

## 植物对铵态氮的吸收转运调控机制研究进展

刘婷, 尚忠林\*

河北师范大学生命科学学院, 石家庄050024

**摘要:** 铵作为重要的氮源被植物根系吸收并同化, 但是过量的铵也会对细胞造成毒害。植物必须依据外界环境和自身氮水平来严格调控根系对铵的吸收过程。铵转运蛋白介导的高亲和力铵跨质膜运输是植物根系吸收铵的主要途径, AMT基因的表达及转运活性在转录和蛋白水平等多层面被严格调控。本文对于植物铵吸收和转运机制, 尤其是近5年关于蛋白水平调控的最新研究进展进行了评述。

**关键词:** 铵吸收; 铵转运蛋白; 转录水平调控; 蛋白水平调控

氮是植物体内许多重要有机化合物的组分(Williams和Miller 2001), 氮肥的施用是农业生产获得高产, 创造经济效应的重要手段。当前, 全世界每年氮肥消耗量为8~9千万吨(Frink等1999; Raun和Johnson 1999; Tilman 1999), 我国也已成为氮素化肥生产和消费大国。但是过量的氮肥施用加剧了环境污染, 导致严重的水体污染和大气污染(Raun和Johnson 1999; Vitousek等1997)。改善施肥措施、改良作物品种、提高氮素利用效率、减轻施肥对环境造成的压力是目前迫切需要解决的问题(Vitousek等1997)。在农业生产中种植氮高效作物品种是解决这些问题的重要手段之一, 而能否快速有效地选育氮高效新品种在很大程度上取决于我们对植物自身氮素吸收和利用机理的认知程度。

### 1 植物体内铵的吸收和转运

植物可利用的氮分为有机态氮和无机态氮两种形式, 其中 $\text{NH}_4^+$ 和 $\text{NO}_3^-$ 是无机态氮素吸收的主要形态(von Wiren等1997)。在正常土壤中这两种离子浓度变异性很大, 主要取决于矿化作用(有机物释放出 $\text{NH}_4^+$ )和硝化作用( $\text{NH}_4^+$ 转换成 $\text{NO}_3^-$ )两个过程的比率(Marschner 1995)。一般说来, 在通气良好的土壤中, 硝态氮的浓度常比铵态氮高10~1 000倍, 但是在低温、淹渍条件下及酸性土壤中, 由于硝化作用被抑制, 铵态氮成为植物的主要氮源。当硝态氮和铵态氮同时同浓度存在时, 植物更容易吸收铵态氮(Gazzarrini等1999; Xu等1992)。

早期 $\text{NH}_4^+$ 吸收动力学研究表明, 与其他植物一样, 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的铵转运系统由两个不同的系统组成——高亲和力系统和低亲和力系统(Kronzucker等1996; Rawat等1999; Wang等1993; Ullrich等1984)。高亲和力系统在低浓度

( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )养分供应下起作用, 表现出典型的Michaelis-Menten动力学饱和曲线(Gazzarrini等1999; Rawat等1999; Shelden等2001; Sohlenkamp等2000), 而低亲和力系统在高浓度( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )养分供应下起作用, 表现出线性非饱和动力学曲线(Kronzucker等1996; Rawat等1999)。包括拟南芥在内的很多植物中都发现铵的高亲和力吸收系统受到植物氮营养状态的严格调控(Gazzarrini等1999; Loque等2006; Rawat等1999; Sohlenkamp等2000; von Wiren等2000), 环境中铵浓度和同化产物浓度会影响高亲和力吸收系统的活性。将拟南芥从高浓度的 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 培养环境转移到低浓度的 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 中, 高亲和力铵吸收系统活性增加了12倍以上(Rawat等1999)。而缺氮恢复供 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 后铵吸收速率迅速下降(Rawat等1999)。高亲和力吸收系统的铵吸收动力学特征也受到氮营养状态的调控。利用 $^{15}\text{N}$ 标记的铵吸收实验估算高亲和力吸收系统对底物的亲和力, 发现拟南芥幼苗在 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 培养下铵吸收 $K_m$ 值为85~168  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 其他植物种类中的铵吸收 $K_m$ 值范围是20~360  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (von Wiren等2000)。利用电生理学技术检测到拟南芥幼苗在 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 培养下铵吸收 $K_m$ 值为(46±5)  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 但在缺氮或 $\text{NO}_3^-$ 作为唯一氮源培养3 d后, 高亲和铵吸收系统的 $K_m$ 值变为7~8  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 对底物的亲和力明显升高(Shelden等2001)。根中铵的低亲和力吸收系统不受植物氮营养状态的调控(Gazzarrini等1999; Lejay等2003), 可能是通过非专一性转运蛋白或者

收稿 2015-12-18 修定 2016-04-16

资助 河北省高等学校科学技术研究项目(Q2012065)、河北师范大学自然科学基金重点项目(L2012Z04)和河北师范大学博士基金项目(L2011B11)。

\* 通讯作者(E-mail: shangzhonglin@mail.hebtu.edu.cn)。

是钾离子通道来完成的(Loque等2005; von Wiren和Merrick 2004)。

$\text{NH}_4^+$ 转运系统的作用包括根系从土壤中吸收 $\text{NH}_4^+$ ,也包括 $\text{NH}_4^+$ 从根细胞中的排出(Britto等2001b),即使是 $\text{NO}_3^-$ 作为氮源,也能明显观察到 $\text{NH}_4^+$ 的排出。保持细胞质内较低的铵浓度是保证细胞不受铵毒的首要因素,所以铵排出系统对于保持植物体内铵库的稳定也具有重要的意义(Marschner 1995; von Wiren等2000)。有研究估算细胞内铵浓度范围是 $0.01\sim 76\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Miller等2001)。最新的研究利用微电极技术测得藻类(*Chara corallina*)细胞内铵浓度为 $1\sim 10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Wells和Miller 2000)。细胞(尤其是叶片细胞)的质外体铵浓度一般在 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右(Nielsen和Schjoerring 1998),细胞膜内外就存在铵的浓度差。铵的排出是需要能量的过程,大麦(*Hordeum vulgare*)根部较高的呼吸速率为较高速率的铵排出过程提供能量(Britto等2001b)。

除了有效地控制铵的跨质膜运输,植物还可以将铵分配到液泡中来控制细胞质内铵的浓度。正常无胁迫状态下,植物液泡的铵浓度在 $2\sim 45\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Miller等2001),至少比细胞质中高2个数量级,液泡中的铵以 $\text{NH}_4^+$ 形式存在(Britto等2001a)。液泡膜具有很微弱的正向电势差,在电势驱动下 $\text{NH}_3$ 通过TIP亚家族的水通道蛋白进入液泡(Loque等2005)。

线粒体中氨基酸分解释放出的 $\text{NH}_3$ 中一部分可以经过线粒体膜上的转运系统进入细胞质内,但是目前对线粒体膜上铵转运系统知之甚少。

细胞内铵的跨膜运输还包括从根部转运到地上部的 $\text{NO}_3^-$ 还原产生的 $\text{NH}_4^+$ 以及光呼吸过程中产生的 $\text{NH}_4^+$ 跨质体膜进入到叶肉细胞质体的过程(Husted等2002),但是人们对这一转运过程的机制尚不了解。

