

Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白和植物耐盐性

任仲海 马秀灵 赵彦修 张 慧*

(山东师范大学逆境植物研究所, 济南 250014)

摘 要 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白对植物耐盐起着重要作用,它利用质膜 H⁺-ATPase 或液泡膜 H⁺-ATPase 及 PPIase 泵 H⁺ 产生的驱动力把 Na⁺ 排出细胞或在液泡中区隔化以消除 Na⁺ 的毒害。主要讨论植物中 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白研究在分子水平的最新进展。

关键词 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白, 耐盐性, 基因工程

中图分类号 Q42 **文献标识码** C **文章编号** 1000-3061(2002)01-0016-04

自然界中,植物对盐的适应有明显差异,适应范围非常广泛,既有盐敏感的甜土植物,又有耐盐的盐生植物。虽然有些盐生植物的生长需要 Na⁺,但是土壤中过多的 Na⁺ 仍然是世界上大面积盐荒地上植物生长的主要限制因子之一。由于大多数农作物为盐敏感的甜土植物,盐更是影响农作物产量的主要限制因子。

盐对植物的伤害包括两方面,其一,土壤中较高的溶质浓度导致的水分亏缺;其二,植物吸收水分的同时吸收了过多的盐离子所带来的离子毒害,特别是 Na⁺ 毒害。盐生植物虽然能适应高盐环境,但是其胞质内的酶并不能适应高 Na⁺ 水平,而表现出与甜土植物酶同样的 Na⁺ 敏感性,因此,外界 Na⁺ 浓度升高时,植物反应的最终结果就是保持胞质内较低的 Na⁺ 浓度。

植物消除 Na⁺ 毒害的策略包括:降低 Na⁺ 的吸收、Na⁺ 的外排和 Na⁺ 的区隔化。Na⁺ 吸收是一个复杂的过程,本文不做详细的阐述。Na⁺ 的外排和区隔化是间接的主动运输过程,主要由 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白来调节。虽然 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白是在生物界普遍存在的负责 Na⁺/H⁺ 交换的一种跨膜运输蛋白,但在植物中扮演着重要的角色,它通过 Na⁺ 外排和 Na⁺ 区隔化来保持植物细胞内的低 Na⁺ 水平,是植物耐盐的关键因子。

1 Na⁺ 的外排

Na⁺ 从细胞内排出需要逆着其电化学势转运,是一个主动运输的过程。海藻的质膜上存在 Na⁺-ATPase,水解的 ATP 驱动 Na⁺ 向胞外运输,第一次在植物中报道 Na⁺-ATPase 基因的克隆是在单细胞金藻 (*Heterosigma akashiwo*) 中,Shono 等^[28]用 RACE 技术从 cDNA 克隆得到 *H. akashiwo* 的 Na⁺-ATPase 基因 *HANA*,该基因编码一个 1330 个氨基酸的蛋白,

和 Na⁺/K⁺ ATPase 的 α -亚基有 40% 的同源性。目前,在高等植物中还没发现 Na⁺-ATPase 的存在。我们认为在高等植物的泌盐盐生植物中可能存在 Na⁺-ATPase,对泌盐盐生植物 Na⁺-ATPase 的研究,我们将着手进行。

