

专论与综述 Reviews

植物的钙调素亚型

刘曼 毛国红* 孙大业

河北师范大学生命科学学院分子细胞生物学研究室, 石家庄 050016

Calmodulin Isoforms in Plants

LIU Man, MAO Guo-Hong*, SUN Da-Ye

Institute of Molecular Cell Biology, College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016

提要 钙调素是一种高度保守的多功能 Ca^{2+} 结合蛋白, 在 Ca^{2+} 信号转导途径中处于中心环节。近年来的研究表明, CaM 亚型在植物中普遍存在, 不同的 CaM 亚型与靶蛋白相互作用, 它们的表达特性和生物学功能存在差异。该文介绍了植物 CaM 亚型的研究现状和进展。

关键词 钙调素亚型; 基因表达; 靶酶; 生物学功能

钙调素 (calmodulin, CaM) 是一种高度保守的多功能 Ca^{2+} 结合蛋白, 在介导 Ca^{2+} 信号转导途径中有重要作用。目前已经发现 CaM 存在于所有已被研究过的真核生物之中, 来自于不同物种 CaM 的氨基酸组成和序列有高度相似性, 参与许多钙依赖性的生理反应过程。CaM 晶体结构研究的结果表明, CaM 分子的 N 端和 C 端为两个球形结构域, 中间通过一段 α 螺旋相连。每个球形区含有一对 EF-手型 Ca^{2+} 结合结构域, 1 个 CaM 分子可以结合 4 个 Ca^{2+} 。 Ca^{2+} 与 CaM 结合后形成的 Ca^{2+} -CaM 复合体可引起 CaM 的构象变化, 暴露出球形区带负电荷的疏水性表面, 并在 CaM 与靶蛋白相互作用中起作用^[1, 2]。

脊椎动物中有多种 CaM 基因, 但它们编码的 CaM 蛋白具有完全一致的氨基酸序列, 而在植物中发现的多种 CaM 基因, 它们编码相同或相似的蛋白, 这些蛋白都具有 EF-手型 Ca^{2+} 结合结构域, 都能够与 Ca^{2+} 结合, 因此将这些 CaM 及其相似蛋白称为 CaM 亚型 (isoform)^[3, 4]。这些 CaM 亚型在植物生长发育过程中以及对不同刺激信号的反应性中的基因表达状况不同。CaM 亚型的氨基酸组成变化可能使其与不同的靶蛋白相互作用, 从而完成不同的生物学功能。植物中多种 CaM 亚型的存在进一步增强了 Ca^{2+} 信号介导的信号网络的多样性和复杂性。

1 植物 CaM 亚型的存在

到目前为止, 在不同植物中已分别克隆到多

种 CaM 基因, 植物体中广泛存在 CaM 多基因家族已是不容置疑的事实。拟南芥中 CaM 亚型是最早得到克隆的, 目前至少已经克隆到 9 个 CaM 基因^[5-8]; 马铃薯^[9]、大豆^[10]、小麦^[11]中分别分离鉴定了 8、5、10 个 CaM 基因。另外, 在玉米^[12]、豌豆^[13]等中都克隆到了不同的 CaM 多基因家族。其中, 以马铃薯和大豆的植物 CaM 多基因研究较为深入。

Takezawa 等^[9]分析马铃薯中 8 个 CaM 基因 (*PCM1~8*) 的结构表明, *PCM1*、5、7 和 8 与通常的 CaM 基因一样, 均含有 2 个外显子及 1 个内含子 (1.5~2.7 kb); 而 *PCM2*、3、4 和 6 则没有第一个外显子。比较 8 种基因的编码区表明, 这些基因序列高度保守, 而在 5' 和 3' 非编码区则存在很大的差异。从比较根据基因推断出的蛋白序列来看, *PCM5*、6、7、8 的序列完全相同, 且和拟南芥的 *ACaM-2* 以及大麦 *CaM-1* 编码的蛋白十分相似; *PCM-1* 则含有特殊的氨基酸序列, 特别是在第四个 Ca^{2+} 结合区的氨基酸序列与其它几种不同, 但与鸡 CaM 的第四个 Ca^{2+} 结合区完全相

