

温度胁迫研究文献专辑

非损伤微测技术

获取更多分类文献专辑

神经研究、毒理（斑马鱼）研究、重金属胁迫、盐胁迫、IAA 研究、极性生长、温度胁迫、
水旱胁迫、植物免疫、植物-微生物互动、植物营养

[>>点击获取](#)

中关村 NMT 产业联盟

nmtia.org.cn

长按识别二维码，关注我们





目 录

MP 万建民院士：无损“电生理”钙流为揭示 OsCNGC9 通道调控水稻低温响应机制提供直接证据	1 -
Cell 种康：无损“电生理”钙流为揭示水稻感知寒害的分子机制提供直接证据.....	5 -
Int J Mol Sci 东农：PsCor413pm2 在拟南芥中具有低温耐受性	8 -
JIPB 种康院士：OsCIPK7 改变激酶活性调控水稻耐寒机制	10 -
Plant Cell Environ：NMT 筛选耐寒品种的创新思路.....	12 -
BMC Plant Biol：油菜素内酯在次优温度下促黄瓜根系铵硝吸收的机制	14 -

MP 万建民院士：无损“电生理”钙流为揭示 OsCNGC9 通道调控水稻低温响应机制提供直接证据

1. 基本信息

期刊: Molecular Plant

主题: 无损“电生理”钙流为揭示 OsCNGC9 通道调控水稻低温响应机制提供直接证据

标题: Transcriptional Activation and Phosphorylation of OsCNGC9 Confer Enhanced Chilling Tolerance in Rice

影响因子: 12.084

作者: 中国农业科学院作物科学研究所万建民、任玉龙, 南京农业大学刘喜、王家昌

2. 中文摘要

低温是限制植物生长和产量的主要环境因素。尽管细胞质中钙的瞬时升高早已被认为是植物耐寒的一个关键信号, 但负责这一过程的钙通道在很大程度上仍不清楚。本研究报道了 OsCNGC9, 一个环状核苷酸门控通道, 通过介导水稻 (*Oryza sativa*) 细胞质的钙升高, 正向调控其耐寒性。研究表明, OsCNGC9 功能缺失突变体在低温诱导钙内流方面存在缺陷, 使其对长时间的低温处理更加敏感, 而 OsCNGC9 过表达增强了植物的耐寒性。另外, 拟南芥 OST1 同源物 OsSAPK8 在应对低温胁迫时, 磷酸化并激活 OsCNGC9, 引发 Ca^{2+} 内流。此外, OsCNGC9 的转录被水稻脱水应答元件结合转录因子 OsDREB1A 激活。综上, 本研究认为 OsCNGC9 通过调控低温诱导的钙内流和胞质钙升高来增强水稻的耐寒性。

3. 检测离子/分子指标

Ca^{2+}

4. 样品信息

水稻根, 距根尖 500 μm 根表上的点

5. 离子/分子流实验处理方法

4°C 低温实时处理

6. 离子/分子流实验结果

研究利用非损伤微测技术（Non-invasive Micro-test Technology, NMT）检测水稻根系 Ca^{2+} 流速，研究 *OsCNGC9* 是否能够在体内介导 Ca^{2+} 内流来响应低温胁迫。在低温胁迫下，WT 根系和 *cds1* 互补株系均有较强且快速的胞外 Ca^{2+} 内流。相比之下，*cds1* 在相同条件下未表现出明显的胞外 Ca^{2+} 内流（图 1A）。另外研究还观察到，WT 或 *pGOsCNGC9* 与 *cds1* 之间低温胁迫的平均最大 Ca^{2+} 内流量差异显著（图 1B）。

