
分子植物卓越中心等报道基于Ca²⁺荧光探针Aequorin的正向遗传筛选系统

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/14113.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

中国科学

院分子植物科学卓越创新中心研究员赵杨研究组和河南大学教授朱晓红合作在*Cell*子刊*STAR Protocols*发表了题为*Screening for Arabidopsis mutants with altered Ca²⁺ signal response using aequorin-based Ca²⁺ reporter*

*system*的研究论文，详细介绍了筛选拟南芥Ca²⁺

信号缺陷突变体的方法与具体的实验流程。该文章利用两种不同的遗传背景，建立了两套优化的正向遗传筛选系统，这两种方法均采用基于Aequorin的Ca²⁺荧光监测。

植物需要整合并响应外部环境信号和内部细胞间信号，调控其生长与发育。信号的传递主要包括信号输入、感受及传导、信号输出等过程，其中信号输出可分为生化反应、细胞和组织的适应性反应等。植物受体激酶介导多种信号的感知，其介导的早期的生化反应主要包含激酶级联磷酸化反应、Ca²⁺

和ROS信号等。植物如何感知并响应外界和细胞间信号一直是广受关注的科学问题，但迄今只发现部分环境信号和细胞间信号的受体以及上游信号调控因子。

Ca²⁺

信号在动植物细胞感知刺激后瞬时产生，称为C

a²⁺

信号响应（1s内，持续约2-5min），是目前少数可用于遗传筛选的早期细胞刺激信号响应之一。

目前已知多种刺激可以诱导Ca²⁺

信号，包括环境信号中的渗透、盐、重金属、温度、伤害等，以及多种来源于植物或者病菌的效应分子，例如H₂O₂

、ATP、氨基酸、鞭毛蛋白、脂多糖和醌

类等。利用Ca²⁺

响应作为切

入点，研究人员发现了

多种信号的受体或者上游信号元件，例如，胞

外H₂O₂

和植物醌类物受体HPCA1/CARD1、脂多糖受体LORE、胞外ATP受体DORN1等。然而，基于Aequorin的Ca²⁺