收稿 2004-07-13 修定 2004-11-02

资助 国家自然科学基金 (30170476)、国家重点基础研究发展规划 (G1999011700) 及河北省教育厅博士基金 (B2004116)。

* 通讯作者 (E-mail: guohong.mao@163.com, Tel: 0311-5820649)。

同。Lee 等^[10]用水稻的 CaM 基因为探针, 从四龄的大豆黄化苗下胚轴组织制备的 cDNA 文库中克隆到 5 个 CaM 的 cDNA (*SCaM1~5*), 比较推断的氨基酸序列表明(图 1), *SCaM-1*、*SCaM-3* 编码相同的氨基酸序列; *SCaM-1*、*SCaM-2* 编码蛋白在 N 端相差 2 个氨基酸; *SCaM-4*、*SCaM-1* 编码氨基酸相差 32 个; *SCaM-5*、*SCaM-1* 编码氨基酸相差 33 个; *SCaM-5*、*SCaM-4* 编码氨基酸相差 15 个。可见 *SCaM-4* 和 *SCaM-5* 编码的蛋白和 *SCaM-1* 编码蛋白相比具有很大的差异。

	* * * * *	39
<i>SCaM-1,3</i>	ADQLTDEQISEFKEAFSLFDKDGDCITTKELGTVMRSLSL	
<i>SCaM-2</i>	-----D--A-----	
<i>SCaM-4</i>	-I--SE--VD-----G-----VE--A--I--	
<i>SCaM-5</i>	-V--SE--I--G-----VD-FV--I--	
Bovine	-----E--A-----N-T-----	
	* * * * *	75
<i>SCaM-1,3</i>	GONPTEAELQDMINEVDADGNGTIDFFPEFLNLMARK	
<i>SCaM-2</i>	-----	
<i>SCaM-4</i>	D---E---S-----E-D--S--K-	
<i>SCaM-5</i>	V---E---E-----E-V---K-	
Bovine	-----TM-----	
	* * * * *	112
<i>SCaM-1,3</i>	MKDTDSEEEELKEAFRVFDKQNGFISAAELRHVMTNL	
<i>SCaM-2</i>	-----	
<i>SCaM-4</i>	V---A---K---Y---S---I--	
<i>SCaM-5</i>	--E--E--D---K---Y---S---I--	
Bovine	-----IR-----G--Y-----	
	* * * * *	149
<i>SCaM-1,3</i>	GEKLTDEEVDDEMIREADVDDGGQINYYEEFVKVM AK	
<i>SCaM-2</i>	-----	
<i>SCaM-4</i>	-----EQ--K--L---V---M--TVR	
<i>SCaM-5</i>	-----EQ--E--L---V--D---M--TIG	
Bovine	-----NI---EV-----Q--T--	

图1 大豆CaM亚型氨基酸序列比较^[10]

Bovine 为牛脑 CaM 氨基酸序列。* 表示 4 个 Ca²⁺ 结合结构域, “-” 表示相同的氨基酸。

2 植物 CaM 亚型基因表达的特异性

在同一植物中往往存在多种 CaM 亚型, 各 CaM 亚型基因在植物各种组织中的表达存在特异性, 并且, 在植物生长发育及各种环境刺激条件下, 各 CaM 亚型基因的表达也存在差异。

Takezawa 等^[9]研究马铃薯 CaM 亚型时, 采用 RNA 印迹 (Northern blot) 技术分析的结果表明, 发育过程中不同器官中的 CaM 亚型基因的表达有差异。根尖中 *PCM1*、5、8 表达最高, 其次是芽, 再次是根, 叶中表达最低。在块茎的发育过程中, *PCM1* mRNA 的量明显下降。*PCM6* mRNA 在各种组织中均稳定表达, 只是在叶中表达最低。*PCM4* mRNA 在各种组织中的含量都非常低。在上述实验组织中均未检测到 *PCM2*、3

