

水稻*OsLHT1*在拟南芥中的表达对植物生长的效应初探

刘璐¹, 向禹澄¹, 彭光莲², 刘来华^{1*}

¹中国农业大学资源与环境学院植物营养系, 北京

²湖南省湘西州农业环境保护管理站, 湖南 吉首

Email: 18243010375@163.com, s20203030356@cau.edu.cn, 564086102@qq.com, *LL1025@cau.edu.cn

收稿日期: 2021年2月19日; 录用日期: 2021年3月15日; 发布日期: 2021年3月24日

摘要

水稻氨基酸转运蛋白*OsLHT1*与拟南芥*AtLHT1*的蛋白质序列具有较高的同源性, 经比对发现相似度达78%。拟南芥氨基酸转运蛋白*AtLHT1*突变体(*atlht1*)相比较野生型生长矮小, 在开花后期出现分蘖数和果荚数少、早衰等症状。为了探究水稻*OsLHT1*在植物生长发育中的分子生物学效应/功能, 本研究通过RT-PCR的方法, 在水稻中克隆获得了*OsLHT1*全长ORF片段, 构建了35s-*OsLHT1*超表达载体, 异源表达于拟南芥*atlht1*突变体中, 并对*OsLHT1*在水稻重要的生育时期做了基因表达分析。结果表明, 转基因植株(*atlht1* + 35s-*OsLHT1*)能够恢复拟南芥*atlht1*的生长表型, 分枝数与果荚数均比突变体增多, 转录水平分析结果表明*OsLHT1*在水稻重要生育时期都有表达, 且在分蘖期的根部和老叶的表达量高, 推测*OsLHT1*在植物生长发育过程中起到了关键作用。

关键词

拟南芥, 水稻, *OsLHT1*, 异源表达

Effect of *OsLHT1* Expression on Plant Growth in *Arabidopsis thaliana*

Lu Liu¹, Yucheng Xiang¹, Guanglian Peng², Laihua Liu^{1*}

¹Department of Plant Nutrition, College of Resources and Environment, China Agricultural University, Beijing

²Hunan Xiangxi Agricultural Environment Protection and Management Station, Jishou Hunan

Email: 18243010375@163.com, s20203030356@cau.edu.cn, 564086102@qq.com, *LL1025@cau.edu.cn

Received: Feb. 19th, 2021; accepted: Mar. 15th, 2021; published: Mar. 24th, 2021

*通讯作者。

文章引用: 刘璐, 向禹澄, 彭光莲, 刘来华. 水稻 *OsLHT1* 在拟南芥中的表达对植物生长的效应初探[J]. 植物学研究, 2021, 10(2): 146-154. DOI: 10.12677/br.2021.102022

Abstract

Rice amino acid transporter *OsLHT1* is highly homologous to *Arabidopsis AtLHT1*, with sharing a similarity of 78% at the protein level. The *Arabidopsis* amino acid transporter *AtLHT1* mutant (*atlht1*), compared with the wild-type, shows a growth in small size, less upper part branches and siliques, as well as early senescence at the late flowering stage. In order to explore the molecular biological effects of *OsLHT1* on plant growth and development, we cloned the full length open reading frame (ORF) of *OsLHT1* using RT-PCR, constructed a 35s-*OsLHT1* overexpression vector, heterologously expressed *OsLHT1* in the *Arabidopsis atlht1* mutant, and analyzed the expression of *OsLHT1* in rice at significant growth stages. The result showed that transgenic plants (*atlht1* + 35s-*OsLHT1*) indeed displayed a restored growth phenotype related to *atlht1* mutant, the number of the upper branches and pods was higher than that of mutants; moreover, gene expression study showed that *OsLHT1* was expressed at almost all important growth stages of rice, but the highest expression level was observed in roots of the tillering stage and old leaves, thus proposing the critical role for *OsLHT1* in plant growth and development.

