

植物中的 P-ATP 酶

彭陈¹, 何冰², 郭士伟^{1,*}

江苏省农业科学院¹ 粮食作物研究所, 江苏省优质水稻工程技术研究中心; ² 农业生物技术研究所, 南京 210014

摘要: P-ATP 酶是指位于质膜上、由 ATP 驱动的一类经历磷酸化的阳离子泵, 它普遍存在于各种生物中, 广泛参与植物的离子运输、细胞信号转导、细胞膜形态建成等, 与植物的离子养分吸收运输、逆境抗性等相关。

关键词: 植物 P-ATP 酶; 结构与功能; 基因表达调节

P-ATPases in Plants

PENG Chen¹, HE Bing², GUO Shi-Wei^{1,*}

¹Institute of Food Crops, Jiangsu High Quality Rice R & D Center, ²Institute of Agro-Biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China

Abstract: There are many kinds of P-ATPases in the plasma membrane of plants, which participating in cation trans-membrane transport, cell signal transduction, and establishment of the cell membrane. The P-ATPases are very important for the plants nutrition ion uptake, and the resistance ability under stress environment.

Key words: P-ATPases in plants; composition and function; gene expression regulation

ATP 酶是能够水解 ATP 产生能量, 使离子逆电化学势梯度进行跨膜运输的膜载体蛋白。植物细胞膜上的 ATP 酶有 3 类: 第一类主要是位于质膜上的 P 型 ATP 酶, 它是由 ATP 驱动的一类可以被磷酸化的阳离子泵; 第二类主要是存在于液泡膜上的 V 型 ATP 酶, 它的主要功能是利用 ATP 水解产生的能量, 将质子从胞质泵至液泡内, 使液泡酸化; 第三类是耦联 H⁺ 跨膜转运和 ATP 合成的 F 型 ATP 酶, 主要存在于线粒体内膜和叶绿体类囊体膜上(黄有国 1996)。其中 P-ATP 酶在植物离子运输(H⁺-ATP 酶、Na⁺/K⁺-ATP 酶、Zn²⁺-, Cu²⁺-ATP 酶)、细胞信号转导(Ca²⁺-ATP 酶)和细胞膜系统的稳定性等方面有重要作用, 与植物养分的吸收和运输以及植物抗性等密切相关。

1 P-ATPase 家族种类和分布

1957 年 Skou 在研究蟹爪神经的阳离子传导时, 发现了由 K⁺ 驱动的 ATP 酶产生的跨膜电势, 现在知道这是一种 Na⁺/K⁺-ATP 酶, 它利用 ATP 跨轴突膜来传输 Na⁺ 和 K⁺ 离子。40 年后, 1997 年 Skou 同 Boyer、Walker 一起因此获得诺贝尔化学奖(Kühlbrandt 2004)。这是第 1 个被发现的 P-ATP 酶。之后, 在真核生物、部分细菌和古生菌中陆续发现 P-ATP 酶, P-ATP 酶在这些生物中的作用非常广泛(Baxter 等 2003)。

迄今, 在模式植物水稻和拟南芥中已分别发现了 43 和 46 个 P-ATP 酶家族(Baxter 等 2003; Axelsen 和 Palmgren 2001), 数量远大于隐杆秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*) (21 个)、黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*) (13 个)和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) (16 个)中 P-ATP 酶家族(Saier 等 2009)。此外, 在其他植物中也有多种 P-ATP 酶的功能得到鉴定, 如玉米(Frias 等 1996)、甘蓝(Malmstrom 等 1997)、西红柿(Wimmers 等 1992)、马铃薯(Harms 等 1994)、苜蓿(Krajinski 等 2000)以及多种藻类等(Fukuhara 等 1996)。

