



拟南芥NRAMP家族多突变体构建及功能解析

Construction and functional analysis of multiple mutants of the Arabidopsis NRAMP family

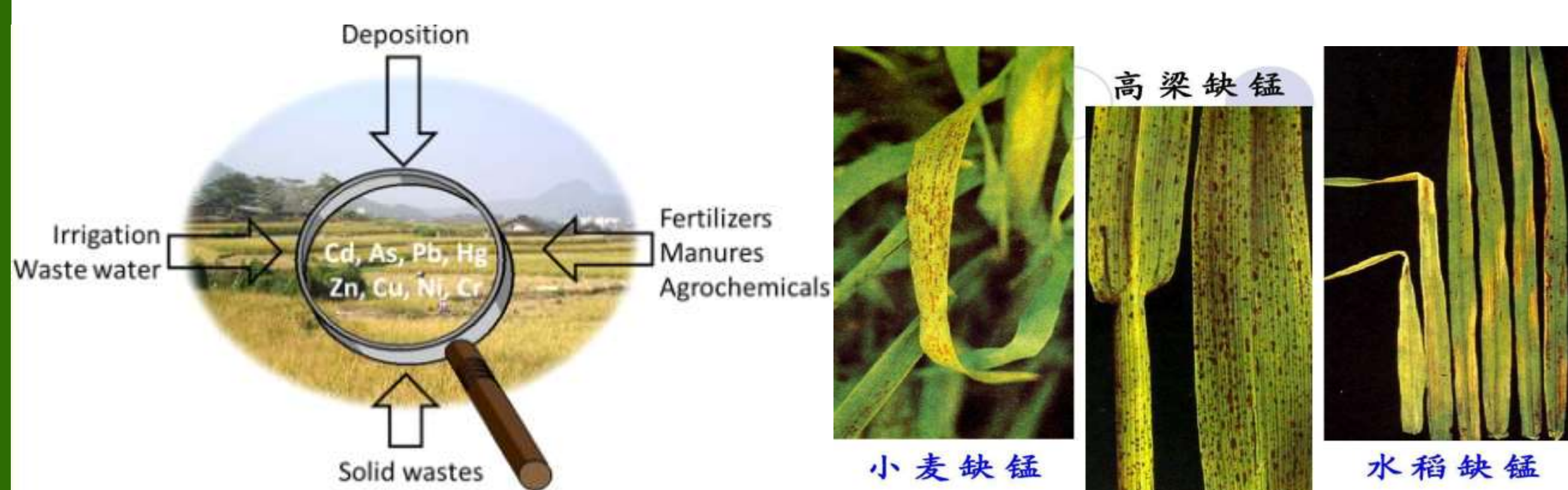
成员：潘海燕 吴亚茹 蓝燕
西北农林科技大学

指导老师：王存
创新实验学院

研究背景

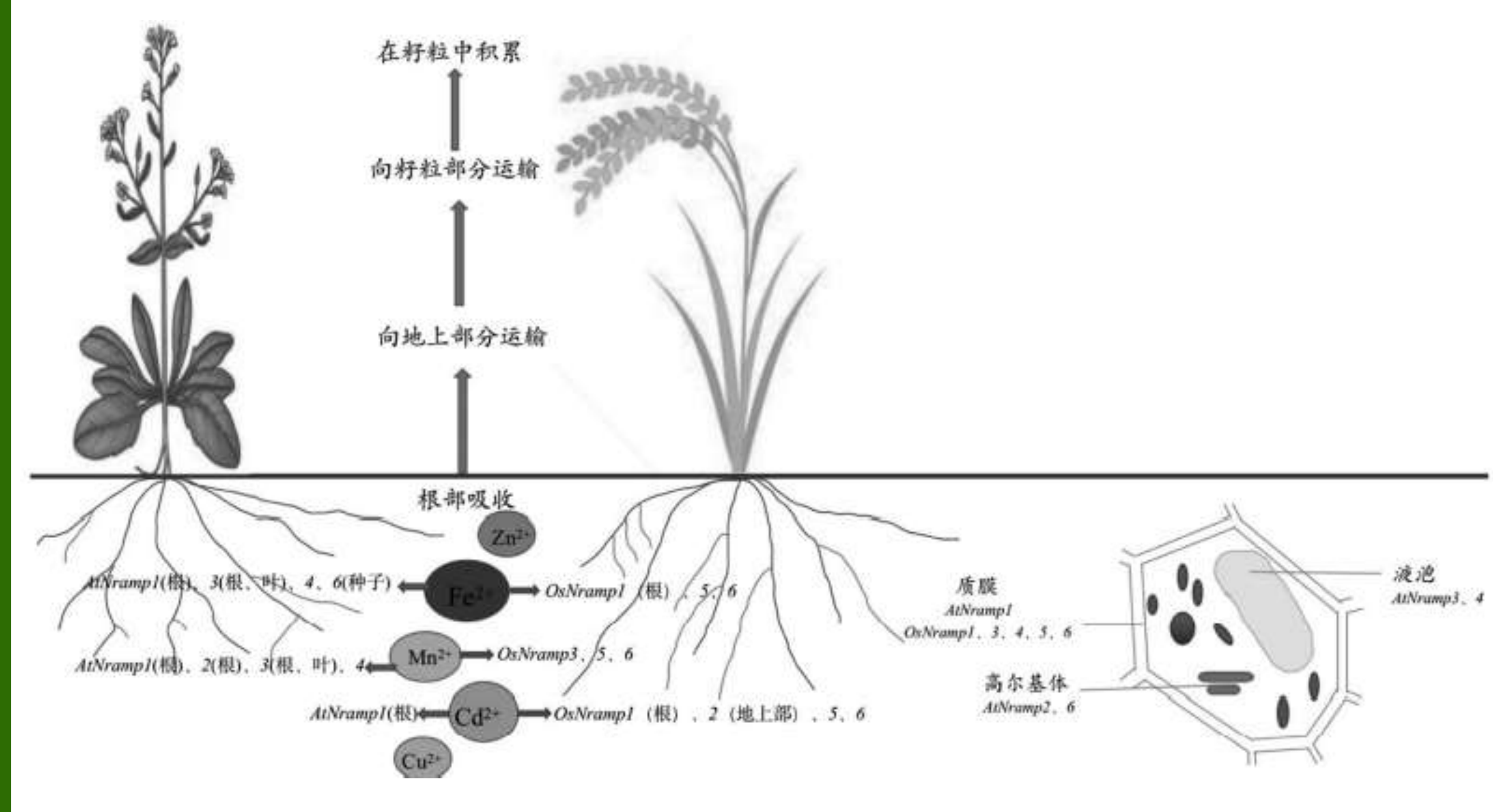