总之,为了有效地控制细胞内的铵浓度,铵的跨膜运输是十分重要的。细胞内铵存在 $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ 两种形式之间的变化,它们的跨膜运输需要不同的转运系统来完成(图1)。

## 2 植物根系铵吸收的分子机制

### 2.1 AMT (ammonium transporter)家族成员

植物根中铵跨质膜运输的高亲和力吸收系统

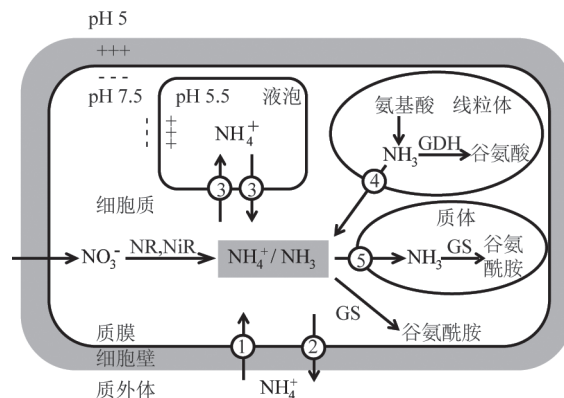


图1 植物细胞内铵的跨膜运输模式图

Fig.1 Ammonium transport across membrane in a hypothetical plant cell

修改自Yuan (2007)文献。1: 通过高亲和力吸收系统和低亲和力吸收系统跨细胞质膜吸收; 2: 铵跨质膜排出到细胞外; 3: 铵跨液泡膜进入液泡中被区隔化; 4: 从线粒体中排出光呼吸或氨基酸分解产生的铵; 5: 铵进入质体。NR: 硝酸还原酶(nitrate reductase); NiR: 亚硝酸还原酶(nitrite reductase); GS: 谷氨酰胺合成酶(glutamate synthase); GDH: 谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase)。

主要是由AMT形式的铵转运蛋白(ammonium transporter, AMT)介导的。迄今为止,已经从拟南芥、水稻(*Oryza sativa*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、百脉根(*Lotus japonicus*)、油菜(*Brassica campestris*)、山杨(*Populus tremula* subsp. *tremuloides*)、苜蓿(*Medicago truncatula*)、绿藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)、小麦(*Triticum aestivum*)、大豆(*Glycine max*)、高粱(*Sorghum bicolor*)、线虫(*Caenorhabditis elegans*)和人类(*Homo sapiens*)中发现了铵转运蛋白的存在,表明铵转运蛋白在生物界中具有广泛分布(Breuillin-Sessoms等2015)。他们主要分为AMT/MEP/Rh (ammonium transporter/methylamine permease/Rhesus protein family)三大亚家族,其中Rh亚家族不包含任何植物蛋白,主要在人和动物中发现(Huang和Peng 2005; von Wiren和Merrick 2004)。植物铵转运蛋白在单子叶和双子叶植物的许多组织中都有表达。不同的植物中铵转运蛋白基因数目不同。

Marini等(1994)从酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中克隆得到铵转运蛋白Mep1,并完成了其序列分析和功能鉴定,这是第一例在分子水平上研究铵转运蛋白的报道。Ninnemann等(1994)从拟南芥中分离了铵转运蛋白AtAMT1;1,这是首个被发

现的植物铵转运蛋白, 随后拟南芥中其它5个同源基因也被找到(Gazzarrini等1999; Sohlenkamp等2000)。系统分析表明 $AtAMT1;1\sim AtAMT1;5$ 同源性较高, 属于AMT1亚家族, 主要负责植物根部高亲和力的铵转运。而 $AtAMT2$ 与5个AMT1亚家族成员同源性很低, 却与大肠杆菌(*Escherichia coli*)发现的 $AmtB$ 及在酵母中发现的 $Mep1$ 、 $Mep2$ 和 $Mep3$ 同源性相近, 属于MEP亚家族(Ludewig等2001)。 $AtAMT2$ 的生理学功能还不清楚, 推测可能在铵从质外体到共质体的运输中发挥作用(Sohlenkamp等2002)。

对番茄不同组织部位的表达序列标签(expressed sequence tags, ESTs)进行研究, 发现了3个属于AMT1家族的铵转运蛋白 $LeAMT1;1$ 、 $LeAMT1;2$ 、 $LeAMT1;3$ 和一个属于MEP亚家族的 $LeAMT2$  (Lauter等1996; von Wiren等2000)。

与拟南芥、番茄不同, 水稻可以很好的适应铵作为氮源的营养环境(Yoshida 1981)。对水稻基因组进行分析, 发现水稻中硝酸盐转运蛋白数量与拟南芥、番茄没有明显差异, 但铵转运蛋白数量却比拟南芥、番茄要多, 水稻中10个铵转运蛋白分别属于AMT和MEP亚家族(Sonoda等2003a; Suenaga等2003)。

## 2.2 AMT蛋白的晶体结构和转运机制

AMT/MEP/Rh三大家族许多转运蛋白成员的转运功能都在非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)卵母细胞和酵母突变体中进行了研究, 但是关于铵的转运机制, 特别是铵转运蛋白底物的主要形式是 $NH_4^+$ 还是 $NH_3$ 还没有定论(Ludewig等2002, 2003; Marini等1994, 1997; Mayer等2006; Ninnemann等1994; Sohlenkamp等2002)。近年来铵转运蛋白MEP亚家族成员 $EcAmtB$ 和 $AfAmt-1$ 蛋白晶体结构相继被解析, 帮助我们深入地理解铵转运蛋白的转运机制。Khademi等(2004)发现 $EcAmtB$ 转运蛋白复合体以同源三聚体的形式存在, 每个转运通道单体具有11个跨膜区, N端在细胞外, C端在细胞内, 每个单体的中间为转运底物的通道。晶体结构的数据表明 $EcAmtB$ 是一个被动运输通道(channel), 而不是主动运输转运蛋白(transporter)。蛋白中间的转运通道是一个疏水通道,  $NH_3$ 可以顺利通过, 但是带电荷的 $NH_4^+$ 不能通过。在此基础上他们提出

$NH_4^+$ 通过 $EcAmtB$ 进入细胞内之前可能发生去质子化, 变成不带电荷的 $NH_3$ 通过 $EcAmtB$ 的转运通道, 到胞质侧时再发生质子化变回带电荷的 $NH_4^+$ 。Zheng等(2004)还发现了2个保守的组氨酸位点(H168和H318)位于 $EcAmtB$ 转运单体的疏水通道, 通过他们之间氢键的变化控制转运通道的开关。与 $EcAmtB$ 蛋白晶体结构相似, 在古生菌(*Archaeoglobus fulgidus*)中发现的 $AfAmt-1$ 转运单体也具有11个跨膜区,  $AfAmt-1$ 有可能与另一种蛋白 $GlnB-1$ 在胞质内侧结合, 通过互作影响 $AfAmt-1$ 三个转运单体之间的结构变化来影响铵吸收(Andrade等2005; Ullmann等2012)。Soupene等(2001)利用 $NH_4^+$ 和 $^{14}C$ 标记的甲基铵吸收实验研究了酵母中MEP家族铵转运蛋白, 也发现 $Mep1$ , 2, 3吸收铵的机制与大肠杆菌中的MEP成员相似。这些研究说明 $NH_3$ 可以作为最初底物被细菌和真菌的铵转运蛋白AMT/MEP家族成员所吸收。