高等植物的排 Na⁺ 机制主要与质膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白有关,质膜 H⁺-ATPase 用水解 ATP 的能量把 H⁺ 从细胞质中泵出细胞,产生跨质膜的 H⁺ 电势梯度,提供能量^[14],驱动质膜上的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白,使 H⁺ 顺其电势进入细胞,同时 Na⁺ 逆其电势排出细胞。现在,Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白活性已在许多高等植物和藻类中检测到^[4]。质膜上的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因最初由酵母克隆得到。啤酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中^[9],质膜 Na⁺-ATPase 主要在碱性条件下起作用,可直接利用水解 ATP 的能量把 Na⁺ 泵到细胞外。而在酸性条件下 *S. cerevisiae* 则利用质膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白把 Na⁺ 排出细胞外,在筛选 NaCl 耐性菌株时鉴定到该蛋白是由 *NHA1* 基因编码的^[2,25]。目前,在酵母中克隆到的其他 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因还有 *SOD2* (*Schizosaccharomyces pombe*)^[15], *Z-SOD2*^[29] 和 *Z-SOD22*^[14] (*Zygosaccharomyces rouxii*)。过量表达 *NHA1* 的酵母细胞其 Na⁺ 和 Li⁺ 耐性在低 pH 值时升高^[2,25]。*SOD2* 可提高裂殖酵母 *S. pombe* 在酸性条件下 Na⁺、Li⁺ 耐性^[15]。这些结果表明质膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因是酵母在酸性环境中耐盐的关键基因。在植物中,Shi 等从拟南芥中克隆到 *SOS1* 基因 (*Salt Overly Sensitive 1*)^[27],它编码的蛋白与细菌和真菌的质膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白具有非常高的同源性,拟南芥 *SOS1* 突变体对盐超敏感,表明 *SOS1* 在植物耐盐机制中起重要作用。Hamada 等^[12]从蓝藻中克隆了质膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因 *SynNhaP*,其产物 *SynNhaP* 和拟南芥的 *SOS1*,假单胞杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 的 *NhaP* 具有很高

收稿日期:2001-05-25,修回日期:2001-08-29。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.39980022)。

* 通讯作者。Tel:86-531-2960864;E-mail:zhangh@sdu.edu.cn

的同源性,它可以恢复大肠杆菌 *NhaA*, *NhaB*, *ChaA* 突变体的盐敏感性表型,在质膜的 Na⁺/H⁺ 交换中起着重要作用。克隆 *SOS1* 基因后,朱健康实验室在拟南芥中做了过量表达,转基因植株的耐盐性明显提高(私人通讯)。我们实验室也已克隆得到裂殖酵母 *SOS2* 基因,并使其在拟南芥中过量表达。转基因植株 NaCl 耐受能力比野生型提高,Na⁺ 外排提高的情况,本实验室正在检测中。

在盐藻 (*Dunaliella Salina*) 和盐生植物大洋洲滨藜 (*Atriplex nummularia*) 中,质膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的活性随 NaCl 浓度的升高而增强;在滨藜属植物中随着 NaCl 浓度的升高,不但 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白活性增强,同时还伴随着质膜 H⁺-ATPase 活性的增强;栽培番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 和奥斯曼番茄 (*Lycopersicon cheesmanii*) 质膜 H⁺-ATPase 活性也随 NaCl 处理浓度的升高而升高^[4]。质膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白排出 Na⁺ 及质膜 H⁺-ATPase 泵出 H⁺, 二者之间存在相关性,但也有报道非离子渗透剂如山梨醇和 PEG 处理的植物细胞,质膜 H⁺-ATPase 活性也会升高^[7]。盐胁迫同样可以增强 *SOS1* 的表达,并且这一基因的表达具有组织特异性,NaCl 胁迫条件下 *SOS1* 在根中的表达量比茎中更高^[27];关于 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白 *SOS1* 的调控,朱健康教授提出 *SOS3/SOS2* 调节途径,*SOS2* 编码一个蛋白激酶^[11],*SOS3* 编码一个钙结合蛋白^[16,17,31],*SOS3* 通过调节 *SOS2* 来调节 *SOS1* 的表达^[11,14,32]。

2 Na⁺在液泡内的区隔化

虽然所有植物都有大量 Na⁺ 流入细胞,但是盐生植物和甜土植物都要把胞质内的 Na⁺ 保持在非毒性水平,大多数植物把 Na⁺ 区隔化入液泡,为消除 Na⁺ 在细胞质中的不利影响提供了一个有效机制,并且 Na⁺ (和 Cl⁻) 在液泡中的区隔化还可使植物利用 NaCl 作为渗透剂,来保持渗透势以驱动水分进入细胞。对液泡 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的研究始于酵母,多方面的证据已经证明酵母中去除 Na⁺ 毒害的机制可能与植物中相同,它们对盐胁迫的反应以依赖于 Ca²⁺ 的信号传导机制为主^[11],来源于它们的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白是一致的^[20,10,1,8]。通过对酵母质膜 Na⁺-ATPase 功能缺失突变体 *pma1* 的研究,表明酵母除了限制 Na⁺ 内流这一机制外,还存在细胞内的 Na⁺ 区隔化机制^[30]。Na⁺ 运输到液泡是由液泡 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白完成的,而液泡的 H⁺ 移位酶即 H⁺-ATPase 和 H⁺-PPiase 产生跨液泡膜的 H⁺ 电化学势梯度,为 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白提供驱动力。Nass 等^[19] 在筛选 Calcineurin 突变体 (*cnb1*) 的抑制子时,发现了一个与耐盐性有关的新基因 *NHX1*,它编码 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白,定位于前液泡膜和液泡膜上负责 Na⁺ 的区隔化。