mRNA 的存在, 推测这两个基因可能在某些特殊的组织或器官中(如花中或在花粉萌发时)表达。8 种 CaM 基因对外界信号刺激反应的表达模式也不相同。实验表明 *PCM1* 与发育调控和触摸刺激反应有关, 而与 *PCM1* 在马铃薯发育中有相同表达模式的 *PCM5* 和 *PCM8* 则对触摸刺激没有反应, 这暗示在马铃薯中存在两种相互独立的 CaM 基因表达调控机制; 在马铃薯发育过程中 *PCM5* 和 *PCM8* 的启动子和 *PCM1* 启动子分别由同一种机制调控, 而在触摸反应时由于 *PCM5* 和 *PCM8* 启动子缺少某一顺式调控元件, 所以触摸刺激不能诱导它们的表达。从推断的氨基酸序列来看, *PCM1* 与其它 CaM 亚型相比含有特殊的氨基酸序列, 而且其基因表达调控也和其它 CaM 亚型基因有所不同, 这表明它可能在植物生长发育和触摸刺激信号转导中起作用。观察转 CaM 基因马铃薯植株的表型时发现, 只有转 *PCM1* 基因植株表型明显改变, 而转其它 CaM 亚型基因 (*PCM5*、*PCM6* 和 *PCM8*) 的植株表型无明显变化。在转 *PCM1* 基因植株中, *PCM1* mRNA 量呈中等程度增加的植株与野生型植株相比, 植株顶端优势增强, 块茎伸长, 植株增高; 高水平表达 *PCM1* mRNA 的植株不能形成地下块茎。表明 *PCM1* 在植物生长发育中有作用^[14]。Lee 等^[10]通过对大豆不同组织 RNA 印迹分析表明, *SCaM-1*、*SCaM-2* 表现出相同的表达水平, 二者在所检测的组织和器官中均有表达; *SCaM-3* 与 *SCaM-1*、*SCaM-2* 具有相似的表达模式, 但是在胚轴尖端表达量较低; *SCaM-4* 在下胚轴尖端和伸长区有表达, 但表达的量比 *SCaM-1* 低 5 倍, 在成熟组织中二者表达相同, 表达量均非常低, 而在 *SCaM-1* 丰富表达的根中 *SCaM-4* 几乎不表达。这表明 *SCaM-1*、*SCaM-2* 和 *SCaM-3* 基因的转录调控可能相同, *SCaM-4* 则属于完全不同的转录调控。

研究不同亚型 CaM 基因调控的结果表明, 不同亚型植物 CaM 基因的表达有组织、器官和发育不同时期的特异性以及对外界信号刺激反应的特异性等。例如, Ito 等^[15]从拟南芥基因文库中分离到 5 个 CaM 基因 (*AtCAL1*、2、3、5、6) 和 1 个 CaM 相关蛋白基因 (*AtCAL4*), 它们对机械刺激(触摸、风、雨)的反应不相同, 在机械刺激条件下

只有 *AtCAL4*、*5* 的表达受诱导, 而且这两种基因的表达存在组织特异性。另外, 在马铃薯^[9]和花椰菜^[16]等植物中也发现了不同 CaM 亚型基因的组织特异性表达特性。Yang 等^[11, 17]从小麦中鉴定了 10 个 CaM 基因, 它们编码 4 类 CaM 亚型 (CaM SF1~4); 在小麦发育过程中, 不同亚型 CaM 基因的表达具有器官、组织和细胞特异性。最近, Duval 等^[13]从萌发豌豆种子中鉴定了 3 个 CaM 亚型 (*PsCaM1*~3), 在种子萌发过程中 3 种基因具有不同的表达模式。由此可见, 在植物生长发育及不同刺激条件下, CaM 基因表达的差异表明不同 CaM 亚型的启动子中存在不同的顺式调控元件, 并且不同的 CaM 亚型介导各自特异的信号转导途径。

3 植物 CaM 亚型激活靶酶的特征

分析不同 CaM 亚型对 CaM 依赖性靶酶激活能力的结果表明, 不同的 CaM 亚型在体内可以竞争结合相同靶蛋白, 由于不同 CaM 亚型对 Ca^{2+} 的亲合能力不同, 所以它们在调节靶酶及由此而参与的 Ca^{2+} 信号转导途径也存在差异。

