

· 专题论坛 ·

植物环核苷酸门控离子通道及其功能研究进展

刘海娇¹, 杜立群², 林金星^{1,3}, 李瑞丽^{3*}

¹中国科学院植物研究所, 北京 100093; ²杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310036

³北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083

摘要 环核苷酸门控离子通道(CNGC)是非选择性的阳离子通道, 可以直接被细胞内信使小分子——环核苷酸(cAMP和cGMP)活化。该通道蛋白包含6个跨膜 α -螺旋, C端各具一个交叠的环核苷酸与钙调蛋白结合区。CNGC广泛存在于各种植物细胞中。研究表明, 模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的CNGC家族有20个成员, 分为4个亚群, 它们在抗病、花粉管生长、对Ca²⁺响应、抵抗重金属离子毒害和抗盐等多种信号途径中发挥重要作用, 协助植物细胞应对各种生物与非生物胁迫。该文简要介绍了CNGC的结构、表达谱及其调控因子, 并着重总结了近年来CNGC生物学功能的研究进展, 以期在今后系统开展其功能研究提供理论依据。

关键词 环核苷酸门控离子通道, 植物, 分类, 调控因子, 生物学功能

刘海娇, 杜立群, 林金星, 李瑞丽 (2015). 植物环核苷酸门控离子通道及其功能研究进展. 植物学报 50, 779–789.

在生命科学研究中, 细胞膜上离子通道的研究占有十分重要的地位。离子通道是能选择性地允许离子跨越细胞和内膜的孔道, 它们是镶嵌在膜系统的磷脂双分子层里的亲水通道, 可以有选择地让适当大小和适当电荷的离子通过, 是跨膜离子转运体系中的转运方式之一(何龙飞等, 1999; 马立农, 2003)。到目前为止, 在分子水平上已被证实可以作为受体的离子通道有3种类型, 即环核苷酸门控离子通道(cyclic nucleotide-gated ion channels, CNGC)、谷氨酸受体家族(glutamate-like receptor channels, GLR channels)和液泡膜蛋白电压依赖型的Ca²⁺门控通道(two-pore channel TPC1) (Dietrich et al., 2010)。CNGC是一种非选择性的阳离子通道, 对一价和二价阳离子均有通透性, 是动植物细胞中非常重要的离子通道(王正朝等, 2006; 吴巨友等, 2010)。一直以来, 动物细胞中的环核苷酸门控离子通道的研究进展很快, 而国内对于植物中该离子通道的研究甚少。针对上述问题, 本文将综述植物CNGC的结构及其家族成员的分类, 并着重介绍CNGC的调控因子及其在植物中的生物学功能的研究进展。

1 CNGC的发现及其结构研究

1985年, *Nature*首次报道了Fesenko等应用膜片钳技术对环核苷酸门控离子通道(CNGC)的研究, 由此揭开了CNGC研究的序幕(Fesenko et al., 1985)。植物CNGC是Schuurink等(1998)在筛选大麦钙调素结合转运蛋白(*Hordeum vulgare* CaM-binding transporter, HvCBT1)时首次确认的(Schuurink et al., 1998)。目前, 人们已经确定单子叶和双子叶植物中都存在CNGC (Talke et al., 2003)。

植物环核苷酸门控离子通道的分子结构与Shaker型钾离子电压门控离子通道极为相似(Kaupp and Seifert, 2002), 其核心结构由6个跨膜 α -螺旋(S1–S6)组成, 在S5和S6中间有孔状结构(P loop), P loop区域可能影响离子的选择性, 是植物CNGC区别于其它离子通道蛋白的重要标志(Demidchik et al., 2002; Véry and Sentenac, 2002; White et al., 2002)。动物的环核苷酸结合域(cyclic nucleotide binding domain, CNBD)位于肽链的C端, 钙调蛋白结合域(calmodulin binding domain, CaMBD)位于N端

收稿日期: 2014-08-07; 接受日期: 2014-10-25

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(No.2011CB809103)、国家自然科学基金创新研究群体科学基金(No.31121065)、国家自然科学基金(No.31270224, No.31401149)、高等学校学科创新引智计划(No.111 project, B13007)、长江学者和创新团队发展计划(No.IRT13047)及中央高校基本科研业务费专项资金(No. BLX2014-19)

* 通讯作者。E-mail: liruli@bjfu.edu.cn

(Zagotta and Siegelbaum, 1996; Kaupp and Seifert, 2002; Bradley et al., 2005); 而植物的CaMBD和CNBD都位于肽链C端(Demidchik et al., 2002; Véry and Sentenac, 2002; White et al., 2002; Hua et al., 2003) (图1)。序列比较分析结果显示, 植物的钙调蛋白结合域与环核苷酸结合域有部分的重叠(Köhler et al., 1999)。Arazi等(2000)利用生物化学手段研究了烟草(*Nicotiana tabacum*)的CNGC与模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的CNGC1, 比较准确地诠释了环核苷酸结合域与钙调蛋白结合域相互重叠这一论断; 随后科学家又通过与钙调蛋白结合的实验更进一步证实了上述观点(Arazi et al., 2000; Köhler and Neuhaus, 2000)。因此不难猜测, 环核苷酸和钙调蛋白在调节通道活性上具相互作用。

哺乳动物中CNGC通道蛋白长久以来都被认为是异四聚体(Kaupp and Seifert, 2002)。尽管没有充分的证据证明哪些亚基能够形成有功能的环核苷酸门控通道, 但是科学家普遍认为植物的环核苷酸门控通道也可能是异四聚体(Yoshioka et al., 2006)。植物中大量CNGC基因家族的揭示, 将使更多类型的异四聚体通道的发现成为可能, 同时也表明了CNGCs功能的多样性与专一性。

2 植物中CNGC的分类及表达谱分析

模式植物拟南芥的CNGC家族共拥有20个成员(CNGC1–CNGC20), 广泛分布于拟南芥的不同器官和组织中, 参与调控拟南芥的生长、发育以及与外界环境的相互作用(Kaplan et al., 2007)。水稻(*Oryza sativa*)基因组编码16个CNGC同源蛋白(Yuan et al., 2003)。此外, 在烟草、菜豆(*Phaseolus vulgaris*)、玉米(*Zea mays*)、大麦(*Hordeum vulgare*)和卷柏(*Selaginella moellendorffii*)等多种植物中也发现了CNGC同源序列(Talke et al., 2003; Finka et al., 2012; Zelman et al., 2012)。

拟南芥CNGC家族的20个成员的全序列相似性为53%–83%。根据该家族成员氨基酸序列的相似度比较, 将拟南芥CNGC蛋白归类到4个亚家族, 每个家族包含4–6个成员。其中, 亚家族I的成员包括CNGC1、CNGC3、CNGC10、CNGC11、CNGC12和CNGC13; 亚家族II的成员包括CNGC5、CNGC6、