但是关于 $NH_3$ 是否作为最初底物被植物铵转运蛋白吸收还具有很大的争议。早期利用电生理学对藻类的研究发现: 在培养基中加入铵或者甲基铵会激发质膜上产生阳离子内向电流, 造成细胞去极化, 说明跨膜运输的物质带有电荷(Walker等1979a)。升高培养基pH会降低内向电流, 分析发现内向电流的降低是由于pH升高后带电荷 $NH_4^+$ 转变为不带电荷的 $NH_3$ 造成的(Walker等1979b)。而且利用电生理学技术在水稻和拟南芥根细胞中发现, 铵的吸收和铵诱导的质膜去极化也受到pH的影响(Shelden等2001; Wang等1994), 进一步证明了 $NH_4^+$ 是铵吸收的主要形式。其中 $AtAMT1;2$ 和 $PvAMT1;1$ 是 $NH_3/H^+$ 的共转运体(Neuhauser和Ludewig 2014; Ortiz-Ramirez等2011), 而 $OsAMT1;1$ 是一个相对低亲和力, 不受细胞内外质子梯度调节的铵转运蛋白, 说明其可能是 $NH_4^+$ 的单一转运体(Yang等2015)。因此, Ludewig (2006)提出植物中的铵转运蛋白AMT可能是 $NH_4^+$ 转运蛋白或者 $NH_3/H^+$ 共转运蛋白。类似的研究也在细菌和真菌的铵转运蛋白AMT/MEP家族成员中发现(Boeckstaens等2008), 酵母中 $ScMep$ 家族成员 $ScMep2$ 的转运机制与大肠杆菌的 $EcAmtB$ 相同,  $NH_4^+$ 进入细胞内之前发生去质子化, 变成不带电荷的 $NH_3$ 通过转运通道, 到胞质侧时再发生质子化变回带电荷的

$\text{NH}_4^+$ 。而该家族的另一成员ScMep1-3则可以直接转运 $\text{NH}_4^+$ 进入细胞内。对ScMep2和EcAmtB转运蛋白中保守的组氨酸位点进行突变,可以使ScMep2和EcAmtB的转运机制发生改变,直接转运 $\text{NH}_4^+$ 进入细胞内。这说明影响转运机制变化的关键因子是位于转运通道上保守的组氨酸,不同家族成员之间组氨酸位点的不同造成了转运通道孔径不同,能够转运不同的底物。这一发现进一步支持了植物铵转运蛋白AMT可能存在两种转运机制的可能。

### 2.3 铵转运蛋白AMT参与植物根高亲和力的 $\text{NH}_4^+$ 跨膜运输过程

通过对拟南芥、番茄和水稻等模式植物中的铵转运蛋白进行研究发现植物根高亲和力的 $\text{NH}_4^+$ 跨膜运输是由AMT铵转运蛋白介导的。在拟南芥中的研究中发现,每个属于AMT1家族的拟南芥铵转运蛋白具有不同的生化特性、组织细胞定位,它们之间相互协调补充共同构成了在拟南芥根中的高亲和力铵吸收转运系统。大致归纳为两点:第一,AMT1家族铵转运蛋白具有空间组织表达特异性,高亲和力的铵转运蛋白AtAMT1;1、AtAMT1;3和AtAMT1;5定位于外层细胞,较低亲和力的铵转运蛋白定位于内部细胞,这是因为外部细胞要从铵含量很低的外界环境中吸收铵,AtAMT1;1、AtAMT1;3具有高亲和力( $K_m=50\sim 60\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )定位于根表皮细胞(包括根毛)的质膜,AtAMT1;5具有更高的亲和力( $K_m=4.5\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )定位于表皮和皮层,它们共同介导了 $\text{NH}_4^+$ 从外界向根毛细胞内的跨膜运输,然后进入共质体运输。而内部细胞要从植物体外中吸收铵,质体外中铵的积累量相对于外界环境中比较高,主要定位于内皮和皮层,亲和力比较低的AtAMT1;2( $K_m=244\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),也能顺利的介导质外体途径中的铵跨膜运输而进入共质体途径。共质体途径内的铵将被同化成氨基酸,或者部分被转载到木质部用于长距离运输。第二,拟南芥根中高亲和吸收铵转运蛋白系统主要由4个基因组成,它们对铵转运的贡献程度排序为:AtAMT1;1 $\approx$ AtAMT1;3>AtAMT1;2>AtAMT1;5,其中起主要作用的AtAMT1;1和AtAMT1;3在缺氮的情况下活性明显提高,以满足植物体对氮的需求。

### 3 植物铵吸收的分子调控机制

如前所述,铵是植物和土壤微生物重要的氮素营养,但是过量的铵对细胞有毒害作用(Breuilin-Sessoms等2015; Kronzucker等2001; Pastor等2014),因此铵在根内的跨膜运输必须被精准控制(Bao等2015; Loque和von Wiren 2004)。这个过程要求AMT的表达及转运活性必须在多个层面上被严格调控。

#### 3.1 AMT的转录水平调控

外部铵态氮的有效性和植株体内氮素营养状况是影响铵转运蛋白基因表达的主要因素(Gazzarrini等1999; Sohlenkamp等2002)。蔗糖、 $\text{CO}_2$ 浓度、光周期、菌根共生系统对其转录调节也有影响(Loque和von Wiren 2004)。在转录水平上,不同家族成员之间的表达模式也不尽相同。

最初的研究表明,AMT基因在转录水平上的表达受到植物氮水平的调控。在缺氮3 d后,拟南芥根中AtAMT1;1和AtAMT1;3的转录本明显上调,而AtAMT1;2和AtAMT2;1经过更长时间的氮缺乏胁迫后基因表达水平也上升(Gazzarrini等1999; Sohlenkamp等2000),从而增强根对 $\text{NH}_4^+$ 的吸收能力。随后对缺氮胁迫下的根恢复供铵则会抑制AMT基因的转录,从而降低 $\text{NH}_4^+$ 的转运能力,减少根细胞对 $\text{NH}_4^+$ 的过量吸收。进一步的研究发现AtAMT1;1转录本水平与根部谷氨酰胺浓度成反比,因此抑制AtAMT1;1基因转录的关键因子不是 $\text{NH}_4^+$ ,而是 $\text{NH}_4^+$ 的下游同化产物谷氨酰胺(Rawat等1999)。

其他植物中AMT同源基因表达调控方式与拟南芥不同。番茄LeAMT1;2和水稻OsAMT1;1、OsAMT1;2在恢复供铵后表达量上升(Sonoda等2003a; von Wiren等2000)。在水稻中,谷氨酰胺可以代替铵诱导OsAMT1;1和OsAMT1;2表达量上调(Sonoda等2003b)。由此可见,谷氨酰胺可能根据不同的基因和植物种类对AMT基因表达量进行上升或下降的调控(Rawat等1999; Sonoda等2003b)。此外,番茄中LeAMT1;2的表达不仅受到恢复供铵诱导还受到硝酸盐诱导(Lauter等1996; Wang等2001)。氮调控下,不同AMT家族成员之间转录水平上的表达模式不同,说明它们可能负责不同的生理学功能。