Lee 等^[10]的研究结果表明, SCaM-1 和 SCaM-4 对 CaM 靶酶——NAD 激酶和磷酸二酯酶 (cyclic nucleotide phosphodiesterase, PDE) 的激活特性确实存在很大的差异: SCaM-1 和 SCaM-4 均以依赖于 Ca^{2+} 的方式激活 PDE; SCaM-1 以依赖于 Ca^{2+} 的方式激活 NAD 激酶, 而 SCaM-4 在达到 SCaM-1 最高激活浓度的 500 倍时, 仍对 NAD 激酶没有激活作用。这表明 SCaM-1 和 SCaM-4 可能有各自不同的靶酶。Lee 等^[18]进一步以 SCaM-1 和 SCaM-4 对 NAD 激酶的不同激活作用为基础, 对其分子结构, 特别是对 CaM 和 NAD 激酶的作用位点作了十分细致的研究工作。通过 SCaM-1 和 SCaM-4 相互替换功能区 (Ca^{2+} 结合区) 而产生一系列嵌合体的实验证明, SCaM-1 的第一个功能区对 NAD 激酶的活性有决定性作用, SCaM-1 和 SCaM-4 在第一个功能区中的氨基酸差异使得它们对相同的靶酶 (NAD 激酶) 具有不同的激活作用。Liao 等^[19]的研究也表明拟南芥 CaM 亚型 (CaM-2、4 和 6) 对 NAD 激酶的激活效率不尽相同。

Cho 等^[20]的进一步实验发现, 大豆 CaM 各亚型不但对不同的靶酶激活能力不同, 而且对相同

的靶酶也有彼此相反的调节作用。SCaM-1 和 SCaM-4 能选择性地拮抗抑制不同的靶酶。SCaM-4 在 $180 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时能激活哺乳动物的一氧化氮合成酶 (nitric oxide synthase, NOS) 最大活性的 50%, 而 SCaM-1 大约在 $120 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对 NOS 酶活性起拮抗作用。相反, SCaM-1 在 $12 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时激活钙调磷酸酶 (calcineurin, CaN) 最大活性的 50%, 而 SCaM-4 在 $70 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对 CaN 活性起拮抗作用。Lee 等^[21]以标记的大豆 CaM 各亚型为探针, 采用凝胶覆盖方法发现, 虽然 SCaM-1 和 SCaM-4 都与大豆不同组织的提取物中的大部分 CaM 结合蛋白 (CaMBP) 结合, 但它们与这些 CaMBP 的结合能力有差异; 采用 5 种已知的植物 CaMBP 进行结合实验的结果表明, SCaM-1 和 SCaM-4 都与它们结合, 但在竞争结合实验中, 当两种 CaM 亚型同时存在时, 它们之间竞争性地与 CaMBP 结合。Lee 等^[22]研究 CaM 亚型激活靶酶的特性时观察到, SCaM-1 和牛脑 CaM 都能够有效地激活肌球蛋白轻链激酶 (myosin light-chain kinase, MLCK), 而 SCaM-4 则不能激活此酶; SCaM-1 和 SCaM-4 都能激活 CaM 依赖性蛋白激酶 (CaM-dependent protein kinase II, CaMKII) 以及动、植物的 Ca^{2+} -ATPase, 但 SCaM-4 的激活效率比 SCaM-1 低; SCaM-1 对植物谷氨酸脱羧酶 (glutamate decarboxylase, GAD), 能够达到最大激活, 而很高浓度的 SCaM-4 也仅能部分激活该酶; 另外, 各种 SCaM 亚型对靶酶的激活需要不同的 Ca^{2+} 浓度。半激活 CaMKII 时, SCaM-4 需要的 Ca^{2+} 浓度比 SCaM-1 高 4 倍; 半激活 PDE 时, SCaM-4 需要的 Ca^{2+} 浓度比 SCaM-1 高 1.5 倍。因此, 他们将 CaM 依赖性靶酶总结为三类: 一类是可被 SCaM-1 和 SCaM-4 激活的靶酶; 另一类是仅被 SCaM-1 激活而 SCaM-4 充当竞争性拮抗剂的靶酶; 第三类是仅被 SCaM-4 激活而 SCaM-1 充当竞争性拮抗剂的靶酶。最近的研究表明, 植物 CaMBP 表现为对不同 CaM 亚型亲和力的差异。KCBP (kinesin-like CaM-binding protein) 是一种具有依赖 Ca^{2+} 的 CaM 结合特性的驱动蛋白样 CaMBP。拟南芥 CaM 亚型 (CaM-2、CaM-4 和 CaM-6) 都以依赖 Ca^{2+} 的方式与 KCBP 结合, 但与 CaM-4 和 CaM-6 相比, CaM-2 与 KCBP 的亲和力高 2 倍, 这表明不同 CaM 亚型与靶蛋白的结合能力各不相

