

抗病基因功能分析 | 抗病种质资源研究

一、摘要

- 1、用于定量检测模式免疫 (PTI) 和效应免疫 (ETI) 过程中的跨膜 Ca^{2+} 吸收, 验证 CNGC、OSCA、NLR 等功能
- 2、用于定量研究超敏反应中 Ca^{2+} -ATPase 的功能 (排 Ca^{2+} 速率) 以及 K^+ 信号
- 3、用于定量研究气孔免疫过程中, 前期 Ca^{2+} 、pH 动态信号, 以及直接调节保卫细胞体积的 K^+ (GORK: 外向 K^+ 通道)、 $\text{Cl}^-/\text{NO}_3^-$ (SLAC: S 型阴离子通道) 的实时跨膜转运方向与速率, 验证 GORK、SLAC 等功能
- 4、用于定量研究植物免疫过程中活性氧 H_2O_2 跨膜转运的方向及速率, 验证 PIP (水通道蛋白基因) 等功能

应用报告视频

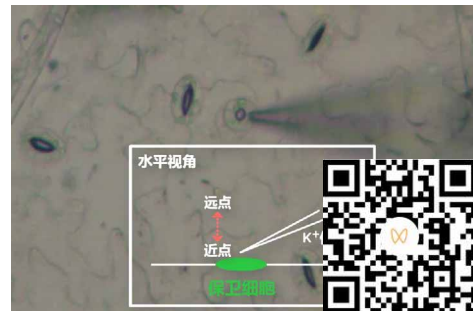


扫码查看植物免疫文献专辑

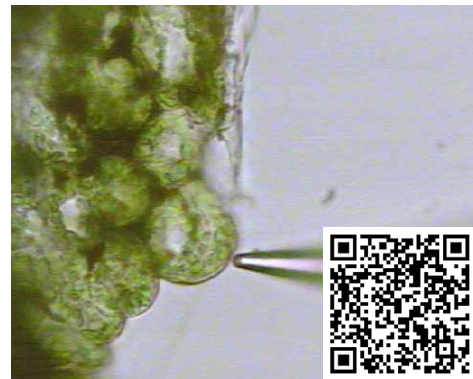


样品检测视频

保卫细胞



叶肉

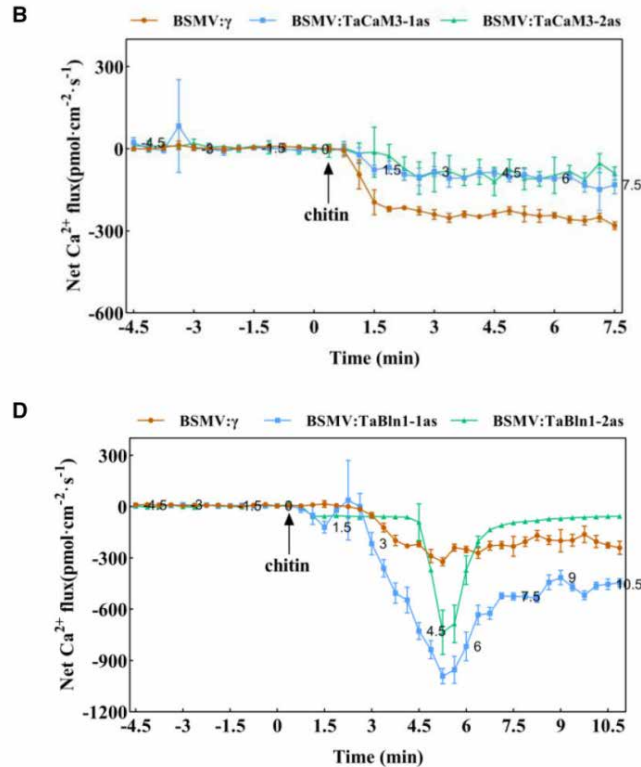


二、应用案例

1、*Plant Physiol* 西农康振生院士: NMT 发现感病基因 Bln1 与 CaM3 互作致 Ca^{2+} 吸收降低, 为 Bln1 抗病功能分析提供关键数据

