

УДК 581.1

Ca²⁺-ПРОНИЦАЕМЫЕ КАТИОННЫЕ КАНАЛЫ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

В. С. МАЦКЕВИЧ¹⁾, В. В. САМОХИНА¹⁾, П. В. ГРИУСЕВИЧ¹⁾,
М. А. ВОЙТЕХОВИЧ¹⁾, А. И. СОКОЛИК¹⁾, В. В. ДЕМИДЧИК^{1),2)}

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН,
ул. Профессора Попова, 2, 197376, г. Санкт-Петербург, Россия

Кальций (Ca²⁺) является важным структурным элементом, регулятором метаболических процессов, а также универсальным для живых систем сигнальным агентом-посредником, обеспечивающим взаимосвязь между мембранными рецепторами и генетической экспрессией. Важнейшим феноменом, определяющим сигнально-регуляторную функцию Ca²⁺, выступает его транспорт через плазматическую мембрану и эндомембраны клетки. Ключевую роль в процессах транспорта Ca²⁺ играют катионные каналы, локализованные во всех мембранах растительной клетки. Биоинформационный анализ катионпроницаемых ионных каналов растений не обнаружил в них наличия Ca²⁺-селективных фильтров, схожих с аналогичными системами у животных. Тем не менее мембраны растений обнаруживают Ca²⁺-проводимости, т. е. обладают проницаемостью к Ca²⁺. Биофизические характеристики Ca²⁺-проводимостей растений детально изучены и в последнее время дополнены молекулярно-генетическим анализом. Продемонстрировано, что Ca²⁺-проводимость растений опосредуется несколькими типами неселективных катионных каналов, кодируемых соответствующими семействами генов, в частности каналами, активируемыми циклическими нуклеотидами, ионотропными глутаматными рецепторами, двупоровым каналом 1, аннексинами и несколькими семействами механочувствительных ионных каналов. Накоплен широкий пласт результатов, указывающих на то, что восприятие внешних факторов среды (температура, гравитация, механическое и химическое воздействие), гормональная сигнализация и везикулярный транспорт связаны с активностью отдельных субъединиц данных ионных каналов.

Ключевые слова: кальций; катионные каналы; Ca²⁺-проводимость; каналы, активируемые циклическими нуклеотидами; ионотропные глутаматные рецепторы; механочувствительные каналы; высшие растения.

Образец цитирования:

Мацкевич ВС, Самохина ВВ, Гриусевич ПВ, Войтехович МА, Соколик АИ, Демидчик ВВ. Ca²⁺-проницаемые катионные каналы плазматической мембраны клеток высших растений. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2018;2:11–26.

For citation:

Mackievic VS, Samokhina VV, Hryvusevich PV, Vaitsiakhovich MA, Sokolik AI, Demidchik VV. Ca²⁺-permeable cation channels of the plasma membrane of higher plant cells. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2018;2:11–26 (in Russ.).

Авторы:

Вера Сергеевна Мацкевич – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

Вероника Валерьевна Самохина – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – А. И. Соколик.

Полина Вацлавовна Гриусевич – магистрант кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

Мария Аркадьевна Войтехович – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

Анатолий Иосифович Соколик – кандидат биологических наук; заведующий научно-исследовательской лабораторией физиологии и биотехнологии растений, доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений, заместитель декана по научно-исследовательской работе биологического факультета.

Вадим Викторович Демидчик – доктор биологических наук, доцент; заведующий кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета¹⁾; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной и экологической физиологии²⁾.

Authors:

Viera S. Mackievic, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. v.mackievic@gmail.com

Veronika V. Samokhina, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. veronika.bukhovets@gmail.com

Palina V. Hryvusevich, master's degree student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. polinachikun@gmail.com

Maryia A. Vaitsiakhovich, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. makovitskayama@gmail.com

Anatoly I. Sokolik, PhD (biology); head of the research laboratory of plant physiology and biotechnology, associate professor at the department of plant cell biology and bioengineering, deputy dean for research and development, faculty of biology. sokolik@bsu.by

Vadim V. Demidchik, doctor of science (biology), docent; head of the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology^a; leading researcher at the laboratory of molecular and ecological physiology^b. dzemidchik@bsu.by

CA²⁺-PERMEABLE CATION CHANNELS OF THE PLASMA MEMBRANE OF HIGHER PLANT CELLS

V. S. MACKIEVIC^a, V. V. SAMOKHINA^a, P. V. HRYVUSEVICH^a,
M. A. VAITSIAKHOVICH^a, A. I. SOKOLIK^a, V. V. DEMIDCHIK^{a, b}

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bKomarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences,
2 Professora Popova Street, St. Petersburg 197376, Russia

Corresponding author: V. S. Mackievic (v.mackievic@gmail.com)

Calcium (Ca²⁺) is an important structural element, regulator of metabolic processes and ubiquitous for all living systems signaling agent that provides a link between membrane receptors and gene expression. The most significant phenomenon determining the signal-regulatory function of Ca²⁺ is its transport through the plasma membrane and the endomembranes of the cell. A key role in this processes is played by cation channels localized in all membranes of the plant cell. Bioinformatics analysis of plant cation channels has not revealed the presence of Ca²⁺-selective filters similar to the systems found in animals. However, plant membranes show pronounced Ca²⁺-mediated currents, i. e. exhibit high permeability to Ca²⁺. Biophysical characteristics of plant Ca²⁺ conductances has recently been studied in details and supplemented by molecular analysis. Ca²⁺ conductance in plant cell membranes is mediated by different cation channels encoded by several families of ion channel genes, such as «cyclic nucleotide-gated channels» (CNGCs), «ionotropic glutamate receptors» (GLRs), «two-pore channel 1» (TPC1), «annexins» and «mechanosensitive-like channels» and some others. Recent studies also suggest that perception of external environmental factors, such as salinity, temperature, pH, gravity, mechanical stimulation, chemical agents, phytohormones and others is associated with the activity of specific subunits of these ion channels.

Key words: calcium; cation channels; Ca²⁺ conductance; cyclic nucleotide-gated channels; ionotropic glutamate receptors; mechanosensitive channels; higher plants.

Условные обозначения и сокращения

[Ca²⁺]_{цит} – цитоплазматическая активность Ca²⁺;
CaMBS – calmodulin binding site (кальмодулинсвязывающий сайт);
CDF – Ca²⁺-dependent facilitation (Ca²⁺-зависимое усиление);
CDI – Ca²⁺-dependent inactivation (Ca²⁺-зависимая инактивация);
CNBD – cyclic nucleotide-binding domain (домен, связывающий циклические нуклеотиды);
CNGC – cyclic nucleotide-gated channels (каналы, активируемые циклическими нуклеотидами);
GLR – «glutamate receptor-like», ionotropic glutamate receptors (ионотропные глутаматные рецепторы);
HEK293 – Human Embryonic Kidney 293 (клеточная линия, полученная из эмбриональных почек человека);
MCA – Midl-complementing activity mechanosensitive channels (механочувствительный канал MCA);
MSL – MscS-like mechanosensitive channels (механочувствительный канал MSL);
OSCA1 – hyperosmolality-induced [Ca²⁺]_{цит} channel 1 (Ca²⁺-канал, индуцирующийся гиперосмолярностью);
TPC1 – two-pore channel 1 (двупоровый канал 1);
TRP – transient receptor potential channels (суперсемейство неспецифических катионных каналов);
АФК – активная форма кислорода;
ВАХ – вольт-амперная характеристика;
ГАКК – гиперполяризационно-активируемый Ca²⁺-канал;
ГАКП – гиперполяризационно-активируемая Ca²⁺-проводимость;
ДАКК – деполяризационно-активируемый Ca²⁺-канал;
ДАКП – деполяризационно-активируемая Ca²⁺-проводимость;
ДСЦН – домен связывания циклических нуклеотидов;
ИГлуР – ионотропный глутаматный рецептор;
КАЦН – канал, активируемый циклическими нуклеотидами;
НАДФН-оксидаза – никотинамидадениндинуклеотидфосфат-оксидаза;
НКК – неселективный катионный канал;
ПНКК – потенциалнезависимый Ca²⁺-канал;
ПНКП – потенциалнезависимая Ca²⁺-проводимость;
цАДФ-рибоза – циклическая аденозиндифосфатрибоза;
цАМФ – циклический аденозинмонофосфат;
цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат.

Введение

Кальций является макроэлементом, присутствующим в растениях в ионной форме (Ca^{2+}) или в комплексе с лигандами, необходимым на всех стадиях онтогенеза растительного организма [1]. Его содержание в тканях растений на сухую массу достигает 1–5 % [1]. В широком физиологическом смысле поступление Ca^{2+} в растение необходимо для поддержания структурных и метаболических потребностей либо для «быстрых регуляторных реакций», т. е. обеспечения нужд клеточной сигнализации, ионного и электрического баланса, перестроек цитоскелета. Стационарный внутрьнаправленный поток Ca^{2+} для поддержания структурных и метаболических функций реализуется в результате работы так называемых конститутивных Ca^{2+} -проницаемых ионных каналов [2]. Данные системы активны вне зависимости от эндо- и экзогенных модуляторов. Для обеспечения процессов клеточной сигнализации центральным транспортным механизмом является вход Ca^{2+} в цитоплазму через индуцибельные ионные каналы. Быстрая активация и деактивация этих каналов под действием широкого спектра химических агентов и физических факторов приводит к волнообразному повышению $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$, т. е. формированию Ca^{2+} -сигнала. Индуцибельные Ca^{2+} -проницаемые ионные каналы у растений изучены недостаточно, в то же время данная группа обильна по количеству генов, а ее представители экспрессируются во всех известных типах клеток и тканей растений.

Кальциевые сигналы служат для кодирования внешних и внутренних стимулов, силы и продолжительности их воздействия, преобразуя информацию о стимулах в физиологический и генетический ответы [3–7]. В последнее время появились обзоры, посвященные анализу функций Ca^{2+} как вторичного посредника при передаче сигналов в растительных клетках, также имеется ряд биоинформационных исследований катионных каналов растений [3–7]. Однако, несмотря на потенциально высокую значимость, систематические исследования Ca^{2+} -проницаемых ионных каналов и их роли в жизни растения крайне редки. Практически отсутствует информация о генетической основе Ca^{2+} -проводимостей, ответственных за конкретные Ca^{2+} -зависимые функции, такие как стрессовые ответы или растяжение клеток. В связи с этим представляется актуальным провести анализ существующих литературных данных по проблеме Ca^{2+} -проницаемых ионных каналов растений, их установленным физиологическим функциям и молекулярно-генетической природе. Представленный обзор сфокусирован на анализе современных данных о Ca^{2+} -проницаемых ионных каналах плазматической мембраны клеток высших растений и соотнесении результатов электрофизиологических изысканий с генетической и структурной информацией.

Характеристика Ca^{2+} -проницаемых ионных каналов растений

В отличие от генов животных геном растений не содержит последовательностей Ca^{2+} -селективных фильтров в ионных каналах [8]. Тем не менее электрофизиологические эксперименты показали, что мембраны растений проницаемы для Ca^{2+} и проводят Ca^{2+} -токи [9]. Таким образом, несмотря на то что растения не имеют классических Ca^{2+} -каналов, они все же обладают Ca^{2+} -проводимостью, которая должна быть опосредована другими типами катионных каналов. Такие каналы называются Ca^{2+} -проницаемыми катионными каналами и характерны не только для растений, но и для животных. У последних примерами являются ионотропные пуринорецепторы, глутаматные рецепторы, а также каналы суперсемейства TRP. Подобно Ca^{2+} -проницаемым каналам животных, все клетки растений обладают Ca^{2+} -проводимостью, которая в соответствии с различными физиологическими нуждами клетки демонстрирует различную активность, а также сложные механизмы эндо- и экзогенной регуляции. Несмотря на то что Ca^{2+} -проводимость растений хорошо изучена на физиологическом уровне, ее связь с продуктами генов по-прежнему практически отсутствует.

