

植物 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白 功能及调控的研究进展

石乐义¹, 李美茹^{1*}, 李洪清², 陈贻竹¹

(1. 中国科学院华南植物园, 广东广州 510650; 2. 华南师范大学生命科学院, 广东广州 510631)

摘要: Na^+/H^+ 逆向转运蛋白是一种调控 Na^+ 、 H^+ 跨膜转运的膜蛋白, 对细胞内 Na^+ 的平衡和 pH 值的调控等活动具有重要作用。该文主要对近年来 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白功能及其调控的研究进展进行概述, 着重讨论其在调控离子稳态平衡, 液泡 pH 值大小与花色显现, 以及在影响细胞、器官(叶片)发育, 盐胁迫信号转导等方面的可能作用。

关键词: Na^+/H^+ 逆向转运蛋白; *AtNHX*; *SOS1*

中图分类号: Q942.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2006)06-0602-06

Advances on the function and regulation of Na^+/H^+ antiporter in plants

SHI Le-yi¹, LI Mei-ru^{1*}, LI Hong-qing², CHEN Yi-zhu¹

(1. *South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;*

2. College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: Na^+/H^+ antiporter is a kind of membrane protein regulating the transmembrane Na^+ 、 H^+ , which plays a major role in cellular pH, Na^+ homeostasis etc. Recent advances on the function and regulation of Na^+/H^+ antiporters were summarized in the paper. The possible mechanism of Na^+/H^+ antiporters on the regulation of ion homeostasis, vacuole pH, flower color, development of cell and organs, and the salt stress signal transduction was discussed in detail.

Key words: Na^+/H^+ antiporter; *AtNHX*; *SOS1*

Na^+/H^+ 逆向转运蛋白是负责 Na^+ 、 H^+ 交换的一种跨膜运输蛋白, 首次对该传递体的描述见于 1974 年的 West 和 Michell 的研究论文中。1976 年分别首次在动物老鼠肾细胞质膜上和植物大麦质膜上发现 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白。相继发现 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白广泛存在于细菌、酵母、藻类、动物和高等植物的膜系统上。目前, 在 GenBank 中已经注册的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因序列已经达到 400 多个, 氨基酸序列达 236 个。近年来, 编码

Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的基因以及该基因的表达活性的调节机制, 该蛋白的结构功能和活性调节机制等方面引起了人们的广泛重视。

1 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的结构组成

跨膜运输蛋白 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白, 其跨膜区、胞质尾区以及功能氨基酸残基对该蛋白功能的发挥起着极其重要作用。其 N-末端结构域由 10~

收稿日期: 2004-11-01 修回日期: 2005-10-27

基金项目: 国家自然科学基金(30170667)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30170667)]

作者简介: 石乐义(1978-), 男, 河南洛阳人, 硕士, 主要从事植物基因工程研究。

* 通讯作者(Author for correspondence)

12 个跨膜片段组成,不同 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的高度同源性主要位于该端,该端是负责 Na^+ 转运的区域,对 Na^+ 的竞争性抑制剂氨基吡嗪脒及其衍生物敏感。C-末端为一长链尾巴,位于细胞质或液泡囊腔内,此结构域内含有多个蛋白激酶作用位点,能与钙调素结合,参与启动多种信号的反应,是调节活性的区域。

