



评述

植物类钙调素生理功能的研究进展

曾后清, 张夏俊, 张亚仙, 汪尚, 皮二旭, 王慧中, 杜立群

杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310036

E-mail: zenghq@hznu.edu.cn

收稿日期: 2015-12-10; 接受日期: 2016-03-16; 网络版发表日期: 2016-05-31

国家自然科学基金(批准号: U1130304)和浙江省自然科学基金(批准号: LY15C020006)资助

摘要 钙调素(也称钙调蛋白)是一种广泛存在于真核生物中的钙感受器, 参与各种生理活动的信号转导. 植物除了含有钙调素以外, 还含有一类与钙调素同源性很高, 但在结构上又不同于钙调素的蛋白, 称为类钙调素(也称类钙调蛋白). 近年来, 人们在植物特有的类钙调素的功能研究方面取得了一些重要的进展. 研究表明, 类钙调素与钙调素一样, 也具有广泛的生物学功能, 参与植物生长发育和对各种胁迫的响应. 本文就植物类钙调素与钙调素之间的区别、类钙调素与钙离子及靶蛋白的结合, 以及类钙调素的各种生理功能进行总结.

关键词 钙信号, 钙调素(钙调蛋白), 类钙调素(类钙调蛋白), 生理功能, 胁迫响应

钙(Ca^{2+})作为一种第二信使, 在植物生长发育和胁迫响应的信号转导中发挥重要作用^[1-3]. 植物在感受发育相关信号以及生物或非生物胁迫的刺激后, 通过激发 Ca^{2+} 泵和 Ca^{2+} 通道, 进而诱导细胞内 Ca^{2+} 浓度出现快速和瞬时的变化(即钙瞬变, Ca^{2+} transients), 最终产生刺激特异性的生理反应. 因为诱导植物细胞产生钙瞬变的因素很多, 解析钙信号引起的细胞特异性反应的机理非常重要. 关于 Ca^{2+} 信号如何产生特异性反应, 目前存在两种假说, 即钙签(Ca^{2+} signature)假说和钙转换器(Ca^{2+} switch)假说^[4,5]. 这两种假说都有实验证据支持, 但并不相互排斥. 钙签假说是指细胞在感受刺激后细胞内 Ca^{2+} 浓度产生特定振幅、频率、空间分布和持续时间的瞬时变化, 从而产生刺激特异性的下游反应^[4,6]. 但钙签假说并不能解释所有钙信号解码的特异性反应.

例如, 盐胁迫和干旱胁迫诱导产生的钙瞬变的幅度和持续时间相似, 但它们产生的下游反应却不同^[7]. 钙转换器假说指出钙信号解码的特异性反应也来源于钙结合蛋白, 即钙感受器(Ca^{2+} sensor)^[5]. 不管是钙签假说还是钙转换器假说, 钙信号的转导都需要将信号传递至下游的钙感受器. 因此, 钙感受器在信号转导途径中占据重要的位置.

目前已经鉴定了一些 Ca^{2+} 结合结构域(Ca^{2+} -binding domain), 其中最常见的是 EF 手单元(EF-hand motif)^[8]. EF 手单元是一种由 29 个氨基酸组成的螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix)结构, 中心的 12 个氨基酸残基形成一个与 Ca^{2+} 结合有关的转环(turn-loop)结构^[8]. 这种结构特点使 EF 手单元可以快速与 Ca^{2+} 结合或分离, 从而对细胞内 Ca^{2+} 浓度的变化做出快速的反应, 这可能是 Ca^{2+} 信号解码的一个重要特征. 通

引用格式: 曾后清, 张夏俊, 张亚仙, 等. 植物类钙调素生理功能的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 705-715

Zeng H Q, Zhang X J, Zhang Y X, et al. Physiological functions of calmodulin-like proteins in plants. Sci Sin Vitae, 2016, 46: 705-715, doi: 10.1360/N052015-00351

常钙感受器含有一个或多个 EF 手单元, 并且钙感受器中 EF 手单元的序列高度保守^[2]. 所有真核生物都含有带 EF 手单元的蛋白^[8]. 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中含有 250 个带 EF 手单元的蛋白, 比其他植物要多^[9]. 根据 EF 手单元的数目与排列以及 EF 手单元外的序列与结构域, 植物中含 EF 手单元的钙感受器主要分为三大家族: 钙调素(也称钙调蛋白)(calmodulin, CaM)和类钙调素(也称类钙调蛋白)(CaM-like protein, CML)、类钙调神经素 B(calcineurin-B like protein, CBL)以及钙依赖型蛋白激酶(Ca^{2+} -dependent protein kinase, CDPK)^[10-13]. 其中 CML 和 CBL 是植物特有的, 除了某些原生生物外, CDPK 也只存在于植物^[2,14]. 可见, 这些钙感受器在植物生长发育过程中具有重要的作用. 近年来, 通过基因表达谱分析、分子与遗传学分析以及蛋白生化分析方法, 人们在植物 CML 家族的研究方面取得了一些重要的进展. 本文就植物 CML 生理功能的研究进展进行总结.

1 植物 CaM 与 CML

植物 CaM 是目前人们认识最为清楚的钙感受器. 它们的功能涉及植物生长发育过程中的各种生理活动, 最近发表的综述进行了详细的描述^[10,15-18]. 植物基因组中含有多个编码 CaM 的位点; 拟南芥具有 7 个 CaM 基因(CaM1~7), 编码 4 种 CaM 亚型(CaM1/4, CaM2/3/5, CaM6 和 CaM7)^[19]. 植物除了含有非常保守的 CaM 外, 还含有一类编码 CML 的家族基因, 拟南芥 CML 家族有 50 个成员, 水稻(*Oryza sativa*) CML 家族有 32 个成员^[19-21]. 可见, CML 是一个多成员的基因家族. 与 CaM 类似, CML 除了含有结合 Ca^{2+} 的 EF 手单元外, 不含其他的功能性结构域^[21]. 与含 4 个 EF 手单元的 CaM 不同的是, CML 含有的 EF 手单元数目从 1 到 6 个不等, 如拟南芥 CML1 含有 1 个、CML12 含有 6 个. 植物中具有一个 CaM 蛋白由多个基因编码的情况, 而 CML 蛋白一般没有这种情况^[19,22,23]. 此外, CML 中央的螺旋接头与 CaM 也存在差异^[11]. CaM 中央的螺旋接头在结构上具有柔性(flexibility), 这对其与靶蛋白互作时构象的变化非常重要; 而 CML 两个球型结构域之间的接头区域通常比 CaM 更长, 这可能会改变 CML 的柔性及其与下游靶蛋白的互作.

