

## 综述 Reviews

## 植物细胞中钙通道的分布及其在植物抗逆机制中作用的研究进展

贾如, 雷梦琦, 徐佳妮, 鲁瑞琪, 黄萱\*

西北大学生命科学学院, 西部资源与现代生物技术省部共建教育部重点实验室, 陕西省生物技术重点实验室, 西安710069

**摘要:** 钙信号是植物生长发育的重要调控因子。当植物受到外界的环境刺激时, 细胞中钙离子浓度会出现特异性变化, 引起一系列保护性生理反应。在细胞膜上存在可以迅速转运钙离子的通道蛋白, 钙通道蛋白是植物对外界刺激做出反应时, 将信号物质从胞外传导到胞内的直接媒介。钙通道按电压依赖性可分为去极化钙离子通道、超极化钙离子通道和非电压依赖性通道3种类型。钙通道在植物细胞中参与了众多的信号转导过程, 本文对植物细胞不同部位存在的钙通道类型及钙离子作为信号物质在植物受到非生物胁迫时产生的应激机制进行了综述。

**关键词:** 植物细胞; 钙通道; 非生物胁迫; 研究进展

## Research Progress of Ca<sup>2+</sup> Channel and the Effect of Ca<sup>2+</sup> on Plant Resistance Mechanism in Plant Cells

JIA Ru, LEI Meng-Qi, XU Jia-Ni, LU Rui-Qi, HUANG Xuan\*

*Shaanxi Provincial Key Laboratory of Biotechnology, Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China, Ministry of Education, College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China*

**Abstract:** Calcium (Ca<sup>2+</sup>) signals are core transducers and regulators in many adaptation and developmental processes of plants. It has been found that transient change of Ca<sup>2+</sup> concentration in plant cells when exposed to environmental stimuli protects plants from environmental stress. Channel proteins which exists on the cell membrane, can quickly transport calcium ion. When plants respond to external stimuli, calcium channel proteins are direct media for signal substance transport from extracellular to intracellular. Three types of Ca<sup>2+</sup> channels have been identified in the plant cell membrane. They are DACCs (depolarization-activated Ca<sup>2+</sup>-permeable channels), HACCs (hyperpolarization-activated Ca<sup>2+</sup>-permeable channels) and VICCs (voltage-independent Ca<sup>2+</sup>-permeable channels). Ca<sup>2+</sup> channels take part in many signal-transduction processes in plant cells. In recent years, progress has been made in the researches on Ca<sup>2+</sup> channels in plant cells. Here, different types of Ca<sup>2+</sup> channels and Ca<sup>2+</sup> involved with plant stress resistance were summarized in this paper.

**Key words:** plant cells; Ca<sup>2+</sup> channel; abiotic stimulus; research progress

植物在生长过程中经常会遇到干旱、盐碱、高低温等不良环境条件, 导致水分亏缺进而影响植物的生长发育, 严重时会使植物死亡。而另一方面, 植物经过长期的逆境侵袭, 也进化产生了一系列抵制不良环境的机制, 即产生了环境适应能力(Gilroy和Trewavas 2001)。

钙离子在植物抵制不良环境过程中发挥了重要的作用(Hepler 2005), 目前已经发现多种刺激因素都是由钙离子作为第二信使来介导并产生生物学反应的。钙离子也是植物重要的营养元素之一, 能维持植物细胞壁、细胞膜及膜结合蛋白的稳定性。一般来说, 在细胞膜内外进行转运钙离子的“装置”有通道和载体两种。通常, 通道蛋白的转运

速率比载体蛋白要高, 所以, 钙通道作为钙离子快速跨膜的运输途径和调控, 是钙信号产生的关键。本文对钙通道的研究进展及其在非生物胁迫下的产生机制进行概述。

收稿 2014-07-21 修定 2014-10-29

资助 国家自然科学基金(31300223)、高等学校博士学科点专项科研基金(20126101120019)、教育部留学回国人员科研启动基金(教外司留[2013]693号)、西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室(西北大学)开放基金、陕西省生物技术省重点实验室开发基金(12JS106)、国家自然科学基金基地建设能力提高项目(J1210063)和国家级大学生创新创业训练计划(201310697033)。

\* 通讯作者(E-mail: xuanhuang@nwu.edu.cn; Tel: 029-88303484)。

## 1 钙信号的产生

在自然环境中,植物具有很强的适应能力,它们能够感受外界环境的变化,并通过刺激-偶联反应(stimulus-response)使自己的生长和发育得到相应的调节。细胞外部的逆境信号需要跨越细胞膜才能把信息输进细胞,从而诱导相应基因的表达,调节细胞活性。当植物感受到干旱、低温及盐害等外部逆境条件时,细胞膜渗透压将会增加(Boudsocq和Laurière 2005)。这种变化将外界环境刺激传递给膜上的受体,受体接到信号后通过膜上一系列磷酸化反应激活膜上的钙通道,引起钙离子流入细胞质,导致细胞质内钙离子浓度增加,从而诱发产生了钙信号(Chinnusamy等2004)。这种瞬间增加的游离钙离子来源于胞外的钙离子流入和胞内钙库(如内质网、液泡等)的释放。钙信号本质上是一种化学信号密码,钙信号的解码过程是由钙感受器(calcium sensor)或钙解码器(calcium decoder)对钙信号变化的识别并转化为胞内基因转录表达活性的过程(Swarbreck等2013)。而对于植物细胞核来说,可以自发引起钙信号,这种细胞核钙信号可能联系到一系列反应,这种共生信号通路已成为研究植物细胞核钙信号的最好模型(Charpentier和Oldroyd 2013)。

植物细胞感受刺激后,钙离子通过钙离子转运体(calcium transporters)来调节细胞内钙浓度,以产生相应的钙信号。细胞内钙离子水平的变化对植物的生长过程有巨大影响,包括细胞分裂、植物体生长、器官形成等(Zhang等2014)。钙通道(calcium channel)是一类位于细胞膜表面,可以特异性迅速转运 $\text{Ca}^{2+}$ 的通道蛋白。根据钙通道在细胞中位置的不同,可分为细胞质膜上的钙内流通道和细胞内膜上的钙释放通道。而根据钙通道的电压依赖性,可分为去极化钙离子通道(depolarization-activated  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channels, DACCs)、超极化钙离子通道(hyperpolarization-activated  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channels, HACCs)和非电压依赖性通道(voltage-independent  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channels, VICCs)。钙离子转运载体和钙泵主要包括 $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶,是胞内钙离子的反转运系统,主要起维持钙离子稳态的作用。

## 2 分布于质膜的钙内流通道

经过细胞质膜钙通道的钙内流可以在细胞内积累钙离子。位于细胞质膜上的钙通道可分为电压依赖性通道(voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channels, VDCCs)和非电压依赖性钙通道两类(表1)。

