

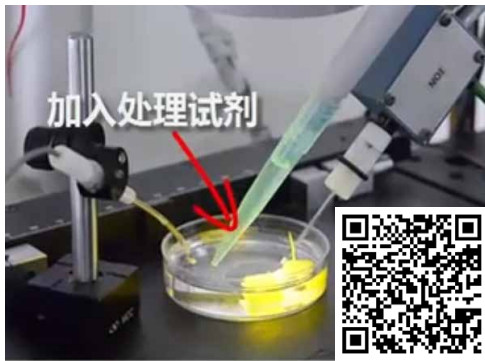
## 耐寒基因功能分析 | 耐寒种质资源研究

### 一、摘要

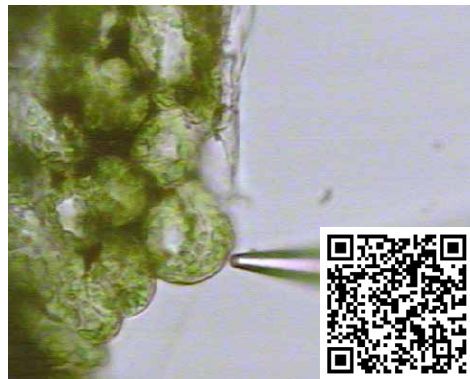
以定量检测温度胁迫下根、叶肉等材料实时吸  $\text{Ca}^{2+}$  速率为落脚点，验证 Cold1、CNGC9、HST1、SCT1 等  $\text{Ca}^{2+}$  信号相关途径