2 CML 与 Ca^{2+} 的结合

CaM 与 Ca^{2+} 结合的亲和性分布范围从高亲和性的 nmol/L 到低亲和性的 mmol/L, 这个范围处于钙瞬变时细胞质 Ca^{2+} 浓度波动的范围之内^[6], 说明 CaM 可能会动态性地响应细胞质 Ca^{2+} 浓度的变化. CaM 的 EF 手单元在结合 Ca^{2+} 后, 螺旋间的角度增加, 这使 CaM 的结构发生改变以响应 Ca^{2+} 变化^[24]. 生化分析表明, CML 结构的性质与 CaM 相似. 通过等温线滴定量热法(isothermal titration calorimetry)分析 CML42 结合 Ca^{2+} 的亲和性, 人们发现 CML42 有 3 个 Ca^{2+} 结合位点, 一个在 N 端, 两个在 C 端; 其中两个结合位点的解离常数与 CaM 相似, 而第 3 个结合位点的亲和性大约为 30 nmol/L, 表明在静息状态下第 3 个 EF 手单元可能一直结合 Ca^{2+} ^[25]. 因此, 这个 EF 手单元可能具有结构上的作用, 而其他两个可能具有 Ca^{2+} 感受的作用. 与 CaM 类似, 在 Ca^{2+} 存在的情况下 CML42 的表面疏水性大量增加^[25]. 值得注意的是, Ca^{2+} 诱导 CML42 构象的变化与经典 CaM 不同^[25]. Ca^{2+} 的结合使 CaM 的二级结构和三级结构都发生变化; 但 CML42 的二级结构在 Ca^{2+} 存在情况下不发生变化, 而三级结构会发生变化. 此外, 研究人员通过核磁共振光谱(nuclear magnetic resonance spectroscopy)对拟南芥 CML34 N 端的一对 EF 手单元的结构进行解析, 发现在 Ca^{2+} 存在的情况下, CML34 N 端的第一个 EF 手单元与 CaM 对应的结构域具有相似的结构; CML34 螺旋间角度约 102° , CaM 约 104° ^[26]. 有趣的是, 在同样情况下, CML34 N 端的第 2 个 EF 手单元螺旋间角度约 147° , 而 CaM 约 102° , 表明 CML 和 CaM 在结合 Ca^{2+} 时在构象变化上存在差异^[26]. 可见, CML 蛋白之间序列的差异可能使它们对 Ca^{2+} 具有不同的响应, 这可能有利于 CML 功能的特异性或解码特异的钙信号.

3 CML 与靶蛋白的互作

植物 CaM 结合结构域(CaM binding domain, CaMBD)大约由 12~30 个连续的氨基酸组成. 虽然序列并不保守, 但它们通常具有保守的二级结构, 即可形成两性(亲水性和疏水性)的 α -螺旋^[24]. 这种结构特征使 CaMBD 可以与 Ca^{2+} /CaM 暴露的疏水穴(hydrophobic cleft)相互作用. 此外, CaM 和 CaMBD

之间的静电互作使 CaM 与靶标形成的复合体更稳固. 植物中 CaM 靶蛋白的种类繁多, 包含蛋白激酶^[27-30]、磷酸酶^[31]、代谢酶^[32,33]、转录因子^[34-36]、转运蛋白^[37-39]、通道蛋白^[40]、热激蛋白^[41], 以及一些功能未知的蛋白^[10,15,42-44]. 研究人员通过蛋白质芯片鉴定了拟南芥 CaM 和 CML 的互作蛋白^[45]. 通过在烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 中表达和纯化 1133 个拟南芥蛋白以筛选 CaM1, CaM6, CaM7, CML8, CML9, CML10 和 CML12 的互作蛋白, 他们发现大约有 25% 的蛋白可以与某个 CaM 或 CML 互作, 也有相似比例的蛋白可以与以上所有 CaM 或 CML 互作. 可见, CaM 和 CML 的靶蛋白存在广泛的重叠, 而且 CaM 或 CML 的靶蛋白在蛋白质组中具有很高的比例^[45]. 然而, 蛋白质芯片鉴定的大部分靶蛋白仍需要进一步验证.

通过遗传学和生物化学实验, 目前已经鉴定了一些 CML 的靶蛋白. 但 CML 结合结构域的分析仍很少. Perochon 等人^[46]通过酵母双杂交鉴定了拟南芥 CML9 下游的一个靶标 PRR2, 发现几乎全部长度的 PRR2 才能与 CML9 互作, 而且 PRR2 与 CML9 的互作并不依赖 Ca^{2+} . 另一项研究发现拟南芥 CML18 与 NHX1 (一个 Na^+/H^+ 反向转运体) 以 Ca^{2+} 依赖的方式互作^[47]. NHX1 与 CML18 互作区域的螺旋轮投影 (helical wheel projection) 结果表明, 该区域是一个双亲性的 α -螺旋结构, 与典型的 CaMBD 结构类似. 有趣的是, NHX1 只特异结合 CML18, 而不与矮牵牛中的同源蛋白 CaM81 结合^[47]. 相似的是, 拟南芥磷酸甘露糖变位酶 (phosphomannomutase, PMM) 也只特异地与 CML10 以 Ca^{2+} 依赖的方式互作, 而不与其他的 CaM 或 CML 互作^[48]. 蛋白序列分段实验表明, PMM 中存在 4 个与 CML10 结合的位点, 但它们都不具有双亲性的 α -螺旋结构. 此外, 在油菜素内酯受体 BRI1 (一种富含亮氨酸重复序列的类受体激酶) 中也鉴定到一个 CaMBD, 其与 CaM 的互作抑制了 BRI1 的蛋白激酶活性^[27]. 值得注意的是, CML8 也抑制该激酶的活性, 但其并不与 BRI1 的 CaMBD 互作^[27]. 有研究表明, 烟草 CML 蛋白 rgsCaM (regulator of gene silencing CaM) 与一个病毒蛋白 HCPro (helper component protease) 互作; HCPro 中存在一段长度为 24 个氨基酸的 RNA 结合结构域 (RNA-binding domain, RNABD), 可以与 rgsCaM 结合^[49]. CaM 与靶

标的互作依赖疏水的性质, 不同的是, rgsCaM 与 RNABD 的互作依赖它们表面所带的离子电荷^[49]. 总之, CML 调节靶蛋白活性的方式可能与 CaM 类似, 但它们与靶蛋白的结合可能又不同于 CaM.

4 CML 的生理功能

4.1 CML 与植物发育

CML 调节植物细胞的形态与分裂. 拟南芥 CML42 功能缺失突变体中表皮毛的分枝数目增加^[25]. KIC (kinesin-like CaM binding protein-interacting Ca^{2+} -binding protein) 是驱动蛋白样马达蛋白 (kinesin-like CaM-binding motor protein, KCBP) 的一个互作蛋白, 通过负向调节 KCBP 的活性调控表皮毛的形态^[50]. 酵母双杂交和 pull-down 实验表明 CML42 与 KIC 以 Ca^{2+} 依赖的方式互作^[25]. KIC 过量表达转基因植物表皮毛分枝减少^[50], 与 CML42 敲除突变体的表型相反, 因而 CML42 正向调节 KIC 的功能, 但两者互作的生理意义仍需进一步研究^[25]. 植物的根毛是从根表皮细胞分化而来. 研究表明, CML 参与根毛伸长的调节. CML7 (也叫 RHS1) 以及 CML25 功能缺失突变体的根毛比野生型都更长^[51,52]; 其中 *cml25* 突变体的根毛在正常条件下没有差异, 但在缺磷条件下更长, 表明缺磷反应和钙信号之间可能存在联系. 拟南芥 TON1 (TONNEAU1) 是人类中心体蛋白 (human centrosomal protein) 的一个同源蛋白, 在细胞皮层微管组织的形成中发挥重要作用^[53]. 研究表明, CML19 (也叫 CENTRIN2) 和 CML20 (也叫 CENTRIN1) 是 TON1 的互作蛋白^[53], 但它们与 TON1 互作的功能和意义仍不清楚. CENTRIN 广泛存在于原生生物、真菌、动物以及低等植物中, 是一种与 CaM 同源的 Ca^{2+} 结合蛋白, 也是微管组织中心的一个重要组成部分^[54].

