

PP兰大何凯：NMT发现阴离子通道调节因子调节硝酸盐通道促硝酸盐外排缓解植物铵毒

基本信息

- 主题：NMT发现阴离子通道调节因子调节硝酸盐通道促硝酸盐外排缓解植物铵毒
- 期刊：Plant Physiology
- 影响因子：6.902
- 研究使用平台：NMT毒理研究创新平台
- 标题：Kinase SnRK1.1 Regulates nitrate channel SLAH3 Engaged in Nitrate-Dependent Alleviation of Ammonium Toxicity
- 作者：兰州大学何凯、孙豆豆

检测离子/分子指标

NO₃⁻

检测样品

拟南芥根成熟区

中文摘要（谷歌机翻）

硝酸盐（NO₃⁻）和铵（NH₄⁺）是植物主要的无机氮（N）供应源，但NH₄⁺作为唯一或主导的N源在许多植物中引起生长抑制，称为铵毒。少量NO₃⁻能显著减轻铵毒性，阴离子通道SLAC1同系物3（SLAH3）参与了这一过程，但SLAH3如何调节硝酸盐依赖性缓解铵毒性的机理细节仍不清楚。在本研究中，我们在拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）中发现SnRK1.1是一个SLAH3的中间调节因子，参与能量平衡和各种胁迫应答。本研究的结果表明SNF1相关蛋白激酶1（SnRK1.1）作为SLAH3的负调节因子发挥作用。激酶分析表明SnRK1.1在S601位点强烈磷酸化SLAH3的C端。在高NH₄⁺/低pH条件下，SLAH3S601中的磷酸模拟化（phospho-mimetic）和磷酸化死亡突变（phospho-dead mutations）导致slah3勉强获救（rescued）的表型和完全互补的表型。此外，SnRK1.1在高NH₄⁺/低pH条件下从细胞质向细胞核转移。高铵胁迫下SnRK1.1从胞浆向胞核的转运解除了对SLAH3的抑制，从而使SLAH3介导的NO₃⁻外排导致高NH₄⁺/低pH胁迫的缓解。本研究揭示了C端磷酸化在SLAH3调控中也起着重要作用，为硝酸盐依赖减轻植物铵毒提供了新的见解。

