

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИЙ ИОННЫХ КАНАЛОВ СЕМЕЙСТВА CYCLIC NUCLEOTIDE-GATED CHANNELS (CNGCS) ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

С. С. Зуёнок

*Белорусский государственный университет, г. Минск, пр. Независимости, 4,
220030, г. Минск, Беларусь, sofyzuynak@gmail.com
Научный руководитель — В.В. Демидчик, член-корреспондент НАН Беларуси,
доктор биологических наук*

В статье приведён анализ литературных данных о структуре и функциях Ca^{2+} -проницаемых катионных каналов мембран растений. В частности, мы фокусируемся на семействе Cyclic Nucleotide Gated Channels (CNGC) – неселективных катионных каналах, которые, согласно литературным данным, могут функционировать как Ca^{2+} -проницаемые каналы.

Ключевые слова: ионные каналы растений; CNGC; Ca^{2+} -сигналы; цНМФ.

Важнейшим связующим звеном между внешними стимулами и сигнальными путями растительной клетки является изменение цитоплазматической концентрации свободных ионов Ca^{2+} . В покое уровень химической активности Ca^{2+} в цитоплазме стабилен и составляет около 100 нМ, но в ответ на внешние сигналы он временно повышается в несколько раз. Данное явление называется кальциевым сигналом, и в его основе лежит работа Ca^{2+} -проницаемых катионных каналов клеточных мембран. Хотя роль Ca^{2+} -сигнализации в жизни растения является общепризнанной, остается открытым вопрос о том, какие ионные каналы вовлечены в данное явление. CNGC или каналы, активируемые циклическими нуклеотидами, являются неселективными катионными каналами, способными функционировать как Ca^{2+} -проницаемые каналы [1]. CNGC являются в первую очередь каналами плазматической мембраны. Ионные каналы из семейства CNGC представляют собой тетрамерные комплексы [2]. Каждая субъединица включает шесть трансмембранных доменов (S1-S6) с порой между доменами S5 и S6, которая обеспечивает специфический транспорт катионов. N- и C-концевые домены расположены в цитозоли [3]. С-концевой домен содержит домен связывания циклических нуклеотидов (CNBD). С С-концевой стороной CNBD содержит шарнирную область с кальмодулин-связывающим доменом (CaMBD). Также на С-конце присутствует фосфатосвязывающая кассета (PBC) [3]. CaM-связывающий мотив IQ примыкает к α -спирали в CNBD, но не перекрывает ее [10]. Предполагается, что N-конец содержит домены взаимодействия CNGC-CNGC и сайты фосфорилирования. CNGC представляют собой катионные

каналы с различной степенью селективности ионной проводимости, они обеспечивают транспорт одновалентных и двухвалентных катионов, а их активность регулируется обратимым связыванием цГМФ, цАМФ или СаМ с CNBD, что аллостерически вызывает открытие канала. цАМФ и цГМФ, представляют собой вторичные мессенджеры, синтезируемые аденилатциклазами (АЦ) и гуанилилциклазами (ГЦ) соответственно [4]. Примером осуществления связи нуклеотидциклаза-CNGC является совместное взаимодействие AtCNGC17 и AtPSKR1 (рецептор фитосульфокина 1), который участвует в регуляции реакций роста у растений [2]. PSKR1 имеет как киназную, так и GC-активность [5]. AtCNGC17 здесь не взаимодействует непосредственно с рецептором PSKR1, который генерирует цГМФ. Однако, увеличение $[Ca^{2+}]_{цит.}$ способствует активности ГЦ PSKR1, но ингибирует его киназную активность, что повышает вероятность того, что AtCNGC17-опосредованное повышение $[Ca^{2+}]_{цит.}$ не только создаёт петлю положительной обратной связи для пути цГМФ, но также может ограничивать любой путь, зависимый от фосфорилирования для обеспечения специфичности сигнализации [5]. СаМ представляет собой повсеместно распространенный эукариотический сенсор Ca^{2+} . При связывании Ca^{2+} СаМ меняет конформацию с закрытого состояния, свободного от Ca^{2+} (аро-СаМ), на «расширенную» конформацию Ca^{2+} /СаМ с высоким сродством к широкому спектру белков-мишеней. Расположение СаMBD внутри CNBD позволяет СаМ конкурировать с цНМФ в качестве лиганда в аллостерическом регулировании проводимости канала [3]. В Ca^{2+} -свободной форме СаМ взаимодействует с CNGC и активирует каналы. Для предотвращения перегрузки канала ионами Ca^{2+} , у CNGC развился механизм самоинактивации. Классическая инактивация каналов (CDI) предполагает, что связывание СаМ в присутствии повышенного $[Ca^{2+}]_{цит.}$ может вытеснять цНМФ из CNBD [4], так как последний, перекрывается с СаMBD, блокируя CNGC. При этом захват N- и C-концов запускает CDI, тогда как связывание только с СТ вызывает « Ca^{2+} -зависимую стимуляцию» [4], вызывая дальнейший ток Ca^{2+} . Фосфорилирование также может являться важным регулятором активности CNGC [3]. Возможно, что фосфорилирование может как способствовать передаче сигналов защитным каскадам, так и протеосомо-опосредованной деградации и, следовательно, фосфорилирование CNGC у растений может иметь двойную функцию. Известно, что CNGC способны образовывать гетеромерные комплексы, а различные комбинации их субъединиц определяют функциональные характеристики канала [3]. Взаимодействия между субъединицами таких каналов зависят от определённых областей С-концевого домена, причём некоторые субъединицы способны

