

钾离子通道在黄曲霉菌孢子萌发中的作用

邵铮铮¹, 周 威¹, 赵岩岩¹, 胡梁斌^{1,2}, 莫海珍^{1,2}, 李红波^{*1,2}

(1. 河南科技学院 食品学院, 河南 新乡 453003; 2. 陕西科技大学 食品与生物工程学院, 陕西 西安 710021)

摘要: 黄曲霉毒素严重污染农产品, 威胁人畜生命健康, 而孢子萌发是黄曲霉菌生存及侵染过程中的决定性事件, 从最上游阻断孢子萌发可能是有效控制黄曲霉污染、开发新型抗菌药物的突破口之一。研究发现一定浓度的胞外 KCl 能够影响黄曲霉孢子的萌发。通过使用 K⁺ 特异性荧光探针 PBFI-AM, 发现适合孢子萌发的特定浓度 K⁺ 能够激发黄曲霉孢子瞬间产生较高的钾离子流, 说明 K⁺ 响应可能是黄曲霉孢子萌发的早期信号。4-AP 作为特异性电压门控钾离子通道阻滞剂, 能够明显抑制并延迟孢子的萌发。通过生物信息学预测, 发现黄曲霉菌 KCNA 具有钾离子通道选择器序列, 具备电压门控钾离子通道的 α 亚基属性。进一步构建 KCNA 非洲爪蟾卵母细胞表达体系, 用双电极电压钳系统测得 KCNA 外向型电流, 一定程度上证明了 KCNA 电压门控钾离子通道蛋白质属性, 也说明电压门控钾离子通道参与了黄曲霉孢子萌发。

关键词: 黄曲霉菌; 钾离子通道蛋白; 孢子萌发; 双电极电压钳

中图分类号: TS201 文章编号: 1673-1689(2020)02-0032-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.02.005

Effect of Potassium Ion Channels into the Spore Germination in *Aspergillus flavus*

SHAO Zhengzheng¹, ZHOU Wei¹, ZHAO Yanyan¹, HU Liangbin^{1,2},
MO Haizhen^{1,2}, LI Hongbo^{*1,2}

(1. Department of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxian 453003, China; 2. School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Aflatoxin seriously polluted agricultural products and threatened the life and health of human and animal. Conidial germination is one of the most decisive factors in survival and invasion of *A. flavus*, and blocking germination could be one of the effective breakthrough points to keep contamination in the upstream controls. In this study, it was found that extracellular KCl could regulate the conidial germination in *A. flavus*. By using K⁺ specific fluorescent probe PBFI-AM, the results showed that a certain concentration of K⁺, which was suitable for spore germination, can stimulate *A. flavus* spores to produce higher potassium currents instantly, indicating that K⁺ response may be an early signal of spore germination. As a specific voltage potassium channels blocker, 4-AP can obviously inhibit the spore germination. And KCNA is identified with K⁺-channel filter sequence

收稿日期: 2018-01-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(31671952); 广西省自然科学基金项目(2019JJA130116)。

* 通信作者: 李红波(1987—), 男, 博士, 讲师, 硕士研究生导师, 主要从事食源性微生物控制方面的研究。E-mail: hongbo715@163.com

by using bioinformatics prediction, and further analysis supports the potential of KCNA as voltage-gated potassium channel α subunit. In addition, the ion channel currents of KCNA expressed in *Xenopus laevis* oocyte were observed using two-electrode voltage clamp. Our studies indicated KCNA involving the regulation of conidial germination in *A. flavus*, which was one of voltage-gated potassium channels.

Keywords: *Aspergillus flavus*, potassium channel proteins, conidial germination, two-electrode voltage clamp

黄曲霉菌(*Aspergillus flavus*, AF)作为一类重要的腐生病原真菌,其产生的次生代谢产物黄曲霉毒素 B1 (AFB1)是目前已知的最强化学致癌物之一,严重威胁着人类和动物的生命健康^[1-2]。黄曲霉菌广泛存在于粮食及食品中,据 AFO 统计全球每年超过 30% 的粮食作物受到真菌毒素污染,造成数千亿美元经济损失。我国是世界上受黄曲霉污染最严重的国家之一^[3]。相关的流行病学研究显示,AFB1 与肝癌发生密切相关,对人类健康造成重大危害^[4]。此外,黄曲霉能够导致许多门类的动物感染曲霉病,降低或损伤机体的免疫系统,尤其对于免疫缺陷病人感染侵袭性曲霉病往往是致命的^[5-6]。人们一直在寻求对其进行有效防治的策略和技术,包括良好的田间管理、生化防治以及物理化学脱毒方法等^[7-9]。但是由于黄曲霉菌污染的发生风险覆盖了从田间原料生产到后期产品消费的整个过程,其控制依旧是亟需解决的世界性难题。从危害发生过程来看,黄曲霉危害循环经历了从孢子萌发、侵染定植、生长产毒、产孢扩散等过程。从危害循环上游制定控制黄曲霉菌策略可以更有效的缓解黄曲霉污染的发生。

