

文章编号: 1004-0374(2009)02-0330-05

液泡膜转运蛋白在植物细胞代谢中的作用

乔磊, 崔继哲*

(哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, 哈尔滨 150025)

摘要: 液泡是植物细胞的一个多功能细胞器, 其主要通过膜运输系统执行功能。液泡膜转运蛋白可以控制细胞内物质的储存和运输, 参与细胞内的应答胁迫反应, 隔离毒性离子, 防止细胞质受害, 调节 Ca^{2+} 浓度和 pH, 维持细胞内环境的稳定。本文主要对液泡膜转运蛋白在营养储存、逆境胁迫、细胞内环境稳态中发挥的作用进行综述, 以期为进一步阐释液泡复杂生理功能提供一些借鉴。

关键词: 液泡膜转运蛋白; 营养储存; 逆境胁迫; 细胞内环境稳态

中图分类号: Q942.4; Q946.1 **文献标识码:** A

Functions of tonoplast transporters in plant cell metabolism

QIAO Lei, CUI Ji-zhe*

(College of Life Sciences and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China)

Abstract: Plant cell vacuoles are multifunctional organelles, its multifunction is supported by the vacuolar membrane transport systems. Tonoplast transporters could control the storage and transport of cellular substance, involve in responses to stress, isolate toxic ion to avoid poison, regulate cellular Ca^{2+} concentration and pH, maintain stabilities of cellular conditions. To better understand vacuolar's complex biological functions, this review focuses on functions of tonoplast transporters in storing nutrients, tolerance of abiotic stresses, and maintenance of cellular environmental homeostasis.

Key words: tonoplast transporters; nutrients storing; abiotic stress; cellular environmental homeostasis

液泡是细胞质中由单层膜包围的充满水溶液的泡状结构, 是植物细胞中普遍存在, 具有多种功能的细胞器。植物细胞没有液泡不能存活, 植物的不同组织和器官含有不同的液泡, 甚至一个植物细胞能有两种或多种类型的液泡。所有类型的液泡都含有 H^+ -ATPase (V-ATPase)、 H^+ -焦磷酸酶 (V-PPase) 和液泡膜固有蛋白, 如水通道蛋白, 这些成分根据所在液泡的类型和位置执行不同的功能。

植物液泡的形成起源于高尔基体-内质网-溶酶体系统的反面管网膜网络, 通过生物合成、内吞运输及自体吞噬形成植物细胞特有的中央大液泡^[1]。随着液泡膜转运蛋白研究的深入, 人们认识到液泡已不是简单的废弃物存放站, 它参与并调节细胞代谢, 控制细胞内物质累积和运输, 维持细胞内环境稳定, 提高植物适应环境变化和生存的能力^[2]。由

此可见, 植物液泡膜转运蛋白在液泡行使功能中起重要的作用。

液泡膜具有复杂的结构, 其转运蛋白的数量很多, 最近的蛋白质组学研究揭示, 拟南芥中所鉴定的 195 个液泡膜整合蛋白中有 110 个是膜转运蛋白^[3]。有关液泡膜转运蛋白结构特征研究已有报道^[4,5]。本文结合中心大液泡和液泡膜转运蛋白研究的新进展, 重点对液泡膜转运蛋白在细胞代谢中功能加以综述, 以期为进一步阐释液泡复杂生理功能提供一些借鉴。

1 液泡膜转运蛋白种类

根据液泡膜转运蛋白的结构及发挥作用机制,

收稿日期: 2009-01-08; 修回日期: 2009-01-29

基金项目: 黑龙江省科技攻关计划(GA06B103-7)

