



测样咨询

科研结合点

盐碱胁迫与非损伤微测技术 (NMT) 科研结合点

一、摘要

1、表型研究

- 1) 定量检测样品排 / 吸 Na^+ 速率, 直接表征 Na-H 逆向转运体、Na-H 交换体活性, 验证 SOS1、NHX1 等功能
- 2) 定量检测样品失 K^+ 速率, 直接表征其综合耐盐保 K^+ 能力,
- 3) 定量检测活体样品内外部不同位置的 Na^+ 、 K^+ 浓度

2、机制研究

1) 保 K^+ 机制

a. 外向 K^+ 通道 (GORK) 耐盐保 K^+ 贡献率

定量检测盐胁迫下的排 H^+ 速率, 结合其保 K^+ 能力, 判断耐盐 / 保 K^+ 能力强的样品, 其保 K^+ 机制是否是通过活跃的 PM H^+ -ATPase 排 H^+ , 促盐胁迫下质膜复极化, 关闭 GORK, 从而达到保 K^+ 效果

b. 非选择性阳离子通道 (NSCC) 耐盐保 K^+ 贡献率

以 K^+ 外排速率为落脚点, 从激活 NSCC 的关键信号 ROS 及 ROS 胞内胞外产生的途径, 利用 RBOHs 突变体、RBOH 抑制剂、胞内 ROS 清除剂等, 验证是否通过调节 NSCC 实现保 K^+ 及其调节机制

2) 质子泵 H^+ -ATPase

检测盐胁迫下的实时排 H^+ 速率, 用最直接的指标定量表征盐胁迫下 H^+ -ATPase 活性提升的程度

3) Ca^{2+} 信号转导

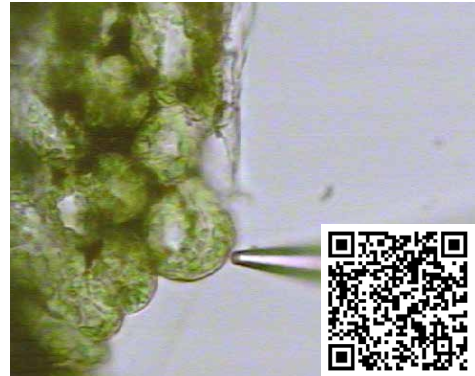
以排 / 吸 Na^+ 速率、失 K^+ 速率为落脚点, 结合 Ca^{2+} 通道抑制剂、 Ca^{2+} 螯合剂、外源 Ca^{2+} , 以及 Na-H 逆向转运体抑制剂、Na-H 交换体抑制剂、 K^+ 通道抑制剂、 H^+ -ATPase 抑制剂, 辅以外源 ROS, 验证 Ca^{2+} 信号是否参与了促植物排 Na^+ 、液泡区隔 Na^+ 、保 K^+ 等过程, 以及这一过程中的 Ca^{2+} 信号转导机制

