

胡昌泉, 刘华清, 李刚, 等. 水稻肽转运蛋白基因 *OsPtr1* 的功能分析 [J]. 福建农业学报, 2023, 38 (10): 1133-1138.
HU C Q, LIU H Q, LI G, et al. Functions of *OsPtr1* in Rice [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38 (10): 1133-1138.

水稻肽转运蛋白基因 *OsPtr1* 的功能分析

胡昌泉, 刘华清, 李刚, 王 锋*

(福建省农业科学院生物技术研究所/福建省农业遗传工程重点实验室, 福建 福州 350003)

摘要:【目的】利用 T-DNA 插入突变的方法揭示候选基因 P0421H01.23 (命名为 *OsPtr1*, Peptide 24-48Transporter 1) 的功能表达。【方法】提取水稻明恢 86 成花后 12 d 的胚乳 RNA, 反转录成 cDNA 后, 进行 *OsPtr1* 基因扩增, 以胚乳特异表达 *Gtl* 为启动子, 构建 *OsPtr1* 基因植物过表达载体, 用农杆菌介导法将 *OsPtr1* 基因导入水稻品种日本晴, 对其后代及突变体 *w9101* 进行氮代谢物测定分析; 同时, 构建绿色荧光蛋白基因 *GFP* 和 *OsPtr1* 基因融合表达载体, 用基因枪转入洋葱表皮细胞, 培养 24~48 h 后, 用荧光共聚焦电子显微镜观察 *OsPtr1* 基因亚细胞定位。【结果】*OsPtr1* 基因编码蛋白定位于质膜上, 该基因与氮类物质的运输有关, *OsPtr1* 功能缺失突变体种子的氨基酸和蛋白质等含氮物质积累效率降低, 过表达植株种子的氨基酸和蛋白质等含氮物质含量增加。【结论】*OsPtr1* 基因参与水稻氮类物质的跨膜运输。

关键词: 水稻; 胚乳特异表达; 肽转运蛋白; *OsPtr1*; 氮代谢

中图分类号: S511

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2023) 10-1133-06

Functions of *OsPtr1* in Rice

HU Changquan, LIU Huaqing, LI Gang, WANG Feng*

(Institute of Biotechnology, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fujian Key Laboratory of Agricultural Genetic Engineering, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: 【Objective】Functions of a peptide transporter protein gene, *OsPtr1*, in rice were studied by means of T-DNA insertion mutation. 【Method】The target RNA was extracted from the endosperm of Minghui 86 rice 12 d after flowering and reverse-transcribed into cDNA. By cloning the candidate gene P0421H01.23, named *OsPtr1*, and constructing the plant overexpression vector using the promoter *Gtl* of endosperm-specific expressing, *OsPtr1* was introduced into Nipponbare rice using an agrobacterium-mediated method. Nitrogen metabolism of the offspring and mutant *w9101* was analyzed. A fusion expression vector of green fluorescent protein gene, *GFP*, and *OsPtr1* was constructed and transferred to onion epidermal cells with a gene gun. In 24-48 h afterward, subcellular localization of *OsPtr1* was examined under a fluorescence confocal electron microscope. 【Result】*OsPtr1* was localized at the membrane and possibly involved in the transport of nitrogen substances. Knockout on *OsPtr1* could cause a reduction on nitrogen-containing substances, such as amino acids and proteins, in the rice grains. Conversely, an overexpressed *OsPtr1* would increase the accumulation. 【Conclusion】*OsPtr1* participated in the transmembrane transport of nitrogen substances in rice.

