

## 专论与综述 Reviews

植物质膜 $H^+$ -ATPase 响应盐胁迫的分子机制

陈敏 王宝山\*

山东师范大学生命科学学院, 济南 250014

Molecular Mechanism of Response of Plant Plasma Membrane  $H^+$ -ATPase to Salt Stress

CHEN Min, WANG Bao-Shan\*

College of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China

**提要** 植物细胞质膜质子泵(PM  $H^+$ -ATPase)有看家酶之称, 是由多基因编码的, 其主要功能是向细胞营养物质的吸收和离子跨膜运输提供驱动力。文章介绍 PM  $H^+$ -ATPase 在植物抗盐中的作用及研究进展。

**关键词** 质膜  $H^+$ -ATPase; 盐胁迫; 分子机制; 抗盐性

植物细胞质膜质子泵(PM  $H^+$ -ATPase)是高等植物细胞质膜的主要成分之一, 利用水解ATP产生的能量将 $H^+$ 泵到细胞膜外, 形成跨膜电化学势梯度( $\Delta P$ ), 为细胞营养物质的吸收和离子跨膜运输提供驱动力(Palmgren 2001)。PM  $H^+$ -ATPase有“看家酶”之称, 在植物生命活动中的作用很大。盐分胁迫是自然界中一种主要的非生物胁迫。生长于盐渍环境中的植物会不同程度地受到盐分胁迫的影响, 在整株水平上表现为: 植物的生长速率降低, 叶片受伤以及根/冠比率的增加等(Munns和Termaat 1986); 而在细胞水平上表现为破坏细胞内的离子稳态。质膜上的 $H^+$ -ATPase在离子、溶质转运以及细胞离子稳态的建立和维持过程中起作用, 在胁迫条件下可能是首先做出响应的, 与植物的生长发育和耐逆性密切相关(Brüggenmann和Janiesh 1988)。关于植物细胞质膜 $H^+$ -ATPase的结构和功能以及其调控已有多篇综述(邱全胜 1999; 贾毅等 2002)介绍过, 而对其响应盐胁迫的分子机制的论述尚少。本文就植物细胞质膜 $H^+$ -ATPase在盐胁迫下响应的分子机制以及质膜 $H^+$ -ATPase的遗传转化作简要概述。

## 1 植物细胞质膜 $H^+$ -ATPase的分子特性

**1.1 质膜 $H^+$ -ATPase是一个大基因家族** 植物细胞质膜 $H^+$ -ATPase是由多基因编码的(贾毅等 2002)。其中, 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中有12个基因(*AHA1~AHA12*, Palmgren 2001); 烟草(*Nicotiana*

*plumbaginifolia*)中有9个基因(*PMA1~PMA9*, Oufattole等2000); 水稻(*Oryza sativa*)中有10个基因(*OSA1~OSA10*)。另外, 在番茄(*Lycopersicon esculentum*)等其他植物中也有1个以上基因的报道(贾毅等 2002)。这些基因根据其氨基酸序列不同, 分成5个亚家族(Palmgren 2001)(表1)。这5个亚家族的分类在单子叶植物和双子叶植物之间没有差别, 这可能是由于这5个亚家族的分离早于单子叶植物和双子叶植物的分离。其中, 亚家族I、II的基因表达丰度高, 原因是其序列可以从cDNA克隆中得到; 而亚家族III、IV、V的基因序列只能从基因组克隆中得到, 这暗示它们要么在正常情况下表达丰度很低, 要么是在特殊的细胞类型中或条件下表达。例如, *AHA10*分布在萌发的种子中。但是, 既然这3个亚家族在单子叶植物和双子叶植物中都能保留下来, 则说明它们可能在植物生命活动中是有作用的。植物质膜 $H^+$ -ATPase存在多个基因, 这样, 它便可在不同细胞和组织中更好地起调节作用, 让植物能更好地适应各种环境(Gévaudant 2003)。