Эволюционный анализ семейств Ca^{2+} -проницаемых каналов растений показывает значительное расхождение между высшими растениями и животными [7]. В отличие от животных и водорослей высшие растения утратили 4-доменные потенциалзависимые катионные каналы, инозитол-3-фосфат-связанные рецепторы, P2X-рецепторы, лигандзависимые ионные каналы с цистеиновой петлей и каналы суперсемейства TRP. Тем не менее Ca^{2+} -проницаемые каналы растений, такие как КАЦН, ИГлуР и OSCA1, демонстрируют большее разнообразие филогенетических ветвей, селективных фильтров и возможных регуляторных структур, чем их аналоги у животных [6].

Регистрировать токи через одиночные каналы сложно, поэтому большинство электрофизиологических экспериментов направлены на вычисление суммарного тока всех каналов клетки [10]. Обычно приводятся данные по определению Ca^{2+} -проводимости мембраны, которая представляет собой активность всех действующих каналов для переноса Ca^{2+} и транспортеров в данное время в определенной клетке. Измеренный ток является результатом динамичной и постоянно меняющейся сборки различных субъединиц каналов, он также включает ток активных транспортеров. Эти транспортеры имеют сложный

и тканеспецифический паттерн экспрессии и посттрансляционной модификации. Несколько генов, кодирующих субъединицы канала, могут быть потенциально ответственными за один тип Ca^{2+} -проводимости, вследствие чего различные типы Ca^{2+} -проводимости могут регистрироваться одновременно [11; 12]. Недавно было показано, что в плазматической мембране одной растительной клетки может экспрессироваться и функционировать до 8 различных субъединиц Ca^{2+} -проницаемых каналов [13].

Генетические подходы направлены на изменение экспрессии белка канала: если ген теряет свою функцию при помощи Т-ДНК-вставки или ретротранспозона, системы РНК-интерференции или редактирования генома (нуклеазы TALEN или CRISPR-Cas 9), то проводимость может быть утеряна [6]. Однако наличие большого количества субъединиц Ca^{2+} -проницаемых каналов, таких как КАЦН и ИГлуР, снижает эффективность указанных подходов. Для решения данной проблемы применяются нокауты на основе РНКи (условно инактивируемые нокауты) или генетическая сверхэкспрессия. Другим подходом является изучение субъединиц растительных ионных каналов с использованием техники гетерологической экспрессии в клетках животных, таких как клетки НЕК293 и ооциты *Xenopus*, с последующим анализом токов при помощи методики пэтч-кламп или двухэлектродной фиксации потенциала (two-electrode voltage clamp) соответственно. Неразрешимое ограничение данных подходов заключается в непредсказуемой модификации естественного для растительной клетки фолдинга каналов при их экспрессии в клетках животных. Поэтому результаты исследований экспрессии субъединиц Ca^{2+} -проницаемых каналов растений с использованием клеток животных являются важными с биофизической точки зрения, но не могут быть взяты за основу при построении физиологических моделей и концепций. Кроме того, такие результаты могут быть противоречивы. Например, обнаружено [14], что ИГлуР AtGLR 1.4 при экспрессии в ооцитах *Xenopus* не активируется глутаматом или глицином, однако стимулируется аминокислотами, такими как метионин, триптофан, фенилаланин, лейцин, тирозин и аспарагин, несмотря на то, что эти аминокислоты не вызывают повышения $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ в интактных растениях [14–16].

Биофизические свойства Ca^{2+} -проводимости, измеренной *in vivo*

Начиная с 1980-х гг. электрофизиологические методы использовались для регистрации и анализа Ca^{2+} -проводимости в различных растительных образцах [9]. Это позволило определить ключевые биофизические характеристики Ca^{2+} -проводимостей и послужило основой для их классификации, а также дальнейших молекулярных исследований. Основными критериями для электрофизиологической классификации Ca^{2+} -проводимостей являются их локализация, зависимость от напряжения на мембране, кинетика активации, фармакологический профиль, взаимодействие с лигандами и селективность [2; 4–6; 8; 9]. Для построения полной картины функционирования канала все эти характеристики должны быть связаны с генетикой, особенностями устройства (трехмерной структурой) и физиологией.

В зависимости от типа мембраны выделяют Ca^{2+} -проводимости плазматической мембраны и эндо-мембран (тонопласта, мембран хлоропластов, митохондрий и эндоплазматического ретикула). За исключением тонопласта, Ca^{2+} -проводимости эндо-мембран изучены недостаточно. Крайне мало измерений было проведено в условиях *in vivo* [17]. На основе чувствительности к напряжению Ca^{2+} -проводимости растений обычно подразделяются на ДАКП, ГАКП и ПНКП. В некоторых случаях эти проводимости называются каналами (соответственно ДАКК, ГАКК, ПНКК). Биофизические свойства указанных проводимостей рассмотрены в ряде обзоров [2; 4; 5]. Теоретически все Ca^{2+} -проводимости должны кодироваться определенными генами. Подробное описание структуры соответствующих белковых продуктов дано в недавних обзорах [4; 6]. Среди проводимостей, измеренных *in vivo*, ДАКП пока не имеют четко установленной генетической природы.

По кинетике активации Ca^{2+} -проводимости формируют следующие группы: 1) мгновенноактивирующиеся (активирующиеся в течение нескольких миллисекунд); 2) медленноактивирующиеся (активирующиеся в течение нескольких секунд); 3) спайкообразные, проявляющиеся как единичные резкие и кратковременные колебания проводимости в форме спайка в конфигурации *целая клетка*. Быстроактивирующиеся каналы могут быть достаточно долго открыты, хотя этот факт еще полностью не доказан [10; 18]. Проводимости 3-й группы активируются под действием глутамата, наночастиц, АФК или патогенных элиситоров [16; 19].

Лантаниды (Gd^{3+} , La^{3+}), дигидропиридины и фенилалкиламины, хинин, мибефрадил, бепридил или флунаризин (10^{-6} – 10^{-3} моль/л) являются наиболее широко используемыми блокаторами Ca^{2+} -проводимости растений [9; 10]. К сожалению, скрининг и синтез фармакологических агентов, которые бы специфически связывались и блокировали различные классы Ca^{2+} -проницаемых каналов растений, не были проведены. В физиологии животных эта область исследований развита лучше в связи с прямым применением в фармации и медицине [20].

Некоторые Ca^{2+} -проводимости считаются «конститутивными», т. е. они не нуждаются в каких-либо конкретных активаторах (кроме изменения напряжения). В отличие от них лигандактивируемые Ca^{2+} -проводимости активируются только после связывания лиганда со специфическим лигандсвязывающим центром. Несколько внеклеточных лигандов активируют Ca^{2+} -проводимости растений, включая аминокислоты (глутамат, глицин), АФК (H_2O_2 , OH^-), пурины (АТФ и АДФ). Также имеется группа внутриклеточных лигандов: цАМФ, цГМФ, цАДФ-рибоза, фосфат, фосфорилированные сахара, производные липидов и H_2O_2 . Они воздействуют на внутриклеточные ионные каналы или на цитоплазматические части каналов плазматической мембраны. Некоторые вещества, такие как полиамины, H^+ , цитоплазматический Ca^{2+} и АФК, могут оказывать модулирующее действие, вызывая ингибирующие или стимулирующие эффекты в зависимости от обстоятельств, концентрации и способа применения. Например, полиамины стимулируют АФК-индуцированную Ca^{2+} -проводимость [21], при этом они выступают блокаторами конститутивных Ca^{2+} -проводимостей [22].

Важным случаем лигандзависимой Ca^{2+} -проводимости являются АФК-активируемые Ca^{2+} -проводимости, участвующие в широком разнообразии физиологических процессов (рост, развитие, гравитропическая реакция, ответ на стресс и др.). Исследования АФК-активируемых катионных каналов животных с использованием молекулярных подходов показали, что эти каналы напрямую и в большинстве случаев обратимо активируются как экзогенными, так и эндогенными АФК [23]. Растения имеют очень схожую активацию, когда АФК действуют по обе стороны плазматической мембраны [24], однако молекулярные механизмы этой активации пока не ясны.

Согласно [25] активирующиеся при гиперполяризации Ca^{2+} -каналы корневых волосков обладают высокой селективностью к Ca^{2+} . Однако в своем большинстве Ca^{2+} -проводимости растений характеризуются значительной проницаемостью как к одно-, так и к двухвалентным катионам, включая K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Cs^+ , Rb^+ , Ba^{2+} и Sr^{2+} , и обычно являются слабо проницаемыми для Zn^{2+} , Mn^{2+} и Mg^{2+} [2]. Таким образом, Ca^{2+} -проводимости растений в основном опосредованы НКК.

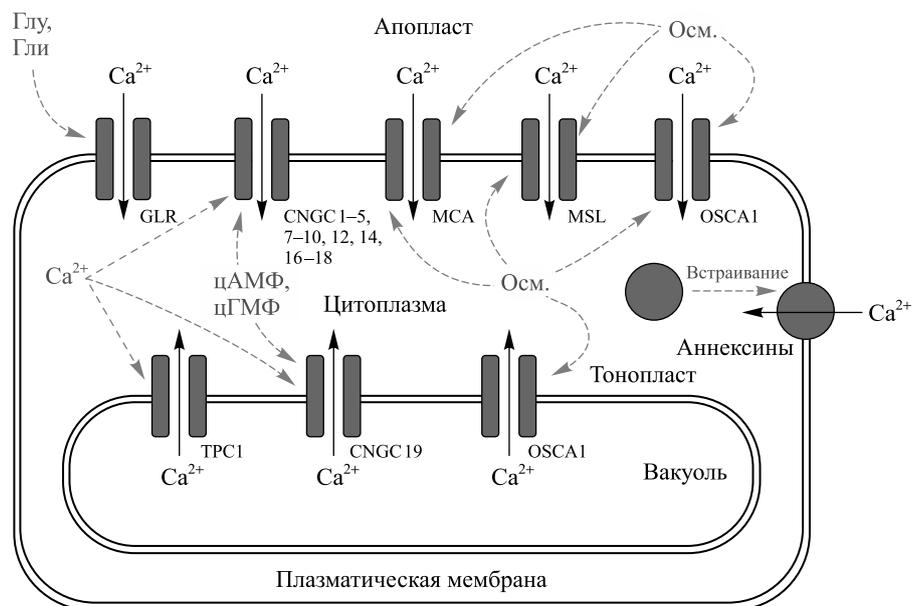
Молекулярные и физиологические свойства клонированных субъединиц Ca^{2+} -проницаемых каналов

Биоинформационный анализ выявил гены предполагаемых Ca^{2+} -проницаемых каналов растений [8; 9]. Наилучшим образом изучены гены, кодирующие отдельные субъединицы ионных каналов *Arabidopsis thaliana*. Их трансмембранная топология представлена на рисунке. С помощью подходов гетерологической экспрессии и электрофизиологических приемов в условиях *in vivo* показано, что некоторые из этих генов действительно кодируют Ca^{2+} -проницаемые катионные каналы мембран растительной клетки.

Катионные каналы растений можно разделить на K^+ -селективные каналы и НКК [9]. K^+ -каналы содержат селективный для K^+ мотив ТХGYGD/Е в области поры (или только GYG-мотив: Gly-Tyr-Gly), в то время как НКК обнаруживают уникальные селективные фильтры, отсутствующие у животных и других групп живых организмов. НКК по количеству генов значительно превосходят K^+ -каналы [4; 9; 26]. Недавно было показано, что голосеменные, мхи и водоросли (но не покрытосеменные растения) содержат несколько генов белков семейства ORAI [7]. Эта группа еще не изучена, поэтому далее обсуждаться не будет. Однако данный факт указывает на качественную разницу в семействах катионных каналов различных групп растений. КАЦН структурно схожи с членами классического суперсемейства Shaker, обладающего 6 трансмембранными доменами [27; 28].