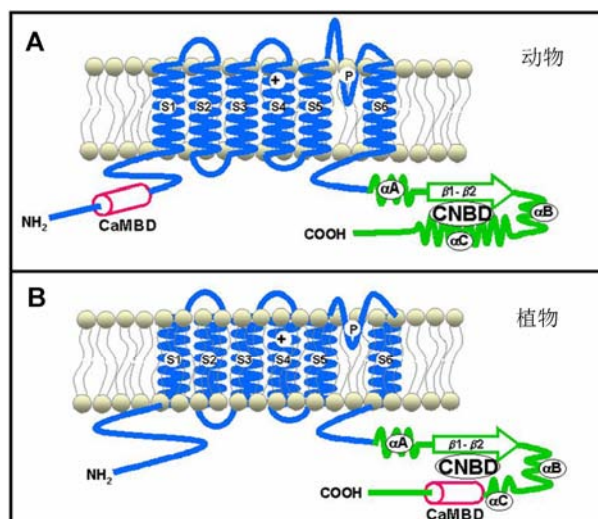


图1 动物(A)和植物(B)环核苷酸门控离子通道(CNGC)的膜拓扑结构示意图(Hua et al., 2003)

跨膜域由6个 α -螺旋(S1–S6)构成, S5和S6之间形成孔状结构(P loop)。动植物CNGCs的N和C末端均延伸至细胞质侧。动物CNGCs的CaMBD在N端, CNBD在C端。植物CNGCs的结构与动物CNGCs基本一致(除CaMBD在C端外)。

Figure 1 Predicted membrane topology and domain structures of a cyclic nucleotide-gated ion channels (CNGC) sub-unit from animal cells (A) and plant cells (B) (Hua et al., 2003). The bulk of CNGC are made of 6 transmembrane α -helices (S1–S6), a pore structure (P) is formed between S5 and S6. Both the N- and C-termini of plant and animal CNGCs extend into the cytosolic side of the plasma membrane. The CaMBD in animal CNGCs is located at the N-terminus and its CNBD is at the C-terminus. The structure of plant CNGC is similar to its counterparts from animals except that the CaMBD is at the C-terminus.

CNGC7、CNGC8和CNGC9; 亚家族III的成员包括CNGC14、CNGC15、CNGC16、CNGC17和CNGC-18。这3个亚家族具有很高的相似性, 然而, 第IV亚家族的4个成员(CNGC2、CNGC4、CNGC19和CNGC-20)之间, 以及与其它3个亚家族的成员都具有较小的相关性。第IV个亚家族又可被分为2个类群: 其中, CNGC19和CNGC20属于类群IV A; CNGC4和CNGC2属于类群IV B (Mäser et al., 2001)。

Finka等(2012)采用邻接树算法(neighbor-joining tree algorithm)分析了8个全长的苔藓CNGCs、20个拟南芥CNGCs及6个人的CNGCs, 构建了4个显著不同的单元集群(图2)。第1类(I)仅包括苔藓的多肽序

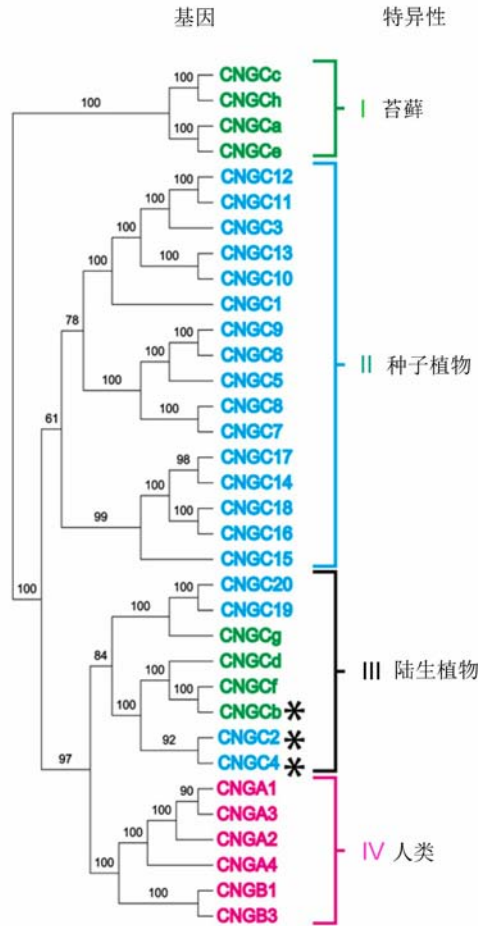


图2 用邻接树法构建的CNGCs无根进化树(Finka et al., 2012)

从进化树可以看出, 来自植物和人类的CNGCs分为4种明显的基因簇: 基因簇I (绿色)由苔藓特有的CNGCs构成; 基因簇II (蓝色)仅由植物特有的CNGCs构成; 基因簇III (黑色)包含苔藓和种子植物的CNGCs, 由此又被称为陆生植物所特有的CNGCs; 基因簇IV (品红), 仅包含人类的CNGCs。

Figure 2 Unrooted phylogenetic tree generated using neighbor joining method (Finka et al., 2012)

The phylogenetic tree shows CNGCs from plants and human could be grouped into four distinct clusters: cluster I (green) containing moss-specific CNGCs; cluster II (blue) are higher plant CNGCs; cluster III (black), comprise of both moss and seed plant CNGCs and is therefore inferred to be land plant specific; and cluster IV (magenta) containing only human CNGCs.

列; 第2类(II)仅包括种子植物(拟南芥)的序列; 第3类(III)是4种拟南芥多肽序列(CNGC2、CNGC4、CNGC19和CNGC20)的混合以及4种苔藓多肽序列(CNG-

Cb、CNGCd、CNGCf和CNGCg); 第4类(IV)仅包括人类的CNGC序列。第1类集群被认为仅包含苔藓植物特有的CNGC功能; 第2类为种子植物特有功能; 第4类为人类特有功能; 第3类单元集群则同时包含苔藓以及拟南芥的CNGC序列。暗示了两者可能具有相同的原始功能, 而且这些功能在陆生植物(苔藓和种子植物)的祖先中已经开始发挥作用(Finka et al., 2012)。