不同 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白组成氨基酸具相似性和保守性。相似性较近的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白之间具同源性长片段的氨基酸序列,相似性较远的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白之间具同源性短片段的氨基酸序列,这些不同的跨膜区域的同源性氨基酸侧链可能共同协作调控阳离子的结合和转运,即使在 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白中处于分散状态(Dibro 等,1998;Schuldiner 等,1996)。此外,存在于跨膜区域片段上邻近或分离较远的,但其三维结构在 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白进化中存在保守性的氨基酸也可能对其功能起着重要作用(Christine 等,2001)。组氨酸是 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白组成结构中最重要的一种氨基酸。在酶活化作用的关键位点往往都有组氨酸存在,且常常是电子转运体系所必须的一种氨基酸。组氨酸离子化可形成分子间或分子内的氢键,对于蛋白可能具有各种不同的影响,既可通过影响蛋白质组成结构的变化从而影响活性,也可通过影响其通道大小的变化影响 H^+ 和其它离子的转运(Todt 等,1992;Enslin 等,2000;Echtay 等,2002)。此外,天冬氨酸(Asp)也对 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白起重要作用。Asp-65、Asp-133、Asp-163、Asp-164 在 Na^+ 离子结合和运输过程中起作用,是 NhaA 行使功能必不可少的氨基酸残基。NhaA 对于大肠杆菌生活在高盐(0.9 M Na^+ , pH7.0)和高碱性(pH8.5, 0.7 Na^+)环境中是必要的功能蛋白,该蛋白对 pH 变化极其敏感,在 pH 为 7.0 时,活性被关闭,而 pH 为 8.5 时,活性显著升高。His225 已被鉴定在 NhaA 响应 pH 值变化中起作用,突变株 H225R 对 pH 的响应趋向于酸性,在 pH 值为 8.5 时,活性关闭。此外,其连接跨膜片段 VIII 和 IX 的 VIII-IX 环和 N-末端随着 pH 值变化发生着构型的变化(Padan 等,2001)。目前为止,有关功能氨基酸的研究主要集中在对 *Escherichia coli* 的 NhaA 蛋白,酵母 *Schizosaccharomyces pombe* 的 sod2 蛋白,以及哺乳类的 NHE1 蛋白的研究,而有关植物 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的功能氨基酸研究还较少。

2 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的功能

2.1 调控细胞质的离子稳态平衡

Na^+/H^+ 逆向转运蛋白介导着胞质中 Na^+ 、 K^+ 和 H^+ 的稳态平衡。 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白在转运 Na^+ 到细胞膜一侧的同时,也将另一侧的 H^+ 转入, Na^+ 、 H^+ 逆向运输的过程并不需要额外的新陈代谢的能量,而是仅仅依靠形成的离子的电化学梯度。细菌、酵母、高等植物、哺乳动物中 Na^+ 跨膜运输的机制不完全一样。在动物细胞中,依靠质膜 Na^+/K^+ -ATPase 形成的 Na^+ 电化学梯度驱动 Na^+/H^+ 逆向运输,在将细胞外的 Na^+ 摄入到细胞中来的同时,将细胞内过量的 H^+ 转出到胞外(Fliegel 等,1996;Counilo 等,2000)。而在细菌和酵母中, Na^+ 、 H^+ 的转运方向却正好相反,它依靠质膜上 H^+ -ATPase 形成的 H^+ 电化学梯度将细胞内的 Na^+ 转出(Hahnengberger 等,1996)。在哺乳动物和真菌细胞中, Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的转运呈电中性,即 Na^+ 、 H^+ 呈 1:1。而在大肠杆菌的 NhaA 逆向转运蛋白中,转运出 1 个 Na^+ ,同时转入 2 个 H^+ (Taglicht 等,1991)。大肠杆菌的 NhaB 逆向转运蛋白,转运出 2 个 Na^+ ,同时转入 3 个 H^+ (Pinner 等,1994)。所有的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白,都可以逆向转运 Li^+/H^+ 。在植物中,质膜和 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白分别利用质膜上 H^+ -ATP 酶,液泡膜上焦磷酸酶和 V-ATP 酶水解 ATP 产生的质子驱动力转运 Na^+ 、 H^+ ,为一种电中性转运蛋白。AtNHX1 和 AtCHX23 除有转运 Na^+ 、 H^+ 跨膜运输外,还有调整 K^+ 跨膜运输的作用,因此,现在也常以 $\text{Na}^+(\text{K}^+)/\text{H}^+$ 逆向转运蛋白表示(Zhang 等,2001;Venema 等,2002;Zhang 等,2004;Song 等,2004)。因此,质膜、液泡膜和叶绿体被膜上的 Na^+/H^+ 逆向运输在维持植物细胞质中 Na^+ 稳态平衡、一定 K^+/Na^+ 比值和 pH 值稳定中起着重要的调节作用。

Na^+/H^+ 逆向转运蛋白直接影响胞质或细胞器 pH 值的变化,也影响细胞生长对环境 pH 值的要求。如野生型拟南芥的胞质 pH 约为 7.0,但 *chx23-1* 突变株则为 7.4,突变株在低 pH 值(4.0)环境下较高 pH 值(7.0)环境中生长良好(Song 等,2004)。啤酒酵母在碱性条件下,利用质膜 Na^+ -ATP 酶将 Na^+ 泵出胞外,但在酸性环境下则是利用