表1 钙通道在细胞质膜的选择性分布

Table 1 Calcium-permeable channels in the plasma membrane of plant cells

类别	名称	细胞类型	可通过离子	抑制剂	参考文献
DACCs	DACC	胡萝卜细胞悬浮液	$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$	-	Thuleau等1994
	DACC	拟南芥根细胞	$\text{Ca}^{2+}$	咪拉地尔	White 2000
	DACC	蚕豆保卫细胞	$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$	-	White 2000
HACCs	RCA	小麦根细胞	$\text{Na}^+$ 、 $\text{Cs}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Li}^+$ 、 $\text{Rb}^+$	钇红、维拉帕米、地尔硫卓、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{La}^{3+}$ 、 $\text{Gd}^{3+}$ 、 $\text{TEA}^+$	Piñeros和Tester 1995
	Maxi-Cation	黑麦根细胞	$\text{K}^+$ 、 $\text{Rb}^+$ 、 $\text{Cs}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Li}^+$	钇红	Weiger和Hermann 2014
	机械敏感	蚕豆保卫细胞	$\text{Ca}^{2+}$	-	White 2000
	机械敏感	洋葱表皮细胞	$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$	$\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Gd}^{3+}$ 、 $\text{La}^{3+}$	Pickard和Ding 1993
	机械敏感	蚕豆保卫细胞	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Gd}^{3+}$	Grabov和Blatt 1999
	机械敏感	拟南芥根毛细胞	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Al}^{3+}$	Miedema等2008
	机械敏感	拟南芥中型叶细胞	$\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$	$[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$	Miedema等2008
	诱导激活	番茄细胞悬浮液	$\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$	硝苯地平	Gelli和Blumwald 1997
	膜联蛋白	拟南芥细胞	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Gd}^{3+}$ 、钙通道阻滞剂	Laohavisit等2009
	HACC	沙梨花粉管根尖细胞	$\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$	$\text{La}^{3+}$ 、 $\text{Gd}^{3+}$	Qu等2007
VICCs	生长素结合蛋白	玉米胚芽鞘囊泡细胞	$\text{Ca}^{2+}$	-	Kirpichnikova等2014
	CNGC	拟南芥保卫细胞	-	-	Wang等2013; Tunc-Ozdemir等2013
	LEAC	欧芹细胞悬浮液	$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$	$\text{La}^{3+}$ 、 $\text{Gd}^{3+}$	Zimmermann等1997

“-”代表现有文献中未提及,表2、3同。

## 2.1 电压依赖性钙通道

对植物而言, 跨质膜的电位差一般为 $-120\sim-180\text{ mV}$ 。如果在细胞正常的跨膜电位的基础上增大电位差则称之为超极化, 相反称之为去极化。电压依赖性钙通道可分为去极化激活的钙通道和超极化激活的钙通道。

**2.1.1 去极化激活的钙通道** 在细胞质膜上最先发现的电压依赖性钙通道是去极化激活的(Thuleau等1994)。细胞质膜的去极化通常由阳离子内流引起。White (2009)发现低温等胁迫条件均可诱导细胞去极化。DACCs似乎存在于所有的植物根细胞的质膜(Demidchik 2012)。

在胡萝卜悬浮细胞的原生质体中利用膜片钳技术(patch-clamp technology)发现存在DACCs(Thuleau等1994), 当质膜去极化为 $-135\text{ mV}$ 时, 钙通道被激活, 同时这种通道表现出对 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 及 $\text{Ba}^{2+}$ 很高的通透性。这是第一次在高等植物细胞质膜上直接发现电压依赖性的钙通道。随后, 在拟南芥叶片、叶肉和根细胞的原生质体中也发现有此通道(Piñeros和Tester 2011)。

Piñeros和Tester (1995)首次在小麦根细胞的质膜上发现了两类电压控制的钙通道, 分别是RCA通道(root  $\text{Ca}^{2+}$  channel)和马克西阳离子通道(Maxi-Cation channel)。当小麦根细胞休眠或在正常情况下时, RCA通道关闭; 当质膜去极化时, RCA通道被激活, 导致钙离子内流。在随后的研究中, Piñeros和Tester (2011)发现在一定条件下RCA通道可对1,4-二氢吡啶类(1,4-dihydropyridines, DHPs)类药物表现出敏感性, 在一定条件下添加DHPs类药物如硝苯地平(nifedipine)可增加通道开放的概率。Weiger和Hermann (2014)研究发现马克西阳离子通道可以使一价和二价阳离子通过, 尤其对 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Ba}^{2+}$ 都具有选择透过性。研究表明, 此通道有重要的药理学意义, 阳离子经通道流入胞质可被钌红(ruthenium red, RR)抑制, 而阳离子的流出可被钌红、地尔硫卓(diltiazem)、维拉帕米(verapamil)和奎宁(quinine)等抑制。同时, 多胺也能够有效的抑制马克西阳离子通道。Pottosin等(2014)利用微电极技术研究了豌豆根部的多胺对钙离子、氢离子运输的影响, 发现钙离子的活动与 $\text{H}^+$ 泵耦合, 这可能是由于 $\text{H}^+$ 泵抑制了

胞内的钙离子。此外, 多胺能够抑制多种阳离子通道, 摄入多胺导致细胞膜去极化; 反之, 减少多胺摄入量可使更多的阳离子通道活跃, 诱导细胞膜超极化。Zhou等(2014)证明一种钙依赖蛋白激酶CPK32 (calcium-dependent protein kinase 32)和一种环核苷酸门控钙通道CNGC18 (cyclic nucleotide-gated channels 18)会产生协同作用导致花粉管去极化, 从而调节花粉管的生长。

**2.1.2 超极化激活的钙通道** 细胞质膜上的 $\text{H}^+$ 泵可能介导了质膜的超极化。当膜电压水平超极化低于 $-120\text{ mV}$ 时, 通道可以被激活, 激活程度依赖于电压强度和持续时间。目前, 由超极化激活的细胞质膜电压依赖性钙通道相继被发现。例如, 在洋葱表皮细胞质膜(Pickard和Ding 1993)中, 该通道发挥机械保护作用; 在气孔保卫细胞(Cosgrove和Hedrich 1991)中, 此通道引发质膜的去极化从而防止液体的流失并启动气孔关闭。同时, HACCs也被认为是存在于植物保卫细胞中不可或缺的ABA组件(Jiao等2013)。Miedema等(2008)在拟南芥根毛细胞膜中发现了超极化激活的钙通道电导。

