

MP郭岩、雷晓光：NMT发现PI4P/PI动态调控质子泵、Na-H逆向转运体活性 调节植物耐盐

基本信息

主题：NMT发现PI4P/PI动态调控质子泵、Na-H逆向转运体活性 调节植物耐盐

期刊：Molecular Plant

影响因子：13.164

研究使用平台：NMT植物耐盐创新平台

标题：Dynamic changes of phosphatidylinositol and phosphatidylinositol 4-phosphate levels modulate H^+ -ATPase and Na^+/H^+ antiporter activities to maintain ion homeostasis in *Arabidopsis* under salt stress

作者：北京大学雷晓光、XiuliHan，中国农业大学郭岩、杨永青、马亮

检测离子/分子指标

Na^+ 、 H^+

检测样品

拟南芥根分生区，距根尖120 μm 根表上的点

中文摘要（谷歌机翻）

在环境变化下，植物的代谢物会动态地改变和分布。然而，目前人们对代谢产物在植物逆境响应中如何改变功能的还很不清楚。盐胁迫下维持离子稳态需要协调激活PM

H^+ -ATPase和 Na^+/H^+

逆向转运体这两种中枢调节物质。本文采用生物引导分离方法，鉴定了影响PM

H^+ -ATPase和 Na^+/H^+ 逆向转运体活性的内源性小分子，发现磷脂酰肌醇（PI）通过直接与PM

H^+ -ATPase AHA2的C端结合而抑制拟南芥在非胁迫条件下PM

H^+ -ATPase的活性。盐胁迫下，磷脂酰肌醇4-磷酸（PI4P）/PI比值升高，PI4P结合并激活PM

Na^+/H^+ 逆向转运体活性。PI更倾向于与PM

H^+

-ATPase的非活性形式结合，而PI4P倾向于与N

a^+/H^+ 逆向转运体的活性形式结合。同样，*pis1*突变体的PI水平降低，表现出PM

H^+ -ATPase活性和耐盐性增强；而*pi4k β 1*突变体的PI4P水平降低，表现出PM

页 1 / 5

Na⁺/H⁺

逆向转运体活性和耐盐性减弱。综上所述，本文揭示了拟南芥在盐胁迫下PI与PI4P之间的动态变化，对于维持离子稳态以保护植物免受不利环境条件的影响至关重要。

离子/分子流实验处理

H⁺：7日龄拟南芥幼苗在含有75 mM NaCl的MS培养基中培养24 h。
Na⁺：7日龄拟南芥幼苗在含有100 mM NaCl的MS培养基中培养24 h。 **离子/分子流实验结果**
使用**非损伤微测技术（NMT）**检测Col-0, *pis1-1*, *pis1-2*, *COM1* and *COM2*的H⁺流速。将7日龄幼苗转入含75 mM NaCl（pH 8.1）的MS培养基中培养24 h，测定根尖H⁺流速。*pis1-1*和*pis1-2*植物的H⁺流速与Col-0相比显著增加，而*COM1*和*COM2*植物的H⁺流速与Col-0植物相同（图1C, D）。因此，在PI含量减少的*pis1*突变体中，PM H⁺-ATPase活性增加，表明PI在体内抑制了PM H⁺-ATPase的活性。