通讯作者: 西北农林科技大学 张新梅

所用 NMT 设备: NMT 植物免疫创新平台



为了研究 TaCaM3 是否可能影响 Ca^{2+} 吸收, 研究用 NMT 检测了几丁质处理后叶肉细胞 Ca^{2+} 流速动态变化。结果表明, 所有叶片对几丁质处理都有明显的响应。在几丁质刺激下, 接种 BSMV:γ 的对照植株叶肉细胞表现出较强的 Ca^{2+} 吸收; 然而, TaCaM3 沉默植株的变化不大。由于 TaBln1 可以与 TaCaM3 相互作用, 研究推测 TaBln1 也可能通过影响 TaCaM3 来影响 Ca^{2+} 吸收。为了验证这一假设, 研究还检测了 TaBln1 沉默植株中 Ca^{2+} 吸收。结果表明, 与对照相比, TaBln1 沉默植株中 Ca^{2+} 吸收速率更快。这些结果表明, TaCaM3 可以影响 Ca^{2+} 吸收, 而这种能力因与 TaBln1 的相互作用而受损。

NMT 发现感病基因 Bln1 与 CaM3 互作致 Ca^{2+} ↓ 为 Bln1 负调控小麦抗条锈病提供核心证据。



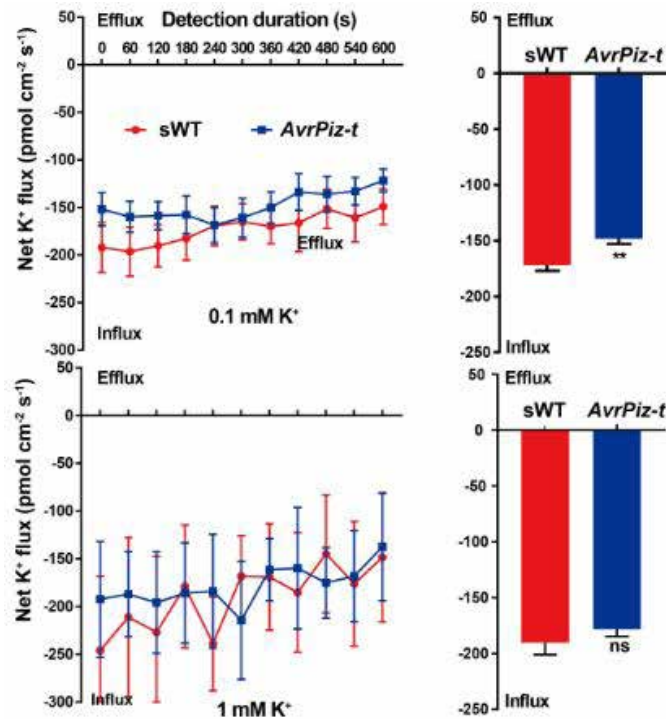
扫码查看本文详细报道

doi:10.5281/zenodo.8437298

2、*Plos Pathog* 中农王毅 / 植保所王国梁 宁约瑟：NMT 发现 AvrPiz-t 部分抑制 K⁺ 的吸收，为 AvrPiz-t 抗病功能分析提供关键数据

通讯作者：中国农科院植保所 王国梁；中国农业大学 王毅

所用 NMT 设备：NMT 逆境研究工作站



使用非损伤微测技术 (NMT) 在水稻主根分生区测量净 K⁺ 流速。与 sWT 相比，当供给 0.1mM K⁺ 时 (上部图片)，检测的 10 分钟内，AvrPiz-t 转基因植株的净 K⁺ 内流明显较低。但当外源 K⁺ 浓度增加到 1.0 mM 时，未检测到明显差异，这与 K⁺ 含量分析一致。综合来看，这些数据表明 AvrPiz-t 能够部分抑制水稻对 K⁺ 的吸收。