自第一次在甜菜贮藏组织的液泡膜囊泡检测到液泡 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的活性后,已在许多植物中发现液泡膜具有 Na⁺/H⁺ 交换活性,如:甜菜 (Red beet)^[5],冰叶日中花 (*Mesembryanthemum crystallinum*)^[3],拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)^[1],碱蓬 (*Suaeda salsa*)^[18] 等。拟南芥基因组测序鉴定出与啤酒酵母 *NHX1* 非常相似的 *AtNHX1*,这些基因是所克隆的第一批植物 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因^[4]。随之,水稻、

冰叶日中花、碱蓬等高等植物的液泡 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因相继得到克隆,分别为 *AtNHX1*^[10]、*OsNHX1*^[8]、*McNHX1*、*SsNHX1*^[18]。

Apse 等^[1] 证明 *AtNHX1* 编码一个液泡 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白,过量表达 *AtNHX1* 的植株液泡膜的 Na⁺/H⁺ 交换率比野生型植株要高得多,转基因植株更高的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白活性和 *AtNhx1* 蛋白量的升高是一致的,在 200mmol/L NaCl 胁迫条件下,转基因植株的生长未受影响,提高的液泡 Na⁺ 转运活性伴随着液泡中区隔化的 Na⁺ 浓度的升高,有力地支持了 Na⁺ 区隔化在耐盐中的作用。一些植物中液泡 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的活性受到 NaCl 的正调控;甜菜悬浮细胞培养基中的 NaCl 可以使液泡膜上的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的分子数目增加;高浓度的 NaCl 处理冰叶日中花 (*Mesembryanthemum crystallinum*),其液泡膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白活性上升;大麦根部液泡膜上的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的活性也受到 NaCl 的诱导^[4]。盐胁迫可以增强 *AtNHX1*^[10]、*SsNHX1*^[18] 和 *OsNHX1*^[8] 的表达。并且这些基因的表达具有组织特异性。NaCl 胁迫条件下,*AtNHX1* 在叶中的转录水平比对照高出 4 倍,而根中的转录水平与对照几乎没有差异^[26];同样的,NaCl 处理之后,*OsNHX1* 在茎中的转录水平是对照的 2.3 倍,而根中的转录水平仅是对照的 1.8 倍^[8]。经 NaCl 处理后,*SsNHX1* 在茎中的表达明显高于根中^[18]。这些结果表明植物对 Na⁺ 的解毒机制是在根中主要将 Na⁺ 排出而在茎叶中主要把 Na⁺ 区隔化。

但是现在还不清楚调节液泡 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白活性的机制,以及它在正常生长条件及盐胁迫条件下的表达调控机制^[6]。Na⁺ 不但调节着液泡上 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的活性,同时也调节着 H⁺ 泵的活性。NaCl 处理可以提高液泡膜 H⁺-ATPase 的活性已有很多报道^[7],但是,目前 Na⁺ 对 H⁺-PPiase 活性影响的研究相对较少,Na⁺ 可以刺激液泡膜 H⁺-ATPase 的活性,而高浓度的 NaCl 则会抑制液泡膜 H⁺-PPiase 活性^[29],Na⁺ 对 H⁺-PPiase 活性的影响可能是 Na⁺ 竞争酶中 K⁺ 结合位点的缘故^[30]。Gaxiola 等^[10] 在盐敏感的 *ena1* 酵母突变体中过量表达拟南芥液泡 H⁺-PPiase 基因 *AVP1-D*。因为 *ena1* 菌株不表达 Na⁺-ATPase,使最基本的 Na⁺ 外排机制不起作用,导致胞内 Na⁺ 水平显著升高,这样的条件下,胞质内 Na⁺ 的解毒只能由区隔化来完成。过量表达 *AVP1-D* 的 *ena1* 菌株可以恢复耐盐性,进一步验证了液泡膜 H⁺-PPiase 在 Na⁺ 区隔化中所起的重要作用,同时,胞内 Na⁺ 含量的降低表明它还可增加质膜对 Na⁺ 的排斥或排出。