与 Kitaake 相比，*OsCNGC9-OE* 转基因株系在对冷激的反应中表现出更强的细胞外 Ca^{2+} 内流（图 2）。

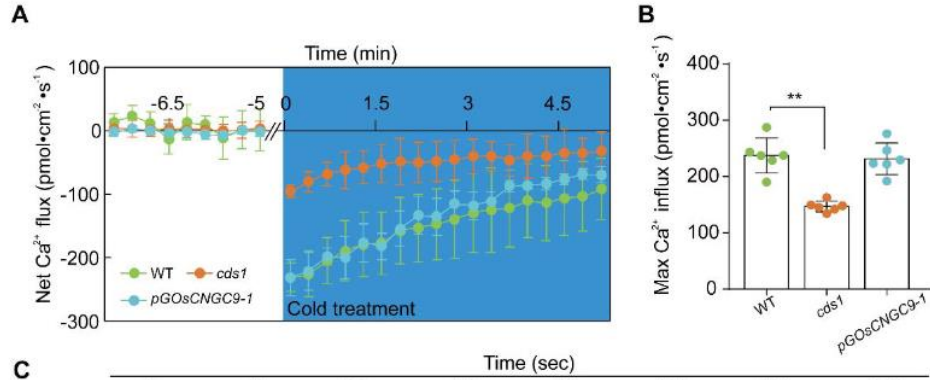


图 1. *OsCNGC9* 是低温诱导的 Ca^{2+} 内流所必需的。蓝色背景表示低温处理持续的时间。

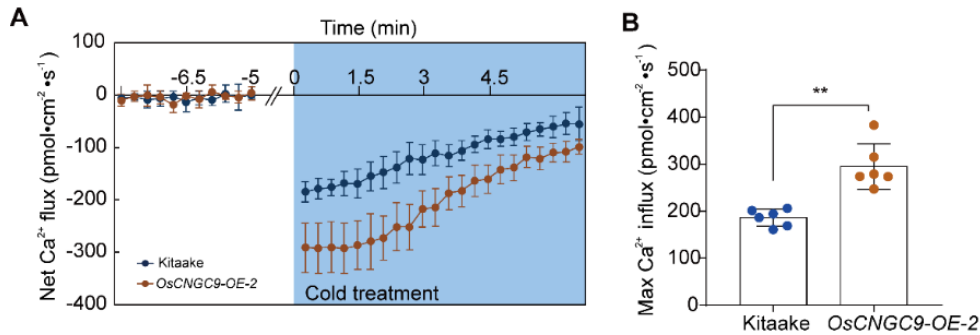


图 2. *OsCNGC9* 的过表达能提高水稻中低温诱导的 Ca^{2+} 内流

Ca^{2+} 流速测定结果显示，低温处理后，Nipponbare 而非 *OsSAPK8* 敲除突变体的根细胞表现出更明显的 Ca^{2+} 内流（图 3）。

OsSAPK8-GFP 过表达植物的根细胞与 Nipponbare 根细胞相比，在冷激胁迫下表现出更强的 Ca^{2+} 内流（图 4）。

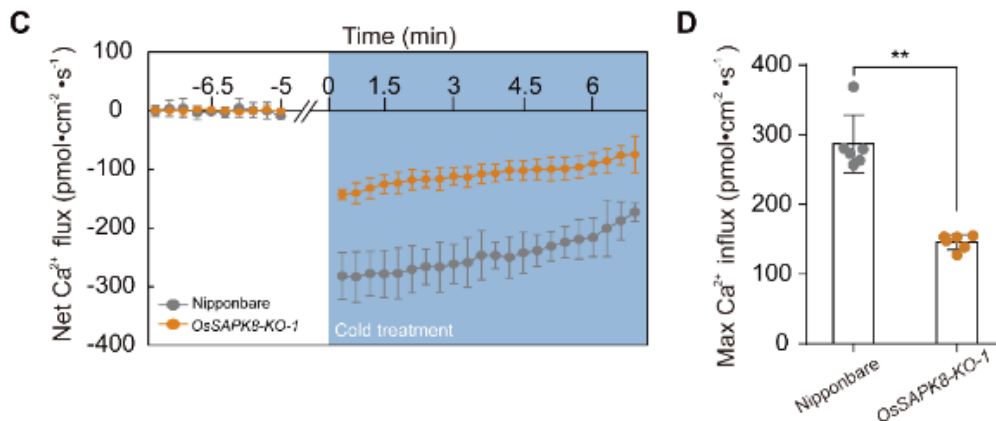
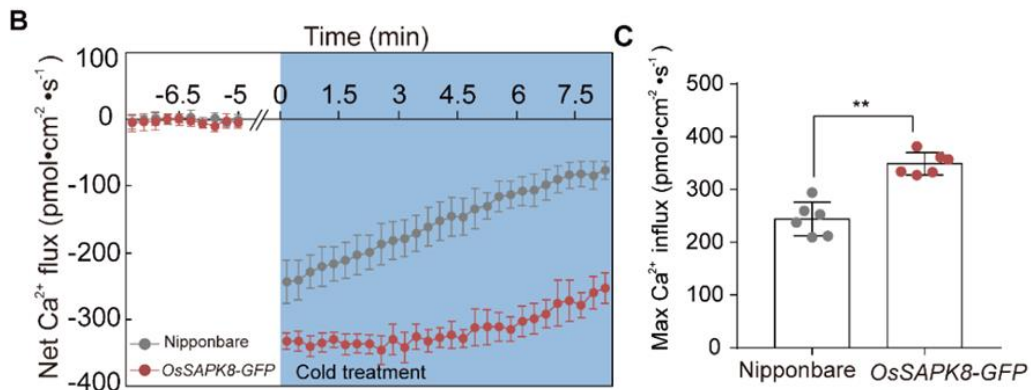
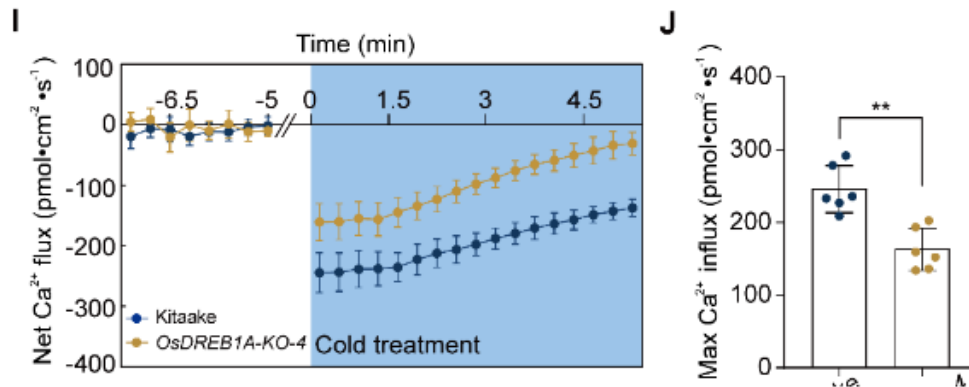