NMT 发现稻瘟菌抑制根吸钾为其效应蛋白竞争结合 CIPK23 干扰 AKT1 促侵染提供证据。

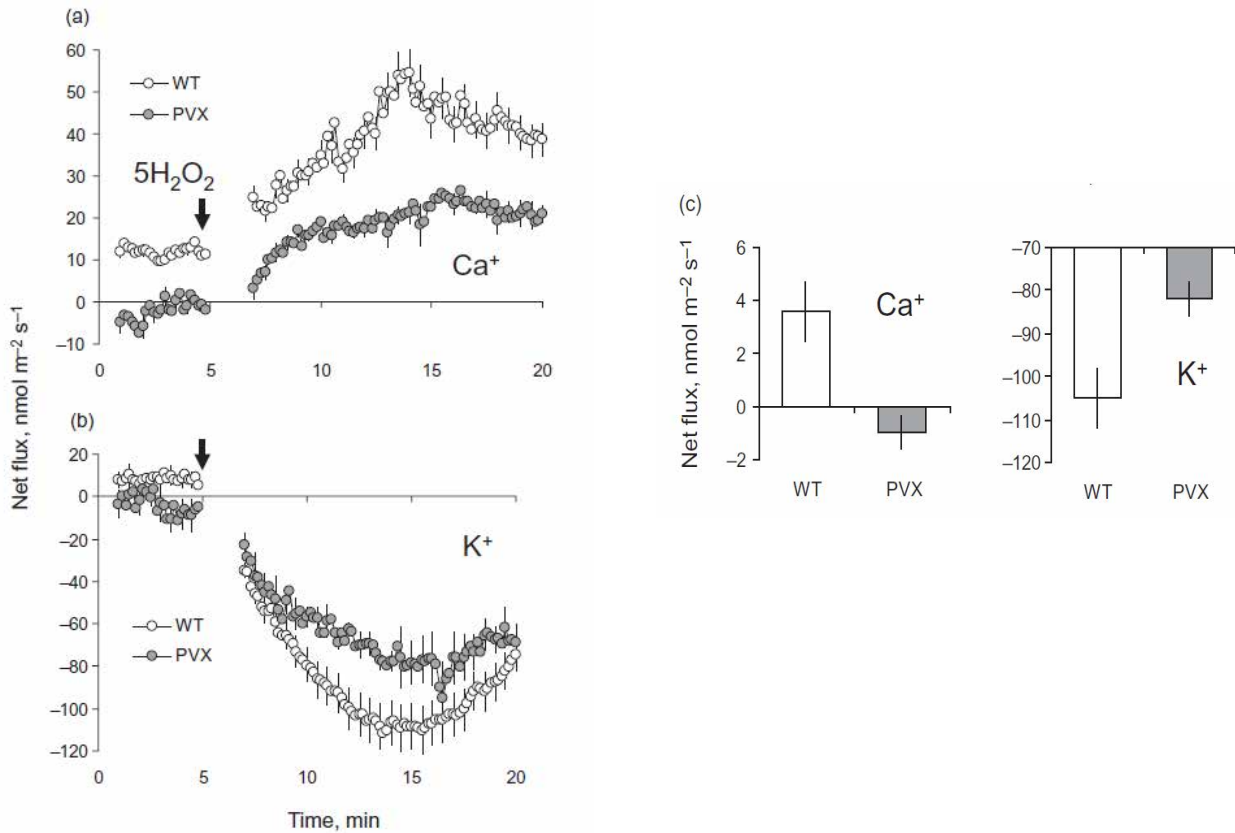


扫码查看本文详细报道

3、*Plant Cell Environ* 联盟澳洲专家 Sergey Shabala: NMT 发现 Ca^{2+} 转运调节植物交叉忍耐的作用机制, 为抗病功能分析提供关键数据

通讯作者: 塔斯马尼亚大学 **Sergey Shabala**

所用 NMT 设备: 非损伤微测技术 **MIFE** 平台



烟草感染了马铃薯病毒 X(Potato virus X, PVX), 暴露在氧化胁迫 (UV-C 或者 H_2O_2) 中, 用非损伤微测技术测定了 Ca^{2+} 和 K^{+} 流速, 结合药理学和细胞学方法研究了植物整体的适应性反应, 发现植物受病毒感染后能够更好地应对 UV 和 H_2O_2 , 阻止叶绿体结构和功能的损伤。 Ca^{2+} 流是植物对病原入侵的早期反应, Ca^{2+} 的传递和 ROS 可能是控制细胞水平交叉忍耐的关键。



