

· 专题论坛 ·

## 植物具IQ基序的钙调素结合蛋白的研究进展

田长恩\*, 周玉萍

广州大学生命科学学院植物抗逆基因功能研究广州市重点实验室, 广州 510006

**摘要** 钙调素作为细胞内主要的 $\text{Ca}^{2+}$ 传感蛋白, 通过与不同的钙调素结合蛋白的结合传递钙信号, 调控细胞生理和生长发育过程。IQ基序(IQxxxRGxxxR, Pfam 00612)是少数几个钙调素与钙调素结合蛋白结合的结构域之一。植物具IQ基序的钙调素结合蛋白包括IQM、IQD、CAMTA、CNGC和myosin 5个家族及少数其它蛋白。该文综述了植物具IQ基序的钙调素结合蛋白的类型、结构特点和功能等方面的研究进展, 并对今后的研究进行了展望。

**关键词** IQ基序, 钙调素结合蛋白, 钙调素, 植物, IQM, IQD, CAMTA, CNGC, myosin

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.

作为一种重要的第二信使,  $\text{Ca}^{2+}$ 在植物细胞对体内外刺激所产生的特定生理反应中起着重要作用(Yang and Poovaiah, 2003)。各种刺激引起细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度的变化, 继而通过 $\text{Ca}^{2+}$ 传感蛋白及其靶蛋白来调节多种生化反应。钙调素(calmodulin, CaM)、钙调素类似蛋白(calmodulin-like protein, CML)、其它有EF-hand结构的钙离子结合蛋白和钙离子依赖型蛋白激酶(Zhang and Lu, 2003)以及无EF-hand结构的钙离子结合蛋白(毛国红等, 2004)。

CaM广泛存在于真核细胞内, 是高度保守的、最重要的一类钙离子受体, 通过其靶标——钙调素结合蛋白(calmodulin-binding protein, CaMBP)来调节细胞生理(Rhoads and Friedberg, 1997; Snedden and Fromm, 1998; Reddy and Day, 2001)。晶体结构研究表明, CaM的N端和C端为2个球形结构域, 中间通过 $\alpha$ 螺旋相连, 每个球形区含有1对由EF-hand基序组成的 $\text{Ca}^{2+}$ 结合域; 1个CaM分子可以与4个 $\text{Ca}^{2+}$ 结合。 $\text{Ca}^{2+}$ 与CaM结合后形成 $\text{Ca}^{2+}$ -CaM复合体, 使CaM的构象发生变化, 暴露出球形区带负电荷的疏水性表面, 并在CaM与靶蛋白互作中发挥作用(Bähler and Rhoads, 2002)。将未与钙离子结合的CaM称为ApoCaM, 能在低浓度或无 $\text{Ca}^{2+}$ 条件下, 通过与 $\text{Ca}^{2+}$ 不依赖性CaMBPs结合而传递信号(Jurado et al.,

1999; 韦慧彦等, 2007)。可见, 对CaMBP的鉴定和分析有助于阐明CaM信号转导途径的特异性、复杂性和多样性。

钙调素结合蛋白(CaMBP)是指能与CaM结合的蛋白, 包括已确定活性直接受CaM调控的各种酶及在体外或体内能和CaM结合的蛋白。在细胞或组织中, CaM的功能取决于其中CaMBP的存在状况。CaMBP与CaM的结合可分为 $\text{Ca}^{2+}$ 依赖和 $\text{Ca}^{2+}$ 不依赖2种类型(O'Day, 2003)。IQ基序是第1个被发现的最主要的 $\text{Ca}^{2+}$ 不依赖型CaM结合域。完整IQ基序的氨基酸序列为IQxxxRGxxxR, 通常第1位的I也可以是L、V或M, 第6位和11位的R也可以是K或H, 第7位的G同样缺乏保守性(Rhoads and Friedberg, 1997)。有关动物(包括人类)含IQ基序的钙调素结合蛋白的研究已取得不少成果(Bähler and Rhoads, 2002; 韦慧彦等, 2007), 且一直是细胞骨架调控(Briggs and Sacks, 2003)、肌球蛋白运动机理(Trybus, 2008)、肿瘤诱发(White et al., 2009)以及免疫反应(Malarkannan et al., 2012)等领域的研究热点。早在1993年, Knight和Kendrick-Jones(1993)就在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中鉴定出含IQ基序的CaMBP。尽管对植物含IQ基序蛋白的研究不如对动物的研究进展快, 但近年来相关的研究报道逐年增多, 拓展了人们对于这类蛋白在结构和功能上的认识。本文将主要论述该领

收稿日期: 2012-12-07; 接受日期: 2013-02-04

基金项目: 国家自然科学基金(No.31170204)、广东省自然科学基金(No.S2011020002167)和羊城学者项目(No.12A001G)

\* 通讯作者。E-mail: changentian@yahoo.com.cn

域所取得的研究进展。

## 1 植物具IQ基序的钙调素结合蛋白的类型

植物含有IQ基序的蛋白质包括myosin家族、CAMTA (calmodulin-binding transcription activator) 家族、CNGC(cyclic nucleotide-gated channel)家族、IQD (IQ67-domain containing protein) 家族、IQM(IQ-motif containing protein)家族以及其它含有IQ基序的蛋白质(Zhou et al., 2010)。各家族成员在分子大小、所含IQ基序的数量和分布以及其它重要结构域等方面各不相同(图1)。在拟南芥中, myosin、CAMTA、CNGC、IQD和IQM分别由17个(Reddy and Day, 2001)、6个(Bouché et al., 2002)、20个(Talke et al., 2003)、33个(Able et al., 2005)和6个(Zhou et al., 2010)成员组成。

## 2 植物具IQ基序的钙调素结合蛋白的结构特点和功能

### 2.1 IQM家族

拟南芥IQM家族包括IQM1—6共6个成员, 其N-端均具有1段与豌豆重金属诱导蛋白6A(pea heavy-metal induced protein 6A, PHMIP 6A)同源的序列, IQ基序位于其中; 其C-端具有1个与核糖体失活蛋白——天花粉素(trichosantin)同源的片段(Zhou et al., 2010)(图1)。实验数据(未发表资料)显示, 水稻(*Oryza sativa*)有7个IQM家族成员。与上述结构特点相适应, 用重金属盐CdCl<sub>2</sub>和Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>处理拟南芥幼苗, 引起该家族所有基因的表达上调(Zhou et al., 2010)。酵母双杂交和双分子荧光互补实验显示, IQM1能在酵母和植物细胞中与CaM5结合。钙调素覆盖实验证实, IQM1与CaM5在体外结合不依赖于Ca<sup>2+</sup>。说明, IQM1是1个不依赖于Ca<sup>2+</sup>的钙调素结合蛋白(Zhou et al., 2007, 2012)。本实验室实验数据(未发表资料)显示, IQM2与CaM5的结合性质与IQM1相同。

IQM家族成员在根、茎、叶(莲座叶和花序叶)、花和果等器官以及光照、盐胁迫和渗透胁迫等不同外界条件下的表达情况不尽相同, 提示各成员在植物不同生长发育阶段和对不同环境的反应中可能起着不同的作用(Zhou et al., 2010)。

与IQM1在气孔和根皮层表达较强的组织特异性表达模式相一致, 其T-DNA插入突变体呈现出气孔开度小和短根的表型, 且突变体气孔开度不受外因(如光、暗、脱落酸等)诱导而变大或变小(Zhou et al., 2010, 2012)。当转入野生型基因后, 突变表型恢复正常(Zhou et al., 2012)。究其分子机理, 可能与突变体保卫细胞具有较高的活性氧水平以及较强的活性氧信号接受和转导基因表达有关, 而较高的活性氧水平又可能与较强的活性氧生成酶基因的表达有关(Zhou et al., 2012)。

IQM家族其它成员的功能未见详细报道。本研究组进行过一些初步的工作(周玉萍等, 2009; 陈羽中等, 2010; 王小兰等, 2011)。前期, 我们发现IQM2的突变体表现出蓝光和白光下长下胚轴, 即蓝光不敏感的表型(Zhou et al., 2010)。本实验室的后续研究结果(未发表数据)显示, 该突变体是一个由IQM2突变体和蓝光受体——隐花色素1(cryptochrome 1, CRY1)突变体所组成的双突变体, 其蓝光不敏感表型源于CRY1的突变。最近, 本实验室的研究结果显示, IQM2突变体成花推迟, IQM4是植物生长发育的正调控因子。