图 3. *OsSAPK8* 基因敲除突变体由低温诱导的 Ca^{2+} 内流的状态图 4. *OsSAPK8* 过表达对低温诱导的 Ca^{2+} 内流有正调控作用

与 Kitaake 相比, *OsDREB1A-KO* 植物在应对冷胁迫时胞外 Ca^{2+} 流速较弱 (图 5)。

图 5. 比较 Kitaake 和 *OsDREB1A-KO* 在低温胁迫下根中 Ca^{2+} 的内流速率

7.其他实验结果

- *OsCNGC9* 是一个积极的低温耐受性调节器。
- *OsCNGC9* 与 *OsSAPK8* 在体内发生物理相互作用。
- *OsCNGC9* 是 *OsSAPK8* 真正的底物。
- *OsSAPK8* 对 *OsCNGC9* 的磷酸化增强了 *OsCNGC9* 通道对低温胁迫的反应活性。
- *OsCNGC9* 的 Ser-645 是 *OsSAPK8* 对水稻耐寒性反应的一个主要磷酸化位点。
- *OsSAPK8* 对 *OsCNGC9* 的 Ser-645 的磷酸化对增强水稻的耐寒性起着积极作用。
- Ser-645 的磷酸化状态正向调节 *OsCNGC9* 的钙通道活性。
- *OsSAPK8* 参与了水稻耐寒性和低温诱导的 Ca^{2+} 内流的调控。
- *OsSAPK8* 介导的 *OsCNGC9* 的磷酸化在水稻耐寒性中起重要作用。
- 低温刺激通过 *OsDREB1A* 依赖性途径促进 *OsCNGC9* 的表达。

8.结论

低温胁迫后,环核苷酸门控通道 OsCNGC9 被 SnRK2 蛋白激酶 OsSAPK8 磷酸化并激活,引发细胞钙水平升高,进而激活水稻低温胁迫相关基因的表达,增强水稻耐寒能力。

9.测试液

0.1 mM KCl, 0.1 mM CaCl₂, pH 6.0

Cell 种康：无损“电生理”钙流为揭示水稻感知寒害的分子机制提供直接证据

1. 基本信息

期刊: Cell

主题: 无损“电生理”钙流为揭示水稻感知寒害的分子机制提供直接证据

标题: *COLD1* Confers Chilling Tolerance in Rice

影响因子: 38.637

作者: 中科院植物所种康、马云

2. 中文摘要

水稻对低温敏感，所以只能在某些气候带种植。人类对粳稻（*japonica* rice）的选择已将其生长区域扩展到温度较低的地区，而这种适应性的分子机制仍然未知。本研究鉴定了让粳稻具备耐寒性的定量性状位点 *COLD1*。过表达 *COLD1^{jap}* 显著增强了植物的耐寒性，而 *COLD1^{jap}* 缺失或下调的水稻株系对低温敏感。*COLD1* 编码一个定位在质膜和内质网（ER）上的G-蛋白信号调节器。它与G蛋白 α 亚基相互作用，激活感知低温的 Ca^{2+} 通道，加速G蛋白GTPase的活性。研究进一步确定 *COLD1* 中的一个SNP2来源于中国野生稻（*Oryza rufipogon*），是 *COLD1^{jap/ind}* 具备耐寒能力的原因。

3. 离子/分子指标

Ca^{2+}

4. 样品检测

3日龄水稻根

5. 离子/分子流实验处理方法

0°C实时处理

6. 离子/分子流结果

采用NMT技术对水稻根系进行了冷激/冷休克（cold shock）下 Ca^{2+} 流速的研究。在低温刺激下，野生型Dongjin水稻根中有大量细胞外 Ca^{2+} 内流，并出现负峰（图1A）。相比之下，*cold1-1*在相同条件下，NMT信号无明显变化。与野生型ZH10水稻相比，*COLD1^{jap}*转基因株系再低温处理下 Ca^{2+} 内流更显著，但*COLD1^{ind}*转基因株系则不太明显（图1B）。与*indica* 93-11相比，Nipponbare的反应更强烈（图1C）。此外，*RGA1*突变体*d1*比野生型Shiokari的 Ca^{2+} 内