生物信息学作为基因组研究的有力武器, 广泛地用来快速寻找新基因, 聚类分析是其中重要的研究方面。Baxter 等(2003)对水稻和拟南芥的 P-ATP 酶进行了聚类分析, 按照运输的离子不同, 将这些 P-ATP 酶大致分为 5 个大的进化上相对接近的家族, 这 5 个家族又进一步衍生成 10 个亚家族, 其中 6 个亚家族 P_{1B} [heavy-metal ATPases (HMA)], P_{2A} [endoplasmic reticulum (ER)-type calcium ATPases

收稿 2009-12-26 修定 2010-04-30

资助 江苏省农业科技自主创新项目[0610803-5, cx (09)109]。

* 通讯作者(E-mail: shiwei.guo@jaas.ac.cn; Tel: 025-84390296)。

(ECA)]、 P_{2B} [autoinhibited calcium ATPase (ACA)]、 P_{3A} [autoinhibited H^+ ATPase (AHA)]、 P_4 [putative aminophospholipid ATPase (ALA)]和 P_5 (P-type ATPase, type 5, P5)在拟南芥和水稻中共有。在其他生物中发现的另外4个亚家族 P_{1A} (K^+)、 P_{2C} (Na^+/K^+)、 P_{2D} (Na^+ 或者 Ca^{2+})和 P_{3B} (Mg^{2+}) 在拟南芥和水稻中均不存在。这6个亚家族根据其蛋白序列的相似性又可被分为23个簇(图1)。

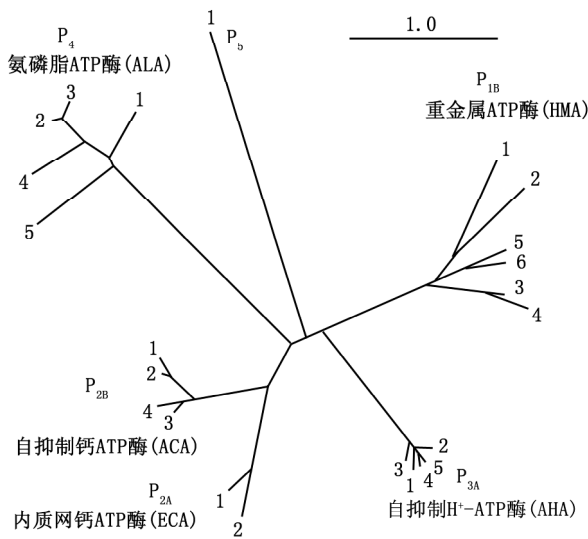


图1 拟南芥和水稻23个P-ATP酶簇的系统树(Baxter等2003)

Fig.1 Phylogenetic tree of 23 clusters for *Arabidopsis* and rice P-type ATPases (Baxter et al 2003)

到目前,上述P-ATP酶只有少数被准确亚细胞定位。利用融合绿色荧光蛋白和免疫检测技术,确定拟南芥中 P_{1B} 的AtHMA2位于质膜上,将PAA1/AtHMA6与标记蛋白融合后检测到该蛋白存在于叶绿体上(Baxter等2003)。拟南芥和水稻中已被定位的P-ATPases簇在亚细胞中的位置见表1。

2 P-ATPase 蛋白结构、作用机理和大致功能

2.1 酶的结构

对酶结构的了解是认识酶作用机理的基础。酶结构的研究主要借助X-射线、核磁共振等物理学方法。获得高纯度的酶蛋白是开展酶结构研究的基础。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)具有特异表达 H^+ -ATP酶的功能,Jahn等(2001)将拟南芥的质膜 H^+ -ATP酶与His₆标签融合后在酿酒酵母中高效异源表达,通过Ni²⁺-NTA