黄曲霉菌以无性孢子作为主要传播体。而孢子作为休眠体需要被唤醒萌发后,才能生长发育并进行毒素代谢等次生代谢或者渗透并侵害人体组织导致肺曲霉病发生^[10]。因此黄曲霉孢子萌发可以作为黄曲霉危害发生过程中最上游的生理过程。孢子萌发第一步就是感知外界环境,进而将信号传递到胞内启动萌发过程^[11]。因此,寻找孢子感知环境萌发所依赖的关键因子作为靶标,从最上游阻断黄曲霉孢子萌发,是有效控制黄曲霉污染、开发新型抗菌药物的突破口之一。

作者研究了 K^+ 对黄曲霉菌孢子萌发的影响,通过使用 K^+ 特异性荧光探针 PBFI-AM 研究胞内 K^+ 状况。鉴于 K^+ 与黄曲霉孢子萌发相关,进一步研究

了特异性电压门控钾离子通道阻滞剂 4-氨基吡啶 (4-Aminopyridine, 4-AP) 对孢子萌发的影响。通过生物信息学预测分析了可能的电压门控钾离子通道蛋白 KCNA, 并构建 KCNA 非洲爪蟾卵母细胞表达体系,使用双电极电压钳系统观察了 KCNA 的电生理学特性。通过确认 KCNA 电压门控钾离子通道特性,以期为进一步研究黄曲霉孢子萌发调控机制提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 黄曲霉孢子悬浮液的制备

菌株为黄曲霉菌 CGMCC3.2890, 购于中国普通微生物菌种保藏管理中心。PDA 培养基 4℃ 保存。取菌株接种于固体沙氏培养基平板上, 放置 30℃ 恒温培养箱中静置培养 2~3 d, 加入适量体积的 0.1% TritonX-100 于菌板中轻轻晃动使黄曲霉孢子均匀分散于溶液中, 再将孢子液吸取至离心管中, 用血球计数板于显微镜下计数, 用液体沙氏培养基稀释至所需孢子液浓度, 孢子液现用现配。

1.2 KCl 胁迫及 4-AP 处理对黄曲霉孢子萌发的影响

在蒸馏水中加入不同浓度的 KCl, 通过 96 孔板培养实验发现, 于 30℃ 振荡培养, 每隔 2 小时用显微镜观察拍照, 统计孢子萌发率。使用 4-AP 阻断钾离子通道活性, 观察其对孢子萌发的影响。使用 96 孔板, 在培养基中加入 10 mmol/L 4-AP 处理野生型菌株孢子, 于 30℃ 振荡培养, 每隔 2 小时用显微镜观察拍照, 统计孢子萌发率。

进一步采用 K^+ 荧光探针检测 KCl 处理对黄曲霉菌萌发早期胞内 K^+ 含量的影响。取黄曲霉孢子悬液 (1×10^5 个/mL), 添加 1 μ L PBFI-AM K^+ 荧光探针 (体积比 1 000:1), 30℃、120 r/min 避光摇培养 60 min, 孵育后孢子液于 4℃ 放置 30 min。之后使用

黑色酶标板,每孔添加 200 μL 孢子液开始检测,50 s 后添加 KCl 母液,终浓度分别为 0、0.01、0.1、1 mmol/L。该过程中,一直使用多功能酶标仪检测该孔内荧光强度,每 5 秒一次,共检测 380 次。激发波长和发射波长为 340 nm 和 500 nm。以相对荧光强度(RFU)为纵坐标,时间为横坐标作图。