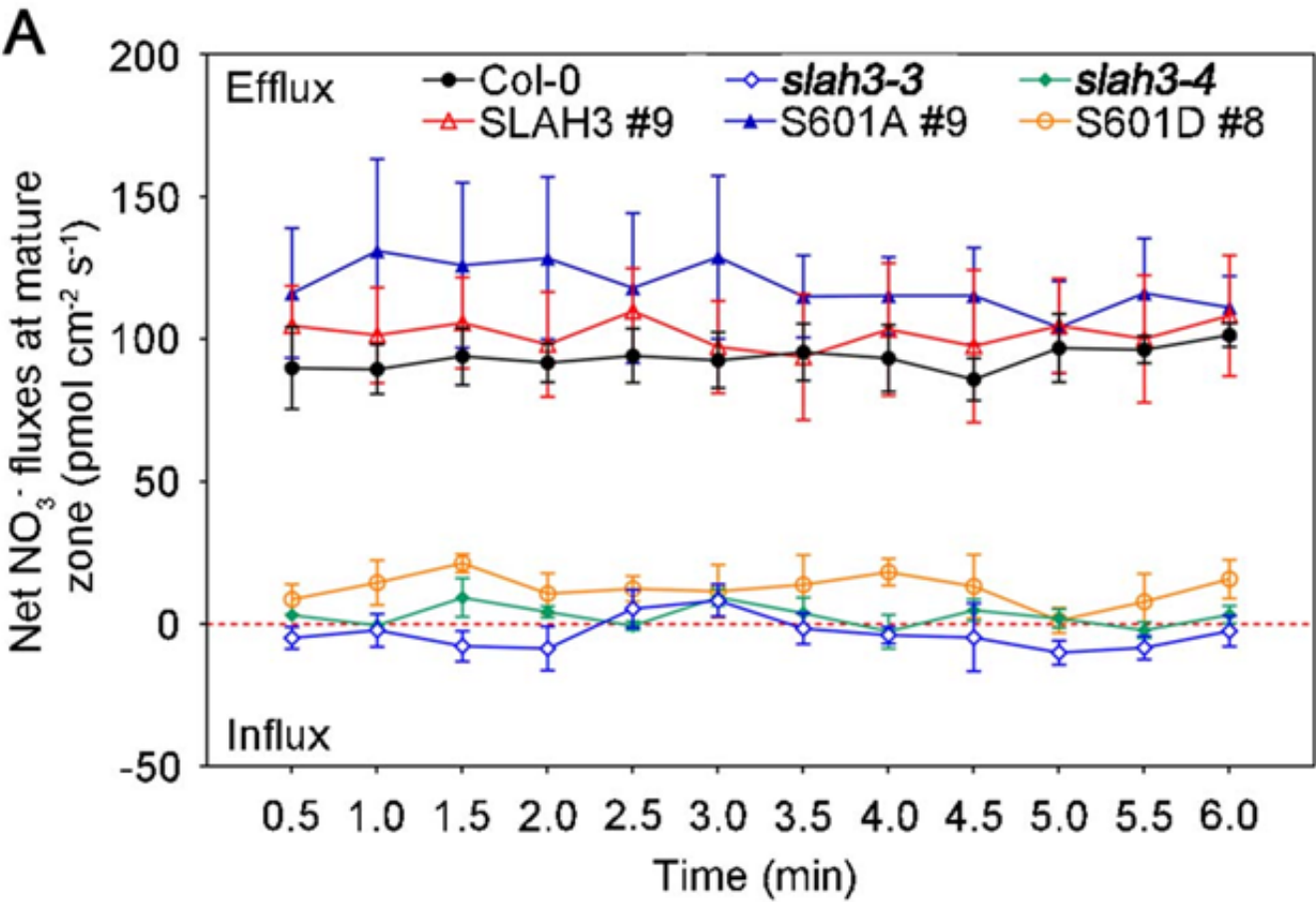
离子/分子流实验处理

8日龄幼苗处理溶液（1 mM KNO₃, 10 mM NH₄Cl, pH 4.5）处理2 h

对照处理溶液：1 mM KNO₃, 1 mM NH₄Cl, pH 5.7

离子/分子流实验结果

为了进一步了解SLAH3 S601位点的生理作用，研究采用非损伤微测技术（NMT）对硝酸盐流速进行了分析。为检验Cl⁻是否干扰NMT系统中NO₃⁻的检测，在无幼苗的情况下分别检测测试液1（1 mM KNO₃, 0.1mM KCl, 0.1 mM CaCl₂, 0.3 mM MES, pH 6.0）和测试液2（1 mM KNO₃, 1.1 mM KCl, 0.1 mM CaCl₂, 0.3 mM MES, pH 6.0）中NO₃⁻的浓度和净流速。Cl⁻的存在不干扰NO₃⁻的检测（图2）。其次，本研究检测了根尖附近成熟区的NO₃⁻净流速（图1A，图3A）。对Col-0、slah3-3、slah3-4幼苗和所有互补株系在1/2 MS培养基上生长8 d后转入高NH₄⁺/低pH条件（1 mM NO₃⁻, 10 mM NH₄⁺, pH 4.5）或非高NH₄⁺/低pH条件（1 mM NO₃⁻, 1 mM NH₄⁺, pH 5.7）2 h后进行检测。在6 min内检测到来自植物根系的NO₃⁻流速（图1B，图3B）。在高NH₄⁺/低pH胁迫下，Col-0的NO₃⁻外排速率平均值约为93 pmol cm⁻²s⁻¹，slah3突变体的NO₃⁻外排速率平均值约为0 pmol cm⁻²s⁻¹。slah3-4背景下的互补株系SLAH3和SLAH3 S601A显示出与Col-0植株类似的硝酸盐外排。相比之下，slah3-4背景下互补株系SLAH3 S601D的硝酸盐外排与slah3突变体相似（图1B）。此外，在非高NH₄⁺/低pH胁迫下，所有植物的硝酸盐外排相似，NO₃⁻外排速率的平均值均在0 pmol cm⁻²s⁻¹左右（图3）。这些结果表示SLAH3的S601在高NH₄⁺/低pH胁迫下对硝酸盐外排起重要的调节作用。