(nitrilotriacetic acid)层析获得了高纯度的拟南芥质膜 H^+ -ATP酶,立体投影图的结构解析分辨率达8 Å。利用X-射线技术对 Ca^{2+} -ATP酶和 H^+ -ATP酶结构的测定发现,酶的核苷酸结合位点和磷酸化结合位点的距离竟有25 Å,而磷酸化位点和离子结合位点之间的距离则更大,大约为45 Å,这出乎人们所料,当然这些结合位点的很多细节还需要进一步研究(Toyoshima等2000)。核磁共振(NMR)技术是目前测定蛋白结构最精细的方法,利用该技术测得的蛋白磷酸化结构域的分辨率已经达到1.2 Å(Lahiri等2009)。但是NMR技术对待测蛋白的结晶纯度要求很高,对于P-ATP酶等这样的膜蛋白来说获得高纯度的结晶非常困难。利用NMR曾对 Na^+/K^+ -ATP酶等核苷酸结合域结合和未结合ATP两种情况下的结构差异进行过研究,获得了一些很有用的信息(Hilge等2003)。

植物P-ATP酶都是多结构域的膜蛋白,C端和N端都位于膜上细胞质的一侧,分子量在70~150 kDa(Kühlbrandt 2004)。家族中各成员的结构不尽相同。拟南芥中有7个 P_{1B} ATP酶,分别是HMA、PAA1、RAN1、HMA1、HMA2、HMA4和HMA3,均参与重金属的运输。 P_{1B} ATP酶的典型特征是具有较短的C端结构域和非常大的N端结构域,其中N端含有重金属结合域(heavy metal-associated, HMA),该结构域为31个氨基酸,具有GMTCxxC的结构特征。但是HMA2和HMA4的结构和其他同类完全不同,二者具有很长的C端结构域,在这个长的C末端中还有CC的二肽和富含His的结构域,这些结构也具有HMA结构域的功能,能参与重金属的结合(Williams等2000)。

2.2 作用机理

P-ATP酶包括多种阳离子泵,对酸稳定,通过其中的Asp(天冬氨酸)残基的磷酸化循环来发挥作用,可被其状态转换的类似物钒酸盐抑制(Kühlbrandt 2004)。目前普遍认可的P-ATP酶运输离子的模型是酶的两构象状态E1和E2转换假说,认为酶存在E1和E2两种构象状态,这两种构象状态对所运输离子的亲和力不同,通过这种构象循环变化实现离子的运输。E1和E2之间的转变要经历一些中间状态,这些状态之间的转变都是可逆的,ATP驱动其上一个非常保守的天门冬氨酸的磷酸化为状态转变提供能量(图2)。状态转变类似

表1 拟南芥和水稻中 P-ATPases 各簇的亚细胞定位

Table 1 The subcellular localization of the *Arabidopsis* and rice P-type ATPases

家族分支	底物	簇	成员数量		亚细胞定位
			水稻	拟南芥	
P _{1B} (HMA)	Zn/Co; Cd/Pb?	1	1	1	?
		2	2	3	质膜(PM)
		3	2	1	?
		4	1	1	?
		5	1	1	?
		6	1	1	?
P _{2A} (ECA)	Ca/Mn	1	2	3	内质网膜(ER)
		2	1	1	内质网膜(ER)?
P _{2B} (ACA)	Ca	1	3	3	内质网膜(ER)?
		2	4	2	液泡膜(Vac)
		3	1	2	?
		4	3	3	质膜(PM)
P _{3A} (AHA)	H	1	3	2	质膜(PM)
		2	2	4	质膜(PM)
		3	1	1	质膜(PM)?
		4	3	3	质膜(PM)?
		5	1	1	质膜(PM)?
P ₄ (ALA)	PL?; Zn/Co?	1	3	1	?
		2	3	5	?
		3	1	4	?
		4	1	1	?
		5	2	1	?
P ₅ (P5)	Ca?	1	1	1	?