3 CNGC的工作模式及其调控因子

3.1 CNGC的工作模式

植物CNGC是信号转导级联系统(signal transduction cascades)的组成部分, 尤其在预防病原菌入侵的早期反应中, 它能够参与 Ca^{2+} 内流的调控(Dangl et al., 1996; Hetherington and Brownlee, 2004), 从而将细胞外信号通过阳离子流转变为胞内信号, 对细胞的生理活动进行调控(Flynn et al., 2001)。植物CNGC在早期超敏反应(hypersensitive response, HR)自身免疫级联反应中所行使的功能, 受环核苷酸以及 Ca^{2+} 所携带的细胞信号控制(图3)。一般认为, 拟南芥CNGC家族成员都定位在细胞质膜上, 并在质膜上行使功能。例如, 我们在对CNGC2研究时发现, 该蛋白是一种质膜定位蛋白(图4) (未发表资料)。当细胞受到外界刺激时, 定位于细胞膜上的受体蛋白识别相应刺激, 并激活胞质内腺苷酸环化酶, 生成的环核苷酸(cAMP)使CNGCs通道打开, 胞外 Ca^{2+} 内流。内流的 Ca^{2+} 一方面会通过活化钙调蛋白(calmodulin, CaM)反馈抑制CNGCs的活性, 进而抑制 Ca^{2+} 经由CNGC的内流, 防止细胞内钙离子浓度飙升。另一方面, 内流的 Ca^{2+} 结合钙调素结合蛋白, 进而活化NO合成酶, 产生第二信使小分子NO, 参与下游HR或者自身免疫级联反应。胞质中的 Ca^{2+} 同时也可激活 Ca^{2+} 依赖型的蛋白激酶(Ca^{2+} -dependent protein kinases, CDPKs), 继而磷酸化下游靶蛋白。从图3可以看出, 在植物细胞中, CNGCs是环核苷酸作用的一个主要靶标, 是连接环核苷酸和 Ca^{2+} 的纽带。

3.2 CNGC的调控因子

3.2.1 cAMP

多年来, 植物细胞中第二信使小分子环核苷酸受体的

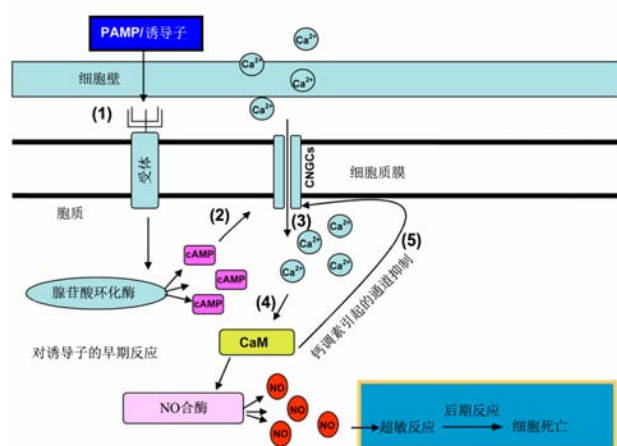


图3 植物固有免疫系统应对病原入侵的早期措施描述模式(Ali et al., 2007)

(1) 细胞外PAMP或诱导子被植物细胞质膜上假设的受体识别; (2) 病原菌或者PAMP诱导子被受体识别激活CNGC2 (或者通过上调核苷酸三磷酸环化酶增加胞内活性配体的数量, 或者通过其它未知途径); (3) 内在CNGC2流的激活导致胞内暂时的 Ca^{2+} 浓度增加; (4) Ca^{2+} 内流导致胞内 Ca^{2+} /CaM含量升高; (5) 胞内 Ca^{2+} /CaM含量升高抑制了CNGC2, 进而结束了短暂的胞质 Ca^{2+} 飙升。

Figure 3 Model illustrating early events of plant innate immunity in response to avirulent pathogens (Ali et al., 2007)

(1) The presence of extracellular PAMP/elicitor is recognized by a hypothetical receptor on the plasma membrane; (2) Pathogen or PAMP/elicitor recognition by this receptor activates CNGC2 (either by an increase in cytosolic level of cNMP ligand through the up-regulation of a nucleotide triphosphate cyclase or by an unknown mechanism); (3) Activation of inward CNGC2 current results in a (transient) increase in cytosolic Ca^{2+} ; (4) Cytosolic Ca^{2+} /CaM level increases due to influx of Ca^{2+} into the cell; (5) Elevated level of cytosol Ca^{2+} /CaM inhibits CNGC2, ending the transient cytosolic Ca^{2+} burst.

本质一直没有一个明确的定义。CNGC蛋白在很多植物组织中都有表达(Finka et al., 2012), 但是对于植物中CNGCs是否行使cAMP受体的功能, 目前尚无统一答案。许多研究结果表明, CNGC参与植物对病原菌信号响应的级联反应(Clough et al., 2000; Yoshioka et al., 2006; Ali et al., 2007)。采用膜片钳技术, 对野生型拟南芥细胞中的CNGC, 以及异源表达野生型拟南芥CNGC的系统进行 Ca^{2+} 含量测定, 结果显示, 该CNGC能够被cAMP激活(Leng et al., 1999,

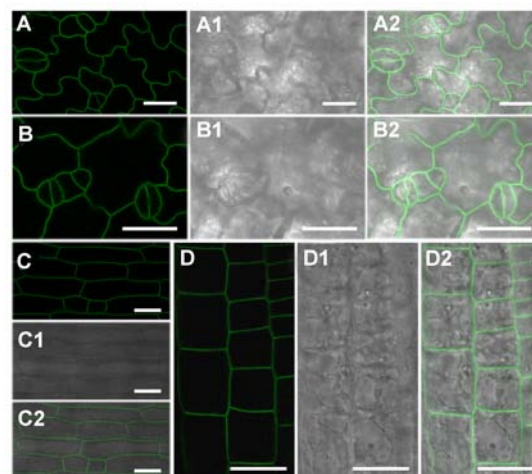


图4 35S-AtCNGC2-GFP融合蛋白的亚细胞定位

(A, A1, A2) 叶表皮细胞; (B, B1, B2) 气孔保卫细胞; (C, C1, C2) 胚轴细胞; (D, D1, D2) 根细胞。其中图A、B、C和D是激光扫描共聚焦显微镜图片; 图A1、B1、C1和D1分别是对应的明场图片; 图A2、B2、C2和D2分别是对应的叠加图片。Bars=20 μm

Figure 4 Subcellular localization of AtCNGC2-GFP in transgenic Arabidopsis seedlings

(A, A1, A2) Leaf pavement cells; (B, B1, B2) Stomatal guard cells; (C, C1, C2) Hypocotyl cells; (D, D1, D2) Root cells. Cells were imaged by laser scanning confocal microscopy (Figures A, B, C, D), differential interference contrast microscopy (Figures A1, B1, C1, D1) and merged images (Figures A2, B2, C2, D2). Bars=20 μm