流速率更低。*cold1-1*或转基因株系与野生型之间在冷激后的平均最大内流量有显著差异(图1D)。

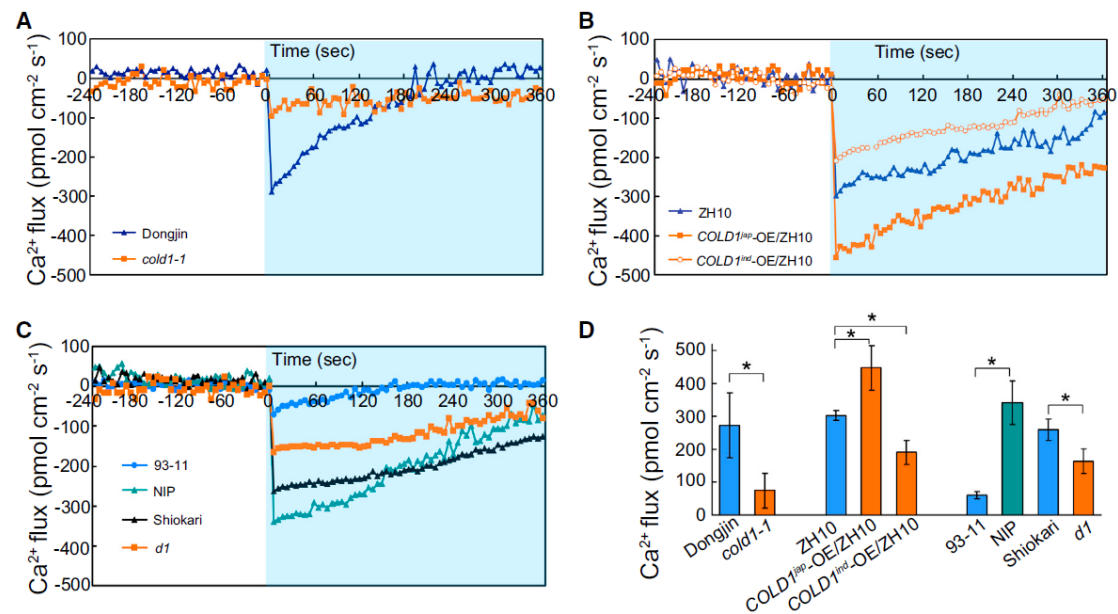


图1. 在不同遗传背景根系中, 低温胁迫会使细胞外 Ca^{2+} 内流

6.其它实验结果

- 对低温耐受型Nipponbare (粳稻) 与低温敏感型93-11 (籼稻) 品种杂交产生的重组自交系 (RILs) 进行QTL分析。利用151个RILs, 检测到5个QTL, 分别位于第1、2、4、8染色体上。*COLD1*位点与其他耐冷QTL的互作性远低于其他位点。
- 为了评价Nipponbare (NIP) 位点*COLD1^{NIP}*是否有助于耐寒性, 研究在93-11遗传背景下产生了3个含有*COLD1^{NIP}*位点的近等基因系 (NILs)。 *COLD1^{NIP/NIP}* 纯合株系NIL4-1和NIL4-6的耐寒性显著高于93-11。
- 所有粳稻品种和2个野生稻品种的耐寒性均强于所有籼稻品种。所有具有耐寒性的品种 (20个粳稻栽培品种和2个野生稻品种) 都与缺乏低温耐受性的籼稻栽培品种存在第四外显子 (SNP2) 的SNP差异。
- SNP2引起编码氨基酸的改变, 是粳稻具有耐寒性的原因。
- *COLD1*功能性SNP2上的位点A与栽培稻的耐寒性发育有关, 可能是在粳稻驯化过程中筛选到的保存在中国稻群中的古老等位基因。
- *COLD1*主要定位于内质网和质膜上。
- 在植物细胞中, *COLD1*可以与rice G-protein α subunit 1 (RGA1) 发生物理作用。
- 生化活性测定结果显示, RGA1代替*COLD1*单独具有GTPase活性, 并且依赖于反应中 Mg^{2+} 浓度。
- 与野生型Shiohari相比, *RGA1*突变体*d1*对低温存活的敏感性显著提高。
- 低温处理后, 与单独表达相比, *COLD1^{hap}*和*RGA1*共表达的细胞内向电流明显激活。
- 在 Ca^{2+} 存在下, 低温刺激的内向电流信号依赖于*COLD1*和*RGA1*之间的相互作用。
- 无论是细胞外 Ca^{2+} 内流还是细胞质净 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ 信号的研究结果都与*COLD1*对水稻冷激依赖的胞内 Ca^{2+} 变化至关重要的观点一致。

7.结论

COLD1 通过调节 G 蛋白信号来赋予水稻耐冷性，而 *COLD1* 中的 SNP 则是粳稻对冷环境适应的基础。

Int J Mol Sci 东农: PsCor413pm2 在拟南芥中具有低温耐受性

1. 基本信息

期刊: International Journal of Molecular Sciences

主题: PsCor413pm2 在拟南芥中具有低温耐受性

标题: PsCor413pm2, a Plasma Membrane-Localized, Cold-Regulated Protein from *Phlox subulata*, Confers Low Temperature Tolerance in *Arabidopsis*

影响因子: 3.687

作者: 东北农业大学周爱民、王金刚

2. 中文摘要 (谷歌机翻)

低温胁迫对植物生长和发育产生不利影响。来自耐寒植物的冷响应基因的分离和表征有助于理解低温耐受性的机制。在这项研究中,从福禄考(*Phlox subulata*)分离的冷调节(COR)基因 *PsCor413pm2* 被转移到拟南芥植物中以研究其功能。实时定量 PCR 分析显示 *PsCor413pm2* 表达是由冷诱导的。亚细胞定位揭示了 *PsCor413pm2*-绿色荧光蛋白(GFP)融合蛋白定位于烟草和拟南芥植物中的质膜。此外,拟南芥植物中 *PsCor413pm2* 的过表达增强了对低温胁迫的耐受性。如使用非损伤微测技术(NMT)所示,转基因拟南芥根在冷休克后比野生型植物具有更多的 Ca^{2+} 流入。此外,转基因拟南芥植物中5个COR和2个C重复(CRT)结合因子(CBF)基因的转录丰度高于野生型植物在冷胁迫下的转录丰度。总之,我们的结果表明 *PsCor413pm2* 的过表达通过影响 Ca^{2+} 流速和应激相关的COR和CBF基因的表达来增强拟南芥植物的低温耐受性。

