

## 山农生科院：NMT发现Cd胁迫下过表达TaPUB1促根排Cd<sup>2+</sup>为TaPUB1与TaIRT1互作并泛素化抑制小麦吸Cd提供证据

### 基本信息

主题：NMT发现Cd胁迫下过表达TaPUB1促根排Cd<sup>2+</sup>为TaPUB1与TaIRT1互作并泛素化抑制小麦吸Cd提供证据

期刊：Journal of Agriculture and Food Chemistry

影响因子：5.279

研究使用平台：NMT重金属胁迫创新平台

标题：Wheat TaPUB1 Regulates Cd Uptake and Tolerance by Promoting the Degradation of TaIRT1 and TaIAA17

作者：山东农业大学张广强、王玮

### 检测离子/分子指标 Cd<sup>2+</sup> 检测样品

小麦根

### 中文摘要

镉（Cd）在农业土壤中的积累是一个日益严重的问题，因为植物吸收了Cd，抑制了其生长发育。然而，小麦体内镉解毒和积累的分子机制尚不清楚。本研究从小麦中分离到了U-box E3连接酶TaPUB1，并报道了TaPUB1在小麦镉吸收和耐受中的功能特性。在Cd胁迫下，TaPUB1过表达株系的光合速率高于野生型；TaPUB1-RNAi株系的结果相反。此外，TaPUB1过表达株系降低了Cd的吸收和积累，而RNAi植株在Cd处理后Cd积累量显著增加。研究进一步发现，TaPUB1通过三种途径增强了小麦对Cd胁迫的抗性。首先，TaPUB1与TaIRT1相互作用并泛素化，从而抑制Cd的吸收。第二，TaPUB1直接与TaIAA17相互作用并泛素化，促进其降解，通过激活Cd胁迫下的Aux信号通路而导致主根伸长。此外，TaPUB1通过调控Cd胁迫下抗氧化相关基因的表达和抗氧化酶活性来减少ROS的积累。从而揭示了TaPUB1通过调节TaIRT1和TaIAA17蛋白的稳定性来调控Cd吸收和耐受的分子机制。

### 离子/分子流实验处理方法

100 μM CdCl<sub>2</sub>、50 μM MG132（一种特异性的26S蛋白酶体抑制剂）、100 μM CdCl<sub>2</sub>+50 μM MG132处理12 h。

## 离子/分子流实验结果

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CdCl<sub>2</sub>处理12 h后根部Cd<sup>2+</sup>流速。在没有CdCl<sub>2</sub>的情况下，转基因根和WT根系表现出净Cd<sup>2+</sup>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，CdCl<sub>2</sub>处理后观察到根部Cd<sup>2+</sup>外排，而TaPUB1过表达植株的净Cd<sup>2+</sup>外排速率显著高于RNAi和WT植株。此外，在CdCl<sub>2</sub>和MG132同时存在，Cd<sup>2+</sup>外排显著减少，TaPUB1过表达植株净Cd<sup>2+</sup>外排不再显著（图1）。这些结果表明，TaPUB1可以调控Cd<sup>2+</sup>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。