### 2.2 IQD家族

Levy等(2004)首先报道了AtIQD1的结构和功能。在拟南芥和水稻基因组中分别发现了33个和29个同源基因(Abe et al., 2005), 是迄今在这2种模式植物中鉴定出的最大的含IQ基序的家族。该家族均具有植物特有的、由67个氨基酸残基组成的、被称为IQ67的结构域(IQ67 domain)。该结构域包括3个IQ基序, 分别被11个和15个氨基酸残基分隔, 每个IQ基序又分别与依赖Ca<sup>2+</sup>的1-5-10和1-8-14基序依次重叠并顺序排列, 且每个IQ基序的旁侧序列中还包含保守的疏水和碱性氨基酸残基(Levy et al., 2004; Abel et al., 2005)(图1)。

十分有趣的是, AtIQD1与CaM在体外的结合依赖于Ca<sup>2+</sup>(Levy et al., 2004); 而AtIQD20与CaM在体外的结合却不依赖于Ca<sup>2+</sup>(Abel et al., 2005)。韦慧彦等(2008)发现AtIQD26的钙调素结合活性与AtIQD20相同。说明不同的IQD与钙调素的结合存在着不同的方式, 可能与IQ67中的IQ、1-5-10和1-8-14等的数量和组成有关。

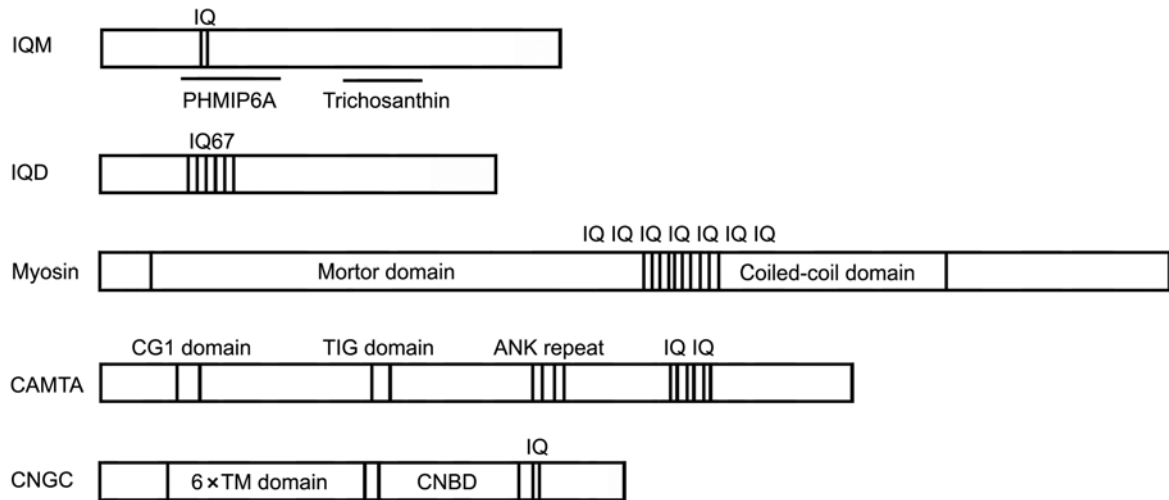


图1 植物含IQ基序的蛋白质家族

PHMIP 6A: 豌豆重金属诱导蛋白6A; Trichosanthin: 天花粉素; Motor domain: 马达结构域; Coiled-coil domain: 卷曲螺旋结构域; CG-1 domain: GC结构域; TIG domain: 免疫球蛋白类转录因子结构域; ANK repeat: 锚蛋白重复序列; 6 x TM domain: 6个跨膜结构域; CNBD: 环核苷酸结合域

Figure 1 The families of IQ-containing proteins in plants

PHMIP 6A: Pea heavy-metal induced protein 6A; Trichosanthin; Motor domain; Coiled-coil domain; CG-1 domain; TIG domain: Transcription factor immunoglobulin-like domain; ANK repeat: Ankyrin repeat; 6 x TM domain: 6 x transmembrane domain; CNBD: Cyclic nucleotide binding domain

在IQD家族的功能方面, Levy等(2004)研究发现, *AtIQD1*受机械刺激而表达增强; *IQD1*-GFP定位于细胞核; *AtIQD1*的功能获得突变体和功能缺失突变体分别表现出硫代葡萄糖甙(glucosinolate)含量上升和下降的表型。进一步研究发现, *IQD1*的组织特异性表达与硫代葡萄糖甙的积累水平和部位十分吻合。硫代葡萄糖甙是一类植物次生代谢物, 参与植物对病、虫的防御反应。基于此, 该研究小组进行了昆虫啃噬实验, 发现超表达*IQD1*能减少粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)的危害, 包括植物被啃噬的部分减少以及若虫体长和体重下降等。因此, Abel等(2005)认为, *IQD1*作为正调节因子, 在植物对生物胁迫的响应中, 将细胞间的钙信号整合于精细调节的次生代谢物——硫代葡萄糖甙的积累中。

此外, 韦慧彦等(2008)对*AtIQM26*的功能进行了初步研究。用*AtIQM26*启动子驱动GUS转基因植株, 组织特异性表达分析表明, 该基因在根、茎、叶和花等器官中均有表达, 尤其是在新生的组织中表达更

强。融合荧光蛋白定位显示, *AtIQD26*分布在细胞核与质膜附近, 与钙调素空间分布相似, 预示着它们在植物生长发育过程中可能共同发挥作用。

在番茄(*Solanum lycopersicum*)中, Xiao等(2008)利用图位克隆法克隆了1个控制果实伸长的基因, 并定名为*SUN*, 该基因编码的蛋白含有IQ67结构域。他们发现, 由反转录转座子Rider的作用而引起*SUN*基因所在的基因组序列重排, 进而导致该基因的表达增强, 最终使果实停止伸长。以上研究结果说明IQD家族蛋白在植物对环境的反应和自身的生长发育中起着重要作用。

### 2.3 CAMTA家族

CAMTA是一类能与钙调素结合并具有转录激活作用的蛋白。早在2000年, Yang和Poovaiah从烟草(*Nicotiana tabacum*)幼苗中分离获得1个CaMBP, 因其受乙烯诱导表达快速升高而被命名为ethylene response 1(NtER1), 其实质是1个CAMTA蛋白。

Bouché等(2002)发现了1个油菜CAMTA蛋白,并揭示拟南芥、果蝇(*Drosophila melanogaster*)和人类(*Homo sapiens*)等多细胞生物中分别存在6、1和2个CAMTA蛋白。由于发现AtCAMTAs具有对多种信号分子的特点,Yang和Poovaiah(2002)又将它们称为AtSRs(*Arabidopsis thaliana* signal-responsive genes)。Choi等(2005)在水稻中鉴定出1个CAMTA蛋白,称之为OsCBT(*Oryza sativa* CaM-binding transcription factor),还发现了其它6个OsCBT的同源蛋白。Yang等(2012)在番茄果实发育与成熟期又成功克隆到7个SISR/CAMTA基因。

在蛋白质水平,所有CAMTA都具有结构相似的特点,从N-端到C-端分别有GC-1结构域、TIG结构域、ANK重复序列和数量不等的IQ基序(Bouché et al., 2002; Choi et al., 2005; Finkler et al., 2007)(图1)。CG-1结构域的名称源于西芹的部分cDNA,其编码序列专一性地与GCGC基序结合(da Costa e Silva, 1994)。进一步研究发现CG-1结构域是一种真核多细胞生物特有的、由大约130个氨基酸残基组成的结构域,含有1个双向核定位信号(bipartite NSL),引导蛋白定位于细胞核(Bouché et al., 2002; Yang and Poovaiah, 2002)。TIG结构域存在于许多转录因子中,能与DNA发生非专一性结合,引发蛋白质的二聚化(Müller et al., 1995; Bouché et al., 2002)。ANK重复序列由大约30个氨基酸残基组成,在大多数生物中重复2次(Bouché et al., 2002),在水稻中重复3次,该区段介导蛋白-蛋白相互作用。