Каналы, активирующиеся циклическими нуклеотидами

КАЦН растений формируют 6 филогенетических ветвей и показывают значительное расхождение со своими аналогами у животных. Каждая субъединица канала содержит ДСЦН на С-конце, имеющий стандартную структуру бета-сэндвича, в которой нуклеотид связывается внутри кармана между бета-листами. КАЦН растений открываются после связывания цГМФ и цАМФ, хотя подтверждение этого механизма активации пока отсутствует в экспериментах *in vivo*. Указанные каналы присутствуют в плазматической мембране, за исключением CNGC 19. Они экспрессируются в эпидермисе корней и листьев, где участвуют в восприятии и преобразовании сигналов окружающей среды. КАЦН замыкающих клеток устьиц и клеток мезофилла принимают участие в закрывании устьиц и регуляции фотосинтеза [26; 29]. КАЦН ответственны за Ca^{2+} -осцилляции в ядре в симбиотическом сигнальном пути в корнях бобовых; они запускают выход Ca^{2+} из его депо в эндоплазматическом ретикулуме [30]. Структурное моделирование, основанное на кристаллографии ионных каналов животных и бактерий, показало, что селективные фильтры КАЦН растений содержат уникальные аминокислотные триплеты: 1) GQN (AtCNGC 1, 3, 10–15, 17 и 18); 2) GQG (AtCNGC 5–9); 3) AGN (AtCNGC 19 и 20); 4) GQS (AtCNGC 16); 5) AND (AtCNGC 2); 6) GN-L (AtCNGC 4) [26].



Трансмембранная топология и регуляция основных групп Ca^{2+} -проницаемых ионных каналов:
CNGC – каналы, активируемые циклическими нуклеотидами; GLR – ионотропные глутаматные рецепторы;
MCA – механочувствительный канал MCA; MSL – механочувствительный канал MSL; TPC1 – двупоровый канал 1;
OSCA1 – Ca^{2+} -канал, индуцирующийся гиперосмолярностью; Гли – глицин; Глу – глутамат;
Осм. – изменение осмолярности раствора/среды; цАМФ – циклический аденозинмонофосфат;
цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

Transmembrane topology and regulation of the main groups of Ca^{2+} -permeable ion channels:
cAMP – cyclic adenosine monophosphate; cGMP – cyclic guanosine monophosphate;
CNGC – cyclic nucleotide-gated ion channels; GLR – ionotropic glutamate receptors;
Glu – glutamate; Gly – glycine; MCA – Mid1-complementing activity mechanosensitive channels;
MSL – MscS-like mechanosensitive channels; TPC1 – two-pore channel 1;
OSCA1 – hyperosmolality-induced $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ channel 1; Osm. – changes in osmolality of solution/medium

Роль триплетов селективных фильтров КАЦН в обеспечении входящего потока Ca^{2+} в клетки подтверждена в опытах с использованием систем гетерологической экспрессии в клетках животных и дрожжей [6; 26]. Показано, что каналы, несущие триплет GQN (10 представителей семейства КАЦН), проницаемы для Ca^{2+} и обеспечивают поглощение данного катиона из окружающего раствора. Следует также отметить, что КАЦН, исследованные в гетерологических системах, обычно демонстрируют высокую селективность по отношению к Ca^{2+} . Например, в [31] показано, что CNGC 18 (GQN) характеризуется высокой проницаемостью для Ca^{2+} и низкой проницаемостью для одновалентных катионов, таких как K^+ и Na^+ . CNGC 7–10 и CNGC 16, экспрессированные в клетках HEK293T, формируют Ca^{2+} -проницаемые проводимости, но не проводят K^+ -токи [31]. Эти данные свидетельствуют о том, что все субъединицы КАЦН, несущие триплет GQN, образуют тетрамеры с более высокой селективностью к Ca^{2+} , чем к K^+ . Некоторые гетерологически экспрессированные КАЦН активируются, когда коэкспрессированы с Ca^{2+} -зависимой протеинкиназой СРК32, т. е. регуляция их активности, вероятно, осуществляется путем прямого фосфорилирования [32]. Исследования, проведенные на интактных растениях, показали, что триплеты AND [33; 34] и GQG [35; 36] селективны к Ca^{2+} . Канал CNGC 15, экспрессированный в *Medicago truncatula*, также обнаружил особый регуляторный механизм – посредством взаимодействия с K^+ -проницаемым каналом DM1 (Does not Make Infections 1) [30].

Данные о проницаемости субъединиц КАЦН к Ca^{2+} , полученные при помощи систем гетерологической экспрессии, недавно были подтверждены с использованием техники пэтч-кламп и методов Ca^{2+} -имиджинга в интактных клетках и тканях (см. таблицу). CNGC 2 плазматической мембраны замыкающих клеток устьиц продемонстрировали активируемые гиперполяризацией внутрьвыпрямляющие Ca^{2+} -токи, которые стимулировались циклическими нуклеотидами [33]; при этом в нокаутной линии AtCNGC 2 токи отсутствовали. Показано, что CNGC 6 формирует термочувствительную ГАКП в корнях *A. thaliana*, которая стимулировалась цАМФ и блокировалась лантанидами [35]. Индуцированный высокими температурами вход Ca^{2+} через CNGC 6 вызывал увеличение экспрессии белков теплового шока, способствуя термоустойчивости арабидопсиса. Было продемонстрировано, что субъединица AtCNGC 18 ответственна за проводимость Ca^{2+} в кончике пыльцевой трубки [13]. Внутрьнаправленные токи через AtCNGC 18 имели линейный вид ВАХ и стимулировались циклическими нуклеотидами, находящимися в цитоплазме.

Таким образом, AtCNGC 18 кодирует ПНКП, ранее наблюдавшиеся в электрофизиологических исследованиях, однако идентифицированные генетически. Тем не менее дальнейшее исследование характеристик одиночных каналов, кинетики их активации и фармакологического профиля, а также оценка ортологов CNGC 18 у других видов необходимы для понимания физиологической роли данных каналов.

Ca²⁺-проводимости плазматической мембраны высших растений, выявленные при помощи техники пэтч-кламп, и соответствующие им субъединицы Ca²⁺-проницаемых ионных каналов

Plasma membrane Ca²⁺ conductances in higher plants and corresponding subunits of Ca²⁺-permeable ion channels that were confirmed by patch-clamp tests

Ткани и типы клеток: предполагаемые функции	Главные характеристики Ca ²⁺ -проводимостей	Субъединицы каналов	Библиографические ссылки
Эпидермис и кора корней: рост стресс-ответ чувствительность к АФК действие гормонов гравитропическая реакция тепловой шок восприятие механических стимулов	Одновременное наличие ГАКК, ДАКК и ПНКК Быстро- и медленноактивируемые токи в одной клетке Стимуляция циклическими нуклеотидами, АФК, пуринами, аминокислотами Механически вызванные активации одиночных каналов при помощи техники пэтч-кламп в конфигурации <i>outside-out</i>	AtCNGC 3 AtCNGC 6 AtMSL 9 AtMSL 10 AtANN 1	[29; 35; 82; 90]
Закрывающиеся клетки: закрытие устьиц	ГАКК, ПНКК Активация абсцизовой кислотой или циклическими нуклеотидами	AtCNGC 2 AtCNGC 5 AtCNGC 6	[33; 37]
Пыльцевая трубка: полярный рост	ПНКК Активация абсцизовой кислотой, циклическими нуклеотидами и D-серинном	AtCNGC 18 AtGLR 1.2	[13; 61]

В [36] показано, что AtCNGC 14 ответствен за вход Ca²⁺ в цитоплазму в ответ на гравитационное воздействие. Выявлено, что CNGC 5 и CNGC 6 плазматической мембраны замыкающих клеток устьиц арабидопсиса являются цГМФ-зависимыми Ca²⁺-проницаемыми каналами, нечувствительными к абсцизовой кислоте [37]. Двойные нокаутные мутанты *cngc5cngc6* утрачивали цГМФ-активируемую Ca²⁺ проводимость. Следует также отметить, что нокаутные мутации в CNGC 1, CNGC 2 и CNGC 20 не изменяли цГМФ-активируемые Ca²⁺ токи в клетках устьиц, что свидетельствует о доминантной роли CNGC 5 и CNGC 6 в токах, активируемых циклическими нуклеотидами, в данном типе клеток.

Вход Ca²⁺ через КАЦН характеризуется особым механизмом Ca²⁺-зависимой инактивации, обеспечивающей предотвращение чрезмерного повышения уровня Ca²⁺ в цитоплазме. Это приспособление также используется для формирования (терминации) Ca²⁺-сигналов. У животных имеется механизм CDI КАЦН, зависящий от взаимодействия между кальмодулином и Ca²⁺ [38]. В клетках животных кальмодулин встраивается в КАЦН до связывания Ca²⁺ и выступает в качестве сенсора для данного катиона [39]. Молекула кальмодулина включает два Ca²⁺-связывающих мотива: спираль-петля-спираль (EF-hand) на C- и N-доменах (глобулярных C- и N-долях). Сродство Ca²⁺ в 6 раз выше для глобулярной C-доли, чем для глобулярной N-доли кальмодулина [40]. При связывании Ca²⁺ с EF-hand кальмодулин изменяет свою конформацию из апокальмодулина (закрытая форма) в Ca²⁺-кальмодулин (открытая форма), выставляя наружу гидрофобные группы метионина. В Ca²⁺-каналах мембран клеток животных Ca²⁺ имеет большее сродство к глобулярной C-доле кальмодулина, чем к глобулярной N-доле, что указывает на важнейшее значение глобулярной C-доли для поддержания низкого уровня [Ca²⁺]_{цит} [41]. При увеличении [Ca²⁺]_{цит} Ca²⁺ последовательно занимает глобулярную C-долю, а затем глобулярную N-долю, вызывая серию специфических физиологических функций как для глобулярной C-доли, так и для глобулярной N-доли. Эти события приводят к запуску CDI, при этом связывание Ca²⁺ только глобулярной C-долей вызывает CDF, стимулируя дополнительный вход Ca²⁺ после первичного входа Ca²⁺ [38; 39]. Вероятно, эти механизмы могут быть причиной сложных Ca²⁺-проводимостей у растений, хотя механизм CDF пока остается неизученным на молекулярном уровне. Например, ДАКП может быть связана с CDI. ДАКП инактивируется в течение нескольких минут после первичной активации, что, вероятно, обусловлено повышением уровня Ca²⁺ и включением Ca²⁺/кальмодулин-зависимой инактивации [11]. ГАКП в корнях растений характеризуется CDF, так как ее активность увеличивается со временем после первичной активации под действием гиперполяризации [42].

У арабидопсиса обнаружено 7 генов кальмодулинов, кодирующих 4 изоформы данного белка, и 50 генов кальмодулинподобных белков, обладающих отличающейся от кальмодулина структурой и схожей с ним функцией [42; 43]. В [43] предположено, что у растений в Ca^{2+} -зависимой инактивации КАЦН принимают участие CaMBS на C-конце, перекрывающиеся с CNBD. Согласно данной гипотезе связывание кальмодулина в присутствии Ca^{2+} приводит к замещению цАМФ или цГМФ в CNBD, что вызывает деактивацию канала [43; 44]. Недавние исследования показали, что CDI и потенциально CDF у растительных КАЦН имеют более сложный механизм, чем по первоначальному предположению [43]. Обнаружено, что белкам КАЦН растений присуще большое разнообразие по природе, количеству и организации CaMBS [45–47]. Кроме того, у КАЦН выявлены дополнительные CaMBS – изолейцин-глутамин (IQ) домены, смежные с αC -спиралью [45]. С использованием в качестве модели CNGC 12 показано, что у данного канала имеются три CaMBS – один на N-конце (NT-домен) и два на C-конце (CT- и IQ-домен) [47]. Домены NT и CT не связывают свободный кальмодулин, но характеризуются высоким сродством к комплексу Ca^{2+} -кальмодулин. Домен IQ может связывать свободный кальмодулин так же, как и комплекс Ca^{2+} -кальмодулин. Теоретически эти сайты должны быть заняты кальмодулином при уровне $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ в состоянии покоя, который в норме варьирует от 70 до 120 нмоль/л. С использованием техники временной экспрессии в мутантных линиях NT, лишенных функциональных сайтов связывания кальмодулина в CNGC 12, показано, что CNGC 12 вовлечен в контроль Ca^{2+} -зависимой запрограммированной клеточной гибели в листьях табака [47].

Ионотропные глутаматные рецепторы

У растений, как и у животных, присутствуют гены ИГлуР (общепринятая мировая аббревиатура данных транспортных систем – GLR). В настоящее время накоплено достаточно данных, чтобы утверждать, что растительные ИГлуР ответственны за лигандактивируемые внутринаправленные Ca^{2+} -проводимости [16; 48–50]. У арабидопсиса было найдено 20 генов GLR [15; 51], у томата [52] и риса [53] – 13. ИГлуР арабидопсиса имеют 3 филогенетические ветви [15; 54], которые можно разделить на 10 разных подгрупп, демонстрирующих раннее ответвление от ИГлуР животных [6].