*通讯作者: shiccl@yahoo.com.cn

可以分为三类:(1)质子泵;(2)通道蛋白;(3)共转运蛋白^[6]。膜转运蛋白直接或间接地控制着离子及其他溶质进出液泡,参与植物生命活动每一过程。

1.1 质子泵 液泡膜的两种质子泵V-ATPase和V-PPase,将胞质中H⁺泵入液泡,维持胞质及各细胞器的pH相对稳定性,并形成跨液泡膜的电化学势梯度,是离子进入液泡的主要驱动力,如液泡膜Na⁺/H⁺反向转运蛋白NHX(Na⁺/H⁺ exchanger)利用V-ATPase和V-PPase所产生的跨膜电化学势梯度,将细胞内的Na⁺区隔化到液泡内,从而降低Na⁺对细胞的伤害。V-PPase在烟草(*Nicotiana tabacum*)中过量表达,可以增强跨液泡膜电化学梯度,促进了Na⁺向液泡的运输和积累,使转基因烟草耐盐性增强^[7]。

1.2 通道蛋白 通道蛋白具有在不需要能量的条件下,将适宜大小分子或离子从膜一侧快速转运到另一侧的功能。这种选择性通道蛋白种类很多,其中离子通道是一类主要的通道蛋白。液泡膜上的离子通道包括阳离子通道和阴离子通道。阳离子通道包括慢液泡通道(slow vacuolar channel, SV)、快液泡通道(fast vacuolar channel, FV)和液泡钾通道(vacuolar K⁺ channel, VK);阴离子通道包括苹果酸离子通道和Cl⁻通道^[8]。

SV通道是一种Ca²⁺激活的电压依赖性离子通道。许多一价阳离子(K⁺、Na⁺、Cs⁺)和二价阳离子(Ca²⁺、Mg²⁺、Ba²⁺)都可通过此通道。SV通道除作为细胞内K⁺的转运器外,可能与液泡中Ca²⁺释放有关^[9],还可能参与气孔关闭期间Ca²⁺诱导的K⁺和Ca²⁺的释放^[8]。FV通道是一种电压依赖性通道,瞬间激活以适应电压改变,对一价阳离子具有非选择性,对二价阳离子是不通透的。FV通道允许低Ca²⁺环境下K⁺释放,促进气孔关闭期间保卫细胞液泡释放K⁺,具有平衡细胞质和液泡中K⁺的功能^[9]。VK通道对于K⁺选择性很高,对Ca²⁺有依赖性^[8],如烟草液泡膜NtTPK(two-pore K⁺)通道对K⁺有较高选择性,盐胁迫和渗透胁迫条件下,该通道活性增高,而胞液内Ca²⁺和酸化(pH5.5)环境能够显著地提高该通道运输K⁺的流量,可见NtTPK1是一类不同于VK的新型K⁺离子通道^[10]。阴离子通道也参与离子的储存和释放,对维持植物正常生理功能具有重要意义^[9]。

水通道蛋白具有介导细胞与介质间水及可溶性小分子物质运输的功能,TIP(tonoplast intrinsic

protein)是液泡膜上的水通道蛋白,占液泡膜整合蛋白的30%—50%^[6]。根据膜上水通道蛋白类型液泡可以分为储存型液泡和裂解型液泡。贮存型液泡膜上都含有 δ -TIP,其中种子特异性蛋白贮存型液泡膜上有 α -TIP和 δ -TIP,有些情况下也含有 γ -TIP;营养型蛋白贮存液泡膜上含有 δ -TIP和 γ -TIP;裂解型液泡的特征是只有 γ -TIP^[2]。TIP除具有转运水分功能外,还能允许NH₃的通透,如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)AtTIP2-1和AtTIP2-3,可以透过NH₃,保持细胞内氨平衡^[11]。

1.3 共转运蛋白 共转运蛋白包括反向转运蛋白和同向转运蛋白。植物液泡膜的共转运蛋白利用质子泵所形成的电化学梯度,顺着浓度梯度或逆浓度梯度进行物质转运。液泡膜质子泵通过将胞质中H⁺累积到液泡形成电化学梯度,为共转运蛋白提供能量。植物细胞中很多成分都与H⁺共转运而进(出)液泡,如K⁺、NO₃⁻、SO₄²⁻、蔗糖、糖醇、单糖等^[6],使液泡膜的共转运蛋白表现出种类和功能的多样性。