## 1.2 质膜 $H^+$ -ATPase 拓扑结构和调节 质膜 $H^+$ -

收稿 2006-05-10 修定 2006-06-26

资助 国家自然科学基金(30270793)和山东省自然科学基金重点项目(Z2004D03)。

\*通讯作者(E-mail: bswang@sdsu.edu.cn, Tel: 0531-86180197)。

表1 拟南芥、烟草和水稻质膜H<sup>+</sup>-ATPase的基因家族及其特点

亚家族	物种	基因	基因序列号	氨基酸长度	表达部位(器官)	
I	拟南芥	<i>AHA4</i>	Q9SU58	960	根、花	
		<i>AHA11</i>	Q9LV11	956		
	烟草	<i>PMA1</i>	Q08435	957	根、茎、叶、花	
		<i>PMA2</i>	Q42932	956	根、茎、叶、花	
		<i>PMA3</i>	Q08436	956	根、茎、叶、花	
	水稻	<i>OSA1</i>	AJ439999	956		
		<i>OSA2</i>	AJ440000	957		
		<i>OSA3</i>	AF110268	265		
	II	拟南芥	<i>AHA1</i>	P20649	949	根、茎
<i>AHA2</i>			P19456	948	根	
<i>AHA3</i>			P20431	949	根、茎、叶、花	
<i>AHA5</i>			Q9SJB3	949		
<i>AHA12</i>			Q9T0E0	813		
烟草		<i>PMA4</i>	Q03194	952	根、茎、叶、花	
水稻		<i>OSA5</i>	AJ440216	955		
		<i>OSA7</i>	AJ440218	948		
III		拟南芥	<i>AHA10</i>	Q43128	947	花、种子
		烟草	<i>PMA9</i>	Q9SWH0	950	花
	水稻	<i>OSA9</i>	AJ440220	943		
IV	拟南芥	<i>AHA6</i>	Q9SH76	949		
		<i>AHA8</i>	Q9M2A0	948		
		<i>AHA9</i>	Q42556	954	花	
	烟草	<i>PMA5</i>	AY772462	925	子叶、茎、花、果实	
		<i>PMA6</i>	Q9SWH2	954	叶、花	
	水稻	<i>OSA4</i>	AJ440002	956		
		<i>OSA6</i>	AJ440217	942		
		<i>OSA10</i>	AJ440221	865		
	V	拟南芥	<i>AHA7</i>	Q9LY32	961	
烟草		<i>PMA8</i>	Q9SWH1	966	茎、叶	
水稻		<i>OSA8</i>	AJ440219	943		

ATPase 是一种“P-型”ATPase, 这意味着它在反应循环中形成一个磷酸化的中间产物。Morsomme 和 Boutry (2000) 提出了 PM H<sup>+</sup>-ATPase 的拓扑学模式, 认为质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 是一种跨膜 10 次的蛋白, 其氨基端(N末端)和羧基端(C末端)都位于细胞质侧, 另外, 在胞质内分别形成 1 个小环(位于第 2 个跨膜区和第 3 个跨膜区之间)和 1 个大环(位于第 4 个跨膜区和第 5 个跨膜区之间)。N 末端在膜内侧构成 H<sup>+</sup> 入口; C 末端是自抑制区域, 调控酶的活力。由前 6 个跨膜区组成质子通道。此酶有 3 个结构域: A 结构域(actuator domain)、P 结构域(phosphorylation domain)、N 结构域(nucleotide binding domain)。其中, A 结构域包括 N 末端和一部分小胞质环, P 结构域和

N 结构域都位于大胞质环内, P 结构域包含天冬氨酰残基(Asp 位点), 在催化循环中被磷酸化, N 结构域含有 ATP 结合位点, 并且与 P 结构域相连。质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的活性依赖于 Mg<sup>2+</sup>, 受 K<sup>+</sup> 的激活并受钒酸盐的抑制, 它是一种质子泵, ATP 水解时便由细胞向外泵出质子(邱全胜 1999)。

质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的 C 末端作为自抑制区(auto-inhibition domain), 对酶活性调节起关键作用。用胰蛋白酶将 C 末端水解掉或用分子生物学的方法在基因水平上将 C 末端的核苷酸序列去除后再转化, 酶的活性都会增加(Palmgren 等 1991; Palmgren 和 Christensen 1993)。此外, 用壳梭孢素(fusicoccin, FC)作活体或离体处理后, 质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的活性都能增加, 并且 FC 处理所引起的