Key words: Rice; endosperm-specific expressing; peptide transporter; *OsPtr1*; nitrogen-metabolism

0 引言

【研究意义】水稻 (*Oryza sativa* L.) 是我国重要的粮食作物, 也是单子叶植物分子遗传研究的重要模式植物^[1-2], 其转化体系成熟, 遗传稳定, 基因组

相对较小, 已完成全基因组序列测序, 研究水稻产量、株型等重要性状的基因功能对改良水稻分子育种具有重要意义。【前人研究进展】从遗传学的角度看, 研究基因功能的方法大致可以分为正向遗传学 (Forward genetics) 和反向遗传学 (Reverse

收稿日期: 2023-01-18 修回日期: 2023-03-17

作者简介: 胡昌泉 (1970—), 男, 博士, 研究员, 主要从事生物技术研究, E-mail: 448398313@qq.com

* 通信作者: 王锋 (1963—), 男, 博士, 研究员, 主要从事水稻生物技术研究, E-mail: wf@fjage.org

基金项目: 福建省科技计划公益类专项 (2021R10270010); 福建省农业高质量发展超越“5511”协同创新工程项目 (XTCXGC2021002)

genetics) 两类, 它们对功能基因研究均有效, 然而各有优缺点。T-DNA 插入突变是正向遗传学的一种, 从 T-DNA 插入的元件作用看主要可分为转座子插入突变、激活标签插入突变和捕获标签插入突变。前两种 T-DNA 插入获得突变体的方式, 不管是激活突变还是转座子突变都存在着一一些问题, 它们对一些冗余基因和表型致死基因很难鉴定突变体的表型。因此人们发展另外一种不依靠表型鉴定的 T-DNA 插入捕获标签突变系统, 这系统在靠近 T-DNA 边界附近导入了一个报告基因, 通过检测报告基因时空表达来了解功能基因的表达谱, 进而研究候选基因的功能^[3-4]。【本研究切入点】前期研究中, 我们利用 T-DNA 插入捕获标签突变系统获得的籼稻明恢 86 突变体 *w9101* 初步分析表明, 外源 T-DNA 的插入使得 *w9101* 中的 P0421H01.23 (命名为 *OsPtr1*, Peptide 24-48Transporter 1) 基因功能缺失, 生物信息学分析, 该候选基因编码一个由 601 个氨基酸组成的疏水性肽跨膜转运蛋白, 是一个胚乳特异性表达肽转蛋白^[5]。然而有关该胚乳特异表达 *OsPtr1* 基因的生物学功能还有待深入研究。【拟解决的关键问题】本研究进一步对该胚乳特异表达 *OsPtr1* 基因深入开展生物学功能研究, 以期探明水稻氮代谢、肽转运机制, 并为水稻分子育种提供基因资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻品种日本晴作为农杆菌介导转化受体, 由福建省农业科学院农业遗传工程重点实验室提供; 大肠杆菌 DH5 α 和根癌农杆菌菌株 LBA4404, 均由福建省农业科学院农业遗传工程重点实验室保存。

pGEM-T Easy Vector 质粒购自 Promega 公司; pGt1CDMC203 质粒含有胚乳特异表达 *Gt1* 启动子; 表达载体的骨架均来自质粒 pCambia1300 (www.cambia.org), 由福建省农业科学院农业遗传工程重点实验室保存; pJIT163 包含绿色荧光蛋白 GFP, 由瑞典农业大学孙传信教授赠与。

1.2 *OsPtr1* 基因分离

用 TIANGEN 试剂盒提取水稻明恢 86 成花后 12 d 的胚乳 RNA, 用 Ferments 公司反转录试剂盒合成的 cDNA 为模板。

反应体系: 2 \times GC 缓冲液 25 μ L, 2.5 μ mol \cdot L⁻¹ dNTP 4 μ L, 5 μ mol \cdot L⁻¹ 上游引物 2 μ L, 5 μ mol \cdot L⁻¹ 下游引物 2 μ L, HSPRIME Star 酶 0.5 μ L, cDNA 1 μ L, 无

菌水补足至 50 μ L。

反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 变性 98 $^{\circ}$ C 10 s, 退火 58 $^{\circ}$ C、54 $^{\circ}$ C、58 $^{\circ}$ C 5 s, 延伸 72 $^{\circ}$ C 2 min, 1 个循环; 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 58 $^{\circ}$ C 退火 5 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 补加 0.4 μ L 的 Taq 酶, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 min。