另一类可以形成超极化激活的钙通道参与胞质中钙信号产生, 这是一类由钙离子、磷脂和细胞骨架构成的结合型蛋白, 称为膜联蛋白(annexin)。Boustead等(1989)首次在高等植物中发现了膜联蛋白, 其在生长、发育和适应性方面都发挥着重要的作用。植物中的膜联蛋白分布广泛, 主要存在于胞质溶胶、细胞质膜、内膜和多种细胞器中。已经发现植物中的膜联蛋白可以在非生物胁迫条件下发挥作用。Konopka-Postupolska等(2009)在短日照条件下将拟南芥培养4周后进行干旱处理至完全脱水, 结果发现, 膜联蛋白缺失突变体*Atann1*在干旱处理后第5天出现枯萎症状, 而野生型和膜联蛋白超表达株系依然保持绿色的饱满状态, 这说明膜联蛋白可能在干旱胁迫条件下发挥了作用。Laohavisit等(2009)发现植物细胞中膜联蛋白也参与细胞分泌和 $\text{Ca}^{2+}$ 代谢的作用。药理学实验表明, 膜联蛋白参与调节非选择性阳离子通道的活性。在适当的pH下只含有膜联蛋白的人工膜上可测到跨膜钙离子电流, 而这一电流对钙离子抑制剂和 $\text{Gd}^{3+}$ 非常敏感, 说明膜联蛋白可能参与构建了 $\text{Ca}^{2+}$ 的内流通道。

同时,钙通道很可能参与花粉萌发和花粉管伸长。Qu等(2007)通过对蔷薇科植物沙梨花粉管的研究发现胞质钙离子浓度梯度对花粉管的生长产生很大影响,钙通道阻滞剂 $\text{La}^{3+}$ 和 $\text{Gd}^{3+}$ 可抑制超极化激活的钙通道,同时也可抑制花粉萌发和花粉管伸长。

## 2.2 非电压依赖性钙通道

研究发现,植物激素可对钙通道的通透性产生重要作用。Jiao等(2013)发现在干旱胁迫下,脱落酸(abscisic acid, ABA)可通过与钙离子的协同作用来阻止气孔开放以减少水分蒸发。ABA可以影响植物气孔关闭、过氧化氢产生以及钙离子内流。Kirpichnikova等(2014)在玉米胚芽鞘囊泡细胞中发现生长素(auxin)可增加细胞质膜对钙离子的通透性,同时生长素结合蛋白1 (auxin binding protein 1, ABP1)可能与钙通道相关,并参与调解钙离子在细胞质膜的通透性。

在拟南芥(*Arabidopsis*)基因组中发现至少存在20个编码环核苷酸门控钙通道(cyclic nucleotide-gated channels, CNGCs)的基因家族成员,CNGCs是连接环核苷酸与钙信号转导的纽带,参与与钙离子信号相关的各种生理过程,如病原体防御、生长发育和耐热性等。CNGCs家族可被分为5个亚家族,其中CNGC1、2、7、8、10、11、12、16和18主要在植物生长发育方面起作用(Frietsch等2007),CNGC1、2、3、10、19和20在植物应答逆境胁迫时起作用(Kugler等2009),CNGC2、4、11和12主要在植物免疫方面起作用(Dietrich等2010),Gao等(2012)研究发现CNGCs在钙通道的通透性和热激反应中也起到重要作用。Chin等(2013)发现*AtCNGC2*的突变体*dnd1* (*defense no death*)属于自身免疫表型,而拟南芥突变体*rdd1* (*repressor of defense no death1*)可抑制大部分*dnd1*的表型,遗传分析表明*rdd1*也参与了*AtCNGC4*的信号转导,并通过双分子荧光互补分析证明*AtCNGC2*和*AtCNGC4*可能存在于同一个通道。Wang等(2013)在拟南芥保卫细胞的质膜中发现了由CNGC5和CNGC6基因编码的非选择性钙通道的存在,他们发现CNGC5和CNGC6这两个拟南芥阳离子通道基因可以在保卫细胞中高度表达。CNGC5CNGC6双突变体的保卫细胞表现出对cGMP激活电流的损害作用,同时

也表现出与脱落酸的协同作用。Tunc-Ozdemir等(2013)通过花粉定量PCR分析表明CNGC16突变体有耐热性基因表达,通过花粉可行性分析表明突变体花粉对钙离子高度敏感,进而证明花粉通过环核苷酸信号、钙通道和能够激活耐热反应的信号网络产生耐热性。CNGCs涉及植物生长发育的许多方面,对生物胁迫和非生物胁迫的应答反应都产生重要作用。

Alcázar等(2010)发现多胺和脱落酸与活性氧(reactive oxygen species, ROS)信号的产生有关,进而生成一氧化氮,调节离子通道的开放和钙离子的平衡。Ma等(2010)发现钙离子和一氧化氮是植物衰老信号级联的重要组件,但叶片衰老时钙离子和一氧化氮的相互作用过程并不十分清楚。Steinhörst和Kudla (2013)发现ROS和钙信号通路的连接利于细胞间的沟通以及信号的长距离输送。ROS是一种重要的第二信使,可通过多种不同的酶生成,如NADPH氧化酶类。ROS可在病原体防御和细胞信号产生重要作用,同时也可对植物体造成伤害。在外界环境的影响下,如暴露于热源中,活性氧将急剧增多并致机体造成损伤。Domijan等(2014)发现抗氧化剂可以抑制磷脂酶C (phospholipase C, PLC)的活动,进而抑制细胞内钙离子信号转导,减少ROS对细胞的损伤作用。

在植物体中,病原体耐药性可能与瞬时涌入的钙信号有关。Zimmermann等(1997)利用膜片钳技术在欧芹细胞悬浮液(parsley cell suspension)中发现了大电导诱导激活的离子通道(large conductance elicitor-activated ion channel, LEAC),结果发现该通道对 $\text{La}^{3+}$ 具有敏感性。LEAC可以被来自疫病菌(*Phytophthora sojae*)的细胞壁蛋白寡肽诱导子可逆性的激活,植物抗毒素(phytoalexin)的形成也需LEAC的激活。因此,研究LEAC这类离子通道对植物抗病有重要意义。

## 3 位于植物细胞内膜上的钙通道

### 3.1 位于内质网上的钙通道

**3.1.1 1,4,5-三磷酸肌醇受体(inositol 1,4,5-trisphosphate receptor,  $\text{IP}_3\text{R}$ )**  $\text{IP}_3\text{R}$ 是对第二信使1,4,5-三磷酸肌醇(inositol 1,4,5-trisphosphate,  $\text{IP}_3$ )应答的一种普遍存在的细胞内钙离子释放通道,参与胞质内钙离子水平的精确调控。 $\text{IP}_3\text{R}$ 是一种跨膜蛋

白,其分子构型为跨膜片段和内质网内部的通道区。第二信使IP<sub>3</sub>与其特异性受体IP<sub>3</sub>R结合后,由IP<sub>3</sub>R通道的胞内钙释放,在调节多种生物细胞功能中发挥重要作用。

