

重金属阻控相关基因功能分析 | 重金属阻控种质资源研究

一、摘要

1、表型研究

- 1) 定量检测根、叶、藻、生物膜、细菌、真菌等活样，对环境中 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 的实时吸收速率
- 2) 定量检测 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 在活体植物体内的转运速率，包括根木质部装载、茎木质部导管运输、叶肉吸收、液泡区隔等过程
- 3) 定量测定重金属存在的条件下，动植物组织、细胞对 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Ca^{2+} 等元素吸收速率的变化，研究重金属导致的元素失衡过程
- 4) 定量测定活体样品内外部不同位置的 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 浓度

2、机制

1) Ca^{2+} 信号

以 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 吸收转运速率作为落脚点，从 Ca^{2+} 信号促 ROS 产生、ROS 调节质膜 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$ 转运载体，辅以 Ca^{2+} 通道抑制剂、RBOH 抑制剂、ROS 清除剂等，验证 Ca^{2+} 如何参与调控重金属吸收转运，验证 Nramp、HMA、IRT、ZIP、Ctr、Fet4 等功能

2) 泌 H^+ 调节根际 pH

定量检测重金属胁迫下根部实时泌 H^+ 速率及根表 pH，表征植物在重金属下通过促进养分吸收及排出重金属离子应对胁迫的能力

3) 吸 / 泌 O_2 调节根际氧化还原电位

扫码查看重金属文献专辑

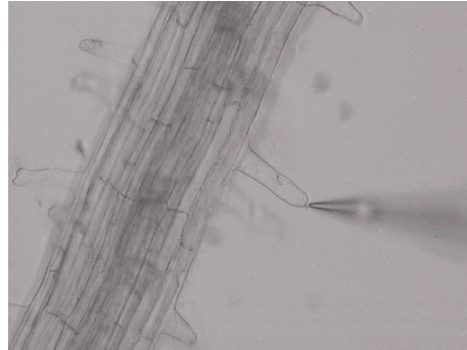


样品检测视频

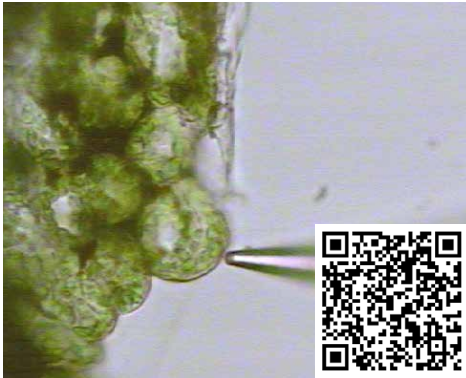
根



根毛



叶肉



原生质体 / 液泡



应用报告视频

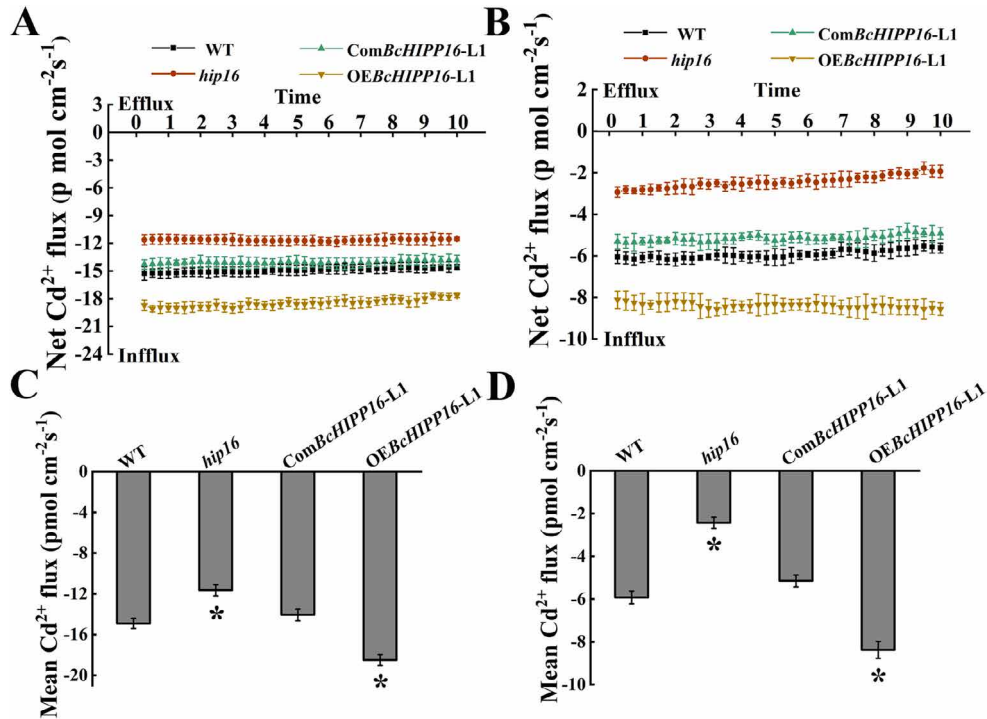


二、应用案例

1、*Ecotox Environ Safe* 南农崔瑾：NMT 发现 BcHIPP16 促拟南芥根吸 Cd^{2+} ，为 BcHIPP16 耐 Cd 功能分析提供关键数据

通讯作者：南京农业大学 崔瑾

所用 NMT 设备：重金属阻控机制分析仪（HMP300-YG 系列）



为了进一步探讨 BcHIPP16 对植物吸收 Cd^{2+} 的影响，本研究测定了转基因拟南芥的根部 Cd^{2+} 的流速。从图中可以看出，*OEBCHIPP16-L1* 的根伸长区和成熟区 Cd^{2+} 流速都是最高的，野生型和 *comBcHIPP16-L1* 之间 Cd^{2+} 流速没有显著差异，而 *hip16*- 突变体的 Cd^{2+} 流速最低。然后计算伸长区和成熟区 10 min 内的平均 Cd^{2+} 流速，结果表明，*OEBCHIPP16-L1* 伸长区和成熟区 Cd^{2+} 速率分别为 18.5 和 8.37 pico mole·cm⁻²·s⁻¹；*ComBcHIPP16-L1* 伸长区和成熟区 Cd^{2+} 的平均流速分别为 14.9 和 5.92 pico mole·cm⁻²·s⁻¹，与野生型相比差异不大。*hip16* 突变体伸长区和成熟区 Cd^{2+} 的流速分别为 11.6 和 2.4 pico mole·cm⁻²·s⁻¹。结果表明，BcHIPP16 参与根系对 Cd 的吸收，从而增加 Cd 在根系中的积累。