扫码查看盐碱胁迫文献专辑

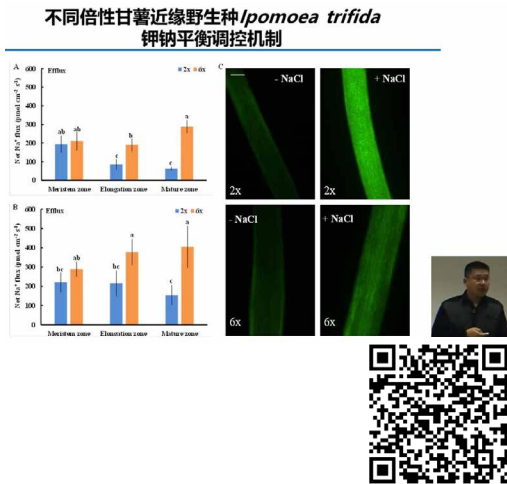


样品检测视频

叶肉



应用报告视频



根



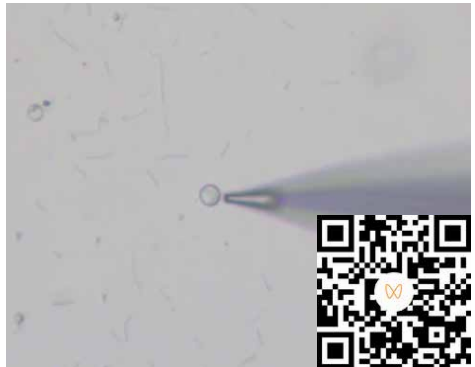
专家介绍



主讲人：刘彦强
中关村NMT产业联盟秘书长，联盟标准化技术委员会非损伤微测技术(NMT)高级认证工程师。是“01成果《非损伤微测技术及其应用》主要完成人。



原生质体 / 液泡





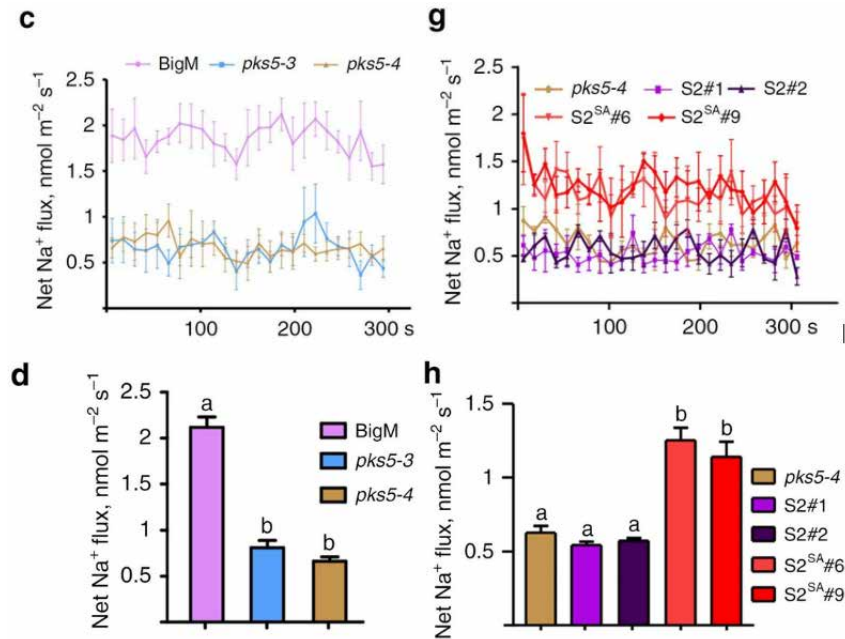
测量咨询

二、应用案例

1、*Nat Commun* 郭岩: Ca²⁺ 激活的 14-3-3 蛋白在盐胁迫中充当分子开关

通讯作者: 中国农业大学郭岩、杨永青

所用 NMT 设备: NMT 耐盐机制分析仪



图注. 之前的研究结果表明 PKS5 能磷酸化 SOS2 并调节 SOS2 激酶活性, 接下来需要确定 PKS5 是否影响拟南芥的耐盐性。利用 NMT 技术, 在 100 mM NaCl 处理 12 h 后, 检测了 7 日龄 BigM、*pk5-3* 和 *pk5-4* 幼苗根系分生区 Na⁺ 流速。盐胁迫根系呈现明显的净 Na⁺ 外排, 但 *pk5-3* 和 *pk5-4* 的外排速率明显低于 BigM (c, d)。SOS2 的过表达并不能改善 *pk5-4* 盐敏感表型, 然而, *pk5-4* 的盐敏感表型是通过 SOS2^{S294A} 的表达所改善。然后本研究检测了杂交株系中的 Na⁺ 流速, 发现 SOS2^{S294A} 的表达改善了 *pk5-4* 的 Na⁺ 流速, 而 SOS2 的表达却没有 (g, h)。因此, PKS5 以依赖 SOS2^{Ser294} 磷酸化的方式负调节拟南芥的耐盐性。

