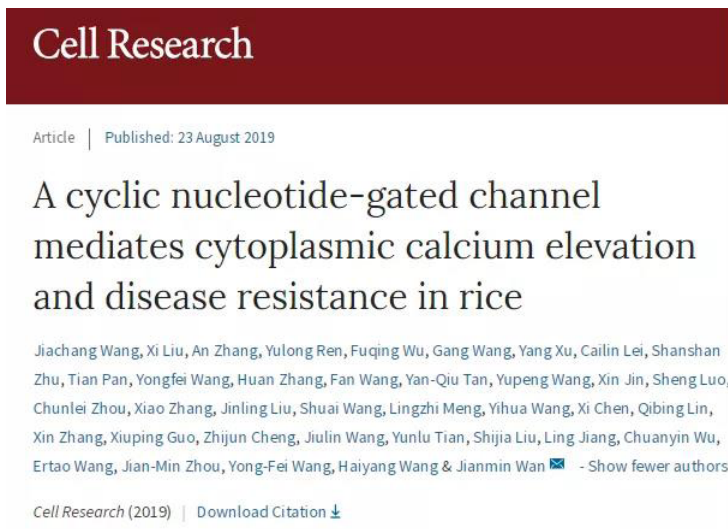


## 人民网报道：非损伤微测技术提升水稻抗病研究

供稿 刘蕴琦，编辑 李雪霏

### 编者按：

《稻瘟病是如何被预警的？基因定位确定“抗病英雄”身份》，这篇文章是在人民网刊出的，报道中国农业科学院万建民院士 2019 年在 Cell Research 上发表的文献《A cyclic nucleotide-gated channel mediates cytoplasmic calcium elevation and disease resistance in rice》。该文献中共有 6 张数据图，其中有 3 张是通过非损伤微测技术（NMT）检测的  $\text{Ca}^{2+}$  流速数据图，证明了非损伤微测技术为 CNGC9 这一水稻抗病过程中的重要钙通道的鉴定，提供了关键证据。编者在这里回顾此篇文献，以飨读者。



扫码阅读人民网刊出新闻

### 基本信息

**主题：**钙离子启动免疫系统的分子机制

**期刊：**Cell Research

**影响因子：**17.848

**标题：**A cyclic nucleotide-gated channel mediates cytoplasmic calcium elevation and disease resistance in rice

**作者：**中国农业科学院万建民、王家昌、刘喜、张岸

**检测样品：**水稻叶肉细胞

**检测离子 / 分子指标：** $\text{Ca}^{2+}$

**$\text{Ca}^{2+}$  流速流实验处理方法：**水稻幼苗，10uM chitin 或 10uM flg22 肽瞬时胁迫

**$\text{Ca}^{2+}$  流速流实验测试液成份：**0.2mM  $\text{CaCl}_2$ , 0.1mM NaCl, 0.1mM  $\text{MgCl}_2$  and 0.1mM KCl, pH 5.2

**摘要:** 胞质钙含量的瞬时升高对病原相关分子模式 (PAMP) 触发免疫 (PTI) 至关重要。然而, 负责这一过程的钙通道仍然未知。研究结果表明编码 OsCNGC9 (一种环状核苷酸门控通道蛋白) 的水稻 CDS1 (CELL DEATH and SUSCEPTIBLE to BLAST1) 正调控水稻对瘟病的抗性。结果表明, OsCNGC9 介导 PAMP 诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  内流这一过程对 PAMPs 引发的 ROS 爆发和诱导 PTI 相关防御基因的表达至关重要。研究进一步表明, 一个 PTI 相关的受体样胞质激酶 OsRLCK185 与 OsCNGC9 相互作用并使其磷酸化, 以激活该通道的活性。综上, 模式识别和钙通道激活之间存在一个信号级联, 钙通道激活是启动 PTI 和水稻抗病性所必需的。通过非损伤微测技术 (NMT) 检测不同处理下的水稻叶肉细胞  $\text{Ca}^{2+}$  吸收速率, 发现 OsCNGC9 可以介导水稻 PTI 中的  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 为了解  $\text{Ca}^{2+}$  信号在水稻抗病中的作用奠定了基础。

**关键词:** 非损伤微测技术; 钙离子流速; 水稻叶肉细胞; 瞬时胁迫

## 1. 离子 / 分子流实验结果

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  $\text{Ca}^{2+}$  流速的动态变化, 研究 OsCNGC9 是否能介导 PTI 中的  $\text{Ca}^{2+}$  内流。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  $\text{Ca}^{2+}$  内流 (图 1a, b)。这些结果表明, OsCNGC9 可以介导水稻 PTI 中

的  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 而 *cds1* 突变体的这种能力受到损害。

$\text{Ca}^{2+}$  流速分析表明, 在几丁质刺激下, Nipponbare 叶肉细胞 (而不是 *Osrlck185/55* 双突变叶肉细胞) 表现出快速的  $\text{Ca}^{2+}$  内流 (图 2e)。此外, 几丁质处理 *Oscerk1* 基因敲除突变体后, 未观察到明显的  $\text{Ca}^{2+}$  内流 (图 2f)。