NMT 发现 BcHIPP16 促拟南芥根吸 Cd^{2+} 为培育低 Cd 积累作物提供潜在解决方案。



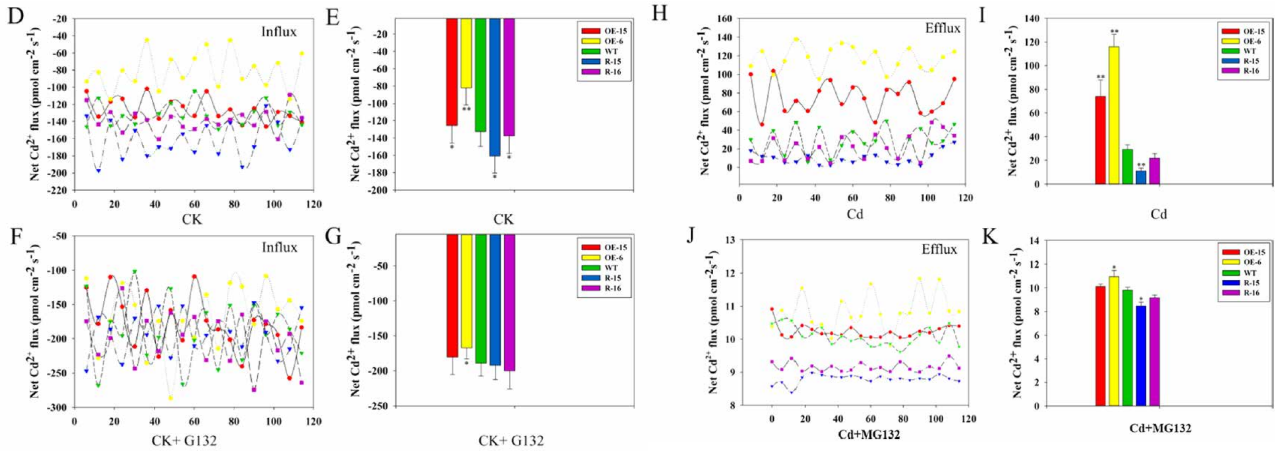
扫码查看本文详细报道

doi:10.5281/zenodo.8437227

2、*J Agr Food Chem* 山农生科院：NMT 发现 Cd 胁迫下过表达 TaPUB1 促根排 Cd²⁺，为 TaPUB1 耐 Cd 功能分析提供关键数据

通讯作者：山东农业大学 张广强、王玮

所用 NMT 设备：NMT 活体生理检测仪 (Physiolyzer[®]) (NMT300-PYZ-YG 系列)



研究使用非损伤微测技术 (NMT) 检测了两周龄转基因和 WT 株系在 CdCl₂ 处理 12 h 后根部 Cd²⁺ 流速。在没有 CdCl₂ 的情况下，转基因根和 WT 根系表现出净 Cd²⁺ 内流。然而，TaPUB1 过表达植株的内流速率显著低于 WT 和 RNAi 植株。然而，当外源添加 MG132 时，这些差异趋于相似。进而，CdCl₂ 处理后观察到根部 Cd²⁺ 外排，而 TaPUB1 过表达植株的净 Cd²⁺ 外排速率显著高于 RNAi 和 WT 植株。此外，在 CdCl₂ 和 MG132 同时存在，Cd²⁺ 外排显著减少，TaPUB1 过表达植株净 Cd²⁺ 外排不再显著。这些结果表明，TaPUB1 可以调控 Cd²⁺ 的流动性，而 TaPUB1 的这一功能可能与 26S 蛋白酶体的蛋白泛素化和降解有关。