2 液泡膜转运蛋白与营养储存

储存营养物质是液泡的一个重要功能,液泡膜转运蛋白参与氮、碳、硫、磷、铁等营养物质的储存和转运。

2.1 氮 硝态氮(NO₃⁻)是植物的主要氮源,在植物体内可大量累积。植物吸收NO₃⁻一部分在根部被还原为NO₂⁻-N,随后被同化为氨基酸作为合成蛋白质原料;大部分则通过蒸腾作用以NO₃⁻的形式经木质部输送到地上部,分布在茎、叶等器官。液泡是NO₃⁻的贮存库,液泡膜上的NO₃⁻/H⁺反向转运蛋白负责NO₃⁻在液泡中的累积^[12]。阴离子通道也参与细胞内NO₃⁻的转运^[13],AtCLC(chloride channel)是根和茎的阴离子通道,有将NO₃⁻累积到液泡的功能;当氮营养丰富时,AtCLC基因的转录水平较高;AtCLC缺失突变体导致NO₃⁻储存能力下降。

除了硝态氮,氨(NH₄⁺和NH₃)也是植物氮的主要储存形式之一,液泡内pH比胞液低,偏酸的液泡总NH₄⁺浓度比胞液高100倍^[2]。水通道蛋白AtTIP2-1和AtTIP2-3,可以透过NH₃,使NH₃和NH₄⁺在液泡中建立新的平衡^[11]。当植物需要氨基酸和蛋白质合成时,胞液中NH₄⁺则需要建立一个化学梯度,使NH₃从液泡中被释放出来,从而保持细胞内NH₃的浓度。

2.2 碳 糖是植物体碳源储存和运输的主要形式,

在液泡中的累积不仅可以利用足够的空间进行长期储存,也有助于细胞渗透调节。拟南芥液泡膜单糖转运蛋白AtTMT(tonoplast monosaccharide transporter)参与液泡内单糖的累积。低温、干旱、盐胁迫可以诱导该蛋白的表达,说明该蛋白参与拟南芥对渗透胁迫的应答^[14]。大麦(*Hordeum vulgare*) HvSUT2(sucrose transporters)和拟南芥AtSUT4是液泡膜上的蔗糖转运蛋白,参与蔗糖从液泡到胞质的运输^[15]。百脉根(*Lotus japonicus*) LjSUT4与绿色荧光蛋白融合表达定位研究发现,LjSUT4被定位在液泡膜,具有将液泡内蔗糖及糖苷释放到胞液的功能^[16]。

糖醇类也是植物体碳源储存的一种方式。

INT1(inositol transporter 1)是液泡膜上唯一的肌醇输出蛋白,该蛋白特异地转运肌醇,对葡萄糖及果糖没有转运活性。AtINT1在几乎所有细胞和组织中都表达,其活性与细胞内肌醇的代谢有关^[17]。可见,液泡膜转运蛋白也参与植物碳营养的储存。

2.3 硫酸盐营养 硫酸盐是植物生长不可缺少的营养物质,硫酸盐也在液泡中累积。Kataoka等^[18]鉴定了2个液泡硫酸盐转运蛋白SULTR(sulphate transporters):SULTR4-1和SULTR4-2。*sultr4-1/sultr4-2*双缺失突变体的液泡与野生型相比含有更多的硫酸盐,这2个蛋白有可能与硫酸盐从液泡运输到胞液有关。一般硫酸盐含量在根中变化很大,而在茎中较恒定。

2.4 磷营养 为了防止外界Pi供应或细胞内代谢变化而引起Pi含量的波动,液泡在保持胞液Pi稳态中起到了缓冲器的作用。液泡膜对Pi的通透性通常是很低的,但在Pi缺乏条件下,通透性则明显增加。许多研究结果显示,在Pi饥饿条件下,番茄V-ATPase的水解活性增强,液泡膜上的转运系统被激活,使Pi从液泡中被输出,调节胞液中Pi的含量,适应抗缺磷的胁迫。据此可以推测,V-ATPase可能参与胞液内Pi稳态调节^[19],不过目前尚未见有液泡膜Pi转运体的报道。