1.3 钾离子通道蛋白生物信息学分析

借鉴人体电压门控钾离子通道 α 亚基 (GenBank: AAP46292.1) 序列,在黄曲霉菌基因组数据库进行 BLAST 检索,得到其同源蛋白质 (XP_002376854.1),将其命名为 KCNA。筛选已报道的不同物种电压门控钾离子通道 α 亚基蛋白,通过 NCBI 数据库查找了各自序列信息,使用 DNAMAN 软件进行序列比对分析。使用 TMHMM 软件 TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 对蛋白质进行跨膜预测。利用 <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/> 网站对 KCNA 蛋白质三维结构进行模拟。利用在线生物信息学网站 <http://services.mbi.ucla.edu/SAVES/> 对其三维结构模型进行综合评价。在 zinc 数据库 (<http://zinc.docking.org/>) 中下载 4-AP (zinc_599985) 分子的 sdf 文件,利用 Autodock 软件进行 KCNA 蛋白与 4-AP 对接研究^[12]。

1.4 KCNA 异源表达及电生理学测定分析

非洲爪蟾卵母细胞处理:取非洲爪蟾冰冻麻醉后,下腹部切口取 1cm^2 左右的卵巢小叶,浸于无 Ca^{2+} 的 OR2 液 (82.5 mmol/L NaCl, 2.5 mmol/L KCl, 1 mmol/L MgCl_2 , 1 mmol/L Na_2HPO_4 , 5 mmol/L HEPES, 50 U/mL 青霉素, 50 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素, pH 7.5) 的培养皿中。室温下在含 2 g/L 的胶原酶溶液中振荡消化 1.5~2 h 后,用 OR2 液反复冲洗,去除残留于卵母细胞表面的胶原酶。挑选出外型较圆、色泽清晰、有一定张力、细胞表面光滑、无残留纤维组织及毛细血管的 V、VI 期卵母细胞,置于含 ND96 液培养皿中。使用微量注射仪将 KCNA 的 cRNA 注射到卵母细胞中,每个细胞按 2~5 ng/5 nL 注射。

制备 cRNA:本研究使用 pGEMHE 质粒,引物序列见表 1。采用快速克隆技术,连接载体 pGEMHE 和 KCNA 基因片段。使用 Dpn I 限制性内切酶线性化处理后,将载体 pGEMHE 和 KCNA 混合物转化到感受态细胞 DH5 α 内,最后挑取单克隆进行单酶切及测序鉴定^[13]。使用反转录试剂盒将线性化扩增产物体外转录得到 cRNA。

双电极电压钳测定:注射后的卵母细胞在含 2.5 mmol/L 丙酮酸钠的 ND96 中 20 $^{\circ}\text{C}$ 培养 2~3 d 后进行电生理学测定。电极内灌注 1 g/dL 琼脂糖、3 mol/L 的 KCl,电极电阻 $<1\text{ M}\Omega$ 。细胞外液成分为 ND96,外源胁迫因子 4-AP 使用基础细胞灌流液 ND96 调配。实验在 25 $^{\circ}\text{C}$ 进行,数据采集和分析采用 pClamp9.0、Clampfit9.0 和 Origin9.1 完成。

表 1 引物列表

Table 1 Primers list

引物名称	引物序列
pGEMHEStartRev	CATGGCCAAAGTTGAGCGTTTATTCTG
pGEMHEStopFwd	TAAACCAGCCTCAAGAACACC
KCNAStar	GCTCAACTTTGGCCATGAATGAAAGATC TGG
KCNAStop	TTCTTGAGGCTGGTTTAAATATCCTTCT CCT
pGEMHE_FwdSq	TGTAAAACGACGGCCAGTG
pGEMHE_RevSq	TTAGGAGCAGATACGAATGG

2 结果与分析

2.1 KCl 胁迫及 4-AP 处理对黄曲霉孢子萌发的影响

在蒸馏水中加入不同浓度的 KCl,通过 96 孔板培养实验发现,低浓度 KCl (0.1 mmol/L) 胁迫下,随着外界 KCl 浓度的增加 (0~0.1 mmol/L),黄曲霉孢子萌发率呈现上升趋势,在 0.1 mmol/L 达到最高值,见图 1。而随着 KCl 浓度的继续增加,黄曲霉孢子萌发率则呈现下降趋势,高浓度的 KCl 胁迫 (1~50 mmol/L) 显著抑制孢子萌发。