Keywords

Arabidopsis thaliana, Rice, *OsLHT1*, Heterologous Expression

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

植物生长发育需要吸收大量含氮化合物,除铵态氮与硝态氮外,游离蛋白氨基酸(AAs)也是植物吸收氮的重要来源,尤其是在有机氮丰富的土壤中。氨基酸是蛋白质的重要组成部分,它也决定了谷物的大小、形状以及产量,且氨基酸还在植物氮代谢和信号转导中发挥着重要作用,比如,新老叶之间通过各种氨基酸转运体进行养分交换等[1]。不同生态系统土壤溶液中各氨基酸的平均浓度一般在 50 μM 以下[2] [3],然而植物(如拟南芥)叶片中游离氨基酸的含量约在 $<5 \mu\text{M}$ (色氨酸、络氨酸和异亮氨酸)和 $>1000 \mu\text{M}$ (谷氨酸)之间变化[4] [5]。除了作为一种氮源来供应植物生长发育外,氨基酸在植物氮代谢、分布、信号转导和胁迫响应等方面也起着关键作用[5] [6]。

目前利用分离植物组织等方法进行的生理学研究表明,植物中存在着广泛的底物特异性氨基酸转运体[7] [8] [9]。*AtAAP1/NAT2* 是从拟南芥 cDNA 文库中克隆出第一个植物氨基酸转运体,它具有广泛的底物特异性[10] [11]。此后,在多种植物中发现了多种氨基酸转运体[12]。通过序列比对分析发现,鉴定出的转运蛋白可总体分为两个家族:氨基酸、多胺、胆碱(APC, the amino acid/polyamine/choline)家族和氨基酸转运蛋白(ATF, the amino acid transporter)家族,这些转运蛋白在组织定位和底物特异性方面有着各自不同的特点[13]。

拟南芥 ATF 家族共有 46 个成员,根据其序列同源性和转运特性,可以从其中划分出 6 个亚簇,包括 AAPs (8 个成员的氨基酸渗透蛋白)和 *LHTs* (10 个同源的赖氨酸/组氨酸转运蛋白) [14] [15]。在 *LHT* 家族中,研究主要集中在 *LHT1* 上,其最初通过酵母实验确定了赖氨酸和组氨酸的选择性转运体[16]。在近年来的研究中报道了 *AtLHT1* 介导了中性和酸性氨基酸吸收进入根部,且具有高亲和力[3] [17] [18]。Hirner

等人[18]研究表明, 突变 *AtLHT1* 基因(*Atlht1*)足以抑制植物生长, 并且干扰氨基酸在拟南芥中的吸收和分布。*AtLHTs* 家族具有广泛的底物特异性, 组织特异性研究表明该家族基因在植物根、叶、花等器官中表达, 不仅介导从土壤中吸收氨基酸, 并且介导氨基酸在植物中的运输和分布[18]。在作物中, 尽管在水稻基因组中预测有 6 个 LHT 同源基因, 但目前只有 *OsLHT1* 基因进行了一些研究[19] [20] [21] [22], 且其研究主要是利用创建 *LHT1* 突变体来反面证明该基因功能。本研究通过超表达 *OsLHT1* 基因, 从正面来验证该基因的功能, 并且选取几个水稻重要生长时期进行转录水平检测, 为将来利用遗传育种方式提高作物产量和蛋白质含量等方面提供可靠的信息。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

本试验所用水稻种子品种为日本晴(WT, *Oryza sativa* L. cv. Nipponbare), 拟南芥野生型 WT (Wild type) 为哥伦比亚生态型 Col-0 (*Arabidopsis thaliana* L.), 拟南芥纯合突变体 *Atlht1* 购买于 NASC (Nottingham *Arabidopsis* Stock Centre)网站(<http://arabidopsis.info>), 遗传背景为 Col-0 (*Arabidopsis thaliana* L.), 编号为 SALK-034566。

2.2. 主要试剂

RNA 提取试剂盒 Easyspin RNA Kit (购自艾德莱公司); 第一链反转录试剂盒(Catalog# ZR108, 购自庄盟生物); 限制性内切酶 BamH1 (购自 NEB 公司); 金牌 MIX 高保真酶(购自擎科生物公司); 胶回收试剂盒 ZPN202-3 (购自庄盟生物)。

2.3. 试验方法

2.3.1. *OsLHT1* 与 *AtLHT1* 之间蛋白序列比对

利用 DNASTAR 软件中 Editseq 对 *OsLHT1* 与 *AtLHT1* 的 cDNA 序列进行翻译, 再用 megalign 对 *AtLHT1* 与 *OsLHT1* 蛋白序列进行比对。

2.3.2. 植物培养

水稻水培所需的培养液配方参照 Wang 等[23]的报道, 营养液每 2 天换一次, 培养在人工气候室中, 温度设为 28℃, 湿度为 70%; 拟南芥土培所使用的是营养土与蛭石 3:1 混合, 在恒温温室中培养, 温度设置为 23℃。