Na^+/H^+ 逆向转运体将 Na^+ 排出细胞。在日本牵牛 (*Ipomoea nil* 和 *Pharbitis nil*) 中, 有一个与 *AtNHX1* 同源的基因 (Pr, 编码 *InNHX1* 蛋白), 该基因的表达与液泡 pH 值的增大密切相关, 该基因在开花前 12 h 时的表达量最大, 紫色的花蕾打开时, 花瓣为蓝亮色, 相应的表皮细胞液泡 pH 值也由 6.6 上升到 7.2。当转座子 *Tpn4* 插入 Pr 基因时, 突变株 (Pr-m) 花瓣颜色不发生变化, 仍为紫色, 相应地表皮细胞液泡 pH 值没有发生变化。三色牵牛 (*Ipomoea tricolor*) 花瓣 pH 在紫红色花蕾中为 6.6, 在打开的蓝色花中为 7.7, 相应地, 盛开蓝色花瓣细胞的 V-Ppase、质膜 H^+ -ATPase 和 *NHX1* 蛋白量均显著增加, 液泡依赖于 ATP 或 PPi 水解的 H^+ 转运活性也显著升高。仅在盛开的花瓣液泡、花冠檐组织检测到 *NHX1* 蛋白。这说明三色牵牛开花时液泡 pH 值发生变化是由 *NHX1* 利用液泡膜 V-Ppase 和 V-ATPase 产生质子梯度将胞质中 Na^+ 和 (或) K^+ 转运入液泡导致的 (Asen 等, 1997; Yoshida 等, 1995; Kawachi 等, 2004)。虽然以上实验结果显示液泡 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白功能可能与花瓣表皮细胞 pH 值变化和颜色的改变密切相关, 但仍缺乏重要的直接证据。

2.2 影响细胞组织器官的发育

K^+ 和 H^+ 离子是植物细胞生命活动最基本的离子, 参与很多重要的生理生化代谢活动 (Na^+ 在某些盐生植物中可能有重要的功能), 直接影响液泡体积、细胞体积、气孔保卫细胞的运动、植物膨压的维持等。既然膜系统中的 Na^+/H^+ 逆向传递体有直接介导胞质中以上离子浓度的调节作用, 那么该蛋白对植物细胞或组织器官的发育也有重要影响。与野生型相比, *AtNHX1* 的突变体表现出叶面积缩小, 叶表皮层大体积细胞数量减少。在盐胁迫下, 该突变体幼苗的建成能力受到削弱, 说明 *AtNHX1* 不仅影响植物的耐盐性同时也有影响叶片发育的作用 (Apse 等, 2003)。 *Chx23-1* 突变体的质体虽具有整齐的一类囊体, 但缺少基粒片层, 叶片叶绿素含量少, 呈淡黄色, 胞质 pH 值偏高, 对 NaCl 敏感, 这也说明 *AtCHX23* 不仅影响植株的抗盐力也影响着叶片的生长发育 (Song 等, 2004)。

2.3 调控植物的耐盐性

2.3.1 与植物的耐盐性密切相关

自 1976 年在大麦质膜上发现 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白以来 (Ratner 等, 1976), 人们不断发现 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白与

植物的耐盐性密切相关。某些盐敏感植物, 可能由于其体内没有 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白而不耐盐胁迫, 如中型车前 (Staal 等, 1991); 某些耐盐的甜土植物, 如大麦、向日葵和海滨车前, 在盐处理下, 体内能合成 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白, 因此具一定的耐盐性; 一些盐生植物, 如兼性 CAM 植物冰叶日中花、甜菜, 其 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白是组成型的, 无盐条件下 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白活性较低, 盐条件下 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白合成显著增加 (Barkla 等, 1995); 拟南芥突变体 *AtNHX1*、*SOS1*、*AtCHX* (分别缺失编码液泡膜、质膜、叶绿体膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因) 盐敏感性增加。1998 年, Blumwald 实验室首次从拟南芥中克隆到编码液泡膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因 *AtNHX1* (Gaxiola 等, 1999) 后, 并于 1999 年获得高耐盐性的超表达的转基因株, 相继地, 人们分别又从水稻、冰叶日中花、碱蓬、北滨藜和小麦等中克隆了编码 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的基因 *OsNHX1*、*McNHX1*、*SsNHX1*、*AgNHX1*、*TaNHX1*, 也相继获得了转 *AtNHX1* 基因的拟南芥、番茄、油菜及分别转 *OsNHX1* 和 *AgHHX1* 基因的水稻植株。结果表明, 以上转基因株的抗盐性均高于野生型植株。已被克隆编码的质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因的植物有蓝藻的 *SyNhap* (Hamada 等, 2001)、拟南芥 *SOS1* (Shi 等, 2000) 基因等。2002 年转 *SOS1* 基因拟南芥植株被证明具有高耐盐力。这充分地证明了操作编码液泡膜、质膜 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因的表达活性可以实行植物耐盐基因工程的育种。