2002; Balagué et al., 2003; Lemtiri-Chlieh and Berkowitz, 2004; Ali et al., 2007)。Ma等(2009)利用 Ca^{2+} 敏感型的水母荧光蛋白检测胞质 Ca^{2+} 浓度, 也得出相似的结果, 即在cAMP刺激下, 拟南芥叶肉细胞的胞质中 Ca^{2+} 含量升高(Ma et al., 2009)。在分离的烟草原生质体中, cAMP的刺激同样能够导致细胞溶质中 Ca^{2+} 含量升高(Volotovskii et al., 1998)。但是, 当用病原菌感染拟南芥叶片细胞数分钟后, 并未观察到cGMP的含量升高(Ma et al., 2009)。此外, 也有研究报道, 用病原菌感染植物很长时间后, cGMP的含量才会有所上升(Meier et al., 2009)。因此, 在植物对病原菌响应的信号级联中, cAMP和cGMP可能发挥不同的功能。cAMP可能在信号级联的早期反应中促进 Ca^{2+} 内流, 而cGMP是在随后扩大反应的范围(Ma and Berkowitz, 2011)。

3.2.2 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$

病原菌入侵细胞后会引起胞质内 Ca^{2+} 含量增多,一方面激活了下游 Ca^{2+} 依赖型的生理生化反应,进而调控细胞相关的生理过程;另一方面,被激活的CaM能够反馈抑制钙信号(图3)。CNGCs能够被胞质内增多的 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 抑制(Hua et al., 2003; Li et al., 2005; Ali et al., 2006),可能是由于 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 阻碍了病原菌响应的信号级联中环核苷酸对CNGCs的激活作用(Ma and Berkowitz, 2011)。电生理学实验显示,在施加CaM拮抗剂后,持续的胞外刺激会导致 Ca^{2+} 不断内流(Ali et al., 2007)。用CaM拮抗剂处理植物细胞,在病原菌刺激下 Ca^{2+} 含量依然会升高(Ma et al., 2008)。因此, $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 对CNGCs的反馈抑制可能阻碍了 Ca^{2+} 的持续内流,对维持胞内 Ca^{2+} 含量稳定发挥了极为重要的作用(Ma and Berkowitz, 2011)。有研究表明,CaM也可以是钙相关的抗病信号转导级联中的正调控因子(除了上述对CNGCs的反馈抑制作用),协助植物进行病原菌防御反应。例如,过表达大豆(*Glycine max*) CaM (SCaM-4或者SCaM-5)的转基因烟草,对很多病原菌有更强的抵抗能力(Heo et al., 1999)。烟草CaM成员*NtCaM13*的基因沉默株系表现出对致病性细菌或者真菌越来越强的敏感性(Takabatake et al., 2007)。

4 CNGC的生物学功能研究进展

植物CNGC家族共有20个成员,意味着其在植物中可能发挥着多种功能。实际情况也确实如此,它在植物的生长、发育以及应对各种生物与非生物胁迫中都发挥着举足轻重的作用。

4.1 抗病

4.1.1 负调控因子: CNGC2和CNGC4

超敏反应是植物响应病原菌入侵的一种自我保护机制,它使被感染区的局部细胞死亡,阻止病原在植物体内扩散,从而保护植株整体免遭灭顶之灾(田长恩和周玉萍, 2013)。一方面,AtCNGC2的无义突变植株*cngc2-1/dnd1*在没有病原体入侵时,也会产生组成型抗病防疫反应,如水杨酸水平升高和抗性相关基因组成型表达,并对病原菌表现出很强的抗性等(Genger et al., 2008)。例如,对毒性和无毒丁香假单胞菌

(*Pseudomonas syringae*)株系都产生很强的抗性(Yu et al., 1998)。另一方面,与野生型植物不同,dnd1植物不产生局部细胞的过敏性死亡(HR),因此被称为*dnd1* (defence, no death)。AtCNGC4的T-DNA插入突变体*hlm1* (hypersensitive-response-like lesion mimic 1)也具有相似的表型,故被称为*dnd2* (Balagué et al., 2003)。此外,dnd1表现出完整的“基因对基因”型抗病性,而*hlm1/dnd2*只表现出对某些病原体的抗性(Talke et al., 2003)。

当植物*dnd1*和*dnd2*突变体中表达细菌的SA羟化酶(NahG)时,SA的水平下调,对病原菌的抗性以及抗病相关基因的表达也恢复到野生型水平(Jurkowski et al., 2004; Genger et al., 2008)。由此可见,2种表型都依赖于升高的SA水平。但是,SA的积累停止、侏儒莲座以及缺乏HR的表型并不消失。到目前为止,CNGC参与拟南芥抵抗病原菌的详细机理还未得到阐释。

4.1.2 正调控因子: CNGC11和CNGC12

CNGC11和CNGC12在基因组中相邻排列,两者的单突变体都有类似于Col-0生态型的表型,但是,在1个基因组删除突变体中,含有CNGC11的N端以及CNGC12的C端融合到一起,由CNGC11的启动子控制,形成了CNGC11/12的功能获得突变体(Yoshioka et al., 2006)。该突变体组成型表达病程反应基因22(PR gene 22)呈现出与*cngc2-1/dnd1*和*cngc4/dnd2*相似的表型。与上述发现一致,敲除AtCNGC11与AtCNGC12可降低植物对卵菌病原灰霉病(*Hyaloperonospora arabidopsidis*)和假单胞杆菌无毒株系的抵抗能力,但不改变致病株系的感染力。研究表明这2个通道在植物对病原体的防御中起着专一性作用(Yoshioka et al., 2001, 2006; Moeder et al., 2011)。对于这些结果可能的解释是,CNGC2 (DND1)和CNGC4 (DND2)是该途径的负调控因子(Glazebrook, 2001; Jurkowski et al., 2004),而CNGC11和CNGC12是该途径的正调控因子(Yoshioka et al., 2006)。因此,*cngc11*和*cngc12*的双突变体可能对病原菌的抗性较弱。由于这2个基因在2号染色体上相邻排列,人工产生双突变体几乎不可能实现。关于CNGC11和CNGC12在植物生长发育以及对病原菌入侵时的调控机制仍需进一步研究。

4.2 CNGC调节植物细胞对Ca²⁺的响应

野生型拟南芥在Ca²⁺浓度为30 mmol·L⁻¹的培养基中长势良好(Chan et al., 2003)。随着Ca²⁺浓度的升高,植物虽然可以吸收较多的Ca²⁺,但是在生长过程中因不会获取太多的钙而影响其生长发育。缺少CNGC2基因的*dnd1*突变体会对环境中的高Ca²⁺浓度产生超敏反应(Epstein and Bloom, 2005)。*dnd1*植株在Ca²⁺浓度为1.5 mmol·L⁻¹的培养基中与野生型具相似的表型,但是当Ca²⁺浓度升高时,生长状态随之变差。由于细胞外的Mg²⁺、K⁺、Na⁺和H⁺对细胞没有任何影响,所以推测CNGC2对于植物在生理的Ca²⁺水平下正常生长具有重要作用(Chan et al., 2003)。

