

DOI: 10.5846/stxb201403230517

肖清铁, 王经源, 郑新宇, 戎红, 张国君, 王良华, 谢惠玲, 李艺, 陈珊, 林瑞余, 林文雄. 水稻根系响应镉胁迫的蛋白质差异表达. 生态学报, 2015, 35(24): - .

Xiao Q T, Wang J Y, Zheng X Y, Rong H, Zhang G J, Wang L H, Xie H L, Li Y, Chen S, Lin R Y, Lin W X. Analysis of the differently expressed proteins in rice roots in response to cadmium stress. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(24): - .

## 水稻根系响应镉胁迫的蛋白质差异表达

肖清铁, 王经源, 郑新宇, 戎红, 张国君, 王良华, 谢惠玲, 李艺, 陈珊, 林瑞余\*, 林文雄

福建农林大学生命科学学院农业生态研究所, 福州 350002

**摘要:**为探讨水稻根系对镉胁迫的分子生理响应,以抗镉水稻 PI312777 和镉敏感水稻 IR24 为材料,设置 Cd<sup>2+</sup>浓度为 0、50 和 100 μmol/L 的水培试验,处理 7 d 后分析了水稻根系的蛋白质差异表达。结果表明,在镉胁迫下水稻 PI312777 和 IR24 根系有 18 个蛋白质发生了差异表达,其中的 12 个得到 MALDI-TOF/MS 鉴定。这些鉴定的蛋白功能可分四类:(1)与活性氧(ROS)胁迫相关的过氧化物酶(POD)、蛋氨酸腺苷转移酶(MAT)、类萌发素蛋白前体;(2)与谷胱甘肽(GSH)合成相关的 S-腺苷甲硫氨酸合成酶(SAMS)、谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸脱氢酶(GDH);(3)与逆境胁迫相关的 ABA 胁迫诱导蛋白含 HVA22 域蛋白、ABA-胁迫-成熟诱导蛋白 5(ASR5);(4)与细胞分裂调控相关的 GTP 结合核蛋白 Ran-2。镉胁迫下 SAMS 和 GTP 结合核蛋白 Ran-2 在两种水稻根系均发生上调表达;MAT、POD、类萌发素蛋白前体和 GS 发生下调表达;依赖 NADP-GDH、GDH 和磷酸甘油酸变位酶在 IR24 根部均发生下调表达,在 PI312777 根部仅在 100 μmol/L Cd<sup>2+</sup>处理发生下调表达;含 HVA22 域蛋白在 PI312777 根部上调表达,在 IR24 根部发生下调表达;ASR5 在 PI312777 根部上调表达,在 IR24 根部的表达无显著差异;100 μmol/L Cd<sup>2+</sup>胁迫下 60S 酸性核糖体蛋白 P0 在水稻 PI312777 根部表达下调,在 IR24 根部表达上调。可见,镉胁迫使水稻根部 ROS 增加,形成氧化胁迫反应,造成毒害作用,而水稻根通过调节 SAMS 和 GS 提高 GSH 合成降低镉毒害。ASR5 和 HVA22 蛋白等逆境胁迫蛋白的表达差异则是水稻品种间抗性差异的重要原因之一。

**关键词:**水稻;根系;镉;胁迫反应;蛋白质组学

## Analysis of the differently expressed proteins in rice roots in response to cadmium stress

XIAO Qingtie, WANG Jingyuan, ZHENG Xinyu, RONG Hong, ZHANG Guojun, WANG Lianghua, XIE Huiling, LI Yi, CHEN Shan, LIN Ruiyu\*, LIN Wenxiong

Institute of Agroecology, School of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

**Abstract:** To investigate the molecular and physiological responses in rice roots to cadmium (Cd) stress, a set of hydroponic culture experiments treated with Cd<sup>2+</sup> at 0, 50, and 100 μmol/L in the solutions were conducted to analyze the differentially expressed proteins in the roots of two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars (Cd-tolerant rice PI312777 and Cd-sensitive rice IR24) 7 days after the treatments. The results showed that 18 proteins were differentially expressed in the roots of PI312777 and IR24 under Cd stress; 12 of them were identified by the MALDI-TOF/MS technique. The biological functions of these identified proteins were involved in four metabolic pathways, including (1) reactive oxygen species (ROS) stress: peroxidase (POD), methionine adenosyltransferase (MAT), and germin-like protein precursor; (2)

**基金项目:**国家自然科学基金项目(31070403);福建省自然科学基金项目(2009J01056, 2013J01083);福建省教育厅基金项目(JA09084);福建省高校服务海西建设重点项目(OB08B005);福建农林大学重点项目建设专项(6112c0604)

收稿日期:2014-03-23; 网络出版日期:2015- -

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lrylin2004@163.com

glutathione (GSH) synthesis; S-adenosylmethionine synthetase (SAMS), glutamine synthetase (GS), and glutamate dehydrogenase (GDH); (3) stress response induced by abscisic acid (ABA): HVA22 and abscisic acid-stress-ripening-inducible 5 protein (ASR5); and (4) cell division regulation: GTP-binding nuclear protein Ran-2.

