

基本信息

主题：REM6.5 激活质膜质子泵促植物耐盐

期刊：Tree Physiology

影响因子：3.477

研究使用平台：NMT植物耐盐创新平台

标题：Populus euphraticaremorin 6.5 activates plasma membrane H⁺-ATPases to mediate salt tolerance

作者：北京林业大学陈少良、张会龙

检测离子/分子指标

Na⁺ , H⁺ , K⁺

检测样品

7日龄拟南芥（WT和转基因）根分生区（距根尖200μm根表上的点）

中文摘要（谷歌机翻）

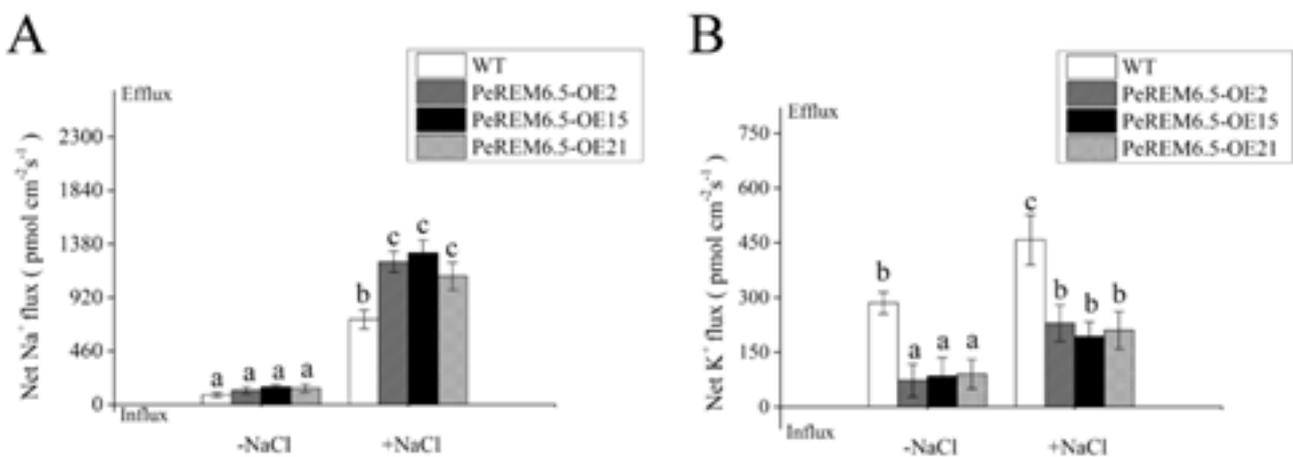
Remorins (REM) 在植物适应不利环境的能力中起着重要作用。PeREM6.5是胡杨，耐盐杨树中REM家族的一种蛋白质，是由愈伤组织，根和叶中的NaCl胁迫诱导的。我们从胡杨假单胞菌中克隆了全长PeREM6.5，并将其转化为大肠杆菌和拟南芥。PeREM6.5重组蛋白显着提高了胡杨质膜（PM）囊泡中的H⁺ATPase水解活性和H⁺转运活性。酵母杂交分析表明，胡杨REM6.5与RPM1相互作用蛋白4（PeRIN4）相互作用。PeRIN4重组蛋白增强了PeREM6.5诱导的PM H⁺-ATPase活性的增加，在拟南芥中PeREM6.5的正向表达在存活率，根生长，电解质渗漏和丙二醛含量方面显着提高了转基因植物的耐盐性。过表达PeREM6.5的拟南芥植物在体内和体外试验中均保持较高的PM H⁺-ATPase活性。由于H⁺-ATPases促进了Na⁺的挤出，PeREM6.5转基因植物的Na⁺积累减少，而且H⁺泵引起了血浆膜的超极化，降低了盐碱化根系PM中去极化激活通道介导的K⁺损失，因此，我们得出以下结论：帽子PeREM6.5调节了PM中的H⁺-ATPase活性，从而增强了植物在盐度下保持离子稳态的能力。

离子/分子流实验处理方法

- (1) 125 mM NaCl处理12小时
- (2) 500 μ M钒酸钠处理20分钟

离子/分子流实验结果

使用NMT技术，在低Na⁺测试液中记录了来自对照和盐处理植物根部的Na⁺外排。NaCl处理（12 h）导致所有测试株系的Na⁺外排显著增加（图1A）。转基因植物在NaCl处理后表现出比WT植物更高的Na⁺外排（图1A）。在所有测试株系中，NaCl均增加了K⁺的外排，但WT中的K⁺损失高于转基因植物（图1B）。



在NaCl处理下，H⁺由内流转为外排，转基因植物中的H⁺外排显著高于野生型植物（图2A）。但是，盐诱导的H⁺外排被质膜（PM）H⁺-ATPase的特异性抑制剂钒酸钠消除（图2A）。该结果表明盐诱导的H⁺外排是由H⁺泵活性增加引起的。H⁺外排在转基因植物中更为明显的事实表明，转基因植物在NaCl胁迫下仍具有较高的H⁺泵活性。

PeREM6.5-转基因植物的根在盐胁迫下表现出比野生型植物的根更高的PM超极化（ -63 ± 2 mV），尽管在无对照植物中膜电位相似（ -82 ± 3 mV；图2B）。膜电位越负，说明PM中的H⁺泵活性越高。

对PeREM6.5-转基因拟南芥中分离的PM囊泡进行了PM H⁺-ATPase活性的体外测定。与野生型相比，转基因植物通常表现出更高的ATP水解活性（2.1倍；图2C）。因此，PeREM6.5上调了转基因株系中PM H⁺-ATPase的活性。这一发现与转基因拟南芥根系中H⁺转运活性增加的体内协调一致（图2A）。综上所述，PeREM6.5可以提高转基因拟南芥中PM H⁺-ATPase的活性。