用全基因组芯片对*cngc2*和野生型在正常Ca²⁺和较高水平Ca²⁺的转录组进行分析,发现*cngc2*突变体的全基因表达与在较高浓度Ca²⁺中生长的野生型相似。比较生长于较高浓度Ca²⁺中的*cngc2*和在相同Ca²⁺浓度中的野生型WS植株的转录组,可以发现蛋白激酶基因的表达上调了,然而植物生长素应答基因在野生型和突变体植株中均有所下调。这些生长素应答基因在*cngc2*植株中,在正常和较高Ca²⁺浓度条件下的表达都有差异,表明了*cngc2*突变体Ca²⁺依赖的生长受到抑制是由于生长素信号途径和磷酸化依赖的反应受到了影响(Chan et al., 2008)。

4.3 CNGC对花粉管生长是必需的

CNGC2是雄蕊和雌蕊细胞伸长所必需的,所以对于花粉管的生长和育性至关重要(Chaiwongsar et al., 2009)。在CNGC2表达量低的*dnd1*植株中,花粉管的生长不会受到影响。在花粉中表达的CNGCs可能增强雄性的育性。在对花粉管生长有影响的CNGC家族中,CNGC18在花粉中的表达量最多,对花粉管生长的影响也最大,其突变体*cngc18*表现出雄性不育,但此表型可以通过表达GFP-CNGC18融合蛋白来互补(Frietsch et al., 2007)。GFP-CNGC18融合蛋白定位于花粉管细胞质膜的顶端,用大肠杆菌表达该融合蛋白的植株可以促进对Ca²⁺的吸收,表明该通道蛋白有可能参与花粉管生长过程中Ca²⁺依赖的信号转导(Dietrich et al., 2010)。CNGC18是否能够促进生长中的花粉管顶端Ca²⁺浓度梯度的形成,还有待更深的研究。

4.4 CNGC调节植物细胞对重金属离子的吸收

植物应对重金属胁迫的能力不同,要提高对重金属离子的耐受性,其自身的解毒作用就是一条非常重要的途径。通过P1B-ATPases排出或者区隔化重金属离子是最常见的解毒方法,但这些途径都需要消耗能量才能实现(Williams and Mills, 2005)。一般认为,重金属离子是植物细胞通过Fe²⁺、Ca²⁺和Zn²⁺的金属转运蛋白和较低特异性的Ca²⁺通道蛋白吸收进入细胞的(Clemens, 2006)。而CNGCs作为非选择性的离子通道,很可能也是重金属离子进入细胞的通道,然而,只有很少的环核苷酸靶蛋白与该过程相关。Arazi等(1999)证明了烟草的CNGC通道NtCBP4 (Calmodulin Binding Protein 4)可能是重金属离子通过质膜进入细胞的途径。过表达NtCBP4的转基因株系显示出对Pb²⁺的过敏性,但是增强了对Ni²⁺的耐受性(Arazi et al., 1999)。此外,表达C末端缺失突变体(缺失完整的CaMD和部分CNBD)的转基因烟草种子表现出对Pb²⁺较高的耐受性,与全基因表达的NtCBP4相比,具有较少的Pb²⁺积累量(Sunkar et al., 2000)。相反的,与NtCBP4同源关系最近的AtCNGC1的缺失突变体*cngc1*植株,对Pb²⁺具有较强的耐受性,同时不受较高Ni²⁺浓度的影响。因此,NtCBP4和AtCNGC1能够介导Pb²⁺的内流,而NtCBP4过表达植株对Ni²⁺的耐受性可能是由于该通道功能增强出现的附带效果(Dietrich et al., 2010)。

4.5 CNGC通道对盐胁迫的反应

在抵御盐胁迫的过程中,植物会启动很多转运机制来阻止Na⁺的毒害作用(Munns and Tester, 2008)。因为CNGCs是非选择性的离子通道,所以在植物细胞维持胞内较低水平Na⁺的过程中,可能起到相反的作用。用微阵列芯片分析对盐敏感的拟南芥植株在不同离子胁迫下根部转运蛋白的转录组后,发现CNGC家族中的部分成员可能参与植物对Na⁺特异性胁迫的响应调控(Maathuis et al., 2003)。尤其是拟南芥根细胞中的CNGC3,可以非选择性地吸收包括Na⁺在内的一价阳离子(Gobert et al., 2006)。在浓度为40–80 mmol·L⁻¹ NaCl的作用下,*cngc3*突变体的种子对NaCl的耐受性高于野生型,在较高KCl浓度(≥80 mmol·L⁻¹)的环境中长势更好。在盐胁迫初始阶段,*cngc3*突

变体对 Na^+ 的吸收明显低于野生型,但是随着盐胁迫时间的延长, *cngc3*突变体与野生型植株对 Na^+ 吸收的差异性降低。因此,在盐胁迫早期反应阶段, *CNGC3*能够促进 Na^+ 内流,但是对于已经适应盐胁迫的植株, *CNGC3*能发挥的作用很有限。

Guo等(2008)的研究表明, *CNGC10*在盐胁迫中也发挥着离子转运的功能。从盐胁迫相应能力、阳离子含量以及 K^+ 流量三方面分析,比较反义*CNGC10*的植株(antisense lines)与野生型植株的生理学特性时,发现成熟的反义植株是盐敏感型的,它们的根细胞中 K^+ 浓度较高, Na^+/K^+ 比较低。但与成熟的植株相比,反义植株较幼嫩的种子比野生型的盐耐受性高,而且在 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 作用下,反义植株的根会更长。当种子暴露于盐胁迫环境,对根附近的离子流进行分析,结果显示*CNGC10*的根可能同时参与 Na^+ 和 K^+ 的内流调控。

除了上述2种离子通道蛋白外, *CNGC19*和*CNGC20*的表达能在不同类型细胞中对盐胁迫进行相应的响应(Kugler et al., 2009)。在盐胁迫几个小时后,植株的地上部分能检测到*CNGC19*和*CNGC20*基因的转录上调,但是根部未检测到。对报告基因的研究显示,在成熟植株的地上部分, *CNGC20*的表达量最高,尤其是在叶柄和叶脉周围的细胞中更多。在根细胞的皮层细胞中, *CNGC20*的表达量相对较高。*CNGC19*在根的维管结构中表达量达到最大值,在韧皮部也有少量表达。因此, *CNGC19*和*CNGC20*基因在 Na^+ 重分布和区隔化方面有类似于*CNGC3*的作用。