2.3.3. 水稻各生育时期取样

本研究共选取水稻苗期(生长 3 周)和分蘖期(生长 5 周)的根部, 旗叶, 中叶和老叶五个生育时期和部位, 其中, 中叶和老叶分别指从旗叶倒数第 3 片和第 6 片叶子, 在水稻生长约 16 周左右取样。取样时要迅速, 把样品包裹在锡箔纸中标记好, 迅速放入液氮中, 存入-80℃冰箱, 尽快做后续定量试验。

2.3.4. 植物 RNA 提取和定量 PCR 试验

在液氮条件下把植物样品研磨成粉末状, 提取具体试验步骤严格按照 Easyspin RNA Kit 说明书进行。cDNA 合成严格按照 EX RT kit 反转录试剂盒说明书在 PCR 仪上进行。使用 Bio-Rad iCycler 进行定量聚合酶链式反应(qpcr), 反应体积为 20 μL, 反应程序设置为: 95℃ 2 min, 95℃ 15 s, 56℃~60℃ 15~20 s, 72℃ 20~30 s 反应循环数为 40。扩增产物经 1.5%琼脂糖凝胶电泳检测。

2.3.5. 35s:: *OsLHT1* 植物超表达载体构建

以表达量较高的水稻分蘖时期根部所提 RNA 反转录的 cDNA 为模板, 用 *OsLHT1* up/down 引物在 pcr

仪中扩增该片段，回收后连接至 pEasyT-vector 载体上，通过序列测定结果比对确保序列正确，并以此为模板，用带有 BamHI 碱基序列的 *OsLHT1* up/down 引物进行片段扩增，回收后连接至 pCAMBIA1302 载体上，连接体系放置冰箱 4℃ 过夜，并将该连接体系转化大肠杆菌感受态细胞 TOP10，挑取单菌落进行菌落 PCR 验证，将 PCR 产物有单一明亮条带所对应的菌液培养过夜进行序列测定比对，确保正确连接至植物表达载体中后，提取质粒进行电击法农杆菌转化，农杆菌感受态所使用的菌株是 GV3101，挑取单一菌落 进行菌落 PCR 再次确保所挑单菌落正确，以保证后续拟南芥转基因试验顺利进行。

2.3.6. 拟南芥遗传转化及转基因植株的分子鉴定

拟南芥遗传转化所采用的是农杆菌侵染方法(蘸花法) [24]。转基因植株的分子鉴定我们采取三种方式逐步鉴定，pCAMBIA1302 载体抗性为潮霉素，首先在带有 50 μM 潮霉素的拟南芥培养基上进行抗性筛选，然后将抗性筛选出的拟南芥移至土培中，待其生长 2 周后，减掉其 1 片叶子进行 DNA 提取，在基因组水平上检测是否插入了目的片段，最后再从 RNA 水平上测定该基因在转录水平上表达水平是否上调。

2.3.7. 拟南芥分枝数与果荚数统计

拟南芥野生型(WT)、突变体(*atlht1*)与转基因植株(*atlht1* + 35s-*OsLHT1*)在土培条件下放置在恒温培养室中，每周浇水一次，待其生长成熟统计及果荚数和分枝数，转基因植株统计三个不同的独立转基因株系，每种植株统计至少 15 棵，进行统计学分析。

2.3.8. 引物序列信息

本研究所用引物名称及信息详见表 1。

Table 1. Primers and sequences

表 1. 所用引物及序列

引物用途	引物名称	引物序列(5'→3')
克隆基因	<i>OsLHT1</i> up/down pCAM	TTggatccATGGCGCCGCCGTCAGC; CCggatccTCAAGAGAAGAAGAACTTGTAAC
阳性苗鉴定	BIA1302- <i>OsLHT1</i> up/down	GGAGTTGTCCCAATCTTGT; TCAAGAGAAGAAGAACTTGTAAC
转录水平鉴定	q- <i>OsLHT1</i> up/down	CTTCGGTGGATTCCGCTTC; ATGATGCAGATCCAGTTGGTG
水稻内参基因	Histone up/down	GGTCAACTTGTTGATCCCTCT; AACCGAAAATCCAAAAGAACG
拟南芥内参基因	AtACTIN up/down	CTCCTTTGTTGCTGTTGACTAC; GCACAATGTTACCGTACAGATC