CML 调节植物开花和自体吞噬 (autophagy). 拟南芥 CML24 功能敲除突变体开花延迟, 而功能获得性突变体开花提前^[55]. CML23 是与 CML24 最同源的蛋白, 它们在不同组织中的表达模式相似, 而且 *cml23 cml24* 双突变体也具有开花延迟的表型, 表明 CML23 和 CML24 功能存在冗余但不完全一致^[55]. 在这些花期改变的突变体中, 与早花或晚花表型有关的 *CONSTANS*, *FLOWERING LOCUS C* 和 *SUPRES-*

SOR OF CONSTANS1 等基因的表达均发生了变化; 与开花有关的信号物质一氧化氮(nitric oxide, NO)的含量也发生了变化^[55]. *CML24* 除了调节植物开花外, 还调节机械刺激响应和自体吞噬^[56,57]. 通过对 *cml24* 突变体的分析, 研究人员发现, *CML24* 可能通过调节皮层微管排布而调节根系对机械刺激的响应^[57]. 自体吞噬是指细胞在营养缺乏等条件下通过去除自身的组分(如线粒体和内质网)并重复利用从而促进细胞重建的过程^[58]. *ATG4* 是一种在自体吞噬过程中发挥作用的半胱氨酸蛋白酶. *ATG4b* 与 *CML24* 互作; *cml24* 突变体中 *ATG4b* 的活性受到影响, 而且自体吞噬过程也受到影响, 例如, 功能获得突变体 *cml24-2* 的自体吞噬增强且对长时间黑暗的敏感性降低. 这些研究表明 *CML24* 通过结合 *ATG4b* 正向调节细胞的自体吞噬过程^[56].

CML 调节花粉粒萌发和花粉管生长. Ca^{2+} 在植物花粉粒的萌发和花粉管的生长中发挥重要作用. 基因芯片数据表明至少有 18 个 *CML* 基因在拟南芥花粉中表达, 其中 9 个基因(*CML2/3/6/15/25/28/29/39/49*)是组织特异性表达^[59]. 烟草花粉瞬时表达的实验结果表明, *CML21* 的过表达抑制了花粉管的伸长并且增加了花粉管的宽度^[60]. 最近的研究表明, *CML24* 和 *CML25* 也调节了花粉粒萌发和花粉管生长^[61,62]. 在 *CML24* 和 *CML25* 功能敲除的突变体中, 花粉粒萌发、花粉管生长以及种子结实率均受到抑制; 这些突变体中花粉粒和花粉管中胞质 Ca^{2+} 浓度均增加. *cml25* 中 Ca^{2+} 介导的 K^{+} 跨膜运输受到抑制, 因而 *CML25* 可能通过调节依赖 Ca^{2+} 的 K^{+} 流动而在花粉的萌发和生长中发挥作用^[62]. 此外, *cml24* 还表现出肌动蛋白细胞骨架结构异常, 并且对肌动蛋白解聚剂 LatB 更不敏感^[61]. 目前这些 *CML* 在花粉萌发和生长的生理过程中所调控的靶蛋白还不清楚.

CML 还与植物生长发育过程中的光信号和激素信号有关. 拟南芥功能缺失突变体 *cml39* 的幼苗在不含蔗糖或其他可代谢碳源的培养条件下, 生长受到极大阻碍, 但在正常情况下不受影响; 在无蔗糖条件下, 黑暗诱导的下胚轴伸长也受到抑制; 启动子融合 *GUS* 的表达分析表明, 黑暗条件下 *CML39* 主要在顶点钩(apical hook)部位表达^[63]. 因此, *CML39* 可能与光信号介导幼苗的生长有关^[63]. *PINOID* 是参与调节 *PIN1*(一个生长素输出载体)定位的一个丝氨酸/苏氨

酸蛋白激酶; *PINOID* 磷酸化 *PIN* 蛋白可以驱动它们往顶端细胞膜方向移动, 从而促进生长素从细胞顶端外运^[64]. 研究表明, *CML12*(也叫 *TCH3*)与 *PINOID* 以 Ca^{2+} 依赖的方式互作, 这种互作可以负向调节 *PINOID* 的激酶活性, 从而降低顶端生长素的外运^[65].

4.2 *CML* 与非生物胁迫响应

基因芯片等基因表达数据表明, 很多 *CML* 基因对各种非生物胁迫都有不同程度的响应^[21,23,66,67], 如拟南芥 *CML6*, *CML17*, *CML28*, *CML37*, *CML40*, *CML44* 和 *CML50* 等受盐和干旱诱导, *CML8*, *CML13*, *CML18* 和 *CML25* 等受盐和干旱抑制^[21]. 水稻 *CML* 基因 *OsMSR2* 也受多种非生物胁迫诱导, 而且过量表达 *OsMSR2* 使转基因植物对 ABA 的敏感性增强, 对盐和干旱的抗性也增强^[68]. 水稻中另一个 *CML* 基因 *CML4* 也受盐和干旱诱导, 过量表达 *CML4* 增强抗旱性^[69]. 启动子分析实验表明, 拟南芥 *CML37* 和 *CML38* 受盐、干旱、氧化胁迫和机械损伤诱导^[70]. 此外, 拟南芥 *CML37*, *CML38* 和 *CML39* 与 *OsMSR2* 同源, 因而它们也可能在非生物胁迫反应中发挥作用.

拟南芥 *CML9* 在调节 ABA 介导的胁迫应答中发挥作用. *CML9* 的表达受盐、干旱、低温以及 ABA 诱导, 而且 *CML9* 对盐胁迫的应答依赖 ABA 的合成与信号转导, 因为在 ABA 合成缺失的突变体 *aba1-5* 以及 ABA 不敏感突变体 *abi1-1* 中, *CML9* 受盐的诱导降低^[71]. 在 NaCl 和 KCl 处理下, T-DNA 插入突变体 *cml9* 种子的萌发率降低, 而 ABA 合成抑制剂氟草敏(norflurazon)则抑制了突变体种子萌发对盐胁迫的敏感性. 此外, *cml9* 突变体对盐和干旱的抗性增强, 这可能与 ABA 敏感性增强有关^[71]. 然而, *CML9* 功能缺失突变体种子和成熟植物对盐胁迫的反应似乎矛盾, 其具体机理有待进一步研究.

拟南芥 *CML18* 参与盐胁迫信号的转导. *CML18* 定位在液泡, 其与液泡 $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ 反向转运体 *NHX1* 互作, 它们之间的互作依赖 Ca^{2+} 和 pH, 并随着 pH 的升高而减弱. *NHX1* 具有运输 Na^{+} 以及 K^{+} 的性能, 但与其与 *CML18* 的结合使 $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ 转运的比例降低. 有趣的是, 液泡的 pH 在盐胁迫下升高^[72]. 因此 *NHX1* 在盐胁迫下可能与 *CML18* 分离, 从而促进 $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ 的反向转运, 使 Na^{+} 储存在液泡中, 进而降低对细胞的伤害^[47].