3. 检测离子/分子指标

Ca^{2+}

4. 样品信息

拟南芥根部伸长区

5. 离子/分子流实验处理方法

7 日龄拟南芥, 4°C低温实时处理

6. 离子/分子流实验结果

使用 NMT 监测了转基因拟南芥和 WT 幼苗根部对低温实时胁迫下净 Ca^{2+} 流速的影响

(图 1A)。在正常温度 (22 °C) 下, 细胞外 Ca^{2+} 大量内流, 转基因拟南芥和 WT 根中出现了一个负峰。在低温 (4 °C) 胁迫时, 野生根显示出轻微的 Ca^{2+} 外排, 而转基因拟南芥根显示出更多的 Ca^{2+} 内流 (图 1B)。未经处理的转基因拟南芥根中的平均 Ca^{2+} 内流速率略高于野生型植物。但是, 转基因拟南芥与野生型植物之间的平均 Ca^{2+} 流速存在显著差异 (图 1C)。这些结果表明, *PsCor413pm2* 的过表达影响冷激下拟南芥根中的 Ca^{2+} 流速。

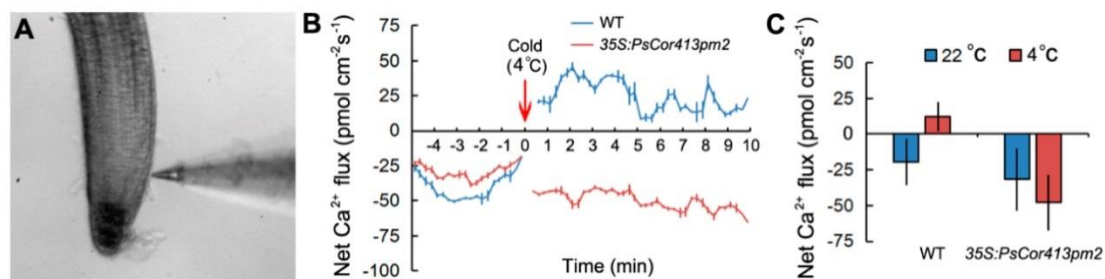


图 1.低温实时胁迫对转基因拟南芥和野生型 (WT) 幼苗根伸长区净 Ca^{2+} 流速的影响

7.测试液

0.1 mM KCl, 0.1 mM CaCl_2 , pH 6.0

JIPB 种康院士: OsCIPK7 改变激酶活性调控水稻耐寒机制

1. 基本信息

期刊: Journal of Integrative Plant Biology

主题: OsCIPK7 改变激酶活性调控水稻耐寒机制

标题: OsCIPK7 point-mutation leads to conformation and kinase-activity change for sensing cold response

影响因子: 3.129

作者: 中科院植物所种康、张大健

2. 中文摘要

钙调磷酸酶B样相互作用蛋白激酶（CIPKs）在环境胁迫下可以发挥重要作用。然而，CIPKs如何在分子结构构象水平上感知胁迫却知之甚少。通过TILLING程序获得的一个在激酶结构域有点突变的OsCIPK7突变体，其表现出较强的耐寒性，可用于分子育种。研究发现OsCIPK7的点突变导致激酶结构域激活环（activation loop）的构象改变，随后蛋白激酶活性增加，从而增强了植物的耐寒能力。通过NMT技术进一步的揭示了水稻耐寒表型与Ca²⁺流速变化的关系。

3. 检测离子/分子指标

Ca²⁺

4. 样品信息

水稻根

5. 离子/分子流实验处理方法

4°C低温实时处理

6. 离子/分子流实验结果

通过NMT技术检测低温胁迫下的Ca²⁺流速。野生型水稻ZH10根系细胞外的Ca²⁺在低温刺激下有一个震荡的负峰，而OsCIPK7过表达株系的峰值大于ZH10（图1G, I）。*oscipk7-2*突变体表现出比野生型和*oscipk7-1*更强的Ca²⁺内流峰，这与耐寒表型一致（图1H, I）。这些结果表明，*oscipk7-2*突变体的耐寒表型的增强与Ca²⁺内流能力增强有关。

