

# 植物中解密 $\text{Ca}^{2+}$ 信号转导特异性的机制

李玉菊 李小方\*

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

**摘要**  $\text{Ca}^{2+}$  信号介导植物对外界信号的刺激反应, 并调节多种生理过程。CBL 是一种在植物中发现的  $\text{Ca}^{2+}$  结合蛋白, 其靶蛋白为 CIPK, 现对 CBL-CIPK 信号转导系统及其如何解密  $\text{Ca}^{2+}$  信号转导特异性进行综述。

**关键词** CBL; CIPK;  $\text{Ca}^{2+}$  信号转导; 解密

许多细胞外信号, 包括生物以及非生物的胁迫, 会引起植物细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的改变<sup>[1-4]</sup>。并且植物许多固有的生长发育过程, 如根毛的生长、花粉管的定向形成, 都是由  $\text{Ca}^{2+}$  信号转导控制的<sup>[5-7]</sup>。由于不同的信号引起不同的特异性细胞反应, 所以细胞是怎样区分不同刺激引起的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化以及怎样将该信号转导下去是个非常重要的生物学问题。已有的研究表明钙离子浓度变化的不同频率特点和区域特异性是导致不同的信号刺激产生特异性生理反应的原因<sup>[8]</sup>。但是植物细胞究竟是怎样解密这种  $\text{Ca}^{2+}$  的信号特异性呢? 这要从  $\text{Ca}^{2+}$  感受器说起。感受器通常是能结合  $\text{Ca}^{2+}$  并因之而改变构象的蛋白质, 它监测  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的瞬间变化并把信号传给它的靶蛋白, 引起细胞的反应, 最终表现为植物的各种生理效应。在高等植物中已经鉴定出几种  $\text{Ca}^{2+}$  感受器。最早为人所知的是钙调素(CaM)和与之相关的蛋白质, 其典型特征是具有能结合  $\text{Ca}^{2+}$  的 4 个 EF 手形结构。第二类是钙依赖性蛋白激酶(calcium-dependent and calmodulin-independent protein kinase, CDPK), 它不仅包含与 CaM 相似的  $\text{Ca}^{2+}$  结合域, 还包含一个激酶域。所以不仅有  $\text{Ca}^{2+}$  感受器功能, 而且有  $\text{Ca}^{2+}$  感受活性因子功能。Liu 等<sup>[9]</sup>和 Kudla 等<sup>[10]</sup>分别于 1998 年和 1999 年在拟南芥中发现了一个新的  $\text{Ca}^{2+}$  感受器家族, 该家族的蛋白质与动物的调节磷酸激酶亚单位——钙调磷酸酶 B 相似, 称之为 CBL (calcineurin B-like protein, CBL)。CBL 以蛋白激酶家族(CBL interacting protein kinase, CIPK)为靶蛋白, 目前在拟南芥中已经发现有 10 种 CBL 和 25 种 CIPK, 水稻中有 10 种 CBL 和 30 种 CIPK<sup>[11]</sup>, 在其他植物中也有类似的蛋白质发现。遗传学分析已经开始揭示单个的 CBL 和 CIPK 的作用。已获得的研究结果表明, CBL-CIPK 的相互作用构成广泛的网络系统, 在很多的信号途径中起作用, 包括植物对

非生物胁迫以及脱落酸(ABA)的反应。下面以拟南芥为主来介绍一下 CBL-CIPK 信号转导系统及其是如何解密  $\text{Ca}^{2+}$  的信号特异性的。

## 1 CBL 的基因与蛋白质

在拟南芥中, CBL(AtCBL)由一个小的基因家族编码, 目前已经知道这个家族至少有 10 个基因。它们除了在编码的结构与长度上有所变化外, 基本结构类似。它们编码的蛋白质氨基酸序列同源性在 20% 到 90% 内变动<sup>[10]</sup>。CaM 有 4 个螺旋-环-螺旋模体(helix-loop-helix structural motif)(EF 手形结构), EF 手形结构的共有序列都包含 12 个氨基酸组成的环, 为  $\text{Ca}^{2+}$  结合位点[其中 1, 3, 5, 7, 9 和 12 的氨基酸用以结合  $\text{Ca}^{2+}$ , 而 1(Asp)、6(Gly)、12(Glu)位是环中 3 个最保守的氨基酸]<sup>[12, 13]</sup>。CBL 与 CaM 的 EF 手形结构只有在保守序列上相似, 其他序列同源性很小<sup>[13]</sup>。如果把 CaM 的 EF 手形结构看作是典型结构, 不同的 CBL 具有不同数量的典型 EF 手形结构: AtCBL6、AtCBL7、AtCBL8、AtCBL10 四者都只有一个典型的 EF 手形结构, AtCBL1、AtCBL9 两者都各有两个, AtCBL2、AtCBL3、AtCBL4、AtCBL5 则都没有典型的 EF 手形结构<sup>[11]</sup>。但是对蛋白质的晶体结构分析表明 AtCBL2 有两个能与  $\text{Ca}^{2+}$  结合的 EF 手形结构, 尽管是 EF 手形结构的非典型序列<sup>[14]</sup>。这样不同的 CBL 结合  $\text{Ca}^{2+}$  的能力和数量是不一样的。这就为 CBL 作为一种  $\text{Ca}^{2+}$  感受器感应多种刺激引起的信使  $\text{Ca}^{2+}$  的变化提供了基础。