B

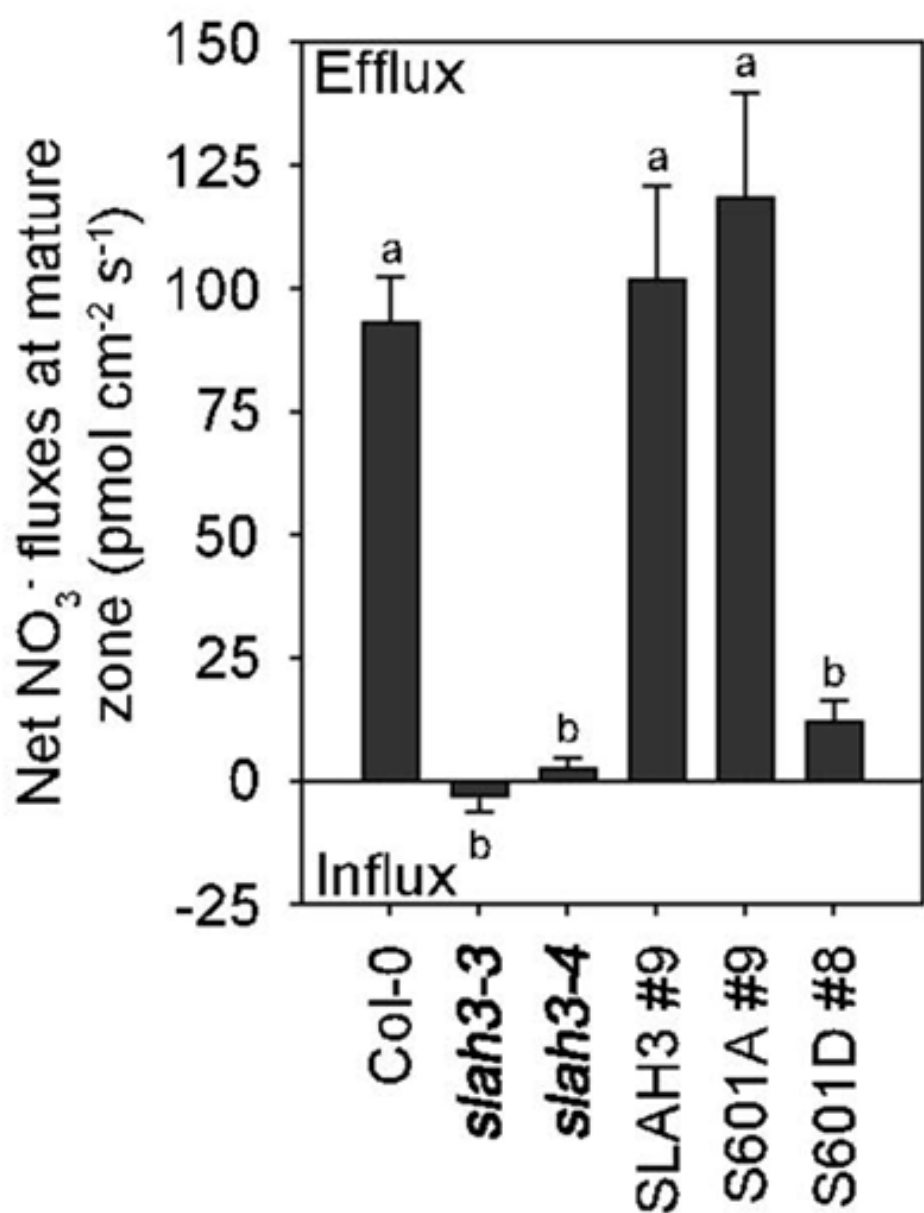


图1. SLAH3 S601对高铵/低pH条件下根系成熟区 NO_3^- 净流速的影响

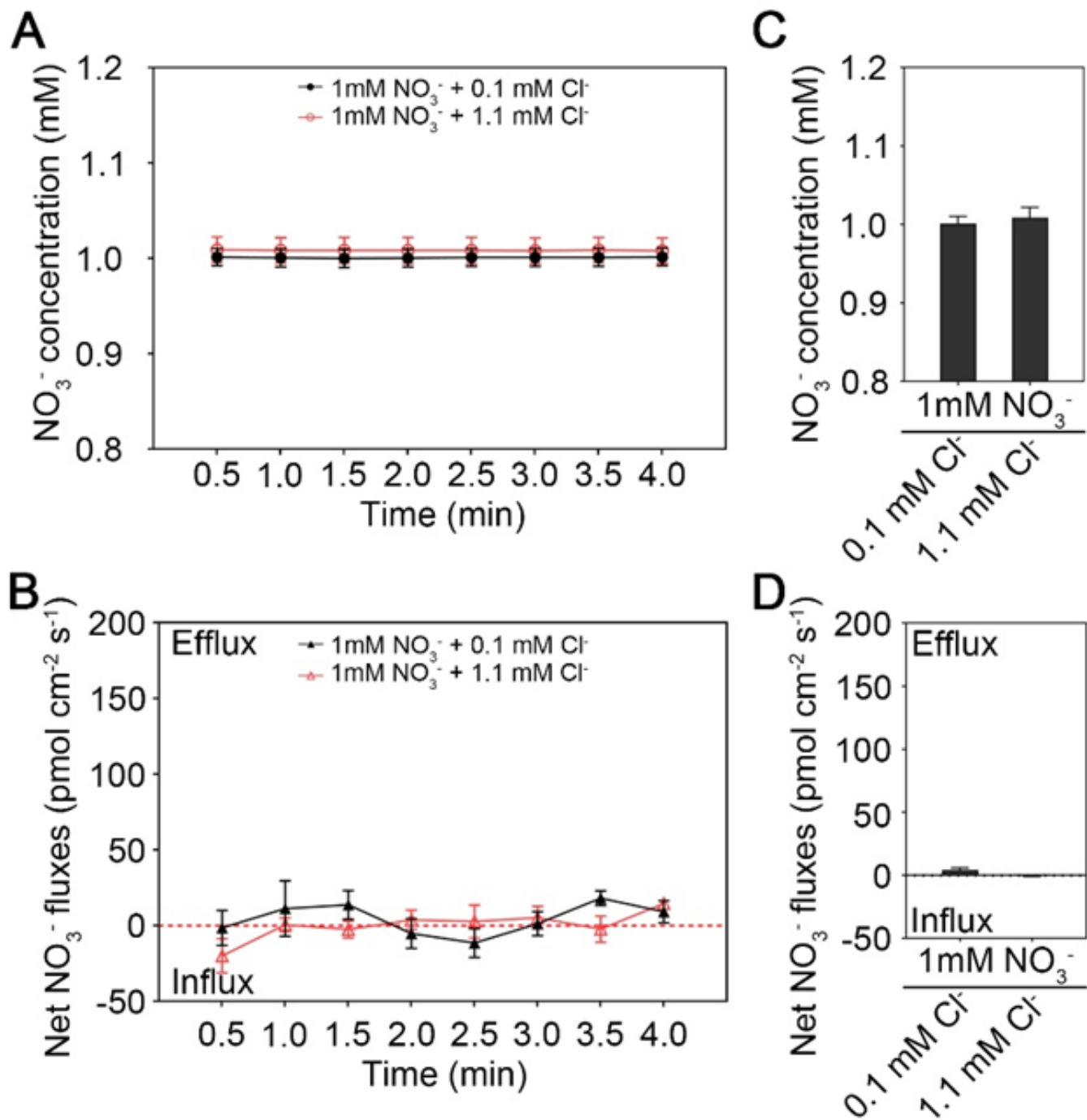


图2. Cl⁻的存在不影响NMT分析中NO₃⁻的测定

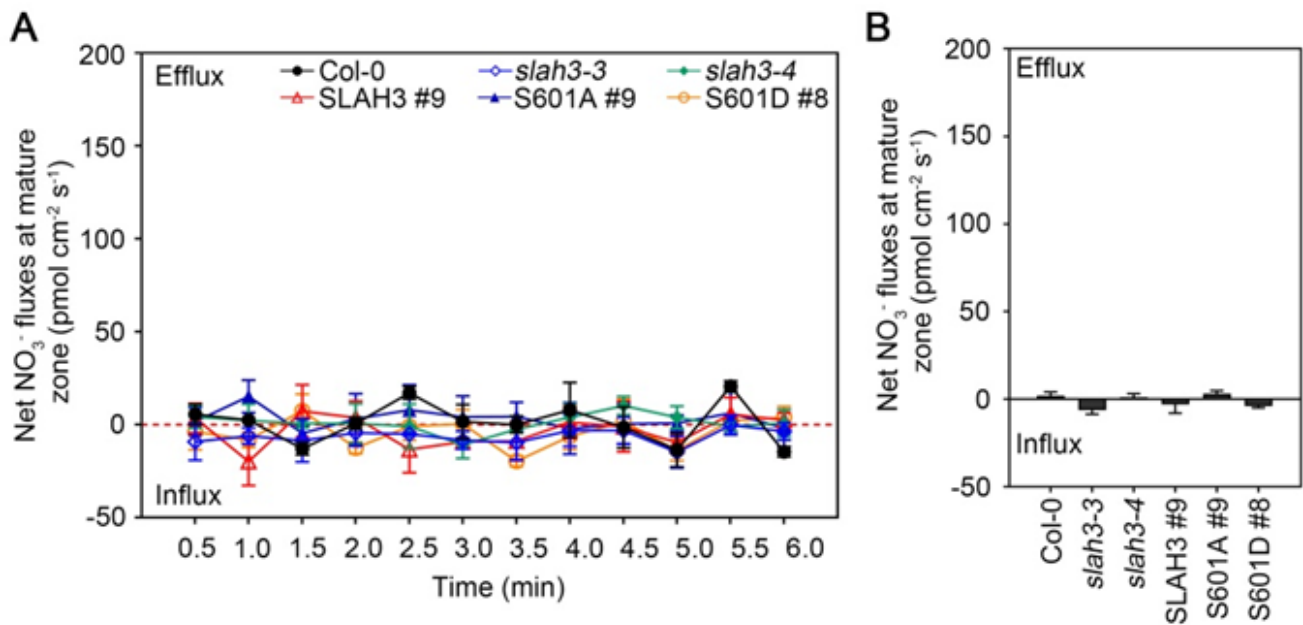


图3. 在非高铵/低pH条件下不影响 NO_3^- 净流速

其他实验结果

- 蛋白激酶SnRK1.1是能量信号和胁迫响应的中心调节器，与SLAH3的C端相互作用。