质膜H<sup>+</sup>-ATPase活性变化与去掉C末端所引起的活性变化相似(Johansson等1993)。14-3-3调节蛋白通过与质膜H<sup>+</sup>-ATPase的C末端结合而增加其活性,并且14-3-3蛋白与质膜H<sup>+</sup>-ATPase有2个不同的结合位点,且都位于C末端(Jelich-Ottmann等2001)。FC或C末端倒数第2个氨基酸(Thr)的磷酸化都能促进14-3-3蛋白与质膜H<sup>+</sup>-ATPase的结合,并且能稳定这种结合,从而引起质膜H<sup>+</sup>-ATPase活性增加(Maudoux等2000)。

## 2 植物质膜H<sup>+</sup>-ATPase对NaCl胁迫的响应

**2.1 NaCl胁迫下的PM H<sup>+</sup>-ATPase活性** NaCl胁迫对PM H<sup>+</sup>-ATPase活性的影响因植物的种类、器官和处理强度的不同而异。Ballesteros等(1998)分别用75和150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理向日葵(*Helianthus annuus*) 3 d后,提取根的质膜微囊,测定质膜ATPase的水解活性和质子泵活性,结果表明,NaCl处理的向日葵根部质膜ATPase的水解活性和质子泵活性显著提高。Yang等(2004)的研究表明,小麦经NaCl处理后,耐盐品种‘L-Ch20’根部质膜H<sup>+</sup>-ATPase活性增加,而对盐敏感品种‘Y-J24’的根部质膜H<sup>+</sup>-ATPase的活性则下降。另外,绿豆(*Phaseolus radiatus*)经NaCl处理后,其根部质膜ATPase的水解活性也显著提高(Nakamura等1992)。Wu和Seliskar(1998)用NaCl处理大米草属植物*Spartina patens*(一种耐海水的C<sub>4</sub>草本植物,生活在潮间带地区)愈伤组织的结果表明,质膜H<sup>+</sup>-ATPase的水解活性显著提高。类似的结果也见于菜豆的叶肉细胞中(Shabala和Newman 2000)。Yamashita和Matsumoto(1997)的研究表明,NaCl胁迫导致大麦根中PM H<sup>+</sup>-ATPase活性减少20%~30%;而在番茄愈伤组织中,NaCl胁迫对其PM H<sup>+</sup>-ATPase活性则无影响。在盐生的车前草属植物*Plantago crassifolia*中也有相似的结果(贾毅等2002)。

**2.2 mRNA水平** NaCl胁迫对PM H<sup>+</sup>-ATPase基因转录也有影响。当细胞暴露于高盐环境中时,由细胞质膜有内负外正的膜电势和胞外Na<sup>+</sup>浓度的升高所建立起的Na<sup>+</sup>电化学势梯度,都有利于Na<sup>+</sup>从外界环境向植物细胞内的被动运输。胞质中过多的Na<sup>+</sup>对细胞有毒害作用,细胞要在此生境中生存,必须将胞质过多的离子区隔化到液泡中,或

通过质膜上的Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>逆向转运蛋白将Na<sup>+</sup>泵出胞外,后者需要质膜H<sup>+</sup>-ATPase为Na<sup>+</sup>泵出胞外提供能量。Niu等(1993b)用342 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理盐生植物大洋洲滨藜(*Atriplex nummularia*)的悬浮培养细胞,检测NaCl对其细胞质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因表达影响的结果表明,当把细胞先放在含盐介质(NaCl浓度为342 mmol·L<sup>-1</sup>)中培养一段时间后再培养在不含NaCl的营养介质中,经过这种处理的细胞,NaCl诱导对其基因表达的效果最明显,且NaCl诱导质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因的表达因细胞所处的发育阶段而异,细胞从滞后期到指数生长期的诱导效果最明显。