在 PAMPs 刺激后, 与 Kitaake 植物相比, OsCNGC9-OE 转基因植物的叶肉细胞显示出更强的  $\text{Ca}^{2+}$  内流 (图 3f, g)。

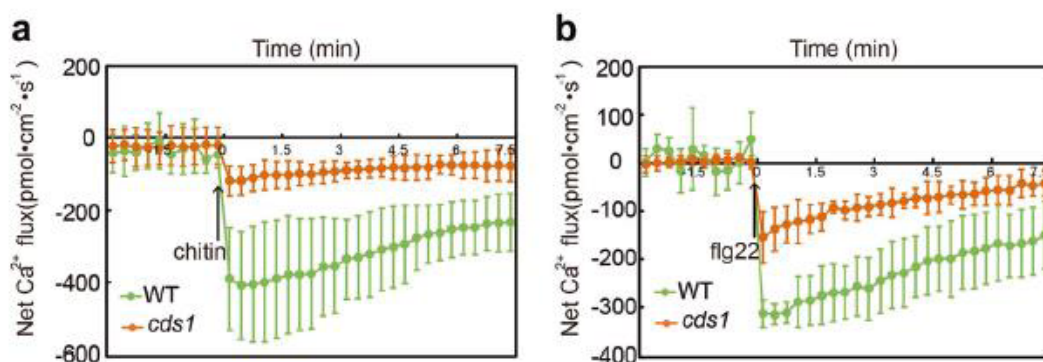


图 1. OsCNGC9 是的  $\text{Ca}^{2+}$  内流以响应 PAMPs 所必需的。

正值代表  $\text{Ca}^{2+}$  外排, 负值代表  $\text{Ca}^{2+}$  吸收。

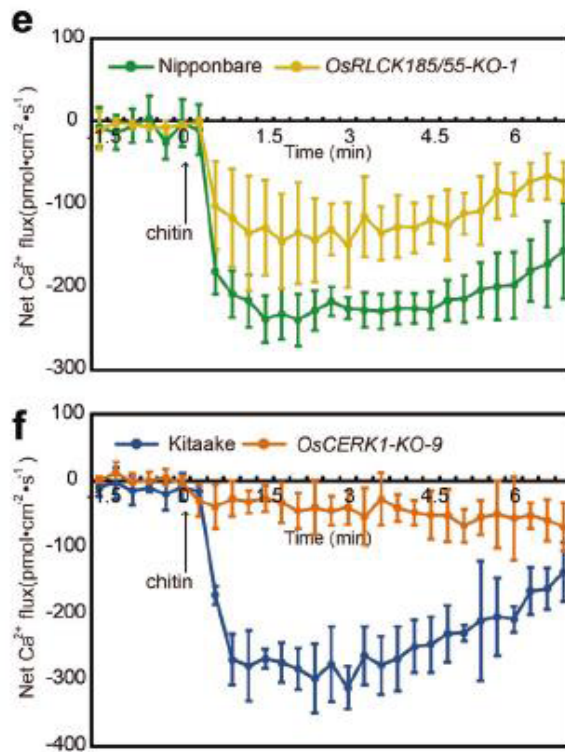


图 2. *Osrlck185/55* 双突变体植株表现出几丁质诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  流入减少。  
正值代表  $\text{Ca}^{2+}$  外排，负值代表  $\text{Ca}^{2+}$  吸收。

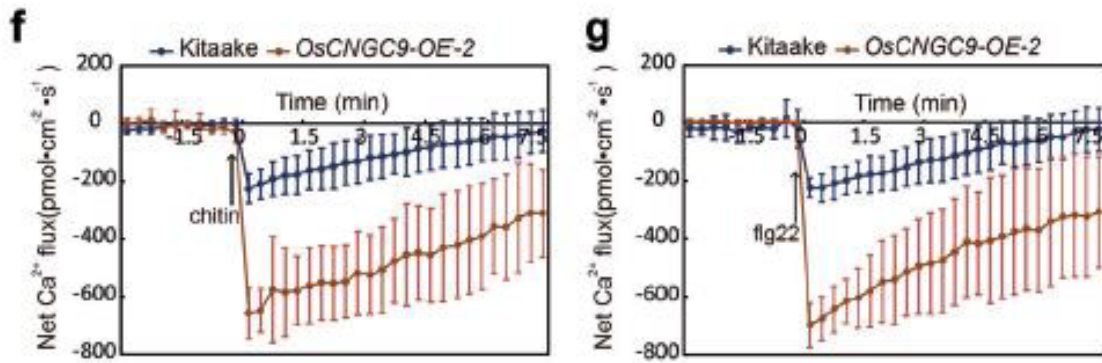


图 3. 几丁质或 flg22 处理后，Kitaake 和 *OsCNGC9-OE* 转基因植株中叶肉细胞中  $\text{Ca}^{2+}$  流速比较。  
正值代表  $\text{Ca}^{2+}$  外排，负值代表  $\text{Ca}^{2+}$  吸收。