

枣树盐胁迫反应的比较蛋白质组学分析

曹尚银^{1,*}, 沈程清², 郭俊英¹, 薛华柏¹, 刘 丽¹, 谢深喜³, 张 玲²

(¹中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009; ²湖南省临武县农业局, 湖南临武 424300; ³湖南农业大学园艺园林学院, 长沙 410128)

枣原产我国, 抗盐碱, 耐旱、耐瘠薄。近年来, 我国的新疆和沿海地区, 在盐碱地上正探索大面积发展枣树生产, 这对减轻人类所面临的土地资源、淡水资源、粮食供需的矛盾以及有效控制环境恶化都有重要意义。分析枣树耐盐胁迫反应相关蛋白, 以期为进一步研究盐胁迫下枣叶片特异蛋白质的功能及选择耐盐枣育种材料和揭示枣耐盐分子机制奠定基础。

选用七月鲜枣当年生扦插苗。盆栽基质为普通土加草炭 $100 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (干质量, 下同) 和河沙 $50 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 混匀、过筛。每盆栽大小基本一致的 3 株枣苗, 每个处理 3 次重复, 每个重复 10 盆。NaCl 处理浓度为: 0, 0.60% (按基质干质量计)。取相应量 NaCl 兑水至 1 500 mL, 一次浇入。自然光照避雨状态下培养, 25 d 时分别采集每株苗中部 3 片成熟叶用 ddH₂O 冲洗干净后迅速用滤纸轻轻擦干, 称取 500 mg, 加入 0.5 mL 全细胞裂解液 ($7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 尿素, $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫脲, $65 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris, 4% CHAPS, 0.2% IPGbuffer), 混匀, 超声破碎细胞 (冰浴)。离心 12 000 g, 45 min, 取上清液, 用 $0.22 \mu\text{m}$ 过滤, 获得澄清溶液。上清液采用 Bradford 法定量, $100 \mu\text{g}$ 分装样品, -80°C 保存。双向电泳根据 Bio-Rad 公司的 ProteomeWorks™ System 中的方法进行。双向电泳凝胶染色采用改良的银染法。双向电泳凝胶图象扫描采用 GS800 光密度扫描仪 (Bio-Rad), 用 PDQuest 8.0 版软件进行图象分析, 斑点检测和匹配分析, 找出差异蛋白。

试验结果表明: 用 Image Master 2D 图象处理软件进行背景消除、污染点去除和放大检测, 共检测出枣在盐胁迫下 26 个蛋白质点发生了变化, 其中 6 个上调蛋白、20 个下调蛋白。6 个受胁迫上调蛋白分别是 1717、1253、1459、1233、2120、287; 20 个受胁迫下调蛋白分别是 2443、2496、2498、2474、2543、2288、2550、1896、1418、1527、1526、1374、1362、1438、6811、655、1528、1182、647、492。在上调的蛋白质点中, 1459 变化最大, 与对照相比, 受盐胁迫诱导增加了近 4 倍; 其次是 2475、1253 和 2120, 这 3 个蛋白质点在盐胁迫后相对丰度增加了 2 倍以上, 表现出强烈的盐诱导特性, 说明其可能在枣的抗盐机制中发挥重要作用。在下调的蛋白质点中, 2543 受盐胁迫抑制最大, 其相对丰度降低至对照的 1/8 左右, 表现出强烈的盐抑制特性, 说明 2543 可能是对盐胁迫比较敏感的一个蛋白质或多肽, 并且在枣的抗盐性机制中也发挥比较重要的作用。其它受盐胁迫抑制而相对丰度降低比较大的蛋白质点还有 2498、2496、287、647、1526、1527、2550、492 等。

关键词: 枣; 盐胁迫反应; 比较蛋白组学; 双向电泳

中图分类号: S 665.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2495-01

收稿日期: 2011-07-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30671455); 科技部社会公益研究专项 (2005DIA4J047)

* E-mail: s.y.cao@163.com; Tel: 0371-65330963