## 2 CBL 的靶蛋白——CIPK

收稿日期: 2004-11-01 接受日期: 2005-04-08

上海市自然科学基金资助项目(No.44030920)

\* 通讯作者。Tel: 021-62233582, Fax: 021-62233754, E-mail:

xfli@bio.ecnu.edu.cn

与 CaM 相同的是 CBL 虽然能结合 Ca<sup>2+</sup>，但自身没有激酶域，必须和其他的靶蛋白作用才能发挥其作用。利用酵母双杂交技术鉴定出 CBL 的靶蛋白是蛋白激酶家族成员，命名为 CIPK<sup>[15,16]</sup>。CIPK 与 SNF1/AMPK 家族在激酶域上是相关的，属于 Ser-Thr 蛋白激酶，但在 C 端区域含有一个独特的 24 个氨基酸组成的调节域即 NAF 结构域<sup>[17]</sup>，这一调节域是 CBL-CIPK 的相互作用所必不可少的，NAF 结构域的序列在所有 CIPK 中高度保守。CIPK 的 N 端能抑制或调节 CBL-CIPK 的相互作用<sup>[18]</sup>。如完整的 CIPK5 不与任何 AtCBL 作用，而它缺失了 N 端的 C 端区域与 AtCBL1、AtCBL3、AtCBL4 作用明显，这表明 CIPK5 的 N 端区域能完全阻碍 C 端区域与 AtCBL 的作用。而缺失 N 端的 CIPK1、CIPK2 和 CIPK3 都能与 AtCBL1 作用，而在检测完整蛋白质相互作用时，只有 CIPK1 能与 AtCBL1 作用。同样 AtCBL4 能与 CIPK5 和 CIPK6 的缺失了 N 端的 C 端区域互相作用，而不与完整的 CIPK5 作用，只与完整的 CIPK6 作用。酵母双杂交检测结果表明每一种 CBL 和其特定的一套 CIPK 相互作用，每一种 CIPK 作用于一种或者更多的 CBL。CBL-CIPK 的这种特异重复的作用机制表明这两种基因家族功能上的特异性和丰富性。

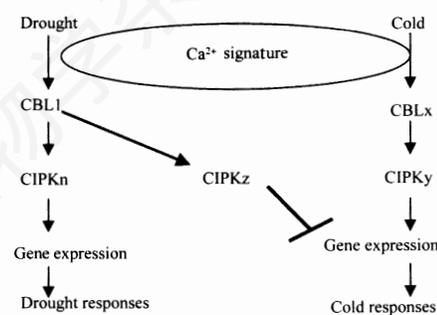
CBL1 与 CIPK1 的相互作用不仅与两者的结构有关，还需要微摩尔水平上的 Ca<sup>2+</sup><sup>[15]</sup>。当反应系统中的 Ca<sup>2+</sup> 被 EGTA 螯合掉后，CBL1 与 CIPK1 之间不发生反应。而加入微摩尔量的 Ca<sup>2+</sup> 时，两者之间反应非常明显。这说明了 Ca<sup>2+</sup> 是 Ca<sup>2+</sup> 感受器和它的靶蛋白相互作用的触发因子<sup>[19]</sup>。