ИГлуР являются тетрамерами, состоящими из разных субъединиц, как показано для GLR 3.2 и GLR 3.4 [55]. За исключением AtGLR 2.7, ИГлуР обильно экспрессируются в корнях [56]. AtGLR 2.2 – AtGLR 2.6 отсутствуют в зеленой части растения. ИГлуР животных функционируют как Ca^{2+} -проницаемые НКК, имеющие характеристики, схожие с конститутивными ПНКП растений. ИГлуР растений имеют расхождение со структурами животных аналогов, особенно в области поры. Соответственно, они могут потенциально иметь различные проводимости и селективность. Последняя для ИГлуР растений детально не изучена.

Содержание глутамата, глицина и других аминокислот в апопласте составляет приблизительно 0,1–1,0 ммоль/л [57; 58]. Поэтому у растений, как и у животных, может осуществляться глутаматергическая Ca^{2+} -сигнализация. В [59] показано, что экзогенный глутамат в миллимолярных концентрациях индуцирует временное увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ и деполяризует плазматическую мембрану клеток корня арабидопсиса. А в [16] установлено, что 30 мкмоль/л глутамата достаточно для того, чтобы вызвать значительное повышение $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ выходящее на насыщение при 0,5–1,0 ммоль/л глутамата в окружающем растворе. Глицин также индуцирует Ca^{2+} -сигналы (рост $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$), демонстрируя синергетический эффект с глутаматом, возможно, благодаря облегчению его связывания с ИГлуР [60]. Глутамат в субмиллимолярных концентрациях активирует лантанид- и хининчувствительные Ca^{2+} -токи, напоминающие конститутивные мгновенноактивирующиеся Ca^{2+} -проводимости [16]. Это говорит о том, что ИГлуР могут быть ответственны за часть конститутивной Ca^{2+} -проводимости, которая увеличивается при добавлении лигандов-аминокислот. В [61] была выявлена похожая глутаматактивируемая Ca^{2+} -проводимость плазматической мембраны в пыльцевых трубках.

Экспрессия ИГлуР в ооцитах не показала Ca^{2+} -проводимостей, активирующихся аминокислотами [56], в то время как их анализ в клетках животных (НЕК293) был более успешным и продемонстрировал, что AtGLR 3.4 может формировать независимые от напряжения Ca^{2+} -проницаемые ионные каналы [62]. С использованием техники гетерологической экспрессии установлено, что ИГлуР растений опосредуют рост $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ и активируются широким спектром аминокислот (12 из 20 протеиногенных аминокислот) и глутатионом [48–50]. Эти данные пока не подтверждены в опытах *in vivo*.

Анализ нокаутов, лишенных функциональных ИГлуР, показал, что дисфункция GLR 3.3 и GLR 3.6 приводит к подавлению глутаматиндуцированного повышения $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ [63; 64]. Продемонстрировано, что GLR 1.2 экспрессируется в пыльцевых трубках и потенциально участвует в полярном поступлении Ca^{2+} , необходимом для удлинения пыльцевой трубки [61]. Тем не менее некоторые данные свидетельствуют о том, что GLR 1.2 и GLR 3.7 играют менее важную роль в потоке Ca^{2+} , инициирующем рост, по сравнению с CNGC 18 [13].

Двупоровый канал TPC1

В геноме *A. thaliana* двупоровые каналы представлены только 1 геном – *TPC1* [65]. Данный белок функционирует как димер и кодирует проводимость «медленного вакуолярного» SV-канала, который охарактеризован в тонопласте многих видов высших растений [22; 66]. Гомологи TPC1 встречаются у растений, животных и протистов [66–68]. TPC1 ответствен за вакуолярную Ca^{2+} -проводимость [69]: он определяет концентрацию Ca^{2+} в вакуолярном депо [70]. Выход Ca^{2+} из вакуоли в цитоплазму постоянно контролируется во избежание значительной потери Ca^{2+} , которая могла бы нарушить обмен веществ и привести к гибели клеток. TPC1 растений селективен к катионам. Он хорошо пропускает одновалентные катионы (100–200 пс), для которых можно выявить следующий ряд селективности: $\text{Na}^+ \sim \text{Li}^+ \sim \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$ [71; 72]. TPC1 также пропускает двухвалентные катионы ($\text{Ca}^{2+} \sim \text{Sr}^{2+} \sim \text{Ba}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$), включая Mg^{2+} , но проводимость к ним на порядок ниже, чем к K^+ [73–75]. Mg^{2+} проходит через пору в гидратированном состоянии, что является уникальной чертой TPC1 [76].

Аннексины

Аннексины – цитоплазматические белки, которые способны к Ca^{2+} -зависимому или независимому от присутствия Ca^{2+} связыванию с фосфолипидами мембран [77; 78]. Проводимость мембраны, схожая с работой ионных каналов, продемонстрирована для различных аннексинов животных с использованием искусственных липидных бислоев, однако подтверждение этих результатов *in vivo* пока не получено. Аннексины ассоциируются с запуском Ca^{2+} -зависимого апоптоза у животных [77; 78]. Тем не менее недавние работы показывают, что данное действие аннексинов может быть связано с ингибированием наружувыврямляющих K^+ -каналов [79]. У арабидопсиса найдено 8 генов (putative genes), кодирующих аннексины, у пшеницы и ячменя – 25 и 11 соответственно [80]. Аннексины у растений, отличающиеся по структуре от аналогов у животных, состоят из повторяющихся аннексиновых доменов с консервативной эндоаннексиновой областью, связывающей Ca^{2+} [78]. Функции аннексинов растений до конца не ясны, но некоторые данные указывают на то, что они участвуют во входе Ca^{2+} через плазматическую мембрану, активируемом АФК [81; 82].

Механочувствительные ионные каналы

Клеточный ответ на растяжение и механические стимулы у растений опосредован механочувствительными каналами MSL (10 генов у *A. thaliana*), MCA (2 гена у *A. thaliana*), K^+ -каналами с тандемной порой (TPK, 5 генов у *A. thaliana*) и пьезоканалами (1 ген у *A. thaliana*) [83–85]. TPK селективны для K^+ , другие механочувствительные каналы потенциально ответственны за вход Ca^{2+} в ответ на растяжение мембраны, вызванное изменением осмотического давления или механическими контактами. Кладиристический анализ генов MSL выявил наличие 4 филогенетических ветвей [6]. Классически MSL подразделяется на 3 группы – группа I (митохондриальные), группа II (хлоропластные) и группа III (находящаяся в плазматической мембране) [85]. Группы I и II имеют пять трансмембранных доменов и гипотетически формируют гомогептамеры, подобно кристаллизованному бактериальному механочувствительному «каналу малой проводимости». Пятый трансмембранный домен выступает в качестве поры, тогда как область, кодирующая сенсор напряжения, в MSL не найдена. MSL группы III (MSL 8, MSL 9 и MSL 10) локализованы в плазматической мембране и имеют шесть трансмембранных доменов, собранных в виде тетрамеров (или мультимеров), при этом шестой трансмембранный домен играет роль поры [86]. Экспрессия MSL 9 и MSL 10 в одной и той же клетке приводит к образованию гетеромерного канала с проводимостью одиночного канала 50 пСм. Индивидуально экспрессированные субъединицы MSL 9 и MSL 10 демонстрируют одиночные проводимости 45 и 140 пСм соответственно [87]. Вероятно, MSL проницаемы для анионов лучше, чем для катионов, в том числе Ca^{2+} [87]. Однако данный факт требуется подтвердить в большем количестве исследований.

MSL выполняют регуляцию запрограммированной клеточной гибели (MSL 10) [88], поддержание водного и ионного баланса в пыльцевых трубках (MSL 8) [86], формирование разности электрических потенциалов на внутренней мембране митохондрий (MSL 1) [89], механическую сенсорику корня (MSL 9 и MSL 10) [90], контроль объема хлоропластов в нормальных и стрессовых условиях (MSL 2 и MSL 3) [88], а также другие функции [85].

Субъединицы каналов MCA (MCA1 и MCA2) включают один трансмембранный домен и формируют тетрамерный комплекс с образованием Ca^{2+} -проницаемой поры вблизи N-конца, направленного в апопласт [91]. Как и у КАЦН, их активность может регулироваться увеличением цитоплазматического Ca^{2+} с помощью цитоплазматических EF-hand. При активации растяжением MCA1 и MCA2 функционируют в качестве потенциалнезависимых Ca^{2+} -проницаемых каналов с проводимостью одиночного

канала 15 или 34 пСм в плазматической мембране различных видов и тканей растений [85; 92; 93]. Гипотетически МСА могут запускать Ca^{2+} -опосредованную активацию НАДФН-оксидазы и продукцию АФК этим ферментом в ответ на гипосмотический шок.

В клетках животных так называемые пьезоканалы функционируют как сенсоры механических стимулов посредством активации Ca^{2+} -токов. Пьезоканалы содержат от двух до четырех тысяч аминокислот, собранных в 20–40 трансмембранных доменов [85]. Геном *Arabidopsis* содержит 1 ген пьезоканалов. Гипотетически он может функционировать как система транспортировки Ca^{2+} , хотя экспериментальные данные, подтверждающие функцию или ионселективность растительных пьезобелков, пока не получены.

Растительные геномы могут содержать больше генов механочувствительных каналов, чем обнаружено в настоящее время. Идентифицирован уникальный, индуцирующийся гиперосмолярностью Ca^{2+} -канал OSCA1, который способен вызывать повышение $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ [94]. Этот белок плазматической мембраны, транспортирующий Ca^{2+} , не обладает свойствами любых ранее охарактеризованных транспортных систем растений. Он содержит одну пору между восьмым и девятым трансмембранными доменами. OSCA1-опосредуемые Ca^{2+} -токи, протестированные в клетках НЕК293, схожи с теми, которые катализируются конститутивными, независимыми от напряжения НКК. Тем не менее OSCA1 имеет проводимость одиночного канала 50 пСм, тогда как данный показатель у НКК составляет около 10 пСм. Активация OSCA1 практически не зависит от напряжения на мембране и стимулируется АФК. Гиперосмолярность – единственный известный стимул, активирующий OSCA1. OSCA представляют собой семейство генов, содержащее 15 генов в *Arabidopsis thaliana* с гомологами, существующими у других видов.

Заключение

За последнее десятилетие появилось большое количество работ, посвященных мембранному транспорту кальция. В частности, было показано, что Ca^{2+} -проницаемые каналы трех типов (ДАКК, ГАКК, ПНКК) образуют взаимосвязанную систему транспорта Ca^{2+} , обеспечивающую перенос Ca^{2+} в цитоплазму. Среди классических каналов плазматической мембраны только ДАКК пока не описаны на генетическом уровне. Все КАЦН и ИГлуР клонированы и протестированы электрофизиологически в гетерологических экспрессионных системах. Многие из них (например, CNGC 2, 5–10, 14, 16 и 18, GLR 1,2, 3,3, 3,4, 3,6 и 3,7) показали проницаемость для Ca^{2+} в гетерологических тестах. Некоторые из КАЦН, вероятно, выступают в качестве «кальциевых каналов» растений, так как они демонстрируют большую селективность к Ca^{2+} по сравнению с одновалентными катионами. Однако это еще не подтверждено экспериментально на интактных растениях.

Значительный прогресс достигнут в понимании структуры и функционирования канала TRP1. Данный канал имеет уникальную широкую пору, позволяющую перемещать гидратированные двухвалентные катионы. Аннексины, МСА1, МСА2 и OSCA1 охарактеризованы как каналы, пропускающие Ca^{2+} . Аннексины у растений отличаются по структуре от аналогов у животных; они могут встраиваться в плазматическую мембрану, формируя канал, проводящий Ca^{2+} -токи. Показана роль механочувствительных каналов в процессах запрограммированной клеточной гибели, первичной реакции клеток на солевой стресс, поддержании формы органелл и чувствительности к АФК. Также установлено, что геном растений может содержать большее количество генов Ca^{2+} -проницаемых механочувствительных каналов, чем было предположено ранее. Например, недавно обнаружено новое семейство OSCA1, что указывает на огромный потенциал для дальнейших исследований в этой области.