2.5 铁营养 铁是植物生长发育必需的营养元素,植物生长细胞内最适Fe浓度为 10^{-9} — 10^{-4} mol/L^[20]。酵母胞液的Fe以Fe²⁺形式,通过CCC1p运输进入液泡,以Fe(OH)₃形式储存;还原酶Fre6p(ferric reductase 6 protein)可以将Fe(OH)₃还原,并通过转运蛋白Smf3p(*Saccharomyces cerevisiae* manganese transport 3 protein)和Fet5p(ferrous transport 5 protein)释放,重复利用Fe²⁺^[21]。拟南芥液泡膜Fe²⁺

转运蛋白VIT1(vacuolar iron transporter 1)与Fe在液泡中储存有关^[22],*viv1*缺失突变体表现出Fe²⁺运输紊乱,该蛋白在细胞内Fe²⁺运输功能也得到了证实^[20]。拟南芥液泡膜的Nramp3(natural resistance associated macrophage proteins)和Nramp4参与Fe²⁺从液泡到胞液的转运,当Fe饥饿处理时,野生型液泡膜上Nramp3和Nramp4表达量增加,在植物发育早期,Nramp3和Nramp4双缺失突变体液泡内储存的Fe²⁺不能释放到胞液,表现出对Fe饥饿敏感的症状,也证实Nramp3和Nramp4介导Fe²⁺向胞液的输出^[23],从而调节细胞内Fe²⁺的含量。

3 液泡膜转运蛋白与逆境胁迫

液泡占据细胞的大部分体积,细胞内有害物质可以被液泡膜转运蛋白区隔入液泡,避免细胞受到伤害,液泡在植物逆境胁迫中发挥着重要作用。

3.1 盐胁迫 土地盐渍化是影响作物生长发育及高产优质的一个重要因素。植物在受到盐胁迫时,往往把盐从细胞质和细胞器中转移出去,除了质膜Na⁺/H⁺反向转运蛋白SOS1(salt overly sensitive 1)和蛋白激酶SOS2外,NHX也与植物耐盐有关,它将胞液内Na⁺区隔到液泡,减轻Na⁺对细胞的毒害。拟南芥AtNHX1是第一个在植物中克隆到的NHX基因,过量表达AtNHX1的拟南芥耐盐性得到了提高^[24]。反向转运蛋白调节基因也影响Na⁺在液泡的区隔化,如水稻(*Oryza sativa*)OsARP(antiporter-regulating protein)编码一种参与Na⁺区隔化的新类型蛋白,过表达OsARP的烟草耐盐性显著提高^[25]。K⁺稳态在植物耐盐性中具有重要意义。胞液内Na⁺/K⁺比是Na⁺毒性的决定因子。盐胁迫下,除了降低胞液内Na⁺的含量,高亲和K⁺转运蛋白可保持胞液内较高的K⁺含量,也有助于提高植物耐盐性^[26]。

在盐胁迫条件下,由于外界渗透势较低,植物细胞会发生水分亏缺现象,即渗透胁迫。植物为了避免这种伤害,细胞内会主动积累一些可溶性溶质来降低胞液渗透势,以保证逆境条件下水分的正常供应。例如CLC1可以透过Cl⁻,调节细胞内Na⁺和Cl⁻的平衡^[27]。糖醇类是细胞的渗透调节物质,盐胁迫下,大车前(*Plantago major*)韧皮部液泡山梨醇转运蛋白PmPLT1(polyol transporter 1)和PmPLT2的活性增加,将液泡内的山梨醇转运到胞液,从而降低渗透势^[28],抵抗胁迫的外界环境。

3.2 重金属胁迫 土壤含有过高的重金属离子对植物生长是非常不利的,当细胞内重金属含量过高,

会引起植物代谢紊乱,抑制植物生长。累积重金属是液泡重要功能之一,拟南芥液泡膜转运蛋白 AtIREG2 (iron-regulated transporter 2) 参与细胞内重金属 Ni 的转运,过量表达 *AtIREG2* 的转基因植物增加了对 Ni 的耐受性^[29]。燕麦根系中, Cd 在胞液中与植物螯合剂结合,以复合物形式通过其转运体进入液泡,从而隔离毒性离子^[30]。拟南芥液泡膜 Zn²⁺/H⁺ 转运蛋白 MTP (metal tolerance protein) 将胞液内过量 Zn²⁺ 累积到液泡,维持细胞内 Zn²⁺ 的平衡^[31]。*AtMTP1* 超表达植株比野生型聚集更多的 Zn,使得植株在高 Zn 环境下能更好的生长。白杨 *PtdMTP1* 在拟南芥中的过表达,增强了植株对 Zn 的耐受性^[32]。由此可见液泡膜转运蛋白在重金属储存及解毒中发挥重要作用。