2.3.9. 数据统计分析

本研究利用 IBM SPSS 19.0 软件进行数据统计分析。在拟南芥野生型和转基因植株的果荚数、分枝数等数据采用单因素方差分析(ANOVA)。

3. 结果与分析

3.1. 水稻 *OsLHT1* 与拟南芥 *AtLHT1* 蛋白序列比对

通过水稻 Aramemnon 网站(<http://aramemnon.uni-koeln.de/request.ep>)预测的 *OsLHT1* 全长 ORF (1344 bp)，在 DNASTAR 中的 Editseq 软件进行序列翻译，通过 Megalign 与 NCBI 网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)对水稻 *OsLHT1* 与拟南芥 *AtLHT1* 序列进行蛋白序列比对(如图 1)，发现具有较高的同源性，相似度达 78%。

3.2. *OsLHT1* 在水稻不同生育时期基因表达分析

提取水稻苗期、分蘖期的根部，水稻生长约 16 周的新叶、中叶及老叶的 RNA，反转录为 cDNA，

用 Histone 作为内参基因对各组织内的 cDNA 进行定量, 结果显示, 该基因在根部与地上部均表达, 其中, 在分蘖期的根部以及老叶表达最为强烈(如图 2), 推测该基因可能在从土壤中吸收氨基酸以及新老叶氨基酸转运等方面发挥着关键作用。



Figure 1. Sequence alignment between *AtLHT1* and *OsLHT1*

图 1. *AtLHT1* 与 *OsLHT1* 蛋白序列比对

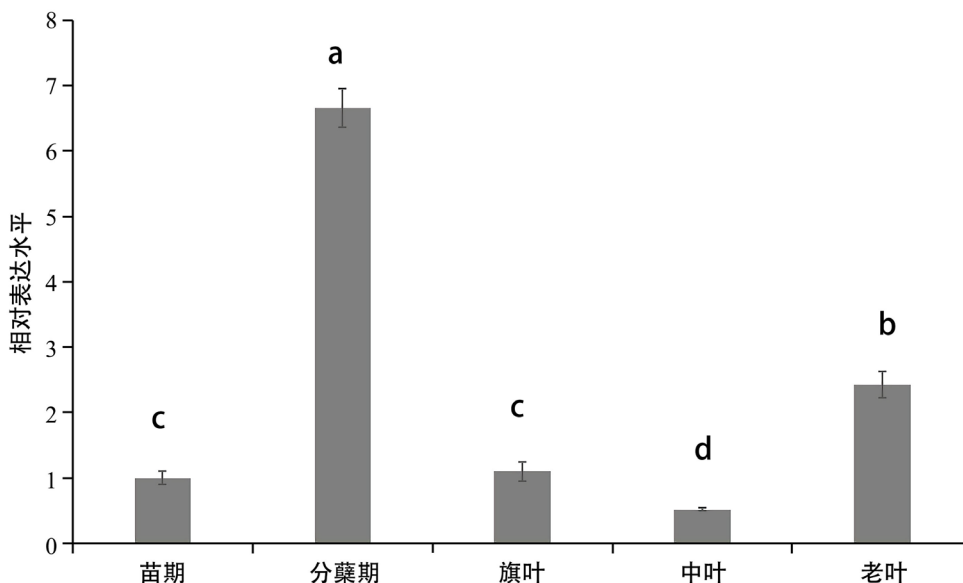
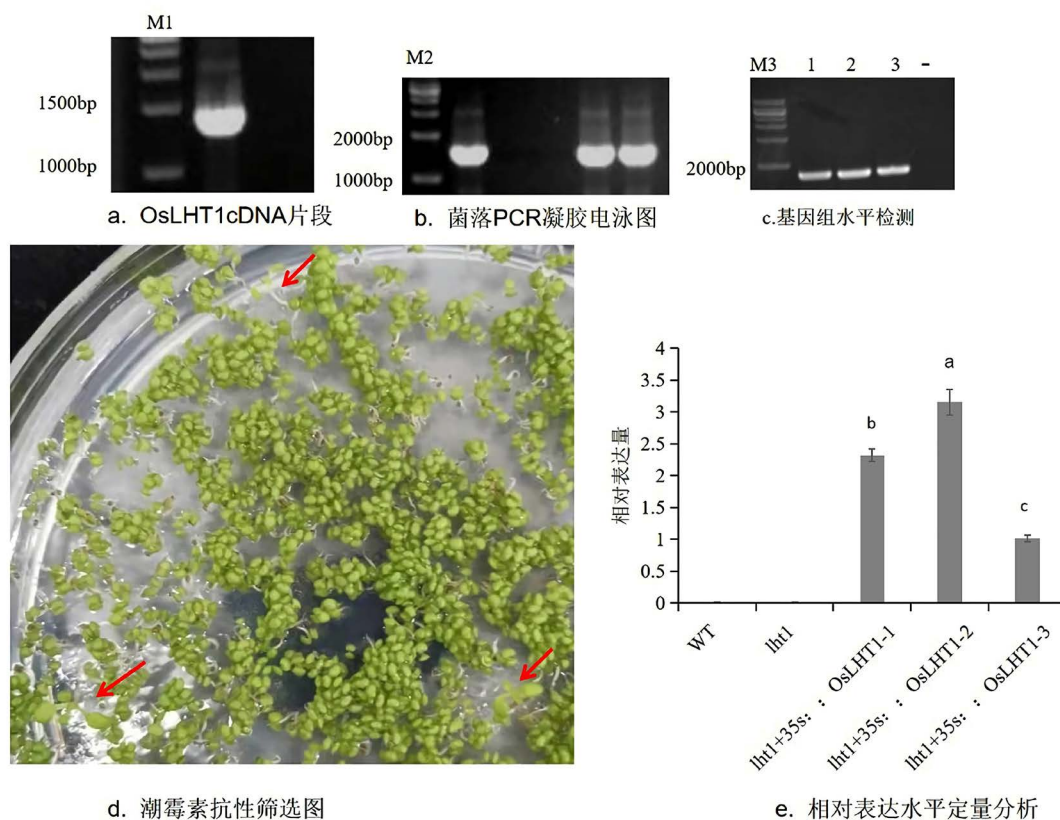