Under Cd stress conditions, the expression of SAMS and GTP-binding nuclear protein Ran-2 were up-regulated and MAT, POD, the germin-like protein precursor, and GS were down-regulated in the roots of the two rice cultivars. The expression of NADP-GDH, GDH and phosphoglycerate mutase were down-regulated in the roots of rice IR24, but they were down-regulated in PI312777 only upon the treatment with 100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Cd}^{2+}$ . The expression of protein with HVA22 domain was up-regulated in PI312777, but it was downregulated reversed in IR24. ASR5 was up-regulated in rice PI312777, but no significant change was found in IR24. The 60s acidic ribosomal protein P0 was down-regulated in PI312777, but up-regulated in IR24 at 100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Cd}^{2+}$  condition. Our results suggest that Cd stress increases ROS and produces oxidative stress in rice roots, which lead to Cd toxicity in rice roots. To alleviate Cd toxicity, rice roots increase the GSH synthesis by up-regulation of SAMS and GS. Different expression patterns of stress-related proteins such as ASR5 and HVA22 are important in understanding the differences in Cd tolerance across rice cultivars.

**Key Words:** rice (*Oryza sativa* L.); root; cadmium; stress response; proteomics

镉(Cd)是生物毒性最强的土壤污染物之一,它极易在植物体内积累,并通过食物链影响动物与人类的健康<sup>[1]</sup>。水稻是我国最重要的粮食作物,随着工业三废的大量排放及化肥农药的大量使用,稻田镉污染日益严重,大米镉污染已引起政府部门的高度关注<sup>[2]</sup>。根系是植物最先感受逆境的器官,也是植物吸收矿质营养、水分以及有害物质的主要通道。研究发现水稻吸收到体内的  $\text{Cd}^{2+}$  大部分累积在根部,严重抑制根系生长,使根弯曲,根数减少<sup>[3]</sup>;直接或间接作用于 DNA 分子,引起 DNA 分子损伤<sup>[4]</sup>;影响细胞分裂、诱发染色体畸变等,且随着镉浓度的提高,这种伤害增强<sup>[5]</sup>。水稻根部通过改变氧化酶活性、形成 GSH/PC 络合解毒、生成金属转运蛋白等来降低镉的毒害作用<sup>[1]</sup>,但这些反应的过程是十分复杂的,其调控机制并不明确,尚待研究。此外,不同水稻品种的镉抗性不同,其镉吸收能力存在差异<sup>[6]</sup>,但这种差异形成的原因和机制尚不明确。因此,研究不同抗性品种水稻根系对镉胁迫的响应对揭示水稻的镉抗性与镉在水稻体内的积累机制具有重要意义。目前对于不同品种水稻根对镉胁迫的不同抗性研究主要集中在形态(生物量、根长及根尖细胞微观结构)、生理(SOD、POD、CAT 活性)等方面<sup>[3,7]</sup>,对根系其他方面的研究却较少。为此,本研究拟用抗镉水稻 PI312777 和镉敏感水稻 IR24 为材料,应用差异蛋白质组学方法,分析两种水稻的根系在 Cd 胁迫条件下的蛋白质表达变化,以期研究水稻响应镉胁迫的分子机理提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

本试验在福建农林大学农业生态研究所网室内进行。选取抗镉水稻品种 PI312777 和镉敏感水稻品种 IR24 为供试材料<sup>[7]</sup>。在 3 叶期将水稻秧苗移栽至塑料盆(40 cm×30 cm×15 cm)中用 10 L 营养液(参照国际水稻研究所常规营养液配方<sup>[8]</sup>)进行水培。5 叶期时,在营养液中添加 50 和 100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Cd}^{2+}$  溶液进行胁迫处理(不添加为空白对照),每个处理 3 次重复。处理 7 d 后,选取生长一致的水稻秧苗,获取根系样品并立即置于液氮中,用于蛋白质提取<sup>[9]</sup>。

### 1.2 蛋白质样品溶液制备

取 4.0 g 水稻根,按王经源等<sup>[10]</sup>的 TCA-丙酮沉淀法进行蛋白质提取。取适量蛋白质干粉加入裂解液[9 M 尿素,1%二硫苏糖醇(DTT),4% CHAPS,2% Ampholine (pH3-10)],20℃—25℃ 水浴超声 30 min,然后在 25℃ 下 18000 r/min 离心 15 min,弃沉淀,上清液即蛋白质样品溶液,置于-80℃ 冰箱保存备用。蛋白质样品浓度用 Bradford 方法进行定量<sup>[11]</sup>。