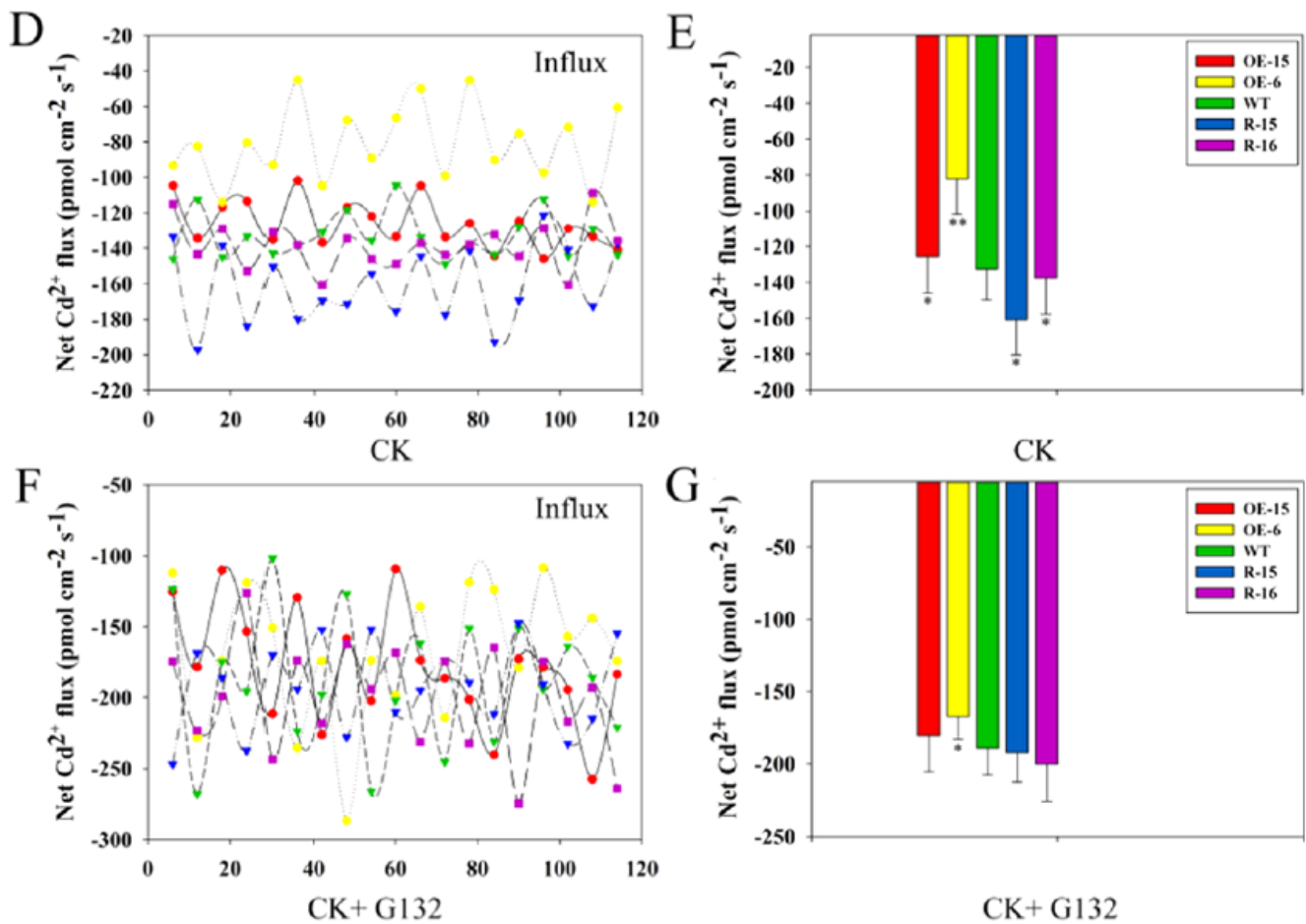


图1. Cd胁迫下转基因和野生型小麦根系Cd<sup>2+</sup>的净流速。正值代表离子外排，负值表示离子吸收。

## 其他实验结果

- TaPUB1在小麦中的表达模式及转基因小麦品系的鉴定。
- TaPUB1增强转基因小麦植株的Cd耐受性。研究检测了转基因小麦和野生型小麦种子萌发情况。在正常条件下，转基因种子和WT种子的发芽率没有差异，Cd胁迫显著抑制了种子萌发，OE植株的存活率显著高于WT植株，而RNAi植株的存活率则相反；在没有Cd胁迫的情况

# 文献电子报

下，TaPUB1转基因株系和WT转基因株系的植株生长无显著差异。然而，在200  $\mu$  M CdCl<sub>2</sub> 中生长的WT和RNAi植株比OE植株表现出更严重的褪绿现象；特别是，与WT相比，过表达TaPUB1