2.3.2 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白提高植物耐盐性的机制

细胞耐盐的策略之一体现为 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白对胞质 Na^+ 、 K^+ 、 H^+ 稳态平衡的有效调控。为避免胞质中过量 Na^+ 对生理活动的干扰, 细胞分别利用质膜、液泡膜或叶绿体膜中的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白将胞质中过量的 Na^+ 排出胞外或贮存隔离于液泡或叶绿体中。完整植株耐盐胁迫的策略之一也体现在对 Na^+ 在植物体内运输的有效控制中: 减少根组织细胞对土壤中 Na^+ 的吸收; 减少根皮层组织细胞的 Na^+ 运往茎木质部组织; 植物组织中 Na^+ 有效再分配 (将 Na^+ 贮积于老叶组织里或 Na^+ 通过韧皮部运输排运到根组织, 减少 Na^+ 在枝叶的积累); Na^+ 被区隔化在叶片组织的液泡里或通过盐腺或盐囊泡排出体外等 (Tester 等, 2003)。

植物细胞如何感知胞质中盐胁迫信息并完成对

胞质 Na^+ 稳态平衡调节? 盐胁迫信息包含渗透胁迫和离子胁迫, 渗透胁迫信号的转导可能主要依赖于 ABA 信息转导途径, 有 MYC/MYB 转录因子的介导作用 (Shinozaki 等, 2000)。AtNHX1 和 AtNHX2 的启动子区域并不存在结合 ABA 的基序, 而含有基序 AACNG/CACGTG (该基序为 MYC/MYB 中的一部分序列)。推测 AtNHX1 和 AtNHX2 可能也受 ABA 的调控, 参与盐渗透胁迫信号的转导作用 (Pinner 等, 1994; Araron 等, 2003) (图 1a)。

盐离子胁迫信息的转导途径可分为 SOS 介导和不依赖于 SOS 介导的信息转导途径。目前研究较为清楚的转导 Na^+ 信号途径的是存在于拟南芥中的 SOS 信息转导途径: 一方面通过 SOS3/SOS2 复合物调节 SOS1 的活性, 另一方面也通过 SOS2 调节 AtNHX1 活性, 调节胞质 Na^+ 的稳态平衡。SOS2 是一个丝氨酸/苏氨酸激酶, 拥有与酵母 SNF1 和哺乳动物 AMPK 激酶一样的催化区域, 激酶区域在蛋白质的 N-末端, 在蛋白的 C-末端有一个调节区域, 抑制激酶活性。SOS3 是结合 Ca^{2+} 的蛋白质, 在其 C-末端有一个 EF 手型的区域, 在 N-末端有一个 myristoylation 位点。SOS3 结合位点位于 SOS2 调节区域内的 FISL (21 个氨基酸基序), 当 SOS2 激酶区域中的活化环上 Thr168 变为 Asp 时, SOS2 激酶变为不依赖于 SOS3 的组成型活化形式。拟南芥中至少有 23 个类 SOS2 的蛋白激酶 (PKS), 这些 PKS 在激酶区域均含有 FISL 基序, 属于 CaMKII/SNF1/AMPK 激酶家族。除 SOS3 外, SOS2 可能还受多个盐胁迫信号传导途径上游元件的调节。虽然 SOS1 和 AtNHX1 均受 SOS2 的调节, 但途径不同。AtNHX1 不受 SOS3 调节, 在 SOS2 调节 AtNHX1 的途径中, 还存在一个调节 SOS2 的组分, 说明 SOS2 的上游存在多歧路 (Chinnusamy 等, 2003)。此外, SOS1 有参与盐胁迫信号转导的作用, 其 C-末端是一长亲水性尾链, 位于胞质中, 可能是感知胞质中 Na^+ 浓度变化的传感器, 感知胞质中 Na^+ 浓度发生变化, 引发胞质 Ca^{2+} 信号的产生, 随后 Ca^{2+} 信号刺激 SOS3-SOS2 复合物, 进而激活 SOS1, 将 Na^+ 排出胞外, 或磷酸化了的 SOS2 激活 AtNHX1, 将 Na^+ 运入液泡。同样, AtNHX1 的 C-末端位于液泡囊腔内, 可能对阳离子的选择性有调节作用 (Yamaguchi 等, 2003; Zhu, 2003; Zhang 等, 2004)。

