

拟南芥 MED16 通过调节 CCS52A1/A2 的表达 调控核内复制与细胞生长

刘祖培, 李云海

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 国家植物细胞与染色体工程重点实验室, 北京 100101



刘祖培 博士

植物是人类主要的物质与能量来源。人们日常食用的蔬菜、水果和主粮等均来自于植物。目前, 随着人口数量快速增加、耕地面积减少以及全球气候变化对环境的影响, 人类与环境的矛盾日益凸显, 如何增加人类食物与能源供给成为一个亟待解决的重大问题。植物器官大小是提高植物生物能源的重要因素, 深入了解植物器官大小的分子调控机制, 挖掘高产基因资源, 对育种工作者培育高产作物及解决人类与环境的矛盾具有重大意义。

植物器官的发育起始于原基的分化, 顶端分生组织(apical meristem)分化产生侧生器官原基, 进而发育成不同器官, 如叶片、侧枝与花等。原基原始分生组织细胞首先经历相对分化程度低的对等分裂, 进而快速扩繁细胞数目, 随着细胞分化进一步加深, 产生各种特化的母源细胞(maternal cell), 之后再分化成器官中的功能细胞。原始分生组织细胞起初的分裂能力较强, 随着细胞分裂能力降低, 有些细胞停止分裂, 进入细胞扩展期, 而有些细胞仍具有分裂能力, 能进行非对称性分裂, 此类细胞被称为拟分生细胞(meristematic cell)。拟分生细胞经历数次分裂后, 丧失细胞分裂能力, 进入细胞扩展, 最终发育成特定功能细胞。在器官的发育过程中, 细胞繁殖与细胞生长并没有明显的界限, 拟分生细胞常常被已进入细胞扩展且体积较大的细胞所包围, 因此植物器官大小由细胞数目与细胞大小所决定。

细胞分裂和分化协同调控植物器官的生长。在细胞分化过程中常常伴随着细胞核内复制发生(endoreduplication), 核内复制是细胞核内发生基因组复制, 但细胞与细胞核不分裂, 导致细胞核内基因组倍性增加的现象。核内复制现象在植物与动物

中普遍存在, 且往往与细胞大小呈正相关关系。例如, 果蝇(*Drosophila melanogaster*)唾液腺细胞较一般体细胞面积大, 且拥有较高的基因组倍性; 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)叶片表皮细胞面积大小不一, 利用流式细胞仪检测拟南芥叶片表皮细胞 DNA 的倍性, 可以检测出 2C、4C、8C、16C、32C 与 64C, 且 DNA 倍性高的细胞体积比 DNA 倍性低的细胞体积大。已有研究表明, 核内复制增加了细胞核内 DNA 水平, 增多基因模板, 有利于基因转录, 同时也能促进 RNA 与核糖体的合成, 提高蛋白合成能力, 能够产生更多的能量与物质, 促进细胞的生长。在拟南芥中, 细胞周期后期促进复合体(anaphase promoting complex/cyclosome, APC/C)对核内复制具有重要调节作用。CCS52A1 与 CCS52A2 (CELL CYCLE SWITCH PROTEIN 52 A1/A2)为 APC/C 复合体的激活子。CYCA2 和 CYCB1 为细胞周期 G₂ 到 M 期转变所必须的细胞周期因子。APC/C-CCS52A1/A2 复合体可以促进 CYCA2 和 CYCB1 降解, 从而使细胞核内基因组发生复制的细胞不发生分裂, 导致核内基因组水平倍增。*ccs52a2-1* 与 *ccs52a1-1* 突变体细胞核内 DNA 倍性降低, 细胞变小。*DEL1* (DP-E2F-like1/E2Fe)编码一个转录抑制因子, 可特异性结合 CCS52A2 启动子并抑制其表达。*DEL1* 功能缺失突变体(*dell-1*)的 CCS52A2 表达量上调, 细胞核内 DNA 倍性增加, 从而导致细胞变大。因此, 核内复制对细胞大小具有重要调节作用。

本研究团队长期致力于植物器官大小的研究。利用模式植物拟南芥, 我们在早期的研究中发现突变体 *dal-1* 可以产生大叶、大花与大种子的表型。为进一步筛选 *dal-1* 增强子, 我们发现 *eod9-1* (enhancer of *dal-1*)突变可以显著增加 *dal-1* 植株叶、