值得注意的是,作为转录激活因子,拟南芥AtCAMTA1的转录激活区段位于GC-1和TIG之间;且与钙调素的结合依赖于Ca<sup>2+</sup>(Bouché et al., 2002; Yang and Poovaiah, 2002)。该钙调素结合域由35个氨基酸残基组成,定位于IQ基序的C-端,并不包括IQ基序(Bouché et al., 2002)。番茄的CAMTA与此相似(Yang et al., 2012)。在水稻的OsCBT中,钙调素结合域1(CaMBD1,即IQ基序)在Ca<sup>2+</sup>缺乏时能与CaM结合,而Ca<sup>2+</sup>存在时不能与之结合;另1个CaMBD2钙调素结合域(VGIVEKAILRWRKKRKALRG)被发现在Ca<sup>2+</sup>存在时与CaM结合,Ca<sup>2+</sup>缺乏时则不能结合。

Zegzouti等(1999)报道,番茄ER66(即SICAMTA1/SR1)受乙烯诱导表达(Yang and Poovaiah, 2000; Reddy et al., 2000),且在果实红熟期比绿熟

期表达水平高。前文已提及,NtER1/SR1本身就是在分析乙烯反应机理时被克隆的,它在乙烯处理时被快速诱导而高水平表达,并且在衰老的叶片和花瓣中强烈表达(Yang and Poovaiah, 2000)。随后,从拟南芥中鉴定出6个NtER1类似蛋白基因,即AtCAMTA/SR1—6,这些基因的表达均能被激素(如乙烯和脱落酸)、环境信号(如极端温度、紫外线、盐和伤害)以及其它信号分子(如H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、茉莉酸甲酯和水杨酸)快速、差异性地诱导(Yang and Poovaiah, 2002)。说明CAMTA蛋白在植物对内外刺激的反应中起着重要作用。

Mitsuda等(2003)发现,AtCAMTA5定位于细胞核,能专一性地结合到AVP1(*Arabidopsis* VPPase: *Arabidopsis* vacuolar H<sup>+</sup>-translocating inorganic pyrophosphatase,拟南芥液泡H<sup>+</sup>转位焦磷酸酶)基因启动子的1个38 bp的花粉特异顺式作用元件上,并激活后者的表达,表明AVP1涉及花粉发育。AVP1和AtCAMTA1在花粉中表达,尤其是后者只在花粉中表达。与AtCAMTA5一样,AtCAMTA1也能够激活AVP1的转录,这种激活作用依赖于38 bp花粉特异顺式作用元件中GC-1序列的存在。说明AtCAMTA1和AtCAMTA5在花粉发育中起转录激活作用。

水稻的1个CAMTA蛋白——OsCBT能激活转录,但这种激活作用受到CaM结合的抑制,说明OsCBT是一个受CaM调控的转录激活因子(Choi et al., 2005)。其确切的生物学功能还有待于通过突变体分析来验证。

AtCAMTA3的T-DNA插入突变体*camta3-1*和*camta3-2*均表现出生长缓慢、植株矮小、莲座叶黄萎的表型。基因芯片分析结果显示,突变体中有6个基因表达下调,但有99个基因表达上调。值得注意的是,上调基因中有32个基因与植物抗病性有关,如WRKY33、PR1和几丁质酶基因等。感染实验表明,*camta3-1*和*camta3-2*对细菌(*Pseudomonas syringae* pv. tomato (DC3000))和真菌(*Botrytis cinerea*)的抗性比野生型强。与此一致,突变体H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的含量比野生型高。可见,AtCAMTA3参与调控植物的防卫反应(Galon et al., 2008)。Du等(2009)研究发现,AtSR1/CAMTA3的突变导致水杨酸(salicylic acid, SA)含量增加,继而增强植物的抗病性。SA能够下调ACC合成酶基因的表达进而影响乙烯的生物合成

(Lee et al., 2009)。Doherty等(2009)发现AtSR1/CAMTA3和AtSR2/CAMTA1在植物耐低温中起着重要作用。突变体*camta1*中冷诱导的CBF1、CBF2、ZAT12和GOLS3的表达水平远低于野生型; 双突变体*camta1 camta3*对低温的耐受性显著低于野生型。

SR/CAMTAs作用的靶序列为CGCG, 是主要的 $\text{Ca}^{2+}$ (Kaplan et al., 2006)和快速伤害反应的顺式作用元件(Walley et al., 2007)。因此, SR/CAMTAs可能是乙烯、 $\text{Ca}^{2+}$ 、SA、伤害和冷信号转导的关键连接点, 而这些信号又对果实成熟和质量产生重大影响。据此, Yang等(2012)从成熟番茄果实中克隆和鉴定了7个SR/CAMTA蛋白的编码基因, 并发现这些基因的表达主要受乙烯和发育信号的调控。尤为重要的是, 他们发现SISR/CAMTA的表达受到*RIN*(ripening inhibitor, 编码1个*SEPALLATA*的MADS-box蛋白)基因突变的影响, 说明这些基因在*RIN*的下游活动, 是果实发育和成熟与乙烯、 $\text{Ca}^{2+}$ 等信号的关键连接分子。当然, SISR/CAMTA的确切生物学功能有待用突变体进行表征验证。

## 2.4 CNGC家族

植物CNGCs首先在大麦(*Hordeum vulgare*)中被鉴定(Schuurink et al., 1998)。Köhler等(1999)从拟南芥中克隆了*AtCNGC1*—6。Arazi等(1999, 2000)在烟草中克隆了*NtCBP4*和*NtCBP7*。在拟南芥和水稻中分别有20和28个CNGC基因(Mäser et al., 2001; Zelman et al., 2012)。另外, 在菜豆(*Phaseolus vulgaris*)、卷柏(*Selaginella moellendorffii*)等植物中也存在许多CNGC(Talke et al., 2003; Zelman et al., 2012)。

从结构来看, 植物CNGCs蛋白与Shaker类 $\text{K}^+$ 通道具有高度的序列相似性, 包括6个跨膜结构域(S1—S6), 在S5和S6之间是由20—30个氨基酸残基组成的离子传导孔区, 即P结构域(pore loop), 也称P环, 其C端存在1个钙调素结合(CaMBD)和环核苷酸结合(CNBD)重叠的结构域。P环是CNGCs通道的离子选择过滤器(Demidchik et al., 2002)。与Shaker类 $\text{K}^+$ 通道不同, CNGC的P结构域没有 $\text{K}^+$ 高度选择性基序(Flynn and Zagotta, 2003)。Köhler等(1999)根据序列推测CaMBD与CNBD重叠, 能与环核苷酸和钙调素结合。实验证明AtCNGC1的C端的CaMBD由14个氨基酸残基(F602—Y617)组成, 推测定位于CNBD的

最后1个 $\alpha$ 螺旋内。当CNGCs与环核苷酸结合后, 激活打开通道, 胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 内流, 胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 增多, 并激活 $\text{Ca}^{2+}$ 依赖蛋白激酶(calcium-dependent protein kinases, CDPKs), 引起下游靶蛋白的磷酸化。受 $\text{Ca}^{2+}$ 激活的CaM与CNGCs结合, 阻止CNGCs与环核苷酸结合, 抑制通道活性, 减少 $\text{Ca}^{2+}$ 内流(Köhler and Neuhaus, 2000)。因此, CNGC被认为是连接环核苷酸与 $\text{Ca}^{2+}$ 信号转导之间的纽带。

植物CNGC作为质膜上的非选择性配体阳离子门控通道, 是细胞信号转导级联反应系统的组分, 通过级联反应, 将胞外信号转变为跨膜的阳离子流而起作用(Flynn and Zagotta, 2003)。植物CNGC家族成员数量多, 其生物学功能主要体现在3个方面。