Библиографические ссылки

1. Marschner H. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3rd edn. London: Academic Press; 2012.
2. Demidchik V, Maathuis FJ. Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. *Tansley Review. New Phytologist*. 2007;175(3):387–404. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2007.02128.x.
3. Dodd AN, Kudla J, Sanders D. The language of calcium signalling. *Annual Review of Plant Biology*. 2010;61:593–620. DOI: 10.1146/annurev-arplant-070109-104628.
4. Hedrich R. Ion channels in plants. *Physiological Reviews*. 2012;92(4):1777–1811. DOI: 10.1152/physrev.00038.2011.
5. Swarbreck SM, Colaço R, Davies JM. Plant calcium-permeable channels. *Plant Physiology*. 2013;163(2):514–522. DOI: 10.1104/pp.113.220855.
6. Demidchik V, Shabala S. Mechanisms of cytosolic calcium elevation in plants: the role of ion channels, calcium extrusion systems and NADPH oxidase-mediated «ROS- Ca^{2+} Hub». *Functional Plant Biology*. 2018;45:9–27. DOI: 10.1071/FP16420.
7. Edel KH, Marchadier E, Brownlee C, Kudla J, Hetherington AM. The evolution of calcium-based signalling in plants. *Current Biology*. 2017;27(13):667–679. DOI: 10.1016/j.cub.2017.05.020.

8. White PJ, Bowen HC, Demidchik V, Nichols C, Davies JM. Genes for calcium-permeable channels in the plasma membrane of plant root cells. *Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes*. 2002;1564(2):299–309. DOI: 10.1016/S0005-2736(02)00509-6.
9. Demidchik V, Davenport RJ, Tester MA. Nonselective cation channels in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2002;53:67–107. DOI: 10.1146/annurev.arplant.53.091901.161540.
10. Demidchik V. Characterisation of root plasma membrane Ca²⁺-permeable cation channels: techniques and basic concepts. In: Volkov AG (ed.) *Plant Electrophysiology*. Heidelberg: Springer; 2012.
11. Miedema H, Demidchik V, Véry AA, Bothwell JH, Brownlee C, Davies JM. Two voltage-dependent calcium channels co-exist in the apical plasma membrane of Arabidopsis thaliana root hairs. *New Phytologist*. 2008;179(2):378–385. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2008.02465.x.
12. Straltsova D, Chykun P, Subramaniam S, Sosan A, Kolbanov D, Sokolik A, et al. Cation channels are involved in brassinosteroid signalling in higher plants. *Steroids*. 2015;97:98–106. DOI: 10.1016/j.steroids.2014.10.008.
13. Gao QF, Gu LL, Wang HQ, Fei CF, Fang X, Hussain J, et al. Cyclic nucleotide-gated channel 18 is an essential Ca²⁺ channel in pollen tube tips for pollen tube guidance to ovules in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*. 2016;113(11):3096–3101. DOI: 10.1073/pnas.1524629113.
14. Tapken D, Anschütz U, Liu LH, Huelsken T, Seeböhm G, Becker D, et al. A plant homolog of animal glutamate receptors is an ion channel gated by multiple hydrophobic amino acids. *Science Signaling*. 2013;6(279):ra47. DOI: 10.1126/scisignal.2003762.
15. Davenport R. Glutamate receptors in plants. *Annals of Botany*. 2002;90(5):549–557. DOI: 10.1093/aob/mcf228.
16. Demidchik V, Adobea P, Tester MA. Glutamate activates sodium and calcium currents in the plasma membrane of Arabidopsis root cells. *Planta*. 2004;219:167–175.
17. Carraretto L, Checchetto V, De Bortoli S, Formentin E, Costa A, Szabó I, et al. Calcium flux across plant mitochondrial membranes: possible molecular players. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:354. DOI: 10.3389/fpls.2016.00354.
18. Zhang WH, Walker NA, Tyerman SD, Patrick JW. Fast activation of a time-dependent outward current in protoplasts derived from coats of developing Phaseolus vulgaris seeds. *Planta*. 2000;211(6):894–898. DOI: 10.1007/s004250000391.
19. Sosan A, Svistunenko D, Straltsova D, Tsiurkina K, Smolich I, Lawson T, et al. Engineered silver nanoparticles are sensed at the plasma membrane and dramatically modify physiology of Arabidopsis thaliana plants. *The Plant Journal*. 2016;85(2):245–257. DOI: 10.1111/tpj.13105.
20. Arranz-Tagarro JA, de los Ríos C, García AG, Padín JF. Recent patents on calcium channel blockers: emphasis on CNS diseases. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2014;24(9):959–977. DOI: 10.1517/13543776.2014.940892.
21. Zepeda-Jazo I, Velarde-Buendía AM, Enriquez-Figueroa R, Bose J, Shabala S, Muñiz-Murguía J, et al. Polyamines interact with hydroxyl radicals in activating Ca²⁺ and K⁺ transport across the root epidermal plasma membranes. *Plant Physiology*. 2011;157(4):2167–2180. DOI: 10.1104/pp.111.179671.
22. Pottosin I, Velarde-Buendía AM, Bose J, Zepeda-Jazo I, Shabala S, Dobrovinskaya O. Cross-talk between reactive oxygen species and polyamines in regulation of ion transport across the plasma membrane: implications for plant adaptive responses. *Journal of experimental botany*. 2014;65(5):1271–1283. DOI: 10.1093/jxb/ert423.
23. Görlach A, Bertram K, Hudecova S, Krizanova O. Calcium and ROS: a mutual interplay. *Redox Biology*. 2015;6:260–271. DOI: 10.1016/j.redox.2015.08.010.
24. Demidchik V, Shabala SN, Davies JM. Spatial variation in H₂O₂ response of Arabidopsis thaliana root epidermal Ca²⁺ flux and plasma membrane Ca²⁺ channels. *The Plant Journal*. 2007;49(3):377–386. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2006.02971.x.
25. Véry AA, Davies JM. Hyperpolarisation-activated calcium channels at the tip of Arabidopsis root hairs. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*. 2000;97(17):9801–9806. DOI: 10.1073/pnas.160250397.
26. Jammes F, Hu HC, Villiers F, Bouten R, Kwak JM. Calcium-permeable channels in plant cells. *The FEBS Journal*. 2011;278(22):4262–4276. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08369.x.
27. DeFalco TA, Moeder W, Yoshioka K. Opening the gates: insights into cyclic nucleotide-gated channel-mediated signalling. *Trends in Plant Science*. 2016;21(11):903–906. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.08.011.
28. Jha SK, Sharma M, Pandey GK. Role of cyclic nucleotide gated channels in stress management in plants. *Current Genomics*. 2016;17(4):315–329. DOI: 10.2174/1389202917666160331202125.
29. Gobert A, Park G, Amtmann A, Sanders D, Maathuis FJ. Arabidopsis thaliana cyclic nucleotide gated channel 3 forms a non-selective ion transporter involved in germination and cation transport. *Journal of Experimental Botany*. 2006;57(4):791–800.
30. Charpentier M, Sun J, Vaz Martins T, Radhakrishnan GV, Findlay K, Soumpourou E, et al. Nuclear-localized cyclic nucleotide-gated channels mediate symbiotic calcium oscillations. *Science*. 2016;352(6289):1102–1105. DOI: 10.1126/science.aae0109.
31. Gao QF, Fei CF, Dong JY, Gu Li-Li, Wang Y-F. Arabidopsis CNGC18 is a Ca²⁺-permeable channel. *Molecular Plant*. 2014;7:739–743. DOI: 10.1093/mp/sst174.
32. Zhou L, Lan W, Jiang Y, Fang W, Luan S. A calcium-dependent protein kinase interacts with and activates a calcium channel to regulate pollen tube growth. *Molecular Plant*. 2014;7(2):369–376. DOI: 10.1093/mp/sst125.
33. Ali R, Ma W, Lemtiri-Chlieh F, Tsaltas D, Leng Q, von Bodman S, et al. Death don't have no mercy and neither does calcium: Arabidopsis cyclic nucleotide gated channel 2 and innate immunity. *The Plant Cell*. 2007;19(3):1081–1095. DOI: 10.1105/tpc.106.045096.
34. Lu M, Zhang Y, Tang S, Pan J, Yu Y, Han J, et al. AtCNGC2 is involved in jasmonic acid-induced calcium mobilisation. *Journal of Experimental Botany*. 2016;67(3):809–819. DOI: 10.1093/jxb/erv500.
35. Gao F, Han X, Wu J, Zheng S, Shang Z, Sun D, et al. A heat-activated calcium-permeable channel – Arabidopsis cyclic nucleotide-gated ion channel 6 – is involved in heat shock responses. *The Plant Journal*. 2012;70(6):1056–1069. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2012.04969.x.
36. Shih HW, DePew CL, Miller ND, Monshausen GB. The cyclic nucleotide-gated channel CNGC14 regulates root gravitropism in Arabidopsis thaliana. *Current Biology*. 2015;25(23):3119–3125. DOI: 10.1016/j.cub.2015.10.025.
37. Wang YF, Munemasa S, Nishimura N, Ren HM, Robert N, Han M, et al. Identification of cyclic GMP-activated nonselective Ca²⁺-permeable cation channels and associated CNGC5 and CNGC6 genes in Arabidopsis guard cells. *Plant Physiology*. 2013;163(2):578–590. DOI: 10.1104/pp.113.225045.
38. Ben-Johny M, Dick IE, Sang L, Limpitikul WB, Kang PW, Niu J, et al. Towards a unified theory of calmodulin regulation of voltage-gated calcium and sodium channels. *Current Molecular Pharmacology*. 2015;8(2):188–205. PMID: PMC4960983.