*AMT*基因受到植物体内碳水化合物水平的调控则表现在其表达水平的昼夜节律变化上。利用 $^{15}\text{N}$ 标记的铵吸收实验发现, 铵吸收速率在日间出现明显的转录高峰, 而在夜间则下降(Avice等1996; Gazzarrini等1999), 与铵吸收的光周期变化相一致的是*AMT*基因表达也存在光周期变化, 尤其是*AtAMT1;3*在日间出现明显的转录高峰, 而在夜间下降, 从而能够协调植物氮吸收与碳骨架供应之间的平衡。进而有研究发现, 在夜间供糖回补了*AtAMT1;1*、*AtAMT1;2*和*AtAMT1;3* mRNA水平的降低, 使铵吸收速率水平与日间相同, 证明光合同化产物可以调节铵转运系统, 进一步的研究发现光周期对*AMTs*的调控作用是通过糖对启动子的调节完成的(Gazzarrini等1999)。基因表达受糖诱导的现象并不只发现于铵转运蛋白, 硝酸盐和其他矿物质元素转运蛋白的基因表达也具有类似的受光周期调控的现象(Lejay等2003)。进一步研究发现氧化磷酸戊糖代谢是糖信号控制*AMTs*表达的可能途径(Lejay等2008)。

此外, 菌根共生系统可以影响多种植物中*AMT*家族基因的表达(Hong等2012; Koegel等2013; Pérez-Tienda等2014; Ruzicka等2012; Straub等2014)。大豆*GmAMT4;1*和高粱*SbAMT3;1*位于植物-丛枝菌根共生系统中的环丛枝膜上(Kobae等2010; Koegel等2013)。百脉根中*LjAMT*具有回收利用根瘤不同组织中释放的铵的功能, 在根瘤中不同部位表达, 其中*LjAMT1;1*在被固氮菌侵染的细胞中心组织中表达, *LjAMT1;2*在根瘤的皮层中表达(Rogato等2008)。很多*AMT*基因的表达量也受到菌根诱导, *LjAMT2;2*受菌根真菌的诱导而表达量上调(Guether等2009)。山杨*PttAMT1;2*基因也受到菌根真菌的诱导而表达量上调(Couturier等2007)。苜蓿与丛枝菌根的共生过程诱导了*MtAMT2;3*、*MtAMT2;4*和*MtAMT2;5*三个*AMT2*家族铵转运蛋白的表达量上调(Breuillin-Sessoms等2015)。

*AMT*基因的转录水平调控十分复杂, 响应不同生理学信号时不同家族成员之间的表达模式不同, 调控的复杂性也体现了调控的严谨性, 说明植物拥有非常严谨的调控网络来有效地调控铵吸收, 适应外界环境的变化和自身的需求(图2)。

此外, *AtAMT1;1*基因转录本的稳定性也受到植物氮水平的调控(Yuan等2007)。利用35S启动子在转基因植物中组成型表达*AtAMT1;1*基因, 其转录本在高氮供应的植株中较在缺氮植株中积累要少, 表明高氮条件能够促进*AtAMT1;1*转录本的降解, 但是其分子机制还不清楚。

### 3.2 *AMT*的蛋白水平调控

相对于转录水平调控, *AMT*在蛋白水平上的调控能够更加快速有效地调节其转运活性, 使植物能够准确快速地对外界环境中氮供应和本身内部氮水平的变化做出反应。Gazzarrini等(1999)发现将拟南芥氮素供应形式从 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 转移到 $\text{KNO}_3$ 之后, 铵吸收速率迅速上调, 但主要负责转运 $\text{NH}_4^+$ 的*AtAMT1;1*、*AtAMT1;2*和*AtAMT1;3*的mRNA表达却没有明显改变。Rawat等(1999)在对缺氮胁迫下的根恢复供氮时发现根的 $\text{NH}_4^+$ 转运能力较*AtAMT1;1*转录本水平被抑制地更快, 表明*AMT*蛋白转运活性的变化并不能完全由转录本的变化所解释。以上实验结果为高亲和力铵吸收系统可能存在着蛋白翻译水平的调控提供了间接证据。

通过异源表达实验发现植物*AMT*家族成员的多聚化对其铵转运活性是十分重要的, 所以目前关于*AMT*蛋白复合物稳定性的作用机制是蛋白水平调控研究的热点, 部分实验表明植物在面对外界环境刺激时,*AMT*家族成员的C末端和N末端都可能影响蛋白的多聚化, 通过同源或异源三聚体相互作用的方式改变其转运活性来适应外界环境变化。

*AMT*蛋白保守的C末端是其蛋白活性调节区。酵母Mep1的C末端单个氨基酸突变造成了Mep1完全失活(Marini等2000), 在曲霉菌(*Aspergillus nidulans*)中也发现了同样的现象(Monahan等2002), 这些结果预示了C末端对铵转运蛋白的活性很重要。在异源系统中对番茄LeAMT1;1的研究也证实了C末端的重要性, 对LeAMT1;1 C末端的氨基酸进行突变(G458D)造成了蛋白转运活性的丧失, 利用在酵母中表达LeAMT1;1G458D-GFP融合蛋白发现LeAMT1;1突变蛋白膜定位没有发生变化。进一步在非洲爪蟾卵母细胞中表达LeAMT1;1G458D突变蛋白, 利用膜片钳技术分析发现C末端保守的甘氨酸对铵吸收活性有重要作用(Ludewig等2003)。