### 1.3 双向电泳与凝胶成像

①等电聚焦:采用自制的 18 cm 胶条(尿素 1.854 g;15%ACR 0.900 g;超纯水 0.234 g;10%NP-40 为 0.68 g;pH3-10 的两性电解质 61  $\mu$ L;pH5-8 的两性电解质 244  $\mu$ L;10%过硫酸铵 7.2  $\mu$ L;TEMED15.0  $\mu$ L)进行等电聚焦,上样量 150  $\mu$ g,聚焦电压参数:200 V $\times$ 0.5 h,300 V $\times$ 0.5 h,400 V $\times$ 0.5 h,500 V $\times$ 0.5 h,600 V $\times$ 0.5 h,800 V $\times$ 14 h,1000 V $\times$ 4 h。

②SDS-PAGE 电泳:胶条置于平衡缓冲液[60 mmol/LTris-HCl(pH6.8),2%SDS,5% $\beta$ -巯基乙醇,10%甘油,0.05%溴酚蓝]平衡 30 min,后进行 SDS-PAGE(电泳参数为:每板 10 mA $\times$ 10 h)。

③硝酸银染色:电泳结束后,SDS-PAGE 胶经固定液(50%甲醇,5%冰醋酸) $\times$ 30 min,增敏液(30%乙醇 0.2%硫代硫酸钠,6.8%醋酸钠) $\times$ 30min,硝酸银染色液(2.5%硝酸银,0.4%甲醛) $\times$ 20min,显色液(2.5%碳酸钠,0.2%甲醛)显色,5%冰醋酸终止显色。

④图谱分析:银染后的 SDS-PAGE 胶用 Image Scanner III 扫描仪扫描,构建蛋白质表达图谱。采用 Image Master 5.0 版软件对图谱进行分析,表达丰度差异达 1.5 倍以上的蛋白质点标记为差异点<sup>[9]</sup>。

### 1.4 质谱分析

从 SDS-PAGE 胶上挖取的差异蛋白质点经脱色(50%乙腈+50 mM 碳酸氢铵 100  $\mu$ L)、干胶(100%乙腈)、酶解(12.5 ng/ $\mu$ L 的 trypsin 酶溶液)、肽段提取(50%乙腈+0.1%TFA 60  $\mu$ L)后,将溶液转移到 96 孔板内进行质谱鉴定。质谱分析在复旦大学生命科学学院分析测试中心进行,采用 4700 MALDI-TOF/TOF Proteomics Analyzer(Applied Biosystems,USA)进行分析。激光源:Nd:YAG 激光器(波长 355 nm),加速电压 20 kV,数据采集采用正离子和数据自动获取模式。PMF 质量扫描范围 700—3500 Da,且强度最大的 5 个峰进行串联质谱分析;用 myoglobin 酶解肽段作为外标校正谱图。用 GPS(Applied Biosystems,USA)—MASCOT(Matrix,Science,London,UK)数据库检索所得结果<sup>[9]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 镉胁迫下水稻根系差异表达蛋白质分析

将提取的各蛋白样品经过双向电泳,得到双向电泳凝胶 2-DE 图谱,进一步通过 Imagemaster 2D Elite 5.0 图象软件分析,经自动检测和人工去除杂点后,每块胶得到 700 个左右蛋白质点,各蛋白质的 pI 范围为 3.5—10.0,Mr 范围为 14.4—116.2 KD(图 1)。

### 2.2 水稻根系差异表达蛋白的 MALDI-TOF-TOF MS 分析与鉴定

以 0  $\mu$ mol/L Cd<sup>2+</sup> 处理为对照,在抗镉水稻 PI312777 和镉敏感水稻 IR24 根中都发生差异表达的蛋白质点共有 18 个(图 1)。对凝胶图谱中重现性好,Cd<sup>2+</sup>胁迫下丰度值发生 1.5 倍以上变化的 18 个差异蛋白点进行串联质谱分析,除表达丰度较低而无法检测的蛋白点外,共有 12 个蛋白得到鉴定(表 1)。其中镉胁迫下水稻根部关键蛋白质的表达情况见表 2。

### 2.3 不同镉抗性水稻根系的差异蛋白表达模式分析

镉胁迫处理下,在抗镉和镉敏感水稻根部具有相同表达模式的差异表达蛋白 6 个,包括 SMAS、MAT、POD、类萌发素蛋白前体、GTP 结合核蛋白 Ran-2 和 GS。其中在不同浓度镉处理下均发生上调表达的蛋白为 SAMS、GTP 结合核蛋白 Ran-2(表 1,表 2);在不同浓度镉处理下均发生下调表达的蛋白为 MAT、POD、类萌发素蛋白前体和 GS(表 1)。