39. Mori IC, Schroeder JI. Reactive oxygen species activation of plant Ca^{2+} channels. A signaling mechanism in polar growth, hormone transduction, stress signaling, and hypothetically mechanotransduction. *Plant Physiology*. 2004;135(2):702–708. DOI: 0.1104/pp.104.042069.
40. Linse S, Helmersson A, Forsén S. Calcium binding to calmodulin and its globular domains. *Journal of Biological Chemistry*. 1991;266(13):8050–8054. PMID: 1902469.
41. Liang H, DeMaria CD, Erickson MG, Mori MX, Alseikhan BA, Yue DT. Unified mechanisms of Ca^{2+} regulation across the Ca^{2+} channel family. *Neuron*. 2003;39(6):951–960. DOI: 10.1016/S0896-6273(03)00560-9.
42. Demidchik V, Bowen HC, Maathuis FJM, Shabala SN, Tester MA, White PJ, et al. Arabidopsis thaliana root nonselective cation channels mediate calcium uptake and are involved in growth. *The Plant Journal*. 2002;32(5):799–808. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2002.01467.x.
43. Köhler C, Merkle T, Neuhaus G. Characterisation of a novel gene family of putative cyclic nucleotide- and calmodulin-regulated ion channels in Arabidopsis thaliana. *The Plant Journal*. 1999;18(1):97–104. DOI: 10.1046/j.1365-313X.1999.00422.x.
44. Köhler C, Neuhaus G. Characterisation of calmodulin binding to cyclic nucleotide-gated ion channels from Arabidopsis thaliana. *FEBS Letters*. 2000;471(2–3):133–136. DOI: 10.1016/S0014-5793(00)01383-1.
45. Fischer C, DeFalco TA, Karia P, Snedden WA, Moeder W, Yoshioka K, et al. Calmodulin as a Ca^{2+} -sensing subunit of Arabidopsis cyclic nucleotide-gated channel complexes. *Plant and Cell Physiology*. 2017;58(7):1208–1221. DOI: 10.1093/pcp/pcx052.
46. Fischer C, Kugler A, Hoth S, Dietrich P. An IQ domain mediates the interaction with calmodulin in a plant cyclic nucleotide-gated channel. *Plant and Cell Physiology*. 2013;54(4):573–584. DOI: 10.1093/pcp/pct021.
47. DeFalco TA, Marshall CB, Munro K, Kang HG, Moeder W, Ikura M, et al. Multiple calmodulin-binding sites positively and negatively regulate Arabidopsis cyclic nucleotide-gated channel. *The Plant Cell*. 2016;28(7):1738–1751. DOI: 10.1105/tpc.15.00870.
48. Forde BG, Roberts MR. Glutamate receptor-like channels in plants: a role as amino acid sensors in plant defence? *F1000Prime Reports*. 2014;6:37. DOI: 10.12703/P6-37.
49. Forde BG. Glutamate signalling in roots. *Journal of Experimental Botany*. 2014;65(3):779–787. DOI: 10.1093/jxb/ert335.
50. Weiland M, Mancuso S, Baluska F. Signalling via glutamate and GLRs in Arabidopsis thaliana. *Functional Plant Biology*. 2015;43(1):1–25. DOI: 10.1071/FP15109.
51. Lam H-M, Chiu J, Hsieh M-H, Meisel L, Oliveira IC, Shin M, et al. Glutamate receptor genes in plants. *Nature*. 1998;396(6707):125–126. DOI: 10.1038/24066.
52. Aouini A, Matsukura C, Ezura H, Asamizu E. Characterisation of 13 glutamate receptor-like genes encoded in the tomato genome by structure, phylogeny and expression profiles. *Gene*. 2012;493(1):36–43. DOI: 10.1016/j.gene.2011.11.037.
53. Ni J, Yu Z, Du G, Zhang Y, Taylor JL, Shen C, et al. Heterologous expression and functional analysis of rice glutamate receptor-like family indicates its role in glutamate triggered calcium flux in rice roots. *Rice*. 2016;9(1):9. DOI: 10.1186/s12284-016-0081-x.
54. Chiu J, Desalle R, Lam HM, Meisel L, Coruzzi G. Molecular evolution of glutamate receptors: a primitive signaling mechanism that existed before plants and animals diverged. *Molecular biology and evolution*. 1999;16(6):826–838. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026167.
55. Price MB, Kong D, Okumoto S. Inter-subunit interactions between glutamate-like receptors in Arabidopsis. *Plant Signaling & Behavior*. 2013;8(12):27–34. DOI: 10.4161/psb.27034.
56. Roy SJ, Gilliham M, Berger B, Essah PA, Cheffings C, Miller AJ, et al. Investigating glutamate receptor-like gene co-expression in Arabidopsis thaliana. *Plant, Cell & Environment*. 2008;31(6):861–871. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2008.01801.x.
57. Lohaus G, Winter H, Riens B, Heldt HW. Further studies of the phloem loading process in leaves of barley and spinach – the comparison of metabolite concentrations in the apoplastic compartment with those in the cytosolic compartment and in the sieve tubes. *Botanica Acta*. 1995;108(3):270–275. DOI: 10.1111/j.1438-8677.1995.tb00860.x.
58. Lohaus G, Pennewiss K, Sattelmacher B, Hussmann M, Hermann Muehling K. Is the infiltration-centrifugation technique appropriate for the isolation of apoplastic fluid? A critical evaluation with different plant species. *Physiologia Plantarum*. 2001;111(4):457–465. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2001.1110405.x.
59. Dennison KL, Spalding EP. Glutamate-gated calcium fluxes in Arabidopsis. *Plant Physiology*. 2000;124(4):1511–1514. PMID: 1115867.
60. Dubos C, Huggins D, Grant GH, Knight MR, Campbell MM. A role for glycine in the gating of plant NMDA-like receptors. *The Plant Journal*. 2003;35(6):800–810. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2003.01849.x.
61. Michard E, Lima PT, Borges F, Silva AC, Portes MT, Carvalho J, et al. Glutamate receptor-like genes form Ca^{2+} channels in pollen tubes and are regulated by pistil D-serine. *Science*. 2011;332(6028):434–437. DOI: 10.1126/science.1201101.
62. Vincill ED, Bieck AM, Spalding EP. Ca^{2+} conduction by an amino acid-gated ion channel related to glutamate receptors. *Plant Physiology*. 2012;159(1):40–46. DOI: 10.1104/pp.112.197509.
63. Qi Z, Stephens NR, Spalding EP. Calcium entry mediated by GLR3.3, an Arabidopsis glutamate receptor with a broad agonist profile. *Plant Physiology*. 2006;142(3):963–971. DOI: 10.1104/pp.106.088989.
64. Singh SK, Chien CT, Chang IF. The Arabidopsis glutamate receptor-like gene GLR3.6 controls root development by repressing the Kip-related protein gene KRP4. *Journal of Experimental Botany*. 2016;67(6):1853–1869. DOI: 10.1093/jxb/erv576.
65. Peiter E, Maathuis FJ, Mills LN, Knight H, Pelloux J, Hetherington AM, et al. The vacuolar Ca^{2+} -activated channel TPC1 regulates germination and stomatal movement. *Nature*. 2005;434(7031):404–408. DOI: 10.1038/nature03381.
66. Hedrich R, Marten I. TPC1-SV channels gain shape. *Molecular Plant*. 2011;4(3):428–441. DOI: 10.1093/mp/ssp017.
67. Dadacz-Narloch B, Kimura S, Kurusu T, Farmer EE, Becker D, Kuchitsu K, et al. On the cellular site of two-pore channel TPC1 action in the Poaceae. *New Phytologist*. 2013;200(3):663–674. DOI: 10.1111/nph.12402.
68. Patel S, Cai X. Evolution of acidic Ca^{2+} stores and their resident Ca^{2+} -permeable channels. *Cell Calcium*. 2015;57(3):222–230. DOI: 10.1016/j.ceca.2014.12.005.
69. Pottosin I, Wherrett T, Shabala S. SV channels dominate the vacuolar Ca^{2+} release during intracellular signalling. *FEBS Letters*. 2009;583(5):921–926. DOI: 10.1016/j.febslet.2009.02.009.
70. Gilliham M, Anthman A, Tyerman SD, Conn SJ. Cell-specific compartmentation of mineral nutrients is an essential mechanism for optimal plant productivity – another role for TPC1? *Plant Signaling & Behavior*. 2011;6(11):1656–1661. DOI: 10.4161/psb.6.11.17797.
71. Pottosin I, Dobrovinskaya O. Non-selective cation channels in plasma and vacuolar membranes and their contribution to K^{+} transport. *Journal of Plant Physiology*. 2014;171(9):732–742. DOI: 10.1016/j.jplph.2013.11.013.

72. Guo J, Zeng W, Jiang Y. Tuning the ion selectivity of two-pore channels. *PNAS*. 2017;114(5):1009–1014. DOI: 10.1073/pnas.1616191114.
73. Johannes E, Sanders D. Lumenal calcium modulates unitary conductance and gating of a plant vacuolar calcium release channel. *Journal of Membrane Biology*. 1995;146(2):211–224. DOI: 10.1007/BF00238010.
74. Pottosin II, Dobrovinskaya OR, Muñiz J. Conduction of monovalent and divalent cations in the slow vacuolar channel. *Journal of Membrane Biology*. 2001;181(1):55–65. DOI: 10.1007/s0023200100073.
75. Guo J, Zeng W, Chen Q, Lee C, Chen L, Yang Y, et al. Structure of the voltage-gated two-pore channel TPC1 from *Arabidopsis thaliana*. *Nature*. 2016;531:196–201.
76. Pottosin II, Schönknecht G. Vacuolar calcium channels. *Journal of Experimental Botany*. 2007;58(7):1559–1569. DOI: 10.1093/jxb/erm035.
77. Lizarbe MA, Barrasa JI, Olmo N, Gavilanes F, Turnay J. Annexin-phospholipid interactions. Functional implications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(2):2652–2683. DOI: 10.3390/ijms14022652.
78. Konopka-Postupolska D, Clark G. Annexins as overlooked regulators of membrane trafficking in plant cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(4):863. DOI: 10.3390/ijms18040863.
79. Brazier SP, Telezhkin V, Kemp PJ. Functional Interactions between BKCa α -subunit and annexin A5: implications in apoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016:1–9. DOI: 10.1155/2016/1607092.
80. Xu L, Tang Y, Gao S, Su S, Hong L, Wang W, et al. Comprehensive analyses of the annexin gene family in wheat. *BMC Genomics*. 2016;17:415. DOI: 10.1186/s12864-016-2750-y.
81. Laohavisit A, Mortimer JC, Demidchik V, Coxon KM, Stancombe MA, Macpherson N, et al. Zea mays annexins modulate cytosolic free Ca $^{2+}$ and generate a Ca $^{2+}$ -permeable conductance. *The Plant Cell*. 2009;21(2):479–493. DOI: 10.1105/tpc.108.059550.
82. Laohavisit A, Richards SL, Shabala L, Chen C, Colaço RD, Swarbreck SM, et al. Salinity-induced calcium signaling and root adaptation in *Arabidopsis* require the calcium regulatory protein annexin1. *Plant Physiology*. 2013;163(1):253–262. DOI: 10.1104/pp.113.217810.
83. Isayenkov S, Isner JC, Maathuis FJ. Vacuolar ion channels: roles in plant nutrition and signalling. *FEBS Letters*. 2010;584(10):1982–1988. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.02.050.
84. Isayenkov S, Isner JC, Maathuis FJ. Membrane localisation diversity of TPK channels and their physiological role. *Plant Signaling & Behavior*. 2011;6(8):1201–1204. DOI: 10.4161/psb.6.8.15808.
85. Hamilton ES, Schlegel AM, Haswell ES. United in diversity: mechanosensitive ion channels in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2015;66:113–137. DOI: 10.1146/annurev-arplant-043014-114700.
86. Hamilton ES, Haswell ES. The tension-sensitive ion transport activity of MSL8 is critical for its function in pollen hydration and germination. *Plant & Cell Physiology*. 2017;58(7):1222–1237. DOI: 10.1093/pcp/pcw230.
87. Maksaev G, Haswell ES. MscS-Like10 is a stretch-activated ion channel from *Arabidopsis thaliana* with a preference for anions. *PNAS*. 2012;109(46):19015–19020. DOI: 10.1073/pnas.1213931109.
88. Veley KM, Maksaev G, Frick EM, January E, Kloepper SC, Haswell ES. *Arabidopsis* MSL10 has a regulated cell death signaling activity that is separable from its mechanosensitive ion channel activity. *The Plant Cell*. 2014;26(7):3115–3131. DOI: 10.1105/tpc.114.128082.
89. Lee CP, Maksaev G, Jensen GS, Murcha MW, Wilson ME, Fricker M, et al. MSL1 is a mechanosensitive ion channel that dissipates mitochondrial membrane potential and maintains redox homeostasis in mitochondria during abiotic stress. *The Plant Journal*. 2016;88(5):809–825. DOI: 10.1111/tj.13301.
90. Peyronnet R, Haswell ES, Barbier-Brygoo H, Frachisse JM. AtMSL9 and AtMSL10: sensors of plasma membrane tension in *Arabidopsis* roots. *Plant Signaling & Behavior*. 2008;3(9):726–729. DOI: 10.4161/psb.3.9.6487.
91. Kamano S, Kume S, Iida K, Lei KJ, Nakano M, Nakayama Y, et al. Transmembrane topologies of Ca $^{2+}$ -permeable mechanosensitive channels MCA1 and MCA2 in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*. 2015;290(52):30901–30909. DOI: 10.1074/jbc.M115.692574.
92. Furuichi T, Iida H, Sokabe M, Tatsumi H. Expression of *Arabidopsis* MCA1 enhanced mechanosensitive channel activity in the *Xenopus laevis* oocyte plasma membrane. *Plant Signaling & Behavior*. 2012;7(8):1022–1026. DOI: 10.4161/psb.20783.
93. Kurusu T, Nishikawa D, Yamazaki Y, Gotoh M, Nakano M, Hamada H, et al. Plasma membrane protein OsMCA1 is involved in regulation of hypo-osmotic shock-induced Ca $^{2+}$ influx and modulates generation of reactive oxygen species in cultured rice cells. *BMC Plant Biology*. 2012;12(1):11. DOI: 10.1186/1471-2229-12-11.
94. Yuan F, Yang H, Xue Y, Kong D, Ye R, Li C, et al. OSCA1 mediates osmotic-stress-evoked Ca $^{2+}$ increases vital for osmosensing in *Arabidopsis*. *Nature*. 2014;514(7522):367–371. DOI: 10.1038/nature13593.