2.3.3 拟南芥 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白家族及其组织功能特异性 拟南芥基因组中有 8 个 AtNHX 基因 (编码拟南芥 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的基因)。

其中, AtNHX1-6 编码液泡膜上 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白, AtNHX7 和 AtNHX8 可能是编码 SOS1 蛋白。AtNHX1 和 AtNHX2 蛋白存在于整个植株的几乎所有组织中 (除根尖外), 且表达量很高, AtNHX1 蛋白在根毛细胞的大液泡中表达更为显著。AtNHX5 蛋白虽也广泛存在所有组织中, 但表达量极低, AtNHX3 仅在花中表达, 而 AtNHX4 则仅在根中表达。AtNHX1 和 AtNHX2 的表达活性受至 NaCl、KCl、sorbito、ABA 的上调, 盐处理上调 AtNHX1 和 AtNHX2 的表达活性不是通过 SOS 途径而是通过 ABA 生物合成和 ABA 信号转导途径。而 AtNHX5 表达的上调仅对 NaCl 敏感, 对 LiCl 不敏感, 对 Na^+ 信号具有专一性。目前只知道 AtNHX5 的表达调控途径既不依赖于 SOS 途径也不依赖于 ABA 途径, 可能是受另一新的途径所调节 (Shi 等, 2002; Aharon 等, 2003)。AtCHX23 (编码存在于叶绿体的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因) 在绿色组织如子叶、叶片、萼片中表达, 但在非绿色组织如根、花瓣中表达极弱。

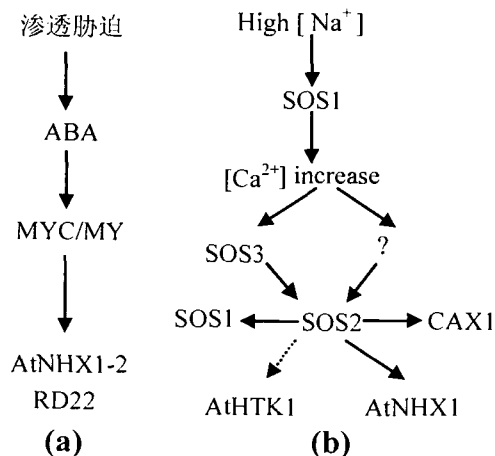


图 1 a. 渗透胁迫转导的途径 (Shuji 等, 2002);
b. 盐离子胁迫转导途径 (Zhu 等, 2003)

Fig. 1 a. Transduction pathway of permeation stress; b. Transduction pathway of ion stress

AtNHX1 蛋白广泛存在于不同组织中, 预示着 AtNHX1 蛋白具有不同的功能或不同组织中 AtNHX1 的功能是相同的或两者兼有, 另一方面, 拟南芥基因组里含有很多个假定的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白, 该蛋白的多样性也反映了植物在不同发育阶段和胁迫反应时对 Na^+ 和 (或) K^+ 运输的需求 (Maser 等, 2001)。蛋白 AtNHX1 和 SOS1 的活性在离子平衡和耐盐性调节中起着不同的作用: 可能在植物正常生长和初遭盐胁迫时, 液泡膜 Na^+/H^+