1997年, Muir和Sanders用蔗糖密度梯度离心的方法从花椰菜组织中提取到了密度大于液泡的囊泡,其中含有大量的内质网成分,而IP<sub>3</sub>可以诱导钙离子从这些囊泡中释放出来,推测在内质网中可能含有可以对IP<sub>3</sub>起反应的钙通道(Muir和Sanders 1997)。IP<sub>3</sub>R主要位于内质网,但也能释放来自其他细胞器产生的钙离子,如核膜、高尔基体、分泌小泡等。目前已确认IP<sub>3</sub>R有3种亚型,即IP<sub>3</sub>R1、IP<sub>3</sub>R2、IP<sub>3</sub>R3,它们为同源四聚体,但各亚型在不同组织的分布和数量不同。Ivanova等(2014)讨论了在动物组织中不同的亚型在控制细胞生长和凋亡的作用及其分布,如在动物组织中IP<sub>3</sub>R1主要分布于小脑和神经元,IP<sub>3</sub>R2主要分布于肝脏,IP<sub>3</sub>R3在众多培养细胞中均有分布。过去的几十年里,通过研究IP<sub>3</sub>R在动物中的作用大大促进了我们理解各种疾病的生理功能和病理机制,如心力衰竭、心律失常、癫痫发作等,但植物组织中IP<sub>3</sub>R的具体机制还有待研究。ABA、乙烯、生长素和IP<sub>3</sub>通过复杂的信号传导和代谢过程调控植物生长发育和应答环境信号,然而这些信号分子与非生物逆境之间的关系还有很多未知的地方。

### 3.1.2 利阿诺定受体(ryanodine receptor, RyR)

RyR是主要存在于内质网或肌浆网上的一种钙释放通道,具有高亲和力和特异性,与IP<sub>3</sub>R结构和功能特性相似,它能迅速地将钙离子从内质网或肌浆网中释放出来,从而发挥一系列的生理功能。

最近的研究表明, RyR在哺乳动物中作为磷酸

化和疾病突变的靶点,与心衰等多种重要疾病相关(Yuchi等2012; Lanner等2010)。RyR是目前已知最大的离子通道,在哺乳动物中存在3种异构体(RyR1-3),这3种异构体存在一个关键的磷酸化靶点结构域的晶体结构,该结构域含有Ser2843(RyR1)和Ser2808/Ser2814(RyR2)磷酸化位点。其中RyR1的磷酸化靶点结构域是11种疾病突变的靶点。但植物组织中RyR的具体机制还有很多未知的地方。Taylor等(2009)研究表明, RyR也可在某些细胞中积累。同时, RyR也存在于肌质网、分泌囊泡、核内体中。

**3.1.3 内质网上的其他通道** 如表2所示,除了上述这两种类型的内质网钙通道,还在不同植物的内质网上发现了特异的钙通道。Klüsener等(1995)在葫芦科植物泻根(*Bryonia dioica*)卷须组织的内质网上发现了钙通道BCC1 (*Bryonia calcium channel 1*),该通道的开放由钙离子浓度梯度控制,而钙离子梯度则由内质网上的Ca<sup>2+</sup>-ATPase调控。该通道有可能是高等植物触觉信号转导途径中钙信号传递途径的关键成分。Klüsener和Weiler (1999)用平面脂双层技术研究了来自于十字花科植物家独行菜(*Lepidium sativum*)根尖细胞内质网中的一种钙通道LCC1 (*Lepidium calcium channel 1*)。BCC1和LCC1都对钙离子具有高度选择性、电压依赖性,同时都可允许Ba<sup>2+</sup>、Sr<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>的通过,可被La<sup>3+</sup>和Gd<sup>3+</sup>抑制。

钙离子从内质网的流出与细胞信号紧密相关。Ca<sup>2+</sup>的释放与cADPR (cyclic ADP ribose)、NAADP (nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate)以及IP<sub>3</sub>有关。这说明依赖cADPR、NAADP、IP<sub>3</sub>的钙离子可能都存在于内质网中,但目前还没有直接证据。

表2 钙通道在内质网的选择性分布

Table 2 Calcium-permeable channels in the endoplasmic reticulum of plant cells

通道	主要位置	附加位置	可通过离子	参考文献
IP <sub>3</sub> R	内质网	细胞质膜、高尔基体、细胞核、分泌小泡	Ca <sup>2+</sup>	Muir和Sanders 1997
RyR	内质网	肌质网、分泌小泡、核内体	Ca <sup>2+</sup>	Taylor等2009
TRPP2	内质网	细胞质膜	Ca <sup>2+</sup>	Taylor等2009
NAADP	内质网	-	Ca <sup>2+</sup>	Taylor等2009
HAC	细胞质膜、内质网	-	Ca <sup>2+</sup>	Taylor等2009
BCC1	内质网	-	Ca <sup>2+</sup> 、Ba <sup>2+</sup> 、Sr <sup>2+</sup> 、Mg <sup>2+</sup>	Klüsener等1995, 1997
LCC1	内质网	-	Ca <sup>2+</sup> 、Ba <sup>2+</sup> 、Sr <sup>2+</sup> 、Mg <sup>2+</sup>	Klüsener和Weiler 1999

### 3.2 分布于叶绿体的钙通道

叶绿体是植物细胞中由双层膜围成, 含有叶绿素能进行光合作用的细胞器。间质中悬浮有由膜囊构成的类囊体, 内含叶绿体DNA。1996年, Pottosin和Schönknecht就研究记录了菠菜叶绿体的类囊体中一种电压依赖性钙通道开放产生的钙离子电流。尽管这种钙通道对一价阳离子的电导率高于二价阳离子, 但是这种通道对二价阳离子的选择性是一价阳离子的2倍。当类囊体膜的叶绿体间质一侧相对于类囊体内部带有较多正电荷时, 该通道的开放能力明显加强。由于此类钙通道控制的是类囊体腔与叶绿体间质之间的钙离子交换, 它在信号转导中是否起作用还有待研究。叶绿体在植物免疫应答的过程中起了至关重要的作用, 因其能产生植物免疫过程中的重要信号物质水杨酸(salicylic acid)和茉莉酸(jasmonic acid)。但是, 叶绿体和线粒体与核免疫系统之间的分子机制仍然未知。Nomura和Shiina (2014)研究发现, 叶绿体和线粒体能够唤起特定的钙信号以应答生物和非生物胁迫。钙离子被叶绿体吸收可由光照刺激、由钌红抑制。钙离子转运蛋白的识别和钙信号分子的存在意味着钙离子不仅在细胞内产生功能, 同时在胞外对植物的免疫力和应激反应产生作用。

Nomura等(2013)发现病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)通道可迅速将蛋白质传送到叶绿体基质并引起特定钙信号。这种存在于叶绿体的蛋白质就是钙离子敏

感受体(calcium-sensing receptor, CAS), 它参与了基质钙离子的运输和R基因介导的敏感细胞的死亡。

### 3.3 分布于液泡膜的钙通道

植物的液泡占据植物细胞体积90%以上, 是细胞内贮量最大的钙离子库, 也是信号转导过程中胞内钙信使的重要来源(Pottosin和Schönknecht 2007)。钙离子在液泡膜上的电化学梯度很大。液泡膜上存在可对刺激因子起反应的钙通道, 低温等环境刺激通过液泡对钙离子的释放和吸收来调节细胞机制中的钙离子水平。