ингибировать весь канальный комплекс. Геном *Arabidopsis* содержит 20 членов семейства CNGC, которые демонстрируют различные уровни экспрессии в разных тканях. Семейство CNGC подразделяется на пять подсемейств (I, II, III, IV-A и IV-B) в зависимости от сходства их последовательностей. I, II и III группы тесно связаны между собой, тогда как группы IV-A и IV-B находятся в отдаленном родстве друг с другом и с другими группами [3]. CNGC играют фундаментальную роль в различных физиологических процессах. Было показано, что гены AtCNGC19 и AtCNGC20, а также AtCNGC5 и AtCNGC17 экспрессируются в корнях и побегах *A. thaliana* в ответ на солевой стресс. Они участвуют в реакции на засоление в разных типах клеток и могут помочь растениям адаптироваться к токсическому воздействию солевого стресса. CNGC10 отрицательно регулирует толерантность к соли у *A. thaliana* [6], то есть нокауты по гену CNGC10 имеют большую устойчивость к засолению. Высокие уровни тяжелых металлов также токсичны для клеток растений. Уровень экспрессии ионных каналов AtCNGC1, AtCNGC10, AtCNGC13 и AtCNGC19 отрицательно коррелирует с толерантностью к Pb^{2+} , т.е. данные каналы вероятно транспортируют Pb^{2+} в клетку. В то же время AtCNGC15 и AtCNGC11 возможно участвуют в перераспределении и выведении Pb^{2+} . AtCNGC11, AtCNGC13, AtCNGC16 и AtCNGC20, возможно, транспортируют Cd^{2+} [7]. Некоторые исследования показывают, что AtCNGC16 и AtCNGC6 участвуют в сигнальных путях, которые важны для устойчивости к засухе [8]. Временные и резкие изменения $[Ca^{2+}]_{цит.}$ в растительных клетках в ответ на присутствие патогенных организмов необходимы для ранней передачи сигналов и защитных реакций. CNGC2 и CNGC4, необходимы для PAMP-индуцированной сигнализации с участием кальция [9]. При атаке патогена канал активируется киназой BIK1, что вызывает повышение концентрации цитозольного кальция. Связывание ассоциированных с повреждениями молекулярных паттернов с протеинкиназой PEPR вызывает увеличение концентрации цГМФ, который активирует CNGC2 для облегчения проникновения Ca^{2+} . CNGC2-опосредованный приток Ca^{2+} связан с Ca^{2+} -зависимыми протеинкиназами, CaM и кальмодулин-подобными белками и их активация приводят к активации RbohD и RbohF (гомологов оксидазы респираторного взрыва), которые участвуют в образовании АФК и NO и могут действовать как антимикробные соединения [9].

Библиографические ссылки

1. Dietrich P. Plant cyclic nucleotide-gated channels: new insights on their functions and regulation // Plant Physiol. 2020. Vol. 184, iss.1. P. 27-38.

2. Cyclic nucleotide gated channels in plant signalling: current knowledge and perspectives / M. Duszyn [et al.] // J. Plant Physiol. 2019. Vol. 241. P. 153 -235.
3. The complex story of plant cyclic nucleotide-gated channels / E. Jarratt-Barnham [et al.] // Int. J. Mol. Sci. 2021. Vol. 22, iss. 2. – P. 874-889.
4. Maronde E. Cyclic nucleotide (cNMP) analogues: past, present and future // Int. J. Mol. Sci. 2021. Vol. 22, iss. 23. P. 128-179.
5. The phytosulfokine (PSK) receptor is capable of guanylate cyclase activity and enabling cyclic GMP-dependent signaling in plants / L. Kwezi [et al.] // J. Biol. Chem. 2011. Vol. 286, iss. 25. P. 22580-22588.
6. Cyclic nucleotide gated channel 10 negatively regulates salt tolerance by mediating Na⁺ transport in Arabidopsis / Y. Jin [et al.] // J. Plant Res. 2015. Vol. 128, iss. 1. P. 211-220.
7. A rabadopsis CNGC family members contribute to heavy metal ion uptake in plants / J.Y. Moon [et al.] // Int. J. Mol. Sci. 2019. Vol. 20, iss. 2. P. 413-420.
8. A cyclic nucleotide-gated channel (CNGC16) in pollen is critical for stress tolerance in pollen reproductive development / M. Tunc-Ozdemir [et al.] // Plant Physiol. 2013. Vol. 161, iss. 2. P. 1010-1020.
9. The Arabidopsis cyclic nucleotide-gated ion channels AtCNGC2 and AtCNGC4 work in the same signaling pathway to regulate pathogen defense and floral transition / K. Chin [et al.] // Plant Physiol. 2013. Vol. 163, iss. 2. P. 611-624.
10. Cyclic nucleotide-gated ion channel 6 mediates thermotolerance in Arabidopsis seedlings by regulating nitric oxide production via cytosolic calcium ions / X. Peng [et al.] // BMC Plant Biol. 2019. Vol. 19, iss. 1. P. 368-375.