Niu等(1993a)用不同浓度NaCl处理盐生植物大洋洲滨藜和甜土植物烟草(*Nicotiana tabacum*)后分别测定根、茎和叶中质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因表达的结果表明,盐主要上调根和成熟叶中质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因的表达,而且盐生植物大洋洲滨藜的质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因受盐诱导表达程度比甜土植物烟草强得多。Binzel(1995)用NaCl处理番茄也得到相似的结果,也是盐上调根和成熟叶中质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因的表达。Niu等(1996)用RNA原位杂交技术(*in situ* RNA hybridization technique)进一步研究400 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理的盐生植物大洋洲滨藜的质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因表达的结果表明,根中mRNA积累主要在根尖的表皮细胞和伸长区以及分化区的内皮层细胞中;而地上部分的mRNA的积累则主要集中在微管束鞘细胞中。这些结果说明,在盐胁迫时,这些细胞中的质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因表达的上调可能与Na<sup>+</sup>区隔化以及细胞离子和pH稳态重建有关。

## 2.3 翻译水平

**2.3.1 NaCl胁迫下的PM H<sup>+</sup>-ATPase酶蛋白量** NaCl胁迫引起PM H<sup>+</sup>-ATPase的活性变化和酶蛋白量变化之间的关系主要有2种观点:一种认为,PM H<sup>+</sup>-ATPase活性变化是其蛋白量受NaCl胁迫发生变化所致,而不是其活性受到调节。Yang等(2004)的研究表明,NaCl胁迫下,耐盐小麦品种‘L-Ch20’的根中质膜H<sup>+</sup>-ATPase活性和蛋白量增加;而对盐敏感品种‘Y-J24’的根中质膜H<sup>+</sup>-ATPase活性和蛋白量都下降。他们认为,质膜H<sup>+</sup>-ATPase活性下降是由于蛋白量下降所致。我

们实验室用 NaCl 处理盐生植物盐地碱蓬 (*Suaeda salsa*) 的结果表明, NaCl 处理的根和成熟叶中 PM  $H^+$ -ATPase 活性增加, Western blotting 分析的结果也表明其蛋白量是增加的, 但根中 NaCl 胁迫引起 PM  $H^+$ -ATPase 活性和蛋白量的变化比叶中高得多 (未发表资料)。另一种则认为, NaCl 胁迫引起 PM  $H^+$ -ATPase 活性变化不是由于蛋白量受到调节, 而是受其他因子的影响。Chung 和 Matsumoto (1989) 用  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理黄瓜的结果表明, 黄瓜的 PM  $H^+$ -ATPase 活性明显低于未作 NaCl 处理的, 但 SDS-PAGE 电泳表明其蛋白含量不变, 他们认为, 此酶活性之所以增加是由于 NaCl 影响了  $\text{Ca}^{2+}$  浓度和磷脂的变化, 进而影响酶的活性, 这与 Matsumoto (1988) 的结论一致。Matsumoto 认为, 黄瓜中 PM  $H^+$ -ATPase 活性下降是由于  $\text{Ca}^{2+}$  缺乏所致。Ayala 等 (1996) 用 NaCl 处理盐角草 (*Salicornia bigelovii*) 后, 其质膜  $H^+$ -ATPase 活性增加, 但免疫分析表明, 蛋白量未发生变化。

现在又有一种新观点认为, Western blotting 的结果有时只能作为参考, 因为到目前为止, 还没有发现一种质膜  $H^+$ -ATPase 的抗体可以识别所有的同功酶。Wu 和 Seliskar (1998) 用 NaCl 处理大米草属植物 *Spartina patens* 的愈伤组织的结果表明, 经 NaCl 处理的质膜  $H^+$ -ATPase 水解活性和质子泵活性显著提高。但 Western blotting (抗体为拟南芥的多克隆抗体) 分析的结果并未表明蛋白量有所变化, 他们认为, 这可能是此种抗体不能识别对 NaCl 胁迫做出反应的质膜  $H^+$ -ATPase 同功酶。Sibole 等 (2005) 的结果对此观点是一个有力的支持。他们用 NaCl 处理盐生苜蓿属植物 *Medicago citrine* 后, 分别用 3 种抗体与质膜微囊进行反应, Western blotting 分析的结果表明, 当用识别亚家族 II 的抗体 46E5B11D5 或 AHA3 时, NaCl 处理的植物中质膜  $H^+$ -ATPase 的蛋白表达量明显增加; 而用识别亚家族 I 的抗体 PMA2 的则无变化。