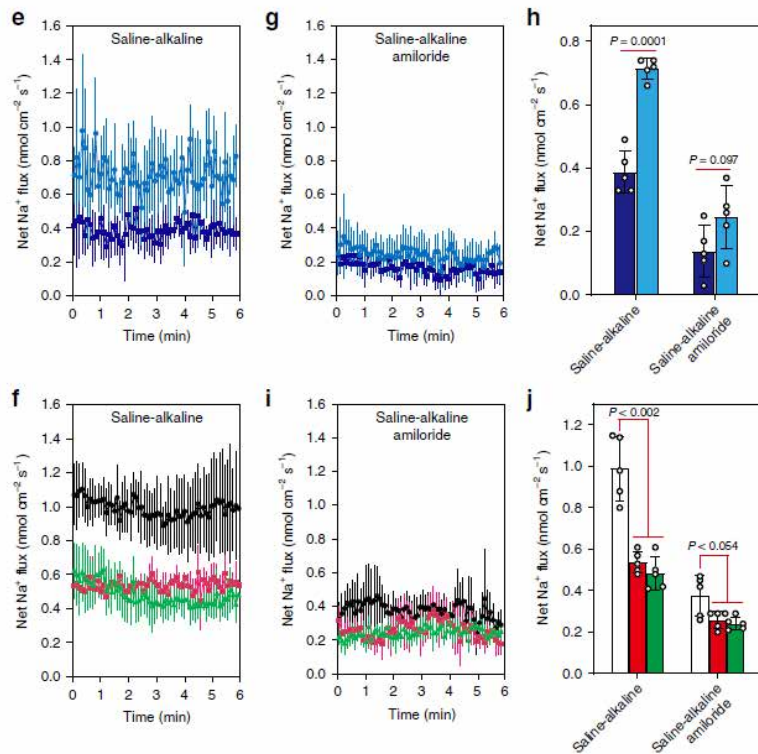


扫码查看本文详细报道

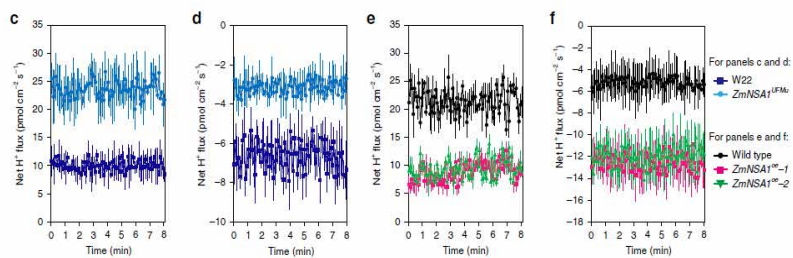
2、*Nat Commun* 蒋才富：钙离子结合蛋白编码基因的自然变异赋予玉米耐盐碱性

通讯作者：中国农业大学蒋才富

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



图注. *ZmNSA1^{UFMu}*、*ZmNSA1* 过表达植物及其野生型对照根分生组织区的 Na⁺ 流速 (e-j)。用 100mM NaCl (pH 8.0) 处理 5 天龄的植物 24 小时，在测试液 (e, f) 或含有 50 μ M 阿米洛利 (g, i) 的测试液中孵育 30 分钟，然后使用无创微测试技术 (NMT) 测量 Na⁺ 流速。



图注. 发现 *ZmNSA1^{UFMu}* 比 W22 具有更大的 H⁺ 流出量 (c, d)，而 *ZmNSA1* 过表达植物比野生型具有更低的 H⁺ 流出量 (e, f)，证实 *ZmNSA1* 负调节根 H⁺ 流出。