同^[23]。AtCNGC1-6 (*Arabidopsis thaliana* cyclic nucleotide-gated channels) 是Köhler等^[24, 25]从拟南芥中鉴定的一类具有依赖 Ca^{2+} 的CaM结合特性的环核苷门控的离子通道。Köhler等^[25]的研究表明不同的CaM亚型与AtCNGC1和AtCNGC2的CaM结合结构域的结合能力不同。AtCaM2和AtCaM4能与AtCNGC1和AtCNGC2结合, 并且两种CaM亚型与两种AtCNGC的结合力存在差别, 而AtCaM8和AtCaM9不能与AtCNGC1和AtCNGC2结合, 推测AtCNGC家族的各成员功能不同。

CaM各亚型在植物中的表达不同, 其激活或抑制专一性的靶酶能力以及对CaMBP结合竞争力也不同, 这就决定了它们在细胞内 Ca^{2+} -CaM信号转导过程中能形成不同的分叉转导通路。

4 植物CaM亚型的生物学功能

植物中不同的CaM亚型表现出不同的生物学功能。Heo等^[26]发现, 当大豆受到大豆叶斑病杆菌(*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*)或病原激发子的侵染时, 侵染后30 min即可诱导SCaM-4和SCaM-5基因的表达, 但不诱导其它CaM亚型基因的表达。他们进一步研究转SCaM-4和SCaM-5基因烟草时发现转基因植株对多种病原菌具有很强的抗性, 能自发地形成病斑和诱导一些系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR)相关基因的表达; 他们同时发现SCaM-4和SCaM-5以不依赖水杨酸(salicylic acid, SA)的信号转导通路诱导SAR相关基因的表达。Yamakawa等^[27]从烟草中分离到13个CaM基因(*NtCaM1~13*), 烟草枯叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)侵染叶片后可引起细胞死亡并伴随*NtCaM1*、*2*、*13*转录本及*NtCaM13*蛋白的积累, 同时诱导*PR-1*和*PR-3*等防御基因的表达; 伤害刺激后30 min可诱导*NtCaM1*、*2*、*3*转录本积累, *NtCaM1*蛋白瞬间积累; 在健康叶片中, *NtCaM13*蛋白维持在低水平, 伤害后立即降低。这表明病原和伤害刺激下转录和转录后水平上对各种CaM亚型的调控不同。最近, Townley和Knight^[28]用*AtCaM3*超表达转基因拟南芥研究的结果表明, *AtCaM3*超表达抑制冷诱导基因*COR*的表达。

近来的实验表明, CaM各亚型能够采用翻译后的不同修饰影响其亚细胞定位, 从而发挥不同

生物学功能。Rodriguez-Concepcion等^[29, 30]在矮牵牛中发现了一种新的命名为CaM53的CaM亚型, 它的N端有150个氨基酸的CaM区域, C端有由34个氨基酸组成的富含赖氨酸和精氨酸的区域, 其最后4个氨基酸为CTIL的CaaX结构域, 此结构域是异戊二烯化所必需的。亚细胞定位的研究发现, 异戊二烯化的CaM53定位在质膜上, 而未异戊二烯化的CaM53则定位在细胞核中。转基因的实验表明, CaM53的异戊二烯化可以引起不同的表型, 并且当异戊二烯合成受阻或者蔗糖缺乏时CaM53的亚细胞定位发生变化, 更多的CaM53定位到细胞核中, 可见植物能够采用CaM53的修饰来调控CaM53的分布, CaM53不同的亚细胞定位结合不同的靶酶, 从而调节 Ca^{2+} -CaM信号转导过程中的时空性。Aiwu等^[31]发现水稻中也存在与矮牵牛的CaM53类似的CaM(OsCaM61)。这一切都暗示CaM可能不像以前的传统概念那样以一种形式调控植物体内的众多生理过程, 而是植物体中存在多种亚型的CaM, 它们各有其特异的靶酶, 分别调控特异的生理反应, 即不同亚型的植物CaM在不同组织、不同信号、植物体发育的不同阶段所起的作用有差异, 即植物体中存在CaM亚型特异性的生理过程。