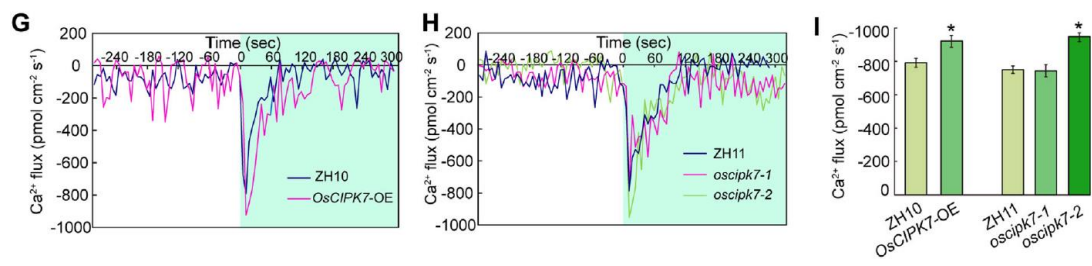


图1. 在不同遗传背景下水稻根部 Ca^{2+} 对低温胁迫响应的动态变化

Plant Cell Environ: NMT 筛选耐寒品种的创新思路

1. 基本信息

期刊: Plant Cell and Environment

主题: NMT 筛选耐寒品种的创新思路

标题: H^+ flux kinetics around plant roots after short-term exposure to low temperature—identifying critical temperatures for plant chilling tolerance

影响因子: 6.362

作者: 塔斯马尼亚大学 S. N. SHABALA & I. A. NEWMAN

2. 中文摘要（谷歌机翻）

在耐寒豌豆 (*Pisum sativum*) 和豆类 (*Vicia faba*)、对寒冷敏感的黄瓜 (*Cucumis sativus*) 和南瓜 (*Cucurbita pepo*) 以及中间玉米 (*Zea mays*) 物种的根部周围的溶液中, 利用非损伤微测技术 (NMT) 测量了 H^+ 流速动力学。当根在 $4^{\circ}C$ 下 90 分钟后升温至室温时, 在该温度下 H^+ 流速接近零, 流速上升 (流入), 然后下降。这些变化发生在两个表观临界温度下, 对于对寒冷敏感的物种来说, 这些温度更高。第一个较低的表观临界温度可能代表着被动的 H^+ 向内传输的开始。较高的临界温度可能代表主动 H^+ 挤压的开始。根据这些表观临界温度, 研究计算出了真正的临界温度和寒气信号转导过程的时间延迟。被动和主动的 H^+ 传输器似乎具有相同的实际临界温度的寒冷灵敏度, 约 $9^{\circ}C$, 但有, 分别为 4 分钟和 11 分钟的时间延迟。测量 oftliese 表观临界温度可以为植物育种计划提供快速可靠的低温敏感性筛选。未来的离子流速研究可能会显示出寒颤胁迫感知的细胞位置和信号转导途径。

3. 检测离子/分子指标

H^+

4. 文章简介

温度胁迫是影响作物产量和地理分布的重要环境因子之一, 低温影响植物生长发育的各个阶段。因此认识植物对低温的响应过程, 找到耐冷的临界温度, 对于应对环境变化对农业生产的影响至关重要。

澳大利亚的 Sergey Shabala 教授使用非损伤微测技术 (NMT) 测定了抗冷的豌豆和蚕豆、冷敏感的黄瓜和南瓜、中间型冷忍耐的玉米根部的 H^+ 流速。把室温下的植物根放入 $4^{\circ}C$ 下 90 min, 然后再拿出来放在室温下连续测定, 开始 H^+ 流速为 0, 然后内流增加, 到达一个峰值后下降, 变化过程中出现了 3 个明显的临界温度 (ACT), 冷敏感品种的临界温度更高。更低的临界温度可能代表被动的 H^+ 内流的开始, 更高的临界温度可能代表主动的 H^+ 外流的开始。从 ACT 可以计算出真正的临界温度 (RCT), 这个温度与冷信号转导过程的时间延迟

有关。被动和主动的 H^+ 转运体有同样的 RCT, 大约是 9°C , 但是, 被动转运时间延迟了 4 min, 而主动转运时间延迟了 11 min。这种临界温度的差异可能与细胞膜的相变引起的离子转运有关。

通过非损伤微测技术 (NMT) 测定临界温度为植物育种提供了快速和可靠的筛选抗冷品种的手段。因此, 这项技术有望为育种提供更多的研究策略。

BMC Plant Biol: 油菜素内酯在次优温度下促黄瓜根系铵硝吸收的机制

1. 基本信息

期刊: BMC Plant Biology

主题: 油菜素内酯在次优温度下促黄瓜根系铵硝吸收的机制

标题: 24-Epibrassinolide promotes NO_3^- and NH_4^+ ion flux rate and NRT1 gene expression in cucumber under suboptimal root zone temperature

影响因子: 3.497

作者: 中国农业科学院蔬菜与花卉研究所李衍素、于贤昌、Ali Anwar

2. 中文摘要

在温室生产下, 次优根区温度(RZT)会导致园艺作物在冬季栽培期间的生长收到抑制。然而, 关于次优RZT如何影响黄瓜幼苗氮(N)代谢的研究资料有限。本研究的目的是探讨24-Epibrassinolide (EBR)对黄瓜幼苗在次优RZT下 NO_3^- 和 NH_4^+ 流速、N代谢以及NRT1家族基因转录水平的影响。次优RZT(LT)对黄瓜生长发育有负面影响, 并成比例的降低了EBR含量、出苗率、各种酶的活性、 NO_3^- 内流速率、 NH_4^+ 外排速率, 以及硝酸盐转运体(NRT1)编码基因的转录水平, 然而, 外源EBR的添加改善了上述的负面影响。EBR处理还上调了幼苗CsNRT1.1, CsNRT1.2A等硝酸盐转运蛋白的转录水平。LT处理上调了CsNRT1.5A的表达水平, 外源BZR处理下调了NRT1基因的表达水平。研究结果表明, 施用外源EBR可通过改变N代谢、 NH_4^+ 和 NO_3^- 流速以及NRT1基因表达来减轻次优RZT的有害影响, 从而促进黄瓜幼苗生长。本研究首次证明了EBR在黄瓜对次优RZT响应中的作用, 可用于改善蔬菜生产中的问题。