P-ATP 酶家族名称后面括号内为对应的蛋白名称。? 表示有待进一步验证的结果。

物钒酸盐是将酶限制在磷酸化阶段(E2-P)而抑制酶的活性(Jahn 等 2001)。

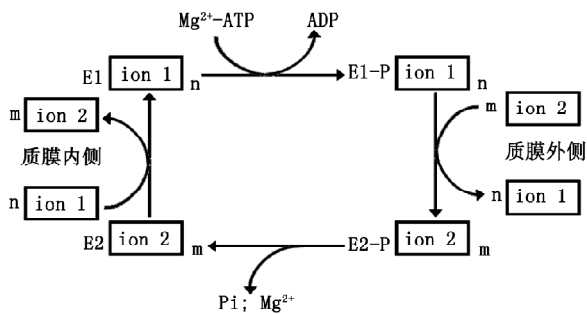


图2 酶作用机理的 Post-Albers 模型 (Post 等 1972; Albers 1967)

Fig.2 The Post-Albers model of P-ATPases enzyme action (Post et al 1972; Albers 1967)

ion 1 表示一种离子, ion 2 表示另外一种离子。m、n 表示离子数目。E1、E2 分别表示酶的两状态。E1-P、E2-P 分别表示两种状态下的磷酸化形式。

2.3 酶的功能 大多数 P-ATP 酶都参与阳离子(H⁺、Na⁺/K⁺、H⁺/K⁺、Ca²⁺、重金属)跨高浓度的摄入或(和)排出,少数运输磷脂(Baxter 等 2003)。人类中的 P-ATP 酶在神经波的传递、肌肉纤维的放松、肾的分泌和吸收、胃的酸化和小肠内的营养吸收等多方面作用广泛(Thever 和 Saier 2009),严重影响人体健康的 Menkes 病(是一种罕见的 X 连锁隐性遗传病,铜吸收障碍)和肝豆状核变性(Wilson)病(是一种常染色体隐性遗传的铜代谢障碍疾病)就是由于运输铜的一种 P-ATP 酶缺乏造成的(Hardman 2007)。植物中 H⁺-ATP 酶的基本功能是产生电化学质子梯度,质子梯度作为原动力驱动其他二级运输系统使植物吸收养分,同时调节细胞间 pH。植物中 P_{2A} ATP 酶的功能是运输 Ca²⁺,与动物中的肌细胞肌浆网(sarco- and endo-plasmatic reticulum, SERCA pumps)的 Ca²⁺-ATP 酶和真菌及动物一些分泌途径的 ATP 酶类似,此外还参与 Mn²⁺ 的运输。

P_{2B} ATP酶也参与 Ca^{2+} 的运输, 它们与哺乳动物的质膜 Ca^{2+} -ATP酶(PMCA泵)和酵母的PCA1 ATP酶类似(Axelsen和Palmgren 2001)。由此可以看出, P-ATP酶在代谢中的作用处于中心地位(Portillo 2000)。

不同种类生物的P-ATP酶具有特异性。 Na^+ 可以产生渗透势, 因而对大多数生物细胞具有毒害, 需要从细胞质中及时排出, 动物和真菌中存在分别属于 P_{2C} 的 Na^+/K^+ -ATP酶和 P_{2D} 的 Na^+ -ATP酶, 它们承担着排出 Na^+ 的功能。但是目前拟南芥中还没有发现这样的 Na^+ 泵。目前在拟南芥的双膜系统(质膜和液泡膜)上发现了一些具有相同功能的 Na^+/H^+ 反向运输体(antiporter)(Axelsen和Palmgren 2001)。*SOS1*基因编码一个这样的质膜反向运输体, 而*NHX1*则编码了一个液泡膜的反向运输体(Axelsen和Palmgren 2001)。拟南芥有3个与质膜*SOS1*相同的反向运输体、4个与液泡膜*NHX1*相似的反向运输体。除此之外, 在植物和其他真核生物中不存在原核生物中广泛存在的Kdp K^+ -ATP酶(Thever和Saier 2009)。

3 P-ATPase基因序列特性

水稻和拟南芥分别属于单子叶和双子叶植物, 单子叶植物基因组序列的典型特征是具有GC含量的负梯度现象, 双子叶植物则不存在该现象(Yu等2002)。单子叶植物水稻中80%左右(33/43) P-ATP酶基因的GC含量都具有负梯度现象, 但是*OsAHA9*、*OsALA9*和*OsALAI*三个P-ATP酶基因GC含量变化不明显。而双子叶植物拟南芥中*AtHMA5*则有梯度存在, 只是梯度不明显。此外水稻和拟南芥的P-ATP酶基因大小也有很大差异, 水稻P-ATP酶基因内含子平均长度大约是拟南芥的2倍(Baxter等2003)。