扫码查看本文详细报道

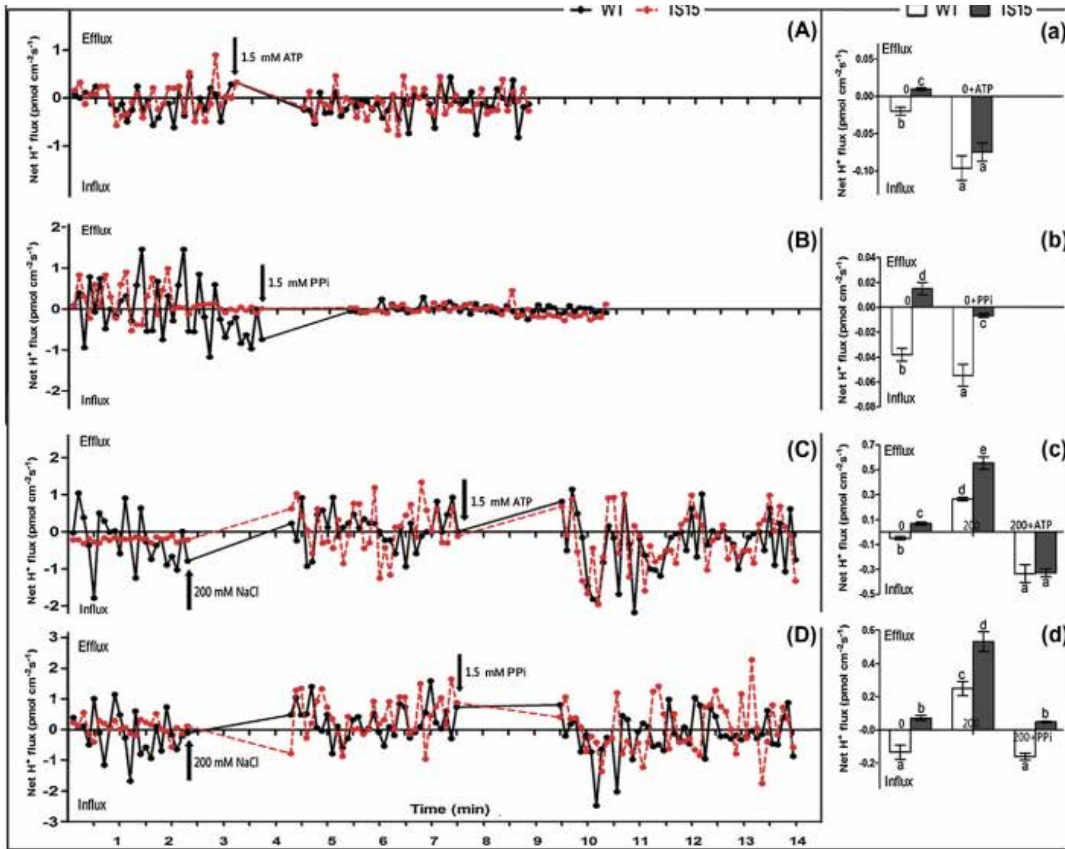


测样咨询

3、*Anal Biochem* 中科院植物所李银心：首次利用 NMT 直接检测到液泡 NHX1 活性

通讯作者：中科院植物研究所李银心

所用 NMT 设备：人工智能全自动非损伤微测系统



图注. 前期实验结果显示, 转基因材料可通过液泡区隔更多 Na^+ , 提升其耐盐能力。利用 NMT 检测发现, 盐胁迫下, 液泡 H^+ 外排速率增强, 且转基因材料明显强于野生型, 成功地利用 NMT 表征了 NHX1 活性。