3. 检测离子/分子指标

NO_3^- , NH_4^+

4. 样品信息

黄瓜根(根毛区)

5. 离子/分子流实验处理方法

次优 RZT 处理 7 d

6. 离子/分子流实验结果

黄瓜幼苗根系在次优RZT处理7天后的 NH_4^+ 和 NO_3^- 流速如图所示(图1和2)。结果表明,次优RZT对黄瓜根系 NO_3^- 内流速率有负面影响。平均内流速率结果表明,与LT和BZR(Brassinazole,油菜素甾醇(BR)生物合成抑制剂)处理相比,施用EBR后 NO_3^- 内流速率显著增加了72.11%和86.02%。与NT(normal RZT)处理相比,LT组的 NO_3^- 流速显著降低(54.85%)。此外,EBR处理使 NO_3^- 内流速率比NT处理增加了15.75%,但这种差异并不显著。 NO_3^- 的内流速率在LT和BZR之间没有显著差异(图1)。

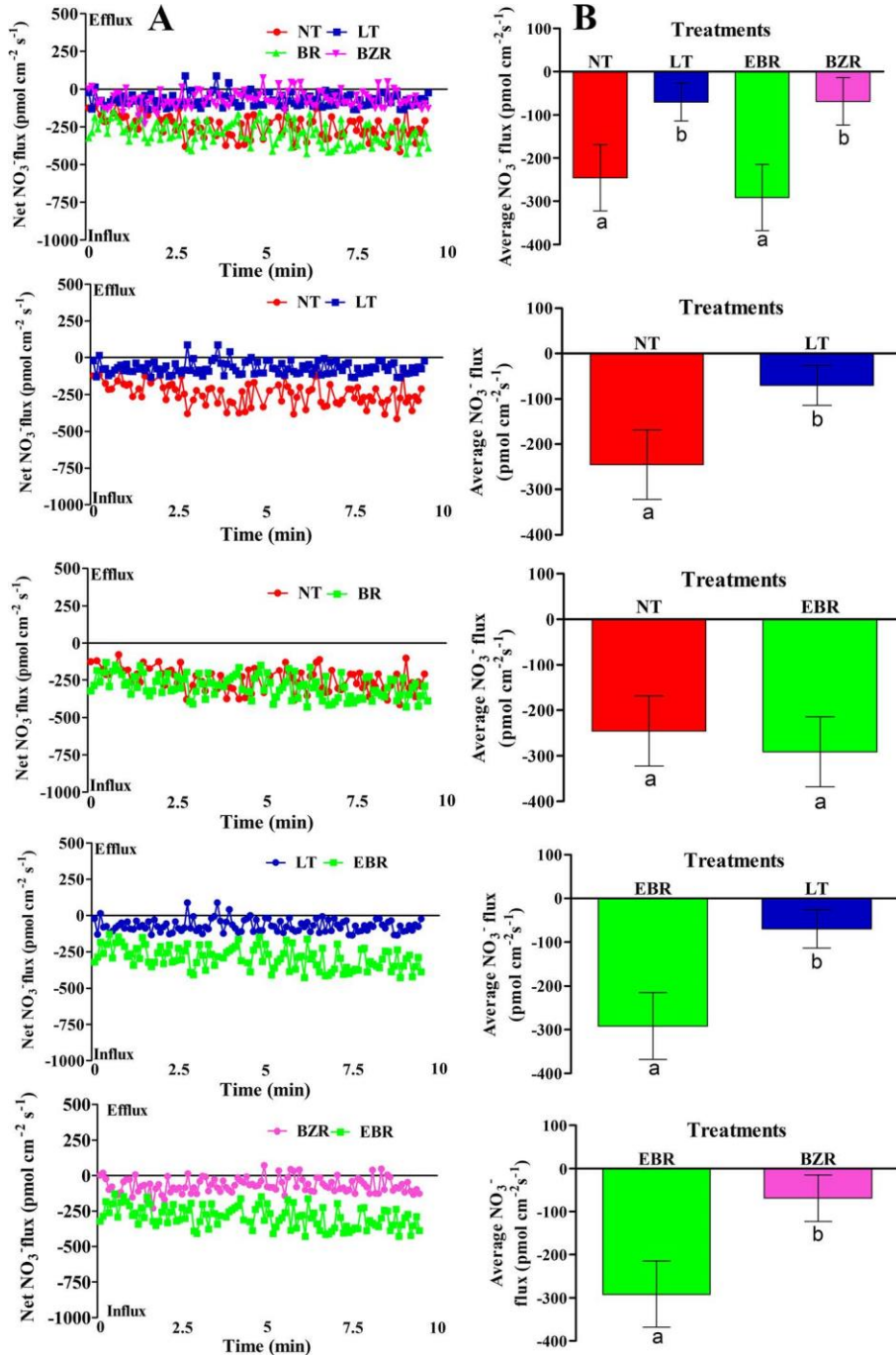


图1. 次优RZT和EBR对 NO_3^- 的影响

同样,在EBR处理中, NH_4^+ 的外排速率明显较高,而在BZR和LT处理组中, NH_4^+ 的外排速率则较低。与NT、LT和BZR处理相比,施加EBR使平均 NH_4^+ 外排速率分别增加了15.75%、71.01%和76.44%。与LT处理组相比,NT处理组的平均 NH_4^+ 流速增加了71.53%。NT和EBR