References

- Marschner H. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3rd edn. London: Academic Press; 2012.
- Demidchik V, Maathuis FJ. Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. *Tansley Review. New Phytologist*. 2007;175(3):387–404. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2007.02128.x.
- Dodd AN, Kudla J, Sanders D. The language of calcium signalling. *Annual Review of Plant Biology*. 2010;61:593–620. DOI: 10.1146/annurev-arplant-070109-104628.
- Hedrich R. Ion channels in plants. *Physiological Reviews*. 2012;92(4):1777–1811. DOI: 10.1152/physrev.00038.2011.
- Swarbreck SM, Colaço R, Davies JM. Plant calcium-permeable channels. *Plant Physiology*. 2013;163(2):514–522. DOI: 10.1104/pp.113.220855.
- Demidchik V, Shabala S. Mechanisms of cytosolic calcium elevation in plants: the role of ion channels, calcium extrusion systems and NADPH oxidase-mediated «ROS-Ca $^{2+}$ Hub». *Functional Plant Biology*. 2018;45:9–27. DOI: 10.1071/FP16420.
- Edel KH, Marchadier E, Brownlee C, Kudla J, Hetherington AM. The evolution of calcium-based signalling in plants. *Current Biology*. 2017;27(13):667–679. DOI: 10.1016/j.cub.2017.05.020.
- White PJ, Bowen HC, Demidchik V, Nichols C, Davies JM. Genes for calcium-permeable channels in the plasma membrane of plant root cells. *Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes*. 2002;1564(2):299–309. DOI: 10.1016/S0005-2736(02)00509-6.

9. Demidchik V, Davenport RJ, Tester MA. Nonselective cation channels in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2002;53:67–107. DOI: 10.1146/annurev.arplant.53.091901.161540.
10. Demidchik V. Characterisation of root plasma membrane Ca^{2+} -permeable cation channels: techniques and basic concepts. In: Volkov AG (ed.) *Plant Electrophysiology*. Heidelberg: Springer; 2012.
11. Miedema H, Demidchik V, Véry AA, Bothwell JH, Brownlee C, Davies JM. Two voltage-dependent calcium channels co-exist in the apical plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* root hairs. *New Phytologist*. 2008;179(2):378–385. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2008.02465.x.
12. Straltsova D, Chykhun P, Subramaniam S, Sosan A, Kolbanov D, Sokolik A, et al. Cation channels are involved in brassinosteroid signalling in higher plants. *Steroids*. 2015;97:98–106. DOI: 10.1016/j.steroids.2014.10.008.
13. Gao QF, Gu LL, Wang HQ, Fei CF, Fang X, Hussain J, et al. Cyclic nucleotide-gated channel 18 is an essential Ca^{2+} channel in pollen tube tips for pollen tube guidance to ovules in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*. 2016;113(11):3096–3101. DOI: 10.1073/pnas.1524629113.
14. Tapken D, Anschütz U, Liu LH, Huelsken T, Seebohm G, Becker D, et al. A plant homolog of animal glutamate receptors is an ion channel gated by multiple hydrophobic amino acids. *Science Signaling*. 2013;6(279):ra47. DOI: 10.1126/scisignal.2003762.
15. Davenport R. Glutamate receptors in plants. *Annals of Botany*. 2002;90(5):549–557. DOI: 10.1093/aob/mcf228.
16. Demidchik V, Adobea P, Tester MA. Glutamate activates sodium and calcium currents in the plasma membrane of *Arabidopsis* root cells. *Planta*. 2004;219:167–175.
17. Carraretto L, Checchetto V, De Bortoli S, Formentin E, Costa A, Szabó I, et al. Calcium flux across plant mitochondrial membranes: possible molecular players. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:354. DOI: 10.3389/fpls.2016.00354.
18. Zhang WH, Walker NA, Tyerman SD, Patrick JW. Fast activation of a time-dependent outward current in protoplasts derived from coats of developing *Phaseolus vulgaris* seeds. *Planta*. 2000;211(6):894–898. DOI: 10.1007/s004250000391.
19. Sosan A, Svistunenko D, Straltsova D, Tsiurkina K, Smolich I, Lawson T, et al. Engineered silver nanoparticles are sensed at the plasma membrane and dramatically modify physiology of *Arabidopsis thaliana* plants. *The Plant Journal*. 2016;85(2):245–257. DOI: 10.1111/tpj.13105.
20. Arranz-Tagarro JA, de los Ríos C, García AG, Padín JF. Recent patents on calcium channel blockers: emphasis on CNS diseases. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2014;24(9):959–977. DOI: 10.1517/13543776.2014.940892.
21. Zepeda-Jazo I, Velarde-Buendía AM, Enriquez-Figueroa R, Bose J, Shabala S, Muñoz-Murguía J, et al. Polyamines interact with hydroxyl radicals in activating Ca^{2+} and K^{+} transport across the root epidermal plasma membranes. *Plant Physiology*. 2011;157(4):2167–2180. DOI: 10.1104/pp.111.179671.
22. Pottosin I, Velarde-Buendía AM, Bose J, Zepeda-Jazo I, Shabala S, Dobrovinskaya O. Cross-talk between reactive oxygen species and polyamines in regulation of ion transport across the plasma membrane: implications for plant adaptive responses. *Journal of experimental botany*. 2014;65(5):1271–1283. DOI: 10.1093/jxb/ert423.
23. Görlach A, Bertram K, Hudecova S, Krizanova O. Calcium and ROS: a mutual interplay. *Redox Biology*. 2015;6:260–271. DOI: 10.1016/j.redox.2015.08.010.
24. Demidchik V, Shabala SN, Davies JM. Spatial variation in H_2O_2 response of *Arabidopsis thaliana* root epidermal Ca^{2+} flux and plasma membrane Ca^{2+} channels. *The Plant Journal*. 2007;49(3):377–386. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2006.02971.x.
25. Véry AA, Davies JM. Hyperpolarisation-activated calcium channels at the tip of *Arabidopsis* root hairs. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*. 2000;97(17):9801–9806. DOI: 10.1073/pnas.160250397.
26. Jammes F, Hu HC, Villiers F, Bouten R, Kwak JM. Calcium-permeable channels in plant cells. *The FEBS Journal*. 2011;278(22):4262–4276. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08369.x.
27. DeFalco TA, Moeder W, Yoshioka K. Opening the gates: insights into cyclic nucleotide-gated channel-mediated signalling. *Trends in Plant Science*. 2016;21(11):903–906. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.08.011.
28. Jha SK, Sharma M, Pandey GK. Role of cyclic nucleotide gated channels in stress management in plants. *Current Genomics*. 2016;17(4):315–329. DOI: 10.2174/1389202917666160331202125.
29. Gobert A, Park G, Amtmann A, Sanders D, Maathuis FJ. *Arabidopsis thaliana* cyclic nucleotide gated channel 3 forms a non-selective ion transporter involved in germination and cation transport. *Journal of Experimental Botany*. 2006;57(4):791–800.
30. Charpentier M, Sun J, Vaz Martins T, Radhakrishnan GV, Findlay K, Soumpourou E, et al. Nuclear-localized cyclic nucleotide-gated channels mediate symbiotic calcium oscillations. *Science*. 2016;352(6289):1102–1105. DOI: 10.1126/science.aae0109.
31. Gao QF, Fei CF, Dong JY, Gu Li-Li, Wang Y.-F. *Arabidopsis* CNGC18 is a Ca^{2+} -permeable channel. *Molecular Plant*. 2014;7:739–743. DOI: 10.1093/mp/sst174.
32. Zhou L, Lan W, Jiang Y, Fang W, Luan S. A calcium-dependent protein kinase interacts with and activates a calcium channel to regulate pollen tube growth. *Molecular Plant*. 2014;7(2):369–376. DOI: 10.1093/mp/sst125.
33. Ali R, Ma W, Lemtiri-Chlieh F, Tsaltas D, Leng Q, von Bodman S, et al. Death don't have no mercy and neither does calcium: *Arabidopsis* cyclic nucleotide gated channel 2 and innate immunity. *The Plant Cell*. 2007;19(3):1081–1095. DOI: 10.1105/tpc.106.045096.
34. Lu M, Zhang Y, Tang S, Pan J, Yu Y, Han J, et al. AtCNGC2 is involved in jasmonic acid-induced calcium mobilisation. *Journal of Experimental Botany*. 2016;67(3):809–819. DOI: 10.1093/jxb/erv500.
35. Gao F, Han X, Wu J, Zheng S, Shang Z, Sun D, et al. A heat-activated calcium-permeable channel – *Arabidopsis* cyclic nucleotide-gated ion channel 6 – is involved in heat shock responses. *The Plant Journal*. 2012;70(6):1056–1069. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2012.04969.x.
36. Shih HW, DePew CL, Miller ND, Monshausen GB. The cyclic nucleotide-gated channel CNGC14 regulates root gravitropism in *Arabidopsis thaliana*. *Current Biology*. 2015;25(23):3119–3125. DOI: 10.1016/j.cub.2015.10.025.
37. Wang YF, Munemasa S, Nishimura N, Ren HM, Robert N, Han M, et al. Identification of cyclic GMP-activated nonselective Ca^{2+} -permeable cation channels and associated CNGC5 and CNGC6 genes in *Arabidopsis* guard cells. *Plant Physiology*. 2013;163(2):578–590. DOI: 10.1104/pp.113.225045.
38. Ben-Johny M, Dick IE, Sang L, Limpitikul WB, Kang PW, Niu J, et al. Towards a unified theory of calmodulin regulation of voltage-gated calcium and sodium channels. *Current Molecular Pharmacology*. 2015;8(2):188–205. PMID: PMC4960983.
39. Mori IC, Schroeder JI. Reactive oxygen species activation of plant Ca^{2+} channels. A signaling mechanism in polar growth, hormone transduction, stress signaling, and hypothetically mechanotransduction. *Plant Physiology*. 2004;135(2):702–708. DOI: 0.1104/pp.104.042069.