逆向转运体在维持 Na^+ 稳态平衡起着主要的作用,而延长盐胁迫时,则质膜 Na^+/H^+ 逆向传递体在减少细胞质 Na^+ 水平起着主要的作用。SOS1 突变株对 Na^+ 敏感,植株与野生型相比,累积更多的 Na^+ 。该突变体的质膜 Na^+/H^+ 逆向传递体活性显著降低,但液泡膜 Na^+/H^+ 逆向传递体活性则上升,特别受盐诱导,说明质膜和液泡膜的 Na^+/H^+ 逆向传递体活性是协同运作的,当其中一个活性降低时,另一个活性则增加,以维持细胞一定的耐盐能力,最终植物获得在盐胁迫下持续生长的能力(Chinnusamy 等,2003)。

3 结束语

一般认为植物的耐盐性是多个基因协作的结果,这对应用基因工程技术操作单一基因表达,改良植物的耐盐性是一个严峻的挑战。但人们通过只改变编码 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因的表达或加强液泡 V-Ppase 的表达就能有效地提高甜土植物抗盐性,这不仅说明了 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白在植物耐盐性表达中起着极其重要的作用,同时也对作物抗盐基因工程实践具有较大意义。 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白不仅只与 Na^+ 的运输有关,也与 K^+ 、 H^+ 离子的运输有关,因此,改变细胞内 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的水平必然影响着细胞生命活动最必需离子(K^+ 、 H^+)的稳态平衡,影响植物的发育,另一方面,植物基因组编码 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因的多样性:物种特异性、组织表达特异性、膜系统特异性、表达调控的多样性,也说明了 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白广泛参与植物发育和细胞代谢活动的调节。虽然目前所有报道的超表达编码 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因的转化植株均表现正常,但只有当人们对该蛋白的调控、结构和功能了解清楚之后,才能更好地发挥该蛋白的功能作用。

多少年来,花卉育种学家的梦想之一就是培育蓝色品系的珍稀品种,因为影响蓝色花着色的因子很多,很难在短时间内通过转基因方法或传统杂交育种方法成功培育蓝色花。最近日本 Suntory 公司成功地使玫瑰花瓣产生翠雀素(蓝色基因 F3,5H 的产物),花瓣颜色因而发生改变,但花瓣还是偏向紫色,并不是天蓝色(日本朝日新闻,2004年7月1日)。影响蓝色花的显色有多个因子,其中,液泡的 pH 值是一个很重要的因子。在矮牵牛中,有 7 个位点(ph1-ph7)是通过影响液泡 pH 值间接地影响花瓣的颜色,这些 pH 位点显性时,液泡 pH 值偏低,花呈红色,隐

性时花呈蓝紫色(De 等,1983;Chuck 等,1993;Van 等,1998);Chuck 等(1993)通过转座子标签法克隆到 pH6 基因,由于转座子插入 pH6 基因,液泡 pH 值上升 0.32,但至今这些基因的编码产物不甚明了。日本牵牛紫色的花蕾打开时,花瓣变为蓝色,研究表明这可能与液泡上 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白表达改变液泡的 pH 值有关(Fukada 等,2000),这无疑对通过操作液泡 pH 值变化达到培育蓝色花卉的研究是一个有力的理论支持。现在有关 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的微观方面研究及其调控途径的研究还相对较少,随着这些方面以及 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因在各种生物中的克隆鉴定,测序研究和功能鉴定的深入,人们将会进一步了解 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的功能特点及其信号转导的调节途径。

参考文献:

- Aharon G S, Apse M P, Duan S, et al. 2003. Characterization of a family of vacuolar Na^+/H^+ antiporters in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Soil*, **253**: 45—256.
- Apse M P, Sottosanto J B, Blumwald E. 2003. Vacuolar cation/ H^+ exchange, ion homeostasis, and leaf development are related in a T-DNA insertional mutant of AtNHX1, the *Arabidopsis* vacuolar Na^+/H^+ antiporter[J]. *Plant J*, **36**: 229—239.
- Asen S, Stewart R N, Norris K H. 1997. Anthocyanin and pH involved in the color of Heavenly Blue' morning glory[J]. *Phytochemistry*, **16**: 1118—1119.
- Blumwald E, Poole R J. 1985. Na^+/H^+ antiport in isolated tonoplast vesicles from storage tissue of *Beta vulgaris*[J]. *Plant Physiol*, **78**: 163—167.
- Buckley J T, Wilmsen H U, Lesueur C, et al. 1995. Protonation of histidine-132 promotes oligomerization of the channel-forming toxin aerolysin[J]. *Biochemistry*, **34**: 16450—16455.
- Cheng N H, Pittman J K, Zhu J K, et al. 2004. The protein kinase SOS2 activates the *Arabidopsis* $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiporter CAX1 to integrate calcium transport and salt tolerance[J]. *J Biol Chem*, **279**: 2922—2926.
- Chinnusamy V, Zhu J K. 2003. Plant salt tolerance. In plant responses to abiotic stress[J]. *Springer*: 241—270.
- Christine A W, Emily R D, Larry F. 2001. Functional role of polar amino acid residues in Na^+/H^+ exchangers[J]. *Biochem J*, **357**: 1—10.
- Chuck G, Robbins T, Nijjar C, et al. 1993. Tagging and cloning of a petunia flower gene with the maize transposable element activator[J]. *Plant Cell*, **5**: 371—378.
- Counilon L, Pouyssegur J. 2000. The expanding family of eukaryotic Na^+/H^+ exchanger[J]. *J Bio Chem*, **275**: 1—4.
- De VP, Schram AW, Wiering H. 1983. Genes affecting flower colour and pH of flower limb homogenates in *Petunia hybrida*[J]. *Theor Appl Genet*, **66**: 271—278.
- Dibro P, Fliegel L. 1998. Comparative molecular analysis of the Na^+/H^+ exchangers; a unified model for Na^+/H^+ an-