1.3 表达载体构建及水稻转化植株获得

载体构建参考文献 [6], 水稻遗传转化参考文献 [7]。

1.4 Southern blot 分析

用 CTAB 法^[6]提取水稻叶片基因组 DNA, 经酶切、电泳、印迹、预杂交、杂交、洗膜, 最后用 CDP-star 显色剂检测杂交结果。具体按 Pharmacia Amersham 公司试剂盒提供方法进行。

1.5 *OsPtr1* 基因扩增

合成的引物两头加 Sal I 酶切位点; 反应体系: 2 \times GC 缓冲液 25 μ L, 2.5 μ mol \cdot L⁻¹ dNTP 4 μ L, 5 μ mol \cdot L⁻¹ 上游引物 2 μ L, 5 μ mol \cdot L⁻¹ 下游引物 2 μ L, HSPRIME star 酶 0.5 μ L, 模板 DNA 0.5 μ L (50 ng), 无菌水补足至 50 μ L。PCR 反应程序: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 98 $^{\circ}$ C 1 min, 58 $^{\circ}$ C 5 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min, 2 个循环; 94 $^{\circ}$ C 1 min, 58 $^{\circ}$ C 5 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min, 34 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。

1.6 基因枪法获得 *OsPtr1*-GFP 融合蛋白的瞬时表达

微粒子子弹的制备和基因枪轰击操作按 Bio-Rad 公司说明书进行, 轰击距离 7 cm, 轰击压力为 1100 psi, 轰击后的材料于 24 $^{\circ}$ C 培养 24~48 h。

荧光显微成像的光源为 HBO100W 汞灯, 荧光在激发波长 450~490 nm, 检测波长 505~500 nm 滤光片下观察, 红色荧光在激发波长 510~560 nm, 检测波长 575 nm, 590 nm 滤光片下观察, 紫外荧光在激发波长 380~420 nm, 检测波长 430 nm, 450 nm 滤光片下观察。图像采集用 Nikon Eclipse E400 显微成像系统。

1.7 水稻蛋白含量及氨基酸含量分析

分别取 T-DNA 插入突变体 *w9101* 的阳性株系和阴性株系及转过表达 *OsPtr1* 基因水稻种子用于蛋白质和氨基酸含量的测定。蛋白质含量按照 GB/T 5009.5—2016 食品中蛋白质的测定 (第一法) 进行。氨基酸含量的测定按照 GB/T 5009.124—2016 食品中氨基酸的测定进行。

