,但在胞内溶液中含有 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 cAMP 时,耐铝品系中 Al^{3+} 即能重新激活外向 K^+ 通道,而对铝敏感品系则不能重新激活外向 K^+ 通道。这些结果说明激活外向阳离子通道需要 cAMP 的存在。

Kurosaki 和 Nishi (1993) 在胡萝卜悬浮细胞中观察到, cAMP 可引起胞内 Ca^{2+} 升高,进而引起 Ca^{2+}/CaM 的级联反应。胡萝卜悬浮细胞中,植保素合成是由胞内升高的 cAMP 介导的,它通过调控 Ca^{2+} 通道,改变胞内 Ca^{2+} 浓度,进而启动对 Ca^{2+}/CaM 依赖的磷酸化反应。Volotovskii 等 (1998) 用水母发光蛋白测定胞质自由钙时,发现第二信使 (cAMP 或 cGMP) 可介导烟草原生质体胞内钙浓度的升高,而且在有无胞外 Ca^{2+} ($1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 存在的情况下,外加 cAMP 或 cGMP 均使胞内 Ca^{2+} 浓度升高,说明胞内 Ca^{2+} 的升高源于内源钙的释放和外源钙的内流两种途径。加入 AC 的激活剂 FK 和 PDE 的抑制剂 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤 (isobutylmethylxanthine, IBMX) 后引起内源 cAMP 含量增加, Ca^{2+} 也随之升高。但 Ca^{2+} 通道的抑制剂异博定的加入能够抑制上述反应。可见,无论是外源还是内源 cAMP 都可作用质膜或胞内钙库膜通道,导致胞内 Ca^{2+} 浓度升高。

2.2 参与植物细胞生长 Legender 等 (1997) 用酶免

疫分析法(enzyme immuno assay, RIA)直接测定cAMP含量,发现百合花组织中不同部位的cAMP含量不同,柱头和花柱含量最高,子房和花药中少些,花丝、花瓣处更少,而且cAMP含量也与生理状态有关。授粉时,柱头中cAMP很高,而在绿色花蕾期间几乎检测不到cAMP;在种子和胚中cAMP都低于检测极限[$0.5 \text{ pmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)]。但在授粉30 min后,在花柱上端1 cm处,cAMP减少50%,这可能是自花授粉后花粉管生长受抑制的原因所在。用FK处理后,花粉管抑制作用可逆转。cAMP可促进自交不亲和花粉管正常伸长及花粉管生长的重新定向(Moutinho等2001; Tezuka等1993; Malhó等2000)。将cAMP涂在切开的雌蕊花柱道中,在柱头萌发过程中花粉不接触外源cAMP,只有萌发的花粉伸长到一定程度时才可接触到外源药物。杂交花粉萌发24 h后,花粉管仍生长,大约可持续96 h。而自交花粉萌发20 h后,花粉管即停止生长,48 h后测其花粉管长度最长的仅35 mm;此时外加cAMP后,花粉管的伸长可接近杂交花粉管的生长水平。FK ($1 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、IBMX ($10 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理的结果与此类似,这些结果间接证明了cAMP合成和分解酶系统的存在。Moutinho等(2001)发现,在花粉管一侧滴加可跨膜的db-cAMP,能使胞内cAMP浓度由静息水平的100 nm上升到 $220\sim 300 \text{ nm}$,并且还会吸引花粉管向浓度更高的一侧弯曲。另外,cAMP还可调节植物的细胞周期。Ehsan等(1998)发现,cAMP的起伏变化与烟草BY-2细胞的细胞周期进程有关。cAMP的浓度峰值出现在细胞周期的S期,直到 G_1 期cAMP含量都在很低的水平。这说明cAMP在细胞的生长周期中起作用。

2.3 参与逆境胁迫的信号转导 在盐胁迫环境下,cAMP可调节细胞渗透物质的合成。Maathuis和Sanders(2001)发现,在培养介质中加入可跨膜的cAMP后,拟南芥更加抗盐。其原因可能是cAMP抑制了植物非选择性阳离子通道对 Na^+ 的吸收之果。小麦耐铝品系中外加cAMP可以激活外向阳离子通道,从而降低铝对小麦的毒害(Zhang等2001)。