最近,利用基因工程手段,Blumwald 等在番茄中过量表达 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白,得到了世界上第一批真正意义上的耐盐作物,用 200mmol/L NaCl 浇灌转基因植株,仍可正常生长并结实 (Blumwald 等, *Nature Biotechnology*, 将发表)。

植物 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因克隆的缓慢进展曾一度严重阻碍了对 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的分子分析及对影响其活性因素的鉴定。最近,编码 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的基因的分子鉴定将为研究它的转录及翻译后调控提供便利。

3 Na⁺/H⁺逆向转运蛋白的氨基酸序列相似性及功能保守性

日前,在 GenBank 中已注册的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基

因已达 400 多个。例如大肠杆菌 *Escherichia coli* 中的 *NhaA*, *NhaB*, *ChaA*^[24]; 酵母中的 *NHX1*^[19], *SOD2*^[15]; 动物中 *NHE1-6*^[21,22] 和植物中的 *AtNHX1*, *SOS1*, *SsNHX1* 等。这些基因所编码的氨基酸序列具有一些特征, 与功能密切相关。Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白是一个跨膜蛋白, 用 TMpred 软件分析 *OsNhxl*, *SsNHX1* 序列, 可推测到 12 个穿膜区域^[9,18]。跨膜区高度保守, 对 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白担负 Na⁺/H⁺ 转运的功能非常重要。

迄今为止, 在逆向转运蛋白中只有很少的功能残基被确定, 哺乳动物 *Nhe* 的 amiloride 结合域和糖基化位点中氨基酸残基的重要性已有报道^[22,23]。AtNhxl 的 TM3 区的 81LFFIYLLPPI90 序列在 *OsNhxl*, *SsNHX1*, *Nhxl* 以及哺乳动物的 NHE 都是高度保守的^[12], 哺乳动物中这个区域是作为 amiloride 的结合位点而鉴定的, 可抑制真核生物的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白。在 *SynNhaP* 中这个区域的序列为 68LLMEIFLPL77, 明显不同于 AtNhxl, 但和 *SOS1*, *NhaP* 相似。因为这些逆向转运蛋白中只有 *Nhe1* 的 amiloride 敏感性已知, 所以这些差异序列之间的相关性还不清楚。*OsNhxl*, *SsNHX1* 和 NHE 序列中均具 Asn 的糖基化位点, 说明 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白是已糖基化的蛋白。

SynNhaP Asp-138 是行使功能必不可少的, 该氨基酸残基在 *NhaP*, *SOS1*, *AtNhxl*, *OsNhxl*, *SsNHX1*, *Nhxl* 以及哺乳动物的 *Nhe1* 中都非常保守。但真核生物中 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白疏水区 Asp 残基的重要性只有 *SynNhaP* 有报道^[12]: *SynNhaP* 中的 Asp-138 残基用 Glu 替代, *SynNhaP* 的活性就会丧失, Asp-138 邻近的空间构象非常重要。

SynNhaP 和 *SOS1* 都有长的 C 端亲水的尾部且它们的跨膜区有非常显著的序列相似性^[12], C 端长的尾巴在 Na⁺ 运输中起重要作用。因此 *SynNhaP* 的功能和结构分析对 *SOS1* 的研究会大有帮助。*SynNhaP* 也许能为真核生物的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的结构和功能特性的研究提供一个模式系统。

我们对不同来源的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白做了一下系统发育分析(见 Fig. 1), 由图可知, 来源于植物的液泡 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白 *AtNHX1*, *SsNHX1*, *OsNHX1* 亲缘关系较近, 而与同样来源于植物的质膜 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白 *AtSOS1* 则亲