### 3 CBL-CIPK 系统解密 Ca<sup>2+</sup> 信号转导的特异性

植物细胞在各种不同的刺激下，最初的反应几乎都是引起 Ca<sup>2+</sup> 浓度变化，而最终的生理学效应却相差很大。比如根毛的伸长、花粉管的定向生成等，都是由 Ca<sup>2+</sup> 浓度变化开始<sup>[5-7]</sup>，诱发特异的 Ca<sup>2+</sup> 信号而形成的。近些年来的研究表明，钙瞬变，钙振荡，钙信号的空间定位，钙波等因素是编码 Ca<sup>2+</sup> 信号转导特异性的，而 Ca<sup>2+</sup> 信号特异性的解码则主要依赖于与 Ca<sup>2+</sup> 结合的感受器蛋白<sup>[8]</sup>。关于 CaM 和 CDPK 功能的研究已经有许多报道，也取得很多的进展，但缺点是两者的靶蛋白都很多，研究起来较为困难。相比之下，CBL 只有一类靶蛋白——CIPK，所以有特殊的研究意义。

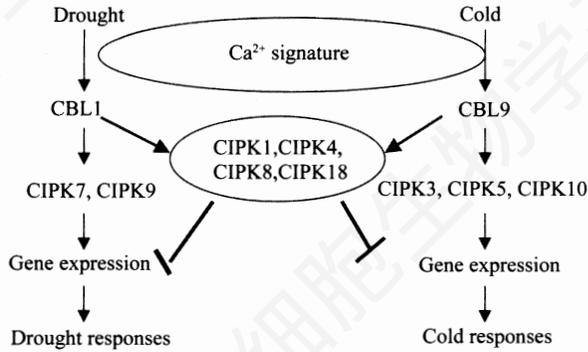
在拟南芥中有 10 种 CBL 和 25 种 CIPK，水稻

中有 10 种 CBL 和 30 种 CIPK，这两种基因家族如何实现其功能上的特异性和丰富性呢？以拟南芥为例，许多研究表明 CBL-CIPK 的相互作用参与植物对多种胁迫以及脱落酸(ABA)的反应。如 *cbl1* 突变体植株表现为抗冷性增强和抗旱性减弱，并且该突变体不影响植株对 ABA 的反应<sup>[20]</sup>。干旱和盐胁迫条件下 *CBL1* 基因表达增强；而 *CBL1* 的过量表达的植株明显增强了对盐和干旱的耐受性，但减弱了抗冷性，这些研究暗示了 CBL1 对盐和干旱属于正向调节，而对冷反应是负调节。如果说 Ca<sup>2+</sup> 转导途径是由分子链组成，那么作为监测 Ca<sup>2+</sup> 浓度瞬间变化的感受器 CBL1 参与抗旱与抗冷两种途径，表现两种不同生理效应必然是由不同的靶蛋白即 CIPK 实现的，而参与抗冷正调控的必然是其他的 CBL-CIPK (图 1)。和 CBL1 同源性高达 85% 的 CBL9 的研究揭开了图 1 中的几个未知数。由 T-DNA 插入而导致的 *cb19* 突变体特异性地破坏了植株对 ABA 的反应和抗冷性<sup>[11]</sup>；而 CBL9 的过量表达的植株明显增强了抗冷性(未发表资料，来源于 2004 年 7 月栾生(Sheng Luan)先生在上海东方论坛的报告)。这样 CBL1 和 CBL9 不同的靶蛋白 CIPK 可能决定它们参与不同的信号调控途径，而 CBL1 对 CBL9 参与的冷反应是负调节暗示 CBL1 与 CBL9 有共同的靶蛋白，两者对共同靶蛋白的结合可能是竞争性的，同理可推测 CBL9 对 CBL1 参与的干旱反应是负调节。酵母双杂交检测结果以及遗传学功能分析表明 CIPK7、CIPK9 特异性参与植物的抗旱性，CIPK3、CIPK5、CIPK10 特异性参与植物的抗冷性，CIPK1、CIPK4、CIPK8、CIPK18 两种途径都参与(图 2)。Microarray 试验结果显示在干旱和冷害条件下表达被增强的 CIPK 及 CBL(图 3)验证了部分前边的结论，部分 CIPK 的功能分析仍在进行中。可见不同的信号刺激引起

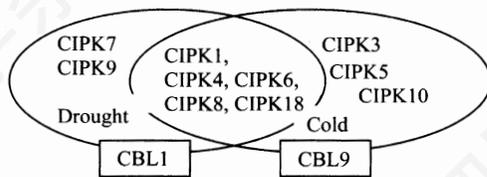


**Fig.1 The model of positive response to drought and negative response to cold mediated by CBL1 (Unreported results, from Sheng Luan's speech in the seminar of "Genomics to Proteomics and Metabolomics", July, 2004, Shanghai)**

x, y, z, n: represent speculated CBL or CIPK individually.