P-ATP酶由大约10个基因进行编码, 具有9个保守基序(motif), 这些基序的功能已经得到鉴定。不同家族的基序特点不同, 特异的基序可能决定了该家族的底物类型和作用方式(Thever和Saier 2009)。基序1(PGD)同2和3协同作用于酶从E1状态向E2状态的转换, 其中氨基酸G是最保守的, 而P是变化最大的, 不同家族该部位的氨基酸不同, D的保守性相对P较强, 但可以被其他残基如A、T、N、Q和H取代。基序2(PAD)中P和D非

常保守。基序3(TGES)的保守性最强, 在已经确定的13个未知家族中, 这个基序没有任何变化。基序4(PEGL)的作用是能量转换, 相对基序3, 基序4的保守性要弱, 在家族2 Ca^{2+} -ATP酶和动物及真菌的家族1 Na^+/K^+ -ATP酶中保守性较强, 在植物中它以PIAM形式出现, 而且比较保守, 该基序在家族和组织中的特异性, 说明它可能决定酶的底物离子特异性。基序5(DKTGTLT)是磷酸化位点, 在所有的家族和组织中都是完全保守的, 但L有时可被替换为I或者V。基序6(KGAPE)是ATP结合位点, 也是非常保守的, 尤其KGA亚基序。基序7(DPPR)在家族1、2、3、4和9中非常保守, 在家族5和6中该基序的氨基酸序列为D(MASTP)-(LIVC)(RK), 它在将磷酸从ATP向酶的转移中起作用, 同时对ATP水解过程中的底物选择也起作用。基序8(MVTGD)在酶的磷酸化方面起催化作用。基序9是一个23个残基的铰链基序, 它将酶的结构域C和C末端水解结构域连接, 在酶的构象转换中起作用, 保守性一般(Thever和Saier 2009)。

4 P-ATP酶的表达调控

4.1 影响P-ATP酶活性的因素 多种因素如光、激素(Frias等1996)、毒素(Würtele等2003)、营养(单树花等2006)、盐胁迫(赵昕等2009)、 Ca^{2+} 等都可影响P-ATP酶的表达及活性。植物细胞中, 激素如生长素可以通过诱导一些特定同工酶的表达而上调酶的活性(Frias等1996)。在NaCl盐胁迫下, 盐生植物盐芥叶片和根质膜的 H^+ -ATP酶活性显著升高(赵昕等2009)。由于P-ATP酶在细胞代谢中处于中心地位, 因此胞内或胞外刺激虽然可加强酶的活性或增加酶基因的表达, 但其活性或者基因表达仍受到严格地控制。

4.2 基因表达水平的调节 植物质膜 H^+ -ATP酶由多基因编码, 基因表达依赖于细胞类型、发育阶段以及环境因子。不同的同源基因经常出现在同一植物的不同组织中, 同时, 同一细胞中还可同时存在多种不同动力学特征的同工酶(杨颖丽等2006)。影响不同同工酶活性的因素不同。

很多植物ATP酶基因的转录本具有一个特别长的5'非翻译区(leader sequence, 前导序列), 其中含有一个短的开放阅读框, 该前导序列可能通过翻译再起始的方式激活酶基因的翻译(Portillo 2000)。

4.3 酶蛋白水平 植物H⁺-ATP酶具有一个大约100个氨基酸残基的C端调节R域(R-domain), 依赖其中的酪氨酸(Thr)残基的磷酸化和去磷酸化实现酶活性的调节。在去磷酸化状态时, R域中位于胞质的一些结构域由于结合上一个抑制位点而使H⁺-ATP酶失去活性。拟南芥突变体中该抑制位点突变后H⁺-ATP酶的活性不再受到抑制(Portillo 2000)。