NMT 发现 Cd 胁迫下过表达 TaPUB1 促根排 Cd²⁺ 为 TaPUB1 与 TaIRT1 互作并泛素化抑制小麦吸 Cd 提供证据。

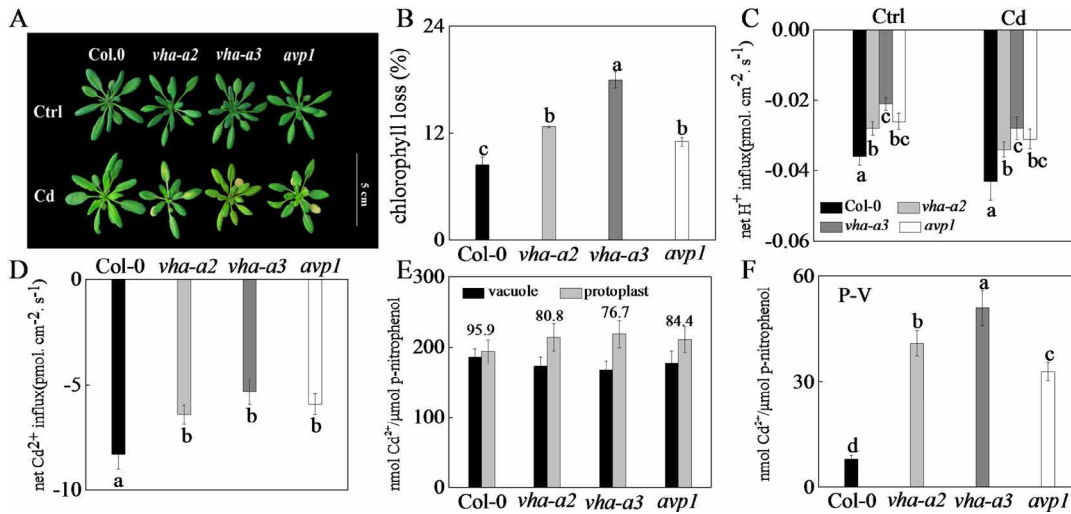


扫码查看本文详细报道

3、Plant Sci: 湖南农大 NMT 发现 Atclca-2 增强植物根液泡 Cd²⁺ 的吸收，为 Atclca-2 耐 Cd 功能分析提供关键数据

通讯作者：湖南农业大学 张振华

所用 NMT 设备：重金属阻控机制分析仪（HMP300-XY 系列）



NO₃⁻ 和 Cd²⁺ 跨膜转运到植物细胞液泡中依赖于其液泡膜质子泵，V-ATP 酶和 V-PPase 的能量。如果这些泵的活性降低，则导致较少的 NO₃⁻ 和 Cd²⁺ 被输送到液泡中，这有助于提高植物的氮利用效率（NUE）和降低 Cd²⁺ 耐受性。

调节 NUE 和 Cd²⁺ 耐受性之间平衡的生理机制尚不清楚。在我们的研究中，使用具有差异 NUE，香优 15 和 814 的两种甘蓝型油菜基因型和拟南芥的 Atclca-2 突变体和 AtCAX4 过表达系（AtCAX4-OE）来研究 Cd²⁺ 应激反应。

我们发现甘蓝型油菜基因型具有较高的 NUE，对 Cd²⁺ 胁迫更敏感。具有较高 Cd²⁺ 液泡隔离能力（VSC）的 AtCAX4-OE 突变体限制 NO₃⁻ 隔离到根空泡中并促进 NUE。具有降低的 NO₃⁻-VSC 的 Atclca-2 突变体增强了 Cd²⁺ 隔离到根空泡中并且赋予比 WT 更大的 Cd²⁺ 耐受性。这可能是由于 V-ATP 酶和 V-PPase 提供的能量在液泡中 Cd²⁺ 和 NO₃⁻ 之间的竞争。通过抑制 CLCa 转运蛋白的活性和增加 CAX4 转运蛋白的活性来调节 Cd²⁺ 和 NO₃⁻ 液泡积累之间的平衡将同时增强甘蓝型油菜的 NUE 和 Cd²⁺ 耐受性，这对于改善其 Cd²⁺ 植物修复潜力是必需的。