**Fig.2 Responses of the plant to cold and drought mediated by CBL-CIPK (Unreported results, from Sheng Luan's speech in the seminar of "Genomics to Proteomics and Metabolomics", July, 2004, Shanghai)**



**Fig.3 The microarray results showing enhanced expression of CIPKs and CBLs induced by drought and cold (Unreported results, from Sheng Luan's speech in the seminar of "Genomics to Proteomics and Metabolomics", July, 2004, Shanghai)**

钙离子浓度在频率特点和区域特异性的变化<sup>[8]</sup>, 这种变化能被特异性  $\text{Ca}^{2+}$  感受器 CBL 感应, 通过不同的 CBL-CIPK 系统解密和调控特异性的生理反应。

#### 4 小结

$\text{Ca}^{2+}$  作为植物的多种信号转导过程中的第二信使, 认识  $\text{Ca}^{2+}$  怎样在无数的环境信号触发下介导细胞的各种反应, 是非常重要的研究课题。最近研究表明新发现的  $\text{Ca}^{2+}$  感受器 CBL 通过 CBL-CIPK 系统

解密和调控特异性刺激引起的特异性生理反应。拟南芥中有 10 种 CBL 与 25 种 CIPK, 其中只有部分 CBL-CIPK 的功能得到了阐明, 如 CBL4 和 CIPK24 相互作用, 使得植物具有抗盐性<sup>[16]</sup>; CBL1 可以提高植物抗干旱和耐盐性; CBL9 则与抗冷性有关; CIPK14 (AtSR2) 与特异的糖感受机制有关<sup>[21-22]</sup>; AtCBL2-CIPK14 则被认为与光信号转导有关<sup>[14,21,22]</sup>。阐明 CBL-CIPK 相互作用构成的网络解密系统, 不仅理论研究上具有重大意义, 而且在农业生产上有着很大的潜在应用价值。比如过量表达抗旱特异性的 CIPK7、CIPK9 可以使植物特异性增强抗旱性而不影响其他生理反应。

#### 参考文献 (References)

- [1] Trewavas A *et al.* *Plant Mol Biol*, 1994, **26**: 1329
- [2] Bush DS *et al.* *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1995, **46**: 95
- [3] Sanders D *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 691
- [4] Rudd JJ *et al.* *New Phytol*, 2001, **151**: 7
- [5] Felle HH *et al.* *Plant Physiol*, 1997, **114**: 39
- [6] Holdaway-Clarke TL *et al.* *Plant Cell*, 1997, **9**: 1999
- [7] Wymer CL *et al.* *Plant J*, 1997, **12**: 427
- [8] 尚忠林等. *植物生理学通讯*, 2003, **39**: 93
- [9] Liu J *et al.* *Science*, 1998, **280**: 1943
- [10] Kudla J *et al.* *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1999, **96**: 4718.
- [11] Kolukisaoglu U *et al.* *Plant Physiol*, 2004, **134**: 43
- [12] 马力耕等. *生物物理学报*, 1996, **12**: 1
- [13] Luan S *et al.* *Plant Cell*, 2002, **14**: s389
- [14] Nagae M *et al.* *J Biol Chem*, 2003, **278**: 42240
- [15] Shi J *et al.* *Plant Cell*, 1999, **11**: 2393
- [16] Halfter U *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 3735
- [17] Albrecht V *et al.* *EMBO J*, 2001, **20**: 1051
- [18] Kim KN *et al.* *Plant Physiol*, 2000, **124**: 1844
- [19] Zielinski RE *et al.* *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, **49**: 697
- [20] Albrecht V *et al.* *Plant J*, 2003, **36**: 457
- [21] Chikano H *et al.* *Mol Gen Genet*, 2001, **264**: 674
- [22] Nozawa A *et al.* *Plant Cell Physiol*, 2001, **42**: 976

## The Mechanism of Decoding $\text{Ca}^{2+}$ Signaling in Plants

Yu-Ju Li, Xiao-Fang Li\*

(School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

**Abstract** Calcium signals mediate a multitude of plant responses to external stimuli and regulate a wide range of physiological processes. CBL, a new family of  $\text{Ca}^{2+}$  sensors, were defined in plants. These proteins interact with their target proteins named as CBL-interacting protein kinase (CIPK). In this review, we introduce the system of CBL-CIPK and the role of this system in decoding the specific signal of  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Key words** CBL; CIPK; signal transduction; decoding

Received: November 1, 2004 Accepted: April 8, 2005

This work was supported by the Natural Science Foundation of Shanghai City (No.44030920)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-62233582, Fax: 86-21-62233754, E-mail: xfli@bio.ecnu.edu.cn