荧光监测有灵敏度过低的缺点，导致突变体筛选与基因克隆难度较大，尚未得到广泛应用。

第一种遗传筛选体系基于AEQsig6

材料，通过喷施Coelenterazine预处理，检测Ca²⁺

荧光信号响应，该方法适用于子叶Ca²⁺

信号缺陷突变体的筛选和鉴定。Aequorin的生物光峰值位于叶绿素b最大吸收波长范围。为减少拟南芥幼

苗中叶绿素的干扰

，研究人员将Aequorin报告系统引入

到具有白化子叶表型的sig6突变体中，得到AEQsig6材料。因此，AEQsig6

具有更强的Ca²⁺

荧光响应。利用该方法，赵杨研究组发现Ca²⁺

响应的磷脂结合蛋白OSMO1/BON1作为上游信号元件介导植物整体渗透胁迫应答（*Current Biology*, 2020）。

第二种遗传筛选体系基于Ubiquitin

启动子驱动表达的Aequorin报告系统（AEQub），利用膜黏着幼苗（Film Adhesive

Seedling）体系，通过Coelenterazine溶液孵

育处理，Ca²⁺

荧光信号响应

更为均一，差异可比性高，

且该体系可以同时展示幼苗根和叶片Ca²⁺

信号的响应差异及不同刺激诱导的Ca²⁺

信号响应特征，适合不同类型的Ca²⁺

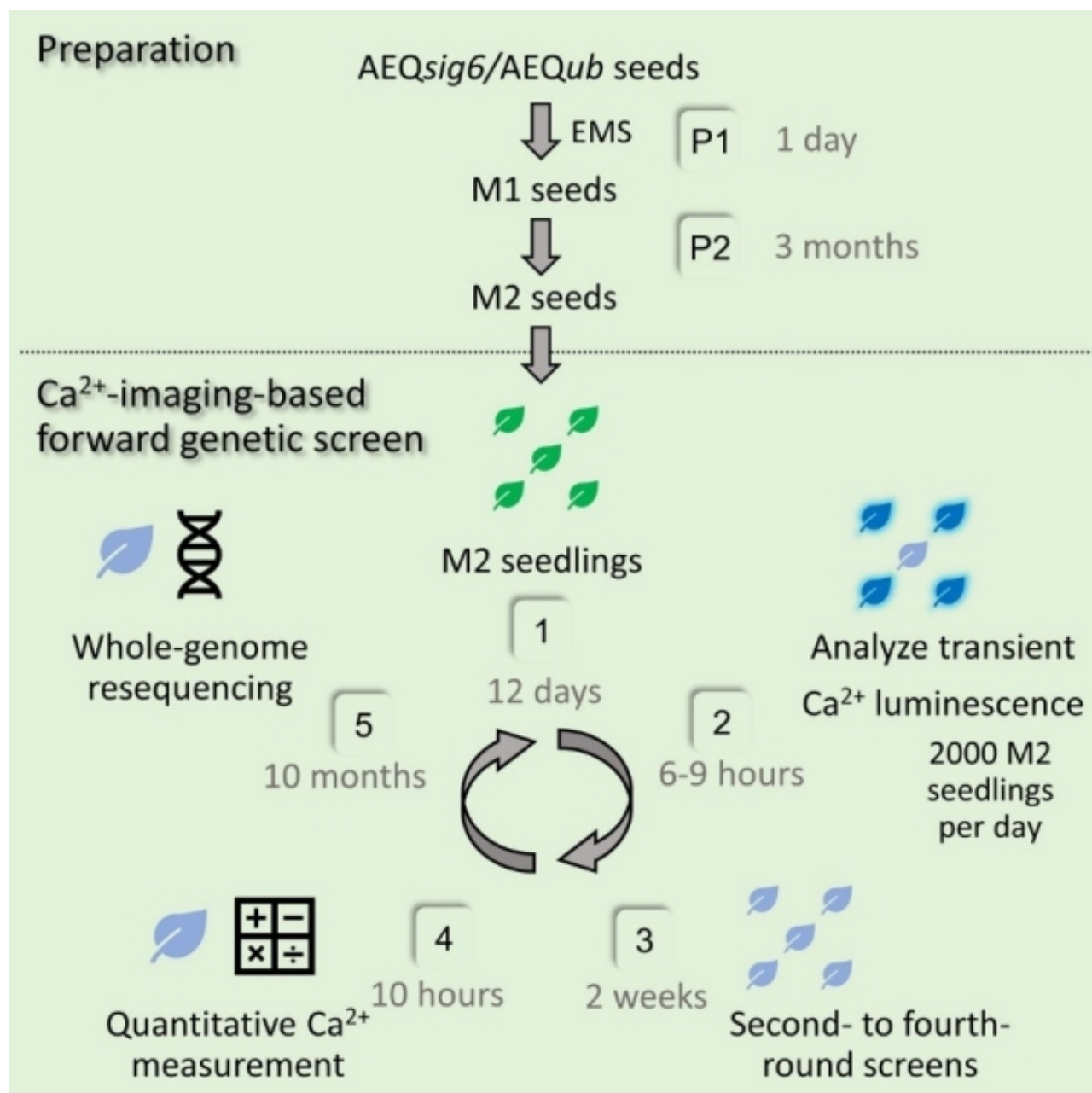
信号响应突变体的筛选和鉴定。AEQub材料由于利用Ubiquitin启动子驱动

Apoaequorin的表达，减弱了基因沉默对Ca²⁺

信号检测的干扰。利用该方法，已筛选鉴定得到多个Ca²⁺信号增强或减弱的突变体。

分子植物卓越中心赵杨研究组助理研究员孙姝璟以及河南大学研究助理张晓燕为论文共同第一作者，赵杨为论文通讯作者。研究工作得到中科院战略性先导科技专项和国家自然科学基金的支持。

[论文链接](#)



钙离子信号缺陷突变体筛选流程简图

研究团队单位：分子植物科学卓越创新中心

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发