其一, CNGC家族成员参与植物细胞的离子转运。迄今, 所有已验证功能的拟南芥CNGCs都被证明能转运 $\text{K}^+$ , 其中, CNGC1、2、11、12和18还能转运 $\text{Ca}^{2+}$ (Leng et al., 1999; Ali et al., 2005; Frietsch et al., 2007; Urquhart et al., 2007)。并且, CNGC1、2、3、11、12和18均定位在细胞质膜上, 提示它们能从质外体向胞内运送阳离子(Mercier et al., 2004; Ma et al., 2006; Gobert et al., 2006; Frietsch et al., 2007; Urquhart et al., 2007)。这些数据证明拟南芥CNGC在吸收 $\text{K}^+$ 和 $\text{Ca}^{2+}$ 以及维持细胞内的平衡中发挥重要作用。Sunkar等(2000)的研究表明, 当进行 $\text{Pb}^{2+}$ 处理时, *NtCBP4*(1个烟草CNGC基因)的超表达植株比野生型植株能积累更多 $\text{Pb}^{2+}$ , 并产生 $\text{Pb}^{2+}$ 过敏反应。而删除C-端的*NtCBP4ΔC*(包括CaMBD和部分CNBD结合域), 突变体植株则比野生型积累较少的 $\text{Pb}^{2+}$ , 因而表现出很强的耐 $\text{Pb}^{2+}$ 性, 说明*NtCBP4*参与 $\text{Pb}^{2+}$ 的运输。

其二, CNGC家族成员参与植物对病原体的防御应答。既然离子流的改变是植物识别病原微生物和激活防卫反应的一个早期事件, 由此认为CNGCs因涉及此类离子流的改变而参与植物的防御应答(Moeder et al., 2011)。AtCNGC2的突变植株*cngc2-1/dnd1*在病原体侵染时产生组成性激活的防卫反应, 如升高水杨酸水平、组成性病程反应基因表达和增强对致病菌的抗性(Genger et al., 2008), 但不产生超敏反应(hypersensitive response, HR)且不致死, 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*(Balague et al., 2003)。不过,*dnd1*表现出完整的基因对基因的病源体抗性,而*hlm1/dnd2*只表现出对某些病原体的抗性(Talke et al., 2003)。

有趣的是,*cpr22*(constitutive expresser of PR gene 22)是由CNGC11的前半部分和CNGC12的后半部分嵌合而成的CNGC功能获得突变体,组成性地表达病程反应基因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*和*AtCNGC12*可降低植物对卵菌病原灰霉病(*Hyaloperonospora arabidopsidis*)和假单胞杆菌(*Pseudomonas syringae*)无毒株系的抵抗能力,但不改变致病株系的感染力。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)。

当用触发水杨酸积累的方法处理时,*cpr22*中的*AtCNGC19*和*AtCNGC20*的表达水平显著增强(Mosher et al., 2010);与*AtCNGC11*和CNGC12功能缺失突变体相似,*AtCNGC19*和*AtCNGC20*的T-DNA插入突变体对无毒株系的抵抗力降低(Urquhart et al., 2011)。

其三,CNGC家族成员参与植物的生长发育和对胁迫的反应。在 $\text{Ca}^{2+}$ 胁迫条件下,*AtCNGC2*突变植株的成体较矮,且育性降低(Chan et al., 2003, 2008; Chaiwongsar et al., 2009)。同时,*AtCNGC2*敲除突变体*cngc2-1*和*cngc2-2*都表现对 $\text{Ca}^{2+}$ 敏感性增强的表型;且*cngc2-2*的表达谱与高 $\text{Ca}^{2+}$ 条件下生长的野生型的表达谱相似度高。这表明*cngc2*对 $\text{Ca}^{2+}$ 的感知异常(Chan et al., 2008)。小立碗藓(*Physcomitrella patens*)的PaCNGCb与拟南芥*AtCNGC2*直接同源,破坏PaCNGCb和*AtCNGC2*导致植物在中等热度初处理条件下发生超热敏反应、热休克反应和获得性耐热性,PaCNGCb的功能缺失突变体还显示出超热敏 $\text{Ca}^{2+}$ 内流以及改变的 $\text{Ca}^{2+}$ 信号转导。说明PaCNGCb与*AtCNGC2*是陆地植物的主要热传感器(Finka et al., 2012)。另外,还发现*AtCNGC2*参与植物的衰老调控(Ma et al., 2010)。

拟南芥CNGC1敲除突变体*cngc1*幼苗的根生长对 $\text{Ca}^{2+}$ 胁迫不敏感,且在高 $\text{Ca}^{2+}$ 条件下具有较低的内源 $\text{Ca}^{2+}$ 水平,提示在植物发育期间,CNGC1在维持适当的 $\text{Ca}^{2+}$ 稳态中起着重要作用(Ma et al., 2006)。另外还发现,*cngc1*和*AtCNGC10*反义株系的向地性

生长减弱,说明*AtCNGC1*和*AtCNGC10*在根的重力反应中扮演重要角色(Ma et al., 2006; Borsics et al., 2007)。在 $\text{K}^{+}$ 通道突变体*akt1-1*中超表达*AtCNGC10*,能提高低 $\text{K}^{+}$ 胁迫下*akt1-1*的生长速率。在低 $\text{K}^{+}$ 胁迫时,转*AtCNGC10*的酵母却表现出很高的 $\text{Na}^{+}$ 和 $\text{Cs}^{+}$ 耐受性(Li et al., 2005)。

拟南芥CNGC3缺失突变体*cngc3*在NaCl胁迫时萌发率低于野生型;而在KCl胁迫时与野生型差异不大。其幼苗对两种胁迫均表现出一定程度的抗性(Gobert et al., 2006)。

除了在植物免疫反应中起作用外,*AtCNGC11*和*AtCNGC12*在植物生长发育和重力反应中起着正调节因子的作用。其T-DNA插入突变体呈现出发育滞缓和根向地性减弱的表型(Urquhart et al., 2011)。

*AtCNGC18*主要分布在伸长的花粉管尖端,其功能缺失突变体*cngc18*表现出花粉管短小而瘦弱、生长无方向且爆裂过早的表型(Frietsch et al., 2007)。其超表达突变体的花粉管短而粗,胞外高浓度的 $\text{Ca}^{2+}$ 增强其花粉管的去极化生长,胞外低浓度 $\text{Ca}^{2+}$ 则抑制其花粉管的去极化生长(Chang et al., 2008)。

当用 $75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐处理时,尽管*AtCNGC19*和*AtCNGC20*的T-DNA插入突变体在生长发育方面与野生型相似,但是它们的地上部表达却显著增强,提示这2个离子通道蛋白参与了植物对盐胁迫的反应(Kugler et al., 2009)。

## 2.5 Myosin家族

有关动物(包括人类)含IQ基序的钙调素结合蛋白的研究取得了不少成果(韦慧彦等, 2007),主要涉及myosin参与细胞骨架调控和肌球蛋白运动的机理。有关植物含IQ基序的钙调素结合蛋白研究最多的是myosin。模式植物拟南芥和水稻分别有17个和14个myosin家族成员(Reddy and Day, 2001; Jiang and Ramachandran, 2004)。迄今为止,在藻类的新月藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)(Hamada et al., 2006)和轮藻(*Chara corallina*)(Kimura et al., 2003),苔藓类的小立碗藓(Vidali et al., 2010),蕨类的铁线蕨(*Adiantum capillus-veneris*)和乌毛蕨(*Blechnum orientale*)(Bezanilla et al., 2003),裸子植物湿地松(*Pinus elliotii*)(Chaffey and Barlow, 2002),被子植物向日葵(*Helianthus annuus*)(Vugrek and Moepps,

2002)、欧洲七叶树(*Aesculus hippocastanum*) (Chaffey and Barlow, 2002)、烟草(Holweg et al., 2003)、玉米、新麦草(*Psathyrostachys juncea*)、大麦(*Hordeum vulgare*)(Bezanilla et al., 2003)、火球花(*Haemanthus albixos*)(Lenartowska and Michalska, 2008)和短柄草(*Brachypodium distachyon*) (Peremyslov et al., 2011)等植物中分别鉴定出相应的myosin。

myosin在结构上较保守,不同生物中所含该家族成员不尽相同,可分为37类(Foth et al., 2006)。在植物中只鉴定出VIII和XI两类(Bezanilla et al., 2003; Sparkes, 2011)。拟南芥和水稻的上述两类myosin,分别为4个和13个以及2个和12个成员(Jiang and Ramachandran, 2004; Peremyslov et al., 2011)。植物myosins具有2个位于N-端的被称为马达(motor)的头部,能与肌动蛋白(actin)和ATP结合。每个头部后的颈部被称为杠杆臂(lever arm),由多个IQ基序串联而成,在与轻链钙调素或钙调素类似蛋白结合后保持稳定;紧随其后的是1个被称为“杆”(rod)的卷曲螺旋区(coiled coil regions),由 $\alpha$ -螺旋构成,参与分子间的二聚化;还有2个C-端球状尾(C-terminal globular tail domain),能与适配蛋白连接,后者连接myosin与细胞器、RNA复合物或蛋白复合物在内的载荷物(cargo)(Li and Nebenführ, 2007; Trybus, 2008; Avisar et al., 2009)。myosins利用这些结构域,将ATP水解所产生的化学能转变为物理动能,沿着肌动蛋白载荷运动(Li and Nebenführ, 2008; Avisar et al., 2012)。