拟南芥 *CML24* 正向调节植物对 ABA 的反应, 而

负向调节植物对离子胁迫的抗性. 基因表达和启动子分析表明 *CML24* 受多种逆境诱导, 如 ABA、高温、低温和氧化胁迫^[73]. 通过 RNA 沉默抑制 *CML24* 基因的表达, 使转基因植物对 ABA 的敏感性降低, 而且对钴、钼、锌和镁等金属胁迫的抗性增强^[73].

CML 还参与植物对紫外光(ultraviolet, UV)伤害的反应. 通过筛选拟南芥体细胞同源重组(somatic homologous recombination)频率增强的 T-DNA 插入突变体, 人们发现 *CML19* 功能敲除突变体 *cml19* 以及 *CML19* 沉默的突变体对 UV 胁迫都更敏感, 并且它们在体外 DNA 损伤修复的效率都降低, 而过量表达 *CML19* 使植物 DNA 损伤的修复增强^[74]. 进一步研究表明 UV 胁迫促进了 *CML19* 蛋白的表达, 而且 UV 胁迫使 *CML19* 从细胞质快速转移至细胞核^[75]. 核酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)是一种可以消除 UV 辐射等因素导致的 DNA 损伤的 DNA 修复途径. 拟南芥 RAD4 是人类 XPC 的同源蛋白, 在 NER 中发挥作用. 有趣的是, *CML19* 与 RAD4 互作^[75]. 虽然 *CML19* 如何调节 RAD 的活性还不明确, 但 *CML19* 在细胞核中的定位以及与 RAD4 的互作可能是植物通过 NER 减少 UV 导致的 DNA 损伤的重要机理. 此外, 拟南芥功能缺失突变体 *cml42* 对 UV 的敏感性也增强, 这可能与山奈酚甙(kaempferol glycoside)含量的降低有关^[76].

CML 参与调节抗坏血酸(也叫维生素 C, Vc)的生物合成. 植物遭遇各种环境胁迫, 如干旱、盐、寒冷、高温等时会促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生. 虽然 ROS 参与逆境信号的转导, 但是体内积累过多 ROS 也会造成氧化胁迫^[77]. Vc 是一种强还原剂和抗氧化剂, 在植物抵抗氧化胁迫方面具有重要的作用^[78]. 最近的研究表明, 拟南芥 *CML10* 通过与 PMM 互作调节了 Vc 的生物合成^[48]. *CML10* 的表达受氧化胁迫诱导, 在细胞质与 PMM 互作, 因此促进 PMM 的活性; *CML10* 基因沉默的突变体中 Vc 含量下降并且对氧化胁迫更敏感.

4.3 CML 与生物胁迫响应

CML 调节植物对病原菌的防卫反应. 植物对病原菌防卫的第一道防线是通过感受细胞外病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)而产生的. 鞭毛蛋白(flagellin)就是一种典型的 PAMP. 拟南芥 *CML9* 的表达受病原菌

(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000)、鞭毛蛋白和防卫激素水杨酸(salicylic acid, SA)诱导; *CML9* 受病原菌的诱导依赖鞭毛蛋白受体 FLS2 以及 SA 的产生, 因为在 *fls2* 突变体以及 SA 产生受阻的突变体 *sid1* 和 *sid2* 中, *CML9* 不受病原菌诱导^[79]. 遗传学证据表明, *CML9* 基因的敲除和过量表达改变了植物对致病性病原菌的敏感性, 前者增强, 后者降低, 也改变了受病原菌诱导的 *PR1* 基因的表达模式^[79]. 有趣的是, *CML9* 过表达的转基因植物对效应蛋白(effector)分泌功能缺失的突变型病原菌(*P. syringae* pv. *tomato* DC3000 *hrcC*⁻)和非寄主病原菌(*P. syringae* pv. *phaseolicola*, *Pph*)的敏感性却增强. *CML9* 过表达植物对 *Pph* 敏感的表型与鞭毛蛋白的感受有关. 另外, *CML9* 过表达还影响鞭毛蛋白诱导的胼胝质的积累. 由此可见, *CML9* 在鞭毛蛋白介导的信号途径和植物防卫反应中发挥作用; 当病原菌效应蛋白功能正常时, *CML9* 正向调节植物的免疫反应, 但当病原菌效应蛋白的分泌或功能受阻时, *CML9* 负向调节鞭毛蛋白介导的防卫反应^[79]. 研究人员通过蛋白质芯片和酵母双杂交鉴定到一些 *CML9* 的互作蛋白, 其中包含参与植物的防卫反应的转录因子, 如 WRKY53, TGA2 和 TGA3^[45,46,80,81]. *CML9* 定位在细胞质和细胞核^[46], 这与 *CML9* 的靶蛋白可能是转录因子相一致. 然而, *CML9* 是否通过这些转录因子调节植物的免疫反应还有待研究. 鉴于 *CML9* 在植物免疫反应以及非生物胁迫反应中的多种功能, *CML9* 可能与其他 CaM 或 CML 一样, 具有多个靶蛋白, 并且可能根据具体环境条件而优先调控某个或某几个靶蛋白.

拟南芥 *CML24* 除了调节植物发育外, 在植物先天免疫的信号转导途径中也发挥作用. 无毒病原菌的侵染会诱导植物产生钙瞬变, 而钙瞬变的下游是 NO 的产生和超敏反应(hypersensitive response, HR)^[82]. 研究表明, CaM 拮抗剂 W7 抑制了无毒病原菌引起的 NO 产生和 HR, 并且在 *CML24* 功能缺失突变体中这两者都被削弱. 可见, Ca²⁺信号与 NO 以及 ROS 信号之间存在联系; *CML24* 在植物对病原菌的防卫反应中发挥正向作用^[82]. 此外, 拟南芥 *CML43* 及其在番茄(*Lycopersicon esculentum*)中的同源基因 *APR134* 也正向调节植物对病原菌的防卫反应^[83]. 拟南芥 *CML43* 的表达受无毒病原菌诱导, 并且过量表达 *CML43* 会促进植物产生 HR. 通过病毒诱导的基因

沉默(virus induced gene silencing, VIGS)抑制 *APR134* 的表达后, 番茄对无毒丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)的敏感性增强^[83]。最近的研究表明, *CML43* 蛋白定位在细胞质和细胞核中, *CML43* 基因在植物根尖特异表达, 并且受到 SA 促进^[84]。

CML 在植物病毒攻击的防卫反应中也发挥作用。大多数植物病毒是 RNA 病毒, 植物抵抗病毒的一种重要的方式是通过 RNA 沉默系统对病毒基因组进行沉默, 然而大部分病毒可以产生 RNA 沉默抑制子(RNA silencing suppressor, RSS), 阻碍植物对病毒的防卫^[85]。RSS 一般具有 RNABD, 通过结合植物体内抗病毒的双链 RNA 从而抑制 RNA 沉默。HCPro 是一种在转录后水平上抑制基因沉默的 RSS^[86,87]。研究人员通过酵母双杂交在烟草中发现烟草蚀纹病毒(Tobacco etch virus, TEV)中 HCPro 的一个互作蛋白是 rgsCaM; *rgsCaM* 编码一个含有 3 个 EF 手单元的 CML, 其表达受 TEV 诱导^[88]。研究表明, rgsCaM 可以与多种病毒的 RSS 互作, 包含人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)的 RSS 蛋白 Tat^[49]。同源建模分析表明, rgsCaM 可能与 RSS 的 RNABD 结合, 这与 CaM 与 Tat RNABD 的结合类似。进一步分析表明, rgsCaM 与 RSS 的结合削弱了 RSS 结合双链 RNA 的功能, 并且使 rgsCaM-RSS 复合体靶向自噬溶酶体, 从而被快速降解^[49]。可见, rgsCaM 通过抑制 RSS 的活性促进了植物对病毒的防卫。在异位表达芜菁花叶病毒(Turnip mosaic virus) HCPro 的拟南芥中, rgsCaM 的同源基因 *CML38* 的表达大量增加^[89]。拟南芥 *CML38* 与烟草 rgsCaM 氨基酸序列的一致性达 44%, 但其是否参与植物病毒的防卫还值得进一步研究。

