

贵大、贵师：NMT发现WRKY70促拟南芥吸Cd²⁺ 为发现TaWRKY70与TaCAT5启动子结合参与响应重金属胁迫奠定基础

基本信息

主题：NMT发现WRKY70促拟南芥吸Cd²⁺ 为发现TaWRKY70与TaCAT5启动子结合参与响应重金属胁迫奠定基础

期刊：Environmental and Experimental Botany

影响因子：5.545

研究使用平台：NMT重金属创新平台

标题：TaWRKY70 positively regulates TaCAT5 enhanced Cd tolerance in transgenic Arabidopsis

作者：贵州大学任明见、贵州师范大学杜旭烨、Zhenzhen Jia、李木子

检测离子/分子指标 Cd²⁺ 检测样品

拟南芥根分生区

中文摘要

WRKY转录因子（TFs）参与了植物对多种生物和非生物胁迫的响应；然而，WRKY TFs在小麦响应Cd胁迫中的调控作用仍然未知。本文研究了小麦TaWRKY70 TF在Cd胁迫下的机制。在拟南芥中表达TaWRKY70来进行功能分析。TaWRKY70通过Cd在根中积累而不是在叶片中积累来调节Cd耐受性。表达TaWRKY70后，拟南芥根系的Cd²⁺内流速率减少。定量实时荧光定量PCR（qRT-PCR）结果显示，Cd胁迫下，heavy metal ATPase (AtHMA3)、natural resistance-associated macrophage protein (AtNRAMP5)、yellow stripe1-like (AtYSL3)、和iron transport protein (AtIRT1)的表达水平降低。转基因拟南芥的电解质渗漏率、丙二醛和过氧化氢含量均低于野生型，而抗氧化酶活性则高于野生型。电泳迁移率变化实验（EMSA）、酵母单杂实验（Y1H）和瞬时反式激活实验证明TaWRKY70可以直接结合到TaCAT5启动子上。本研究的发现为WRKY TFs参与重金属胁迫响应的提供了新的理解。

离子/分子流实验处理方法

20 μM CdCl₂处理8 h。

离子/分子流实验结果

使用非损伤微测技术（NMT）检测了拟南芥根部的Cd²⁺净流速（图1）。转基因拟南芥根部的Cd²⁺

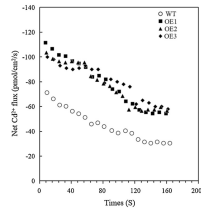


图1.WT和转基因拟南芥根部的Cd²⁺内流速率。负值代表Cd²⁺吸收。

其他实验结果

- TaWRKY70-GFP荧光信号仅在细胞核中瞬时表达，表明TaWRKY70为核蛋白。
- 利用qRT-PCR分析Cd胁迫下小麦根和地上部分中TaWRKY70的表达。结果表明，TaWRKY70在小麦根和地上部组织中均受Cd胁迫高度诱导。
- 在表达DNA顺式作用元件W-box和TaWRKY70的拟南芥中，GUS染色和活性下降，表与只表达W-box的拟南芥相比，TaWRKY70与W-box基序特异结合。
- TaWRKY70增加了酵母的Cd富集能力。
- Western blot分析表明，TaWRKY70在只转基因植株中表达；在Cd处理下，WT株系的发芽率、初生根长、生物量小于TaWRKY70转基因植株；这些结果表明，TaWRKY70参与了拟南芥对Cd胁迫的响应，增强了拟南芥对Cd的耐受性。
- Cd胁迫下，转基因拟南芥根部的电解质渗漏、叶片的H₂O₂和O₂⁻浓度明显低于WT，CAT活性明显高于WT。这些结果表明，TaWRKY70的表达改善了拟南芥的ROS清除系统，赋予其对Cd胁迫的抗性。
- 用荧光探针检测Cd²⁺在拟南芥根和叶的分布，发现转基因株系根部组织中的荧光强度比WT的强。然而，转基因株系叶片的荧光强度比WT弱。
- 转基因拟南芥的根组织Cd含量高于WT，而地上部组织Cd含量低于WT。
- 在转基因拟南芥中，作为Cd转运体的AtNRAMP5、AtHMA3、AtYSL3、和AtIRT1基因被30 μM的Cd诱导表达，但一些基因在转基因植物中的表达水平明显低于WT。结果表明，TaWRKY70促进了转基因拟南芥对Cd的吸收。通过抑制转运体基因的表达与Cd的稳态有关。
- TaWRKY70通过与TaCAT5启动子的W-box基序相互作用来激活TaCAT5的表达。

结论

总之，小麦TaWRKY70在拟南芥中的表达降低了拟南芥的Cd转移系数，降低了拟南芥的Cd耐受性。此外，研究确定TaWRKY70是通过调节TaCAT5的表达来应对Cd胁迫的。总的来说，这项研究为进一步确定TaCAT5的功能和Cd响应机制提供了重要发现。

测试液

0.02 mM CdCl₂, 0.01 mM CaCl₂, pH 6.0

NMT实验标准化方案

[·重金属研究NMT标准化方案](#)

NMT仪器信息

[·活体培养环境监测仪](#)

[·智能自动化非损伤微测系统](#)

文章原文：

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847221002215?via%3Dihub>

(唯一的)问答 ID: #1333

作者: xuyuenmt

更新时间：2022-07-11 08:12