在液泡膜中, 有几种类型的钙通道以共存方式存在(表3)。去极化激活的钙通道(包括慢液泡通道)有二价阳离子选择性, 但他们的生理作用还不清楚。这种电压依赖性、去极化激活的慢液泡(slow vacuolar, SV)通道, 由*tpc1*编码, 具有激活慢、失活慢的性质。然而, 由于其复杂的机制和对阳离子的低选择性, 使得它对钙通道的作用仍然有争议(Peiter 2011)。钙离子浓度的升高可以诱导胞质释放更多的钙离子, 这种现象已在动物细胞中发现, 研究表明, 这种系统对心肌细胞的收缩有至关重要的作用(Krinke等2007)。最近, 这种现象也在植物的保卫细胞中观察到, 在蚕豆保卫细胞的胞质中, 钙离子浓度的升高可以激活位于液泡上的慢液泡钙通道, 致使钙离子外流使液泡去极化, 这种去极化反应促使慢液泡钙通道进一步开放, 这种现象可能是钙振荡的产生与膜外钙内流引起的钙释放(calcium-induced calcium release,

表3 钙通道在液泡的选择性分布  
Table 3 Calcium-permeable channels in the vacuole of plant cells

名称	细胞类型	电导率	抑制剂	可通过离子	参考文献
SV	甜菜根细胞和蚕豆保卫细胞	50~80 pS (100 mmol·L <sup>-1</sup> K <sup>+</sup> 和100 μmol·L <sup>-1</sup> Ca <sup>2+</sup> )	阿米洛利	Ca <sup>2+</sup> 、Ba <sup>2+</sup> 、Mg <sup>2+</sup>	Peiter 2011
Hypac 1	甜菜根细胞	6 pS (10 mmol·L <sup>-1</sup> [Ca <sup>2+</sup> ] <sub>vac</sub> )	硝苯地平、维拉帕米、La <sup>3+</sup> 、[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>cyt</sub>	Ba <sup>2+</sup> 、Sr <sup>2+</sup> 、Ca <sup>2+</sup>	Gelli和Blumwald 1993
Hypac 2	甜菜根细胞	12 pS (5 mmol·L <sup>-1</sup> [Ca <sup>2+</sup> ] <sub>vac</sub> )	Zn <sup>2+</sup> 、Gd <sup>3+</sup>	Ca <sup>2+</sup> 、Ba <sup>2+</sup> 、Sr <sup>2+</sup> 、Mg <sup>2+</sup> 、Mn <sup>2+</sup> 、K <sup>+</sup>	Johannes等1992
Hypac 2	蚕豆保卫细胞	27 pS (5 mmol·L <sup>-1</sup> [Ca <sup>2+</sup> ] <sub>vac</sub> )	Gd <sup>3+</sup> 、硝苯地平、二磺酸	Ca <sup>2+</sup> 、Ba <sup>2+</sup> 、Sr <sup>2+</sup> 、Mg <sup>2+</sup> 、K <sup>+</sup>	Allen和Sanders 1994
IP <sub>3</sub> R	甜菜根细胞	30~50 pS (5 mmol·L <sup>-1</sup> [Ca <sup>2+</sup> ] <sub>vac</sub> )	维拉帕米、肝素、TMB8	Ca <sup>2+</sup> 、Ba <sup>2+</sup> 、Sr <sup>2+</sup>	Taylor等2009
cADPR-Dependent	甜菜根细胞	-	钌红、普鲁卡因	Ca <sup>2+</sup>	Muir和Sanders 1997
cADPR-Dependent	蚕豆保卫细胞	-	[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>cyt</sub>	Ca <sup>2+</sup>	Leckie等1998
TPCs	甜菜根细胞和蚕豆保卫细胞	-	-	K <sup>+</sup> 、Ca <sup>2+</sup>	Parrington和Tunn 2014

CICR)的正反馈机制(Laver等2013)。

早在1992年, Ping等就在烟草细胞悬浮液的液泡中观察到去极化激活的钙通道。这种通道可被一定浓度的 $\text{Cd}^{2+}$ 阻断, 而对相似浓度的 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{La}^{3+}$ 、 $\text{Gd}^{3+}$ 、维拉帕米和硝苯地平没有敏感性, 对 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ 均可选择性通过(Ping等1992)。细胞中 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下电导率为 $19 \text{ pS}$ , 细胞中 $\text{Ba}^{2+}$ 浓度 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下电导率 $30 \text{ pS}$ 。

超极化激活的钙通道也有二价阳离子选择性, 同时还具有催化胞浆 $\text{Ca}^{2+}$ 内流的作用。这些通道可能参与细胞信号传导途径。液泡膜上也存在可被第二信使激活的钙通道, 包括 $\text{IP}_3$ 和 $\text{cADPR}$ 激活的钙通道。Krinke等(2007)研究表明, 在许多动物组织中, 给予一定刺激可引起 $\text{IP}_3$ 的变化从而导致不同的生理反应, 而这些生理反应可能是由于钙离子浓度的变化影响的。现在的研究证实, 在甜菜中发现 $\text{IP}_3$ 能够从液泡中动员钙离子释放, 因此在液泡中也存在 $\text{IP}_3$ 激活的钙通道(Schönknecht 2013)。

另外, 早期的研究发现, 不同来源的钙离子单通道的电导率不同。在胞质中钙离子浓度为 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, Johannes等(1992)在甜菜贮藏根细胞的液泡膜上发现电导率为 $12 \text{ pS}$ 的钙通道, 而Allen和Sanders (1994)在蚕豆保卫细胞的液泡中发现电导率为 $27 \text{ pS}$ 的钙通道。双孔钙通道(Two-pore  $\text{Ca}^{2+}$  channels, TPCs)是只在酸性细胞器和植物液泡中表达的对植物起保护作用的钙通道(Morgan和Galione 2014)。Parrington和Tunn (2014)发现TPCs是NAADP受体通道的重要组成部分, 但TPCs与NAADP的具体关联机制还有待进一步研究。

#### 4 钙通道与植物抗性胁迫

许多生物和非生物胁迫信号都能够引起胞质钙离子水平的波动和某些蛋白磷酸化形式的改变,  $\text{Ca}^{2+}$ 通过钙通道等媒介的介导, 使细胞胞质中的游离 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度发生迅速的变化, 并且和胞内的钙信号感受元件结合, 将应激信号转导扩大(Kudla等2010)。早在1997年, Knight等就利用具有水母素发光蛋白(aequorin)表达系统的拟南芥来检测胞内钙离子浓度变化的荧光信号, 结果发现在外施 $\text{NaCl}$ 或者甘露醇后, 拟南芥萌发苗会在 $5 \text{ s}$ 左右激

发荧光信号, 并且在 $10 \text{ s}$ 左右信号达到峰值(Knight等1997, 1991)。由于荧光信号出现在非常短的时间内, 这就强烈说明在植物细胞膜上存在受逆境胁迫控制的 $\text{Ca}^{2+}$ 通道蛋白, 可以在植物受到胁迫时迅速做出应答, 导致胞外钙内流以及一系列信号转导反应。相比植物钾离子通道(Lan等2011; Véry和Sentenac 2002; Hirsch等1998), 钙离子通道的发现及功能研究相对滞后, 只有少数的钙通道被克隆出来, 并且进行了具体功能研究。