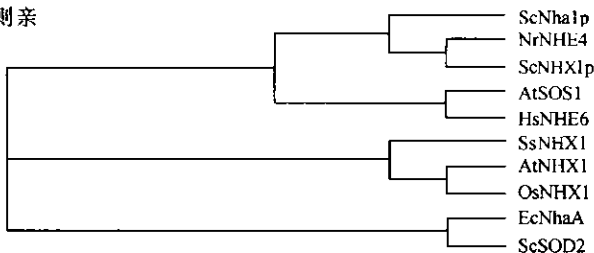


图 1 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白的系统发育分析

Fig. 1 Phylogenetic analysis of Na⁺/H⁺ antiporter proteins
AtNHX1 (*A. thaliana*), NP-1730088; *SsNHX1* (*S. salsa*), AAK53432;
OsNHX1 (*oryza sativa*), C91832; *ScNHX1p* (*S. cerevisiae*),
 NP-010744; *HsNHE6* (*Homo sapiens*), Q92581; *NrNHE4* (Norway rat),
 P26434; *ScNha1p* (*S. cerevisiae*)^[2], NP-013239;
EcNhaA (*E. coli*), AE005178-7; *ScSOD2* (*S. pombe*), AF069292;
AtSOS1 (*A. thaliana*), AF256224-1

缘关系较远。来源于酵母、细菌和动物的 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白与植物 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白更不具同一起源。

Gaxiola^[10] 克隆了 *AtNHX1*, 在啤酒酵母中进行异源表达, 平板分析表明 *AtNHX1* 能抑制 $\Delta nhx1$ 的 hygromycin 敏感表型, 抑制 NaCl 的敏感表型需要减少 K⁺ 的吸收, 培养基中的 amiloride 不能抑制 *Nhx1* 或 *AtNhxl* 的活性; 另外, 用 250 mmol/L NaCl 和 250mmol/L KCl 分别处理植物 6h 可使 *AtNHX1* 的转录水平分别提高 4.2 倍和 2.8 倍。这些结果表明 *At-Nhx1* 的某些功能和酵母 *Nhx1* 是等价的。Quintero 等^[26] 把在酵母中表达的 *AtNhxl* 定位到了酵母的液泡膜, 不过在与质膜密度近似的膜碎片上也有信号, 可能是丰富表达的 *AtNhxl* 在内质网暂时存留的结果。发现 *AtNhxl* 恢复 *nhx1* Na⁺ 耐性的功能与酵母内源的 *ScNhxl* 的功能相似, 但不能恢复 *nha1* 菌株的耐盐性, 并且证明了 *Nhx1* 和 *AtNhxl* 在耐盐中的作用与线粒体无关。用高浓度的 LiCl (300mmol/L) 处理酵母细胞 (300mmol/L LiCl 超过了 *Eha1-4* 和 *Nha1* 蛋白对 Li⁺ 外排的能力, 可以促进离子的区隔化), 结果发现处理后野生型细胞的 Li⁺ 含量比纯系突变体 *nhx1* 和 *vma3* (ATPase C 亚单位突变体) 的 Li⁺ 含量都高, 而 *nhx1* 和 *vma3* 的 Li⁺ 含量几乎一样。这表明 *ScNhxl* 和 V-ATPase 对离子吸收的贡献是等价的, 并且这两种蛋白的功能是紧密相关的。*nhx1* 和 *vma3* 对 Li⁺ 外排的速率都比野生型高, 因为它们都不能将 Li⁺ 区隔化, 而 *AtNHX1* 可以恢复 *nhx1* 的离子吸收到野生型水平, 且降低了 Li⁺ 的外排速率, 但是 *AtNHX1* 不能恢复 *vma3* 的离子吸收, 也不能降低 Li⁺ 的外排速率。这些结果有力的支持了酵母的离子区隔化理论, 也表明了植物和酵母 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白功能的保守性。