植物经壳梭孢菌素处理后, 叶片质膜H⁺-ATP酶的活性增强, 引起气孔打开, 导致植物叶片失水, 萎焉, 易被真菌感染(Kühlbrandt 2004)。壳梭孢菌素处理后叶片质膜H⁺-ATP酶的动力学特性表现为K_m值减小, V_{max}值增大, 最适pH值向碱区移动(Lanfermeij 和 Prins 1994), 这与去除C末端后植物质膜H⁺-ATP酶表现的动力学特性相似。因此, 可以推测壳梭孢菌素可能是通过改变酶分子C末端的构象而影响质膜H⁺-ATP酶的活性。早期的研究认为, 壳梭孢菌素是直接和酶分子作用而影响质膜H⁺-ATP酶。现已证明壳梭孢菌素是通过稳定质膜H⁺-ATP酶磷酸化的R域和14-3-3蛋白之间的互作, 来发挥对质膜H⁺-ATP酶活性的调节作用(Sze 等 1999), 其影响几乎不可逆转。14-3-3调节蛋白是真核蛋白中一个高度保守的具有多种调节功能的蛋白质, 通常以二聚体形式存在。该蛋白是真核生物信号转导通路的重要组分, 是酶蛋白功能的一个重要调节物(Tzivion 和 Avruch 2002; Roberts 2003), 被认为是质膜H⁺-ATP酶的天然配体。用X-射线对14-3-3蛋白和磷酸化的五肽C-端及壳梭孢菌素复合体的测定结果表明, 植物叶片质膜H⁺-ATP酶R域最后5个残基完全可以满足形成复合体(Würtele 等 2003)。

也有一些研究结论与此相反, 认为在酶的去磷酸化状态下, 酶活性增强, 而磷酸化却抑制酶的活性。如真菌病原体诱导番茄培养细胞H⁺-ATP酶的去磷酸化(凌启阁等1998)和碱性磷酸酶介导烟草细胞H⁺-ATP酶的去磷酸化均激活了细胞质膜H⁺-ATP酶(Desbrosses 等 1998)。

5 研究展望

P-ATP酶的发现已经有50多年的时间, 目前对P-ATP酶的研究仍然方兴未艾, 国际上的研究热点集中在对酶基因结构和功能的认识、酶蛋白结

构的精细测定以及不断发现新的酶种类。国内在这方面的研究也很活跃, 但是研究范围相对狭窄, 主要集中在H⁺-ATP酶与植物耐盐性(宁德娟2007; 王宝山和邹琦 2000; 赵昕等 2009; Zhang 等 2002)、H⁺-ATP酶及Ca²⁺-ATP酶的信号转导方面(赵雅丽等 2006; 韩宁等 2006)的研究上。鉴于P-ATP酶对植物代谢的重要性, 国内应加强P-ATP酶基础方面的研究, 如结构测定、新基因克隆、酶功能研究等。

生物信息学的发展和蛋白质结构测定方法的进步, 为我们认识P-ATP酶提供了很大的便利。利用NMR(核磁共振)技术, 已经将P-ATP酶的精细结构定位到1.2 Å的精细水平, 这对研究酶的作用位点、调节位点和酶作用机理很有帮助。借助于生物信息学, 水稻、拟南芥等植物中大部分P-ATP酶的基因已经得到确认(Baxter 等 2003), 但是这些基因的具体功能还需要进一步的认真研究。利用一些新的技术, 如利用人工microRNA我们可以根据要研究的基因序列, 方便地自行设计特异的microRNA来沉默目的基因(Warthmann 等 2008; Schwab 等 2006), 帮助我们深入和准确地认识酶的功能。