### 样品检测视频

低温瞬时处理



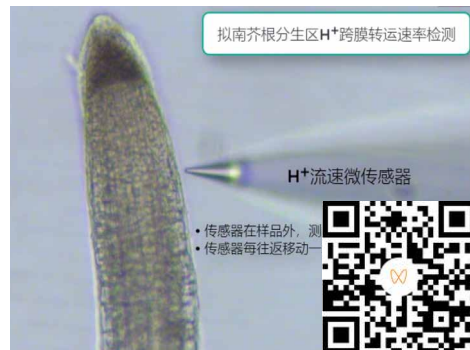
叶肉



扫码查看温度胁迫文献专辑



根

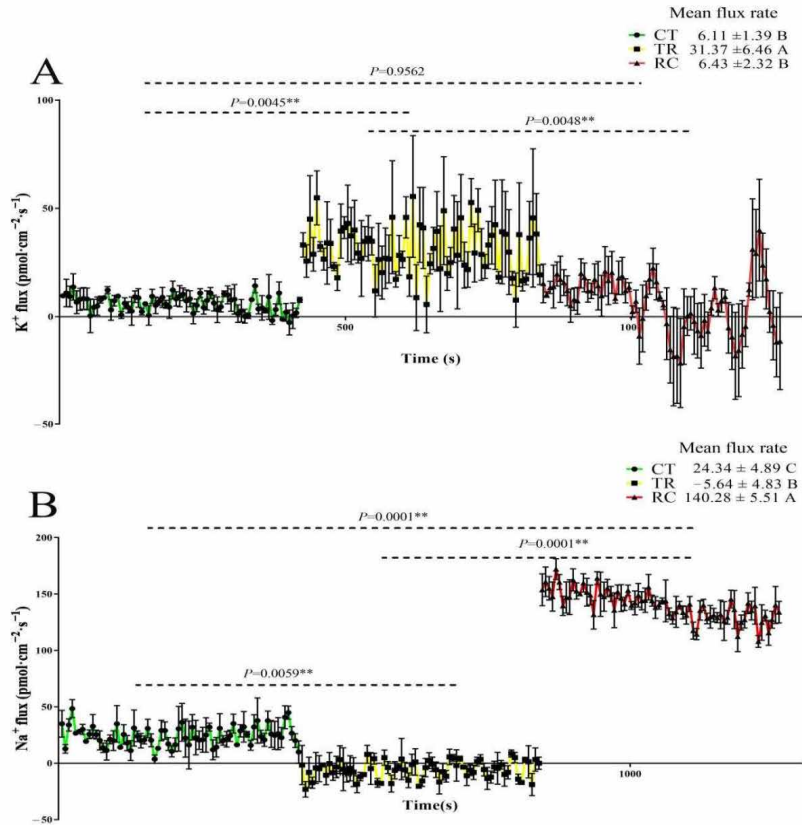


## 二、应用案例

### 1、*Int J Mol Sci* 福建农林林文雄、张志兴：NMT 发现 nrt1.1 和 stop1 水稻通过维持根系 K/Na 稳态实现低温抗性，为 nrt1.1 和 stop1 抗冷功能分析提供关键数据

通讯作者：福建农林大学 林文雄

所用 NMT 设备：温度胁迫钙信号分析仪（TCA300-YG 系列）



采用非损伤微测技术（NMT）对水稻根分生区域进行了测定。3 种处理的水稻根系的离子流速有显著差异。常温下水稻根系中的 K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> 处于稳态。冷胁迫影响了水稻根系中的离子平衡，导致 K<sup>+</sup> 的外排和 Na<sup>+</sup> 的吸收，从而破坏了 K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> 平衡。恢复常温处理后，植株能有效抑制 K<sup>+</sup> 外排，同时大量排出 Na<sup>+</sup>。

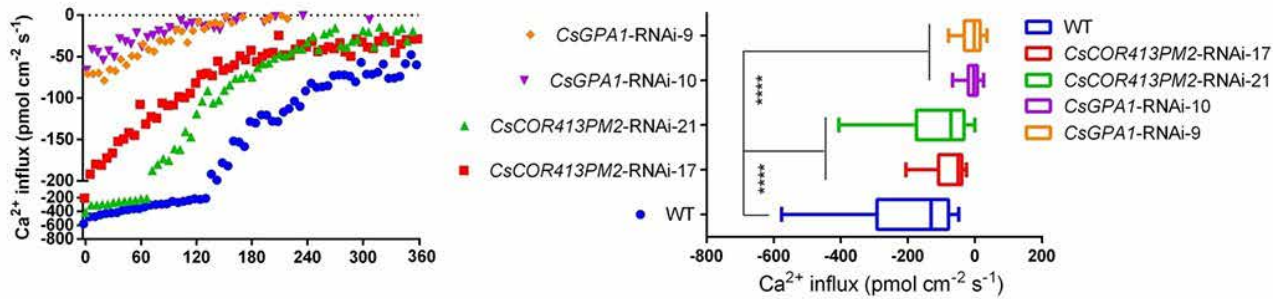


扫码查看本文详细报道

## 2、*Hortico Res* 农科院蔬菜所：NMT 发现抑制 GPA1 或 COR413PM2 致冷激下根吸钙下降，为抗冷功能分析提供关键数据

通讯作者：中国农业科学院蔬菜花卉研究所 于贤昌

所用 NMT 设备：温度胁迫钙信号分析仪（TCA300-XY 系列）



由于细胞膜流动性受寒冷条件的影响，而钙信号可以感知这种变化并激活植物的冷胁迫相关基因，研究利用非损伤微测技术(NMT)研究了CsGPA1或CsCOR413PM2与黄瓜根部 $\text{Ca}^{2+}$ 吸收的关系。研究发现，在低温条件下，RNAi株系的 $\text{Ca}^{2+}$ 吸收低于WT，CsGPA1-RNAi株系的 $\text{Ca}^{2+}$ 吸收最低(左)。此外，在寒冷条件下，RNAi株系的平均 $\text{Ca}^{2+}$ 吸收与WT株系显著不同(右)。此外，CsGPA1-RNAi株系在寒冷条件下的平均 $\text{Ca}^{2+}$ 吸收最低(右)。此外，CsGPA1-RNAi株系在寒冷条件下平均 $\text{Ca}^{2+}$ 吸收速率最低的(右)。