如前所述,在动物中,myosin主要参与细胞骨架调控和肌球蛋白运动。在植物中,有关myosin在细胞水平的功能报道较多,主要涉及胞质环流(Shimmen and Yokota, 2004; Esseling-Ozdoba et al., 2008)、胞间连丝功能(Baluška et al., 2001; Volkmann et al., 2003)、细胞器运动(Nebenführ et al., 1999; Jedd and Chua, 2002)、胞质分裂(Molchan et al., 2002; Collings et al., 2003; Volkmann et al., 2003)、吞噬作用(Volkmann et al., 2003; Baluska et al., 2004; Samaj et al., 2004)及目标RNA复合物的转运(Hamada et al., 2003)等。

尽管如此,有关各类myosin确切作用的报道十分有限。免疫定位研究表明,myosin XIs与百合

(*Lilium longiflorum*)和烟草花粉管的各種颗粒(Yokota et al., 1995)、与玉米根细胞的线粒体、质体和低密度膜(Liu et al., 2001; Wang and Pesacreta, 2004)以及与烟草BY2细胞的内质网(Yokota et al., 2008)相关联。专一性抗体实验表明,拟南芥MYA2与叶片表皮细胞和气孔保卫细胞的过氧化物体相关联(Hashimoto et al., 2005)。重组荧光蛋白定位显示,MYA1、MYA2、XI-K和XI-I定位于过氧化物体(Li and Nebenführ, 2007; Reisen and Hanson, 2007),MYA1还定位于高尔基体(Li and Nebenführ, 2007)。进一步研究发现,XI-K和XI-E发生显性失活突变将导致线粒体运动障碍(Avisar et al., 2008b; Sparkes et al., 2008); XI-K和MYA2基因敲除突变体以及双突变体*xi-k/mya1*、*xi-k/mya2*和*mya2/xi-b*都表现出细胞器运动障碍的表型(Peremyslov et al., 2008; Prokhnovsky et al., 2008)。

尽管发现拟南芥myosin XI-K和XI-2(MYA2)均在根毛生长中起作用(Ojangu et al., 2007; Peremyslov et al., 2008),但有关单个myosin在植物发育中确切作用的资料非常有限。除MYA1的球状尾突变引起过氧化物体运动下降外,其它11个myosin XI的单基因突变体在常规生长条件下却无表型(Peremyslov et al., 2008)。因此,XI-K、MYA1和MYA2被认为是在细胞运动中起作用的主要myosin(Peremyslov et al., 2008; Prokhnovsky et al., 2008)。XI-C和XI-E在花粉管中高水平表达,二者可能是该器官但不是叶和根毛的主要myosin(Peremyslov et al., 2008)。目前,发现水稻myosin XI-B与花粉管发育有关(Jiang et al., 2007)。最近研究显示,6个拟南芥myosin XI(XIC、XIE、XIK、XI-I、MYA1和MYA2)在线粒体和高尔基体的运动中起主要作用(Avisar et al., 2012)。

对myosin VIII的研究报道较少。该类蛋白定位于植物细胞的特有结构——胞间连丝和细胞板(Reichert et al., 1999; Baluška et al., 2001)。进一步发现myosin VIII定位于内质网,涉及细胞吞噬作用。其在不同根细胞中具有不同的功能,可能涉及细胞吞噬作用的不同步骤、内质网固定(ER tethering)和胞间连丝活性等(Golomb et al., 2008; Sattarzadeh et al., 2008)。另外,还有研究显示,myosin VIII涉及甜菜黄病毒Hsp70h蛋白到胞间连丝的定位(Avisar et al., 2008a)。

## 2.6 其它具IQ基序的钙调素结合蛋白

程序化细胞死亡在动植物的发育和防御反应中起着非常重要的作用,能从健康组织中剔除突变、染病或损伤组织(Lord and Gunawardena, 2012)。拟南芥AtBAG6蛋白由At2G46240编码,含有1个BAG(BCL-2-associated athanogene)结构域和1个IQ基序。在缺乏游离Ca<sup>2+</sup>时,重组的AtBAG6与CaM的亲性和比有Ca<sup>2+</sup>时更强。在植物和酵母中,高水平表达AtBAG6基因,能引起超敏反应样的程序化细胞死亡。若突变IQ基序中的关键氨基酸残基或缺失BAG结构域,便不能导致程序化细胞死亡。用化学方法产生的氧自由基能诱导程序化细胞死亡。表达AtBAG6的酵母展示出更高的活性氧水平。在多种激素和胁迫处理中,只有水杨酸、高温和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能诱导AtBAG6基因高水平的表达。以上说明AtBAG6是一个受胁迫上调的、参与程序化细胞死亡调控的CaMBP;是已知功能的唯一的具BAG结构域且通过IQ基序介导Ca<sup>2+</sup>和CaM信号的蛋白(Kang et al., 2006)。

莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的辐射轮辐在Ca<sup>2+</sup>所启动的产生内外臂动力蛋白活性的内鞭毛信号转导中必不可少,但有关信号转导的机理还不清楚。Patel-King等(2004)在莱茵衣藻鞭毛中发现了1个新的核苷二磷酸激酶(nucleoside diphosphate kinase, NDK),称之为p61或RSP23。在缺失辐射轮辐的突变体中未检出p61,而在仅仅缺失轮辐头部的突变体中能检出该蛋白,说明该蛋白在辐射轮辐的形成中必不可少。p61的N-端是具有核苷二磷酸激酶活性的结构域,其后是3次重复的IQ基序(IQ1、2和3),C-端为高酸性氨基酸残基的区段。有趣的是,在体外IQ1与CaM的结合不依赖Ca<sup>2+</sup>,而IQ2和IQ3与CaM的结合却依赖Ca<sup>2+</sup>。在野生型的鞭毛轴丝中能检出2种不同的NDK活性,至少其中之一受Ca<sup>2+</sup>刺激。因此,p61被认为是结合钙调素的辐射轮辐和Ca<sup>2+</sup>控制的NDK活性的整合子(Patel-King et al., 2004)。

## 3 研究展望

揭示包括具IQ基序的蛋白在内的CaMBP的功能是阐明CaM信号通路的特异性、复杂性和多样性的关键。植物中存在5个主要的含IQ基序的CaMBP家族,即myosin、CAMTA、CNGC、IQD和IQM家族。各家族

在结构上均具有各自的特征,在分子、细胞和整体水平上的功能也各不相同,部分家族内成员存在一定程度的功能冗余,部分家族内成员的生物学功能不尽相同,但都在植物对环境的反应以及自身的生长发育中起着重要作用。因此,开展此类蛋白功能的研究具有重要意义,并将拓展人们对此类蛋白不同水平上的功能认识,还将有助于理解Ca<sup>2+</sup>/CaM信号在植物细胞生理以及生长发育中所起的作用。

然而,有关的研究领域尚存在许多亟待解决的问题。首先,获得具IQ基序的蛋白介导CaM信号的确切证据十分必要,除了利用传统的体外检测方法(如免疫共沉淀和蛋白免疫印迹杂交)和近年来开发的体内检测方法(如酵母双杂交和双分子荧光互补)外,还可利用IQ基序定点突变的载体互补相应突变体来判断具IQ基序的蛋白是否介导了CaM信号。其次,找出植物体内与单个具IQ基序的蛋白结合的CaM,便于阐明CaM信号通路的特异性和具体功能。再次,单子叶植物具IQ基序蛋白的研究远远滞后于双子叶植物,因此,以水稻为材料开展有关研究十分必要。最后,在拟南芥中,应重点开展未知功能的含IQ基序的家族成员的功能研究,如IQD和IQM家族, CAMTA2、4和6, CNGC5、6、7、8、9、13、14、15、16和17以及myosin XI-A、B、D、F、G、H和J等。此外,对已知功能的含IQ基序的家族成员进行深入研究也非常重要。