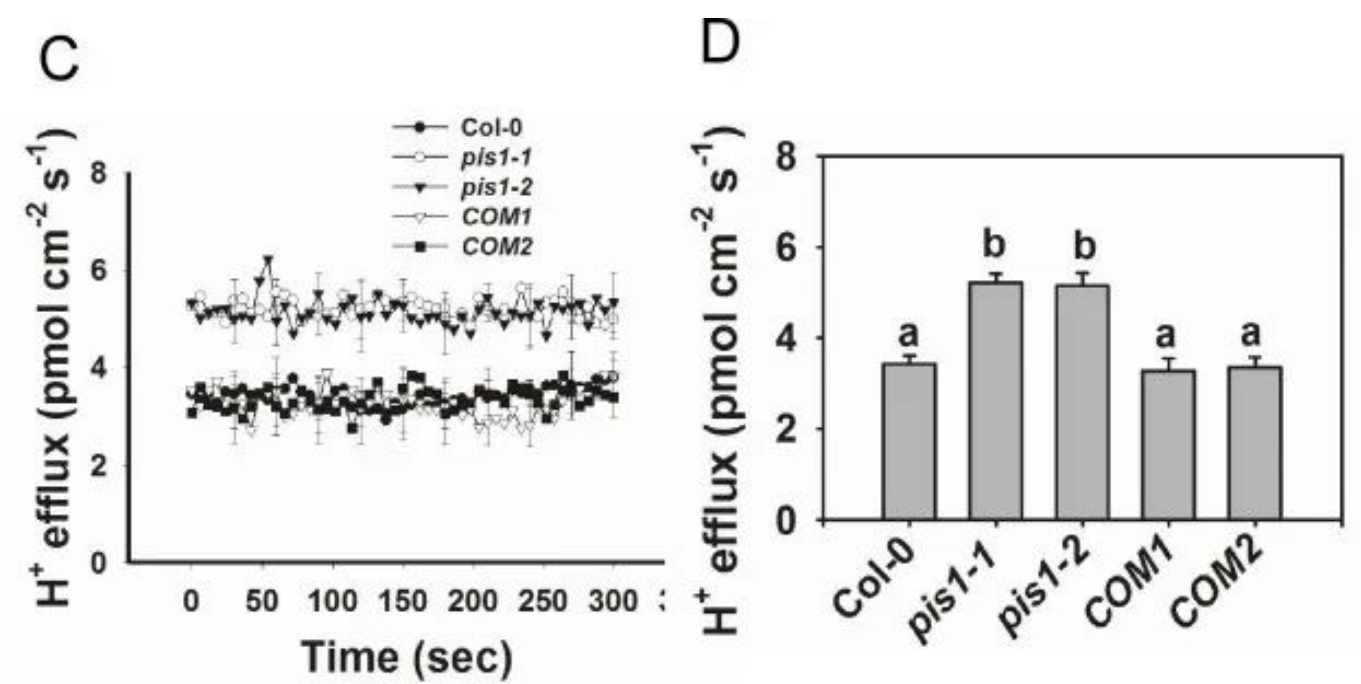


图1. Col-0、*pis1-1*、*pis1-2*、*COM1*和*COM2*根尖的净H⁺外排速率。正值代表H⁺外排。

在100 mM NaCl预处理24 h后，用NMT检测Col-0外排明显减少，而*COM1*和*COM2*互补系的Na⁺外排被恢复到WT水平（图2C, D）。

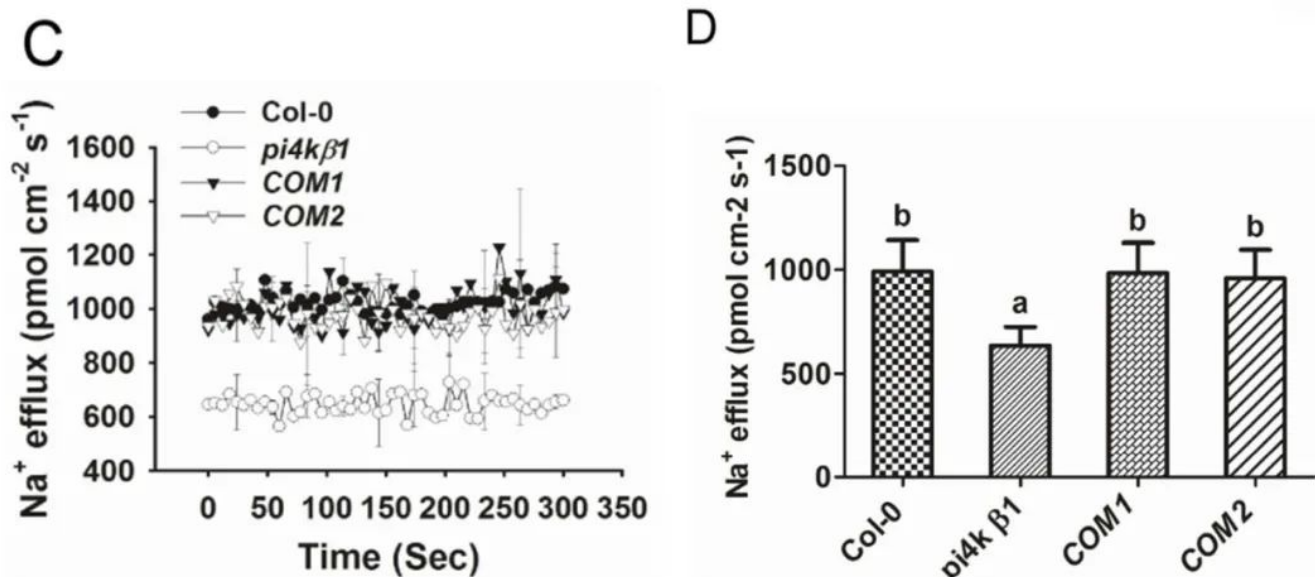


图2. Col-0、*pi4kβ1*、COM1和COM2根尖的净Na⁺外排速率。正值代表Na⁺外排。

其他实验结果

- 采用生物引导分离方法对拟南芥Col-0幼苗粗提物进行分离，通过质谱等分析，发现PI能结合并调节PM H⁺-ATPase活性。
- 外源PI可能通过抑制PMH⁺-ATPase活性而抑制植物和酵母生长。
- PI在正常条件下可能维持PM H⁺-ATPase活性的自抑制状态。
- PI通过直接特异性的结合在PM H⁺-ATPase AHA2的C端，在AHA2 C^{S931}位点的磷酸化增强了PI-AHA2的结合亲和力，在非胁迫条件下抑制PM H⁺-ATPase活性。
- 为了确定PI是否也抑制植物中体内的PM H⁺-ATPase活性，从拟南芥生物资源中心获得了两个编码拟南芥PI合成关键酶的T-DNA插入突变体*pis1-1*和*pis1-2*，利用遗传学证据表明，内源性PI负调控PM H⁺-ATPase活性。
