

EEB海大江行玉组：NMT发现碱胁迫下cbl10突变体吸H⁺↓ 为证明CBL10通过促叶片泌H⁺负调节H⁺泵活性适应碱胁迫提供证据

基本信息

主题：NMT发现碱胁迫下cbl10突变体吸H⁺

↓ 为证明CBL10通过促叶片泌H⁺负调节H⁺泵活性适应碱胁迫提供证据

期刊：Environmental and Experimental Botany

影响因子：5.545

研究使用平台：NMT植物耐盐创新平台

标题：The calcium sensor CBL10 negatively regulates plasma membrane H⁺-ATPase activity and alkaline stress response in Arabidopsis

作者：广东海洋大学、海南大学江行玉，海南大学周扬、谢青、杨莹

检测离子/分子指标 H⁺ 检测样品

拟南芥叶片

中文摘要

质膜（PM）H⁺

-ATPase（AHA）为植物细胞内一些重要的生理生化过程提供能量，在植物生长发育中起关键作用。本研究发现拟南芥cbl10突变体在盐胁迫下的生长和PM

H⁺-ATPase活性均低于野生型植株（WT），推测钙调磷酸酶B类似蛋白（calcineurin B-like protein 10,

CBL10）可能参与A

HA的调控。相反，当暴露在外部较高的

pH值胁迫下时，cbl10的生长比WT好，而表达CBL10基因的cbl10

植物在外部高pH值下的生长与WT相似

。在碱性条件下，cbl10突变体的质子内流速率比WT低，cbl10

突变体生长的平板区域pH低于WT平板低。酵母双杂交和BiFC实验表明，CBL10与AtAHA4或AtAHA11的C端结合，使得共表达CBL10和AHA4/AHA11