AtTPC1是目前研究最多的钙通道蛋白, 属于慢液泡(SV)双孔钙通道, 参与保卫细胞气孔关闭。通过对AtTPC1的缺失突变体 $attpc\ 1-2$ 的研究发现, 外源 $\text{Ca}^{2+}$ 既不能诱导气孔关闭, 也不能激活质膜型阴离子通道产生电流。这证明了AtTPC1能够在气孔保卫细胞响应外源钙信号, 并且可以参与启动质膜型阴离子通道, 关闭气孔, 而且这一过程并不受ABA和MeJA调控(Islam等2010)。这些结果暗示AtTPC1可能参与多种环境胁迫的反应。Choi等(2014)发现植物具有依赖 $\text{Ca}^{2+}$ 波动的快速胁迫信号传递系统,  $\text{Ca}^{2+}$ 流速可达 $400 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 。对拟南芥根组织进行盐胁迫时,  $\text{Ca}^{2+}$ 通过位于液泡膜上的钙离子通道AtTPC1在皮层和内皮层传播。 $\text{Ca}^{2+}$ 波动/TPC1系统还被推测可能参与在胁迫引发的整个植物体的分子反应并可能有助于整个植物的抗逆性(Choi等2014)。

OsTPC1是在水稻中发现的电位门钙通道, 和它的同源蛋白AtTPC1具有相似的功能, 可以使酵母 $cchl$ 缺失突变体获得功能补偿, 恢复钙通道的作用, 并且可以耐受蔗糖带来的胁迫(Hashimoto等2004)。Hamada等(2012)通过实验证明在水稻悬浮培养细胞中OsTPC1参与了由真菌木聚糖蛋白(TvX)诱导产生的超敏细胞死亡, 并在其中起到重要作用。实验显示, 作为植物细胞抵御真菌的第一步, 在TvX诱导下的胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度持续性增加正是由OsTPC1作为 $\text{Ca}^{2+}$ 通道介导的钙内流, 这对随后产生的植保素合成起到非常重要的作用(Hamada等2012)。TaTPC1是在小麦中发现的 $\text{Ca}^{2+}$ 通道, 实验证实, 该蛋白受到高盐、聚乙二醇、低温( $4 \text{ }^\circ\text{C}$ )和ABA诱导(Wang等2005)。通过功能互补实验, 在酵母 $cchl$ 缺失突变体中表达TaTPC1可以使突变酵母在锂胁迫下存活, 转TaTPC1的植株相对

对照植物,表现出气孔关闭数目更多的现象。这些实验说明Ca<sup>2+</sup>通道参与调节植物对环境变化的响应。Amtmann等(2001)在小麦中发现了LCT1,该蛋白可以使缺乏非选择性Ca<sup>2+</sup>通道MIDI的突变酵母耐受高盐的胁迫,这说明LCT1作为Ca<sup>2+</sup>通道,可以利用转导钙信号的方式提高植物的耐盐性。

研究表明,拟南芥CNGCs家族很多成员通过介导Ca<sup>2+</sup>流动参与植物对逆境的信号转导。Kugler等(2009)证明CNGC19和CNGC20可以响应盐分胁迫。这2个基因在盐浓度增大的时候,基因表达量明显上调,但是对甘露醇诱导时没有反应。CGNC19在根中对盐浓度的变化没有响应,而芽中的表达量在盐胁迫的6~72 h中强烈上调;CGNC20在盐诱导1 h后表达量也明显上升。在cgnc19和cgnc20的T-DNA插入缺失突变系中,在施加了盐胁迫后,检测不出K<sup>+</sup>和Na<sup>+</sup>的变化,这些结果证明CGNC19和CGNC20响应盐分变化,在数小时之内基因表达量明显上调,参与了植物对盐毒害的防御体系。CGNC16可以响应高温及干旱胁迫,cgnc16缺失突变体花粉对外源CaCl<sub>2</sub>高度敏感(Tunc-Ozdemir等2013)。在高温胁迫时,拟南芥花粉和叶片细胞中cGMP的浓度急剧升高,同时,包括热激转录因子HsfA2和HsfB1的多个热胁迫响应基因表达量被削弱。这些证据说明,CGNC16是响应高温及干旱和环核苷酸信号的Ca<sup>2+</sup>渗透通道蛋白。

## 5 展望

植物生长环境中的刺激种类很多、物化性质各异,因而需要不同种类的钙通道完成信号转导。过去几年间,植物细胞内钙通道的研究进展较快。随着膜片钳及其他相关技术的发展,越来越多的离子通道将会为人们发现和认识。

胞质钙离子浓度上升对应于不同的刺激可能在幅度、时程、空间分布等方面存在着差异,最终导致对应于特定刺激的特定反应,众多具有不同空间分布、不同调控机理的钙通道的发现提供了这种可能性。

钙离子作为细胞内重要的信号分子参与胞内稳态和植物生长发育的调节过程,在信号转导过程中占有重要的地位。对钙通道的研究可以更深入的了解植物适应或抵制各种胁迫的机制,是钙

信号研究中的热点和难点。当前,对植物在逆境环境下的生理变化及抗逆反应的研究已较成熟,但尚未将所有生理生化变化的分子机制研究透彻,因此对植物在逆境下产生的许多与逆境反应相关的功能蛋白质进行定位,并利用基因工程的手段将其转化到其他植物中将对农业生产环境保护具有十分重要的意义。

## 参考文献

- Alcázar R, Altabella T, Marco F, Bortolotti C, Reymond M, Koncz C, Carrasco P, Tiburcio AF (2010). Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, 231: 1237~1249
- Allen GJ, Sanders D (1994). Two voltage-gated, calcium release channels coreside in the vacuolar membrane of broad bean guard cells. *Plant Cell*, 6: 685~694
- Amtmann A, Fischer M, Marsh EL, Stefanovic A, Sanders D, Schachtman DP (2001). The wheat cDNA *LCT1* generates hypersensitivity to sodium in a salt-sensitive yeast strain. *Plant Physiol*, 126: 1061~1071
- Boudsocq M, Laurière C (2005). Osmotic signaling in plants. Multiple pathways mediated by emerging kinase families. *Plant Physiol*, 138: 1185~1194
- Boustead CM, Smallwood M, Small H, Bowles DJ, Walker JH (1989). Identification of calcium-dependent phospholipid-binding proteins in higher plant cells. *FEBS Lett*, 244: 456~460
- Charpentier M, Oldroyd GED (2013). Nuclear calcium signaling in plants. *Plant Physiol*, 163: 496~503
- Chin K, DeFalco TA, Moeder W, Yoshioka K (2013). The *Arabidopsis* cyclic nucleotide-gated ion channels AtCNGC2 and AtCNGC4 work in the same signaling pathway to regulate pathogen defense and floral transition. *Plant Physiol*, 163: 611~624
- Chinnusamy V, Schumaker K, Zhu JK (2004). Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signaling in plants. *J Exp Bot*, 55: 225~236
- Choi WG, Toyota M, Kim SH, Hilleray R, Gillroy S (2014). Salt stress-induced Ca<sup>2+</sup> waves are associated with rapid, long-distance root-to-shoot signaling in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 6497~6502
- Cosgrove DJ, Hedrich R (1991). Stretch-activated chloride, potassium, and calcium channels coexisting in plasma membranes of guard cells of *Vicia faba* L. *Planta*, 186: 143~153
- Demidchik V (2012). Characterisation of root plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-permeable cation channels: techniques and basic concepts. In: Volkov AG (eds). *Plant Electrophysiology, Signal and Response*. Heidelberg: Springer-Verlag, 339~369
- Dietrich P, Anshütz U, Kugler A, Becker D (2010). Physiology and biophysics of plant ligand-gated ion channels. *Plant Biol*, 12: 80~93
- Domijan AM, Kovac S, Abramov AY (2014). Lipid peroxidation is essential for phospholipase C activity and the inositol-trisphosphate-related Ca<sup>2+</sup> signal. *J Cell Sci*, 127: 21~26