- SnRK1.1在体内与SLAH3相互作用。
- SnRK1.1可以潜在地作为根部的SLAH3调控器发挥作用。
- SnRK1.1参与了硝酸盐依赖性缓解铵毒性的过程，很可能通过负调控SLAH3来促进这一过程。
- SLAH3是SnRK1.1调控黑暗中下胚轴生长的必要条件。
- SnRK1.1在体外磷化SLAH3-C端。
- SnRK1.1磷酸化SLAH3的S601在高铵响应中起重要作用。
- 高铵胁迫导致SnRK1.1在细胞核内积累。

结论

本研究推测SLAH3可能通过N端磷酸化而被激活，但通过SnRK1.1介导的C端S601磷酸化而被抑制。然而，硝态氮依赖缓解铵毒过程中调节SLAH3的激活剂尚未确定。S601磷酸化是否直接调控SLAH3的通道活性还有待进一步明确。此外，S601磷酸化也可能导致其他调节成分也直接参与SLAH3通道的活性调节。

测试液

1 mM KNO_3 , 0.1 mM KCl , 0.1 mM CaCl_2 , pH 6.0

仪器采购信息

据中关村NMT产业联盟了解，兰州大学草科院、生科院分别于2016年、2019年采购了美国扬格公司的非损伤微测系统。

文章来源：<https://doi.org/10.1093/plphys/kiab057>

(唯一的)问答 ID: #1274

作者: xuyuenmt

更新时间：2022-07-05 08:51