镉胁迫处理下,在抗镉与镉敏感水稻根部具有不同表达模式的差异表达蛋白 6 个,包括依赖 NADP-GDH、含 HVA22 域蛋白、ASR5、GDH、60S 酸性核糖体蛋白 P0 和磷酸甘油酸变位酶。其中 50 和 100  $\mu$ mol/L Cd<sup>2+</sup> 胁迫下,IR24 根部依赖 NADP-GDH、GDH 和磷酸甘油酸变位酶均发生下调表达,而 PI312777 根部这 3 个蛋白仅在 100  $\mu$ mol/L Cd<sup>2+</sup> 胁迫下才发生下调表达(表 1);含 HVA22 域蛋白在 PI312777 根部发生上调表达,而在 IR24 根部发生下调表达(表 1,表 2);ASR5 在 PI312777 根部上调表达,而在 IR24 根部的表达量与对照

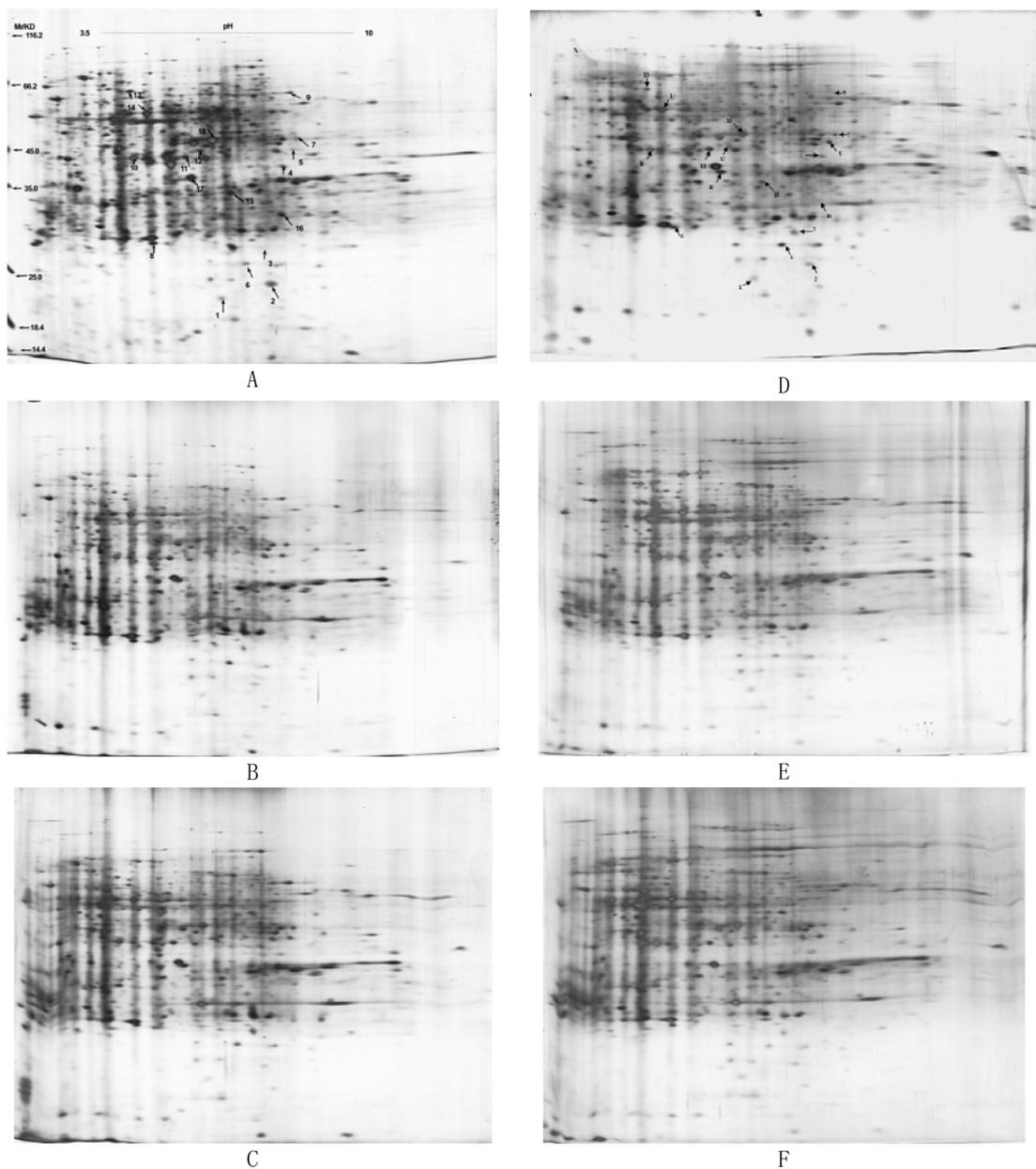


图 1 不同浓度镉处理水稻根差异表达图谱

Fig. 1 2-DE maps of proteins in rice roots under different  $\text{Cd}^{2+}$  concentrations