- Frietsch S, Wang YF, Sladek D, Poulsen LR, Romanowsky SM, Schroeder JI, Harper JF (2007). A cyclic nucleotide-gated channel is essential for polarized tip growth of pollen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 14531~14536
- Gao F, Han X, Wu J, Zheng S, Shang Z, Sun D, Zhou R, Li B (2012). A heat-activated calcium-permeable channel *Arabidopsis* cyclic nucleotide-gated ion channel 6 is involved in heat shock responses. *Plant J*, 70: 1059~1069
- Gelli A, Blumwald E (1993). Calcium retrieval from vacuolar pools (characterization of a vacuolar calcium channel). *Plant Physiol*, 102: 1139~1146
- Gelli A, Blumwald E (1997). Hyperpolarization-activated  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable channels in the plasma membrane of tomato cells. *J Membr Biol*, 155: 35~45
- Gilroy S, Trewavas A (2001). Signal processing and transduction in plant cell: the end of the beginning? *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2: 307~314
- Grabov A, Blatt MR (1999). A steep dependence of inward-rectifying potassium channels on cytosolic free calcium concentration increase evoked by hyperpolarization in guard cells. *Plant Physiol*, 119: 277~288
- Hamada H, Kurusu T, Okuma E, Nokajima H, Kiyoduka M, Koyano T, Sugiyama Y, Okada K, Koga J, Saji H et al (2012). Regulation of a proteinaceous elicitor-induced  $\text{Ca}^{2+}$  influx and production of phytoalexins by a putative voltage-gated cation channel, OsTPC1, in culture rice cells. *J Biol Chem*, 287: 9931~9939
- Hashimoto K, Saito M, Matsuka H, Iida K, Iida H (2004). Functional analysis of a rice putative voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channel, OST-PC1, expressed in yeast cell lacking its homologous gene *CCH1*. *Plant Cell Physiol*, 45: 496~500
- Hepler PK (2005). Calcium: A central regulator of plant growth and development. *Plant Cell*, 17: 2142~2155
- Hirsch RE, Lewis BD, Spalding EP, Sussman MR (1998). A role for the AKT1 potassium channel in plant nutrition. *Science*, 280: 918~921
- Islam MM, Munemasa S, Hossain MA, Nakamura Y, Mori IC, Murata Y (2010). Roles of AtTPC1, vacuolar two pore channel 1, in *Arabidopsis* stomatal closure. *Plant Cell Physiol*, 51: 302~311
- Ivanova H, Vervliet T, Missiaen L, Parys JB, Smedt HD, Bultynck G (2014). Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor-isoform diversity in cell death and survival. *Biochim Biophys Acta*, 1843: 2164~2183
- Jiao Y, Sun L, Song Y, Wang L, Liu L, Zhang L, Liu B, Li N, Miao C, Hao F (2013). AtrbohD and AtrbohF positively regulate abscisic acid-inhibited primary root growth by affecting  $\text{Ca}^{2+}$  signalling and auxin response of roots in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 64: 4183~4192
- Johannes E, Brosnan JM, Sanders D (1992). Parallel pathways for intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  release from the vacuole of higher plants. *Plant J*, 2: 97~102
- Kirpichnikova AA, Rudashevskaya EL, Yemelyanov VV, Shishova MF (2014).  $\text{Ca}^{2+}$ -transport through plasma membrane as a test of auxin sensitivity. *Plants*, 3: 209~222
- Klüsener B, Boheim G, Liss H, Engelberth J, Weiler EW (1995). Gadolinium-sensitive, voltage-dependent calcium release channels in the endoplasmic reticulum of a higher plant mechanoreceptor organ. *EMBO J*, 14: 2708~2714
- Klüsener B, Boheim G, Weiler EW (1997). Modulation of the ER  $\text{Ca}^{2+}$  channel BCC1 from tendrils of *Bryonia dioica* by divalent cations, protons and  $\text{H}_2\text{O}_2$ . *FEBS Lett*, 407: 230~234
- Klüsener B, Weiler EW (1999). A calcium-selective channel from root-tip endomembranes of garden cress. *Plant Physiol*, 119: 1399~1406
- Knight H, Trewavas AJ, Knight MR (1997). Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. *Plant J*, 12: 1067~1078
- Knight MR, Campbell AK, Smith SM, Trewavas AJ (1991). Transgenic plant aequorin reports the effects of touch and cold-shock and elicitors on cytoplasmic calcium. *Nature*, 352: 524~526
- Konopka-Postupolska D, Clark G, Goch G, Debski J, Floras K, Cantero A, Fijolek B, Roux S, Hennig J (2009). The role of annexin 1 in drought stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 150: 1394~1410
- Krinke O, Novotná Z, Valentová O, Martinec J (2007). Inositol triphosphate receptor in higher plants: is it real? *J Exp Bot*, 58: 361~376
- Kudla J, Batistic O, Hashimoto K (2010). Calcium signals: the lead currency of plant information processing. *Plant Cell*, 22: 541~563
- Kugler A, Köhler B, Palme K, Wolff P, Dietrich P (2009). Salt-dependent regulation of a CNG channel subfamily in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol*, 9: 140
- Lan WZ, Lee SC, Che YF, Jiang YQ, Luan S (2011). Mechanistic analysis of AKT1 regulation by CBL-CIPK-PP2CA interaction. *Mol Plant*, 4: 527~536
- Lanner JT, Georgiou DK, Joshi AD, Hamilton SL (2010). Ryanodine receptors: structure, expression, molecular details, and function in calcium release. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2: a003996
- Laohavisit A, Mortimera JC, Demidchika V, Coxon KM, Stancombe MA, Macpherson N, Brownlee C, Hofmann A, Webb AAR, Miedema H et al (2009). *Zea mays* annexins modulate cytosolic free  $\text{Ca}^{2+}$  and generate a  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable conductance. *Plant Cell*, 21: 479~493
- Laver DR, Kong CHT, Imtiaz MS, Cannell MB (2013). Termination of calcium-induced calcium release by induction decay: An emergent property of stochastic channel gating and molecular scale architecture. *J Mol Cell Cardiol*, 54: 98~100
- Leckie CP, McAinsh MR, Allen GJ, Sanders D, Hetherington AM (1998). Abscisic acid-induced stomatal closure mediated by cyclic ADP-ribose. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 15837~15842
- Ma W, Smigel A, Walker RK, Moeder W, Yoshioka K, Berkowitz GA (2010). Leaf senescence signaling: the  $\text{Ca}^{2+}$ -conducting *Arabidopsis* cyclic nucleotide gated channel 2 acts through nitric oxide to repress senescence programming. *Plant Physiol*, 154: 733~743
- Miedema H, Demidchik V, Véry AA, Bothwell JHF, Brownlee C, Davies JM (2008). Two voltage-dependent calcium channels co-exist in the apical plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* root hairs. *New Phytol*, 179: 378~385
- Morgan AJ, Galione A (2014). Two-pore channels (TPCs): Current