4 结 论

毋庸置疑, Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白在耐盐中起到重要作用, 它的功能不仅仅是解除 Na⁺ 的毒性, 在细胞器的发生及离子均衡过程中还执行体积和渗透调节的功能, 是保持细胞离子均衡的关键因子。随着淡水资源的匮乏, 对盐碱地的开发成为当务之急, 开发耐盐农作物尤为重要。Blumwald 转 *AtNHX1* 基因的番茄成为第一批具有实用价值的耐盐农作物后, Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白将成为人们关注的热点, 随着各种基因组测序工程的进展及 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白基因在各种植物中的克隆鉴定, 人们将会进一步弄清 Na⁺/H⁺ 逆向转运蛋白功能特征及其信号传导的调节途径, 对植物耐盐基因工程产生重要的指导意义。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Apse M P, Aharon G S, Snedden W A et al. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter in *Arabidopsis*. *Science*, 1999, 285: 1256 ~ 1258
- [2] Banuelos M A, Sychrova H, Bleykasten-Grosshans C et al. The NHA1 antiporter of *Saccharomyces cerevisiae* mediates sodium and potassium efflux. *Microbiology*, 1998, 144: 2748 ~ 2758
- [3] Barkla B J, Zingarelli L, Blumwald E, Smith JAC. Tonoplast Na⁺/H⁺ antiport activity and its energization by the vacuolar H⁺-ATPase in the halophytic plant *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant Physiology*, 1995, 109: 549 ~ 556
- [4] Blumwald E, Aharon G S, Apse M P. Sodium transport in plant cells.