A、B、C 分别为 0、50、100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Cd}^{2+}$  处理下 PI312777 根蛋白表达图谱, D、E、F 分别为 0、50、100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Cd}^{2+}$  处理下 IR24 根蛋白表达图谱。A、D 中数字为差异蛋白质点编号。

无显著差异(表 1, 表 2); 在 50  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下, 60S 酸性核糖体蛋白 P0 在两种水稻根的表达量未发生变化, 在 100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Cd}^{2+}$  胁迫时两种水稻根部的 60S 酸性核糖体蛋白 P0 表达量在水稻 PI312777 根中减少, 在水稻 IR24 根中增加(表 1)。

### 3 讨论与总结

镉胁迫对植物最重要的伤害是氧化胁迫, 这种胁迫导致植物体内活性氧(ROS)增加。ROS 一方面诱导清除活性氧相关的酶活性升高, 另一方面又可直接攻击生物大分子, 使植物体内酶活性丧失<sup>[12]</sup>。过氧化物酶(POD)是植物在逆境条件下酶促防御系统的关键酶之一, 参与植物体内 ROS 清除。类萌发素蛋白(GLPs)是 PRs 家族中的一类胞外糖蛋白, 在植物中普遍存在。GLPs 主要以酶、受体和结构蛋白的形式参与多种生理

表 1 水稻根系差异表达蛋白质的鉴定结果及其在不同镉处理浓度下的表达模式

Table 1 Identification and expression mode of different proteins expressed in rice roots under different Cd<sup>2+</sup> concentrations

蛋白质 点编号 Protein spot No.	蛋白质名称 Protein identification	分子量 Mr. (D)	等电点 pI	得分 Score	生物学功能 Biological function	表达模式 Expressing pattern			
						PI312777		IR24	
						处理浓度/ ( $\mu\text{mol/L Cd}^{2+}$ )			
50	100	50	100						
1	依赖 NADP 谷氨酸脱氢酶(NADP-GDH)	41641.3	7.66	60	氮代谢	○	↓	↓	↓
6	推定的含有 HVA22 域蛋白	21959.6	6.18	174	胁迫诱导蛋白	↑	↑	↓	↓
7	ABA-胁迫-成熟诱导蛋白 5(ASR5)	15455.5	6.2	61	胁迫诱导蛋白	↑	↑	○	○
8	谷氨酸脱氢酶(GDH)	44594	6.32	108	氮代谢	○	↓	↓	↓
10	60S 酸性核糖体蛋白 P0	34356	5.38	164	信号转导	○	↓	○	↑
11	S-腺苷甲硫氨酸合成酶(SAMS)	42509	5.74	345	氨基酸代谢	↑	↑	↑	↑
12	推定的磷酸甘油酸变位酶	60752	5.42	382	碳代谢	○	↓	↓	↓
13	蛋氨酸腺苷转移酶(MAT)	42874	5.38	61	氨基酸代谢	↓	↓	↓	↓
15	推定的过氧化物酶(POD)	35954.3	8.72	65	氧化胁迫反应	↓	↓	↓	↓
16	类萌发素蛋白前体	24212	5.92	55	胁迫反应	↓	↓	↓	↓
17	GTP 结合核蛋白 Ran-2	225023	6.66	165	信号转导	↑	↑	↑	↑
18	谷氨酰胺合成酶(GS)	39176	5.51	257	氮代谢	↓	↓	↓	↓

○无差异表达 No difference; ↓表达量下调 Down-regulated; ↑表达量上调 Up-regulated.

表 2 镉胁迫下水稻根部差异表达的关键蛋白质点

Table 2 The key proteins were differently expressed in rice root under Cd<sup>2+</sup> concentrations

蛋白质名称 Protein identification	水稻品种 Rice cultivar	镉浓度 Cd concentration/ ( $\mu\text{mol/L}$ )		
		0	50	100
推定的含有 HVA22 域蛋白(6)	PI312777			
	IR24			
ABA-胁迫-成熟诱导蛋白 5(ASR5)(7)	PI312777			
	IR24			
S-腺苷甲硫氨酸合成酶(SAMS)(11)	PI312777			
	IR24			
GTP 结合核蛋白 Ran-2(17)	IR24			
	PI312777			
	IR24			