处理组在0~2.5 min内无显著差异，但随着时间的推移却变得显著。LT和BZR处理之间的差异不显著（图2）。这些结果表明，次优RZT对黄瓜根系产生了负面影响，导致 NO_3^- 和 NH_4^+ 的流速降低，从而降低了黄瓜幼苗的生长速率。此外，外源EBR的施用是通过增加 NH_4^+ 和 NO_3^- 的流速来减少次优RZT的有害影响。

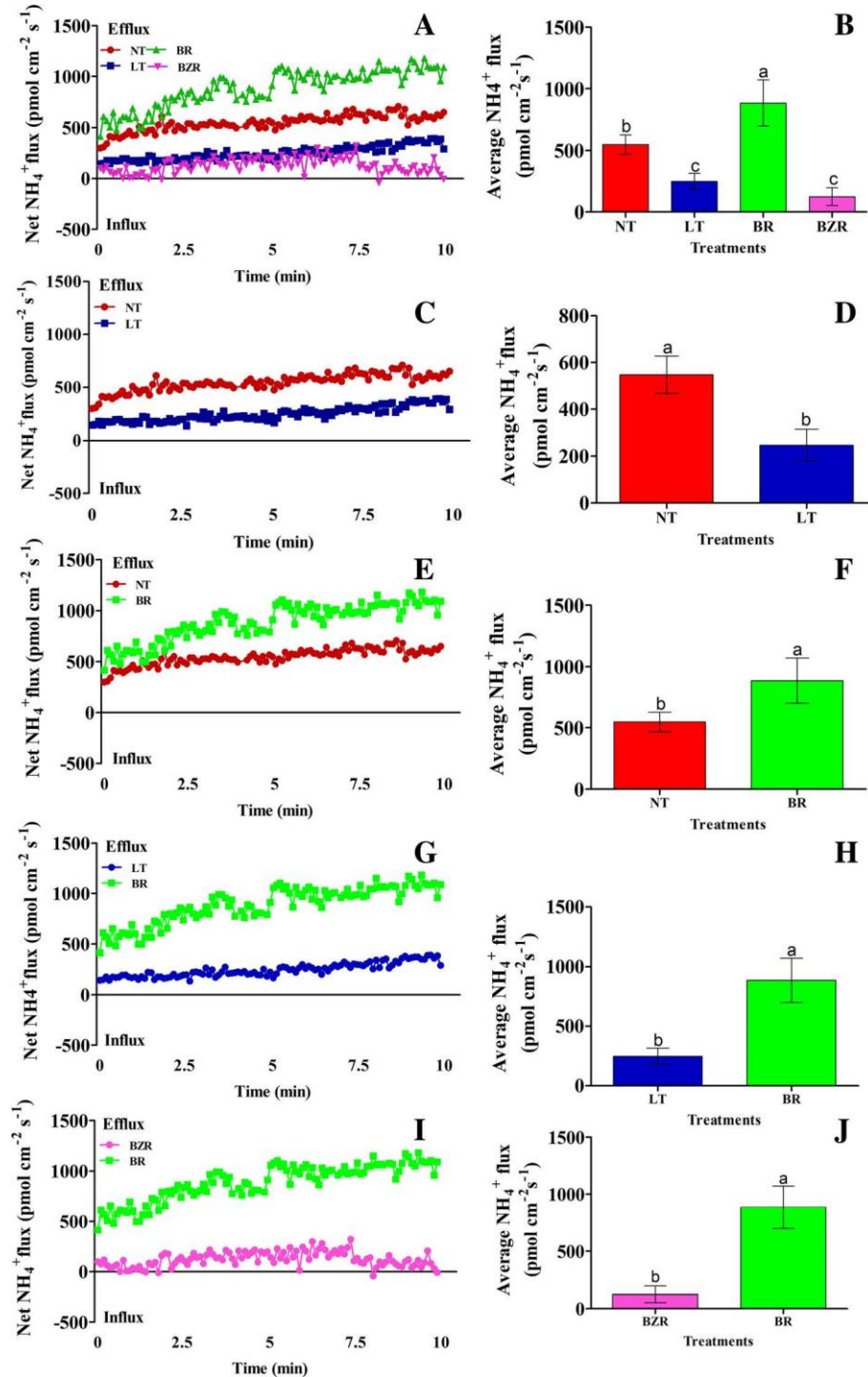


图2. 次优RZT和EBR对 NH_4^+ 的影响

7.测试液

2.625 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.1 mM MgSO_4 , 0.25 mM NH_4NO_3 , 0.3 mM MES, pH 6.0