研究表明, rgsCaM 还是植物体内基因沉默的一个抑制因子。过量表达 *rgsCaM* 的转基因烟草在根茎连接处形成异常分化的瘤体, 这种表型与过量表达 RNA 沉默抑制因子 TEV HCPro 的转基因烟草类似; 过量表达 *rgsCaM* 抑制了 VIGS 介导的 *GFP* 基因的沉默^[88]。最近, 两个课题组的研究结果也表明, 烟草 rgsCaM 及其拟南芥中的同源基因 *CML39* 是植物体内基因沉默的抑制因子^[90,91]。烟草 *rgsCaM* 的表达受 DNA 双生病毒(geminivirus)番茄黄化曲叶病毒(Tomato yellow leaf curl virus)编码的 RSS 蛋白 β C1 的诱导, 并且 β C1 诱导的基因沉默与 rgsCaM 的诱导有

关; β C1 在诱导 *rgsCaM* 表达后, 可能通过抑制 *RDR6* (RNA-dependent RNA polymerase 6)的表达, 从而影响小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)的合成及其介导的基因沉默^[90]。拟南芥 *CML39* 的表达受番茄金花叶病毒(Tomato golden mosaic virus, TGMV)等双生病毒诱导, TGMV 编码的 RSS 蛋白 AL2 促进 *CML39* 表达, 而且过量表达 *CML39* 使植物对双生病毒更敏感。酵母双杂交和双分子荧光互补实验表明, *CML39* 与 AL2 在细胞核中互作; AL2 可能将 *CML39* 扣留在细胞核从而抑制自身的降解^[91]。然而 rgsCaM 作为 RNA 沉默的内源抑制因子^[88,90], 似乎与 rgsCaM 通过抑制 RSS 活性正向调节植物抗病毒相互矛盾^[49]。这可能是因为各课题组所用的植物病毒以及实验方法不同。另外, rgsCaM 是正向还是负向调节植物对病毒的抗性可能与植物所处的具体环境以及 rgsCaM 在植物体内的含量有关。

CML 还调节植物对食草动物的防卫。拟南芥中多个 CML 基因的表达, 如 *CML9*, *CML11*, *CML12*, *CML16*, *CML17*, *CML23* 和 *CML42* 受到海灰翅夜蛾(*Spodoptera littoralis*)幼虫口腔分泌物的诱导^[76,92], 其中 *CML42* 同时受到海灰翅夜蛾幼虫取食的快速诱导^[76]。遗传学分析表明, *CML42* 负向调节植物抗虫反应。当幼虫以 *CML42* 功能缺失的突变体为食时, 生长受到抑制; *cml42* 抗虫的表型可能与体内葡萄糖异硫氰酸盐(glucosinolate)含量的增加以及虫咬诱导茉莉酸(jasmonic acid, JA)响应基因 *VSP2* 和 *Thi2.1* 表达的增强有关^[76]。在 *cml42* 突变体中, JA 诱导细胞质 Ca^{2+} 浓度的瞬时升高增强, 表明 *CML42* 的敲除可能促进了 JA 的感受。在 JA 受体蛋白 COI1 功能缺失突变体中, *CML42* 受幼虫口腔分泌物的诱导失调, 表明 *CML42* 的诱导表达与 JA 的感受有关。*CML42* 在表皮毛发育中发挥作用^[25], 但 *cml42* 对食草动物的抗性是否与表皮毛形态的变化有关目前仍不清楚。与 *CML42* 相反, *CML37* 正向调节植物对虫害的抗性。拟南芥 *CML37* 的表达受机械损伤和海灰翅夜蛾幼虫取食诱导, 而 *CML37* 的敲除促进了幼虫的生长^[93]。*CML37* 调节植物抗虫与 JA 有关; 虫害诱导 *cml37* 中 JA 的积累降低, JA 响应基因 *VSP2*, *Thi2.1* 和 *PDF1.2* 的表达也降低^[93]。

食草动物的攻击也会造成机械损伤。在机械损伤或触碰(touch)的刺激下, 拟南芥中一些 CML 基因,

如 *CML12*, *CML24*, *CML38* 和 *CML39* 等的表达快速升高^[66,70,94]. 研究表明, JA 参与机械刺激信号的转导; JA 合成受阻的突变体中 *CML39* 的表达受触碰诱导降低^[95], 但 *CML39* 在机械刺激中的具体作用还不明确. 此外, 这些机械响应的基因是否参与植物对食草动物的响应还有待研究.

5 展望

植物的生长发育和逆境响应不是相互孤立, 而是紧密联系的. 不良环境条件引起植物产生的生理反应有利于植物适应环境胁迫以完成整个生命周期. Ca^{2+} 信号在植物生长发育和逆境响应过程中具有重要作用. 因为植物生长的环境具有动态变化和充满胁迫的特点, 钙感受器的多样性和丰富性可能对于植物生长发育和生殖的顺利完成至关重要. CML 作为一类钙感受器, 对其生理功能的研究有助于明晰 Ca^{2+} 信号介导的调控网络并解答钙感受器如何解读钙信号并产生特异性反应.

分子生物学和遗传学等实验证据表明 CML 家族

蛋白参与植物生长发育和对各种胁迫的响应(表 1). 可见, 植物 CML 与 CaM 类似, 也具有广泛的生物学功能. 值得注意的是, 有些 CML 具有多种功能, 如 *CML24* 和 *CML42* 既调节植物的生长发育也调节植物抗逆. CML 功能的多样性是否通过在不同发育阶段和不同生长条件下调控不同靶蛋白来实现, 值得探究. 转录分析表明, 很多 CML 基因对生长发育和逆境信号响应, 但这些 CML 具体的生物学功能还期待更多的研究. 此外, 鉴定调控 CML 基因表达的上游的转录因子, 也是一个值得关注的问题.

虽然某些 CML 的生理功能已经明确, 但这些 CML 主要集中在拟南芥; 拟南芥中大多数 CML 的生理功能仍不清楚, 其他植物 CML 功能的报道更罕见. 因为 CML 家族成员数量多, 同源性高, 不同成员之间不可避免存在功能的冗余. 因此, 建立多重突变体或采用多基因同时沉默的方法, 将有助于分析 CML 家族蛋白的功能. 此外, 已经鉴定的 CML 的靶蛋白还很少, 明确受到 CML 调控的靶蛋白就更少. 因此, 鉴定 CML 的靶蛋白并研究 CML 对靶蛋白功能的调控非常必要.

