

按研究指标

质子泵

一、摘要

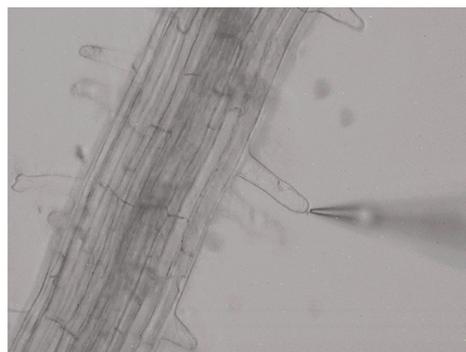
1、定量检测活体细胞、组织的实时跨膜 H^+ 流，验证 AHA、OSA、PMA、VHA 等功能

样品检测视频

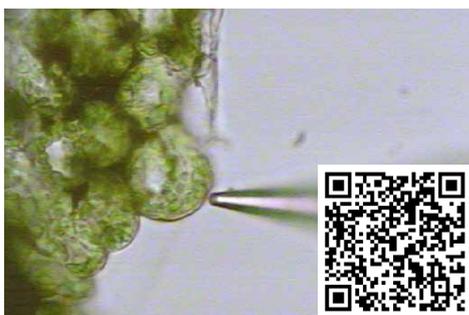
根



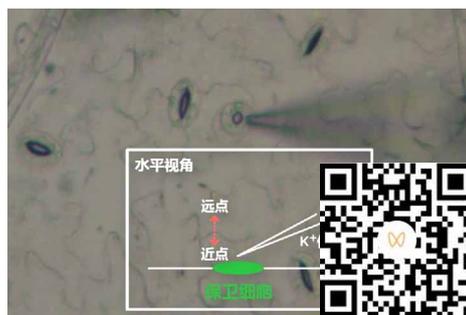
根毛



叶肉



保卫细胞



原生质体 / 液泡



扫码查看质子泵文献专辑



根 H^+ -ATPase 活性 / 根排 H^+ 速率检测

经典案例

Nature: 非损伤微测技术发现 IAA 可促根部吸 H^+ 致质外体碱化 为生长素“酸性生长假说”机制提供重要证据



扫码查看本文详细报道

Sci Adv 福建农林: NMT 发现低浓度 ABA 促进质子分泌是根系响应水分胁迫和向水性的关键机制



扫码查看本文详细报道

推荐实验设备

NMT 耐盐机制分析仪 (NMT300-SMP-YG/XY)

实验意义

H^+ -ATPase 被称为植物的“主宰酶”，极其重要。根部细胞的质膜 H^+ -ATPase，通过调控植物往胞外、根外排 H^+ ，调节根表 pH，维持根的生长、应对各类环境胁迫，如缓解盐碱胁迫引起的根际 pH 升高，酸化细胞壁促进干旱胁迫下的根伸长；而且可以在细胞表面、根表面形成 H^+ 电化学梯度，驱动次级转运体对各种营养物质、离子的转运，包括促进氮、磷、铁等养分元素的吸收，过度积累的 Na^+ 、 NH_4^+ 等离子的外排；还可以有效抑制盐碱胁迫引起的根际碱化，降低 pH，促进根生长。

检测指标

H^+

样品培养及处理

苗龄

苗龄无强制要求。该实验使用苗期样品较多，常见样品苗龄参考：

拟南芥：1~4 周

水稻：1~5 周

烟草：1~3 周

杨树：4~7 周

棉花：1~4 周

培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可，推荐使用水培和琼脂培养，其次是沙培和基质较松散的土培。

实验处理

100~400 mM NaCl 处理 24 小时。NaCl 或 $Na_2CO_3+NaHCO_3$ 浓度与您该课题的其它实验胁迫浓度保持一致。常见样品胁迫浓度参考：

拟南芥、水稻、烟草：100~150 mM NaCl

棉花：200 mM NaCl

样品选取

1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

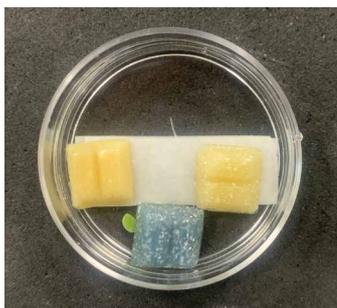
2. 根选取

- 1) 主根或侧根均可，同一研究需保持一致，即都是主根或都是侧根
- 2) 同一组内，根长、根直径、根颜色尽量一致
- 3) 优先新生根或嫩根

检测流程

前处理

1. 将样品取出，使用滤纸条和样品固定专用树脂块将样品的一条根，按压固定在培养皿底部。体积较小样品，可整株置于培养皿中；如体积较大，剪取目标根并固定好。



根样品固定

2. 加入测试液浸没根，静置 30min，不同规格的培养皿对应加入测试液体积：

35/60/90 mm 培养皿，分别对应 4/10/40 mL 测试液。

样品前处理视频



扫码查看视频

检测过程

1. 检测位点：根成熟区。距离根尖顶点 5000 μ m 的位置

2. 检测时长：5-10 分钟

3. 重复数：n \geq 8，即每组检测不少于 8 条根。如同一株样品有多条根符合检测要求，可在同一株上取不止 1 条根，一组内使用的植株数不可少于 3 株。

耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

检测参数

1. 物镜倍数：4 倍（根直径 \geq 200 μ m）；10 倍（根直径 $<$ 200 μ m）

2. 采样规则：X-30

3. 传感器 -- 样品表面距离：5 μ m

参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术 —2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Lan T, Xu Y, Guo S, et al. Investigation of Na⁺, K⁺ and Ca²⁺ distribution and ion fluxes of the halophyte Chinese iris under NaCl stress by non-invasive micro-test techniques. Research Square, 2022 DOI: 10.21203/rs.3.rs-1708018/v1
3. Liu X, Ma F, Zhu H, et al. Effects of magnetized water treatment on growth characteristics and ion absorption, transportation, and distribution in Populus × euramericana ‘Neva’ under NaCl stress, Canadian Journal of Forest Research, 2017,47(6):828-838. DOI: 10.1139/cjfr-2016-0460