2.4 参与植物抗病 越来越多的研究表明,

在植物与病原菌互作中cAMP起调控作用。植物细胞在受到病原菌侵染并组织防御反应过程中,常常伴随有胞内cAMP水平的升高(Bolwell 1992; Kurosaki等1993; Cooke等1994; Jiang等2005)。植物在抵抗病原真菌和细菌入侵时,大多是通过超敏性反应和系统性获得抗性两种途径实现的。Oguni等(1976)首先在甘薯中报道了cAMP可激活细胞防御反应中植保素的合成。后来在胡萝卜中也有相似报道,并且AC的激活剂霍乱毒素和FK均可激活植保素的合成(Kurosaki和Nishi 1993)。Jiang等(2005)在拟南芥抵抗黄萎病毒素的实验中也证明毒素可以诱导植物内源cAMP水平的增加,并且植物内源cAMP还会影响内源水杨酸的水平,进而调控植物的抗病性。Cooke等(1994)用病原激发子和db-cAMP均可激活苜蓿幼苗中苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)产生抗毒素,同时发现经病原激发子处理后的苜蓿细胞中内源cAMP明显增加。活性氧是植物抵抗病原物的一种快速反应产物,Bindschedler等(2001)报道,在病原激发子存在时加入AC的激活剂或可跨膜的db-cAMP均可促进菜豆细胞活性氧的生成,而 Ca^{2+} 通道抑制剂异博定和钙调素拮抗剂 W_7 则可抑制活性氧的产生,并且消除了由db-cAMP引起的活性氧增加的效应。

以上表明,cAMP参与了植物抗性反应的产生,但在这一过程中,cAMP是如何引发植物抗毒素合成的还不明确。AC对 Ca^{2+} 水平的敏感性以及cAMP对离子通道的调控作用,均暗示cAMP的作用部分是通过AC/cAMP和phosphoinositide/ Ca^{2+} 途径的对话起作用的(Carricarte等1988)。虽然在胡萝卜细胞中没有检测到明显的对cAMP响应的蛋白激酶活性,但是当经可跨膜的db-cAMP和FK处理后,胞内 Ca^{2+} 浓度和依赖钙调素的激酶活性可被快速激活。根据这些结果可以推测,激发子所诱导的cAMP增加可引起 Ca^{2+} 内流, Ca^{2+} 再进一步激活激酶的活性(Kurosaki 1997; Kurosaki和Nishi 1993; Chandra和Low 1997)。

CNGCs是动物中普遍存在的一类环核苷酸门控的非选择性阳离子通道。目前,已在拟南芥中克隆并鉴定了CNGCs基因家族(Leng等1999)。将其与动物阳离子通道的序列相似性比较,

AtCNGCs 可允许 Ca^{2+} 、 K^+ 及其他离子通过。Clough等(2000)在对拟南芥突变体 *dnd1* (defence, no death) 进行定位时发现, 拟南芥环核苷酸门控离子通道(AtCNGC2)参与植物细胞死亡过程。该突变体的基因突变是由于 *AtCNGC2* 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假单胞杆菌侵染时产生超敏反应, 但是植物仍能表现组成性的系统抗性反应和水杨酸含量增高。植物对病原菌的早期防御反应包括 K^+ 、 H^+ 、 Cl^- , 尤其是 Ca^{2+} 的跨膜离子流动(Blumwald等1998), 而 *AtCNGC2* 突变很可能是这些早期的信号反应受到干扰, 以致下游的抗性反应持续处于激活状态。在植物对病原菌激发子的反应中, 曾有过 cAMP 快速增加的报道(Cooke等1994; Jiang等2005); 而在细胞衰老过程中, *AtCNGC2* 表达量是增加的(Kohler等2001)。这些证据说明 cAMP 可能是通过改变离子流动而在植物内对病原菌的生理反应中起作用的。

3 结语

综上所述, cAMP 在植物细胞中的作用是明显的, 如细胞生长和细胞的防卫反应等, 但今后对于 cAMP 的功能还需进行广泛而系统的研究。除了检测生理过程中 cAMP 和 cAMP 相关酶活性的波动变化之外, 还需对 cAMP 响应的蛋白激酶、结合蛋白和它们的靶目标继续进行研究。其它如结合高压冷冻技术和分子蒸馏法, 用质谱、生化分析和免疫细胞方法检测 cAMP 和 cAMP 结合位点的亚细胞定位, 并用细胞化学分析方法对 AC 酶进行定位; 采用分子生物学技术分析编码 AC 和 PDE 的基因结构; 用反义或 RNA 干扰(RNAi)技术抑制这些酶控制的 cAMP 瞬间升高变化; 同时用 cAMP 类似物调控激酶或 cAMP 结合位点的活性等。