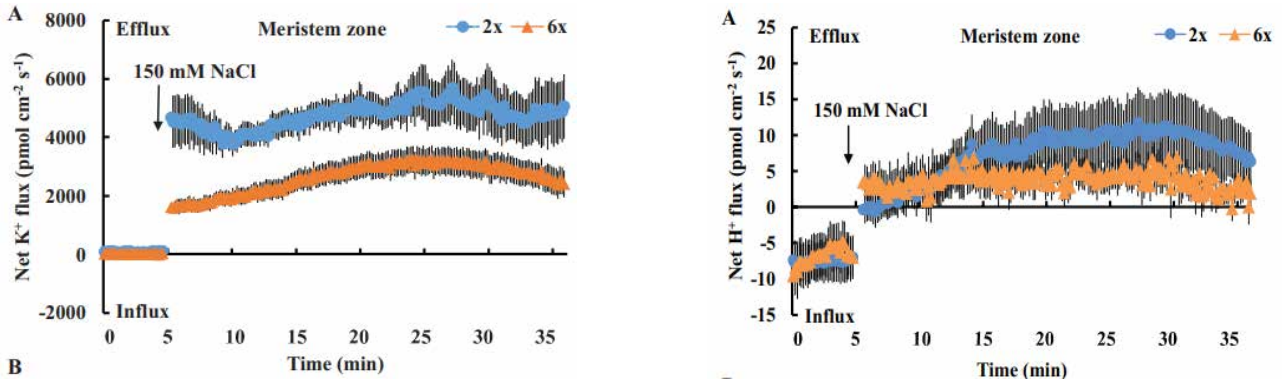


扫码查看本文详细报道

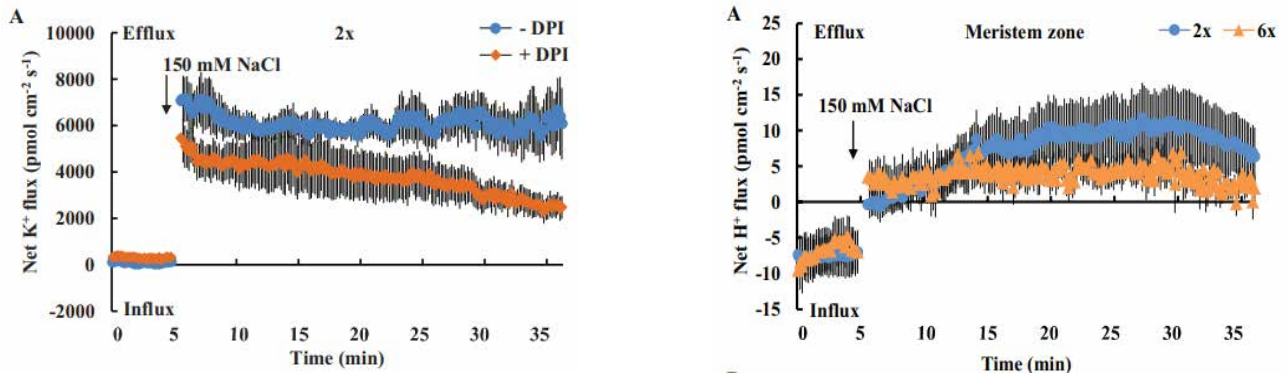
4、*J Exp Bot* 江苏师大孙健：多倍体维持钠钾稳态促耐盐能力的新机制

通讯作者：江苏师范大学孙健、李宗芸

所用 NMT 设备：非损伤微测系统（平台版）



图注：盐胁迫后，观察到 6 倍体甘薯相比 2 倍体，排出更少的 K⁺，排出更多的 H⁺。推测盐胁迫下，6 倍体甘薯的 H⁺-ATPase 活性更强，通过排出更多的 H⁺，抑制因盐胁迫导致的质膜去极化，从而抑制外向 K⁺ 通道（GORK）的打开，从而实现保 K⁺。



图注：倍体甘薯经 DPI（呼吸爆发氧化酶抑制剂，可抑制细胞表面产生 ROS）预处理后，与未处理组相比，因 DPI 抑制了胞外 ROS 的产生，抑制非选择性阳离子通道（NSCC）的打开，所以失 K⁺ 过程明显被抑制；而 6 倍体的 DPI 组，失 K⁺ 并未被明显抑制。推测 6 倍体甘薯的 NSCC 对 ROS 不敏感，进而导致盐胁迫下 6 倍体更少地通过 NSCC 失 K⁺，从而达到保 K⁺ 效果。