1.8 数据统计分析

采用 Origin pro2017 对数据进行方差分析和绘图。

2 结果与分析

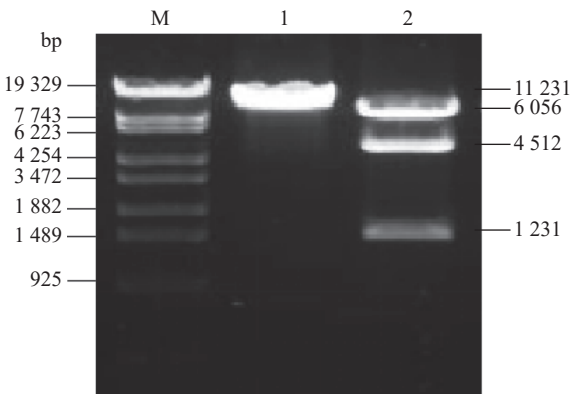
2.1 *OsPtr1* 基因分离

用高保真酶进行 *OsPtr1* 基因的扩增, 扩增产物

回收后连于 T-载体测序，测序结果与 *OsPtr1* 基因比对无碱基差异，可用于载体构建。

2.2 *OsPtr1*-GFP 融合蛋白的载体构建

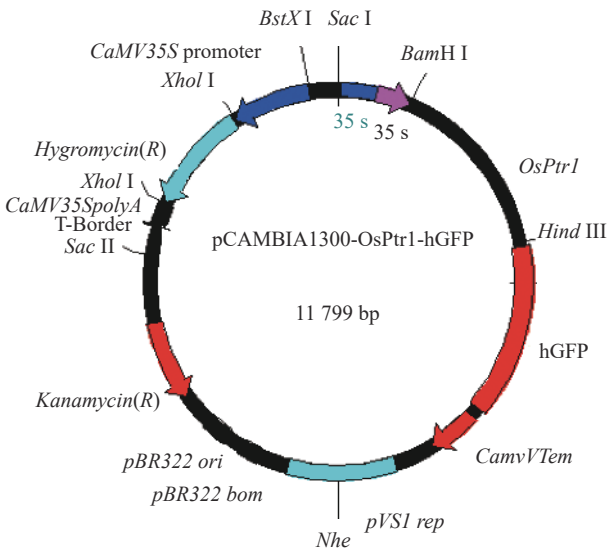
GFP 连接于载体 P_{JL163} 上，用 *Kpn* I 和 *Sph* I 酶切 pCambia1300 和 P_{JL163}，构建 pCambia1300-hGFP；再将用高保真酶扩增获得的 *OsPtr1* 基因连接到 pCambia1300-hGFP 的 *Sal* I 位点上，获得 pCambia1300-*OsPtr1*-hGFP 融合表达载体（图 1、图 2）。



1、2 分别代表用 *Sal* I、*kpn* I+*Bam* HI 酶切鉴定，M 为 λ -14 Marker（*Eco*T14 I 酶切）。
1: pCambia1300-*OsPtr1*-hGFP/*Sal* I; 2: pCambia1300-*OsPtr1*-hGFP/*kpn* I+*Bam* HI; M: λ -*Eco*T14 I marker.

图 1 pCambia1300-*OsPtr1*-hGFP 酶切鉴定

Fig.1 Electrophoresis of digested plasmid pCambia1300-*OsPtr1*-hGFP



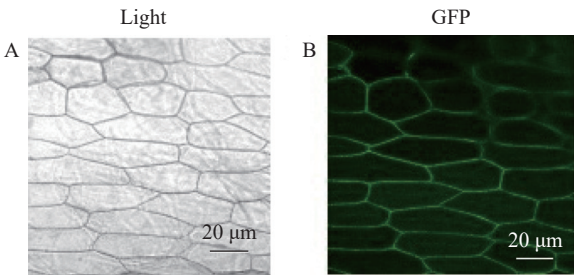
CaMV35S promoter 为花椰菜花叶病毒（Cauliflower mosaic virus）启动子；hygromycin 为潮霉素抗性标记基因；*OsPtr1* 为肽转运子 1；hGFP 为绿色荧光蛋白；T-border 为 T-DNA 边界。
CaMV35S promoter is a cauliflower mosaic virus promoter; hygromycin, hygromycin-resistant marker gene; *OsPtr1*, a peptide transporter; hGFP, a green fluorescent protein; and T-border, border of T-DNA.

图 2 pCambia1300-*OsPtr1*-hGFP 载体

Fig.2 Vector pCambia1300-*OsPtr1*-hGFP

2.3 *OsPtr1* 基因的亚细胞定位

利用基因枪轰击，将包含 *OsPtr1*-GFP 融合表达载体导入洋葱内表皮细胞，然后用激光共聚焦观察 *OsPtr1*-GFP 在洋葱表皮细胞中的位置，结果显示：*OsPtr1*-GFP 融合蛋白只在洋葱内表皮的细胞膜上表达（图 3）。



A 是 B 中洋葱表皮细胞的明场。

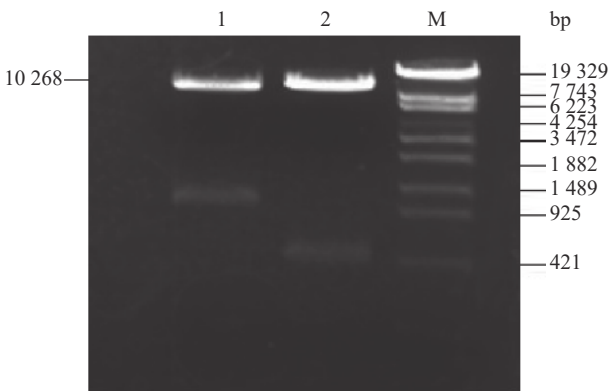
A is bright field of onion epidermal cells in B.