参考文献

- Arazi T, Kaplan B, Fromm H (2000). A high affinity calmodulin-binding site in tobacco plasma membrane channel protein coincides with a characteristic element of cyclic nucleotide binding domains. *Plant Mol Biol*, 42: 591~601
- Assmann SM (1995). Cyclic AMP as second messenger in higher plants. *Plant Physiol*, 108: 885~889
- Biermann B, Johnson EM, Feldman LJ (1990). Characterization and distribution of a maize cDNA encoding a peptide similar to the catalytic region of second messenger dependent protein kinases. *Plant Physiol*, 94: 1609~1615
- 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 Phytol*, 151: 185~194
- Blumwald E, Aharon GS, Lam BCH (1998). Early signal transduction pathways in plant-pathogen interactions. *Trends Plant Sci*, 3: 342~346
- Bolwell GP (1992). A role of phosphorylation in the down-regulation of phenylalanine ammonia lyase in suspension-cultured cells of French bean. *Phytochemistry*, 31: 4081~4086
- Brown EG, Edwards MJ, Newton RP, Smith CJ (1980). The cyclic nucleotide phosphodiesterases of spinach chloroplasts and microsomes. *Phytochemistry*, 19: 23~30
- Brüggenmann A, Pardo L, Stühmer W, Pongs O (1993). *Ether-à-go-go* encodes a voltage-gated channel permeable to K^+ and Ca^{2+} and modulated by cAMP. *Nature*, 365: 445~448
- Carricarte VC, Bianchini GM, Muschiatti JP, Téllez-Iñón MT, Peticari A, Torres T, Flawiá MM (1988). Adenylate cyclase activity in a higher plant, alfalfa (*Medicago sativa*). *Biochem J*, 249: 807~811
- Chandra S, Low PS (1997). Measurement of Ca^{2+} fluxes during elicitation of the oxidative burst in aequorin transformed tobacco cells. *J Biol Chem*, 272: 28274~28280
- Clough SJ, Fengler KA, Yu IC, Lippok B, Smith RKJ, 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
- Cooke CJ, Smith CJ, Walton TJ, Newton RP (1994). Evidence that cyclic AMP is involved in the hypersensitive response of *Medicago sativa* to a fungal elicitor. *Phytochemistry*, 35: 899~995
- Ehrlich KC, Cary JW, Ehrlich M (1992). A broad bean cDNA clone encoding a DNA-binding protein resembling mammalian CREB in its sequence specificity and DNA methylation sensitivity. *Gene*, 117: 169~178
- Ehsan H, Reichheld JP, Roef L, Witters E, Lardon F, Van Bockstaele D, Van Montagu M, Inzé D, Van Onckelen H (1998). Effect of indomethacin on cell cycle dependent cyclic AMP fluxes in tobacco BY-2 cells. *FEBS Lett*, 442: 165~169
- Genschik P, Hall J, Filipowicz W (1997). Cloning and characterization of the *Arabidopsis* cyclic phosphodiesterase which hydrolyzes ADP-ribose 1',2'-cyclic phosphate and nucleoside 2',3'-cyclic phosphates. *J Biol Chem*, 272: 13211~13219
- Guy HR, Durrell SR, Warmke J, Drysdale R, Ganetzky B (1991). Similarities in amino acid sequences of *Drosophila eag* and cyclic-nucleotide gated channels. *Science*, 254: 730
- Hayashida N, Mizoguchi T, Shinozaki K (1993). Cloning and characterization of a plant gene encoding a protein kinase. *Gene*, 124: 251~255
- Hofmann A, Grella M, Botos I, Filipowicz W, Wlodawer A (2002). Crystal structures of the semireduced and inhibitor-bound