1. 土壤重金属污染问题 与 土壤缺锰限制产量问题

近年来，由于工业废水和固体废料的排放，土壤重金属污染阻碍我国农业发展。锰是植物生长发育所必须的微量元素，作物缺锰限制了产量。

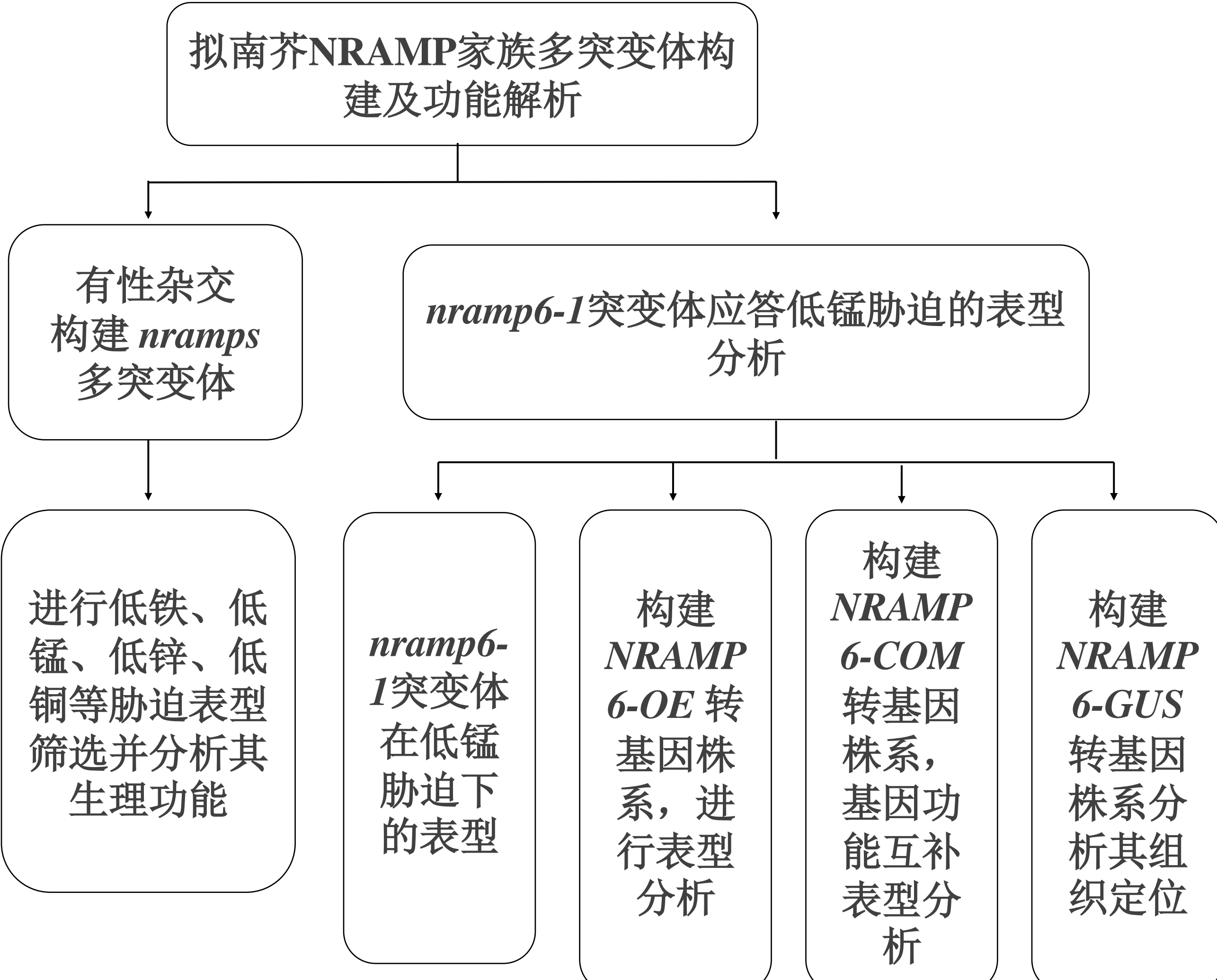


2. NRAMP是参与金属离子运输的跨膜转运蛋白

天然抗性相关巨噬蛋白(NRAMP)，是参与金属离子运输的跨膜转运蛋白，该类蛋白不仅在对锰、铁等微量元素的吸收分配中发挥作用，还参与了植物对镉等重金属的吸收和转运。在拟南芥中已经确定了6个NRAMP基因家族成员。



技术路线



研究结果

1. 多突变体构建

根据拟南芥NRAMP家族基因的亚细胞定位和功能的相似性，利用已有纯合种子，采用有性杂交构建多突变体，鉴定后获得纯合多突变体种子：*nramp1/2*, *nramp1/5*, *nramp1/6*, *nramp2/5*, *nramp2/6*, *nramp5/6*; *nramp1/3/4*, *nramp2/3/4*, *nramp3/4/5*, *nramp3/4/6*。