Figure 2. Relative expression levels of *OsLHT1* in different growth stages and parts of rice

图 2. *OsLHT1* 在水稻不同生育时期和部位的相对表达水平

3.3. 35s:: *OsLHT1* 植物超表达载体的构建与拟南芥异源过表达

本研究通过提取水稻分蘖期根部 RNA 并反转录为 cDNA, 以此为模板扩增 *OsLHT1* 片段, 得到了 1344 bp 长度的正确片段(如图 3(a)), 通过该片段与 pCAMBIA1302 载体的 BamH1/Bcl1 同尾酶进行酶切与连接并转化, 挑取单菌落验证(如图 3(b)), 菌落 PCR 获得单一条带, 测序验证后确定了 35s:: *OsLHT1* 超表达载体构建成功。通过点击法转化农杆菌 GV3101, 挑取单菌落培养并保存至 -80°C, 用于后续拟南芥转化试验。



M: DNA Marker; M1: 1 kb DNA Marker; M2-M3: 1kb plus DNA Marker; 1-3: 以转基因获得三个独立的植株所提 DNA 为模板的 *OsLHT1* PCR 产物; “-” 代表负对照, 以野生型为模板。字母表示统计学差异分析 ($P < 0.05$, 单因素方差分析 one-way ANOVA)。M: DNA Marker; M1: 1 kb DNA Marker; M2-M3: 1kb plus DNA Marker; 1-3: *OsLHT1* PCR products with DNA extracted from three independent transgenic lines as template; “-” represents the negative control, using the wild type as the template. Different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$, one-way ANOVA).