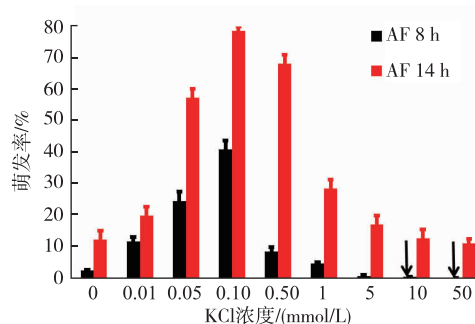


图 1 不同浓度 KCl 对黄曲霉孢子萌发的影响

Fig. 1 Effect of KCl on spore germination of *A. flavus*

进一步采用 K⁺ 荧光探针检测 KCl 处理对黄曲霉菌萌发早期胞内游离 K⁺ 浓度的影响。结果见图 2。0.1 mmol/L KCl 处理后,胞内游离钾离子浓度迅速升高,与图 1 孢子萌发数据相吻合,可见适合孢子萌发的特定浓度 K⁺ 能够激发黄曲霉孢子产生瞬间的高钾离子流, K⁺ 响应为黄曲霉孢子萌发的早期信号。

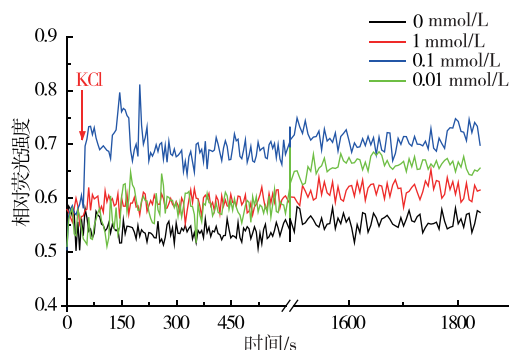


图 2 不同浓度 KCl 诱导黄曲霉孢子内钾离子的改变
Fig. 2 Changes of K⁺ was induced by different KCl concentrations in spores of *A. flavus*

4-AP 是一种特异性电压门控钾离子通道阻断剂,我们初步使用 4-AP 阻断钾离子通道活性,观察其对孢子萌发的影响。使用 96 孔板,在培养基中加入 10 mmol/L 4-AP 处理野生型菌株孢子,于 30 ℃ 振荡培养,每隔 2 小时用显微镜观察拍照,统计孢子萌发率。结果发现 10 mmol/L 4-AP 处理能够明显抑制并延迟孢子的萌发,见图 3。

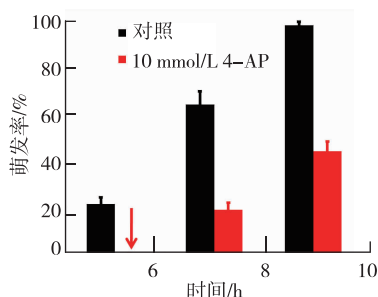


图 3 4-AP 处理对黄曲霉孢子萌发的影响
Fig. 3 Effect of 4-AP treatment on the spore germination of *A. flavus*

2.2 钾离子通道蛋白 KCNA 预测及建模

筛选已报道的不同物种电压门控钾离子通道 α 亚基蛋白,通过 NCBI 数据库查找了各自序列信息,使用 DNAMAN 软件进行序列比对分析。结果发现,黄曲霉菌 KCNA 的 423-FAFCSLLTIGYGDITPTT-440 区

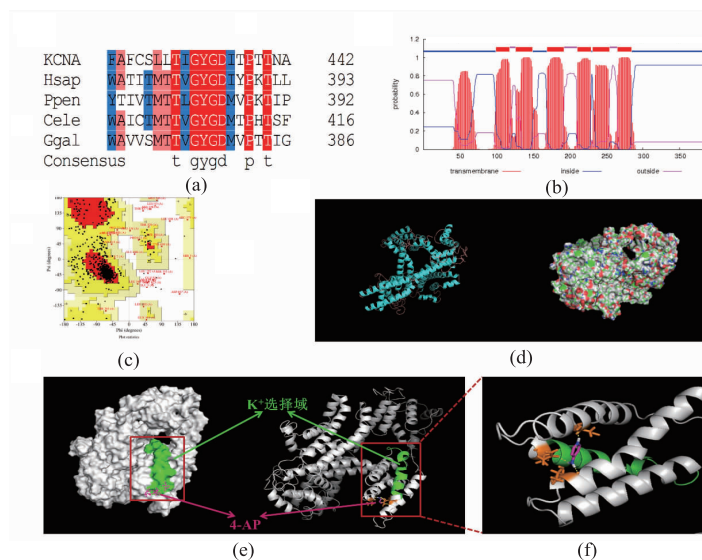
序列与智人、秀丽隐杆线虫、原鸡等电压门控钾离子通道 α 亚基蛋白孔区片段同源性较高,都拥有保守的 TxGYGD 钾离子选择器特征片段,见图 4(a)。红色框表示在序列中一样的氨基酸残基。主要物种信息如下: Hsap = [智人, *Homo sapiens*, (AAP46292.1)]; Ppen = [Polyorchis penicillatus, (AAB39750.1)]; Cele = [秀丽隐杆线虫, *Caenorhabditis elegans*, (AAB95119.1)]; Ggal = [原鸡, *Gallus gallus*, (AAP94023.1)]。