4 液泡膜转运蛋白与细胞内环境

细胞体积和膨压、胞液中离子、pH 等都影响着细胞内环境的稳定。液泡膜的转运蛋白通过调节 Ca²⁺ 浓度、pH 等因素稳定细胞内环境。

4.1 调节 Ca²⁺ 浓度 Ca²⁺ 是细胞信号传导途径的第二信使,胞液 Ca²⁺ 浓度的变化直接影响着信号的传递,细胞内必需保持恒定且较低的 Ca²⁺ 浓度。液泡是细胞中 Ca²⁺ 的内部贮存处,液泡膜上的 Ca²⁺ 通道、Ca²⁺/H⁺ 反向转运蛋白 CAX (Ca²⁺/H⁺ exchanger) 控制着胞液的 Ca²⁺ 浓度。

CAX 的缺失突变体中该蛋白活性降低了 50%, V-ATPase 的活性降低了 40%,可见 CAX 对 Ca²⁺ 在液泡中的累积具有调节作用^[33]。Ca²⁺ 也可以通过 Ca²⁺ 通道流出液泡,依赖 IP₃ (inositol trisphosphate) 的 Ca²⁺ 通道、依赖 cADPR (cyclic ADP-ribose) Ca²⁺ 通道、电压控制 Ca²⁺ 通道和 TPC (two-pore channel) 通道均属于 SV^[34]。

4.2 调节 pH 细胞内生化反应对 pH 变化极其敏感,大多数酶促反应最适 pH 接近中性,而细胞代谢本身产生大量 H⁺,降低了胞液内的 pH,影响正常代谢。液泡膜的 2 种质子泵,可将胞液内 H⁺ 及时地泵入液泡,以确保胞液 pH 的稳定性。

苹果酸合成和降解影响着胞液的 pH 稳态^[2]。磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 PEPC (phosphoenolpyruvate carboxylase) 合成苹果酸时,在胞液中释放 H⁺,而当苹果酸盐被苹果酸酶降解时,在胞液中释放 OH⁻,酸化的环境激活苹果酸酶,抑制 PEPC。液泡内累积苹果酸盐对胞液内 pH 具有调节作用。拟南芥苹果酸转运蛋白 AtTDT (tonoplast dicarboxylate

transporter) 将苹果酸运输到液泡内,胞液的酸化增强 *AtTDT* 的表达 *ALMT* (aluminum-activated malate transporter) 基因家族编码液泡膜苹果酸离子通道,过表达 *AtALMT9* 的烟草叶肉细胞液泡膜透过苹果酸的量增加^[35],可见液泡苹果酸转运蛋白和离子通道是控制胞液内 pH 稳态的关键^[36]。

5 结束语

转运蛋白不仅参与膜电位平衡、渗透和代谢调节、信号转导,还担负着吸收和运送营养元素的功能。与液泡膜转运蛋白相比,质膜转运蛋白研究得更为深入^[37,38],它控制细胞与外界环境之间的物质交换,参与信号转导,调节细胞渗透势,如质膜 Na⁺/H⁺ 反向转运蛋白 SOS1 通过排 Na⁺ 平衡盐胁迫,质膜 Ca²⁺ 离子通道控制胞液内 Ca²⁺ 浓度,参与细胞信号转导途径。

研究细胞内物质的转运就是研究细胞代谢,是分子生物学研究的热点之一。关于液泡和细胞代谢之间的联系还有很多需要研究的问题,例如,质膜的转运蛋白和液泡膜的转运蛋白在保持胞液稳态中都发挥重要作用,但是目前尚不清楚这些相互的转运进程是如何调控的。利用基因敲除技术,越来越多的液泡膜转运蛋白被鉴定,也揭示了植物细胞代谢调控的机制。随着蛋白质组学和代谢组学研究的深入,将为植物液泡膜转运蛋白与细胞代谢生物学机制阐明提供更多的证据。