扫码查看本文详细报道

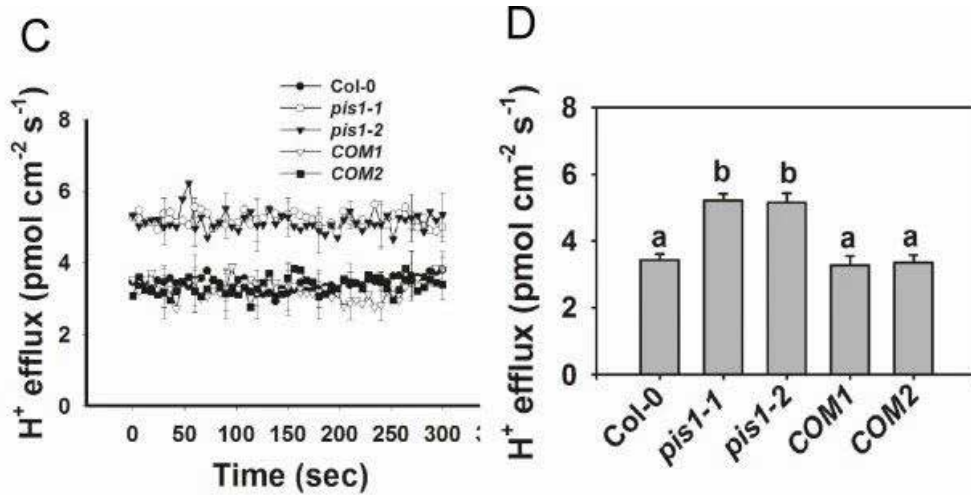


测样咨询

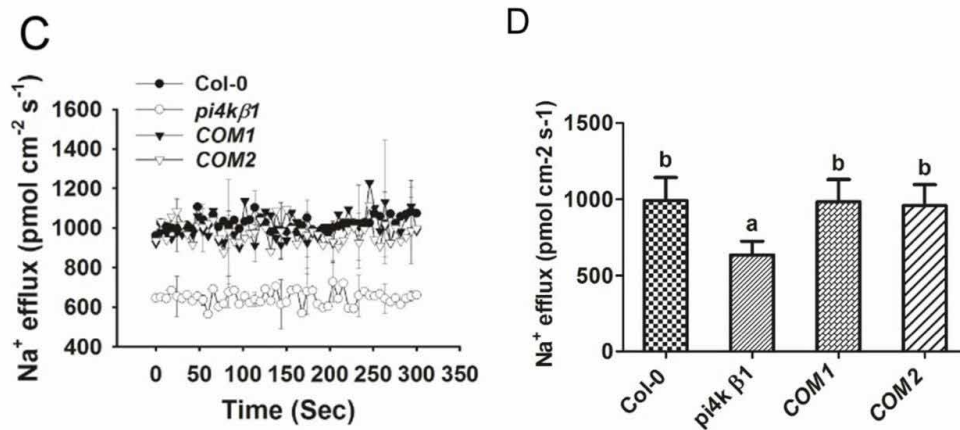
5、*Mol Plant* 郭岩、雷晓光：NMT 发现 PI4P/PI 动态调控质子泵、Na-H 逆向转运体活性调节植物耐盐

通讯作者：北京大学雷晓光；中国农业大学郭岩

所用 NMT 设备：NMT 耐盐机制分析仪



图注. 使用非损伤微测技术检测 Col-0, *pis1-1*, *pis1-2*, *COM1* and *COM2* 的 H⁺ 流速。将 7 日龄幼苗转入含 75 mM NaCl (pH 8.1) 的 MS 培养基中培养 24 h, 测定根尖 H⁺ 流速。*pis1-1* 和 *pis1-2* 植物的排 H⁺ 速率与 Col-0 相比显著增加, 而 *COM1* 和 *COM2* 的排 H⁺ 速率与 Col-0 相同。因此, 在 PI 含量减少的 *pis1* 突变体中, PM H⁺-ATPase 活性增加, 表明 PI 在体内抑制了 PM H⁺-ATPase 的活性。



图注. 在 100 mM NaCl 预处理 24 h 后, 用 NMT 检测 Col-0 外排明显减少, 而 *COM1* 和 *COM2* 互补系的 Na⁺ 外排被恢复到 WT 水平