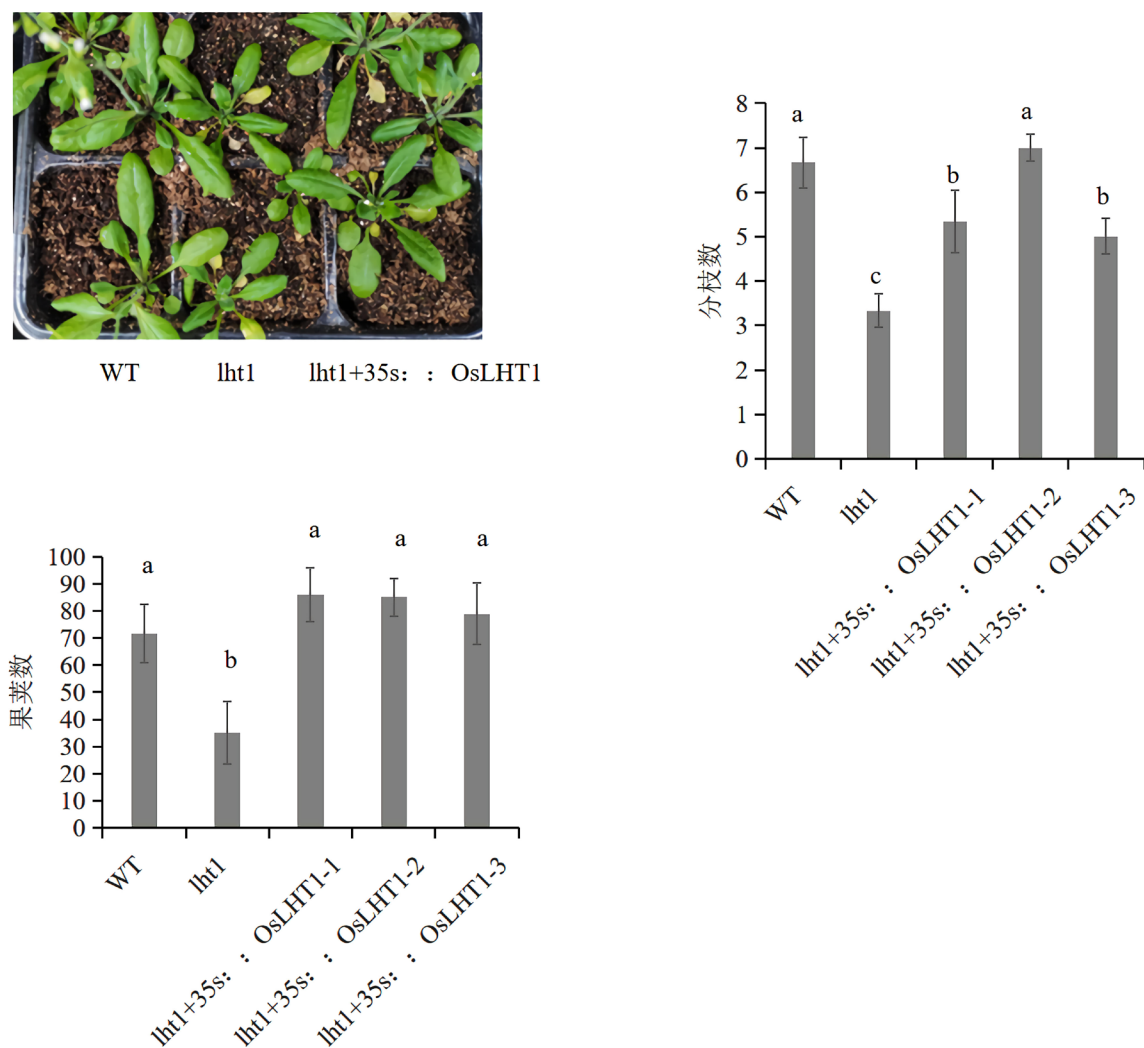
Figure 3. Identification of transgenic plants

图 3. 转基因株系鉴定

通过农杆菌蘸花法将 35s:: *OsLHT1* 转入拟南芥突变体 *Atlht1* 中, 通过抗性筛选(图 3(c))、DNA 水平验证(图 3(d))和转录水平验证(图 3(e)), 获得了 3 个独立的且过表达 *OsLHT1* 的转基因株系(编号 1, 2, 3 号)。

3.4. 超表达 *OsLHT1* 的拟南芥 *Atlht1* 突变体的表型鉴定

本研究通过将 3 个独立的转基因株系繁育为 T₂ 代, 用于表型鉴定。通过表型观察实验, 发现 *atlht1* + 35s:: *OsLHT1* 的 3 个独立转基因株系表型大致相同, 在拟南芥生长后期比未经转化的突变体 *atlht1* 分枝数及果荚数明显增多(如图 4), 并且发现野生型和过表达株系在抽薹后开花期明显比突变体 *Atlht1* 长。



字母表示统计学差异分析($P < 0.05$, 单因素方差分析 one-way ANOVA)。Different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$, one-way ANOVA)。