**2.3.2 修饰** NaCl 胁迫可能通过直接或间接途径对 PM  $H^+$ -ATPase 进行修饰, 从而调节其活性。Palmgren 等 (1991) 的研究表明, 溶血卵磷脂 (lysophosphatidylcholine, LPC) 能激活质膜  $H^+$ -ATPase; 但如果质膜  $H^+$ -ATPase 已经去掉了 C 末端或是已经用 FC 处理过的, 则 LPC 不再起作用。

另外, 磷脂酶  $A_2$  也能间接地调节质膜  $H^+$ -ATPase 活性, 这是因为磷脂酶  $A_2$  能催化卵磷脂 (phosphatidylcholine, PC) 分解为 LPC 和脂肪酸, 从而能调节质膜  $H^+$ -ATPase 活性。另外, 细胞质中的  $\text{Ca}^{2+}$  (Morsomme 和 Boutry 2000)、胆固醇、豆固醇 (Grandmougin-Ferjani 等 1997) 等也能调节质膜  $H^+$ -ATPase 活性。NaCl 处理还可能通过改变上述物质含量而对质膜  $H^+$ -ATPase 活性起调节作用。

### 3 质膜 $H^+$ -ATPase 的遗传转化及其与抗盐性的关系

**3.1 质膜  $H^+$ -ATPase 的同源基因功能** 植物质膜  $H^+$ -ATPase 是由多基因编码的, 在同一个器官中存在多个同功酶, 这对人们研究植物体内单个同功酶的结构、酶动力学以及酶的调节特性来说受到很大限制 (Luo 等 1999), 但裂殖酵母 (YAK2, *Saccharomyces cerevisiae*) 异源表达系统提供了一种很好的研究单个同功酶特性的实验系统 (Jahn 等 2002)。用这种方法, 人们已经在酵母中表达了拟南芥的 *AHA1*、*AHA2*、*AHA3* (都属于亚家族 I) 基因 (Palmgren 和 Christensen 1994)。当酵母的基因被敲除以后, *AHA1* 和 *AHA3* 都不支持酵母生长, 而 *AHA2* 只能使酵母缓慢生长。并且 3 个基因在产物的量上和酶的特性上都不相同。Luo 等 (1999) 将烟草 (*N. plumbaginifolia*) 的 2 个质膜  $H^+$ -ATPase 基因 *PMA2* (属于亚家族 II) 和 *PMA4* (属于亚家族 I) 转入酵母 (YAK2) 中, 发现二者不仅有不同的动力学参数, 而且转入二者后酵母对 pH 呈现不同的敏感性。转入 *PMA2* 的酵母可在 pH 为 5.0 以上的介质中生长而转入 *PMA4* 的酵母则能在 pH 为 4.0 的介质中生长。

通过酵母异源表达系统, 可以对各种同工酶的酶特性进行比较, 但要弄清各种同工酶在植物体内的作用, 还应该将其在植物体内过量表达或将其沉默掉或下调后, 方可观察其对植物生长和各种生理指标的影响。Young 等 (1998) 将拟南芥的 *AHA3* 基因的 C 末端破坏掉 (去掉自抑制区, 酶活性增加) 后再将其转入拟南芥的结果表明, 被转化的拟南芥幼苗比野生型的更能抗外界呈酸性的介质, 从而证明 *AHA3* 的作用主要是维持细胞质中 pH 的稳定。在烟草的 9 个质膜质子泵基因中, *PMA4* 和 *PMA2* 是高表达的基因, 尽管二者属于