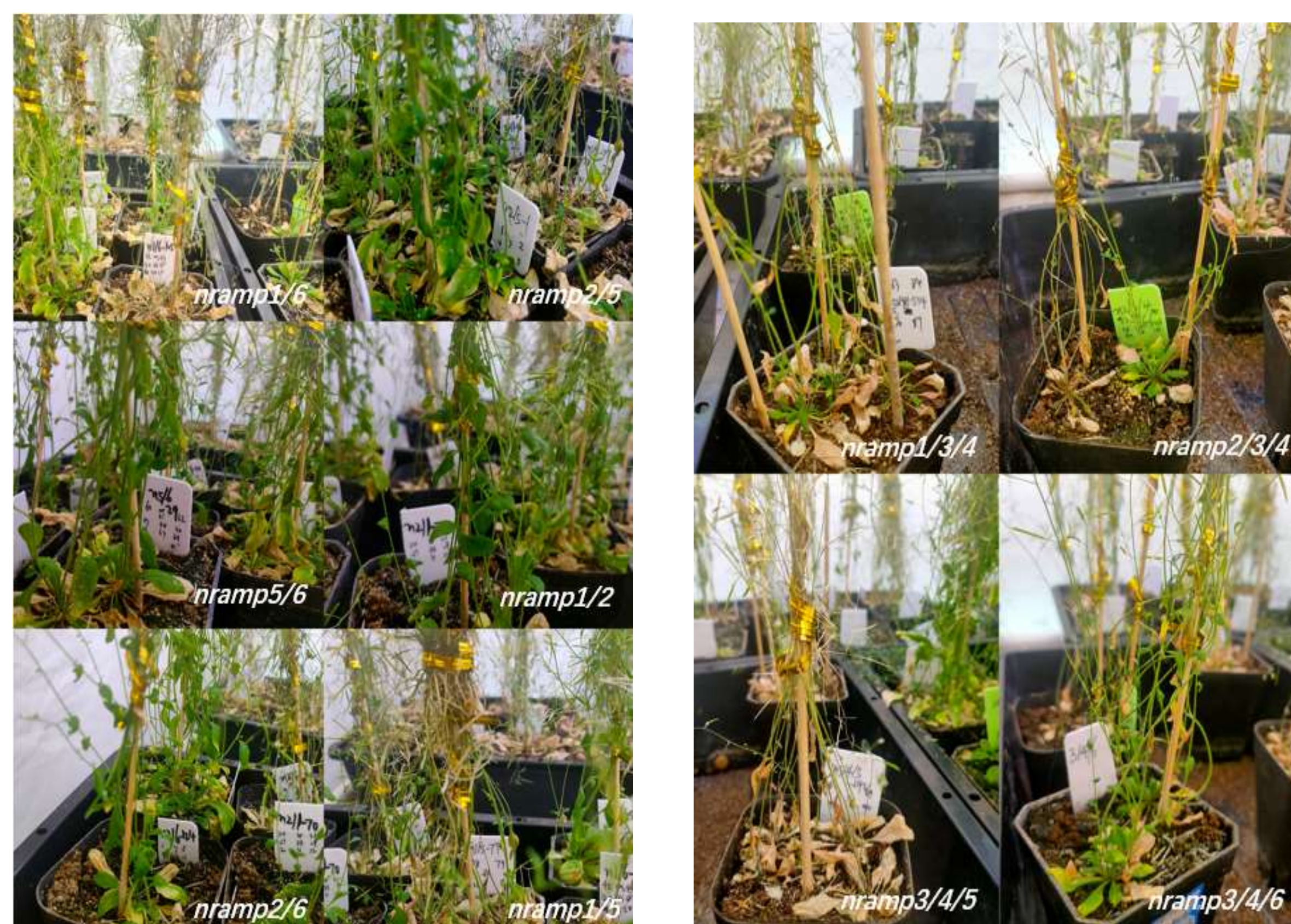


图1 双突变体生长图

图2 三突变体生长图

2. 胁迫表型筛选

将获得的纯合野生型、单突变体与多突变体株系在1/2MS培养基与缺锌、缺铁、缺锰、高锰和高镉的培养基上进行表型筛选。结果表明，NRAMP1与NRAMP2共同参与锌离子转运，并表现为功能冗余。