[参 考 文 献]

- [1] 廖祥如,陈彤,刘小丽. 植物液泡的形成及其功能. 细胞生物学杂志, 2002, 24(2): 95-101
- [2] Martinoia E, Maeshima M, Neuhaus HE. Vacuolar transporters and their essential role in plant metabolism. J Exp Bot, 2007, 58(1): 83-102
- [3] Jaquinod M, Villiers M, Jaquinod SK, et al. A proteomics dissection of *Arabidopsis thaliana* vacuoles isolated from cell culture. Mol Cell Proteomics, 2007, 6(3): 394-412
- [4] 包爱科,张金林,郭正刚,等. 液泡膜 H⁺-PPase 与植物耐盐性. 植物生理学通讯, 2006, 42(4): 777-83
- [5] 鲁家米,刘延盛,周晓阳. 植物重金属转运蛋白及其在植物修复中的应用. 中国生态农业学报, 2007, 15(1): 194-200
- [6] Nagata T, Iizumi S, Satoh K, et al. Comparative molecular biological analysis of membrane transport genes in organisms. Plant Mol Biol, 2008, 66(6): 565-85
- [7] Duan XG, Yang AF, Gao F, et al. Heterologous expression of vacuolar H⁺-PPase enhances the electrochemical gradient across the vacuolar membrane and improves tobacco cell salt tolerance. Protoplasma, 2007, 232(1-2): 87-95
- [8] 商艳芳,杨频. 高等植物液泡离子通道. 生命的化学,