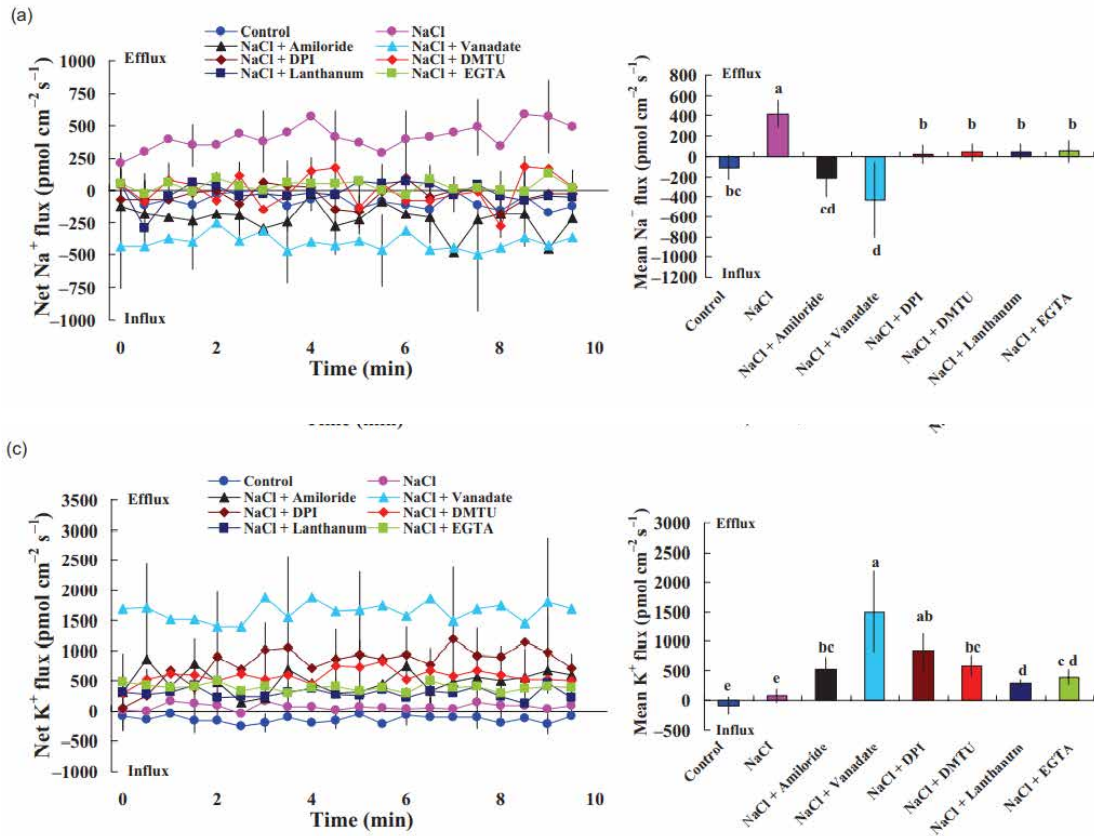


扫码查看本文详细报道

6、*Plant Cell Environ* 北林陈少良: H_2O_2 和 Ca^{2+} 调节植物盐胁迫下的 K^+/Na^+ 平衡

通讯作者: 北京林业大学陈少良

所用 NMT 设备: 非损伤微测系统 (平台版)



图注. 使用 Ca^{2+} 通道抑制剂、 Ca^{2+} 螯合剂等处理后发现, 盐胁迫下胡杨的排 Na^+ 变弱, 失 K^+ 变多。进一步实验发现, Ca^{2+} 通过调节 Na-H 逆向转运体的活性, 调控胡杨排 Na^+ ; 同时, 通过调节胞内 H_2O_2 浓度升高, 调控 H^+ -ATPase 活性增强, 抑制质膜去极化, 从而抑制 K^+ 通道打开, 实现保 K^+ 。



扫码查看本文详细报道