不同的亚家族,但二者在许多器官中同时表达。如果二者的功能完全重叠的话,去掉一个基因(*PMA4*)可能对植物没有影响,但如果*PMA4*在植物中起作用的话,去掉它,可能严重抑制植物生长和生理活动。Zhao等(2000)将烟草(*N. plumbaginifolia*)的同功酶基因*PMA4*(保留了这种同功酶本身的启动子,但插入了35S增强序列,从而使其表达加强)转入另一种烟草(*N. tabacum*)后检测其蛋白的结果表明,有些株系过量表达*PMA4*,而另一些株系则出现基因沉默现象。过量表达的株系在正常条件下的生长没有明显变化;而基因沉默的株系则植株矮小并且出现雄性不育,糖的转运受阻,气孔开度降低。由此便可知*PMA4*在植物中所起的作用。Young等(2001)采用基因敲除方法的研究表明,在拟南芥质膜 $H^+$ -ATPase的基因亚家族II(包括*AHA1*、*AHA2*、*AHA3*、*AHA5*)中,单独敲除*AHA1*或*AHA2*后所得的突变体尽管与野生型相比在表型上有明显的改变,但都能完成生活史。但经过几代后,其纯合子突变体不能存活。这些结果表明,尽管*AHA1*和*AHA2*的功能有部分重叠,但二者不能相互代替。

基因破坏和RNA干扰技术已在拟南芥和烟草的质膜 $H^+$ -ATPase的基因亚家族I成员上得到应用。在拟南芥中,*AHA4*和*AHA11*(亚家族I中仅有的基因)被双破坏后对植株生长没有明显影响。烟草亚家族I中3个基因被RNA干扰后,对植株发育也没有明显影响。亚家族II中一些同功酶的基因被破坏,对植株生长有害。就像上面提到的烟草中质膜*PMA4*被RNA干扰后,植株发育和糖转运受到影响,并且呈现雄性不育,去除*AHA1*和*AHA2*对胚胎发育来说是致命的。*AHA3*对雄配子发育是必需的。目前,植物质子泵亚家族I和II的所有生化、基因破坏、RNA干扰的研究已有了重大的进展,但亚家族III、IV、V的特性和功能研究还有待深入。

**3.2 与抗盐性相关的遗传转化** 植物细胞质膜 $H^+$ -ATPase可能与盐胁迫下 $Na^+$ 区隔化以及细胞离子和pH稳态重建有关,所以有关基因的遗传转化对植物抗盐的研究是非常重要的。*AHA4*中插入一段DNA后得到一种半显性的突变体,并表现出对

盐的高度敏感性。Vitart等(2001)用T-DNA插入突变的方法使亚家族I中的*AHA4*发生突变,突变后的*AHA4*没有缺失表达,但是所形成的质膜 $H^+$ -ATPase产物不完整,从而影响其功能,导致突变株对盐高度敏感,根和叶的生长量比野生型的稍有下降。看来,此同功酶可能与植物的耐盐性有关。Sibole等(2005)的结果则表明,在盐生苜蓿属植物*Medicago citrine*中,用识别亚家族II的抗体(46E5B11D5或AHA3)与质膜微囊反应的结果表明,盐处理的亚家族II的蛋白表达量明显增加,但用识别亚家族I的抗体PMA2与质膜微囊反应的蛋白表达却没有变化。这些结果表明,亚家族II的成员可能与盐诱导有关。以上的结果说明,盐胁迫条件下,不同植物中反应的同功酶可能不同。这方面的研究还很少,尚待深入探讨。

#### 4 结语

盐胁迫条件下,有关植物质膜 $H^+$ -ATPase活性调控的分子机制,特别是有关的遗传转化工作还很少,还有待深入研究。在今后的研究中,以下几个方面值得注意:

(1)在质膜 $H^+$ -ATPase的基因家族中,最好能找到是哪个同工酶与植物的抗盐性有关,弄清楚这个同工酶是由于酶本身受盐调控,还是其启动子上哪些调控元件受盐诱导。如果是酶本身受盐的调控的话,可以尝试将此基因转入模式植物中,并进一步检测其功能;如果是其启动子受盐诱导的话,则可以先克隆其启动子,然后用于有关的植物耐盐问题的研究。

(2)盐渍生境中,植物细胞质膜内负外正的膜电势和胞外 $Na^+$ 浓度的升高建立起的 $Na^+$ 电化学势梯度,都有利于 $Na^+$ 从外界环境到植物细胞内的被动运输。胞质中过多的 $Na^+$ 对细胞有毒害作用,必须将其区隔化到液泡或排出胞外。这样,质膜 $Na^+/H^+$ 逆向转运蛋白将胞质中过多的 $Na^+$ 排出细胞后,即可减轻细胞的盐害,但其行使功能时必须借助质膜 $H^+$ -ATPase为其提供能量,二者协同作用才能真正将植物的盐害降低到最低水平。所以,将质膜 $H^+$ -ATPase和 $Na^+/H^+$ 同时过量表达,特别是采用根中的专一性启动子,在根中同时过量表达质膜 $H^+$ -ATPase基因和质膜上的 $Na^+/H^+$ 逆向转运蛋白,从而提高植物耐盐性可能是有意义的。