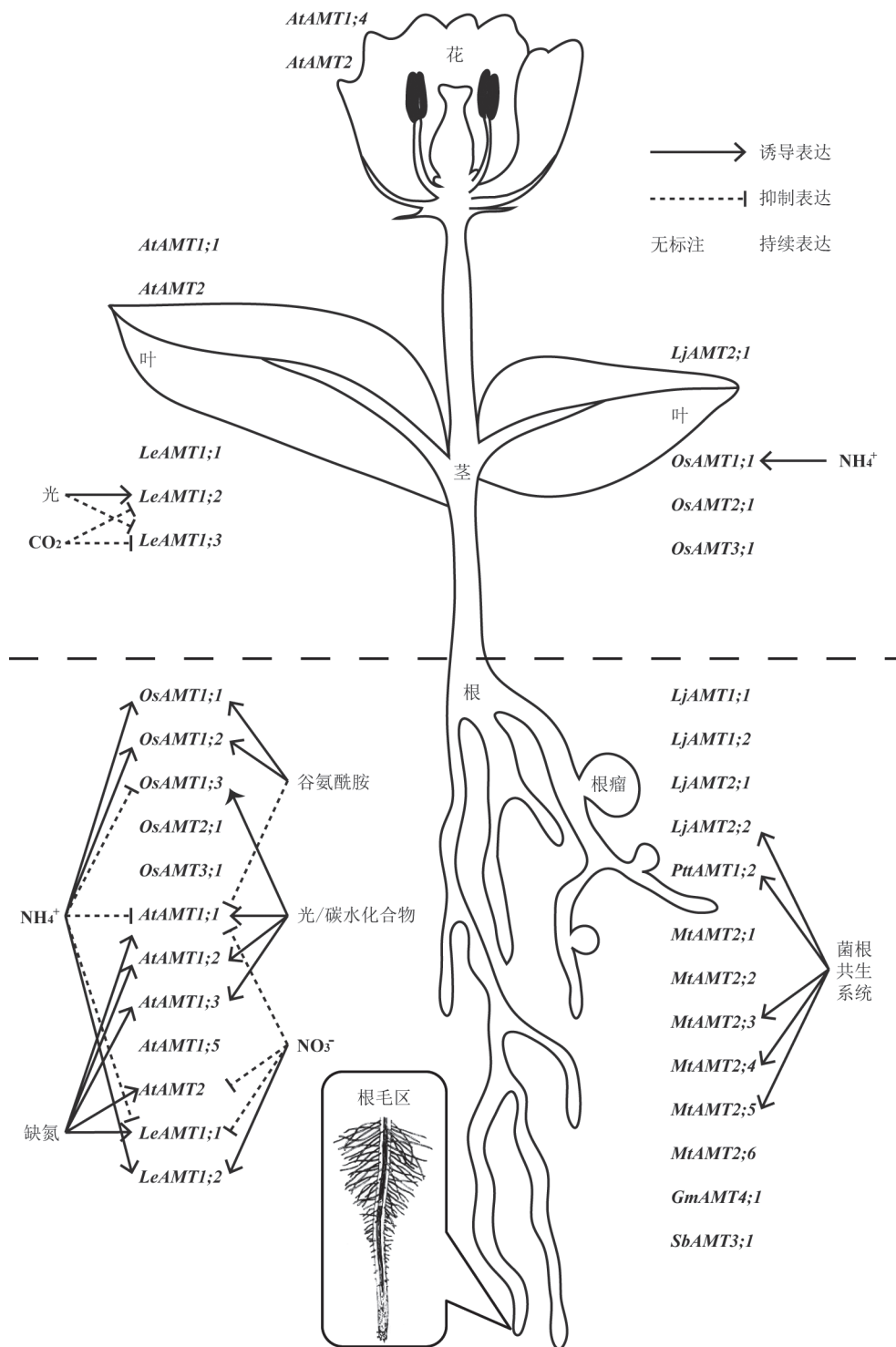


图2 植物AMTs基因的转录水平调控模式

Fig.2 Model summarising the transcriptional regulation of AMTs genes in plants

为了研究C末端是否同样对植物AMT蛋白活性具有重要作用, 对其进行分析发现拟南芥AtAMT1;3和AtAMT1;1的同源或异源多聚体的活性都

同样受到C末端的调控(Yuan等2013)。AMT蛋白C末端存在多个磷酸化位点, 其中C末端同源区内的苏氨酸在大部分拟南芥AMT成员中都存在, 并且

非常保守(Benschop等2007; Hem等2007; Nuhse等2004), 这些位点的磷酸化和去磷酸化修饰可能参与到AMT蛋白的翻译后调控过程。Loque等(2007)在酵母中的发现支持了这种观点, 通过模拟拟南芥AtAMT1;1转运蛋白的晶体结构和一些突变蛋白的功能研究发现, 一种新颖的变构调节机制(allosteric regulation)可以直接调控AtAMT1;1蛋白的转运活性。AtAMT1;1转运蛋白复合体以同源三聚体的形式存在, 其中一个亚基的C末端能够与相邻亚基的非跨膜区紧密互作。这种互作能够通过磷酸化修饰C末端保守区内的苏氨酸得以改变, 从而转换蛋白构象来开关转运通道, 最终控制 $\text{NH}_4^+$ 的跨膜运输(图3)。在非洲爪蟾卵母细胞中对AtAMT1;2的研究支持了这种机制, C末端的磷酸化位点也可以影响AtAMT1;2转运蛋白的活性(Neuhäuser等2007)。而且De Michele等(2012)在体外系统中发现3个不同的蛋白激酶(At2g28990、At1g72180和At5g59650)与AtAMT1;1存在互作, 这进一步支持了磷酸化调控可能参与了AMT蛋白翻译后调控的观点。

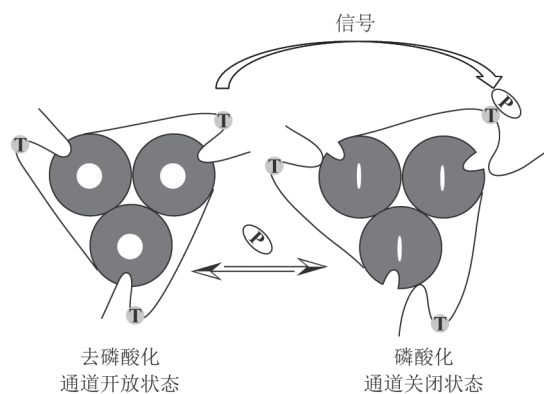


图3 AMT转运蛋白C末端对转运蛋白及铵吸收的调控模型

Fig.3  $\text{NH}_4^+$  currents and model for the regulation of AMT transporters by the C terminus

改自Loque等(2007)和Yuan等(2013)文献。

对N末端的研究发现N末端对于维持番茄LeAMT1;1不同亚基间相互作用的稳定性是十分必要的, 高温和还原剂可以使拟南芥和番茄中的AMT1;1从三聚体状态分解为单聚体和二聚体状态, 但是在他们的同源基因番茄LeAMT1;3中并没有发现这种现象。分析LeAMT1;3的结构发现: 与

其他AMT成员不同, 它具有一个较短的N末端, 说明这个N末端可能会影响该多聚体的稳定性。去掉N末端的LeAMT1;1三聚体失去了稳定性, 在酵母中表达时失去转运功能。对N末端的氨基酸进行分析发现除了LeAMT1;3以外, 其他植物中AMT1家族成员N末端有2个半胱氨酸残基是高度同源的, 而LeAMT1;3缺失了这两个氨基酸。通过突变LeAMT1;1的相关氨基酸(C3S和C27S), 发现LeAMT1;1蛋白复合体稳定性及对甲基铵的转运能力发生了变化。以上结果说明某些AMT1家族成员蛋白亚基之间的结合稳定性可能取决于N末端的半胱氨酸残基(Graff等2011)。

此外有研究发现AMT的蛋白水平调控还存在蛋白膜定位的变化, 在外界氮缺乏或者氮充足的情况下, 拟南芥AtAMT1;3以多聚体的形式在细胞质膜上动态地出现或消失, 而在高铵胁迫下, AtAMT1;3积累聚集在细胞质中, 其转运铵能力受到抑制, 通过AtAMT1;3的聚集、亚细胞定位的变化可以使植物在遇到铵毒的情况下有效地减低AtAMT1;3的运转活性, 降低高浓度的铵对植物带来的伤害(Wang等2013)。

#### 4 展望

近年来, 有关植物吸收和转运铵态氮的生理机制有了较大突破, 如已经在一些作物中克隆到多个铵转运蛋白基因, 并对其结构、功能和基因表达调控等方面进行了初步的分析, 作为调控的最末端, AMT蛋白水平上的调控研究较少, 目前只在酵母、卵母细胞异源系统及植物中的研究发现了AMT蛋白C末端和N末端可以调控蛋白铵转运活性。然而, 在植物体内是否使用这种调控机制来响应何种生理学信号等问题还有待于进一步研究, 目前有限的研究结果主要来自于模式植物拟南芥, 其他农作物的基因功能研究将是未来研究的重要内容。