生化过程,能清除植物体内过多的 ROS,解除植物的氧化胁迫<sup>[13]</sup>。MAT 催化蛋氨酸和 ATP 形成 S-腺苷甲硫氨酸的反应,是蛋氨酸循环的关键酶,而  $Mg^{2+}$  和  $K^+$  是该酶产生活性的重要元素<sup>[14]</sup>,  $Cd^{2+}$  的存在可能会破坏 MAT 的结构,降低其酶活性。不同浓度镉胁迫下两种水稻根系与自由基清除相关的 POD、类萌发素蛋白前体和 MAT 的表达量均下调(表 1),表明水稻根系部分酶的活性丧失,不利于自由基的清除,从而直接影响水稻的生长发育。这与肖美秀等发现镉胁迫抑制了水稻生长发育的研究结果相吻合<sup>[7]</sup>。

植物通常可以通过拒绝吸收重金属或者诱导一些基因表达,产生一些物质直接或间接地参与重金属结合固定或者把重金属从敏感的位点移除排除,以增强对重金属污染的耐性。螯合肽(PCs)是植物体中  $Cd^{2+}$  最重要的配体之一,它由谷胱甘肽(glutathione, GSH)还原合成,结合金属镉离子后可将其转运至液泡,从而减轻金属在胞液中的毒性。半胱氨酸作为 GSH 的合成底物,在植物重金属解毒方面发挥重要作用<sup>[15]</sup>, S-腺苷甲硫氨酸合成酶(S-adenosylmethionine synthetase, SAMS)可催化甲硫氨酸和 ATP 生成 S-腺苷甲硫氨酸,进而形成甲硫氨酸和半胱氨酸<sup>[16]</sup>,能促进 GSH 的合成。因此 SAMS 活性的提高能增强水稻的镉解毒能力<sup>[17,18]</sup>。研究表明不同浓度镉处理诱导了两种水稻根部的 SAMS 表达增强,研究结果与 Wang 等(2010)研究镉胁迫下小麦根系 SAMS 的表达量显著增加相一致<sup>[19]</sup>。谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)是植物催化谷氨酸盐(Glu)转变为谷氨酰胺(Gln)的关键酶,在镉胁迫下该酶活性受到极大的抑制<sup>[20]</sup>。其活性的降低促进了 Glu 的积累,有利于镉解毒物质 GSH 的生物合成<sup>[21]</sup>。研究发现镉胁迫下两种水稻根系的 GS 均下调表达,有利于水稻根系镉解毒的进行。

ASR5 和 HVA22 都是 ABA 胁迫诱导蛋白,它们的表达水平反映了植物的抗性。ASR5 是一类受逆境胁迫(如干旱、低温、盐胁迫、ABA 等)后大量表达,以减轻逆境引起的伤害的蛋白质<sup>[22]</sup>。HVA22 是一个 ABA 胁迫诱导蛋白,它受干旱、盐和高温等环境胁迫诱导表达<sup>[23]</sup>,能抑制赤霉素介导的谷类糊粉细胞的程序性死亡,还能调节胁迫细胞的囊泡转运,减少植物细胞的非必需分泌,从而提高植物的抗逆境能力<sup>[24]</sup>。Arenhart 等研究发现 AI 胁迫下粳稻日本晴的 ASR5 表达增强<sup>[25]</sup>,盐胁迫下耐盐水稻中的 ASR5 蛋白上调表达,而在盐敏感水稻中无显著变化<sup>[26]</sup>。大麦幼苗在 100  $\mu M$  ABA 处理 24 h,脱水处理 3 d,或 1  $^{\circ}C$  冷处理 4 d 等条件下其 HVA22 基因均增强表达<sup>[23]</sup>。本研究发现,不同抗性水稻根中的这两个蛋白对镉胁迫产生了不同的表达反应。镉胁迫下,与对照相比,抗镉水稻 PI312777 根部的含有 HVA22 域蛋白和 ASR5 蛋白的表达量均增加,而在水稻 IR24 根部的含有 HVA22 域蛋白表达却降低,ASR5 的表达量与对照无差异(表 1)。表明水稻根中的 ASR5 和 HVA22 蛋白的增强表达可能会提高水稻的镉抗性。

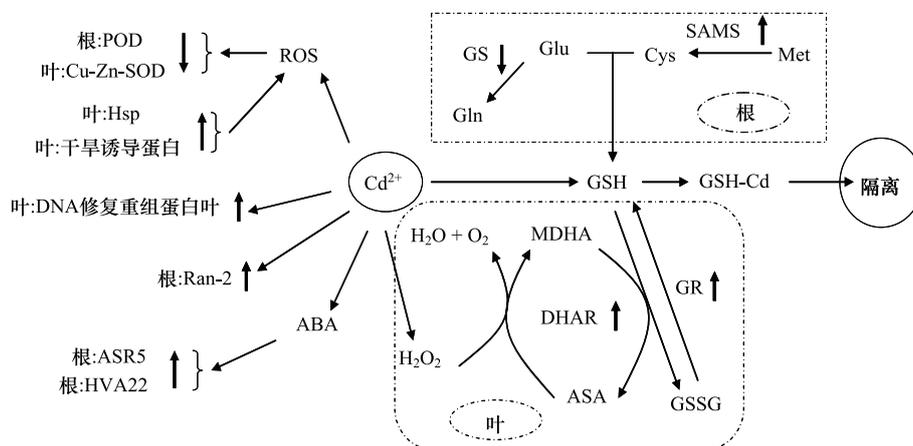


图 2 水稻对镉胁迫的响应途径及其在镉解毒过程中的蛋白质表达变化

Fig. 2 A putative model of Cd response in rice and possible roles of differently expressed proteins in Cd detoxification