40. Linse S, Helmersson A, Forsén S. Calcium binding to calmodulin and its globular domains. *Journal of Biological Chemistry*. 1991;266(13):8050–8054. PMID: 1902469.
41. Liang H, DeMaria CD, Erickson MG, Mori MX, Alseikhan BA, Yue DT. Unified mechanisms of Ca²⁺ regulation across the Ca²⁺ channel family. *Neuron*. 2003;39(6):951–960. DOI: 10.1016/S0896-6273(03)00560-9.
42. Demidchik V, Bowen HC, Maathuis FJM, Shabala SN, Tester MA, White PJ, et al. Arabidopsis thaliana root nonselective cation channels mediate calcium uptake and are involved in growth. *The Plant Journal*. 2002;32(5):799–808. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2002.01467.x.
43. Köhler C, Merkle T, Neuhaus G. Characterisation of a novel gene family of putative cyclic nucleotide- and calmodulin-regulated ion channels in Arabidopsis thaliana. *The Plant Journal*. 1999;18(1):97–104. DOI: 10.1046/j.1365-313X.1999.00422.x.
44. Köhler C, Neuhaus G. Characterisation of calmodulin binding to cyclic nucleotide-gated ion channels from Arabidopsis thaliana. *FEBS Letters*. 2000;471(2–3):133–136. DOI: 10.1016/S0014-5793(00)01383-1.
45. Fischer C, DeFalco TA, Karia P, Snedden WA, Moeder W, Yoshioka K, et al. Calmodulin as a Ca²⁺-sensing subunit of Arabidopsis cyclic nucleotide-gated channel complexes. *Plant and Cell Physiology*. 2017;58(7):1208–1221. DOI: 10.1093/pcp/pcx052.
46. Fischer C, Kugler A, Hoth S, Dietrich P. An IQ domain mediates the interaction with calmodulin in a plant cyclic nucleotide-gated channel. *Plant and Cell Physiology*. 2013;54(4):573–584. DOI: 10.1093/pcp/pct021.
47. DeFalco TA, Marshall CB, Munro K, Kang HG, Moeder W, Ikura M, et al. Multiple calmodulin-binding sites positively and negatively regulate Arabidopsis cyclic nucleotide-gated channel. *The Plant Cell*. 2016;28(7):1738–1751. DOI: 10.1105/tpc.15.00870.
48. Forde BG, Roberts MR. Glutamate receptor-like channels in plants: a role as amino acid sensors in plant defence? *F1000Prime Reports*. 2014;6:37. DOI: 10.12703/P6-37.
49. Forde BG. Glutamate signalling in roots. *Journal of Experimental Botany*. 2014;65(3):779–787. DOI: 10.1093/jxb/ert335.
50. Weiland M, Mancuso S, Baluska F. Signalling via glutamate and GLRs in Arabidopsis thaliana. *Functional Plant Biology*. 2015;43(1):1–25. DOI: 0.1071/FP15109.
51. Lam H-M, Chiu J, Hsieh M-H, Meisel L, Oliveira IC, Shin M, et al. Glutamate receptor genes in plants. *Nature*. 1998;396(6707):125–126. DOI: 10.1038/24066.
52. Aouini A, Matsukura C, Ezura H, Asamizu E. Characterisation of 13 glutamate receptor-like genes encoded in the tomato genome by structure, phylogeny and expression profiles. *Gene*. 2012;493(1):36–43. DOI: 10.1016/j.gene.2011.11.037.
53. Ni J, Yu Z, Du G, Zhang Y, Taylor JL, Shen C, et al. Heterologous expression and functional analysis of rice glutamate receptor-like family indicates its role in glutamate triggered calcium flux in rice roots. *Rice*. 2016;9(1):9. DOI: 10.1186/s12284-016-0081-x.
54. Chiu J, Desalle R, Lam HM, Meisel L, Coruzzi G. Molecular evolution of glutamate receptors: a primitive signaling mechanism that existed before plants and animals diverged. *Molecular biology and evolution*. 1999;16(6):826–838. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026167.
55. Price MB, Kong D, Okumoto S. Inter-subunit interactions between glutamate-like receptors in Arabidopsis. *Plant Signaling & Behavior*. 2013;8(12):27–34. DOI: 10.4161/psb.27034.
56. Roy SJ, Gilliam M, Berger B, Essah PA, Cheffings C, Miller AJ, et al. Investigating glutamate receptor-like gene co-expression in Arabidopsis thaliana. *Plant, Cell & Environment*. 2008;31(6):861–871. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2008.01801.x.
57. Lohaus G, Winter H, Riens B, Heldt HW. Further studies of the phloem loading process in leaves of barley and spinach – the comparison of metabolite concentrations in the apoplastic compartment with those in the cytosolic compartment and in the sieve tubes. *Botanica Acta*. 1995;108(3):270–275. DOI: 10.1111/j.1438-8677.1995.tb00860.x.
58. Lohaus G, Pennewiss K, Sattelmacher B, Hussmann M, Hermann Muehling K. Is the infiltration-centrifugation technique appropriate for the isolation of apoplastic fluid? A critical evaluation with different plant species. *Physiologia Plantarum*. 2001;111(4):457–465. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2001.1110405.x.
59. Dennison KL, Spalding EP. Glutamate-gated calcium fluxes in Arabidopsis. *Plant Physiology*. 2000;124(4):1511–1514. PMID: 1115867.
60. Dubos C, Huggins D, Grant GH, Knight MR, Campbell MM. A role for glycine in the gating of plant NMDA-like receptors. *The Plant Journal*. 2003;35(6):800–810. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2003.01849.x.
61. Michard E, Lima PT, Borges F, Silva AC, Portes MT, Carvalho J, et al. Glutamate receptor-like genes form Ca²⁺ channels in pollen tubes and are regulated by pistil D-serine. *Science*. 2011;332(6028):434–437. DOI: 10.1126/science.1201101.
62. Vincill ED, Bieck AM, Spalding EP. Ca²⁺ conduction by an amino acid-gated ion channel related to glutamate receptors. *Plant Physiology*. 2012;159(1):40–46. DOI: 10.1104/pp.112.197509.
63. Qi Z, Stephens NR, Spalding EP. Calcium entry mediated by GLR3.3, an Arabidopsis glutamate receptor with a broad agonist profile. *Plant Physiology*. 2006;142(3):963–971. DOI: 10.1104/pp.106.088989.
64. Singh SK, Chien CT, Chang IF. The Arabidopsis glutamate receptor-like gene GLR3.6 controls root development by repressing the Kip-related protein gene KRP4. *Journal of Experimental Botany*. 2016;67(6):1853–1869. DOI: 10.1093/jxb/erv576.
65. Peiter E, Maathuis FJ, Mills LN, Knight H, Pelloux J, Hetherington AM, et al. The vacuolar Ca²⁺-activated channel TPC1 regulates germination and stomatal movement. *Nature*. 2005;434(7031):404–408. DOI: 10.1038/nature03381.
66. Hedrich R, Marten I. TPC1-SV channels gain shape. *Molecular Plant*. 2011;4(3):428–441. DOI: 10.1093/mp/sss017.
67. Dadacz-Narloch B, Kimura S, Kurusu T, Farmer EE, Becker D, Kuchitsu K, et al. On the cellular site of two-pore channel TPC1 action in the Poaceae. *New Phytologist*. 2013;200(3):663–674. DOI: 10.1111/nph.12402.
68. Patel S, Cai X. Evolution of acidic Ca²⁺ stores and their resident Ca²⁺-permeable channels. *Cell Calcium*. 2015;57(3):222–230. DOI: 10.1016/j.ceca.2014.12.005.
69. Pottosin I, Wherrett T, Shabala S. SV channels dominate the vacuolar Ca²⁺ release during intracellular signalling. *FEBS Letters*. 2009;583(5):921–926. DOI: 10.1016/j.febslet.2009.02.009.
70. Gilliam M, Anthman A, Tyerman SD, Conn SJ. Cell-specific compartmentation of mineral nutrients is an essential mechanism for optimal plant productivity – another role for TPC1? *Plant Signaling & Behavior*. 2011;6(11):1656–1661. DOI: 10.4161/psb.6.11.17797.
71. Pottosin I, Dobrovinskaya O. Non-selective cation channels in plasma and vacuolar membranes and their contribution to K⁺ transport. *Journal of Plant Physiology*. 2014;171(9):732–742. DOI: 10.1016/j.jplph.2013.11.013.
72. Guo J, Zeng W, Jiang Y. Tuning the ion selectivity of two-pore channels. *PNAS*. 2017;114(5):1009–1014. DOI: 10.1073/pnas.1616191114.
73. Johannes E, Sanders D. Lumenal calcium modulates unitary conductance and gating of a plant vacuolar calcium release channel. *Journal of Membrane Biology*. 1995;146(2):211–224. DOI: 10.1007/BF00238010.

74. Pottosin II, Dobrovinskaya OR, Muñiz J. Conduction of monovalent and divalent cations in the slow vacuolar channel. *Journal of Membrane Biology*. 2001;181(1):55–65. DOI: 10.1007/s0023200100073.
75. Guo J, Zeng W, Chen Q, Lee C, Chen L, Yang Y, et al. Structure of the voltage-gated two-pore channel TPC1 from *Arabidopsis thaliana*. *Nature*. 2016;531:196–201.
76. Pottosin II, Schönknecht G. Vacuolar calcium channels. *Journal of Experimental Botany*. 2007;58(7):1559–1569. DOI: 10.1093/jxb/erm035.
77. Lizarbe MA, Barrasa JI, Olmo N, Gavilanes F, Turnay J. Annexin-phospholipid interactions. Functional implications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(2):2652–2683. DOI: 10.3390/ijms14022652.
78. Konopka-Postupolska D, Clark G. Annexins as overlooked regulators of membrane trafficking in plant cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(4):863. DOI: 10.3390/ijms18040863.
79. Brazier SP, Telezhkin V, Kemp PJ. Functional Interactions between BKCa α -subunit and annexin A5: implications in apoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016:1–9. DOI: 10.1155/2016/1607092.
80. Xu L, Tang Y, Gao S, Su S, Hong L, Wang W, et al. Comprehensive analyses of the annexin gene family in wheat. *BMC Genomics*. 2016;17:415. DOI: 10.1186/s12864-016-2750-y.
81. Laohavisit A, Mortimer JC, Demidchik V, Coxon KM, Stancombe MA, Macpherson N, et al. Zea mays annexins modulate cytosolic free Ca $^{2+}$ and generate a Ca $^{2+}$ -permeable conductance. *The Plant Cell*. 2009;21(2):479–493. DOI: 10.1105/tpc.108.059550.
82. Laohavisit A, Richards SL, Shabala L, Chen C, Colaço RD, Swarbreck SM, et al. Salinity-induced calcium signaling and root adaptation in *Arabidopsis* require the calcium regulatory protein annexin1. *Plant Physiology*. 2013;163(1):253–262. DOI: 10.1104/pp.113.217810.
83. Isayenkov S, Isner JC, Maathuis FJ. Vacuolar ion channels: roles in plant nutrition and signalling. *FEBS Letters*. 2010;584(10):1982–1988. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.02.050.
84. Isayenkov S, Isner JC, Maathuis FJ. Membrane localisation diversity of TPK channels and their physiological role. *Plant Signaling & Behavior*. 2011;6(8):1201–1204. DOI: 10.4161/psb.6.8.15808.
85. Hamilton ES, Schlegel AM, Haswell ES. United in diversity: mechanosensitive ion channels in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2015;66:113–137. DOI: 10.1146/annurev-arplant-043014-114700.
86. Hamilton ES, Haswell ES. The tension-sensitive ion transport activity of MSL8 is critical for its function in pollen hydration and germination. *Plant & Cell Physiology*. 2017;58(7):1222–1237. DOI: 10.1093/pcp/pcw230.
87. Makshev G, Haswell ES. MscS-Like10 is a stretch-activated ion channel from *Arabidopsis thaliana* with a preference for anions. *PNAS*. 2012;109(46):19015–19020. DOI: 10.1073/pnas.1213931109.
88. Veley KM, Makshev G, Frick EM, January E, Kloepper SC, Haswell ES. *Arabidopsis* MSL10 has a regulated cell death signaling activity that is separable from its mechanosensitive ion channel activity. *The Plant Cell*. 2014;26(7):3115–3131. DOI: 10.1105/tpc.114.128082.
89. Lee CP, Makshev G, Jensen GS, Murcha MW, Wilson ME, Fricker M, et al. MSL1 is a mechanosensitive ion channel that dissipates mitochondrial membrane potential and maintains redox homeostasis in mitochondria during abiotic stress. *The Plant Journal*. 2016;88(5):809–825. DOI: 10.1111/tpj.13301.
90. Peyronnet R, Haswell ES, Barbier-Brygoo H, Frachisse JM. AtMSL9 and AtMSL10: sensors of plasma membrane tension in *Arabidopsis* roots. *Plant Signaling & Behavior*. 2008;3(9):726–729. DOI: 10.4161/psb.3.9.6487.
91. Kamano S, Kume S, Iida K, Lei KJ, Nakano M, Nakayama Y, et al. Transmembrane topologies of Ca $^{2+}$ -permeable mechanosensitive channels MCA1 and MCA2 in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*. 2015;290(52):30901–30909. DOI: 10.1074/jbc.M115.692574.
92. Furuichi T, Iida H, Sokabe M, Tatsumi H. Expression of *Arabidopsis* MCA1 enhanced mechanosensitive channel activity in the *Xenopus laevis* oocyte plasma membrane. *Plant Signaling & Behavior*. 2012;7(8):1022–1026. DOI: 10.4161/psb.20783.
93. Kurusu T, Nishikawa D, Yamazaki Y, Gotoh M, Nakano M, Hamada H, et al. Plasma membrane protein OsMCA1 is involved in regulation of hypo-osmotic shock-induced Ca $^{2+}$ influx and modulates generation of reactive oxygen species in cultured rice cells. *BMC Plant Biology*. 2012;12(1):11. DOI: 10.1186/1471-2229-12-11.
94. Yuan F, Yang H, Xue Y, Kong D, Ye R, Li C, et al. OSCA1 mediates osmotic-stress-evoked Ca $^{2+}$ increases vital for osmosensing in *Arabidopsis*. *Nature*. 2014;514(7522):367–371. DOI: 10.1038/nature13593.

Статья поступила в редакцию 14.05.2018.
Received by editorial board 14.05.2018.