使用 TMHMM 软件对 KCNA 蛋白进行跨膜预测,发现其有明显的 6 个跨膜区域,见图 4(b)。同时胞内还有较短的 N 端和较长的 C 端,符合典型的钾离子通道蛋白特性。利用 <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/> 网站对 KCNA 蛋白三维结构进行模拟, KCNA 三维结构模拟图见图 4(d)。利用在线生物信息学网站 <http://services.mbi.ucla.edu/SAVES/> 对其三维结构模型进行综合评价。三维结构模型综合评价 Ramachandran plot 分析发现, KCNA 三维结构 97.8% Φ - Ψ 二面角分布在允许区域,见图 4(c)。不允许范围的比例非常小,说明三维结构中氨基酸的二面角是合理的。证明模拟的 KCNA 三维结构合理,可以用于下一步分子对接。

在 zinc 数据库 (<http://zinc.docking.org/>) 中下载 4-AP (zinc_599985) 分子的 sdf 文件,利用 Autodock 软件进行 KCNA 蛋白与 4-AP 对接研究,对接结果见图 4(e)。4-AP 可作用于 KCNA 钾离子选择器区域附近,与 403 位半胱氨酸、419 位谷氨酰胺、468 位苏氨酸以氢键方式结合,这与 4-AP 可以抑制孢子萌发的数据相吻合,进一步支持了 KCNA 作为电压门控钾离子通道的可能性。

2.3 KCNA 电生理学测定

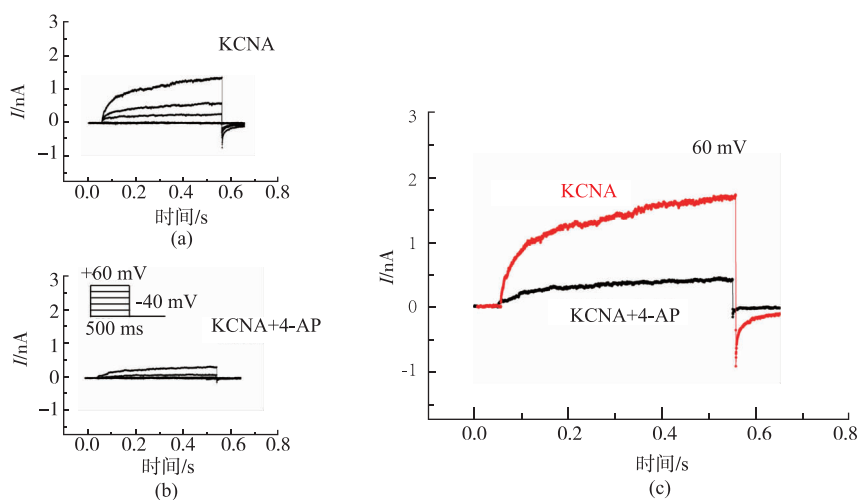
将 KCNA 克隆到质粒载体 pGEMHE 中,成功构建蛙卵细胞表达体系。将细胞置于 ND96 溶液中,细胞膜电位钳制在 -40 mV,去极化至 +60 mV,阶幅为 20 mV,刺激时间为 500 ms。实验发现,有一个持续的外向电流出现,并随去极化程度增加而增大,见图 5。当从钳制电位 -40 mV 去极化至 +60 mV 时,可记录到最大幅度的外向电流。钾离子通道抑制剂 4-AP 对该外向电流有明显的抑制作用,使用 10 mmol/L 4-AP 处理可以显著的阻断 KCNA 电流,结果进一步证实了 KCNA 电压门控钾离子通道蛋白属性。前述 4-AP 能够抑制黄曲霉孢子萌发,可见钾离子通道蛋白与孢子萌发密切相关。



a: KCNA 与几种钾离子通道 α 亚基蛋白孔区序列对比图; b: KCNA 蛋白跨膜区分析; c: KCNA 蛋白三维结构 Ramachandran plot 图; d: KCNA 蛋白三维结构模拟图; e: KCNA 蛋白钾离子选择器区域及其与 4-AP 对接三维结构图.