NMT发现抑制GPA1或COR413PM2致冷激下根吸钙↓为G蛋白调节黄瓜耐寒的机制提供证据。

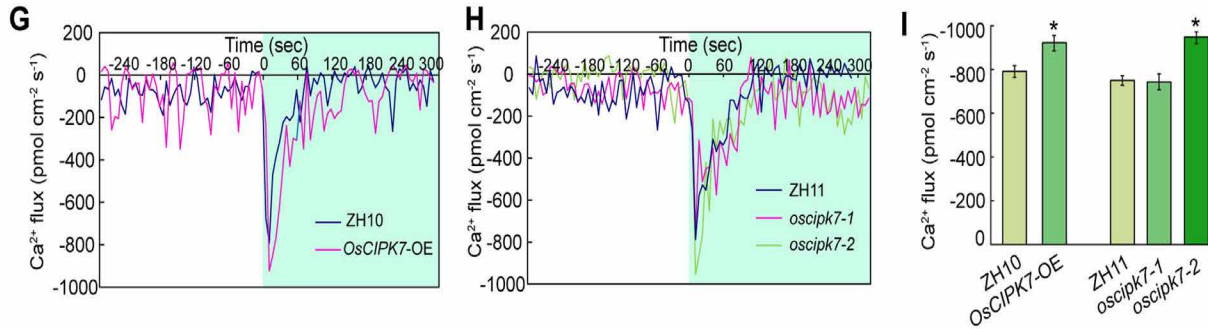


扫码查看本文详细报道

### 3、*J Integr Plant Biol* 中科院植物所种康院士：NMT 发现冷胁迫下 CIPK7 点突变水稻根吸 $\text{Ca}^{2+}$ 增强，为 CIPK7 抗冷功能分析提供关键数据

通讯作者：中科院植物所 种康

所用 NMT 设备：活体功能组学系统 (imOmics<sup>®</sup>) (imOmics300-YG 系列)



通过非损伤微测技术 (NMT) 检测低温胁迫下的  $\text{Ca}^{2+}$  流速。野生型水稻 ZH10 根系细胞外的  $\text{Ca}^{2+}$  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 G, I)。oscipk7-2 突变体表现出比野生型和 oscipk7-1 更强的  $\text{Ca}^{2+}$  内流峰，这与耐寒表型一致 (图 H, I)。这些结果表明，oscipk7-2 突变体的耐寒表型的增强与  $\text{Ca}^{2+}$  内流能力增强有关。

NMT 发现冷胁迫下 CIPK7 点突变水稻根吸  $\text{Ca}^{2+}$  增强，为 CIPKs 调控水稻耐寒机制的研究提供关键证据。

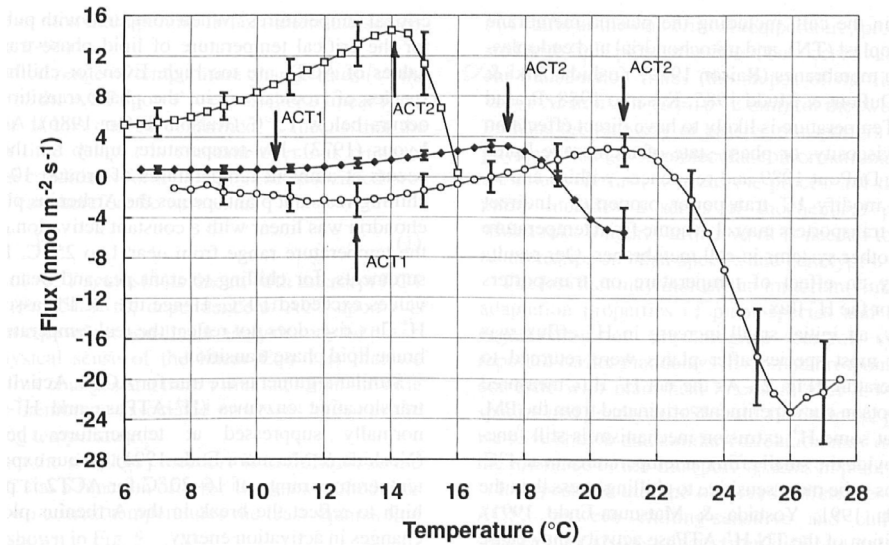


扫码查看本文详细报道

#### 4、Plant Cell Environ: NMT 发现植物冷处理下 H<sup>+</sup> 转运速率的变化，为抗冷品种的筛选提供关键数据

通讯作者：澳大利亚学者 **Sergey Shabala**

所用 NMT 设备：NMT 活体生理检测仪 (Physiolyzer<sup>®</sup>) (NMT300-PYZ-YG 系列)



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 (SIET) 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<sup>+</sup> 流速。把室温下的植物根放入 4°C 下 90min，然后再拿出来放在室温下连续测定，开始 H<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> 内流的开始，更高的临界温度可能代表主动的 H<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> 转运体有同样的 RCT，大约是 9°C，但是，被动转运时间延迟了 4min，而主动转运时间延迟了 11min。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 (SIET) 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。