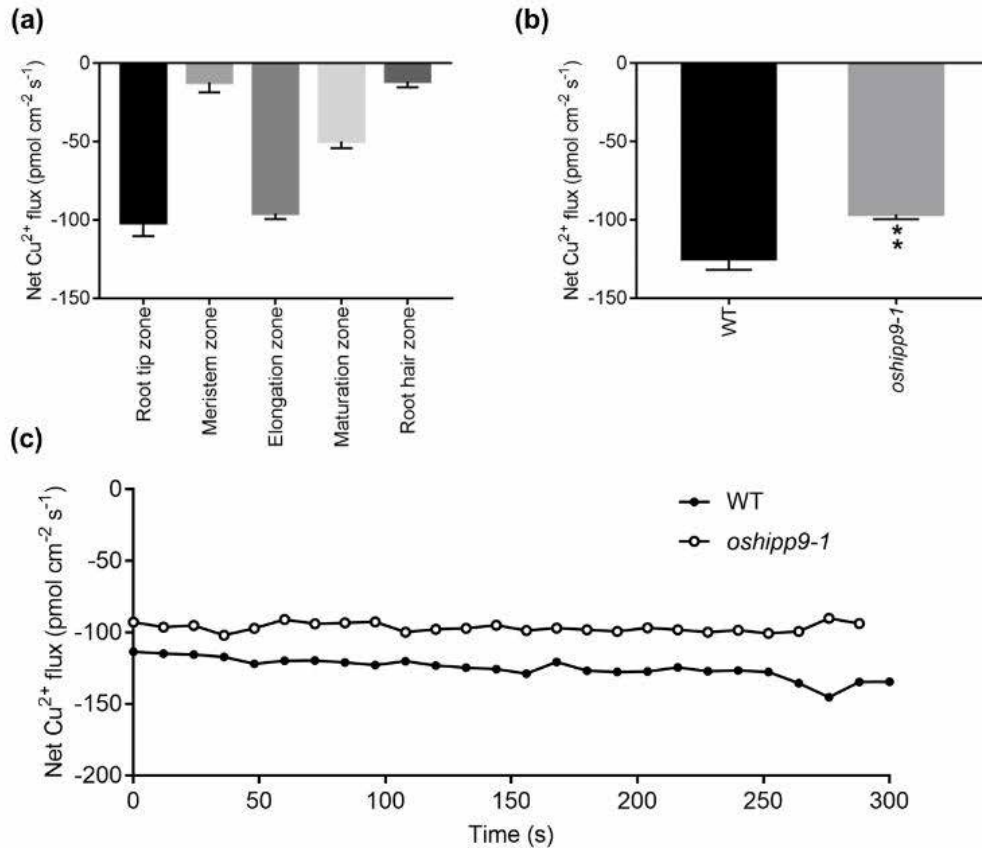


扫码查看本文详细报道

4、*Plant Cell Environ* 中科院植物所曲乐庆：NMT 发现 *OshIPP9* 突变抑制水稻吸 Cu，为 *OshIPP9* 耐 Cd 功能分析提供关键数据

通讯作者：中国科学院植物研究所 曲乐庆

所用 NMT 设备：重金属阻控机制分析仪（HMP300-XY 系列）



OshIPP9 主要在水稻根系外皮层表达表明其可能参与根系对铜的吸收，故采用非损伤微测技术（NMT）检测根系对 Cu^{2+} 的吸收速率。结果表明水稻根系表现出 Cu^{2+} 吸收的特性，并且根尖和伸长区的 Cu^{2+} 吸收速率较高（图 a）。*oshipp9* 突变体根系的 Cu^{2+} 吸收速率较野生型相比明显降低（图 b、c）。