图 3 *OsPtr1* 基因的激光共聚焦亚细胞定位

Fig.3 Subcellular localization of *OsPtr1* by laser scanning confocal fluorescence

2.4 *OsPtr1* 基因过表达载体构建及水稻转化植株获得

用 *Bgl* II 和 *Xho* I 双酶切下中间载体中的 *Gt1*-*OsPtr1* 基因片段，连接于经 *Bam* HI 和 *Sal* I 双酶切的载体 PCambia1300 上，获得由胚乳特异表达启动子 *Gt1* 驱动的过表达载体 *Gt1*-*OsPtr1*（图 4）。采用电击法将过表达载体 *Gt1*-*OsPtr1* 转入农杆菌，验证后，用农杆菌介导法转化获得过表达载体 *Gt1*-*OsPtr1* 转基因水稻植株。



1、2 分别为用 *Hind* III、*Bam* HI 单酶切载体，M 为 λ -14 Marker（*Eco*T14 I 酶切）。

1: *Gt1*-*OsPtr1*/*Hind* III; 2: *Gt1*-*OsPtr1*/*Bam* HI, M: λ -*Eco*T14 I marker.

图 4 *Gt1*-*OsPtr1* 过表达载体酶切鉴定

Fig.4 Identification on over-expression vector of *Gt1*-*OsPtr1* by enzyme-cutting

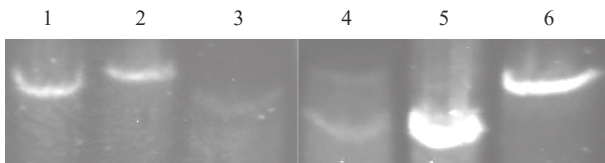
2.5 过表达 *OsPtr1* 基因水稻植株 Southern blot 分析

用 *Hind* III 酶切转过表达 *OsPtr1* 基因水稻植株总 DNA，以 *hpt* 基因为探针，Southern blotting 分析

结果显示：除 *Ptr1g21* 为双拷贝外，其余 5 个株系均为单拷贝（图 5）。

2.6 稻米含氮代谢物质分析

蛋白含量及氨基酸含量测定表明，T-DNA 插入使得 *w9101* 的蛋白质含量及氨基酸含量有不同程度降低（图 6 和图 7），其中，天门冬氨酸、谷氨酸、亮氨酸和精氨酸的差异达极显著，氨基酸总量和蛋白质含量的差异也达极显著，分别减少了 12.7% 和 6.7%。