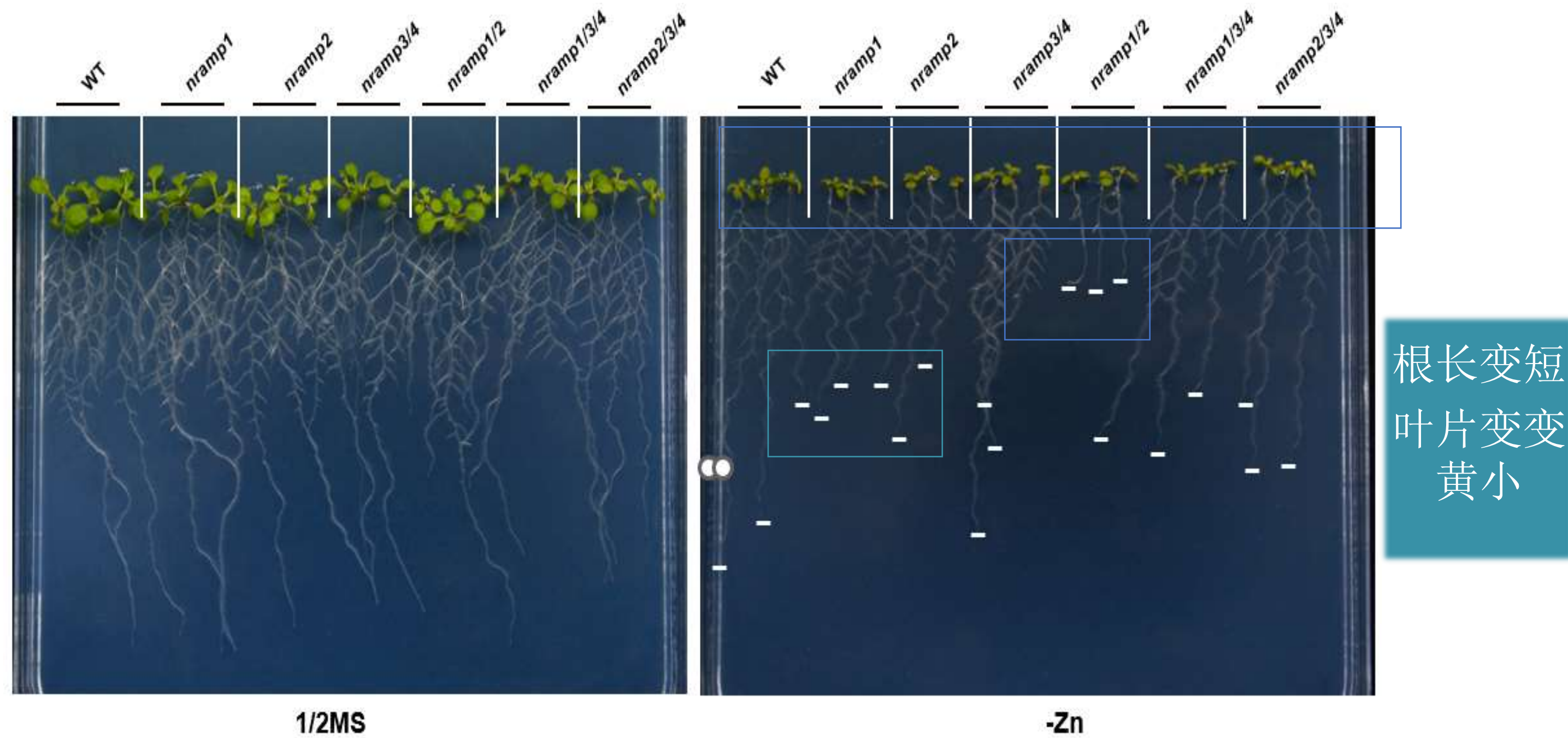


图3 WT与nramp1、nramp2、nramp3/4、nramp1/2、nramp1/3/4、nramp2/3/4多突变体进行缺锌胁迫表型筛选

研究结果

3. NRAMP6响应低锰胁迫

为了确定NRAMP6的组织特异性表达，构建NRAMP6-GUS的转基因植株。GUS染色结果显示，NRAMP6在嫩叶和根中均有表达，其中，在缺Mn条件下，根部颜色变深，表明NRAMP6响应低锰胁迫。