- forms of cyclic nucleotide phosphodiesterase from *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 277: 1419~1425
- Ilieva M, Pavlov A, Bacalova A (2001). Phosphodiesterase production in an aqueous two-phase system by *Nicotiana tabacum* 1507. *Appl Biochem Biotechnol-Part A Enzyme Engineer Biotechnol*, 90: 261~272
- Inamdar NM, Ehrlich KC, Ehrlich M (1991). CpG methylation inhibits binding of several sequences specific DNA-binding proteins from pea, wheat, soybean and cauliflower. *Plant Mol Biol*, 17: 111~123
- Jiang J, Fan LW, Wu WH (2005). Evidences for involvement of endogenous cAMP in *Arabidopsis* defense responses to *Verticillium* toxins. *Cell Res*, 15: 585~592
- Jin XC, Wu WH (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
- Kohler C, Merkle T, Neuhaus G (1999). Characterization of a novel gene family of putative cyclic nucleotide and calmodulin regulated ion channels in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 18: 97~104
- 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: 327~332
- Kohler C, Neuhaus G (2000). Characterisation of calmodulin binding to a cyclic nucleotide gated ion channels from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 471: 133~136
- Kurosaki F (1997). Role of inward K^+ channel located at carrot plasma membrane in signal cross-talking of cAMP with Ca^{2+} cascade. *FEBS Lett*, 408: 115~119
- Kurosaki F, Kaburaki H (1995). Phosphodiesterase isoenzymes in extracts of cultured carrot. *Phytochemistry*, 40: 685~689
- Kurosaki F, Kaburaki H, Nishi A (1993). Synthesis and degradation of cyclic AMP in cultured carrot cells treated with FK. *Arch Biochem Biophys*, 303: 177~179
- Kurosaki F, Nishi A (1993). Stimulation of calcium influx and calcium cascade by cyclic AMP in cultured carrot cells. *Arch Biochem Biophys*, 302: 144~151
- Lawton MA, Yamamoto RT, Hanks SK, Lamb CJ (1989). Molecular cloning of plant transcripts encoding protein kinase homologs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86: 3140~3144
- Legender L, Derckel JP, Wriese F, Correze C, Audran JC, Haye B, Lambert B (1997). Evidence for the existence of cAMP in lily plant flower tissues. *Phytochemistry*, 44: 769~774
- Leng Q, Mercier RW, Yao W, Berkowitz GA (1999). Cloning and first functional characterization of a plant cyclic nucleotide-gated cation channel. *Plant Physiol*, 121: 753~761
- Li W, Luan S, Schreiber SL, Assmann SM (1994). Cyclic AMP stimulated K^+ channel activity in mesophyll cells of *Vicia faba*. *Plant Physiol*, 106: 957~961
- Lin X, Feng XH, Watson JC (1991). Differential accumulation of transcripts encoding protein kinase homologs in greening pea seedlings. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88: 6951~6955
- Lusini P, Trabalzini L, Franchi GG, Bovalini L, Martelli P (1991). Adenylate cyclase in roots of *Ricinus communis*: stimulation by GTP and Mn^{2+} . *Phytochemistry*, 30: 109~111
- Maathuis FJM, Sanders D (2001). Sodium uptake in *Arabidopsis* roots is regulated by cyclic nucleotides. *Plant Physiol*, 127: 1617~1625
- Malh6R, Camacho L, Moutinho A (2000). Signaling pathways in pollen tube growth and reorientation. *Ann Bot*, 85 (suppl A): 59~68
- Montminy MR, Sevarino KA, Wagner JA, Mandel G, Goodman RH (1986). Identification of cAMP responsive element within the rat somatostatin gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 83: 6682~6686
- Moutinho A, Hussey PJ, Trewavas AJ, Malh6R (2001). cAMP acts as a second messenger in pollen tube growth and reorientation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 10481~10486
- Oguni I, Suzuki K, Uritani I (1976). Terpenoid induction in sweet potato roots by adenosine 3',5'-cyclic monophosphate. *Agr Biol Chem*, 40: 1251~1252
- Pacini B, Petrigliano A, Diffley P, Paffetti A, Brown EG (1993). Adenylyl cyclase activity in roots of *Pisum sativum*. *Phytochemistry*, 34: 899~903
- Schuurink RC, Shartzler SF, Fath A, Jones RL (1998). Characterization of a calmodulin binding transporter from the plasma membrane of barley aleurone. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 1944~1949
- Spiteri A, Viratelle OM, Raymond P, Rancillac M, Labouesse J, Pradet A (1989). Artefactual origins of cyclic AMP in higher plant tissues. *Plant Physiol*, 91: 624~628
- Tezuka T, Hiratsuka S, Takahashi SY (1993). Promotion of the growth of self-incompatible pollen tubes in lily by cAMP. *Plant Cell Physiol*, 34: 955~958
- Volotovskii ID, Sokolovsky SG, Molchan OV, Knight MR (1998). Second messengers mediate increases in cytosolic calcium in tobacco protoplasts. *Plant Physiol*, 117: 1023~1030
- Zhang WH, Ryan PR, Tyerman SD (2001). Malate permeable channels and cation channels activated by aluminium in the apical cells of wheat roots. *Plant Physiol*, 125: 1459~1472
- Zufall F, Firestein S, Sheperd GM (1994). Cyclic nucleotide gated ion channels and sensory transduction in olfactory receptor neurons. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 23: 577~607