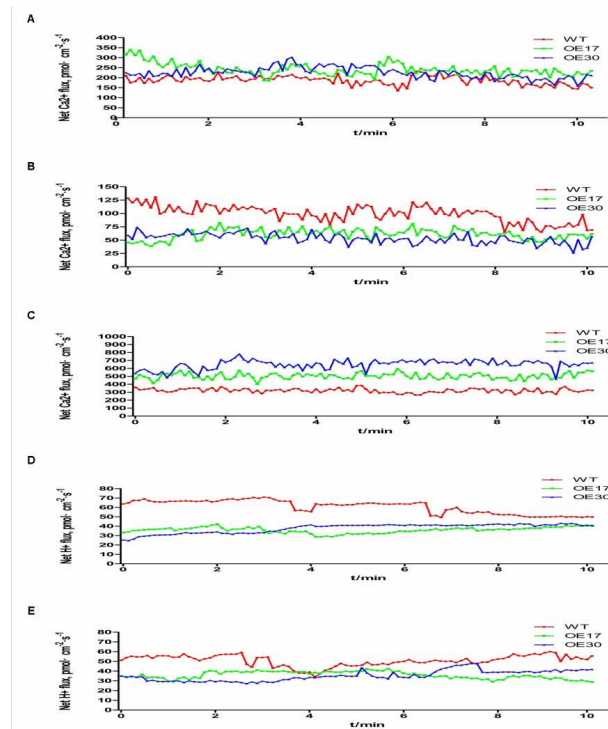
扫码查看本文详细报道

doi:10.5281/zenodo.8437302

4、东农王傲雪、陈秀玲：NMT 发现病原菌侵染时 *atpA* 促叶肉 H^+ 和 Ca^{2+} 外排，为抗病功能分析提供关键数据

通讯作者：东北农业大学 王傲雪、陈秀玲

所用 NMT 设备：NMT 逆境研究工作站



使用非损伤微测技术 (NMT) 研究烟草叶片 (距植株顶部第 3 个叶片) 叶肉细胞 Ca^{2+} 和 H^+ 流速的动态变化。 Ca^{2+} 在正常条件下表现为轻微外排, WT 与转基因烟草植株之间无明显区别。与 WT 相比, 0.5 hpi 时转基因烟草的 Ca^{2+} 外排速率下降较快, 而 3 hpi 时转基因烟草的 Ca^{2+} 外排速率明显大于 WT (图 A, B, C)。在正常生长条件下, WT 中 H^+ 外排略高于转基因烟草。灰霉菌侵染后, 0.5 hpi 时转基因植株体内 H^+ 外排速率略有增加, 但烟草植株间差异不显著。可见, 转基因株系的 H^+ 外排在整个灰霉菌侵染期间保持稳定, 而 WT 在 3 hpi 时有明显的下降趋势 (图 D, E, F)。

NMT 发现病原菌侵染时 *atpA* 促叶肉排 H^+ 排 Ca^{2+} 利于植物维持光合作用和信号转导提升抗性。

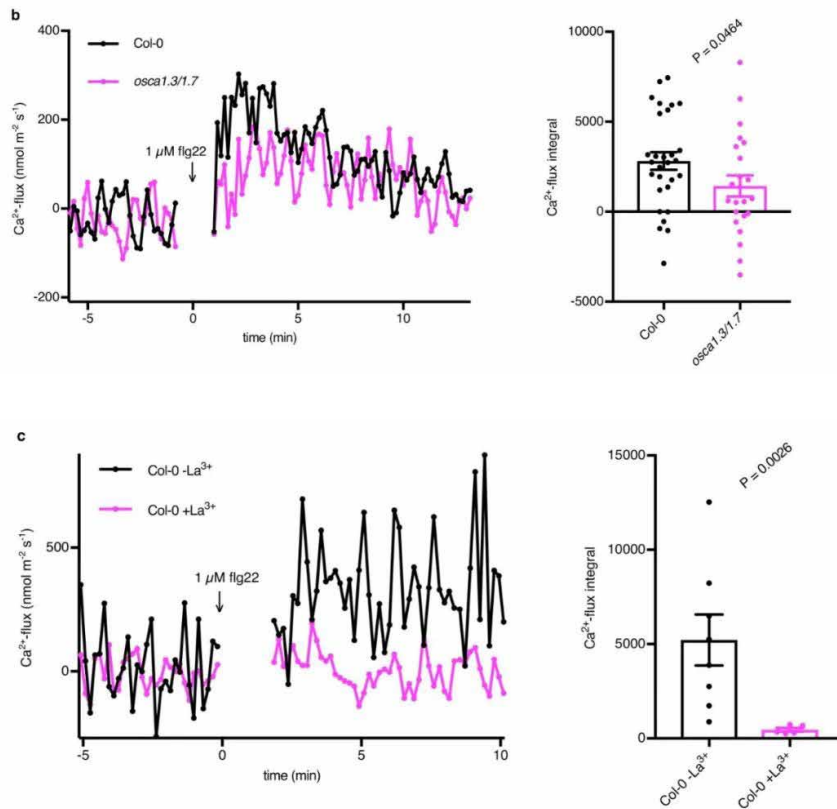


扫码查看本文详细报道

5、*Nature* 东英吉利大学 Zipfel: NMT 发现 OSCA1.3 调节植物免疫过程中气孔的 Ca^{2+} 转运通道, 为 OSCA1.3 抗病功能分析提供关键数据