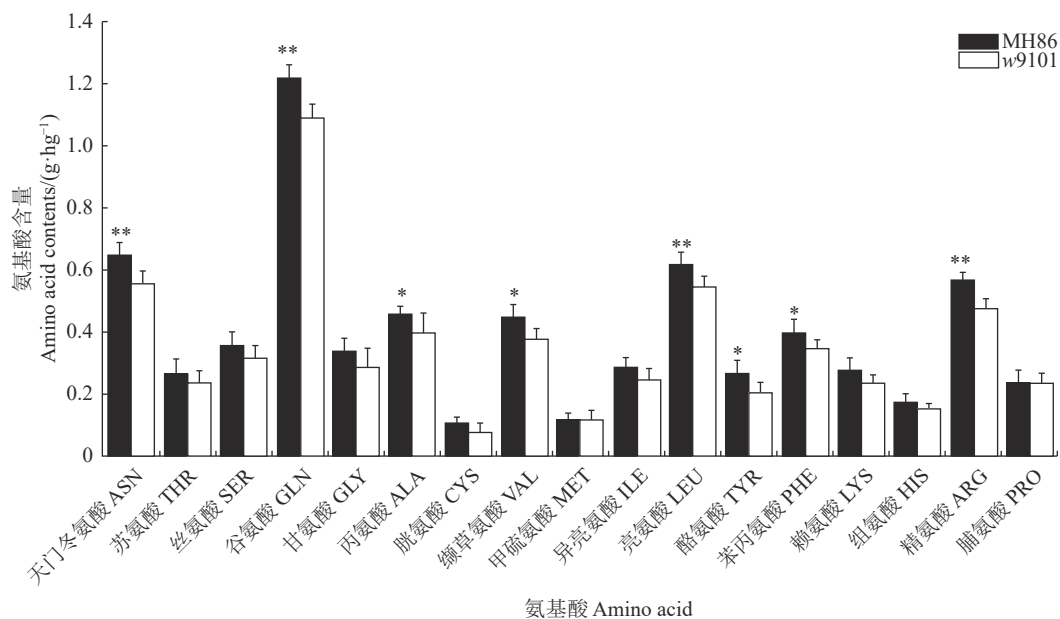


1~6 分别为 *Ptr1g10*、*Ptr1g15*、*Ptr1g19*、*Ptr1g21*、*Ptr1g29*、*Ptr1g5*。

1~6: *Ptr1g10*, *Ptr1g15*, *Ptr1g19*, *Ptr1g21*, *Ptr1g29*, and *ptr1g5*, respectively.

图 5 转过表达 *OsPtr1* 基因水稻植株 Southern blot 分析

Fig. 5 Southern blot analysis on transgenic rice lines of over-expressed *OsPtr1*



*和**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平上差异显著。图 7 同。

* and ** were significantly different at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively. Same for below.

图 6 突变体 *w9101* 的氨基酸含量

Fig. 6 Amino acid content of mutant *w9101*

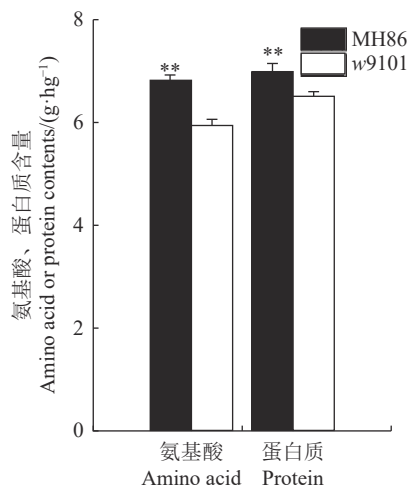


图 7 突变体 *w9101* 总氨基酸含量和总蛋白质含量分析

Fig. 7 Contents of total amino acids and protein in mutant *w9101*

蛋白质及氨基酸含量分析表明，转过表达 *OsPtr1* 基因水稻 *ptr9101g15*、*ptr9101g21*、*ptr9101g29* 稻米中氨基酸总量、蛋白质总量、天门冬氨酸、谷氨酸精氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸与日本晴 Nipponbare (WT) 的相比达到显著水平；另外，3 个转过表达 *OsPtr1* 基因水稻 *ptr9101g15*、*ptr9101g21*、*ptr9101g29* 之间因其基因表达水平差异，稻米中蛋白质及氨基酸含量也有很大的差异（表 1）。

3 讨论

肽作为植物氮源，如蔗糖一样可防止在转运过程被降解。生物中，肽被转移后，可以很快被肽酶水解成氨基酸，作为蛋白质合成的原料或者作为氮物质合成的原料。因此，肽运输在植物信号传递和

表 1 *OsPtr1* 基因水稻植株氨基酸含量和蛋白质含量
Table 1 Contents of amino acids and protein in transgenic rice plantlets of over-expressed *OsPtr1* (单位: g·hg⁻¹)