叶 H^+ -ATPase 活性 / 叶排 H^+ 速率检测

经典案例

Plant Biotechnol J 浙大陈仲华、邬飞波: HvAKT2 和 HvHAK1 通过增强叶肉 H^+ 稳态提升耐旱能力



扫码查看本文详细报道

推荐实验设备

NMT 耐盐机制分析仪 (NMT300-SMP-YG/XY)

实验意义

H^+ -ATPase 被称为植物的“主宰酶”，极其重要。叶肉细胞的质膜 H^+ -ATPase，通过调控叶肉细胞往胞外（质外体）排 H^+ ，调节质外体 pH，还可以在细胞表面形成 H^+ 电化学梯度，驱动次级转运体对各种营养物质、离子的转运。

检测指标

H^+

样品培养及处理

苗龄

苗龄无强制要求。该实验使用苗期样品较多，常见样品苗龄参考：

拟南芥：1~4 周

水稻：1~5 周

烟草：1~3 周

杨树：4~7 周

棉花：1~4 周

培养方式

水培、琼脂培养基、土培、沙培均可。

实验处理

100~400 mM NaCl 处理 24 小时。NaCl 或 $Na_2CO_3+NaHCO_3$ 浓度与您该课题的其它实验胁迫浓度保持一致。常见样品胁迫浓度参考：

拟南芥、水稻、烟草：100~150 mM NaCl

棉花：200 mM NaCl

样品选取

1. 植株选取

选取状态良好且外观形态在组内占主流的植株。

2. 叶片选取

1) 根据您的研究需求，选择植株上特定位置的叶片，例如从下往上数的第 x 片叶片。部分研究可能无此要求，同一研究的叶片选取标准需保持一致。

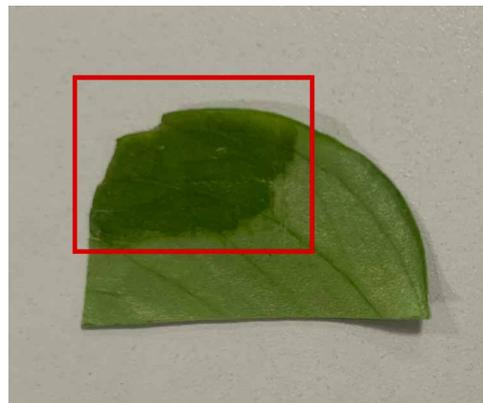
2) 同一组内，叶龄、叶片颜色、大小尽量一致

3) 优先完整无损伤的叶片

检测流程

前处理

1. 从目标叶片上剪取 1cm*1cm 的叶片组织，揭去叶片组织的下表皮，暴露叶肉组织。如果叶片面积较小，直接用整片叶片。



叶片暴露叶肉组织

2. 对折叶片，叶片下表面朝外，让暴露出叶肉组织处于外侧弯折面处，使用铝箔条将远离弯曲面的叶片组织条尾部夹住，使用样品固定专用树脂块将样品压在培养皿底部，露出叶片弯折处的叶肉组织。



叶肉细胞样品固定

3. 加入测试液浸没叶片，静置 2 小时，不同规格的培养皿对应加入测试液体积：

35/60/90 mm 培养皿，分别对应 4/10/40 mL 测试液。

样品前处理视频



扫码查看视频

检测过程

1. 检测位点：外侧弯曲面的叶肉组织上的任意一点
2. 检测时长：5-10 分钟
3. 重复数： $n \geq 8$ ，即每组检测不少于 8 块叶片组织。如同一株样品有多片叶片符合检测要求，可在同一

株上取不止 1 片叶片，也可在同一叶片上取不止 1 块叶片组织，一组实验使用的植株数不可少于 3 株。

耗材清单



扫码查看购买耗材



扫码查看实验溶液

检测参数

1. 物镜倍数：4 倍
2. 采样规则：X-30
3. 传感器 -- 样品表面距离：5 μ m

参考文献

1. 许越. 非损伤微测技术—2022[J].NMT 通讯, 2023(01):3-9.DOI:10.5281/zenodo.8227586.
2. Qin R, Hu Y, Chen H, et al. MicroRNA408 negatively regulates salt tolerance by affecting secondary cell wall development in maize. *Plant Physiol.* 2023 Mar 2:kiad135. DOI: 10.1093/plphys/kiad135.
3. Solis C, Yong M, Zhou M, et al. Evolutionary Significance of NHX Family and NHX1 in Salinity Stress Adaptation in the Genus *Oryza*. *Int J Mol Sci.* 2022 Feb 14;23(4):2092. doi: 10.3390/ijms23042092.
4. Li S, Sun M, Miao L, et al. Multifaceted regulatory functions of CsBPC2 in cucumber under salt stress conditions. *Hortic Res.* 2023 Mar 15;10(5):uhad051. doi: 10.1093/hr/uhad051.