5 细胞外CaM的存在及亚型特异性分析

近年来, 我们实验室一系列的研究结果表明: 细胞外也存在CaM并具有普遍性, 而且具有多种生物学功能^[32, 33], 如能促进细胞增殖^[34]、促进原生质体细胞壁的再生以及第一次分裂^[35]、启动和促进花粉萌发花粉管伸长^[36]、诱导不依赖光的*rbcS*基因表达^[37]等。我们实验室的研究还表明: Al^{3+} 对细胞毒害的原初位点之一可能是在细胞外, 而且很可能是通过抑制细胞外CaM的活性起作用的^[38]; La^{3+} 元素对植物细胞生长的促进作用机制也与胞外CaM有关^[39]; 异三聚体G蛋白^[40]、 Ca^{2+} ^[41]、磷脂酶C(phospholipase C, PLC)^[42]均参与细胞外CaM的信号转导机制。据此, 我们提出的细胞外CaM信号转导机制模型^[33, 43]认为: Ca^{2+} 活化的细胞外CaM可能作为第一信使与质膜表面CaM结合蛋白(或受体)结合而激活异三聚体G蛋白, 活化的G蛋白一方面可能活化质膜表面的 Ca^{2+} 通道, 使细胞质内自由 Ca^{2+} 浓度升高, 另一

方面又激活质膜上的PLC,产生三磷酸肌醇(IP₃)并动员胞内钙库中Ca²⁺的释放, Ca²⁺则可能通过激活蛋白质磷酸化反应调节生理功能和基因表达。根据我们对细胞外CaM的存在、生理功能及跨膜信号转导机制的研究结果,我们提出了细胞外CaM可能是作为一种多功能肽类信使在植物生长发育过程中发挥作用的观点^[33,44]。

最近,我们又用绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记在转CaM-GFP融合基因植物细胞中研究了大豆SCaM-1与SCaM-4的亚细胞定位^[45],以及随后对大豆中存在的5种CaM亚型进行亚细胞定位的研究中发现,SCaM-1、SCaM-2、SCaM-3不仅存在于细胞内,而且还存在于细胞外;而SCaM-4、SCaM-5仅存在于细胞内。据此,我们认为细胞外CaM的存在可能具有亚型的特异性(待发表资料),这为进一步采用分子生物学手段研究细胞外CaM的生物学功能奠定了基础。

6 结束语

综上所述,可以看到,由于CaM亚型表达的差异性、靶蛋白的特异性、激活或抑制专一性的靶酶能力的不同以及对Ca²⁺敏感性的差异,使得CaM亚型能在调节细胞Ca²⁺-CaM信号转导途径中起关键性作用,植物中存在多种CaM亚型,各有各的特异作用机制及生理功能。Snedden和Fromm^[2]总结CaM亚型特异性工作模型时,提出6种CaM和CaM相似蛋白调节细胞反应的可能机制:(1)1种CaM亚型仅调节1种相应的靶蛋白,而不调节其它靶蛋白;(2)不同的CaM亚型对不同的Ca²⁺信号产生反应;(3)1种CaM亚型对2种酶(例如:蛋白激酶和磷酸酶)的激活和抑制作用相反;(4)在体内条件下,各种CaM亚型竞争性调节靶蛋白;(5)CaM亚型通过其在细胞内的移动调节不同细胞区域的靶蛋白;(6)刺激信号可诱导特异CaM亚型的表达。

Ca²⁺-CaM信号转导途径在植物生长发育以及对环境的适应中起关键作用。相信,随着植物中存在CaM亚型研究的日益深入,人们将会进一步阐明不同CaM亚型的特异生物学功能、CaM亚型的亚细胞定位和生理功能与靶酶结合的相关性。另外,CaM与靶酶作用机制的研究也将有助于了