(3) 盐生植物的质膜H<sup>+</sup>-ATPase在高盐条件下活性明显增加,其原因可能是:其同功酶的启动子是盐诱导型的,因而盐胁迫下基因表达量增加;盐处理引起翻译过程中表达量增加;酶本身的活性受盐调节,即与酶活性有关的修饰蛋白,或离子环境由于盐处理而发生改变,因而酶活性上调。但迄今所克隆到的质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因中,还没有见到与盐生物质膜H<sup>+</sup>-ATPase基因相关的报道,这无疑是值得探讨的课题。

### 参考文献

- 贾毅,王伯初,王秀娟,段传人,阳小成(2002).植物细胞质膜H<sup>+</sup>-ATPase的调控.植物生理学通讯,38(1):98~102
- 邱全胜(1999).植物细胞质膜H<sup>+</sup>-ATPase的结构和功能.植物学通报,16(2):122~126
- Ayala F, O'Leary JW, Schumaker KS (1996). Increased vacuolar and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activities in *Salicornia bigelovii* Torr. in response to NaCl. J Exp Bot, 47: 25~32
- Ballesteros E, Kerkeb B, Donaire JP, Belver A (1998). Effects of salt stress on H<sup>+</sup>-ATPase activity of plasma membrane-enriched vesicles isolated from sunflower roots. Plant Sci, 134: 181~190
- Binzel ML (1995). NaCl-induced accumulation of tonoplast and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase message in tomato. Physiol Plant, 94: 722~728
- Brüggemann W, Janiesch P (1988). Properties of native and solubilized plasma membrane ATPase from the halophyte *Plantago crassifolia*, grown under saline and non-saline conditions. Physiol Plant, 74: 615~622
- Chung GC, Matsumoto H (1989). Localization of the NaCl-sensitive membrane fraction in cucumber roots by centrifugation on sucrose density gradients. Plant Cell Physiol, 30(8): 1133~1138
- Gévaudant MAF (2003). The plasma membrane proton pump ATPase: the significance of gene subfamilies. Planta, 216: 355~365
- Grandmougin-Ferjani A, Schuler-Muller I, Hartmann MA (1997). Sterol modulation of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity from corn roots reconstituted into soybean lipids. Plant Physiol, 113: 163~174
- Jahn TP, Schulz A, Taipalensuu J, Palmgren MG (2002). Post-translational modification of plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase as a requirement for functional complementation of a yeast transport mutant. J Biol Chem, 277(8): 6353~6358
- Jelich-Ottmann C, Weiler EW, Oecking C (2001). Binding of regulatory 14-3-3 proteins to the C terminus of the plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase involves part of its autoinhibitory region. J Biol Chem, 276(43): 39852~39857
- Johansson F, Sommarin M, Larsson C (1993). Fusicoccin activates the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase by a mechanism involving the C-terminal inhibitory domain. Plant Cell, 5(3): 321~327
- Luo H, Morsomme P, Boutry M (1999). The two major types of plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase show different enzymatic properties and confer differential pH sensitivity of yeast growth. Plant Physiol, 119: 627~634
- Matsumoto H (1988). Repression of proton extrusion intact cucumber roots and the proton transport rate of microsomal membrane vesicles of the roots due to Ca<sup>2+</sup> starvation. J Plant Nutr, 29(1): 79~84
- Maudoux O, Batoko H, Oecking C, Gevaert K, Vandekerckhove J, Boutry M, Morsomme P (2000). A plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase expressed in yeast is activated by phosphorylation at its penultimate residue and binding of 14-3-3 regulatory proteins in the absence of fusicoccin. J Biol Chem, 275(23): 17762~17770
- Morsomme P, Boutry M (2000). The plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase: structure, function and regulation. Biochim Biophys Acta, 1465: 1~16
- Munns R, Termaat A (1986). Whole-plant responses to salinity. Aust J Plant Physiol, 13: 143~160
- Nakamura Y, Kasamo K, Sakata M, Ohta E (1992). Stimulation of the extrusion of protons and H<sup>+</sup>-ATPase activities with the decline in pyrophosphatase activity of the tonoplast in intact mung bean roots under high-NaCl stress and its relation to external levels of Ca<sup>2+</sup> ions. Plant Cell Physiol, 33(2): 139~149
- Niu XM, Damsz B, Kononowicz AK, Bressan RA, Hasegawa PM (1996). NaCl-induced alterations in both cell structure and tissue-specific plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase gene expression. Plant Physiol, 111: 679~686
- Niu XM, Narasimhan ML, Salzman RA, Bressan RA, Hasegawa PM (1993a). NaCl regulation of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase gene expression in a glycophyte and a halophyte. Plant Physiol, 103: 713~718
- Niu XM, Zhu JK, Narasimhan ML, Bressan RA, Hasegawa PM (1993b). Plasma-membrane H<sup>+</sup>-ATPase gene expression is regulated by NaCl in cells of the halophyte *Atriplex nummularia* L. Planta, 190: 433~438
- Oufattole M, Arango M, Boutry M (2000). Identification and expression of three new *Nicotiana plumbaginifolia* genes which encode isoforms of a plasma-membrane H<sup>+</sup>-ATPase, one of which is induced by mechanical stress. Planta, 210: 715~722
- Palmgren MG (2001). Plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPases: powerhouses for nutrient uptake. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 52: 817~845