## 参考文献

- 陈羽中, 周玉萍, 叶蕙, 桂林, 郭培国, 田长恩 (2010). 拟南芥IQM2 cDNA 的克隆与生物信息学分析. 武汉植物学研究 28, 353–358.
- 毛国红, 宋林霞, 孙大业 (2004). 植物钙调素结合蛋白研究进展. 植物生理与分子生物学报 30, 481–488.
- 王小兰, 周宇, 彭慧峰, 刘顺枝, 田长恩 (2011). At3g13600 截短型蛋白的原核表达载体的构建. 广州大学学报(自然科学版) 9(3), 37–40.
- 韦慧彦, 郭振清, 王振杰, 李朝炜, 王志娟, 崔素娟 (2008). 拟南芥钙调素结合蛋白AtIQD26的分离鉴定. 生物化学与生物物理进展 35, 703–711.
- 韦慧彦, 郭振清, 崔素娟 (2007). 钙不依赖性钙调素结合蛋白的研究进展. 生物化学与生物物理进展 34, 124–131.
- 周玉萍, 赵军, 何滔, 程惠贞, 段俊, 田长恩 (2009). 拟南芥



- IQM3基因的表达分析及其突变体的鉴定. 热带亚热带植物学报 17, 365–370.
- Abel S, Savchenko T, Levy M** (2005). Genome-wide comparative analysis of the IQD gene families in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. *BMC Evol Biol* 5, 72.
- Ali R, Zielinski RE, Berkowitz GA** (2005). 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  $\text{Ni}^{2+}$  tolerance and  $\text{Pb}^{2+}$  hypersensitivity in transgenic plants. *Plant J* 20, 171–182.
- Avisar D, Abu-Abied M, Belausov E, Sadot E** (2012). Myosin XIX is a major player in cytoplasm dynamics and is regulated by two amino acids in its tail. *J Exp Bot* 63, 241–249.
- Avisar D, Abu-Abied M, Belausov E, Sadot E, Hawes C, Sparkes IA** (2009). A comparative study of the involvement of 17 *Arabidopsis* myosin family members on the motility of Golgi and other organelles. *Plant Physiol* 150, 700–709.
- Avisar D, Prokhnovsky AI, Dolja VV** (2008a). Class VIII myosins are required for plasmodematal localization of a closterovirus Hsp70 homolog. *J Virol* 82, 2836–2843.
- Avisar D, Prokhnovsky AI, Makarova KS, Koonin EV, Dolja VV** (2008b). Myosin XI-K is required for rapid trafficking of Golgi stacks, peroxisomes and mitochondria in leaf cells of *Nicotiana benthamiana*. *Plant Physiol* 146, 1098–1108.
- Bähler M, Rhoads A** (2002). Calmodulin signaling via the IQ motif. *FEBS Lett* 513, 107–113.
- Balague C, Lin BQ, Alcon C, Flottes G, Malmstrom 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.
- Baluška F, Cvrckova F, Kendrick-Jones J, Volkmann D** (2001). Sink plasmodesmata as gateways for phloem unloading. Myosin VIII and calreticulin as molecular determinants of sink strength? *Plant Physiol* 126, 39–46.
- Baluška F, Šamaj J, Hlavacka A, Kendrick-Jones J, Volkmann D** (2004). Actin-dependent fluid-phase endocytosis in inner cortex cells of maize root apices. *J Exp Bot* 55, 463–473.
- Bezanilla M, Horton AC, Sevener HC, Quatrano RS** (2003). Phylogenetic analysis of new plant myosin sequences. *J Mol Evol* 57, 229–239.
- Borsics T, Webb D, Andeme-Ondzighi C, Staehelin LA, Christopher DA** (2007). The cyclic nucleotide-gated calmodulin-binding channel AtCNGC10 localizes to the plasma membrane and influences numerous growth responses and starch accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 225, 563–573.
- Bouché N, Scharlat A, Snedden W, Bouchez D, Fromm H** (2002). A novel family of calmodulin-binding transcription activators in multicellular organisms. *J Biol Chem* 277, 21851–21861.
- Briggs MW, Sacks DB** (2003). IQGAP1 as signal integrator:  $\text{Ca}^{2+}$ , calmodulin, Cdc42 and the cytoskeleton. *FEBS Lett* 542, 7–11.
- Chaffey N, Barlow P** (2002). Myosin, microtubules, and microfilaments: co-operation between cytoskeletal components during cambial cell division and secondary vascular differentiation in trees. *Planta* 214, 526–536.
- 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, Schorrrak 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.
- Chang F, Yan A, Zhao LN, Wu WH, Yang ZB** (2008). A putative calcium-permeable cyclic nucleotide-gated channel, CNGC18, regulates polarized pollen tube growth. *J Integr Plant Biol* 49, 1261–1270.
- Choi MS, Kim MC, Yoo JH, Moon BC, Koo SC, Park BO, Lee JH, Koo YD, Han HJ, Lee SY, Chung WS, Lim CO, Cho MJ** (2005). Isolation of a calmodulin-binding transcription factor from rice (*Oryza sativa* L.). *J Biol Chem* 280, 40820–40831.
- Collings DA, Harper JDI, Vaughn KC** (2003). The association of peroxisomes with the developing cell plate in dividing onion root cells depends on actin microfilaments

- and myosin. *Planta* **218**, 204–216.
- da Costa e Silva O** (1994). CG-1, a parsley light-induced DNA-binding protein. *Plant Mol Biol* **25**, 921–924.
- Demidchik V, Davenport RJ, Tester M** (2002). Nonselective cation channels in plants. *Annu Rev Plant Biol* **53**, 67–107.
- Doherty CJ, Van Buskirk HA, Myers SJ, Thomashow MF** (2009). Roles for Arabidopsis CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance. *Plant Cell* **21**, 972–984.
- Du L, Ali GS, Simons KA, Hou J, Yang T, Reddy AS, Poovaiah BW** (2009).  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin regulates salicylic-acid-mediated plant immunity. *Nature* **457**, 1154–1158.
- Esseling-Ozdoba A, Houtman D, Van Lammeren AAM, Eiser E, Emons AMC** (2008). Hydrodynamic flow in the cytoplasm of plant cells. *J Microsc* **213**, 274–283.
- Finka A, Cuendet AF, 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.
- Finkler F, Ashery-Padan R, Fromm H** (2007). CAMTAs: calmodulin-binding transcription activators from plants to human. *FEBS Lett* **581**, 3893–3898.
- Flynn GE, Zagotta WN** (2003). A cysteine scan of the inner vestibule of cyclic nucleotide-gated channels reveals architecture and rearrangement of the pore. *J Gen Physiol* **121**, 563–582.
- Foth BJ, Goedecke MC, Soldati D** (2006). New insights into myosin evolution and classification. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 3681–3686.
- Frietsch S, Wang YF, Sladek C, Poulsen LR, Romanowsky SM, Schroeder JL, Harper JF** (2007). A cyclic nucleotide-gated channel is essential for polarized tip growth of pollen. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 14531–14536.
- Galon Y, Nave R, Boyce JM, Nachmias D, Knight MR, Fromm H** (2008). Calmodulin-binding transcription activator (CAMTA) 3 mediates biotic defense responses in Arabidopsis. *FEBS Lett* **582**, 943–948.
- 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.
- 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.
- Golomb L, Abu-Abied M, Belausov E, Sadot E** (2008). Different subcellular localizations and functions of Arabidopsis myosin VIII. *BMC Plant Biol* **8**, 3.
- Hamada S, Ishiyama K, Choi SB, Wang CL, Singh S, Kawai N, Franceschi VR, Okita TW** (2003). The transport of prolamine RNAs to prolamine protein bodies in living rice endosperm cells. *Plant Cell* **15**, 2253–2264.
- Hamada S, Sekimoto H, Tanabe Y, Tsuchikane Y, Ito M** (2006). Isolation of myosin XI genes from the *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex and analysis of their expression during sexual reproduction. *J Plant Res* **119**, 105–113.
- Hashimoto K, Igarashi H, Mano S, Nishimura M, Shimmen T, Yokota E** (2005). Peroxisomal localization of a myosin XI isoform in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* **46**, 782–789.
- Holweg C, Honsel A, Nick P** (2003). A myosin inhibitor impairs auxin-induced cell division. *Protoplasma* **22**, 193–204.
- Jedd G, Chua NH** (2002). Visualization of peroxisomes in living plant cells reveals acto-myosin-dependent cytoplasmic streaming and peroxisome budding. *Plant Cell Physiol* **43**, 384–392.
- Jiang SY, Cai MN, Ramachandran S** (2007). *Oryza sativa* myosin XI B controls pollen development by photoperiod-sensitive protein localizations. *Dev Biol* **304**, 579–592.
- Jiang SY, Ramachandran S** (2004). Identification and molecular characterization of myosin gene family in *Oryza sativa* genome. *Plant Cell Physiol* **45**, 590–599.
- Jurado LA, Chockalingam PS, Jarrett HW** (1999). Apocalmodulin. *Physiol Rev* **9**, 661–682.
- Kang CH, Jung WY, Kang YH, Kim JY, Kim DG, Jeong JC, Baek DW, Jin JB, Lee JY, Kim MO, Chung WS, Mengiste T, Koiwa H, Kwak SS, Bahk JD, Lee SY, Nam JS, Yun DJ, Cho MJ** (2006). AtBAG6, a novel calmodulin-binding protein, induces programmed cell death in yeast and plants. *Cell Death Differ* **13**, 84–95.
- Kaplan B, Davydov O, Knight H, Galon Y, Knight MR, Fluhr R, Fromm H** (2006). Rapid transcriptome changes induced by cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  transients reveal ABRE-related sequences as  $\text{Ca}^{2+}$ -responsive *cis* elements in Arabidopsis. *Plant Cell* **18**, 2733–2748.
- Kimura Y, Toyoshima N, Hirakawa N, Okamoto K, Ishi-**