解CaM在植物生长发育过程中的作用。

参考文献

- 1 孙大业,郭艳林,马力耕等.细胞信号转导.第3版.北京:科学出版社,2001.92~116
- 2 Snedden WA, Fromm H. Calmodulin as a versatile calcium signal transducer in plants. *New Phytol*, 2001, 151:35~66
- 3 Snedden WA, Fromm H. Calmodulin, calmodulin-related proteins and plant responses to the environment. *Trends Plant Sci*, 1998, 3(8):299~204
- 4 Zielinski RE. Calmodulin and calmodulin-binding proteins in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, 49: 697~725
- 5 Ling V, Perera IY, Zielinski RE. Primary structures of *Arabidopsis* calmodulin isoforms deduced from the sequences of cDNA clones. *Plant Physiol*, 1991, 96: 1196~1202
- 6 Perera IY, Zielinski RE. Structure and expression of the *Arabidopsis* CaM-3 calmodulin gene. *Plant Mol Biol*, 1992, 19: 649~664
- 7 Gawienowski MC, Szymanski D, Perera IY et al. Calmodulin isoforms in *Arabidopsis* encoded by multiple divergent mRNAs. *Plant Mol Biol*, 1993, 22: 215~225
- 8 Zielinski RE. Characterization of three new members of the *Arabidopsis thaliana* calmodulin gene family: conserved and highly diverged members of the gene family functionally complement a yeast calmodulin null. *Planta*, 2002, 214: 446~455
- 9 Takezawa D, Liu ZH, An G et al. Calmodulin gene family in potato: developmental and touch-induced expression of mRNA encoding a novel isoform. *Plant Mol Biol*, 1995, 27: 693~703
- 10 Lee SH, Kim JC, Lee MS et al. Identification of a novel divergent calmodulin isoform from soybean which has differential ability to activate calmodulin-dependent enzymes. *J Biol Chem*, 1995, 270(37): 21806~21812
- 11 Yang T, Segal G, Abbo S et al. Characterization of the calmodulin gene family in wheat: structure, chromosomal location, and evolutionary aspects. *Mol Gen Genet*, 1996, 252:684~694
- 12 Griess EA, Igloi GL, Feix G. Isolation and sequence comparison of a maize calmodulin cDNA. *Plant Physiol*, 1994, 104: 1467~1468
- 13 Duval FD, Renard M, Jaquinod M et al. Differential expression and functional analysis of three calmodulin isoforms in germinating pea (*Pisum sativum* L.) seeds. *Plant J*, 2002, 32: 481~493
- 14 Poovaiah BW, Takezawa D, An G et al. Regulated expression of a calmodulin isoform alters growth and development in potato. *J Plant Physiol*, 1996, 149:553~558
- 15 Ito T, Hirano M, Akama K et al. Touch inducible genes for calmodulin and a calmodulin-related protein are located in tandem on a chromosome of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36:1369~1373