指标 Indices	水稻材料 Rice materials			
	ptr9101g15	ptr9101g21	ptr9101g29	日本晴 Nipponbare(WT)
天门冬氨酸 Asp	0.92±0.02 ab	0.96±0.01 a	0.87±0.01 b	0.78±0.02 c
丝氨酸 Ser	0.52±0.02 a	0.54±0.02 a	0.49±0.01 ab	0.44±0.02 b
谷氨酸 Glu	1.68±0.03 b	1.76±0.02 a	1.62±0.03 c	1.45±0.02 d
甘氨酸 Gly	0.46±0.03 a	0.47±0.02 a	0.44±0.03 ab	0.40±0.03 b
丙氨酸 Ala	0.57±0.02 a	0.58±0.02 a	0.57±0.02 a	0.51±0.02 b
胱氨酸 Cys	0.12±0.03 a	0.13±0.02 a	0.12±0.01 a	0.10±0.02 a
甲硫氨酸 Met	0.22±0.01 a	0.17±0.01 b	0.13±0.02 c	0.12±0.02 c
酪氨酸 Tyr	0.46±0.03 a	0.33±0.02 b	0.28±0.02 c	0.27±0.02 c
脯氨酸 Pro	0.36±0.02 a	0.37±0.02 a	0.34±0.03 ab	0.30±0.02 b
组氨酸 His	0.25±0.04 a	0.26±0.03 a	0.24±0.03 ab	0.21±0.04 b
精氨酸 Arg	0.98±0.02 a	0.89±0.04 b	0.77±0.03 c	0.71±0.04 d
苏氨酸 Thr	0.36±0.02 a	0.37±0.03 a	0.34±0.03 ab	0.30±0.04 b
缬氨酸 Val	0.56±0.02 ab	0.59±0.02 a	0.55±0.02 ab	0.51±0.01 b
异亮氨酸 Ile	0.39±0.01 a	0.39±0.01 a	0.37±0.02 a	0.33±0.01 b
亮氨酸 LEeu	0.84±0.01 a	0.86±0.02 a	0.80±0.02 a	0.72±0.02 b
苯丙氨酸 Phe	0.54±0.01 a	0.57±0.02 a	0.54±0.02 a	0.47±0.01 b
赖氨酸 Lys	0.39±0.01 a	0.40±0.01 a	0.36±0.012 ab	0.31±0.01 b
氨基酸总量 Amino acid contents	9.61±0.05 a	9.55±0.05 a	8.83±0.05 b	7.95±0.04 c
蛋白质含量 Protein contents	10.10±0.40 a	9.69±0.06 bc	9.42±0.04 c	8.02±0.07 d

不同小写字母表示不同水稻材料之间差异显著 ($P<0.05$)。
Data with different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

生长发育过程中起着非常重要的作用^[8]。

根据能量需求与否,肽转运可以分为 ATP 结合盒转运蛋白 (ATP-Binding cassette transporter, ABC)、肽转运蛋白 (Peptide trasporter, PTR) 和寡肽转运蛋白 (Oligopeptide transporter, OPT) 3 类。它们一般含有 12 个跨膜结构域,并含有 FING、WQIPQY 等保守区^[9]。Komarova 等^[10]利用拟南芥突变体分离到一个 PTR/NRT1 (Peptide transporter/Nitrate transporter 1) 家族新成员 *AtPTR5*,其亚细胞定位于质膜。Dietrich 等^[11]分析拟南芥中的 *AtPTR1* 基因发现, *AtPTR1*/GFP 融合表达在质膜上表达,用它的启动子连接 GUS 基因只在拟南芥维管束中表达,表明 *AtPTR1* 基因在植物肽的长距离运输中起到一定的作用。PTR 的作用机制经常与质子 (H⁺) 运输相偶联,因此, PTR 家族也被称为质子寡肽转运蛋白 (Proton oligopeptide transporter, POT),通过质子相偶联能进行跨膜运输的一系列底物包括氨基酸、肽、硝酸盐等^[12]。生