- Biochim Biophys Acta*, 2000, **1465**: 145 ~ 151
- [5] Blumwald E, Poole R J. Na⁺/H⁺ antiporter in isolated vesicles from storage tissue of *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 1985, **78**: 163 ~ 167
- [6] Blumwald E. Sodium transport and salt tolerance in plants. *Current Opinion in Cell Biology*, 2000, **12**: 431 ~ 434
- [7] Bremberger C, Haschke H P, Lutttge U. Separation and purification of the tonoplast ATPase and pyrophosphatase from plants with constitutive and inducible Crassulacean acid metabolism. *Planta*, 1988, **175**: 465 ~ 470
- [8] Fukuda A, Nakamura A, Tanaka Y. Molecular cloning and expression of the Na⁺/H⁺ exchanger gene in *Oryza sativa*. *Biochim Biophys Acta*, 1999, **1446**: 149 ~ 155
- [9] Garcıadeblas B, Rubio F, Quintero F J *et al.* Differential expression of two genes encoding isoforms of the ATPase involved in sodium efflux in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Gen Genet*, 1993, **236**: 363 ~ 368
- [10] Garcıadeblas B, Rubio F, Quintero F J *et al.* The *Arabidopsis thaliana* proton transporters, AtNhx1 and Avp1, can function in cation detoxification in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 1480 ~ 1485
- [11] Halfter U, Ishitani M, Zhu J K. The *Arabidopsis* SOS2 protein kinase physically interacts with and is activated by the calcium-binding protein SOS1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 3735 ~ 3740
- [12] Hamada A, Hibino T, Nakamura T *et al.* Na⁺/H⁺ Antiporter from *Synechocystis* Species PCC 6803, Homologous to SOS1, Contains an Aspartic Residue and Long C-Terminal Tail Important for the Carrier Activity. *Plant Physiol*, 2001, **125**: 437 ~ 446
- [13] Ishitani M, Liu J, Halfter U *et al.* SOS3 Function in Plant Salt Tolerance Requires N-Myristoylation and Calcium Binding. *Plant Cell*, 2000, **12**: 1667 ~ 1678
- [14] Iwaki T, Higashida Y, Tsuji H *et al.* Characterization of a second gene (*ZSOD22*) of Na⁺/H⁺ antiporter from salt-tolerant yeast *Zygosaccharomyces rouxii* and functional expression of *ZSOD2* and *ZSOD22* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 1998, **14**: 1167 ~ 1174
- [15] Jia Z P, McCullough N, Martel R *et al.* Gene amplification at a locus encoding a putative Na⁺/H⁺ antiporter confers sodium/lithium tolerance in fission yeast. *EMBO J*, 1992, **11**: 1631 ~ 1640
- [16] Liu J, Zhu J K. A calcium sensor homology required for plant salt tolerance. *Science*, 1998, **280**: 1943 ~ 1945
- [17] Liu J, Zhu J K. An *Arabidopsis* mutant that requires increase calcium for potassium nutrition and salt tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 14960 ~ 14964
- [18] Ma X L, Zhang Q, Xiong L M *et al.* Molecular cloning and expression analysis of the Na⁺/H⁺ antiporter. *Suaeda salsa* (待发表)
- [19] Nass R, Cunningham K W, Rao R. Intracellular sequestration of sodium by a novel Na⁺/H⁺ exchanger in yeast is enhanced by mutations in the plasma membrane H⁺-ATPase: insights into mechanisms of sodium tolerance. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 26145 ~ 26152
- [20] Nass R, Rao R. Novel localization of a Na⁺/H⁺ exchanger in a late endosomal compartment of yeast. Implications for vacuole biogenesis. *J Biol Chem*, 1998, **273**: 21054 ~ 21060
- [21] Numata M, Petrecca K, Lake N *et al.* Identification of a mitochondrial Na⁺/H⁺ exchanger. *J Biol Chem*, 1998, **273**: 6951 ~ 6959
- [22] Orłowski J, Grinstein S. Na⁺/H⁺ exchangers of mammalian cells. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 22373 ~ 22376
- [23] Orłowski J. Heterologous expression and functional properties of amiloride high affinity (NHE-1) and low affinity (NHE-3) isoforms of the rat Na⁺/H⁺ exchanger. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 16369 ~ 16377
- [24] Padan E, Schuldiner S. Bacterial Na⁺/H⁺ antiporters: molecular biology, biochemistry, and physiology. In W N Konings, HR Kaback, JS Lolkema, eds. *Handbook of Biological Physics*, Vol 2. Elsevier Science, Amsterdam, 1996, pp501 ~ 531
- [25] Prior C, Potier S, Souciet J-L, Sychrova H. Characterization of the NHA1 gene encoding a Na⁺/H⁺ antiporter of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett*, 1996, **387**: 89 ~ 93
- [26] Quintero F J, Batt M R, Pardo J M. Functional conservation between yeast and plant endosomal Na⁺/H⁺ antiporters. *FEBS Lett*, 2000, **471**: 224 ~ 228
- [27] Shi H, Ishitani M, Kim C *et al.* The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 6896 ~ 6901
- [28] Shono M, Wada M, Hara Y *et al.* Molecular cloning of Na⁺-ATPase cDNA from a marine alga, *Heterosigma akashiwo*. *Biochim Biophys Acta*, 2001, **1511**: 193 ~ 199
- [29] Watanabe Y, Miwa S, Tamai Y. Characterization of Na⁺/H⁺ antiporter gene closely related to the salt-tolerance of yeast *Zygosaccharomyces rouxii*. *Yeast*, 1995, **11**: 829 ~ 838
- [30] Zhen R-G, Kim E J, Rea P A. Acidic residues necessary for pyrophosphate-energized pumping and inhibition of the vacuolar H⁺-pyrophosphatase by N, N'-dicyclohexylcarbodiimide. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 22340 ~ 22348
- [31] Zhu J K, Liu L, Xiong L. Genetic Analysis of Salt Tolerance in *Arabidopsis*: Evidence for a Critical Role of Potassium Nutrition. *Plant Cell*, 1998, **10**: 1181 ~ 1192
- [32] Zhu J K. Genetic Analysis of Plant Salt Tolerance Using *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2000, **124**: 941 ~ 948

Na⁺/H⁺ Antiporter and Plant Salt Tolerance

REN Zhong-Hai MA Xiu-Ling ZHAO Yan-Xiu ZHANG Hui*

(Institute of Plant Stress, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

Abstract Na⁺/H⁺ antiporter plays an important role in mechanisms of the plant salt tolerance, it extrudes Na⁺ from cell energized by the proton gradient generated by the plasma membrane H⁺-ATPase and/or compartmentalizes Na⁺ in vacuole energized by the proton gradient generated by the vacuolar membrane H⁺-ATPase and H⁺-PPiase. This review mainly discusses the latest progress in the study of Na⁺/H⁺ antiporter in plant and yeast at molecular level.

Key words Na⁺/H⁺ antiporter, salt tolerance, gene engineering

Received: 05-25-2001

This work was supported by grant from National Natural Science Foundation of China (No. 39980022).

* Corresponding author. Tel: 86-531-2960864; E-mail: zhangh@sdnu.edu.cn