Ran2 蛋白被认为是一种重要的细胞分裂调控因子,参与调控细胞周期中各个时期的许多细胞生命活动,如细胞核膜重建、DNA 复制、RNA 转录与加工运输、细胞核质转运、细胞分裂时纺锤体的组装等<sup>[27]</sup>。冷

胁迫下水稻 *OsRAN2* 基因表达上调,其表达水平与水稻根尖的有丝分裂指数呈显著正相关,且该基因的过表达提高了水稻的抗寒能力<sup>[28]</sup>。不同浓度镉胁迫下两种水稻根部的 GTP 结合核蛋白 Ran-2 均上调表达,促进了根尖的有丝分裂,提高了水稻的镉耐性。

由以上水稻根响应镉胁迫的蛋白质表达变化,及前期对镉胁迫下水稻叶片的蛋白质组学分析结果显示<sup>[16]</sup>,水稻根和叶通过了不同的途径提高自身的抗镉能力(图 2)。这些途径的差异有:(1)镉解毒过程:水稻根部一方面通过增强 S-腺苷甲硫氨酸合成酶(SAMS)的表达来提高半胱氨酸的含量;另一方面通过降低谷氨酰胺合成酶(GS)的活性来减少 Glu 转化为 Gln,增加 Glu 的含量,进而合成更多的 GSH 用于解除镉毒害作用。而在水稻叶片则通过提高谷胱甘肽-抗坏血酸偶联的氧化还原系统中的关键酶抗坏血酸还原酶(DHAR)和谷胱甘肽还原酶(GR)的活性来消除镉引起的过氧化氢及其自身的毒害作用。(2)胁迫诱导蛋白的表达存在差异。水稻叶片通过诱导热激蛋白(HSP)和干旱诱导蛋白的表达来增强自身的镉抗性。而水稻根部则是提高了具有增强植物抗逆境能力的 ABA 胁迫诱导蛋白 ASR5 和 HVA22 的合成来提升抗镉能力。(3)基因表达方面。水稻叶片通过 DNA 修复重组蛋白来恢复镉胁迫引起的水稻 DNA 结构和功能的损伤,维持水稻叶片的正常生长;而在镉胁迫环境下,水稻根部提高了参与调节细胞核膜重建、DNA 复制、RNA 转录与加工运输、细胞核质转运、细胞分裂时纺锤体的组装等活动的 Ran2 蛋白的生成,促进水稻根细胞分裂,降低镉对水稻生长的抑制作用。本研究从蛋白质水平探讨了水稻的根和叶在镉胁迫下的抗性调节过程,有助于加深我们对水稻抗镉分子机理的认识。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] 陈笑. 水稻镉(Cd)毒害及其防治研究进展. 广东微量元素科学, 2010, 17(7): 1-7.
- [ 2 ] 甄燕红, 成颜君, 潘根兴, 李恋卿. 中国部分市售大米中 Cd、Zn、Se 的含量及其食品安全评价. 安全与环境学报, 2008, 8(1): 119-122.
- [ 3 ] 何俊瑜, 任艳芳, 王阳阳, 李兆君. 不同耐性水稻幼苗根系对镉胁迫的形态及生理响应. 生态学报, 2011, 31(2): 522-528.
- [ 4 ] 李慧, 丛郁, 王宏伟, 常有宏, 盛宝龙, 蔺经, 王中华. 镉对草莓幼苗根尖氧化系统和基因组 DNA 损伤的影响. 园艺学报, 2010, 37(5): 721-730.
- [ 5 ] 何俊瑜, 任艳芳, 严玉萍, 朱诚, 蒋德安. 镉胁迫对水稻幼苗生长和根尖细胞分裂的影响. 土壤学报, 2010, 47(1): 138-144.
- [ 6 ] 柯庆明. 水稻对镉累积的遗传生态学特性研究[D]. 福建: 福建农林大学, 2006.
- [ 7 ] 肖美秀, 林文雄, 陈冬梅, 梁康迺, 柯庆明, 梁义元. 耐 Cd 水稻种质资源的筛选. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2006, 35(2): 117-122.
- [ 8 ] 毛达如. 植物营养研究方法(第二版). 北京: 中国农业大学出版社, 2005: 16-17.
- [ 9 ] 肖清铁, 戎红, 周丽英, 刘杰, 林文雄, 林瑞余. 水稻叶片对镉胁迫响应的蛋白质差异表达. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1013-1019.
- [ 10 ] 王经源, 陈舒奕, 梁义元, 林文雄. ISO-DALT 双向电泳方法的优化与改进. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2006, 35(2): 187-190.
- [ 11 ] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册. 北京: 科学出版社, 2000: 42-46.
- [ 12 ] 赵天宏, 孙加伟, 付宇. 逆境胁迫下植物活性氧代谢及外源调控机理的研究进展. 作物杂志, 2008, (3): 10-13.
- [ 13 ] 李红丽, 刘迪秋, 何华, 张南南, 葛锋, 陈朝银. 类胡萝卜素蛋白在植物防卫反应中的作用. 植物生理学报, 2013, 49(4): 331-336.
- [ 14 ] Markham G D, Pajares M A. Structure-function relationships in methionine adenosyltransferases. Cellular and Molecular Life Sciences, 2009, 66(4): 636-648.
- [ 15 ] 宋瑜, 金棵, 曹宗英, 王晓娟. 植物对重金属镉的响应及其耐受机理. 草业学报, 2008, 17(5): 84-91.
- [ 16 ] Barić I, Fumić K, Glenn B, Ćuk M, Schulze A, Finkelstein J D, James S J, Mejaški-Bošnjak V, Pažanin L, Pogribny I P, Radoš M, Sarnavka V, Šćukanec-Špoljar M, Allen R H, Stabler S, Uzelac L, Vugrek O, Wagner C, Zeisel S, Mudd S H. S-adenosylhomocysteine hydrolase deficiency in a human: a genetic disorder of methionine metabolism. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(12): 4234-4239.
- [ 17 ] Ahsan N, Lee D G, Alam I, Kim P J, Lee J J, Ahn Y O, Kwak S S, Lee I J, Bahk J D, Kang K Y, Renaut J, Komatsu S, Lee B H. Comparative proteomic study of arsenic-induced differentially expressed proteins in rice roots reveals glutathione plays a central role during As stress. Proteomics, 2008, 8(17): 3561-3576.
- [ 18 ] Alvarez S, Berla B M, Sheffield J, Cahoon R E, Jez J M, Hicks L M. Comprehensive analysis of the *Brassica juncea* root proteome in response to cadmium exposure by complementary proteomic approaches. Proteomics, 2009, 9(9): 2419-2431.