的株系的鲜重和株高均显著增加；Cd胁迫对所有小麦品系的生长均有显著的抑制作用，而RNAi植株的抑制作用大于WT，OE植株的抑制作用小于WT和RNAi植株；此外，OE植株的新重高于WT，而RNAi系的新鲜重量低于WT系；在Cd胁迫下，转基因植株和WT植株的净光合速率(Pn)均显著下降，但OE植株的下降幅度低于RNAi和WT植株；这些结果表明，TaPUB1正向调控转基因小麦对Cd胁迫的耐受性。

- TaIRT1与TaPUB1的相互作用。数据表明，TaPUB1和TaIRT1之间存在相互作用，并且Prp19结构域是相互作用所必需的；TaPUB1-nLUC和TaIRT1-cLUC在本氏烟叶片中共表达具有较强的LUC活性；pull-down和BiFC技术均证实了TaPUB1和TaIRT1的相互作用。
- TaPUB1可促进TaIRT1的泛素化和降解。结果表明，TaPUB1通过26S蛋白酶体促进TaIRT1的降解。
- TaPUB1通过TaIRT1的泛素化来调控Cd的流动和积累。结果表明，TaIRT1对Cd具有较高的转运活性；OE植株根部的细胞死亡低于WT，但RNAi根部的细胞死亡率高于WT；与野生型植株相比，TaPUB1-OE植株Cd积累减少，而RNAi植株Cd积累增加；这些结果表明，过表达TaPUB1降低了细胞损伤和Cd的积累。
- TaPUB1泛素化TaIAA17并促进其降解。为了验证TaPUB1是否通过TaIAA17调控Cd响应，研究进行了Y2H实验；结果表明，TaPUB1与TaIAA17之间存在相互作用；TaPUB1负调控TaIAA17的蛋白稳定性。
- TaPUB1可减轻镉胁迫下对根系生长的抑制作用。在正常条件下，OE和WT植株的分生区长度比RNAi植株长；经Cd处理后，RNAi植株根部分生区抑制效果大于WT植株，而OE植株根部伸长对CdCl<sub>2</sub>处理的敏感性低于WT植株；在根伸长抑制率方面，OE植株均低于WT和RNAi植株；总而言之，TaPUB1缓解了Cd胁迫下对根系生长的抑制。
- 过表达TaPUB1可减少Cd应激下ROS的积累。TaPUB1可能在Cd胁迫下降低ROS的产生或增加ROS的清除中发挥作用；总之，在Cd胁迫条件下，TaPUB1通过调控相关基因的表达来影响小麦植株的抗氧化能力。

## 结论

综上所述，TaPUB1对小麦的Cd胁迫耐受性发挥着积极作用。其机制可能包括：(A) TaPUB1通过泛素化TaIRT1蛋白降低小麦根系的Cd吸收；(B) TaPUB1直接与TaIAA17直接相互作用，通过激活Aux信号通路促进其降解，导致主根伸长；(C) 过表达TaPUB1，在Cd胁迫下通过调控相关基因的表达，提高抗氧化酶活性，降低ROS水平。

## 测试液

0.1mM CaCl<sub>2</sub>, 0.1mM CdCl<sub>2</sub>, pH 6.0

0.05 mM MG132, 0.1mM CaCl<sub>2</sub>, 0.1mM CdCl<sub>2</sub>, pH 6.0

页 3 / 4

(c) 2024 xuyuenmt <nmtfaq@126.com> | 2024-07-02 04:47

URL: <http://www.nmtia.cn/zsk/index.php?action=faq&cat=17&id=329&artlang=zh>

# 文献电子报

0.1mM CaCl<sub>2</sub>,0.05 mM MG132, pH 6.0 文章原文：

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.0c08042?ref=pdf>

(唯一的)问答 ID: #1328

作者: xuyuenmt

更新时间：2022-07-08 09:51