的酵母细胞的生长比单个AHA4或AHA11

的转基因细胞差。这说明CBL10通过直接与AtAHA4或AtAHA11相互作用而负调控PM

H⁺

-ATPase活性，降低了拟南芥适应碱性环境的能力。总的来说，这项研究表明，CBL10可能作为一个相互连接的调节器，协调植物对盐碱胁迫的反应。

离子/分子流实验处理方法

在pH为8.1的MS培养基上生长12 h

离子/分子流实验结果

为了验证cbl10

突变体是否可以通过排出更多的质

子来适应碱性环境，研究用**非损伤微测技术（NMT）**检测了cbl10

突变体和野生型植物叶片的质子流速（图1）。测试液的酸化导致碱性培养基中植物的叶细胞有显著的质子吸收。cbl10

突变体的质子内流速率显著低

于野生型植株，表明在碱性胁迫下，cbl10突变体的H⁺跨质膜的速度可能快于野生型植株。

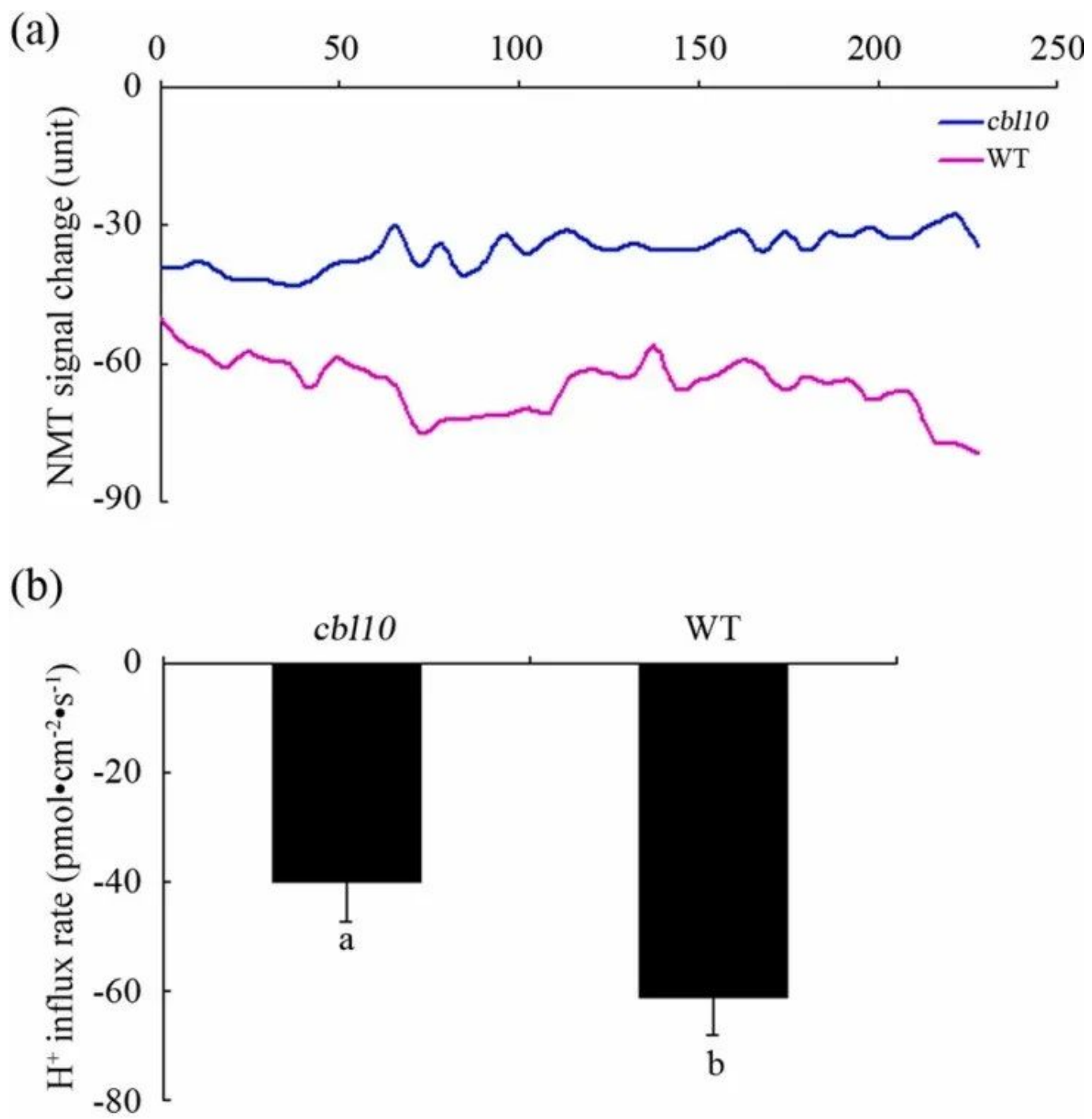


图1.碱胁迫下野生型和*cbl10*拟南芥幼苗叶片H⁺的净流速。正值代表离子外排，负值表示离子吸收。

其他实验结果

- 盐胁迫条件下CBL10正向调控拟南芥质膜H⁺-ATPase活性。为了证实盐胁迫下的质子泵活性，本研究从*cbl10*突变体和WT中纯化了质膜囊泡，并测定了盐胁迫下质膜H⁺-ATP酶的活性，*cbl10*突变植株的H⁺-ATPase活性显著低

于野生型植株，表明CBL10可能通过增加质膜H⁺

-ATPase的质子泵能力来间接调节质膜Na⁺/H⁺

逆向转运蛋白的活性，并直

接响应CIPK24/CIPK8介导质膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白SOS1的作用。

- cbl10

突变植株对外界高pH条件具有耐受性。萌发试验结果表明，WT在pH为5.8的MS培养基上与cbl10

突变生长相似，

但在pH为7.7或pH为8.1的MS培

养基上，WT幼苗生长较cbl10

萌发后生长较慢；在正常条件下，野生型和cbl10

突变植

株的生长参数

（根长和生物量）均无差异

，然而在碱性平板上生长16天后，cbl10突变体的生长优于WT；cbl10

突变植株表型的改变可能是由于CBL10缺失所致，与预期一致，在pH为7.7的培养基中，互补株系的表型几乎恢复到野生型水平；这些结果表明，CBL10负调控了拟南芥对外部高pH环境的响应。

- cbl10

突变植株在碱性

环境下质子泵能力增强。可视化

结果表明，与WT相比，cbl10突变体排出了更多H⁺

到细胞外空间，导致了生长介质酸化；CBL10

的表达可能损伤了质膜H⁺-ATPase介导的H⁺

外排，即CBL10可能在碱性环境下负调控质膜H⁺-ATPase活性。

- CBL10与质膜H⁺

-ATPase之间的相互作

用。酵母双杂交实验表明，共表达CBL10和cAHA4或cAHA11

的酵母细胞可以在选定的培养基中生长；利用BiFC技术在共转基因原生质体中检测CBL10-cAHA4和CBL10-cAHA11

复合物的荧光信号；这些结果表明，在植物细胞中CBL10可以直接与AHA4或AHA11相互作用。

- 在酵母中重组CBL10对AHA4或AHA11

的调控。与pMP1745-AHA4/AHA11和空载pMP1645在富葡萄糖培养基中转化的培养基相比，CBL10和AHA4/11共表达导致转基因酵母细胞的生长减弱。综上所述，CBL10通过与C端直接相互作用，负调控质膜H⁺-ATPase的功能。

结论

本研究结果表明，CBL10在盐碱胁迫胁迫下参与了两条途径。然而，CBL10功能在这两种调节模式之间的切换仍有待进一步研究。

测试液

0.1mM CaCl₂, 0.1mM KCl, 0.5 mM MES, pH 6.0

NMT试验标准化方案

[盐胁迫研究NMT标准化方案](#)

文章来源：

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847221003828?via%3Dihub>

(唯一的)问答 ID: #1298

作者: xuyuenmt

更新时间：2022-07-05 11:30