蛋白质互作也是未来AMT蛋白水平调控研究的重点。目前只在体外系统中发现3个不同的蛋白激酶(At2g28990、At1g72180和At5g59650)与AtAMT1;1存在互作(De Michele等2012), AtAMT1;1和AtAMT1;3可能存在相互作用(Yuan等2013), 但其他能与AMT蛋白发生相互作用的蛋白尚未发现。今后可以利用生物信息学数据筛选可

能与铵转运蛋白互作的蛋白, 通过多个蛋白互作的数据库分析得出与铵转运蛋白基因表达模式一致、生理学功能交叉、细胞信号转导途径相通、蛋白定位相同等特征的候选互作蛋白(Deane等2002; Mewes等2006; Mrowka等2001), 并对其进行研究, 对于我们从分子水平上去理解铵吸收的调控机制具有重要的指导意义。

### 参考文献

- Andrade SL, Dickmanns A, Ficner R, Einsle O (2005). Crystal structure of the archaeal ammonium transporter Amt-I from *Archaeoglobus fulgidus*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 14994–14999
- Avice JC, Ourry A, Lemaire G, Boucaud J (1996). Nitrogen and carbon flows estimated by  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  pulse-chase labeling during regrowth of Alfalfa. *Plant Physiol*, 112: 281–290
- Bao A, Liang Z, Zhao Z, Cai H (2015). Overexpressing of *OsAMT1-3*, a high affinity ammonium transporter gene, modifies rice growth and carbon-nitrogen metabolic status. *Int J Mol Sci*, 16: 9037–9063
- Benschop JJ, Mohammed S, O'Flaherty M, Heck AJ, Slijper M, Menke FL (2007). Quantitative phosphoproteomics of early elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Mol Cell Proteomics*, 6: 1198–1214
- Boeckstaens M, Andre B, Marini AM (2008). Distinct transport mechanisms in yeast ammonium transport/sensor proteins of the Mep/Amt/Rh family and impact on filamentation. *J Biol Chem*, 283: 21362–21370
- Breuillin-Sessoms F, Floss DS, Gomez SK, Pumplun N, Ding Y, Levesque-Tremblay V, Noar RD, Daniels DA, Bravo A, Eaglesham JB, et al (2015). Suppression of arbuscule degeneration in *Medicago truncatula* phosphatase transporter4 mutants is dependent on the ammonium transporter 2 family protein AMT2; 3. *Plant Cell*, 27: 1352–1366
- Britto DT, Glass AD, Kronzucker HJ, Siddiqi MY (2001a). Cytosolic concentrations and transmembrane fluxes of  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ . An evaluation of recent proposals. *Plant Physiol*, 125: 523–526
- Britto DT, Siddiqi MY, Glass AD, Kronzucker HJ (2001b). Futile transmembrane  $\text{NH}_4^+$  cycling: a cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 4255–4258
- Couturier J, Montanini B, Martin F, Brun A, Blaudez D, Chalot M (2007). The expanded family of ammonium transporters in the perennial poplar plant. *New Phytol*, 174: 137–150
- De Michele R, Loque D, Lalonde S, Frommer WB (2012). Ammonium and urea transporter inventory of the *Selaginella* and *Physcomitrella* genomes. *Front Plant Sci*, 3: 62
- Deane CM, Salwinski L, Xenarios I, Eisenberg D (2002). Protein interactions: two methods for assessment of the reliability of high throughput observations. *Mol Cell Proteomics*, 1: 349–356
- Frink CR, Waggoner PE, Ausubel JH (1999). Nitrogen fertilizer: retrospect and prospect. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 1175–1180
- Gazzarrini S, Lejay L, Gojon A, Ninnemann O, Frommer WB, von Wiren N (1999). Three functional transporters for constitutive, diurnally regulated, and starvation-induced uptake of ammonium into *Arabidopsis* roots. *Plant Cell*, 11: 937–948
- Graff L, Obrdlik P, Yuan L, Loque D, Frommer WB, von Wiren N (2011). N-terminal cysteines affect oligomer stability of the allosterically regulated ammonium transporter LeAMT1;1. *J Exp Bot*, 62: 1361–1373
- Guether M, Neuhauser B, Balestrini R, Dynowski M, Ludewig U, Bonfante P (2009). A mycorrhizal-specific ammonium transporter from *Lotus japonicus* acquires nitrogen released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Physiol*, 150: 73–83
- Hem S, Rofidal V, Sommerer N, Rossignol M (2007). Novel subsets of the *Arabidopsis* plasmalemma phosphoproteome identify phosphorylation sites in secondary active transporters. *Biochem Biophys Res Commun*, 363: 375–380
- Hong JJ, Park YS, Bravo A, Bhattarai KK, Daniels DA, Harrison-MJ (2012). Diversity of morphology and function in Arbuscular mycorrhizal symbioses in *Brachypodium distachyon*. *Planta*, 236: 851–865
- Huang CH, Peng J (2005). Evolutionary conservation and diversification of Rh family genes and proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 15512–15517
- Husted S, Mattsson M, Mollers C, Wallbraun M, Schjoerring JK (2002). Photorespiratory  $\text{NH}_4^+$  production in leaves of wild-type and glutamine synthetase 2 antisense oilseed rape. *Plant Physiol*, 130: 989–998
- Khademi S, O'Connell J, Remis J, Robles-Colmenares Y, Miercke LJ, Stroud RM (2004). Mechanism of ammonia transport by Amt/MEP/Rh: structure of AmtB at 1.35 Å. *Science*, 305: 1587–1594
- Kobae Y, Tamura Y, Takai S, Banba M, Hata S (2010). Localized expression of arbuscular mycorrhiza-inducible ammonium transporters in soybean. *Plant Cell Physiol*, 51: 1411–1415
- Koegel S, Ait Lahmidi N, Arnould C, Chatagnier O, Walder F, Ineichen K, Boller T, Wipf D, Wiemken A, Courty PE (2013). The family of ammonium transporters (AMT) in *Sorghum bicolor*: two AMT members are induced locally, but not systemically in roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol*, 198: 853–865
- Kronzucker HJ, Britto DT, Davenport RJ, Tester M (2001). Ammonium toxicity and the real cost of transport. *Trends Plant Sci*, 6: 335–337
- Kronzucker HJ, Siddiqi MY, Glass A (1996). Kinetics of  $\text{NH}_4^+$  influx in Spruce. *Plant Physiol*, 110: 773–779
- Lauter FR, Ninnemann O, Bucher M, Riesmeier JW, Frommer WB (1996). Preferential expression of an ammonium transporter and of two putative nitrate transporters in root hairs of tomato. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 8139–8144
- Lejay L, Gansel X, Cerezo M, Tillard P, Muller C, Krapp A, von Wiren N, Daniel-Vedele F, Gojon A (2003). Regulation of root ion transporters by photosynthesis: functional importance and relation with hexokinase. *Plant Cell*, 15: 2218–2232
- Lejay L, Wirth J, Pervent M, Cross JM, Tillard P, Gojon A (2008). Oxidative pentose phosphate pathway-dependent sugar sensing as a mechanism for regulation of root ion transporters by photo-