- controversies. *BioEssays*, 36: 173~183
- Muir SR, Sanders D (1997). Inositol 1,4,5-trisphosphate-sensitive  $\text{Ca}^{2+}$ -release across non-vacuolar membranes in cauliflower. *Plant Physiol*, 114: 1511~1521
- Nomura H, Komori T, Uemura S, Kanda Y, Shimotani K, Nakai K, Furuichi T, Takebayashi K, Sugimoto T, Sano S et al (2013). Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nat Commun*, 3: 926
- Nomura H, Shiina T (2014). Calcium signaling in plant endosymbiotic organelles: mechanism and role in physiology. *Mol Plant*, 4: 805~808
- Parrington J, Tunn R (2014).  $\text{Ca}^{2+}$  signals, NAADP and two-pore channels: role in cellular differentiation. *Acta Physiol*, 211: 285~296
- Peiter E (2011). The plant vacuole: emitter and receiver of calcium signals. *Cell Calcium*, 50: 120~128
- Pickard BG, Ding JP (1993). The mechanosensory calcium-selective ion channel: key component of a plasmalemmal control centre. *Aust J Plant Physiol*, 20: 439~459
- Piñeros M, Tester M (1995). Characterization of a voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$ -selective channel from wheat roots. *Planta*, 195: 478~488
- Piñeros M, Tester M (2011). Calcium inhibits dihydropyridine-stimulated increases in opening and unitary conductance of a plant  $\text{Ca}^{2+}$  channel. *J Membr Biol*, 240: 13~20
- Ping Z, Yabe I, Muto S (1992). Identification of  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  and  $\text{Ca}^{2+}$  channels in the vacuolar membrane of tobacco cell suspension cultures. *Protoplasma*, 171: 7~18
- Pottosin I, Schönknecht G (1996). Ion channel permeable for divalent and monovalent cations in native spinach thylakoid membranes. *J Membr Biol*, 152: 223~233
- Pottosin I, Schönknecht G (2007). Vacuolar calcium channels. *J Exp Bot*, 58: 1559~1569
- Pottosin I, Velarde-Buendía AM, Bose J, Fuglsang AT, Shabala S (2014). Polyamines cause plasma membrane depolarization, activate  $\text{Ca}^{2+}$ -, and modulate  $\text{H}^+$ -ATPase pump activity in pea roots. *J Exp Bot*, 65: 2463~2472
- Qu HY, Shang ZL, Zhang HL, Liu LM, Wu JY (2007). Identification of hyperpolarization-activated calcium channels in apical pollen tubes of *Pyrus pyrifolia*. *New Phytol*, 174: 524~536
- Schönknecht G (2013). Calcium signals from the vacuole. *Plants*, 2: 589~614
- Steinhorst L, Kudla J (2013). Calcium and reactive oxygen species rule the waves of signaling. *Plant Physiol*, 163: 471~485
- Swarbreck SM, Colaço R, Davies JM (2013). Plant calcium-permeable channels. *Plant Physiol*, 163: 514~522
- Taylor CW, Prole DL, Rahman T (2009).  $\text{Ca}^{2+}$  channels on the move. *Biochemistry*, 48: 12062~12080
- Thuleau P, Ward JM, Ranjeva R, Schroeder JI (1994). Voltage-dependent calcium-permeable channels in the plasma membrane of a higher plant cell. *EMBO J*, 13: 2970~2975
- Tunc-Ozdemir M, Tang C, Ishka MR, Brown E, Groves NR, Myers CT, Rato C, Poulsen LR, McDowell S, Miller G et al (2013). A cyclic nucleotide-gated channel (CNGC16) in pollen is critical for stress tolerance in pollen reproductive development. *Plant Physiol*, 161: 1010~1020
- Véry AA, Sentenac H (2002). Cation channels in the *Arabidopsis* plasma membrane. *Trends Plant Sci*, 7: 168~175
- Wang YF, Munemasa S, Nishimura N, Ren HM, Robert N, Han M, Puzđorjova I, Kollist H, Lee S, Mori I et al (2013). Identification of cyclic GMP-activated nonselective  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable cation channels and associated *CNGC5* and *CNGC6* genes in *Arabidopsis* guard cells. *Plant Physiol*, 163: 578~590
- Wang YJ, Yu JN, Chen T, Zhang ZG, Zhang ZG, Hao YJ, Zhang JS, Chen SY (2005). Functional analysis of a putative  $\text{Ca}^{2+}$  channel gene *TaTPCI* from wheat. *J Exp Bot*, 56: 3051~3060
- Weiger TM, Hermann A (2014). Cell proliferation, potassium channels, polyamines and their interactions: a mini review. *Amino Acids*, 46 (3): 681~688
- White PJ (2000). Calcium channels in higher plants. *Biochim Biophys Acta*, 1465: 171~189
- White PJ (2009). Depolarization-activated calcium channels shape the calcium signatures induced by low-temperature stress. *New Phytol*, 183: 6~8
- Yuchi Z, Lau K, Van Penegem F (2012). Disease mutations in the ryanodine receptor central region: crystal structures of a phosphorylation hot spot domain. *Structure*, 20: 1201~1211
- Zhang G, Liu Y, Ni Y, Meng Z, Lu T, Li T (2014). Exogenous calcium alleviates low night temperature stress on the photosynthetic apparatus of tomato leaves. *PLoS One*, 9: e97322
- Zhou L, Lan W, Jiang Y, Fang W, Luan S (2014). A calcium-dependent protein kinase interacts with and activates a calcium channel to regulate pollen tube growth. *Mol Plant*, 7: 369~376
- Zimmermann S, Nürnberger T, Frachiss JM, Wirtz W, Guern J, Hedrich R, Scheel D (1997). Receptor-mediated activation of a plant  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable ion channel involved in pathogen defense. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 2751~2755