4.6 CNGC通道对高温胁迫的响应

植物是固着生物,无法避开环境的胁迫,包括热休克。植物需要精准的温度传感器,来应对潜在的高温环境。因为高温胁迫会导致植物细胞膜蛋白流动性提高,致使细胞膜破裂,所以植物进化出特殊的信号途径,在高温时启动分子防御反应,对热胁迫做出及时应答(Horváth et al., 1998; Sangwan et al., 2002; Sharma et al., 2010)。这些应答反应包括对非活性蛋白的解折叠和错误折叠(Sharma et al., 2010)、新陈代谢紊乱(Vierling, 1991)以及产生活性氧等(Volkov et al., 2006),从而对植物的生长和发育过程产生非常严重的影响(Ahuja et al., 2010; Mittler and Blumwald, 2010)。为了保护在热胁迫中不稳定的大分子,

以及降解受损的大分子,真核及原核生物进化出了特殊的细胞防御方法,即热休克反应(heat shock response, HSR)。HSR是植物在生长过程中应对温度逐渐或者突然升高的细胞应答(蒲力群等, 2008; Mittler et al., 2012),能够积累保护性的热休克蛋白(一般为监护蛋白(chaperone, HSP))来预防环境中的热胁迫,并使植物具有耐热性。有报道显示,拟南芥的*CNGC2*和*CNGC4*以及小立碗藓(*Physcomitrella patens*)的同源基因*CNGCb*是陆生植物热感机制的重要组成部分,能够参与植物的HSR。*CNGCb*的缺失可导致质膜温敏性 Ca^{2+} 通道破坏,引起 Ca^{2+} 内流,激活HSR。此外, *CNGCb*和*CNGC2*的突变体表现出相似的温敏性,以及获得性的耐热性表型(Finka et al., 2012)。

5 展望

对于植物*CNGC*表达谱的研究,迄今为止仅局限在利用启动子驱动报告基因这样的构建来分析,并且仅局限在细胞特定化水平。而对所有*CNGCs*在生长发育以及对生物和非生物胁迫响应方面的研究,还需要分析更为精准的表达谱。另外,尽管一些植物的*CNGCs*定位于质膜上,但是大多数植物的*CNGCs*的亚细胞定位尚未确定,还需要深入探究。

此外,在调控方面,尽管 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 结合*CNGCs*是*CNGC*家族首次被鉴定出来的生物化学功能,但是 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 如何调控*CNGC*,迄今为止都没有较为详尽的解释。而cNMPs可以激活电压依赖型植物 Na^+ 通透性的离子通道也未找到确凿的证据(Maathuis and Sanders, 2001; Rubio et al., 2003)。如果这些通道恰好是*CNGC*家族的成员,这就意味着植物的*CNGCs*门控有别于动物的*CNGCs*门控。未来在对*CNGC*进行研究时,如果能考虑上述区别,将对阐明植物*CNGCs*功能及其调控机理有很大的助益。

总而言之,植物*CNGC*为研究植物离子通道的功能以及信号网络开辟了一条全新且充满挑战的道路。但是,要完全理解*CNGC*的功能,还需要采取多种研究手段。尤其对*CNGC*在植物细胞生物学的两个关键信号系统——环核苷酸和 Ca^{2+} 信号通路中的重要作用,需要深入研究。目前,我们正在利用单分子技术,并结合遗传学和生化分析方法,开展*AtCNGC2*的内

吞及其抗病方面的研究工作, 其结果必将为进一步揭示CNGC的生物学功能提供更加有力的理论参考。

参考文献

- 何龙飞, 刘友良, 沈振国, 王爱勤 (1999). 植物离子通道特征、功能、调节与分子生物学. 植物学通报 **16**, 517–525.
- 马立农 (2003). 细胞膜离子通道及其检测技术的研究进展. 深圳职业技术学院学报 **2**(3), 21–26.
- 蒲力群, 王逢会, 霍满鹏 (2008). 热休克蛋白的研究进展. 延安大学学报(自然科学版) **27**, 72–75.
- 田长恩, 周玉萍 (2013). 植物具IQ基序的钙调素结合蛋白的研究进展. 植物学报 **48**, 447–460.
- 王正朝, 黄瑞华, 潘玲梅, 李学斌, 石放雄 (2006). 环核苷酸门控离子通道的结构、功能及活性调节. 中国生物化学与分子生物学报 **22**, 282–288.
- 吴巨友, 薛亚男, 张绍铃 (2010). 植物环核苷酸门控离子通道基因的功能及其调控. 西北植物学报 **30**, 1716–1720.
- Ahuja I, De Vos RCH, Bones AM, Hall RD (2010). Plant molecular stress responses face climate change. *Trends Plant Sci* **15**, 664–674.
- Ali R, Ma W, Lemtiri-Chlieh F, Tsaltas D, Leng Q, Von Bodman S, Berkowitz GA (2007). Death don't have no mercy and neither does calcium: Arabidopsis CYCLIC NUCLEOTIDE GATED CHANNEL2 and innate immunity. *Plant Cell* **19**, 1081–1095.
- Ali R, Zielinski RE, Berkowitz GA (2006). Expression of plant cyclic nucleotide-gated cation channels in yeast. *J Exp Bot* **57**, 125–138.
- Arazi T, Kaplan B, Fromm H (2000). A high-affinity calmodulin-binding site in a tobacco plasma-membrane channel protein coincides with a characteristic element of cyclic nucleotide-binding domains. *Plant Mol Biol* **42**, 591–601.
- Arazi T, Sunkar R, Kaplan B, Fromm H (1999). A tobacco plasma membrane calmodulin-binding transporter confers Ni^{2+} tolerance and Pb^{2+} hypersensitivity in transgenic plants. *Plant J* **20**, 171–182.
- Balagué C, Lin BQ, Alcon C, Flottes G, Malmström S, Köhler C, Neuhaus G, Pelletier G, Gaymard F, Roby D (2003). HLM1, an essential signaling component in the hypersensitive response, is a member of the cyclic nucleotide-gated channel ion channel family. *Plant Cell* **15**, 365–379.
- Bradley J, Reiser J, Frings S (2005). Regulation of cyclic nucleotide-gated channels. *Curr Opin Neurobiol* **15**, 343–349.
- Chaiwongsar S, Strohm AK, Roe JR, Godiwalla RY, Chan CWM (2009). A cyclic nucleotide-gated channel is necessary for optimum fertility in high-calcium environments. *New Phytol* **183**, 76–87.
- Chan CWM, Schorrak LM, Smith RK Jr, Bent AF, Sussman MR (2003). A cyclic nucleotide-gated ion channel, CNGC2, is crucial for plant development and adaptation to calcium stress. *Plant Physiol* **132**, 728–731.
- Chan CWM, Wohlbach DJ, Rodesch MJ, Sussman MR (2008). Transcriptional changes in response to growth of Arabidopsis in high external calcium. *FEBS Lett* **582**, 967–976.
- Clemens S (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* **88**, 1707–1719.
- Clough SJ, Fengler KA, Yu IC, Lippok B, Smith RK Jr, Bent AF (2000). The Arabidopsis *dnd1* “defense, no death” gene encodes a mutated cyclic nucleotide-gated ion channel. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 9323–9328.
- Dangl JL, Dietrich RA, Richberg MH (1996). Death don't have no mercy: cell death programs in plant-microbe interactions. *Plant Cell* **8**, 1793–1807.
- Demidchik V, Davenport RJ, Tester M (2002). Nonselective cation channels in plants. *Annu Rev Plant Biol* **53**, 67–107.
- Dietrich P, Anschütz U, Kugler A, Becker D (2010). Physiology and biophysics of plant ligand-gated ion channels. *Plant Biol* **12**, 80–93.
- Epstein E, Bloom AJ (2005). Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives, 2nd edn. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Fesenko EE, Kolesnikov SS, Lyubarsky AL (1985). Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment. *Nature* **313**, 310–313.
- Finka A, Cuendet AFH, Maathuis FJM, Saidi Y, Goloubinoff P (2012). Plasma membrane cyclic nucleotide-gated calcium channels control land plant thermal sensing and acquired thermotolerance. *Plant Cell* **24**, 3333–3348.
- Flynn GE, Johnson JP, Zagotta WN (2001). Cyclic nucleotide-gated channels: shedding light on the opening of a channel pore. *Nat Rev Neurosci* **2**, 643–651.
- Frietsch S, Wang YF, Sladek C, 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.