- synthesis. *Plant Physiol*, 146: 2036–2053
- Loque D, Lalonde S, Looger LL, von Wiren N, Frommer WB (2007). A cytosolic trans-activation domain essential for ammonium uptake. *Nature*, 446: 195–198
- Loque D, Ludewig U, Yuan L, von Wiren N (2005). Tonoplast intrinsic proteins AtTIP2; 1 and AtTIP2; 3 facilitate  $\text{NH}_3$  transport into the vacuole. *Plant Physiol*, 137: 671–680
- Loque D, von Wiren N (2004). Regulatory levels for the transport of ammonium in plant roots. *J Exp Bot*, 55: 1293–1305
- Loque D, Yuan L, Kojima S, Gojon A, Wirth J, Gazzarrini S, Ishiyama K, Takahashi H, von Wiren N (2006). Additive contribution of AMT1;1 and AMT1;3 to high-affinity ammonium uptake across the plasma membrane of nitrogen-deficient *Arabidopsis* roots. *Plant J*, 48: 522–534
- Ludewig U (2006). Ion transport versus gas conduction: function of AMT/Rh-type proteins. *Transfus Clin Biol*, 13: 111–116
- Ludewig U, von Wiren N, Frommer WB (2002). Uniport of  $\text{NH}_4^+$  by the root hair plasma membrane ammonium transporter LeAMT1;1. *J Biol Chem*, 277: 13548–13555
- Ludewig U, von Wiren N, Rentsch D, Frommer WB (2001). Rhesus factors and ammonium: a function in efflux? *Genome Biol*, 2: 1010.1–1010.5
- Ludewig U, Wilken S, Wu B, Jost W, Obrdlik P, El Bakkoury M, Marini AM, Andre B, Hamacher T, Boles E, et al (2003). Homo- and hetero-oligomerization of ammonium transporter-1  $\text{NH}_4^+$  uniporters. *J Biol Chem*, 278: 45603–45610
- Marini AM, Soussi-Boudekou S, Vissers S, Andre B (1997). A family of ammonium transporters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, 17: 4282–4293
- Marini AM, Springael JY, Frommer WB, Andre B (2000). Cross-talk between ammonium transporters in yeast and interference by the soybean SAT1 protein. *Mol Microbiol*, 35: 378–385
- Marini AM, Vissers S, Urrestarazu A, Andre B (1994). Cloning and expression of the *MEP1* gene encoding an ammonium transporter in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J*, 13: 3456–3463
- Marschner H (1995). Nutrient availability in soils. In: Marschner H (ed). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd ed London, UK: Academic Press, 483–507
- Mayer M, Dynowski M, Ludewig U (2006). Ammonium ion transport by the AMT/Rh homologue LeAMT1;1. *Biochem J*, 396: 431–437
- Mewes HW, Frishman D, Mayer KF, Munsterkotter M, Noubibou O, Pagel P, Rattei T, Oesterheld M, Ruepp A, Stumpflen V (2006). MIPS: analysis and annotation of proteins from whole genomes in 2005. *Nucleic Acids Res*, 34: 169–172
- Miller AJ, Cookson SJ, Smith SJ, Wells DM (2001). The use of microelectrodes to investigate compartmentation and the transport of metabolized inorganic ions in plants. *J Exp Bot*, 52: 541–549
- Monahan BJ, Unkles SE, Tsing IT, Kinghorn JR, Hynes MJ, Davis MA (2002). Mutation and functional analysis of the *Aspergillus nidulans* ammonium permease MeaA and evidence for interaction with itself and MepA. *Fungal Genet Biol*, 36: 35–46
- Mrowka R, Patzak A, Herzel H (2001). Is there a bias in proteome research? *Genome Res*, 11: 1971–1973
- Neuhauser B, Dynowski M, Mayer M, Ludewig U (2007). Regulation of  $\text{NH}_4^+$  transport by essential cross talk between AMT monomers through the carboxyl tails. *Plant Physiol*, 143: 1651–1659
- Neuhauser B, Ludewig U (2014). Uncoupling of ionic currents from substrate transport in the plant ammonium transporter AtAMT1;2. *J Biol Chem*, 289: 11650–11655
- Nielsen KH, Schjoerring JK (1998). Regulation of apoplastic  $\text{NH}_4^+$  concentration in leaves of oilseed rape. *Plant Physiol*, 118: 1361–1368
- Ninnemann O, Jauniaux JC, Frommer WB (1994). Identification of a high affinity  $\text{NH}_4^+$  transporter from plants. *EMBO J*, 13: 3464–3471
- Nuhse TS, Stensballe A, Jensen ON, Peck SC (2004). Phosphoproteomics of the Arabidopsis plasma membrane and a new phosphorylation site database. *Plant Cell*, 16: 2394–2405
- Ortiz-Ramirez C, Mora SI, Trejo J, Pantoja O (2011). PvAMT1;1, a highly selective ammonium transporter that functions as  $\text{H}^+$ / $\text{NH}_4^+$  symporter. *J Biol Chem*, 286: 31113–31122
- Pastor V, Gamir J, Camanes G, Cerezo M, Sanchez-Bel P, Flors V (2014). Disruption of the ammonium transporter *AMT1.1* alters basal defenses generating resistance against *Pseudomonas syringae* and *Plectosphaerella cucumerina*. *Front Plant Sci*, 5: 231
- Pérez-Tienda J, Corrêa A, Azcón-Aguilar C, Ferrol N (2014). Transcriptional regulation of host  $\text{NH}_4^+$  transporters and GS/GOGAT pathway in arbuscular mycorrhizal rice roots. *Plant Physiol Biochem*, 75: 1–8
- Raun W, Johnson G (1999). Improving nitrogen use efficiency for cereal production. *Agro J*, 91: 357–363
- Rawat SR, Silim SN, Kronzucker HJ, Siddiqi MY, Glass AD (1999). *AtAMT1* gene expression and  $\text{NH}_4^+$  uptake in roots of *Arabidopsis thaliana*: evidence for regulation by root glutamine levels. *Plant J*, 19: 143–152
- Rogato A, D'Apuzzo E, Barbulova A, Omrane S, Stedel C, Simon-Rosin U, Katinakis P, Flemetakis M, Udvardi M, Chiu-razzi M (2008). Tissue-specific down-regulation of *LjAMT1;1* compromises nodule function and enhances nodulation in *Lotus japonicus*. *Plant Mol Biol*, 68: 585–595
- Ruzicka DR, Hausmann NT, Barrios-Masias FH, Jackson LE, Schachtman DP (2012). Transcriptomic and metabolic responses of mycorrhizal roots to nitrogen patches under field conditions. *Plant Soil*, 350: 145–162
- Shelden MC, Dong B, de Bruxelles GL, Trevaskis B, Whelan J, Ryan PR, Hoeft SM, Udvardi MK (2001). *Arabidopsis* ammonium transporter, AtAMT1;1 and AtAMT1;2, have different biochemical properties and function roles. *Plant Soil*, 231: 151–160
- Sohlenkamp C, Shelden M, Howitt S, Udvardi M (2000). Characterization of *Arabidopsis* AtAMT2, a novel ammonium transporter in plants. *FEBS Lett*, 467: 273–278
- Sohlenkamp C, Wood CC, Roeb GW, Udvardi MK (2002). Characterization of *Arabidopsis* AtAMT2, a high-affinity ammonium transporter of the plasma membrane. *Plant Physiol*, 130: 1788–1796
- Sonoda Y, Ikeda A, Saiki S, von Wiren N, Yamaya T, Yamaguchi J (2003a). Distinct expression and function of three ammonium