- tiport[J]. *FEBS Lett*, **424**:1-5.
- Echtay K S, Bienengraeber M, Winkler E, *et al.* 2002. In the uncoupling protein (UCP-1) His-214 is involved in the regulation of purine nucleoside triphosphate but not diphosphate binding[J]. *J Boil Chem*, **273**:24 368-24 373.
- Enslin H, Brancho D M, Davis R J. 2000. Molecular determinants that mediate selective activation of p138 MAP kinase isoforms[J]. *EMBO J*, **19**:1 301-1 311.
- Fliegel L, Dibrov P. 1996. Biochemistry and molecular biology of the Na^+/H^+ exchanger, an overview[J]. In the Na^+/H^+ Exchanger(Springer/R G Landes Company, Austin); 1-20.
- Fukada T S, Inagaki Y, Yamaguchi T, *et al.* 2000. Colour-enhancing protein in blue petals[J]. *Nature*, **407**:581.
- Gaxiola R A, Rao R, Sherman A, *et al.* 1999. The *Arabidopsis thaliana* proton transporters, AtNHX1 and Avp1, can function in cation detoxification in yeast[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **90**:1 480-1 485.
- Hahnengberger K M, Jia Z, Fliegel L, *et al.* 1996. Sodium tolerance and export from yeast cells[J]. In the Na^+/H^+ Exchanger(Springer/R G Landes Company, Austin); 255-266.
- Hamada A, Hibino T, Nakamura T, *et al.* 2001. Na^+/H^+ antiporter from *Synechocystis* species PCC 6903, homologous to SOS1, contains an aspartic residue and long C-terminal tail important for the carrier activity[J]. *Plant Physiol*, **125**:437-446.
- Kawachi M, Mori M, Kobae Y, *et al.* 2004. Involvement of Na^+/H^+ exchanger in the vacuolar pH increase of epidermal cells of blue morning glory petal [C/OL]. <http://www.montpellier.inra.fr/PMB/Abstracts.htm>. 13th International Workshop on Plant Membrane Biology.
- Maser P, Thomine S, Schroeder J I, *et al.* 2001. Phylogenetic relationships within cation transporter family of *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, **126**:1 646-1 667.
- Pandan E, Schuldiner S. 1987. Intracellular pH and membrane potential as regulator in the prokaryotic cell[J]. *J Membr Biol*, **95**:189-198.
- Padan E, Venturi M, Gerchman Y, *et al.* 2001. Na^+/H^+ antiporters[J]. *Biochim Biophys Acta*, **1505**:144-157.
- Pinner E, Padan E, Schuldiner S. 1994. Kinetic properties of NhaB, a Na^+/H^+ antiporter from *Escherichia*[J]. *J Biol Chem*, **269**(42):26 274-26 279.
- Qiu QS, Guo Y, Quintero FJ, *et al.* 2004. Regulation of vacuolar Na^+/H^+ exchange in *Arabidopsis thaliana* by the SOS pathway[J]. *J Biol Chem*, **279**:207-215.
- Ratner A, Jacoby B. 1976. Effect of K^+ its counter anion and pH on sodium efflux from barley roots[J]. *J Exp Physiol*, **148**:425-433.
- Schuldiner S, Padan E. 1996. Molecular dissection of bacterial Na^+/H^+ antiporters [J]. In the Na^+/H^+ Exchanger (Springer/R G Landes Company, Austin); 231-253.
- Shi H, Lee BH, Wu SJ, *et al.* 2003. Overexpression of a plasma membrane Na^+/H^+ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Natl Biotechnol*, **21**:81-85.
- Shi H, Quintero FJ, Pardo JM, *et al.* 2002. The putative plasma membrane Na^+/H^+ antiporter SOS1 controls long-distance Na^+ transport in plants[J]. *Plant Cell*, **14**:465-477.
- Shi H Z, Ishitani M, Kim C, *et al.* 2000. The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na^+/H^+ antiporter[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **97**(12):6 896-6 901.
- Shinozaki K, Yamaguchi S K. 2000. Molecular responses to dehydration and low temperature; differences and cross-talk between two stress signaling pathways [J]. *Curr Opin Plant Biol*, **3**:217-223.
- Song CP, Guo Y, Qiu Q, *et al.* 2004. A probable $\text{Na}^+(\text{K}^+)/\text{H}^+$ exchanger on the chloroplast envelope functions in pH homeostasis and chloroplast in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **101**(27):10 211-10 216.
- Staal M, Maathuis F J M, Elzenga T M, *et al.* 1991. Na^+/H^+ antiporter activity of the salt-tolerant *Plantago maritima* and the salt-sensitive *Plantago media*[J]. **82**:179-184.
- Taglicht D, Padan E, Schuldiner S. 1991. Overproduction and purification of a functional Na^+/H^+ antiporter coded by nhaA(ant) from *Escherichia coli*[J]. *J Bio Chem*, **266**(17):11 289-11 294.
- Tester M, Davenport R. 2003. Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants[J]. *Ann Bot*, **91**:503-527.
- Todt J C, McGroarty E J. 1992. Involvement of Histidine-21 in the pH-induced switch in porin channel size[J]. *Biochemistry*, **31**:10 479-10 482.
- Toshi Y, Sachiko F T, Yoshishige I, *et al.* 2001. Gene encoding the vacuolar Na^+/H^+ exchanger and flower coloration [J]. *Plant Cell Physiol*, **42**(5):451-461.
- Venema K, Quintero F J, Pardo J M, *et al.* 2002. The *Arabidopsis* Na^+/H^+ exchanger AtNHX1 catalyzes low affinity Na^+ and K^+ transport in reconstituted liposomes[J]. *J Biol Chem*, **277**:2 413-2 418.
- Van HA, Souer E, Spelt K, *et al.* 1998. Analysis of flower pigmentation mutants generated by random transposon mutagenesis in *Petunia hybrida*[J]. *Plant J*, **13**:39-50.
- Wang, TL, Hackam, A, Guggino W, *et al.* 1995. A single histidine residue is essential for zinc inhibition of GABA rho 1 receptors[J]. *J Neurosci*, **15**:7 684-7 691.
- Yamaguchi T, Apse MP, Shi H, *et al.* 2003. Topological analysis of a plant vacuolar Na^+/H^+ antiporter reveals a luminal C terminus that regulates antiporter cation selectivity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **100**:12 510-12 515.
- Yoshida K, Kondo T, Okazaki Y, *et al.* 1995. Cause of blue petal colour[J]. *Nature*, **373**:291.
- Yoshida K, Kondo T, Okazaki Y, *et al.* 1995. Cause of blue petal colour[J]. *Nature*, **373**:291.
- Zhang HX, Blumward E. 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit[J]. *Nature Biotechnology*, **19**:765-768.
- Zhang JZ, Creelman R A, Zhu JK. 2004. From laboratory to field. Using information from *Arabidopsis* to engineer salt, cold, and drought tolerance in crops [J]. *Plant Physiol*, **135**:615-621.
- Zhu JK. 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress [J]. *Curr Opin Plant Biol*, **6**:441-445.