- jima A (2003). A kinetic mechanism for the fast movement of *Chara* myosin. *J Mol Biol* **328**, 939–950.
- Knight AE, Kendrick-Jones J (1993). A myosin-like protein from a higher plant. *J Mol Biol* **231**, 148–154.
- Köhler C, Neuhaus G (2000). Characterisation of calmodulin binding to cyclic nucleotide-gated ion channels from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* **4710**, 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.
- Lee S, Hong JC, Jeon WB, Chung YS, Sung S, Choi D, Joung YH, Oh BJ (2009). The salicylic acid-induced protection of non-climacteric unripe pepper fruit against *Colletotrichum gloeosporioides* is similar to the resistance of ripe fruit. *Plant Cell Rep* **28**, 1573–1580.
- Lenartowska M, Michalska A (2008). Actin filament organization and polarity in pollen tubes revealed by myosin II subfragment 1 decoration. *Planta* **228**, 891–896.
- 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.
- Levy M, Wang Q, Kaspi R, Parrella MP, Abel S (2004). *Arabidopsis* IQD1, a novel calmodulin-binding nuclear protein, stimulates glucosinolate accumulation and plant defense. *Plant J* **43**, 79–96.
- Li JF, Nebenführ A (2007). Organelle targeting of myosin XI is mediated by two globular tail subdomains with separate cargo binding sites. *J Biol Chem* **282**, 20593–20602.
- Li JF, Nebenführ A (2008). The tail that wags the dog: the globular tail domain defines the function of myosin V/XI. *Traffic* **9**, 290–298.
- 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.
- Liu L, Zhou J, Pesacreta TC (2001). Maize myosins: diversity, localization, and function. *Cell Motil Cytoskeleton* **48**, 130–148.
- Lord CEN, Gunawardena AHLAN (2012). Programmed cell death in *C. elegans*, mammals and plants. *Eur J Cell Biol* **91**, 603–613.
- Ma W, Ali R, Berkowitz GA (2006). Characterization of plant phenotypes associated with loss-of-function of *AtCNGC1*, a plant cyclic nucleotide gated cation channel. *Plant Physiol Biochem* **44**, 494–505.
- 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.
- Malarkannan S, Awasthi A, Rajasekaran K, Kumar P, Schuldts KM, Bartoszek A, Manoharan N, Goldner NK, Umhoefer CM, Thakar MS (2012). IQGAP1: a regulator of intracellular spacetime relativity. *J Immunol* **188**, 2057–2063.
- 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.
- Mercier RW, Rabinowitz NM, Gaxiola RA, Ali R, Berkowitz GA (2004). Yeast hygromycin sensitivity as a functional assay of cyclic nucleotide gated cation channels. *Plant Physiol Biochem* **42**, 529–536.
- Mitsuda N, Isono T, Sato MH (2003). *Arabidopsis* CAMTA family proteins enhance V-PPase expression in pollen. *Plant Cell Physiol* **44**, 975–981.
- 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.
- Molchan TM, Valster AH, Hepler PK (2002). Actomyosin promotes cell plate alignment and late lateral expansion in *Tradescantia* stamen hair cells. *Planta* **214**, 683–693.
- Mosher S, Moeder W, Nishimura N, Jikumaru Y, Joo SH, Urquhart W, Klessig DF, Kim SK, Nambara E, Yoshioka K (2010). The lesion-mimic mutant *cpr22* shows alterations in abscisic acid signaling and abscisic acid insensitivity in a salicylic acid-dependent manner. *Plant Physiol* **152**, 1901–1913.
- Müller CW, Rey FA, Sodeoka M, Verdine GL, Harrison SC (1995). Structure of the NF- $\kappa$ B p50 homodimer bound to DNA. *Nature* **373**, 311–317.
- Nebenführ A, Gallagher LA, Dunahay TG, Frohlick JA, Mazurkiewicz AM, Meehl JB, Staehelin LA (1999). Stop-and-go movements of plant Golgi stacks are mediated by the acto-myosin system. *Plant Physiol* **121**, 1127–1141.
- O'Day DH (2003). CaMBOT: profiling and characterizing calmodulin-binding protein. *Cell Signal* **15**, 347–354.
- Ojangu EL, Järve K, Paves H, Truve E (2007). *Arabidopsis thaliana* myosin XIX is involved in root hair as well as