NMT 发现 *OshIPP9* 突变抑制水稻吸 Cu 为其在水稻根外皮层中螯合 Cu 参与 Cu 吸收提供证据。

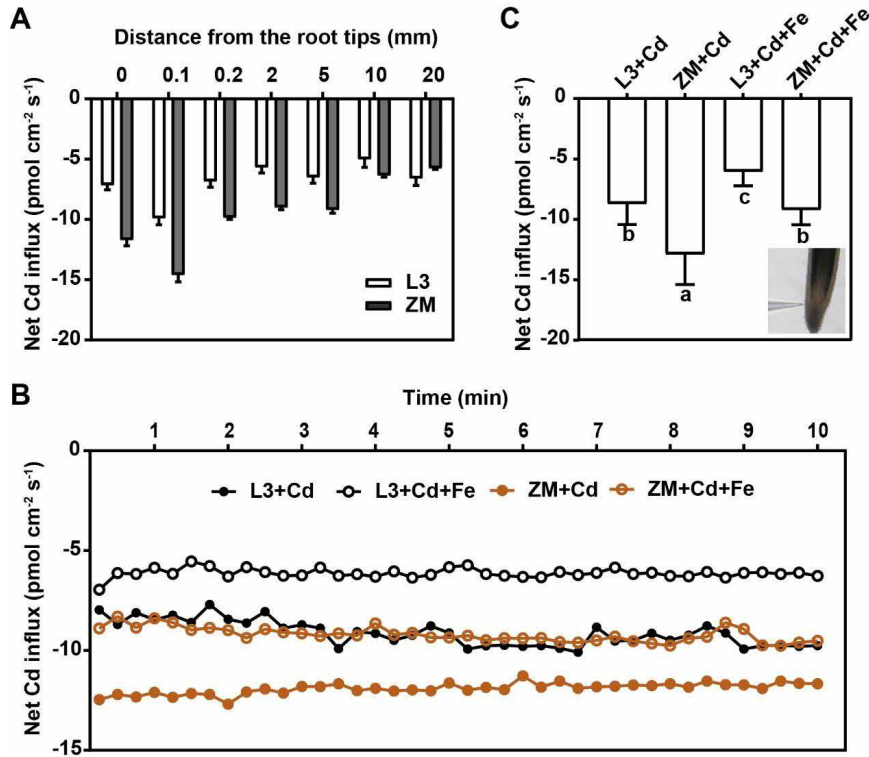


扫码查看本文详细报道

5、*J Hazard Mater* 沈振国：NMT 发现 VsRIT1 促进根对 Cd²⁺ 吸收，为 VsRIT1 耐 Cd 功能分析提供关键数据

通讯作者：南京农业大学 沈振国

所用 NMT 设备：人工智能高通量全自动非损伤微测系统（NMT300-SIM 自动化系列）



镉是植物的非必需元素，会抑制植物的生长和发育。豌豆的 ZM 变种比 L3 变种对 Cd 毒性更敏感，但其潜在机理尚不完全清楚。

在这里，我们证明根系原生质体中根部 Cd 含量和 Cd 荧光强度显示，其 Cd 积累量高于 L3。VsRIT1 是 ZIP (ZRT / IRT 样蛋白) 家族的成员，在暴露于 Cd 的情况下，其 ZM 根的表达水平比 L3 根高 8 倍。VsRIT1 表达增加了拟南芥和酵母中 Cd 的运输和积累。这表明 VsRIT1 参与了苜蓿根系对镉的吸收。