表 1 植物 CML 的互作蛋白及其介导的生理功能^{a)}

类钙调蛋白	物种	靶蛋白*	生理功能	参考文献
CML7	拟南芥	未知	根毛伸长	[51]
CML9	拟南芥	PRR2	抗盐、抗旱、抗病原菌	[46,71,79]
CML10	拟南芥	PMM	抗坏血酸合成、抗氧化胁迫	[48]
CML12	拟南芥	PINOID	生长素运输	[65]
CML18	拟南芥	NHX1	抗盐	[47]
CML19	拟南芥	TON1, RAD4	微管组织形成、抗紫外光	[53,74,75]
CML20	拟南芥	TON1	微管组织形成	[53]
CML21	拟南芥	未知	花粉管生长	[60]
CML23	拟南芥	未知	开花	[55]
CML24	拟南芥	ATG4b	开花、自体吞噬、花粉萌发与生长、 抗离子胁迫、抗病原菌、机械刺激的响应	[55~57,61,73,82]
CML25	拟南芥	未知	根毛伸长、花粉萌发与生长	[52,62]
CML37	拟南芥	未知	抗虫	[93]
CML39	拟南芥	AL2	幼苗建成、抗病毒	[63,91]
CML42	拟南芥	KIC	表皮毛分枝、抗紫外光、抗虫	[25,76]
CML43	拟南芥	未知	抗病原菌	[83,84]
OsCML4	水稻	未知	抗旱	[69]
OsMSR2	水稻	未知	抗盐、抗旱	[68]
rgsCaM	烟草	HCPPro, βC1	抗病毒	[49,88,90]
APR134	番茄	未知	抗病原菌	[83]

a) *: 靶蛋白的来源, 除了 AL2, HCPPro 和 βC1 来源于植物病毒, 其余均来源于拟南芥

参考文献

- 1 Batistič O, Kudla J. Analysis of calcium signaling pathways in plants. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820: 1283–1293
- 2 DeFalco T A, Bender K W, Snedden W A. Breaking the code: Ca^{2+} sensors in plant signalling. *Biochem J*, 2010, 425: 27–40
- 3 Dodd A N, Kudla J, Sanders D. The language of calcium signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 2010, 61: 593–620
- 4 McAinsh M R, Pittman J K. Shaping the calcium signature. *New Phytol*, 2009, 181: 275–294
- 5 Scrase-Field S A, Knight M R. Calcium: just a chemical switch? *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 6: 500–506
- 6 Evans N H, McAinsh M R, Hetherington A M. Calcium oscillations in higher plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4: 415–420
- 7 Knight H, Trewavas A J, Knight M R. Calcium signalling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. *Plant J*, 1997, 12: 1067–1078
- 8 Gifford J, Walsh M, Vogel H. Structures and metal-ion-binding properties of the Ca^{2+} -binding helix-loop-helix EF-hand motifs. *Biochem J*, 2007, 405: 199–221
- 9 Day I S, Reddy V S, Shad Ali G, et al. Analysis of EF-hand-containing proteins in *Arabidopsis*. *Genome Biol*, 2002, 3: RESEARCH0056
- 10 Poovaiah B W, Du L, Wang H, et al. Recent advances in calcium/calmodulin-mediated signaling with an emphasis on plant-microbe interactions. *Plant Physiol*, 2013, 163: 531–542
- 11 Bender K W, Snedden W A. Calmodulin-related proteins step out from the shadow of their namesake. *Plant Physiol*, 2013, 163: 486–495
- 12 Weinl S, Kudla J. The CBL-CIPK Ca^{2+} -decoding signaling network: function and perspectives. *New Phytol*, 2009, 184: 517–528
- 13 Schulz P, Herde M, Romeis T. Calcium-dependent protein kinases: hubs in plant stress signaling and development. *Plant Physiol*, 2013, 163: 523–530
- 14 Zhu X, Dunand C, Snedden W, et al. CAM and CML emergence in the green lineage. *Trends Plant Sci*, 2015, 20: 483–489
- 15 Zeng H, Xu L, Singh A, et al. Involvement of calmodulin and calmodulin-like proteins in plant responses to abiotic stresses. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 600
- 16 Cheval C, Aldon D, Galaud J P, et al. Calcium/calmodulin-mediated regulation of plant immunity. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833: 1766–1771
- 17 Perochon A, Aldon D, Galaud J P, et al. Calmodulin and calmodulin-like proteins in plant calcium signaling. *Biochimie*, 2011, 93: 2048–2053
- 18 曾后清, 王国平, 王慧中, 等. 植物钙调素结合转录因子 CAMTA/SR 功能的研究进展. *植物生理学报*, 2015, 51: 633–641
- 19 McCormack E, Braam J. Calmodulins and related potential calcium sensors of *Arabidopsis*. *New Phytol*, 2003, 159: 585–598
- 20 Boonburapong B, Buaboocha T. Genome-wide identification and analyses of the rice calmodulin and related potential calcium sensor proteins. *BMC Plant Biol*, 2007, 7: 4
- 21 McCormack E, Tsai Y C, Braam J. Handling calcium signaling: *Arabidopsis* CAMs and CMLs. *Trends Plant Sci*, 2005, 10: 383–389
- 22 Zhao Y, Liu W, Xu Y P, et al. Genome-wide identification and functional analyses of calmodulin genes in *Solanaceous* species. *BMC Plant Biol*, 2013, 13: 70
- 23 Munir S, Khan M R G, Song J, et al. Genome-wide identification, characterization and expression analysis of calmodulin-like (CML) proteins in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant Physiol Bioch*, 2016, 102: 167–179
- 24 Yamniuk A P, Vogel H J. Structural investigation into the differential target enzyme regulation displayed by plant calmodulin isoforms. *Biochemistry*, 2005, 44: 3101–3111
- 25 Dobney S, Chiasson D, Lam P, et al. The calmodulin-related calcium sensor CML42 plays a role in trichome branching. *J Biol Chem*, 2009, 284: 31647–31657
- 26 Song J, Zhao Q, Thao S, et al. Letter to the editor: solution structure of a calmodulin-like calcium-binding domain from *Arabidopsis thaliana*. *J Biomol NMR*, 2004, 30: 451–456
- 27 Oh M H, Kim H S, Wu X, et al. Calcium/calmodulin inhibition of the *Arabidopsis* BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE 1 receptor kinase provides a possible link between calcium and brassinosteroid signalling. *Biochem J*, 2012, 443: 515–523
- 28 Gleason C, Chaudhuri S, Yang T, et al. Nodulation independent of rhizobia induced by a calcium-activated kinase lacking autoinhibition. *Nature*, 2006, 441: 1149–1152
- 29 Hua W, Zhang L, Liang S, et al. A tobacco calcium/calmodulin-binding protein kinase functions as a negative regulator of flowering. *J Biol Chem*, 2004, 279: 31483–31494
- 30 Yang T B, Chaudhuri S, Yang L H, et al. A calcium/calmodulin-regulated member of the receptor-like kinase family confers cold tolerance in plants. *J Biol Chem*, 2010, 285: 7119–7126
- 31 Liu H T, Li G L, Chang H, et al. Calmodulin-binding protein phosphatase PP7 is involved in thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*