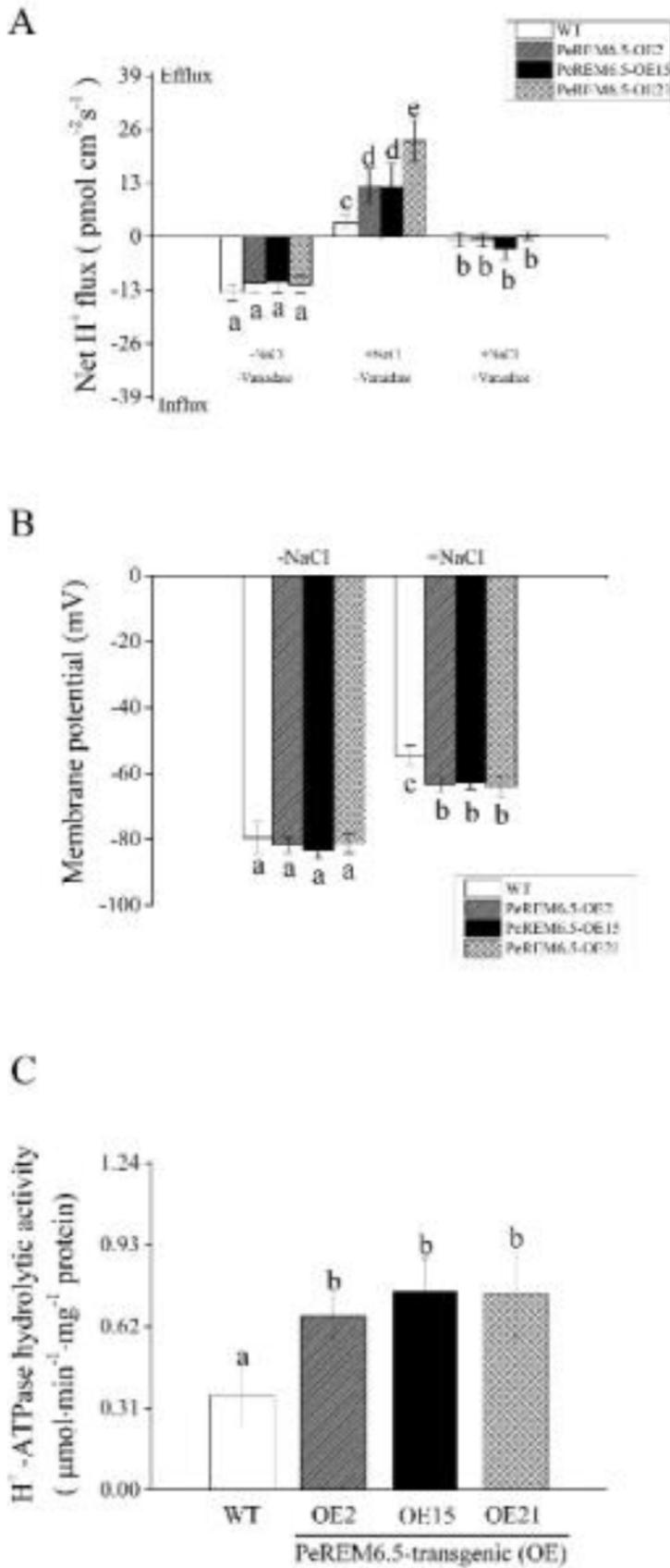


Figure 9

其他实验结果

无论NaCl浓度如何，胡杨PeREM6.5在愈伤组织、根和地上部分均对NaCl胁迫有响应。从胡杨叶中克隆了PeREM6.5的cDNA全长1130bp。PeREM6.5氨基酸序列与populus trichocarpa (PtREM)的相似性高。结构分析预测PeREM6.5蛋白质是典型的Remorin-C结构域。共聚焦激光扫描显微镜结果表明，PeREM定位于PM和细胞质。此外，PeREM6.5与PM标记FM4-64部分共定位，表明PeREM6.5是与PM相关的蛋白质。

PeREM6.5与PeRIN4相互作用，提高胡杨PM H⁺-ATPase的酶活性。半定量逆转录PCR和RT-qPCR显示，OE2、OE15和OE21表达的PeREM6.5转录水平高于其他株系。PeREM6.5过表达提高了拟南芥的耐盐性。盐处理（12h）显著增加了所有试验株系的根细胞内Na⁺浓度。然而，转基因株系中的Na⁺特异性荧光低于野生型。与盐渍化根相比，在对照条件下荧光强度几乎无法检测。

结论

基于我们的研究结果，我们得出结论：PeREM6.5介导了胡杨的H⁺泵活性。盐处理诱导了胡杨中REM6.5的表达，编码蛋白与PeRIN4相互作用，稳定了H⁺-ATPase复合物，从而提高了PM H⁺-ATPase的活性。因此，PeREM6.5-PeRIN4-蛋白复合物激活的H⁺泵通过Ca²⁺-SOS途径促进Na⁺/H⁺反转运。此外，活化的PM H⁺-ATPase保留较少的去极化PM，限制K⁺通过DA-KORC和DA-NSCC外排。结果表明，盐碱环境下胡杨属植物保持了K⁺/Na⁺的动态平衡。

离子流实验使用的测试液

0.5 mM KCl, 0.1 mM CaCl₂, 0.1 mM MgCl₂, 0.1 mM NaCl, 2.5% sucrose, pH 5.8

文章原文：<https://academic.oup.com/treephys/article-abstract/40/6/731/5775609>

(唯一的)问答 ID: #1225

作者: xuyuenmt

更新时间: 2022-07-01 08:36