图 4 钾离子通道 KCNA 生物信息学分析

Fig. 4 Bioinformatics analysis of potassium channel KCNA



(a): KCNA 电位整流图; (b): 为 KCNA 经 4-AP 处理后电位整流图; (c): KCNA 在 60 mV 处理电位图.

图 5 钾离子通道阻滞剂 4-AP 阻断 KCNA 外向电流

Fig. 5 4-AP (potassium ion channel blocker) blocking the KCNA outward current

3 结语

本研究发现,一定浓度的胞外 KCl 能够影响黄曲霉孢子的萌发。通过使用 K⁺特异性荧光探针 PBFI-AM,发现适合孢子萌发的特定浓度 K⁺能够激发黄曲霉孢子瞬间产生较高的钾离子流,说明 K⁺响应可能是黄曲霉孢子萌发的早期信号。4-AP 作为特异性电压门控钾离子通道阻滞剂,能够明显抑制

并延迟孢子的萌发。这些结果表明,电压门控钾离子通道可能参与黄曲霉孢子萌发。借鉴人体电压门控钾离子通道 α 亚基序列,在黄曲霉菌基因组数据库进行 BLAST 检索,得到其同源蛋白 KCNA。通过对 KCNA 进行序列分析,发现其 423-FAFCSLLTIG YGDITPTT-440 区序列与智人、秀丽隐杆线虫、原鸡等电压门控钾离子通道 α 亚基蛋白钾离子选择器区域序列同源性较高,拥有明显的钾离子选择器特

征。利用 Autodock 软件进行 KCNA 与离子通道阻断剂 4-AP 的对接研究,对接结果支持了 KCNA 作为电压门控钾离子通道 α 亚基的可能性。研究证实 4-AP 可以抑制孢子萌发,这说明钾离子通道在黄曲霉孢子萌发中起到重要作用。通过构建 KCNA 非洲爪蟾卵母细胞表达体系,用双电极电压钳系统测得 KCNA 外向型电流,一定程度上证明了其电压门控钾离子通道蛋白属性。

细胞内 K^+ 稳态是多数生物代谢机制和综合性能优化运行的先决条件,胞内 K^+ 动态平衡由细胞质和细胞膜上的许多 K^+ 通道和转运蛋白所调控^[14]。在孢子萌发早期阶段,膜通透性增加,导致孢子内离子和水重新分配,孢子内 80%的 K^+ 快速释放到孢子外,随后 K^+ 依赖能量被再次吸收^[15]。而离子的移动往往涉及到离子通道的响应,这也是细胞识别外界

信号的一个重要途径。阻断离子通道能够抑制外源信号的细胞内传导,研究发现使用钾离子通道抑制剂四乙胺能够完全抑制花粉或无性孢子的萌发^[16]。电压门控钾离子通道是目前存在最广泛且最复杂的一大类钾离子通道,是药物设计的重要靶标之一。Gobert 等通过敲除和过表达拟南芥中钾离子通道 TPK1,发现 TPK1 对保持胞内 K^+ 动态平衡起着重要作用,能够影响种子的萌发、生长和气孔运动^[17]。敲除拟南芥花粉管 K^+ 通道 AKT6 后,花粉管萌发率与野生型相比大幅度降低,并且 AKT6 对外界 pH 变化非常敏感^[18]。然而关于真菌电压门控钾离子通道的相关文献较少,黄曲霉孢子萌发过程中是否涉及到电压门控钾离子通道更是尚无研究报道。本研究为从根源上防控黄曲霉菌污染,寻找抗性靶标提供了一个新思路。

参考文献:

- [1] NIDHINA N, BHAVYA ML, BHASKAR N, *et al.* Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in rumen liquor and its implications [J]. **Food Control**, 2016, 71: 26-31.
- [2] HONGBO L, QINGSHAN S, WEI Z, *et al.* Nanocapsular dispersion of cinnamaldehyde for enhanced inhibitory activity against aflatoxin production by *Aspergillus flavus* [J]. **Molecules**, 2015, 20: 6022-6032.
- [3] WU Linxia, DU Xiaohui, DING Xiaoxia, *et al.* Research progress on early warning of aflatoxin contamination in peanut [J]. **Chinese Journal of Oil Crops**, 2016, 38(1): 120-126. (in Chinese)
- [4] DONG Cuilian, HUANG Heping, HU Liping, *et al.* Clinical observation of aflatoxin poisoning dogs and liver histopathology [J]. **Chinese Journal of Veterinary Medicine**, 2013, 49(7): 73-74. (in Chinese)
- [5] DAGENAIS TR, KELLER NP. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive aspergillosis [J]. **Clin Microbiol Rev**, 2009, 22(3): 447-465.
- [6] SUBHALAKSHMI N, SIVAMMA B V. A study of pulmonary aspergillosis [J]. **IOSR-JDMS**, 2015, 14(3): 27-29.
- [7] GUANG Cui'e, GAN Jianping, YANG Hongfei, *et al.* Antagonistic effect of soybean saponin I and II and aglycone B on the mutation of aflatoxin B1 and benzopyrene [J]. **Journal of Food and Biotechnology**, 2017, 36(8): 814-818. (in Chinese)
- [8] ZHANG Xiaoxue, SUN Xiulan, ZHANG Yinzi. A new fermentation of *Aspergillus niger* and removal of aflatoxin B1 [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2017, 36(3): 266-270. (in Chinese)
- [9] LUO Xiaohu, QI Lijun, FANG Wenmiao, *et al.* Degradation of aflatoxin B1 in corn by electron beam irradiation and its effect on corn quality [J]. **Food and Machinery**, 2016, 32(10): 111-114. (in Chinese)
- [10] TAUBITZ A, BAUER B, HEESEMANN J, *et al.* Role of respiration in the germination process of the pathogenic mold *Aspergillus fumigatus* [J]. **Current Microbiology**, 2007, 54(5): 354-360.
- [11] SETLOW P. Germination of spores of *Bacillus species*: what we know and do not know [J]. **Journal of Bacteriology**, 2014, 196(7): 1297-1305.
- [12] MORRIS G M, HUEY R, LINDSTROM W, *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility [J]. **Journal of Computational Chemistry**, 2009, 30(16): 2785-2791.
- [13] GUAN B, CHEN X, ZHANG H. Two-electrode voltage clamp [J]. **Methods in Molecular Biology**, 2013, 998: 79-89.
- [14] SHABALA S, POTTOSIN I. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance [J]. **Physiologia Plantarum**, 2014, 151(3): 257-279.

- [15] WERDLOW B M. Levels of H^+ and other monovalent cations in dormant and germinating spores of *Bacillus megaterium*[J]. **Journal of Bacteriology**, 1981, 148(1):20-29.
- [16] ROSHCHINA V V, VIKHLYANTSEV I M. Mechanisms of chemosignalling in allelopathy:role of ion channels and cytoskeleton in development of plant microspores[J]. **Allelopathy Journal**, 2009, 23(1):25-36.
- [17] GOBERT A, ISAYENKOV S, VOELKER C, et al. The two-pore channel TPK1 gene encodes the vacuolar K^+ conductance and plays a role in K^+ homeostasis[J]. **PNAS**, 2007, 104(25):10726-10731.
- [18] BECKER D, GEIGER D, DUNKEL M, et al. AtTPK4, an arabidopsis tandem-pore K^+ channel, poised to control the pollen membrane voltage in a pH-and Ca^{2+} -dependent manner[J]. **PNAS**, 2004, 101(44):15621-15626.

会 议 消 息

会议名称:中国化学会第十四届全国电分析化学学术会议

会议时间:2020年4月23~25日

会议地点:山东省青岛市

主 办 方:中国化学会分析化学学科委员会

共同主办:青岛大学

承 办 方:青岛大学化学化工学院

会议主题:电分析化学进展与未来

大会主席:杨秀荣

预计规模:1 000人

会议网站:<http://www.chemsoc.org.cn/meeting/14thNEAC/>

联 系 人:王宗花

电子邮箱:13853219173

电 话:13853219173

会议内容:电分析方法理论、生物电分析、纳米电分析、光电催化等