- PI生物合成调控通过调节PM H⁺-ATPase活性参与植物盐胁迫响应。
- PI4P不影响PI介导的抑制PM H⁺-ATPase活性，对PI与AHAC的结合活性也没有影响。
- 质膜中PI的含量远高于PI4P，且在盐胁迫下PI4P和PI(4,5)P2的含量较非盐胁迫下显著增加，PI4P/PI比值在盐胁迫下升高。
- 盐胁迫下，PI被代谢成PI4P，并释放PM H⁺-ATPase的活性以提供质子梯度；同时，PI4P激活PM Na⁺/H⁺逆向转运体的活性，将Na⁺运出细胞。

- PI倾向于与PM H^+ -ATPase的非活性形式结合，而PI4P倾向于与 Na^+/H^+ 逆向转运体的活性形式结合。在*pi4k β 1*突变体（PI4K β 1是PI合成PI4P的关键酶）中，PI4P水平降低，PM Na^+/H^+ 逆向转运体活性降低，耐盐胁迫能力下降。
- 内源性PI4P可激活质膜 Na^+/H^+ 逆向转运体的活性。
- 拟南芥内源性PI4P参与调控PM Na^+/H^+ 逆向转运体在盐胁迫下的活性。
- 内源性PI4P正调节PM Na^+/H^+ 逆向转运体活性。
- PI4P更倾向与高度活化的SOS1结合，这也许是为了在盐胁迫下维持或激活SOS1的活性。
- NaCl处理可诱导PI4K激酶活性，增加质膜中PI4P含量。