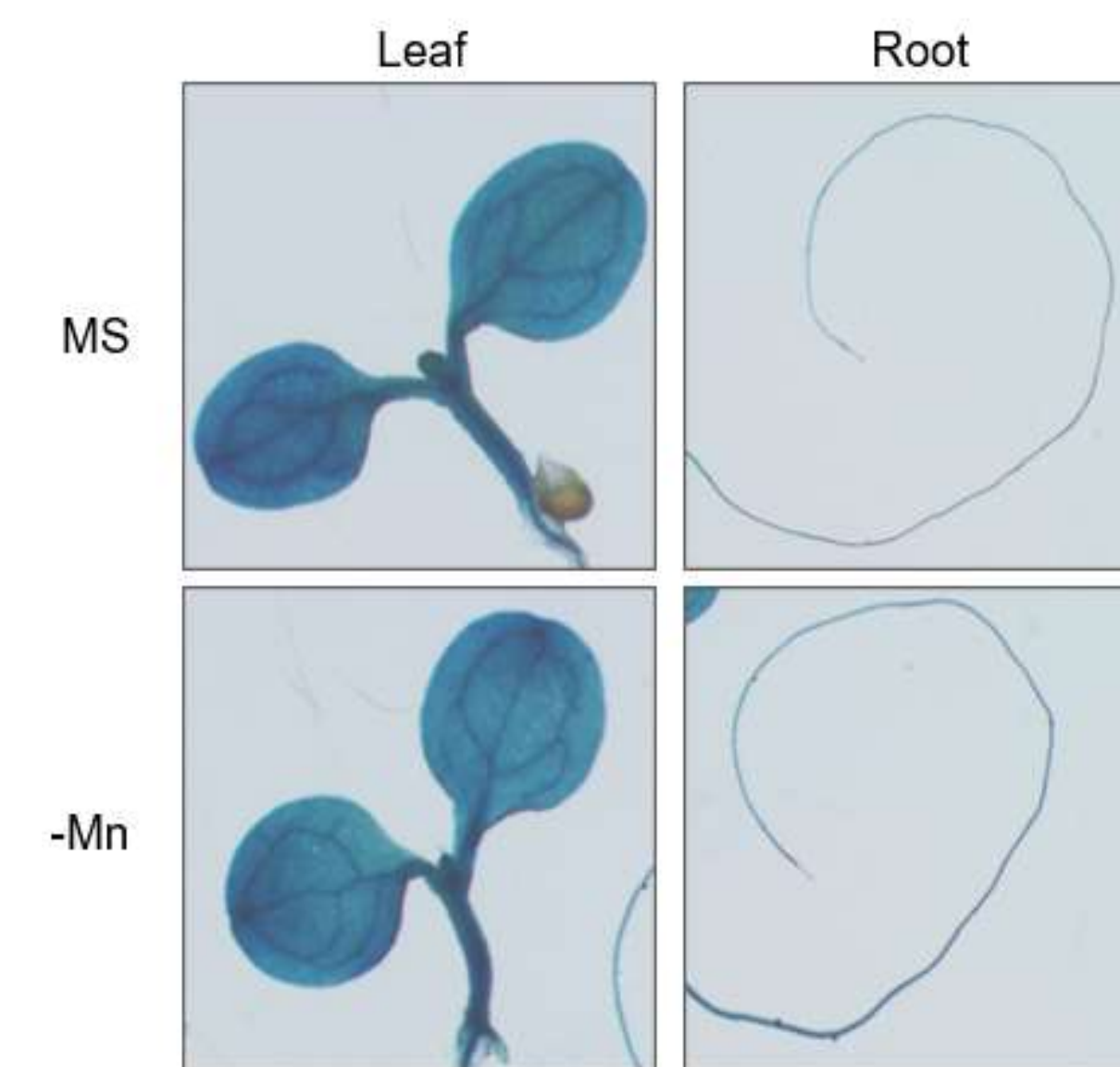


图5 Mn缺乏0、3、6、12、24 h条件下NRAMP6在幼苗茎和根中的表达水平

4. 胁迫表型筛选

构建NRAMP6-COM与NRAMP6-OE的转基因植株，将野生型、突变体nramp6-1与转基因植株分别播种于正常1/2MS培养基与缺锰培养基进行表型观察。在缺锰条件下，突变植株nramp6-1主根变短，叶子变小，互补株系COM#1、COM#2植株根系长度恢复到WT水平，过表达株系OE#1、OE#2植株根系长度更长。