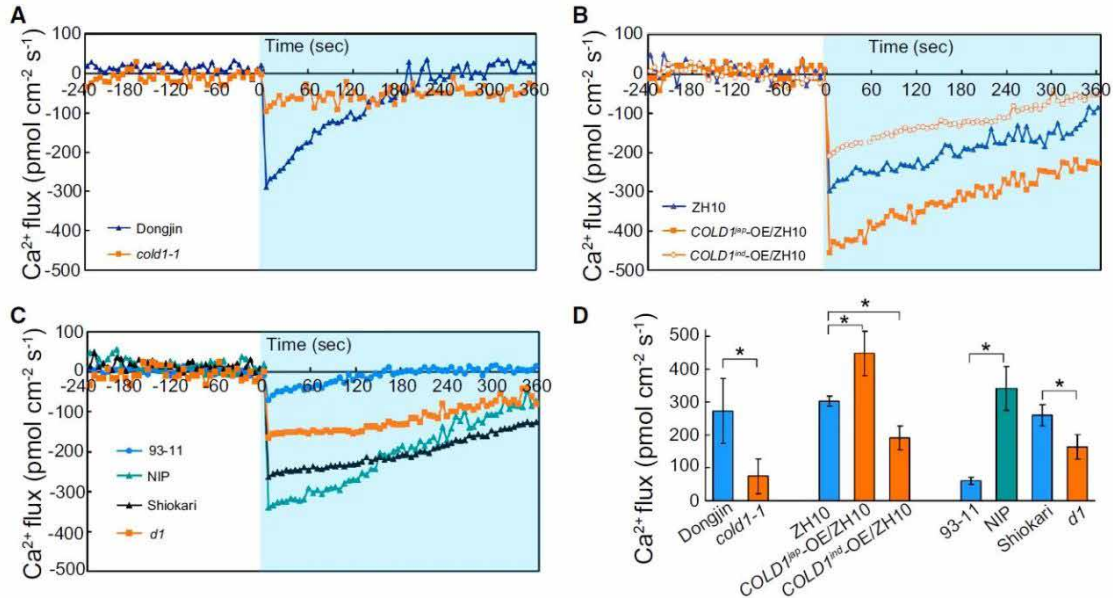


扫码查看本文详细报道

## 5、Cell 中科院植物所种康院士：NMT 发现 COLD1 通过调节 G 蛋白信号影响 Ca<sup>2+</sup> 吸收，为 COLD1 抗冷功能分析提供关键数据

通讯作者：中科院植物研究所 种康

所用 NMT 设备：活体功能组学系统 (imOmics<sup>®</sup>) (imOmics300-YG 系列)



图注. 采用 NMT 技术对水稻根系进行了冷激 / 冷休克 (cold shock) 下 Ca<sup>2+</sup> 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<sup>2+</sup> 吸收，并出现负峰 (A)。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<sup>hap</sup>* 转基因株系在低温处理下 Ca<sup>2+</sup> 吸收更显著，但 *COLD1<sup>ind</sup>* 转基因株系则不太明显 (B)。与 *indica* 93-11 相比，Nipponbare 的反应更强烈 (C)。此外，*RGAI* 突变体 *d1* 比野生型 Shiokari 的 Ca<sup>2+</sup> 吸收速率更低。*cold1-1* 或转基因株系与野生型之间在冷激后的平均最大吸收速率有显著差异 (D)。



扫码查看本文详细报道

## 6、*Mol Plant* 农科院万建民院士：NMT 发现 *OsCNGC9* 促进 $\text{Ca}^{2+}$ 吸收，为 *OsCNGC9* 抗冷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：温度胁迫钙信号分析仪（TCA300-XY 系列）