- [19] Wang Y, Qian Y R, Hu H, Xu Y, Zhang H J. Comparative proteomic analysis of Cd-responsive proteins in wheat roots. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, 33(2): 349-357.
- [20] Devriese M, Tsakaloudi V, Garbayo I, León R, Vílchez C, Vigara J. Effect of heavy metals on nitrate assimilation in the eukaryotic microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2001, 39(5): 443-448.
- [21] Gillet S, Decottignies P, Chardonnet S, Le Maréchal P. Cadmium response and redoxin targets in *Chlamydomonas reinhardtii*: a proteomic approach. *Photosynthesis Research*, 2006, 89(2/3): 201-211.
- [22] 程维舜, 孙玉宏, 曾红霞, 杜念华, 施先锋, 蔡新忠. ASR 蛋白与植物的抗逆性研究进展. *园艺学报*, 2013, 40(10): 2049-2057.
- [23] Brands A, David Ho T H. Function of a plant stress-induced gene, *HVA22*. Synthetic enhancement screen with its yeast homolog reveals its role in vesicular traffic. *Plant Physiology*, 2002, 130(3): 1121-1131.
- [24] Guo W J, David Ho T H. An abscisic acid-induced protein, *HVA22*, inhibits gibberellin-mediated programmed cell death in cereal aleurone cells. *Plant Physiology*, 2008, 147(4): 1710-1722.
- [25] Arenhart R A, Margis R, Margis-Pinheiro M. The rice ASR5 protein: a putative role in the response to aluminum photosynthesis disturbance. *Plant Signaling & Behavior*, 2012, 7(10): 1263-1266.
- [26] Salekdeh G H, Siopongco J, Wade L J, Ghareyazie B, Bennett J. A proteomic approach to analyzing drought- and salt- responsiveness in rice. *Field Crops Research*, 2002, 76(2/3): 199-219.
- [27] Ciciarello M, Mangiacasale R, Lavia P. Spatial control of mitosis by the GTPase Ran. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2007, 64(15): 1891-1914.
- [28] Chen N, Xu Y Y, Wang X, Du C, Du J Z, Yuan M, Xu Z H, Chong K. *OsRAN2*, essential for mitosis, enhances cold tolerance in rice by promoting export of intranuclear tubulin and maintaining cell division under cold stress. *Plant, Cell & Environment*, 2011, 34(1): 52-64.