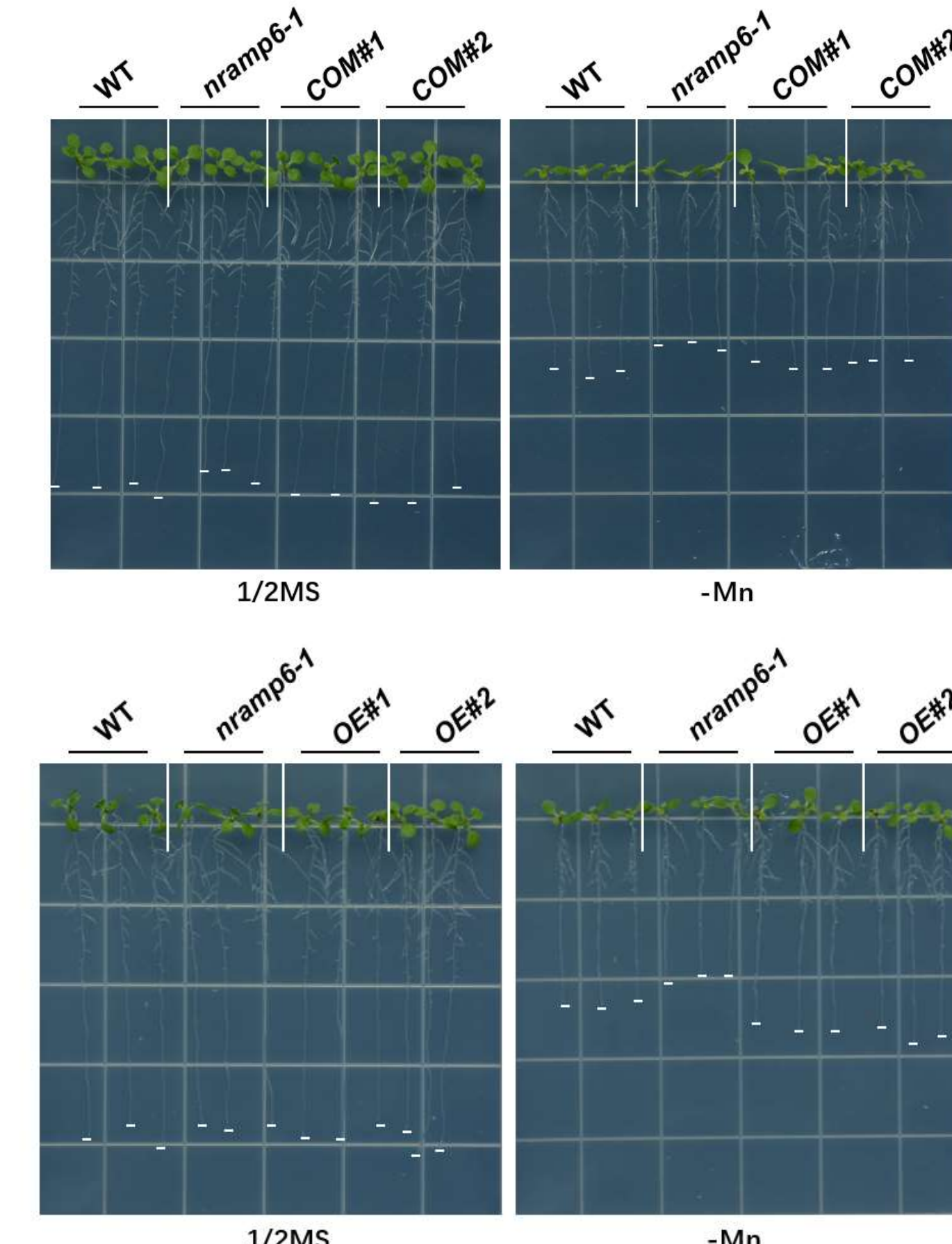


图6 NRAMP6过表达株系与互补株系的缺锰表型

创新之处

- 根据同源性，通过杂交构建多突变体并探究NRAMPs在转运其他金属离子的生理功能以及其在转运同种矿质元素时是否存在功能冗余的情况。
- 通过杂交构建nramp6-1突变体、NRAMP6-OE转基因过表达株系和NRAMP6-COM转基因功能回补株系，探究NRAMP6是否有转运锰的功能。

联系方式

王存: cunwang@nwfau.edu.cn
潘海燕: 17765034413@163.com
吴亚茹: Yizhiyang151@163.com
蓝燕: 3154064312@qq.com