- trichome morphogenesis on stems and leaves. *Protoplasma* **230**, 193–202.
- Patel-King RS, Gorbatyuk O, Takebe S, King SM** (2004). Flagellar radial spokes contain a  $\text{Ca}^{2+}$ -stimulated nucleoside diphosphate kinase. *Mol Biol Cell* **15**, 3891–3902.
- Peremyslov VV, Mockler TC, Filichkin SA, Fox SE, Jaiswal P, Makarova KS, Koonin EV, Dolja VV** (2011). Expression, splicing, and evolution of the myosin gene family in plants. *Plant Physiol* **155**, 1191–1204.
- Peremyslov VV, Prokhnevsky AI, Avisar D, Dolja VV** (2008). Two class XI myosins function in organelle trafficking and root hair development in Arabidopsis. *Plant Physiol* **146**, 1109–1116.
- Prokhnevsky AI, Peremyslov VV, Dolja VV** (2008). Overlapping functions of the four class XI myosins in Arabidopsis growth, root hair elongation, and organelle motility. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 19744–19749.
- Reddy AS, Day IS** (2001). Analysis of the myosins encoded in the recently completed *Arabidopsis thaliana* genome sequence. *Genome Biol* **2**, RESEARCH 0024.
- Reddy ASN, Reddy VS, Golovkin M** (2000). A calmodulin binding protein from Arabidopsis is induced by ethylene and contains a DNA-binding motif. *Biochem Biophys Res Commun* **279**, 762–769.
- Reichelt S, Knight AE, Hodge TP, Baluska F, Samaj J, Volkmann D, Kendrick-Jones J** (1999). Characterization of the unconventional myosin VIII in plant cells and its localization at the post-cytokinetic cell wall. *Plant J* **19**, 555–567.
- Reisen D, Hanson MR** (2007). Association of six YFP-myosin XI-tail fusions with mobile plant cell organelles. *BMC Plant Biol* **7**, 6.
- Rhoads AR, Friedberg F** (1997). Sequence motifs for calmodulin recognition. *FASEB J* **11**, 331–340.
- Šamaj J, Baluška F, Voigt B, Schlicht M, Volkmann D, Menzel D** (2004). Endocytosis, actin cytoskeleton, and signaling. *Plant Physiol* **135**, 1150–1161.
- Sattarzadeh A, Franzen R, Schmelzer E** (2008). The Arabidopsis class VIII myosin ATM2 is involved in endocytosis. *Cell Motil Cytoskeleton* **65**, 457–468.
- 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.
- Shimmen T, Yokota E** (2004). Cytoplasmic streaming in plants. *Curr Opin Cell Biol* **16**, 68–72.
- Snedden WA, Fromm H** (1998). Calmodulin, calmodulin-related proteins and plant responses to the environment. *Trends Plant Sci* **3**, 299–304.
- Sparkes I** (2011). Recent advances in understanding plant myosin function: life in the fast lane. *Mol Plant* **4**, 805–812.
- Sparkes IA, Teanby NA, Hawes C** (2008). Truncated myosin XI tail fusions inhibit peroxisome, Golgi, and mitochondrial movement in tobacco leaf epidermal cells: a genetic tool for the next generation. *J Exp Bot* **59**, 2499–2512.
- 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  $\text{Pb}^{2+}$  tolerance. *Plant J* **24**, 533–542.
- Talke IN, Blaudez D, Maathuis FJM, Sanders D** (2003). CNGCs: prime targets of plant cyclic nucleotide signaling? *Trends Plant Sci* **8**, 286–293.
- Trybus KM** (2008). Myosin V from head to tail. *Cell Mol Life Sci* **65**, 1378–1389.
- Urquhart W, Chin K, Ung H, Moeder W, Yoshioka K** (2011). The cyclic nucleotide-gated channels AtCNGC11 and 12 are involved in multiple  $\text{Ca}^{2+}$  dependent physiological responses and act in a synergistic manner. *J Exp Bot* **62**, 3671–3682.
- Urquhart W, Gunawardena AHLAN, Moeder W, Ali R, Berkowitz GA, Yoshioka K** (2007). The chimeric cyclic nucleotide-gated ion channel ATCNGC11/12 constitutively induces programmed cell death in a  $\text{Ca}^{2+}$  dependent manner. *Plant Mol Biol* **65**, 747–761.
- Vidal L, Burkart GM, Augustine RC, Kerdavid E, Tuzel E, Bezanilla M** (2010). Myosin XI is essential for tip growth in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* **22**, 1868–1882.
- Volkmann D, Mori T, Tirilapur UK, König K, Fujiwara T, Kendrick-Jones J, Baluška F** (2003). Unconventional myosins of the plant-specific class VIII: endocytosis, cytokinesis, plasmodesmata/pit-fields, and cell-to-cell coupling. *Cell Biol Int* **27**, 289–291.
- Vugrek O, Moepps B** (2002). *Hamy3*, a novel type 100 kDa myosin from sunflower. *J Exp Bot* **53**, 769–771.
- Walley JW, Coughlan S, Hudson ME, Covington MF, Kaspi R, Banu G, Harmer SL, Dehesh K** (2007). Mechanical stress induces biotic and abiotic stress responses via a novel *cis*-element. *PLoS Genet* **3**, 1800–1812.
- Wang ZY, Pesacreta TC** (2004). A subclass of myosin XI is

- associated with mitochondria, plastids, and the molecular chaperone subunit TCP-1 $\alpha$  in maize. *Cell Motil Cytoskeleton* **57**, 218–232.
- White CD, Brown MD, Sacks DB** (2009). IQGAPs in cancer: a family of scaffold proteins underlying tumorigenesis. *FEBS Lett* **583**, 1817–1824.
- Xiao H, Jiang N, Schaffner E, Stockinger EJ, van der Knaap E** (2008). A retrotransposon-mediated gene duplication underlies morphological variation of tomato fruit. *Science* **319**, 1527–1530.
- Yang TB, Peng H, Whitaker BD, Conway WS** (2012). Characterization of a calcium/calmodulin regulated SR/CAMTA gene family during tomato fruit development and ripening. *BMC Plant Biol* **12**, 19.
- Yang TB, Poovaiah BW** (2000). An early ethylene up-regulated gene encoding a calmodulin-binding protein involved in plant senescence and death. *J Biol Chem* **275**, 38467–38473.
- Yang TB, Poovaiah BW** (2002). A calmodulin-binding/CGCG box DNA-binding protein family involved in multiple signaling pathways in plants. *J Biol Chem* **277**, 45049–45058.
- Yang TB, Poovaiah BW** (2003). Calcium/calmodulin-mediated signal network in plant. *Trends Plant Sci* **8**, 505–512.
- Yokota E, McDonald AR, Liu B, Shimmen T, Palevitz BA** (1995). Localization of a 170 kDa myosin heavy chain in plant cells. *Protoplasma* **185**, 178–187.
- Yokota E, Ueda S, Tamura K, Orii H, Uchi S, Sonobe S, Hara-Nishimura I, Shimmen T** (2008). An isoform of myosin XI is responsible for the translocation of endoplasmic reticulum in tobacco cultured BY-2 cells. *J Exp Bot* **60**, 197–212.
- Yoshioka K, Moeder W, Kang HG, Kachroo P, Masmoudi K, Berkowitz G, Klessig DF** (2006). The chimeric Arabidopsis cyclic nucleotide-gated ion channel 11/12 activates multiple pathogen resistance responses. *Plant Cell* **18**, 747–763.
- 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.
- Zegzouti H, Jones B, Frasse P, Marty C, Maitre B, Latché A, Pech JC, Bouzayen M** (1999). Ethylene-regulated gene expression in tomato fruit: characterization of novel ethylene-responsive and ripening-related genes isolated by differential display. *Plant J* **18**, 589–600.
- Zelman AK, Dawe A, Gehring C, Berkowitz GA** (2012). Evolutionary and structural perspectives of plant cyclic nucleotide-gated cation channels. *Front Plant Sci* **3**, 95–95.
- Zhang L, Lu YT** (2003). Calmodulin-binding protein kinases in plants. *Trends Plant Sci* **8**, 123–127.
- Zhou YP, Chen YZ, Yamamoto KT, Duan J, Tian CE** (2010). Sequence and expression analysis of the Arabidopsis IQM family. *Acta Physiol Plant* **32**, 191–198.
- Zhou YP, Duan J, Fujibe T, Yamamoto KT, Tian CE** (2012). AtIQM1, a novel calmodulin-binding protein, is involved in stomatal movement in Arabidopsis. *Plant Mol Biol* **79**, 333–346.
- Zhou YP, Fujiba T, Wang XL, Cheng HZ, Yamamoto KT, Tian CE** (2007). Initial characterization of Arabidopsis T-DNA insertion mutants of the *IQM1* gene that encodes an IQ motif-containing protein. *Plant Cell Physiol* **48**, S197.

## Research Progress in Plant IQ Motif-containing Calmodulin-binding Proteins

Chang'en Tian\*, Yuping Zhou

*Guangzhou Key Laboratory for Functional Study on Stress-resistant Genes in Plants, School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China*

**Abstract** As the primary intracellular calcium sensors, calmodulins regulate different cellular physiologic, growth and development processes by binding to different calmodulin-binding proteins. The IQ motif, IQxxxRGxxxR (Pfam 00612), is one of a few recognition motifs for calmodulins in calmodulin-binding proteins. As well as a few other proteins, 5 major families, including IQM, IQD, CAMTA, CNGC and myosin family, have been found to possess the IQ motif(s) in plants. Here, we review the research progress in plant IQ motif-containing calmodulin-binding proteins, including their type, structural characteristics and function, and prospects for future study.

**Key words** IQ motif, calmodulin-binding protein, calmodulin, plant, IQM, IQD, CAMTA, CNGC, myosin

**Tian CE, Zhou YP** (2013). Research progress in plant IQ motif-containing calmodulin-binding proteins. *Chin Bull Bot* **48**, 447–460.

---

\* Author for correspondence. E-mail: changentian@yahoo.com.cn