- 16 Szymanski DB, Liao B, Zielinski RE. Calmodulin isoforms differentially enhance the binding of cauliflower nuclear proteins and recombinant TGA3 to a region derived from the *Arabidopsis Cam-3* promoter. *Plant Cell*, 1996, 8: 1069~1077
- 17 Yang T, Lev-Yadun S, Feldman M et al. Developmentally regulated organ-, tissue-, and cell-specific expression of calmodulin genes in common wheat. *Plant Mol Biol*, 1998, 37: 109~120
- 18 Lee SH, Seo HY, Kim JC et al. Differential activation of NAD kinase by plant calmodulin isoforms. *J Biol Chem*, 1997, 272(14): 9252~9259
- 19 Liao B, Margaret CG, Raymond EZ. Differential stimulation of NAD kinase and binding of peptide substrates by wild-type and mutant plant calmodulin isoforms. *Arch Biochem Biophys*, 1996, 327(1): 53~60
- 20 Cho MJ, Vaghy PL, Kondo R et al. Reciprocal regulation of mammalian nitric oxide synthase and calcineurin by plant calmodulin isoforms. *Biochemistry*, 1998, 37(45): 15593~15597
- 21 Lee SH, Kim MC, Heo WD et al. Competitive binding of calmodulin isoforms to calmodulin-binding proteins: implication for the function of calmodulin isoforms in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1433: 56~67
- 22 Lee SH, Johnson JD, Walsh MP et al. Differential regulation of Ca^{2+} /calmodulin-dependent enzymes by plant calmodulin isoforms and free Ca^{2+} concentration. *Biochem J*, 2000, 350: 299~306
- 23 Reddy VS, Safadi F, Zielinski RE et al. Interaction of kinesin-like protein with calmodulin isoforms from *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 1999, 274: 31727~31733
- 24 Köhler C, Merkle T, Neuhaus G. Characterization of a novel gene family of putative cyclic nucleotide- and calmodulin-regulated ion channels in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 1999, 18: 97~104
- 25 Köhler C, Neuhaus G. Characterization of calmodulin binding to cyclic nucleotide-gated ion channels from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 2000, 471: 133~136
- 26 Heo WD, Lee SH, Kim MC et al. Involvement of specific calmodulin isoforms in salicylic acid-independent activation of plant disease resistance responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 766~771
- 27 Yamakawa H, Mitsuhashi I, Ito N et al. Transcriptionally and post-transcriptionally regulated response of 13 calmodulin genes to tobacco mosaic virus-induced cell death and wounding in tobacco plant. *Eur J Biochem*, 2001, 268: 3916~3929
- 28 Townley HE, Knight MR. Calmodulin as a potential negative regulator of *Arabidopsis* COR gene expression. *Plant Physiol*, 2000, 128: 1169~1172
- 29 Rodriguez-Concepcion M, Yalovsky S, Zik M et al. The prenylation status of a novel plant calmodulin directs plasma membrane or nuclear localization of the protein. *EMBO J*, 1999, 18(7): 1996~2007
- 30 Rodriguez-Concepcion M, Toledo-Ortiz G, Yalovsky S et al. Carboxyl-methylation of prenylated calmodulin CaM53 is required for efficient plasma membrane targeting of the protein. *Plant J*, 2000, 24(6): 775~784
- 31 Aiwu D, Hua X, Yu Y et al. The subcellular localization of an unusual rice calmodulin isoform, OsCaM61, depends on its prenylation status. *Plant Mol Biol*, 2002, 48: 203~210
- 32 孙大业, 唐军, 李红兵. 细胞外钙调素的研究及意义. *科学通报*, 1995, 40: 1453~1459
- 33 孙大业, 马力耕. 细胞外钙调素——一种植物中的多肽信使? *中国科学*, 2001, 31(4): 289~297
- 34 Sun DY, Li HB, Cheng G. Extracellular calmodulin accelerates the proliferation of suspension-cultured cells of *Angelica dahurica*. *Plant Sci*, 1994, 99: 1~8
- 35 Sun DY, Bian YQ, Zhao BH et al. The effect of extracellular calmodulin on cell wall regeneration and the division of protoplasts. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36: 133~138
- 36 Ma LG, Sun DY. The effects of extracellular calmodulin on initiation of *Hippeastrum rutilum* pollen germination and tube growth. *Planta*, 1997, 202: 336~340
- 37 Zhou J, Ma L, Zhang S et al. Extracellular calmodulin stimulates light-independent *rbcS-GUS* expression in suspension-cultured cells of transgenic tobacco. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42: 1049~1055
- 38 Ma LG, Fan QS, Yu ZQ et al. Does aluminum inhibit pollen germination via extracellular calmodulin? *Plant Cell Physiol*, 2000, 41: 372~376
- 39 Sun Y, Liu DL, Yu ZQ et al. An apoplastic mechanism for short-term effects of rare earth elements at lower concentrations. *Plant, Cell Environ*, 2003, 26: 887~896
- 40 Ma L, Xu X, Cui S et al. The presence of a heterotrimeric G protein and its role in signal transduction of extracellular calmodulin in pollen germination and tube growth. *Plant Cell*, 1999, 11: 1351~1363
- 41 尚忠林, 马力耕, 王学臣等. 细胞外钙调素对百合花粉细胞内钙离子浓度的影响. *植物学报*, 2001, 43: 12~17
- 42 王昕, 崔素娟, 马力耕等. PLC-IP₃-IP₃R信使系统参与花粉萌发和花粉管伸长的显微注射研究. *植物学报*, 2000, 42: 697~702
- 43 马力耕, 徐小冬, 崔素娟等. 肌醇磷脂信号途径参与胞外钙调素启动花粉萌发和花粉管伸长. *植物生理学报*, 1998, 24(2): 196~200
- 44 马力耕, 孙大业. 植物细胞多肽第一信使. *科学通报*, 2000, 45(18): 1920~1927
- 45 周华林, 马力耕, 刘曼等. 转SCaM-GFP融合基因烟草中钙调素分泌特性的研究. *植物学报*, 2001, 43(12): 1300~1302