- Genger RK, Jurkowski GI, McDowell JM, Lu H, Jung HW, Greenberg JT, Bent AF** (2008). Signaling pathways that regulate the enhanced disease resistance of *Arabidopsis* “defense, no death” mutants. *Mol Plant Microbe Interact* **21**, 1285–1296.
- Glazebrook J** (2001). Genes controlling expression of defense responses in *Arabidopsis*—2001 status. *Curr Opin Plant Biol* **4**, 301–308.
- Gobert A, Park G, Amtmann A, Sanders D, Maathuis FJM** (2006). *Arabidopsis thaliana* cyclic nucleotide gated channel 3 forms a non-selective ion transporter involved in germination and cation transport. *J Exp Bot* **57**, 791–800.
- Guo KM, Babourina O, Christopher DA, Borsics T, Rengel Z** (2008). The cyclic nucleotide-gated channel, AtCNGC10, influences salt tolerance in *Arabidopsis*. *Physiol Plant* **134**, 499–507.
- Heo WD, Lee SH, Kim MC, Kim JC, Chung WS, Chun HJ, Lee KJ, Park CY, Park HC, Choi JY, Cho MJ** (1999). Involvement of specific calmodulin isoforms in salicylic acid-independent activation of plant disease resistance responses. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 766–771.
- Hetherington AM, Brownlee C** (2004). The generation of Ca^{2+} signals in plants. *Annu Rev Plant Biol* **55**, 401–427.
- Horváth I, Glatz A, Varvasovszki V, Török Z, Páli T, Balogh G, Kovács E, Nádasdi L, Benkő S, Joó F, Vigh L** (1998). Membrane physical state controls the signaling mechanism of the heat shock response in *synechocystis* PCC 6803: identification of hsp17 as a “fluidity gene”. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 3513–3518.
- Hua BG, Mercier RW, Zielinski RE, Berkowitz GA** (2003). Functional interaction of calmodulin with a plant cyclic nucleotide gated cation channel. *Plant Physiol Biochem* **41**, 945–954.
- Jurkowski GI, Smith RK Jr, Yu IC, Ham JH, Sharma SB, Klessig DF, Fengler KA, Bent AF** (2004). *Arabidopsis* *DND2*, a second cyclic nucleotide-gated ion channel gene for which mutation causes the “Defense, No Death” phenotype. *Mol Plant Microbe Interact* **17**, 511–520.
- Kaplan B, Sherman T, Fromm H** (2007). Cyclic nucleotide-gated channels in plants. *FEBS Lett* **581**, 2237–2246.
- Kaupp UB, Seifert R** (2002). Cyclic nucleotide-gated ion channels. *Physiol Rev* **82**, 769–824.
- Köhler C, Merkle T, Neuhaus G** (1999). Characterisation of a novel gene family of putative cyclic nucleotide- and calmodulin-regulated ion channels in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **18**, 97–104.
- Köhler C, Neuhaus G** (2000). Characterisation of calmodulin binding to cyclic nucleotide-gated ion channels from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* **471**, 133–136.
- 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.
- Lemtiri-Chlieh F, Berkowitz GA** (2004). Cyclic adenosine monophosphate regulates calcium channels in the plasma membrane of *Arabidopsis* leaf guard and mesophyll cells. *J Biol Chem* **279**, 35306–35312.
- Leng Q, Mercier RW, Hua BG, Fromm H, Berkowitz GA** (2002). Electrophysiological analysis of cloned cyclic nucleotide-gated ion channels. *Plant Physiol* **128**, 400–410.
- Leng Q, Mercier RW, Yao WZ, Berkowitz GA** (1999). Cloning and first functional characterization of a plant cyclic nucleotide-gated cation channel. *Plant Physiol* **121**, 753–761.
- Li XL, Borsics T, Harrington HM, Christopher DA** (2005). *Arabidopsis* AtCNGC10 rescues potassium channel mutants of *E. coli*, yeast and *Arabidopsis* and is regulated by calcium/calmodulin and cyclic GMP in *E. coli*. *Funct Plant Biol* **32**, 643–653.
- Ma W, Berkowitz GA** (2011). Ca^{2+} conduction by plant cyclic nucleotide gated channels and associated signaling components in pathogen defense signal transduction cascades. *New Phytol* **190**, 566–572.
- Ma W, Qi Z, Smigel A, Walker RK, Verma R, Berkowitz GA** (2009). Ca^{2+} , cAMP, and transduction of non-self perception during plant immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 20995–21000.
- Ma W, Smigel A, Tsai YC, Braam J, Berkowitz GA** (2008). 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* **148**, 818–828.
- Maathuis FJM, Filatov V, Herzyk P, Krijger GC, Axelsen KB, Chen SX, Green BJ, Li Y, Madagan KL, Sánchez-Fernández R, Forde BG, Palmgren MG, Rea PA, Williams LE, Sanders D, Amtmann A** (2003). Transcriptome analysis of root transporters reveals participation of multiple gene families in the response to cation stress. *Plant J* **35**, 675–692.
- Maathuis FJM, Sanders D** (2001). Sodium uptake in *Arabidopsis* roots is regulated by cyclic nucleotides. *Plant Physiol* **127**, 1617–1625.
- Mäser P, Thomine S, Schroeder JI, Ward JM, Hirschi K, Sze H, Talke IN, Amtmann A, Maathuis FJM, Sanders**