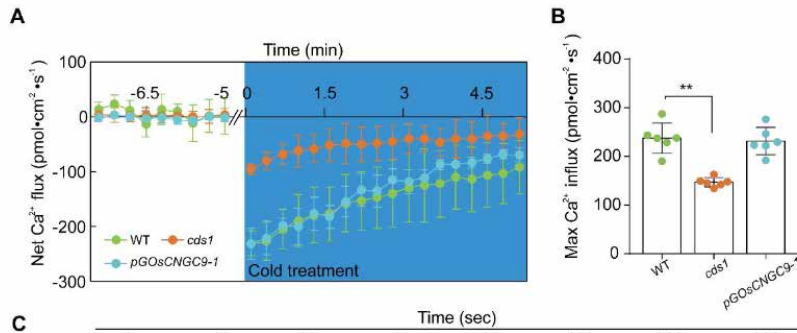


图 1

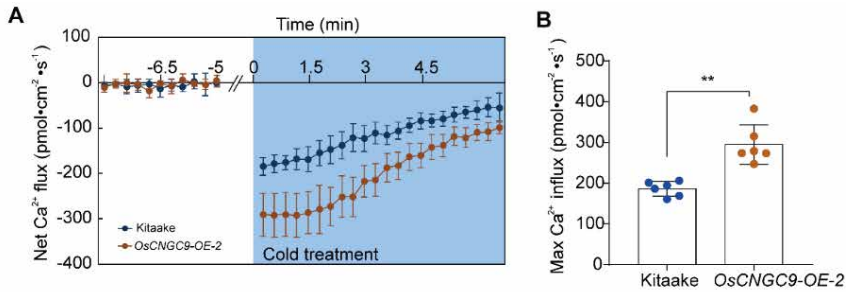


图 2

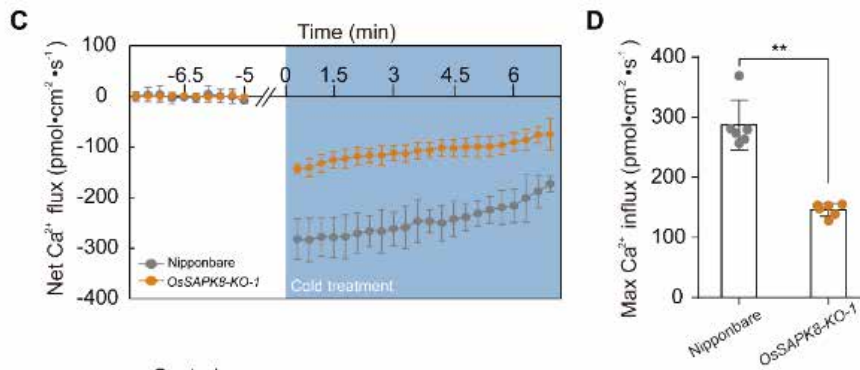


图 3

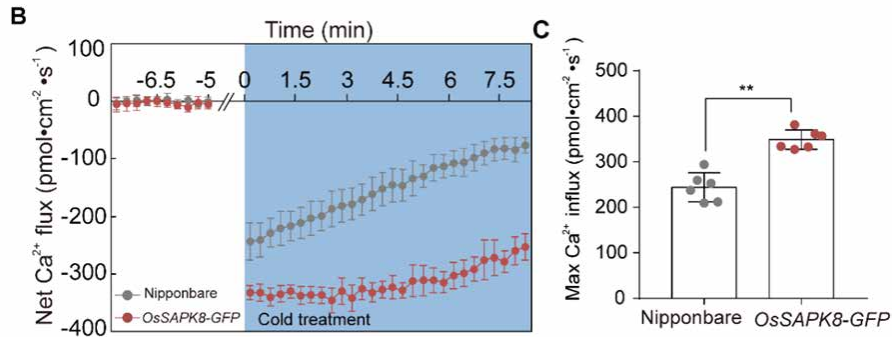


图 4

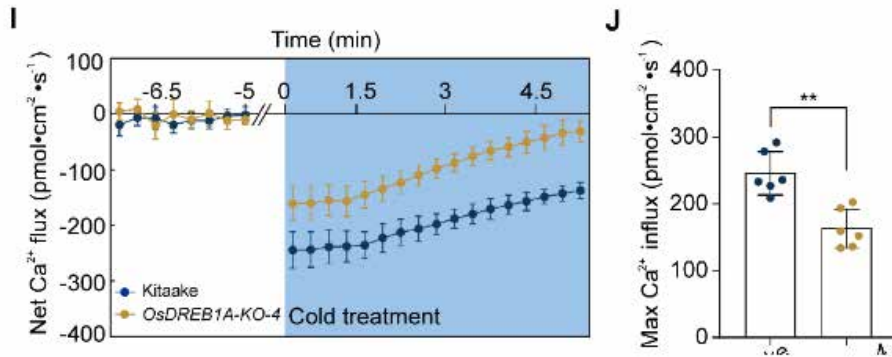


图 5

研究利用非损伤微测技术 (NMT) 检测水稻根系  $\text{Ca}^{2+}$  流速, 研究 *OsCNGC9* 是否能够在体内介导  $\text{Ca}^{2+}$  吸收来响应低温胁迫。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  $\text{Ca}^{2+}$  吸收。相比之下, *cds1* 在相同条件下未表现出明显的胞外  $\text{Ca}^{2+}$  吸收 (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  $\text{Ca}^{2+}$  吸收量差异显著 (图 1B)。与 Kitaake 相比, *OsCNGC9-OE* 转基因株系在对冷激的响应中表现出更强的细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  吸收 (图 2)。  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  吸收 (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  $\text{Ca}^{2+}$  吸收 (图 4)。与 Kitaake 相比, *OsDREB1A-KO* 植物在应对冷胁迫时胞外  $\text{Ca}^{2+}$  流速较弱 (图 5)。



扫码查看本文详细报道