通讯作者: 东英吉利大学 **Cyril Zipfel**

所用 NMT 设备: NMT Physiolyzer[®] (NMT 活体生理检测仪)



使用非损伤微测技术检测 *Col-0* 和 *oscar1.3/1.7* 保卫细胞的净 Ca^{2+} 流速。结果发现, 与 *Col-0* 相比, 在加入 flg22 后 7 分钟内的 Ca^{2+} 吸收速率在 *oscar1.3/1.7* 中降低了 (b)。检测在有或没有进行氯化镧预处理的情况下的 *Col-0* 保卫细胞的 Ca^{2+} 吸收速率, 发现氯化镧处理后, 在添加了 flg22 后 8 分钟内的 Ca^{2+} 吸收明显被阻断 (c)。

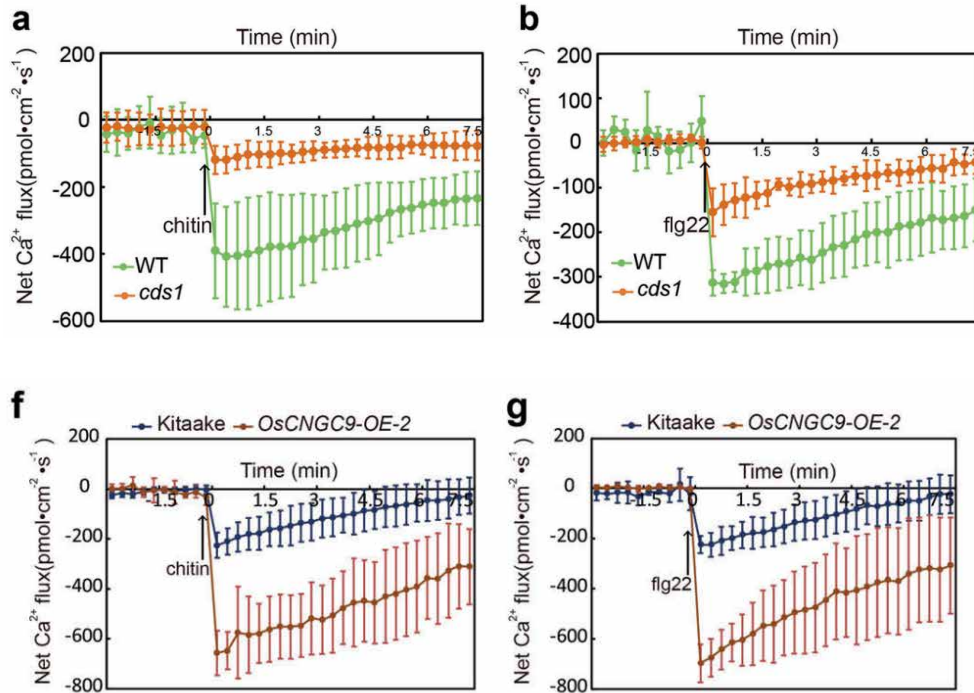


扫码查看本文详细报道

6、Cell Res 万建民院士：NMT 发现 CNGC9 介导 PAMP 激活钙通道促进水稻抗病，为 CNGC9 抗病功能分析提供关键数据

通讯作者：中国农业科学院作物科学研究所 万建民

所用 NMT 设备：人工智能高通量非损伤微测系统



研究利用 NMT 技术，通过测量两种 PAMPs（几丁质或 flg22）处理后叶肉细胞内 Ca^{2+} 流速的动态变化，研究 *OsCNGC9* 是否能介导 PTI 中的 Ca^{2+} 吸收。先前的研究表明，这些 PAMP 激发子可以在植物中触发 PTI 信号。在几丁质或 flg22 刺激下，WT 叶肉细胞（而不是 *cds1* 叶肉细胞）表现出强烈而快速的 Ca^{2+} 吸收（图 a, b）。这些结果表明，*OsCNGC9* 可以介导水稻 PTI 中的 Ca^{2+} 吸收，而 *cds1* 突变体的这种能力受到损害。



扫码查看本文详细报道