- Palmgren MG, Christensen G (1993). Complementation *in situ* of the yeast plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase gene *pma1* by an H<sup>+</sup>-ATPase gene from a heterologous species. FEBS Lett, 317 (3): 216~222
- Palmgren MG, Christensen G (1994). Functional comparisons between plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase isoforms expressed in yeast. J Biol Chem, 269: 3027~3033
- Palmgren MG, Sommarin M, Serrano R, Larsson C (1991). Identification of an autoinhibitory domain in the C-terminal region of the plant plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase. J Biol Chem, 266: 20470~20475
- Shabala S, Newman I (2000). Salinity effect on the activity of plasma membrane H<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> transporters in bean leaf mesophyll: masking role of the cell wall. Ann Bot, 85: 681~686
- Sibole JV, Cabot C, Michalke W, Poschenrieder C, Barceló J (2005). Relationship between expression of the PM H<sup>+</sup>-ATPase, growth and ion partitioning in the leaves of salt-treated *Medicago* species. Planta, 221: 557~566
- Vitart V, Baxter I, Doerner P, Harper JF (2001). Evidence for a role in growth and salt resistance of a plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in the root endodermis. Plant J, 27: 191~201
- Wu JL, Seliskar DM (1998). Salinity adaptation of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in the salt marsh plant *Spartina patens*: ATP hydrolysis and enzyme kinetics. J Exp Bot, 49 (323): 1005~1013
- Yamashita K, Matsumoto H (1997). Effect of sodium chloride stress on the plasma membrane ATPase of barley roots: probable cause for decrease in ATPase activity. J Plant Nutr, 20: 233~245
- Yang YL, Guo JK, Zhang F, Zhao LQ, Zhang LX (2004). NaCl induced changes of the H<sup>+</sup>-ATPase in root plasma membrane of two wheat cultivars. Plant Sci, 166: 913~918
- Young JC, DeWitt ND, Sussman MR (1998). A transgene encoding a plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase that confers acid resistance in *Arabidopsis thaliana* seedlings. Genetics, 149: 501~507
- Young JC, Krysan PJ, Sussman MR (2001). Efficient screening of *Arabidopsis* T-DNA insertion lines using degenerate primers. Plant Physiol, 125: 513~518
- Zhao RM, Dielen V, Kinet JM, Boutry M (2000). Cosuppression of a plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase isoform impairs sucrose translocation, stomatal opening, plant growth, and male fertility. Plant Cell, 12: 535~546