- transporter genes (*OsAMT1;1-1;3*) in rice. *Plant Cell Physiol*, 44: 726–734
- Sonoda Y, Ikeda A, Saiki S, Yamaya T, Yamaguchi J (2003b). Feedback regulation of the ammonium transporter gene family *AMT1* by glutamine in rice. *Plant Cell Physiol*, 44: 1396–1402
- Soupeine E, Ramirez RM, Kustu S (2001). Evidence that fungal MEP proteins mediate diffusion of the uncharged species  $\text{NH}_3$  across the cytoplasmic membrane. *Mol Cell Biol*, 21: 5733–5741
- Straub D, Ludewig U, Neuhäuser B (2014). A nitrogen dependent switch in the high affinity ammonium transport in *Medicago truncatula*. *Plant Mol Biol*, 86: 485–494
- Suenaga A, Moriya K, Sonoda Y, Ikeda A, von Wiren N, Hayakawa T, Yamaguchi J, Yamaya T (2003). Constitutive expression of a novel-type ammonium transporter *OsAMT2* in rice plants. *Plant Cell Physiol*, 44: 206–211
- Tilman D (1999). Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 5995–6000
- Ullmann RT, Andrade SL, Ullmann GM (2012). Thermodynamics of transport through the ammonium transporter Amt-1 investigated with free energy calculations. *J Phys Chem B*, 116: 9690–9703
- Vitousek PM, Aber JD, Howarth RW, Likens GE, Matson PA, Schindler DW, Schlesinger WH, Tilman DG (1997). Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecol Appl*, 7: 737–750
- von Wiren N, Gazzarrini S, Frommer WB (1997). Regulation of mineral nitrogen uptake in plants. *Plant Soil*, 196: 191–199
- von Wiren N, Gazzarrini S, Gojon A, Frommer WB (2000). The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval. *Curr Opin Plant Biol*, 3: 254–261
- von Wiren N, Merrick M (2004). Regulation and function of ammonium carriers bacteria, fungi, and plant. *Topis Curr Genet*, 9: 95–120.
- Walker NA, Beilby MJ, Smith FA (1979a). Amine uniport at the plasmalemma of charophyte cells. I. Current-voltage curves, saturation kinetics, and effects of unstirred layers. *J Membrane Biol*, 49: 21–55
- Walker NA, Smith FA, Beilby MJ (1979b). Amine uniport at the plasmalemma of charophyte cells. Ratio of matter to charge transported and permeability of free base. *J Membrane Biol*, 49: 283–296
- Wang MY, Glass A, Shaff JE, Kochian LV (1994). Ammonium uptake by rice roots (III. Electrophysiology). *Plant Physiol*, 104: 899–906
- Wang MY, Siddiqi MY, Ruth TJ, Glass A (1993). Ammonium uptake by rice roots (II. Kinetics of  $^{15}\text{NH}_4^+$  influx across the plasmalemma). *Plant Physiol*, 103: 1259–1267
- Wang Q, Zhao Y, Luo W, Li R, He Q, Fang X, Michele RD, Ast C, von Wiren N, Lin J (2013). Single-particle analysis reveals shut-off control of the *Arabidopsis* ammonium transporter *AMT1;3* by clustering and internalization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 13204–13209
- Wang YH, Garvin DF, Kochian LV (2001). Nitrate-induced genes in tomato roots. Array analysis reveals novel genes that may play a role in nitrogen nutrition. *Plant Physiol*, 127: 345–359
- Wells DM, Miller AJ (2000). Intracellular measurement of ammonium in *Chara corallina* using ion-selective microelectrodes. *Plant-Soil*, 221: 103–106
- Williams L, Miller A (2001). Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 52: 659–688
- Ullrich WR, Larsson M, Larsson CM, Lesch S, Novacky A (1984). Ammonium uptake in *lemna gibba* G1, related membrane potential changes, and inhibition of anion uptake. *Physiol Plant*, 61: 369–376
- Xu QF, Tsai CL, Tsai CY (1992). Interaction of potassium with the form and amount of nitrogen nutrition on growth and nitrogen uptake of maize. *J Plant Nutr*, 15: 23–33
- Yang S, Hao D, Cong Y, Jin M, Su Y (2015). The rice *OsAMT1;1* is a proton-independent feedback regulated ammonium transporter. *Plant Cell Rep*, 34: 321–330
- Yoshida S (1981). Mineral nutrition of rice. In: Yoshida S (ed). *Fundamentals of Rice Crop Science*. Manila Philippines: The International Rice Research Institute Press, 111–176
- Yuan L (2007). Molecular characterization and regulation of ammonium transporters in *Arabidopsis thaliana* [dissertation]. Stuttgart: Hohenheim University
- Yuan L, Gu R, Xuan Y, Smith-Valle E, Loque D, Frommer WB, von Wiren N (2013). Allosteric regulation of transport activity by heterotrimerization of *Arabidopsis* ammonium transporter complexes in vivo. *Plant Cell*, 25: 974–984
- Yuan L, Loque D, Ye F, Frommer WB, von Wiren N (2007). Nitrogen-dependent posttranscriptional regulation of the ammonium transporter *AtAMT1;1*. *Plant Physiol*, 143: 732–744
- Zheng L, Kostrewa D, Berneche S, Winkler FK, Li XD (2004). The mechanism of ammonia transport based on the crystal structure of AmtB of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 17090–17095

## Research progress on molecular regulation of ammonium uptake and transport in plant

LIU Ting, SHANG Zhong-Lin\*

*College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China*

**Abstract:** Ammonium is, besides nitrate, the most important nitrogen form being taken up and assimilated by root cells, while, over ammonium accumulation is toxic to plant cells. Thus, ammonium uptake process must be tightly controlled according to plant nitrogen status and external nitrogen availability. AMT-type ammonium transporters have been demonstrated to mediate high-affinity ammonium uptake across the plasma membrane in roots, and AMT gene expression and its transport activities are strictly controlled on multilevel including transcription and translation levels. Here, research progress on plant ammonium uptake and transport mechanism is discussed, especially translational regulation in the recent five years.

**Key words:** ammonium uptake; ammonium transporter; transcriptional regulation; translational regulation

---

Received 2015-12-18 Accepted 2016-04-16

This work was supported by the Natural Science Foundation of Hebei Education Department (Grant No. Q2012065), the Major Program of Natural Science Foundation of Hebei Normal University(Grant No. L2012Z04), the Doctoral Program of Natural Science Foundation of Hebei Normal University(Grant No. L2011B11).

\*Corresponding author (E-mail: shangzhonglin@mail.hebtu.edu.cn).