Figure 4. Phenotype identification of transgenic plants
图 4. 转基因植株表型鉴定

4. 讨论

AtLHT1 在拟南芥的根部及地上部(叶片)均有较强的表达水平, Wolfgang Koch [18]等人在 2006 年报道 *AtLHT1* 是在维管系统之外的叶细胞表达的氨基酸转运蛋白, 所以该转运蛋白除了负责根部在土壤中吸收氨基酸, 还可能参与叶细胞对氨基酸的摄取过程。而该转运蛋白突变体(*Atlht1*)在生长过程中表现出矮小、早衰等症状, 更从反面证明了 *AtLHT1* 具有氨基酸吸收与转运的重要功能。水稻 *OsLHT1* 同 *AtLHT1* 相似, 不仅表现在蛋白质序列有着高度的同源性, 在植物根部和地上部都具有较高的表达水平, 还表现在它们都具有较为广泛的底物特异性[18] [20] [21]。通过本研究, 发现 *OsLHT1* 异源超表达可以互补拟南芥突变体 *Atlht1* 的表型, 虽然 *OsLHT1* 近几年来通过创建 *OsLHT1* 突变体从反面论证了该转运体的吸收与转运功能, 但是通过建立超表达株系从正面论证该基因功能未见报道, 目前仅报道 *OsLHT1* 在酵母系统和蛙卵细胞中似乎转运多种氨基酸, 如谷氨酸、天冬氨酸等, 但是在单细胞生物中并不能准确反映在植物体中的生物功能。本研究通过异源表达 *OsLHT1* 且互补了拟南芥 *atlht1* 突变体表型, 从正面探究了水

稻 *OsLHT1* 在植物生长发育过程中的可能性作用, 拟南芥果荚数与分枝数相较于未转化的 *Atlht1* 突变体显著增多, 可互补突变体 *Atlht1* 的生长。转录水平定量分析结果表显示, *OsLHT1* 在根部与地上部均有表达, 在老叶中表达最为强烈, 推测该基因可能参与到了从老叶到新叶的养分转运过程, 这与 Guo [22] 等人测定的野生型与突变体 *OsLHT1* 中旗叶与老叶总 N 量结果也相符合。本研究通过在拟南芥异源表达水稻氨基酸转运蛋白 *OsLHT1*, 初步探究出 *OsLHT1* 异源表达可恢复拟南芥突变体 *Atlht1* 生长矮小、产量低等表型, 为在水稻中超表达是否提高氮素利用效率、提高产量和品质提供了可靠的信息。

基金项目

国家自然科学基金, 项目编号 31270881, 题目“谷氨酸受体基因参与拟南芥根系生长响应外源氨基酸的分子功能研究”; 教育部博士学科点基金, 项目编号 20134320110015, 题目“水稻脲酶辅助蛋白基因 UreD 突变影响植物氮代谢及再利用的分子生理解析”。

参考文献

- [1] Coruzzi, G. and Bush, D.R. (2001) Nitrogen and Carbon Nutrient and Metabolite Signaling in Plants. *Plant Physiology*, **125**, 61-64. <https://doi.org/10.1104/pp.125.1.61>
- [2] Jones, D.L., Owen, A.G. and Farrar, J.F. (2002) Simple Method to Enable the High Resolution Determination of Total Free Amino Acids in Soil Solutions and Soil Extracts. *Soil Biology & Biochemistry*, **34**, 1893-1902. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00203-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00203-1)
- [3] Svennerstam, H., Jämtgård, S., Ahmad, I., et al. (2011) Transporters in Arabidopsis Roots Mediating Uptake of Amino Acids at Naturally Occurring Concentrations. *New Phytologist*, **191**, 459-467. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03699.x>
- [4] Watanabe, M., Balazadeh, S., Tohge, T., et al. (2013) Comprehensive Dissection of Spatiotemporal Metabolic Shifts in Primary, Secondary, and Lipid Metabolism during Developmental Senescence in Arabidopsis. *Plant Physiology*, **162**, 1290-1310. <https://doi.org/10.1104/pp.113.217380>
- [5] Hildebrandt, T.M., Nesi, A.N., Araújo, W.L. and Braun, H.-P. (2015) Amino Acid Catabolism in Plants. *Molecular Plant*, **8**, 1563-1579. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.09.005>
- [6] Walch-Liu, P., Liu, L., Remans, T., et al. (2006) Evidence That L-Glutamate Can Act as an Exogenous Signal to Modulate Root Growth and Branching in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, **47**, 1045-1057. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcj075>
- [7] Li, Z.C. and Bush, D.R. (1991) DeltapH-Dependent Amino Acid Transport into Plasma Membrane Vesicles Isolated from Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) Leaves: II. Evidence for Multiple Aliphatic, Neutral Amino Acid Symports. *Plant Physiology*, **96**, 1338-1344. <https://doi.org/10.1104/pp.96.4.1338>
- [8] Weston, K., Hall, J.L. and Williams, L.E. (1995) Characterization of Amino-Acid Transport in *Ricinus communis* Roots Using Isolated Membrane Vesicles. *Planta*, **196**, 166-173. <https://doi.org/10.1007/BF00193230>
- [9] Wyse, R.E. and Komor, E. (1984) Mechanism of Amino Acid Uptake by Sugarcane Suspension Cells. *Plant Physiology*, **76**, 865-870. <https://doi.org/10.1104/pp.76.4.865>
- [10] Frommer, W.B., Hummel, S. and Riesmeier, J.W. (1993) Expression Cloning in Yeast of a cDNA Encoding a Broad Specificity Amino Acid Permease from *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **90**, 5944-5948. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.13.5944>
- [11] Hsu, L.C., Chiou, T.J., Chen, L. and Bush, D.R. (1993) Cloning a Plant Amino Acid Transporter by Functional Complementation of a Yeast Amino Acid Transport Mutant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **90**, 7441-7445. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.16.7441>
- [12] Pratelli, R. and Pilot, G. (2014) Regulation of Amino Acid Metabolic Enzymes and Transporters in Plants. *Journal of Experimental Botany*, **65**, 5535-5556. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru320>
- [13] Tegeder, M. (2012) Transporters for Amino Acids in Plant Cells: Some Functions and Many Unknowns. *Current Opinion in Plant Biology*, **15**, 315-321. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2012.02.001>
- [14] Schwacke, R., Schneider, A., van der Graaff, E., et al. (2003) ARAMEMNON, a Novel Database for Arabidopsis Integral Membrane Proteins. *Plant Physiology*, **131**, 16-26. <https://doi.org/10.1104/pp.011577>
- [15] Rentsch, D., Schmidt, S. and Tegeder, M. (2007) Transporters for Uptake and Allocation of Organic Nitrogen Com-