物体中最早发现的肽转运子 CHR1 (AtNTR1) 是硝酸盐的转运子,尽管硝酸盐结构与肽的结构有很大的不同,但这些转运蛋白之间有着非常高的同源性^[13]。目前已经发现 20 多种 PTR 肽转运家族成员,但是人们发现肽主要运输 2~6 个氨基酸的短肽,它与氨基酸的运输方式不一样^[14]。本研究表明, *OsPtr1* 基因亚细胞定位于细胞膜上,水稻 T-DNA 插入突变体 *w9101* 候选基因缺失能引起氨基酸和蛋白质等含氮物质积累效率降低,转过表达 *OsPtr1* 基因水稻稻米中蛋白质及氨基酸含量有提高趋势,说明 *OsPtr1* 基因与一些氮类物质的运输有关,它们可能既作为营养物质供给植物生长发育,又在信号传递过程中扮演重要角色。

参考文献:

[1] RAM H, SONI P, SALVI P, et al. Insertional mutagenesis approaches and their use in rice for functional genomics [J]. *Plants*, 2019,

- 8 (9) : 310.
- [2] ODA Y, KOBAYASHI N I, TANOI K, et al. T-DNA tagging-based gain-of-function of OshKT1;4 reinforces Na exclusion from leaves and stems but triggers Na toxicity in roots of rice under salt stress [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19 (1) : 235.
- [3] WU H P, WEI F J, WU C C, et al. Large-scale phenomics analysis of a T-DNA tagged mutant population [J]. *Giga Science*, 2017, 6 (8) : 1–7.
- [4] CHEN S Y, WANG A M, LI W, et al. Establishing a gene trap system mediated by T-DNA(GUS) in rice [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2008, 50 (6) : 742–751.
- [5] 张晖, 胡昌泉, 刘华清, 等. 一个水稻胚乳特异表达基因的筛选及初步分析 [J]. *福建农业学报*, 2009, 24 (1) : 6–10.
- ZHANG H, HU C Q, LIU H Q, et al. Screening and preliminary analysis of an endosperm-specific expression gene in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2009, 24 (1) : 6–10. (in Chinese)
- [6] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2002.
- [7] 胡昌泉, 徐军望, 苏军, 等. 农杆菌介导法获得转可溶性淀粉合成酶基因籼稻 [J]. *福建农业学报*, 2003, 18 (2) : 65–68.
- HU C Q, XU J W, SU J, et al. Induction of soluble starch synthase gene into *Indica Staiva* L. by *Agrobacterium*-mediated transformation [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2003, 18 (2) : 65–68. (in Chinese)
- [8] YANG X H, XIA X Z, ZENG Y, et al. Genome-wide identification of the peptide transporter family in rice and analysis of the PTR expression modulation in two near-isogenic lines with different nitrogen use efficiency [J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20 (1) : 193.
- [9] ZHAO J Z, YU N N, JU M, et al. ABC transporter OsABCG18 controls the shootward transport of cytokinins and grain yield in rice [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70 (21) : 6277–6291.
- [10] KOMAROVA N Y, THOR K, GUBLER A, et al. AtPTR1 and AtPTR5 transport dipeptides in planta [J]. *Plant Physiology*, 2008, 148 (2) : 856–869.
- [11] DIETRICH D, HAMMES U, THOR K, et al. AtPTR1, a plasma membrane peptide transporter expressed during seed germination and in vascular tissue of *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal:for Cell and Molecular Biology*, 2004, 40 (4) : 488–499.
- [12] MARTINEZ MOLLEDO M, QUISTGAARD E M, LÖW C. Tripeptide binding in a proton-dependent oligopeptide transporter [J]. *FEBS Letters*, 2018, 592 (19) : 3239–3247.
- [13] TSAY Y F, SCHROEDER J I, FELDMANN K A, et al. The herbicide sensitivity gene *CHL1* of *Arabidopsis* encodes a nitrate-inducible nitrate transporter [J]. *Cell*, 1993, 72 (5) : 705–713.
- [14] FANG Z M, XIA K F, YANG X, et al. Altered expression of the PTR/NRT1 homologue OsPTR9 affects nitrogen utilization efficiency, growth and grain yield in rice [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2013, 11 (4) : 446–458.

(责任编辑: 翁志辉)