参考文献

- 韩宁, 邵群, 王宝山(2006). 盐地碱蓬液泡膜Ca²⁺/H⁺逆转运蛋白SsCAX1 N末端原核表达和多克隆抗体的制备. 植物生理学通讯, 42 (4): 717~720
- 黄有国(1996). 植物细胞. 见: 吴相钰, 赵微平, 匡廷云, 王学臣(主编). 植物生理补充教材 - 纪念56年教学讨论会40周年. 北京: 北京植物生理学会, 1~17
- 凌启阁, 向左云, 刘华, 尚克进(1998). 质膜H⁺-ATPase磷酸化对其活性的调节. 中国生物化学与分子生物学报, 14: 346~349
- 宁德娟(2007). 胡杨质膜H⁺-ATPase基因PePMA的克隆及异源表达[硕士论文]. 北京: 北京林业大学
- 单树花, 宋克敏, 刘晶茹, 徐函兵(2006). 磷饥饿下番茄幼苗根系液泡膜H⁺-ATPase活性的适应性变化. 植物生理与分子生物学报, 32 (6): 685~690
- 王宝山, 邹琦(2000). NaCl胁迫对高粱根、叶鞘和叶片液泡膜ATP酶和焦磷酸酶活性的影响. 植物生理学报, 26 (3): 181~188
- 杨颖丽, 杨宁, 安黎哲, 张立新(2006). 植物质膜H⁺-ATPase的研究进展. 西北植物学报, 26: 2388~2396
- 赵昕, 谭会娟, 丁楠(2009). NaCl胁迫对盐芥质膜和液泡膜ATPase活性的影响. 西北植物学报, 29 (4): 717~723
- 赵雅丽, 韩冰, 李淑芬, 王艳芳, 何江峰(2006). 液泡膜H⁺-ATPase在植物的非生物胁迫响应和信号转导中的作用. 植物生理学通讯, 42 (5): 812~816