- D, Harper JF, Tchieu J, Gribskov M, Persans MW, Salt DE, Kim SA, Guerinot ML** (2001). Phylogenetic relationships within cation transporter families of Arabidopsis. *Plant Physiol* **126**, 1646–1667.
- Meier S, Madeo L, Ederli L, Donaldson L, Pasqualini S, Gehring C** (2009). Deciphering cGMP signatures and cGMP-dependent pathways in plant defence. *Plant Signal Behav* **4**, 307–309.
- Mittler R, Blumwald E** (2010). Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. *Annu Rev Plant Biol* **61**, 443–462.
- Mittler R, Finka A, Goloubinoff P** (2012). How do plants feel the heat? *Trends Biochem Sci* **37**, 118–125.
- Moeder W, Urquhart W, Ung H, Yoshioka K** (2011). The role of cyclic nucleotide-gated ion channels in plant immunity. *Mol Plant* **4**, 442–452.
- Munns R, Tester M** (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol* **59**, 651–681.
- Rubio F, Flores P, Navarro JM, Martinez V** (2003). Effects of Ca^{2+} , K^{+} and cGMP on Na^{+} uptake in pepper plants. *Plant Sci* **165**, 1043–1049.
- Sangwan V, Örvar BL, Beyerly J, Hirt H, Dhindsa RS** (2002). Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP kinase pathways. *Plant J* **31**, 629–638.
- Schuurink RC, Shartzer SF, Fath A, Jones RL** (1998). Characterization of a calmodulin-binding transporter from the plasma membrane of barley aleurone. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 1944–1949.
- Sharma SK, De los Rios P, Christen P, Lustig A, Goloubinoff P** (2010). The kinetic parameters and energy cost of the Hsp70 chaperone as a polypeptide unfoldase. *Nat Chem Biol* **6**, 914–920.
- Sunkar R, Kaplan B, Bouché N, Arazi T, Dolev D, Talke IN, Maathuis FJ, Sanders D, Bouchez D, Fromm H** (2000). Expression of a truncated tobacco NtCBP4 channel in transgenic plants and disruption of the homologous Arabidopsis *CNGC1* gene confer Pb^{2+} tolerance. *Plant J* **24**, 533–542.
- Takabatake R, Karita E, Seo S, Mitsuhashi I, Kuchitsu K, Ohashi Y** (2007). Pathogen-induced calmodulin isoforms in basal resistance against bacterial and fungal pathogens in tobacco. *Plant Cell Physiol* **48**, 414–423.
- Talke IN, Blaudez D, Maathuis FJ, Sanders D** (2003). CNGCs: prime targets of plant cyclic nucleotide signaling? *Trends Plant Sci* **8**, 286–293.
- Véry AA, Sentenac H** (2002). Cation channels in the Arabidopsis plasma membrane. *Trends Plant Sci* **7**, 168–175.
- Vierling E** (1991). The roles of heat shock proteins in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **42**, 579–620.
- Volkov RA, Panchuk II, Mullineaux PM, Schöffl F** (2006). Heat stress-induced H_2O_2 is required for effective expression of heat shock genes in Arabidopsis. *Plant Mol Biol* **61**, 733–746.
- Volotovskii ID, Sokolovsky SG, Molchan OV, Knight MR** (1998). Second messengers mediate increases in cytosolic calcium in tobacco protoplasts. *Plant Physiol* **117**, 1023–1030.
- White PJ, Bowen HC, Demidchik V, Nichols C, Davies JM** (2002). Genes for calcium-permeable channels in the plasma membrane of plant root cells. *Biochim Biophys Acta* **1564**, 299–309.
- Williams LE, Mills RF** (2005). $\text{P}_{1\text{B}}$ -ATPases—an ancient family of transition metal pumps with diverse functions in plants. *Trends Plant Sci* **10**, 491–502.
- Yoshioka K, Kachroo P, Tsui F, Sharma SB, Shah J, Klessig DF** (2001). Environmentally sensitive, SA-dependent defense responses in the *cpr22* mutant of Arabidopsis. *Plant J* **26**, 447–459.
- Yoshioka K, Moeder W, Kang HG, Kachroo P, Masmoudi K, Berkowitz G, Klessig DF** (2006). The chimeric Arabidopsis CYCLIC NUCLEOTIDE-GATED ION CHANNEL11/12 activates multiple pathogen resistance responses. *Plant Cell* **18**, 747–763.
- Yu IC, Parker J, Bent AF** (1998). Gene-for-gene disease resistance without the hypersensitive response in Arabidopsis *dnd1* mutant. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 7819–7824.
- Yuan QP, Ouyang S, Liu J, Suh B, Cheung F, Sultana R, Lee D, Quackenbush J, Buell CR** (2003). The TIGR rice genome annotation resource: annotating the rice genome and creating resources for plant biologists. *Nucleic Acids Res* **31**, 229–233.
- Zagotta WN, Siegelbaum SA** (1996). Structure and function of cyclic nucleotide-gated channels. *Annu Rev Neurosci* **19**, 235–263.
- Zelman AK, Dawe A, Gehring C, Berkowitz GA** (2012). Evolutionary and structural perspectives of plant cyclic nucleotide-gated cation channels. *Front Plant Sci* **3**, 95.

Recent Advances in Cyclic Nucleotide-gated Ion Channels with their Functions in Plants

Haijiao Liu¹, Liqun Du², Jinxing Lin^{1, 3}, Ruili Li^{3*}

¹*Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China;* ²*College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China;* ³*College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China*

Abstract Cyclic nucleotide-gated channels (CNGCs) are non-selective cation channels that can be activated directly by cytosolic second messengers, such as the CNs cGMP and cAMP. CNGCs have six predicted transmembrane α -helices, followed by a cyclic nucleotide-binding domain (CNBD) and a highly conserved calmodulin-binding domain (CaMBD); the latter two domains partially overlap at the C-terminal cytosolic region. CNGCs exist widely in different kinds of plant cells. In the model plant *Arabidopsis*, CNGCs represent 20 members divided into four groups. A large body of evidence showed that the CNGCs play essential roles in various signaling pathways, including pathogen responses, pollen tube growth, Ca^{2+} signaling, tolerance to heavy metal poisoning and resistance to salinity and thus assist the plant cell response to various biological and abiotic stresses. This review focuses on the structure, expression profile and regulatory factors of CNGCs, with special emphasis on recent progress in biological functions, which will provide valuable information for further study on CNGCs in plants.

Key words cyclic nucleotide-gated channels, plant, classification, regulatory factors, biological function

Liu HJ, Du LQ, Lin JX, Li RL (2015). Recent advances in cyclic nucleotide-gated ion channels with their functions in plants. *Chin Bull Bot* **50**, 779–789.

* Author for correspondence. E-mail: liruili@bjfu.edu.cn