- Environ, 2007, 30: 156–164
- 32 Du L, Poovaiah B W. Ca^{2+} /calmodulin is critical for brassinosteroid biosynthesis and plant growth. *Nature*, 2005, 437: 741–745
 - 33 Baum G, Lev-Yadun S, Fridmann Y, et al. Calmodulin binding to glutamate decarboxylase is required for regulation of glutamate and GABA metabolism and normal development in plants. *EMBO J*, 1996, 15: 2988
 - 34 Du L, Ali G S, Simons K A, et al. Ca^{2+} /calmodulin regulates salicylic-acid-mediated plant immunity. *Nature*, 2009, 457: 1154–1158
 - 35 Wang G, Zeng H, Hu X, et al. Identification and expression analyses of calmodulin-binding transcription activator genes in soybean. *Plant Soil*, 2015, 386: 205–221
 - 36 Park C Y, Lee J H, Yoo J H, et al. WRKY group IIId transcription factors interact with calmodulin. *FEBS Lett*, 2005, 579: 1545–1550
 - 37 Boursiac Y, Lee S M, Romanowsky S, et al. Disruption of the vacuolar calcium-ATPases in *Arabidopsis* results in the activation of a salicylic acid-dependent programmed cell death pathway. *Plant Physiol*, 2010, 154: 1158–1171
 - 38 Luoni L, Bonza M C, De Michelis M I. Calmodulin/ Ca^{2+} -ATPase interaction at the *Arabidopsis thaliana* plasma membrane is dependent on calmodulin isoform showing isoform-specific Ca^{2+} dependencies. *Physiol Plantarum*, 2006, 126: 175–186
 - 39 Campe R, Langenbach C, Leissing F, et al. ABC transporter PEN3/PDR8/ABCG36 interacts with calmodulin that, like PEN3, is required for *Arabidopsis* nonhost resistance. *New Phytol*, 2016, 209: 294–306
 - 40 Yoshioka K, Moeder W, Kang H G, et al. The chimeric *Arabidopsis* CYCLIC NUCLEOTIDE-GATED ION CHANNEL11/12 activates multiple pathogen resistance responses. *Plant Cell*, 2006, 18: 747–763
 - 41 Viridi A S, Thakur A, Dutt S, et al. A sorghum 85kDa heat stress-modulated protein shows calmodulin-binding properties and cross-reactivity to anti-*Neurospora crassa* HSP 80 antibodies. *FEBS Lett*, 2009, 583: 767–770
 - 42 Viridi A S, Singh S, Singh P. Abiotic stress responses in plants: roles of calmodulin-regulated proteins. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 809
 - 43 Bouche N, Yellin A, Snedden W A, et al. Plant-specific calmodulin-binding proteins. *Annu Rev Plant Biol*, 2005, 56: 435–466
 - 44 毛国红, 宋林霞, 孙大业. 植物钙调素结合蛋白研究进展. *植物生理与分子生物学报*, 2004, 30: 481–488
 - 45 Popescu S C, Popescu G V, Bachan S, et al. Differential binding of calmodulin-related proteins to their targets revealed through high-density *Arabidopsis* protein microarrays. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 4730–4735
 - 46 Perochon A, Dieterle S, Pouzet C, et al. Interaction of a plant pseudo-response regulator with a calmodulin-like protein. *Biochem Bioph Res Co*, 2010, 398: 747–751
 - 47 Yamaguchi T, Aharon G S, Sottosanto J B, et al. Vacuolar Na^+/H^+ antiporter cation selectivity is regulated by calmodulin from within the vacuole in a Ca^{2+} - and pH-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 16107–16112
 - 48 Cho K M, Nguyen H T, Kim S Y, et al. CML10, a variant of calmodulin, modulates ascorbic acid synthesis. *New Phytol*, 2016, 209: 664–678
 - 49 Nakahara K S, Masuta C, Yamada S, et al. Tobacco calmodulin-like protein provides secondary defense by binding to and directing degradation of virus RNA silencing suppressors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 10113–10118
 - 50 Reddy V S, Day I S, Thomas T, et al. KIC, a novel Ca^{2+} binding protein with one EF-hand motif, interacts with a microtubule motor protein and regulates trichome morphogenesis. *Plant Cell*, 2004, 16: 185–200
 - 51 Won S K, Lee Y J, Lee H Y, et al. *Cis*-element- and transcriptome-based screening of root hair-specific genes and their functional characterization in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2009, 150: 1459–1473
 - 52 Lin W D, Liao Y Y, Yang T J, et al. Coexpression-based clustering of *Arabidopsis* root genes predicts functional modules in early phosphate deficiency signaling. *Plant Physiol*, 2011, 155: 1383–1402
 - 53 Azimzadeh J, Nacry P, Christodoulidou A, et al. *Arabidopsis* TONNEAU1 proteins are essential for preprophase band formation and interact with CENTRIN. *Plant Cell*, 2008, 20: 2146–2159
 - 54 Satsbury J L. Centrin, centrosomes, and mitotic spindle poles. *Curr Opin Cell Biol*, 1995, 7: 39–45
 - 55 Tsai Y-C, Delk N A, Chowdhury N I, et al. *Arabidopsis* potential calcium sensors regulate nitric oxide levels and the transition to flowering. *Plant Signal Behav*, 2007, 2: 446–454
 - 56 Tsai Y C, Koo Y, Delk N A, et al. Calmodulin-related CML24 interacts with ATG4b and affects autophagy progression in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2013, 73: 325–335
 - 57 Wang Y, Wang B, Gilroy S, et al. CML24 is involved in root mechanoresponses and cortical microtubule orientation in *Arabidopsis*. *J Plant Growth Regul*, 2011, 30: 467–479
 - 58 Liu Y, Bassham D C. Autophagy: pathways for self-eating in plant cells. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63: 215–237
 - 59 Pina C, Pinto F, Feijó J A, et al. Gene family analysis of the *Arabidopsis* pollen transcriptome reveals biological implications for cell growth, division control, and gene expression regulation. *Plant Physiol*, 2005, 138: 744–756