- Albers R (1967). Biochemical aspects of active transport. *Annu Rev Biochem*, 36: 727~756
- Axelsen KB, Palmgren MG (2001). Inventory of the superfamily of P-type ion pumps in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 126 (6): 696~706
- Baxter I, Tchieu J, Sussman MR, Boutry M, Palmgren MG, Gribskov M, Harper JF, Axelsen KB (2003). Genomic comparison of P-type ATPase ion pumps in *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiol*, 132 (6): 618~628
- Desbrosses G, Stelling J, Renaudin JP (1998). Dephosphorylation activates the purified plant plasma membrane H⁺-ATPase: possible function of phosphothreonine residues in a mechanism not involving the regulatory C-terminal domain of the enzyme. *Eur J Biochem*, 251: 496~503
- Frias I, Caldeira MT, Perez-Castineira JR, Navarro-Avino JP, Culianez-Macia FA, Kuppinger O, Stransky H, Pages M, Hager A, Serrano R (1996). A major isoform of the maize plasma membrane H⁺-ATPase: characterization and induction by auxin in coleoptiles. *Plant Cell*, 8: 1533~1544
- Fukuhara T, Pak J, Ohwaki Y, Tsujimura H, Nitta T (1996). Tissue-specific expression of the gene for a putative plasma membrane H⁺-ATPase in a seagrass. *Plant Physiol*, 110: 35~42
- Hardman B, Michalczyk A, Greenough M, Camakaris J, Mercer J FB, Ackland ML (2007). Distinct functional roles for the menkes and wilson copper translocating P-type ATPases in human placental cells. *Cell Physiol Biochem*, 20: 1073~1084
- Harms K, Wohner RV, Schulz B, Frommer WB (1994). Isolation and characterization of P-type H⁺-ATPase genes from potato. *Plant Mol Biol*, 26: 979~988
- Hilge M, Siegal G, Vuister GW, Güntert P, Gloor SM, Abrahams JP (2003). ATP-induced conformational changes of the nucleotide-binding domain of Na, K-ATPase. *Nat Struct Biol*, 10: 468~474
- Jahn T, Dietrich J, Andersen B, Leidvik B, Otter C, Briving C, Kühlbrandt W, Palmgren MG (2001). Large scale expression, purification and 2D crystallization of recombinant plant plasma membrane H⁺-ATPase. *J Mol Biol*, 309: 465~476
- Krajinski F, Biela A, Schubert D, Gianinazzi-Pearson V, Kaldenhoff R, Franken P (2000). Arbuscular mycorrhiza development regulates the mRNA abundance of Mtaqp1 encoding a mercury-insensitive aquaporin of *Medicago truncatula*. *Planta*, 211: 85~90
- Kühlbrandt W (2004). Biology, structure and mechanism of P-type ATPases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 5 (4): 282~295
- Lahiri SD, Zhang GF, Dunaway-Mariano D, Allen KN (2009). The pentacovalent phosphorus intermediate of a phosphoryl transfer reaction. *Science*, 299: 2067~2071
- Lanfermeij ERFC, Prins HB (1994). Modulation of H⁺-ATPase activity by fusicoccin in plasma membrane vesicles from oat (*Avena sativa* L.) roots. *Plant Physiol*, 104 (4): 1277~1285
- Malmstrom S, Askerlund P, Palmgren MG (1997). A calmodulin-stimulated Ca²⁺-ATPase from plant vacuolar membranes with a putative regulatory domain at its N-terminus. *FEBS Lett*, 400: 324~328
- Thever MD, Saier Jr MH (2009). Bioinformatic characterization of P-type ATPases encoded within the fully sequenced genomes of 26 eukaryotes. *J Membrane Biol*, 229 (6): 115~130
- Portillo F (2000). Regulation of plasma membrane H⁺-ATPase in fungi and plants. *Biochim Biophys Acta*, 1469: 31~42
- Post RL, Hegyvary C, Kume S (1972). Activation by adenosine triphosphate in the phosphorylation kinetics of sodium and potassium ion transport adenosine triphosphatase. *J Biol Chem*, 247: 6530~6540
- Roberts MR (2003). 14-3-3 proteins find new partners in plant cell signaling. *Trends Plant Sci*, 8 (5): 218~223
- Saier Jr MH, Yen MR, Noto K, Tamang DG, Elkan C (2009). The transporter classification database: recent advances. *Nucleic Acids Res*, 37 (11): 274~278
- Schwab R, Ossowski S, Riester M, Warthmann N, Weigel D (2006). Highly specific gene silencing by artificial microRNAs in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 18: 1121~1133
- Sze H, Li XH, Palmgren MG (1999). Energization of plant cell membranes by H⁺-pumping ATPases: regulation and biosynthesis. *Plant Cell*, 11 (3): 677~690
- Toyoshima C, Nakasako M, Nomura H, Ogawa H (2000). Crystal structure of the calcium pump of sarcoplasmic reticulum at 2.6 Å resolution. *Nature*, 405: 647~655
- Tzivion G, Avruch J (2002). 14-3-3 proteins: active cofactors in cellular regulation by serine/threonine phosphorylation. *J Biol Chem*, 277 (5): 3061~3064
- Warthmann N, Chen H, Ossowski S, Weigel D, Herve P (2008). Highly specific gene silencing by artificial miRNAs in rice. *PLoS ONE*, 3 (3): 1~10
- Williams LE, Pittman JK, Hall JL (2000). Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1465: 104~126
- Wimmers LE, Ewing NN, Bennett AB (1992). Higher plant Ca²⁺-ATPase: primary structure and regulation of mRNA abundance by salt. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89: 9205~9209
- Würtele M, Jelich-Ottmann C, Wittinghofer A, Oecking C (2003). Structural view of a fungal toxin acting on a 14-3-3 regulatory complex. *EMBO J*, 22: 987~994
- Yu J, Hu S, Wang J, Wong GK, Li S, Liu B, Deng Y, Dai L, Zhou Y, Zhang X et al (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science*, 296: 79~92
- Zhang WH, Chen Q, Liu YL (2002). Relationship between H⁺-ATPase activity and fluidity of tonoplast in barley roots under NaCl stress. *Acta Bot Sin*, 44 (3): 292~296