- pounds in Plants. *FEBS Letters*, **581**, 2281-2289. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.013>
- [16] Chen, L. and Bush, D.R. (1997) LHT1, A Lysine- and Histidine-Specific Amino Acid Transporter in Arabidopsis. *Plant Physiology*, **115**, 1127-1134. <https://doi.org/10.1104/pp.115.3.1127>
- [17] Ganeteg, U., Ahmad, I., Jämtgård, S., *et al.* (2016) Amino Acid Transporter Mutants of Arabidopsis Provides Evidence That a Non-Mycorrhizal Plant Acquires Organic Nitrogen from Agricultural Soil. *Plant, Cell & Environment*, **40**, 413-423. <https://doi.org/10.1111/pce.12881>
- [18] Hirner, A., Ladwig, F., Stransky, H., *et al.* (2006) Arabidopsis LHT1 Is a High-Affinity Transporter for Cellular Amino Acid Uptake in Both Root Epidermis and Leaf Mesophyll. *The Plant Cell*, **18**, 1931-1946. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.041012>
- [19] Perchlik, M., Foster, J. and Tegeder, M. (2014) Different and Overlapping Functions of Arabidopsis LHT6 and AAP1 Transporters in Root Amino Acid Uptake. *Journal of Experimental Botany*, **65**, 5193-5204. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru278>
- [20] Wang, X., Yang, G., Shi, M., *et al.* (2019) Disruption of an Amino Acid Transporter *LHT1* Leads to Growth Inhibition and Low Yields in Rice. *BMC Plant Biology*, **19**, Article No. 268. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1885-9>
- [21] Guo, N., Hu, J., Yan, M., *et al.* (2020) *Oryza sativa* Lysine-Histidine-Type Transporter 1 Functions in Root Uptake and Root-to-Shoot Allocation of Amino Acids in Rice. *The Plant Journal*, **103**, 395-411. <https://doi.org/10.1111/tpj.14742>
- [22] Guo, N., Gu, M., Hu, J., Qu, H. and Xu, G. (2020) Rice OsLHT1 Functions in Leaf-to-Panicle Nitrogen Allocation for Grain Yield and Quality. *Frontiers in Plant Science*, **11**, 1150. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01150>
- [23] Wang, W.H., Köhler, B., Cao, F.Q., *et al.* (2011) Rice DUR3 Mediates High-Affinity Urea Transport and Plays an Effective Role in Improvement of Urea Acquisition and Utilization When Expressed in Arabidopsis. *New Phytologist*, **193**, 432-444. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03929.x>
- [24] Clough, S.J. and Bent, A.F. (1998) Floral Dip: A Simplified Method for *Agrobacterium*-Mediated Transformation of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, **16**, 735-743. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1998.00343.x>