- 60 Zhou L, Fu Y, Yang Z. A genome-wide functional characterization of *Arabidopsis* regulatory calcium sensors in pollen tubes. *J Integr Plant Biol*, 2009, 51: 751–761
- 61 Yang X, Wang S S, Wang M, et al. *Arabidopsis thaliana* calmodulin-like protein CML24 regulates pollen tube growth by modulating the actin cytoskeleton and controlling the cytosolic Ca^{2+} concentration. *Plant Mol Biol*, 2014, 86: 225–236
- 62 Wang S S, Diao W Z, Yang X, et al. *Arabidopsis thaliana* CML25 mediates the Ca^{2+} regulation of K^{+} transmembrane trafficking during pollen germination and tube elongation. *Plant Cell Environ*, 2015, 38: 2372–2386
- 63 Bender K W, Rosenbaum D M, Vanderbeld B, et al. The *Arabidopsis* calmodulin-like protein, CML39, functions during early seedling establishment. *Plant J*, 2013, 76: 634–647
- 64 Friml J, Yang X, Michniewicz M, et al. A PINOID-dependent binary switch in apical-basal PIN polar targeting directs auxin efflux. *Science*, 2004, 306: 862–865
- 65 Benjamins R, Ampudia C S, Hooykaas P J, et al. PINOID-mediated signaling involves calcium-binding proteins. *Plant Physiol*, 2003, 132: 1623–1630
- 66 Lee D, Polisensky D H, Braam J. Genome-wide identification of touch- and darkness-regulated *Arabidopsis* genes: a focus on calmodulin-like and *XTH* genes. *New Phytol*, 2005, 165: 429–444
- 67 Chinpongpanich A, Limruengroj K, Phean O P S, et al. Expression analysis of calmodulin and calmodulin-like genes from rice, *Oryza sativa*. *BMC Res Notes*, 2012, 5: 625
- 68 Xu G Y, Rocha P, Wang M L, et al. A novel rice calmodulin-like gene, *OsMSR2*, enhances drought and salt tolerance and increases ABA sensitivity in *Arabidopsis*. *Planta*, 2011, 234: 47–59
- 69 Yin X, Huang L, Zhang X, et al. OsCML4 improves drought tolerance through scavenging of reactive oxygen species in rice. *J Plant Biol*, 2015, 58: 68–73
- 70 Vanderbeld B, Snedden W A. Developmental and stimulus-induced expression patterns of *Arabidopsis* calmodulin-like genes *CML37*, *CML38* and *CML39*. *Plant Mol Biol*, 2007, 64: 683–697
- 71 Magnan F, Ranty B, Charpentreau M, et al. Mutations in AtCML9, a calmodulin-like protein from *Arabidopsis thaliana*, alter plant responses to abiotic stress and abscisic acid. *Plant J*, 2008, 56: 575–589
- 72 Katsuhara M, Kuchitsu K, Takeshige K, et al. Salt stress-induced cytoplasmic acidification and vacuolar alkalization in *nitellopsis obtusa* cells: *in vivo* ^{31}P -nuclear magnetic resonance study. *Plant Physiol*, 1989, 90: 1102–1107
- 73 Delk N A, Johnson K A, Chowdhury N I, et al. CML24, regulated in expression by diverse stimuli, encodes a potential Ca^{2+} sensor that functions in responses to abscisic acid, daylength, and ion stress. *Plant Physiol*, 2005, 139: 240–253
- 74 Molinier J, Ramos C, Fritsch O, et al. CENTRIN2 modulates homologous recombination and nucleotide excision repair in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16: 1633–1643
- 75 Liang L, Flury S, Kalck V, et al. CENTRIN2 interacts with the *Arabidopsis* homolog of the human XPC protein (AtRAD4) and contributes to efficient synthesis-dependent repair of bulky DNA lesions. *Plant Mol Biol*, 2006, 61: 345–356
- 76 Vadassery J, Reichelt M, Hause B, et al. CML42-mediated calcium signaling coordinates responses to spodoptera herbivory and abiotic stresses in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2012, 159: 1159–1175
- 77 Hossain M A, Bhattacharjee S, Armin S M, et al. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 420
- 78 Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*, 2002, 7: 405–410
- 79 Leba L J, Cheval C, Ortiz-Martin I, et al. CML9, an *Arabidopsis* calmodulin-like protein, contributes to plant innate immunity through a flagellin-dependent signalling pathway. *Plant J*, 2012, 71: 976–989
- 80 Kesarwani M, Yoo J, Dong X. Genetic interactions of TGA transcription factors in the regulation of pathogenesis-related genes and disease resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 144: 336–346
- 81 Murray S L, Ingle R A, Petersen L N, et al. Basal resistance against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis* involves WRKY53 and a protein with homology to a nematode resistance protein. *Mol Plant Microbe Interact*, 2007, 20: 1431–1438
- 82 Ma W, Smigel A, Tsai Y C, et al. Innate immunity signaling: cytosolic Ca^{2+} elevation is linked to downstream nitric oxide generation through the action of calmodulin or a calmodulin-like protein. *Plant Physiol*, 2008, 148: 818–828
- 83 Chiasson D, Ekengren S K, Martin G B, et al. Calmodulin-like proteins from *Arabidopsis* and tomato are involved in host defense against *Pseudomonas syringae* pv. Tomato. *Plant Mol Biol*, 2005, 58: 887–897
- 84 Bender K W, Dobney S, Ogunrinde A, et al. The calmodulin-like protein CML43 functions as a salicylic-acid-inducible root-specific Ca^{2+} sensor in *Arabidopsis*. *Biochem J*, 2014, 457: 127–136

- 85 钱礼超, 刘玉乐. 植物抗病毒分子机制. 中国科学: 生命科学, 2014, 10: 999–1009
- 86 Anandalakshmi R, Pruss G J, Ge X, et al. A viral suppressor of gene silencing in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 13079–13084
- 87 Kasschau K D, Carrington J C. A counterdefensive strategy of plant viruses: suppression of posttranscriptional gene silencing. *Cell*, 1998, 95: 461–470
- 88 Anandalakshmi R, Marathe R, Ge X, et al. A calmodulin-related protein that suppresses posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 2000, 290: 142–144
- 89 Endres M W, Gregory B D, Gao Z, et al. Two plant viral suppressors of silencing require the ethylene-inducible host transcription factor RAV2 to block RNA silencing. *PLoS Pathog*, 2010, 6: e1000729
- 90 Li F, Huang C, Li Z, et al. Suppression of RNA silencing by a plant DNA virus satellite requires a host calmodulin-like protein to repress *RDR6* expression. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1003921
- 91 Chung Y H, Lacatus G, Sunter G. Geminivirus AL2 protein induces expression of, and interacts with, a calmodulin-like gene, an endogenous regulator of gene silencing. *Virology*, 2014, 460–461: 108–118
- 92 Vadassery J, Scholz S S, Mithöfer A. Multiple calmodulin-like proteins in *Arabidopsis* are induced by insect-derived (*spodoptera littoralis*) oral secretion. *Plant Signal Behav*, 2012, 7: 1277–1280
- 93 Scholz S S, Vadassery J, Heyer M, et al. Mutation of the *Arabidopsis* calmodulin-like protein CML37 deregulates the jasmonate pathway and enhances susceptibility to herbivory. *Mol Plant*, 2014, 7: 1712–1726
- 94 Walley J W, Coughlan S, Hudson M E, et al. Mechanical stress induces biotic and abiotic stress responses via a novel *cis*-element. *PLoS Genet*, 2007, 3: e172
- 95 Chehab E W, Yao C, Henderson Z, et al. *Arabidopsis* touch-induced morphogenesis is jasmonate mediated and protects against pests. *Curr Biol*, 2012, 22: 701–706

Physiological Functions of Calmodulin-like Proteins in Plants

ZENG HouQing, ZHANG XiaJun, ZHANG YaXian, WANG Shang, PI ErXu,
WANG HuiZhong & DU LiQun

College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China

As a primary calcium sensor, calmodulin (CaM) is ubiquitous in all eukaryotes and contributes to signaling for various physiological activities. Plants exclusively possess numerous calmodulin-like proteins (CMLs), which are highly homologous to CaM but with different structural features. In recent years, major progress has been made in the functional analyses of CMLs. In this review, we summarize the structural features of CMLs, the interaction of CMLs and their target proteins, and the physiological functions of CMLs, which are involved in various aspects during developmental processes and adaptation to environmental stimuli in plants.

calcium signaling, calmodulin, calmodulin-like protein, physiological function, stress response

doi: 10.1360/N052015-00351