此外，由于 ZM 中较高的 RIT1 表达，当单独暴露于 Cd 或同时暴露于 Cd 和铁 (Fe) 时，ZM 根尖具有比 L3 根更高的瞬时 Cd 流入能力。我们的发现还表示，镉可能会与铁或锌竞争通过 VsRIT1 吸收到豌豆或酵母中。

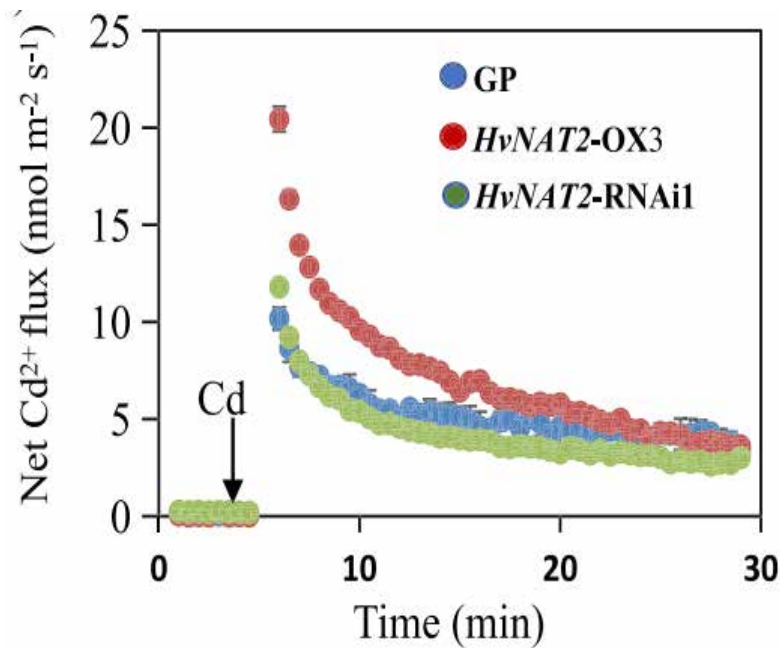


扫码查看本文详细报道

6、*J Adv Res* 浙大邬飞波：NMT 发现 NAT2 促大麦吸 Cd，为 NAT2 耐 Cd 功能分析提供关键数据

通讯作者：浙江大学、扬州大学 邬飞波

所用 NMT 设备：重金属阻控机制分析仪（HMP300-XY 系列）



为了研究不同基因型植株根表皮细胞 Cd²⁺ 流速的影响，研究用非损伤微测技术（MIFE）检测了 CdCl₂ 处理后根表皮细胞 Cd²⁺ 流速动态变化（图 1）。结果表明，添加 10 μM CdCl₂ 导致植株表皮细胞 Cd²⁺ 迅速内流；与 GP 对照相比，HvNAT2-OX3 植株的 Cd²⁺ 转运流速最高；HvNAT2-OX3 植株的总 Cd²⁺ 流速和平均 Cd²⁺ 流速均显著高于 GP（分别为 31% 和 39%），而 HvNAT2-RNAi1 根部的稳态 Cd²⁺ 流速显著降低了 23%。

NMT 发现 NAT2 促大麦吸 Cd 为 NAT 作为潜在重金属生物修复基因提供证据。



扫码查看本文详细报道