- 2003, 23(6): 453-5
- [9] 刘胜浩, 刘晨临, 黄晓航, 等. 植物细胞的非选择性阳离子通道. 植物生理学通讯, 2006, 42(3): 523-8
- [10] Hamamoto S, Marui J, Matsuoka K, et al. Characterization of a tobacco TPK-type K^+ channel as a novel tonoplast K^+ channel using yeast tonoplasts. *J Biol Chem*, 2008, 283(4): 1911-20
- [11] Loque D, Ludewig U, Yuan L, et al. Tonoplast intrinsic proteins AtTIP2;1 and AtTIP2;3 facilitate NH_3 transport into the vacuole. *Plant Physiol*, 2005, 137: 671-80
- [12] Kabala K, Klobus G, Janicka-Russak M. Nitrate transport across the tonoplast of *Cucumis sativus* L. root cells. *J Plant Physiol*, 2003, 160(5): 523-30
- [13] De Angeli A, Monachello D, Ephritikhine G, et al. The nitrate/proton antiporter AtCLC mediates nitrate accumulation in plant vacuoles. *Nature*, 2006, 442(7105): 939-42
- [14] Neuhaus HE. Transport of primary metabolites across the plant vacuolar membrane. *FEBS Lett*, 2007, 581(2): 2223-6
- [15] Endler A, Meyer S, Schelbert S, et al. Identification of a vacuolar sucrose transporter in barley and *Arabidopsis* mesophyll cells by a tonoplast proteomic approach. *Plant Physiol*, 2006, 141(1): 196-207
- [16] Reinders A, Sivitz AB, Starker CG, et al. Functional analysis of LjSUT4, a vacuolar sucrose transporter from *Lotus japonicus*. *Plant Mol Biol*, 2008, 68(3): 289-99
- [17] Schneider S, Beyhl D, Hedrich R, et al. Functional and physiological characterization of *Arabidopsis* INOSITOL TRANSPORTER1, a novel tonoplast-localized transporter for myo-inositol. *Plant Cell*, 2008, 20(4): 1073-87
- [18] Kataoka T, Watanabe-Takahashi A, Hayashi N, et al. Vacuolar sulfate transporters are essential determinants controlling internal distribution of sulfate in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16(10): 2693-704
- [19] 单树花, 宋克敏, 刘晶茹, 等. 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学报, 2006, 32(6): 685-90
- [20] Kim SA, Guerinot ML. Mining iron: Iron uptake and transport in plants. *FEBS Lett*, 2007, 581(4): 2273-80
- [21] Singh A, Kaur N, Kosman DJ. The metalloredoxase Fre6p in Fe-efflux from the yeast vacuole. *J Biol Chem*, 2007, 282(39): 28619-26
- [22] Kim SA, Punshon T, Lanzirrotti A, et al. Localization of iron in *Arabidopsis* seed requires the vacuolar membrane transporter VIT1. *Science*, 2006, 314(5803): 1295-8
- [23] Lanquar V, Lelievre F, Bolte S, et al. Mobilization of vacuolar iron by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is essential for seed germination on low iron. *EMBO J*, 2005, 24: 4041-51
- [24] Apse MP, Aharon GS, Snedden WA, et al. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. *Science*, 1999, 285: 1256-8
- [25] Uddin MI, Qi Y, Yamada S, et al. Overexpression of a new rice vacuolar antiporter regulating protein OsARP improves salt tolerance in tobacco. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49(6): 880-90
- [26] 邵群, 丁同楼, 韩宁, 等. 高亲和 K^+ 转运载体(HKT)与植物抗盐性. 植物生理学通讯, 2006, 42(2): 175-81
- [27] Li WY, Wong FL, Tsai SN, et al. Tonoplast-located GmCLC1 and GmNHX1 from soybean enhance NaCl tolerance in transgenic bright yellow (BY)-2 cells. *Plant Cell Environ*, 2006, 29(6): 1122-37
- [28] Pommerrenig B, Papini-Terzi FS, Sauer N. Differential regulation of sorbitol and sucrose loading into the phloem of *Plantago major* in response to salt stress. *Plant Physiol*, 2007, 144(6): 1029-38
- [29] Schaaf G, Honsbein A, Meda AR, et al. AtIREG2 encodes a tonoplast transport protein involved in iron-dependent nickel detoxification in *Arabidopsis thaliana* roots. *J Biol Chem*, 2006, 281: 25532-40
- [30] Salt D, Rauser WE. MgATP-dependent transport of phytochelatin across the tonoplast of oat roots. *Plant Physiol*, 1995, 107(4): 1293-301
- [31] Kobae Y, Uemura T, Sato MH, et al. Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45(12): 1749-58
- [32] Blaudez D, Kohler A, Martin F, et al. Poplar metal tolerance protein 1 confers zinc tolerance and is an oligomeric vacuolar zinc transporter with an essential leucine zipper motif. *Plant Cell*, 2003, 15(12): 2911-28
- [33] Cheng NH, Pittman JK, Barkla BJ, et al. The *Arabidopsis* cax1 mutant exhibits impaired ion homeostasis, development, and hormonal responses, and reveals interplay among vacuolar transporters. *Plant Cell*, 2003, 15(2): 347-64
- [34] Peiter E, Maathuis FJ, Mills L, et al. The vacuolar Ca^{2+} -activated channel TPC1 regulates germination and stomatal movement. *Nature*, 2005, 434(7031): 404-8
- [35] Kovermann P, Meyer S, Hörtensteiner S, et al. The *Arabidopsis* vacuolar malate channel is a member of the ALMT family. *Plant J*, 2007, 52(6): 1169-80
- [36] Hurth MA, Suh SJ, Kretzschmar T, et al. Impaired Ph homeostasis in *Arabidopsis*, lacking the vacuolar dicarboxylate transporter and analysis of carboxylic acid transport across the tonoplast. *Plant Physiol*, 2005, 137(3): 901-10
- [37] Liu DQ, Tu LL, Wang L, et al. Characterization and expression of plasma and tonoplast membrane aquaporins in elongating cotton fibers. *Plant Cell Rep*, 2008, 27(8): 1385-94
- [38] Whiteman SA, Nühse TS, Ashford DA, et al. A proteomic and phosphoproteomic analysis of *Oryza sativa* plasma membrane and vacuolar membrane. *Plant J*, 2008, 56(1): 146-56