结论 本研究通过生物引导分离法鉴定了一个内源性脂质分子PI，它与PM H^+ -ATPase结合，并在非胁迫条件下抑制其活性，在盐胁迫下，PI与PM H^+ -ATPase解离，进而降低其抑制作用，使PM H^+ -ATPase被激活。根据这一观点，PI4K激酶的活性被盐胁迫诱导，将PI代谢成PI4P，后者结合并激活PM Na^+/H^+ 逆向转运体SOS1。PM H^+ -ATPase活性的增加产生了一个跨膜质子梯度，直接激活SOS1，将 Na^+ 运出细胞（图3G）。本研究揭示植物通过调节代谢物的变化来协同调节关键酶活性，使植物能够对逆境胁迫做出响应。

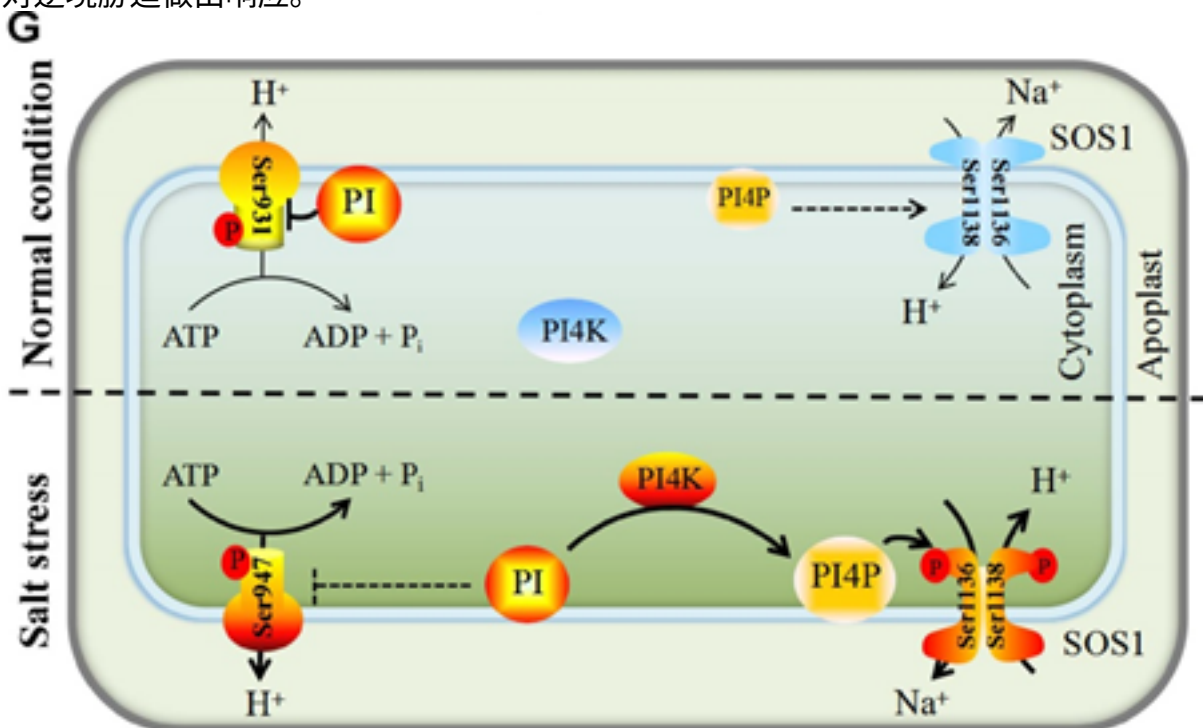


图3.

PI和PI4P动态变化如何在调节离子稳态中发挥关键作用的模型。
页 4 / 5

测试液

0.1 mM CaCl_2 , 0.3 mM MES, 0.5mM KCl, pH 6.0

仪器采购信息

据中关村NMT产业联盟了解，北京地区的北京大学、中国农业大学分别于2019、2020年采购了旭月（北京）科技有限公司的非损伤微测系统。

原文链接：<https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.07.020>

(唯一的)问答 ID: #1283

作者: xuyuenmt

更新时间：2022-07-05 10:22