萼片和花的大小。通过基因克隆发现, *EOD9* 编码中介复合体亚基 MED16 蛋白。*eod9-1* 与 *med16-2* (MED16 T-DNA 插入突变体) 单体突变体具有大叶、大花和大花序的表型。*med16-2* 植株叶片与花瓣细胞显著增大。通过流式细胞仪分析, 我们发现 *med16-2* 植株叶片与花瓣细胞的细胞核内 DNA 倍性显著增加, 细胞核大小也显著增大。以上结果表明 MED16 为核内复制、细胞大小和器官大小的负调控因子。此外, MED16 也负调控细胞分裂, *med16-2* 植株叶片中细胞数目显著多于野生型植株的相应值。在 MED16 互作蛋白筛选过程中, 我们发现 MED16 可与转录抑制因子 DEL1 发生直接相互作用。进一步实验证明 MED16 依赖 DEL1 结合于 *CCS52A2* 启动子区并抑制其表达。此外, MED16 也可以结合于 *CCS52A1* 启动子区并抑制其表达。在 *med16-2* 植株

中, *CCS52A1* 与 *CCS52A2* 的表达量显著性高于野生型植株的相应值。遗传分析表明, MED16 很大程度上依赖于 *CCS52A1/A2* 调控核内复制与细胞大小(图 1)。因此, 本研究揭示了核内复制调控细胞及器官大小的新机制。此外, *dal-1* 与 *med16-2* 遗传关系表明 MED16 独立于 DA1 调控植物器官大小, 但 *dal-1 med16-2* 双突变体产生比 *dal-1* 和 *med16-2* 都大的叶、萼片与花, 暗示利用 DA1 与 MED16 基因型变异, 可为培育其他大器官且具高生物产量的作物提供理论依据。该研究的相关成果于 2019 年 6 月 7 日在线发表于 *The Plant Cell* (doi:10.1105/tpc.18.00811)。中国科学院遗传与发育生物学研究所李云海课题组的博士生刘祖培和已毕业博士生陈刚为并列第一作者。该研究得到了国家自然科学基金项目和中科院先导专项资助。

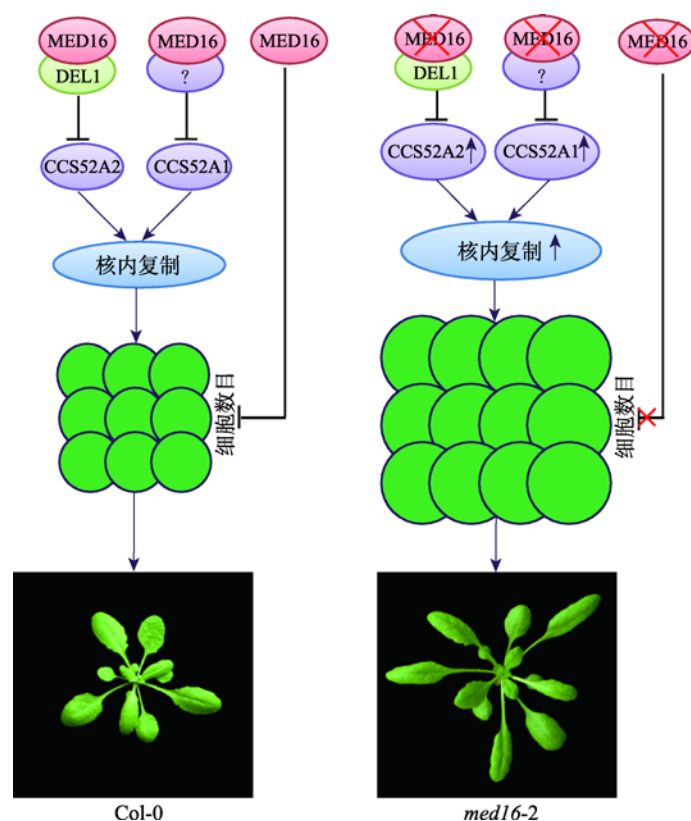


图 1 拟南芥 MED16 功能模式图

Fig. 1 Working model of the role of MED16 in *Arabidopsis*

在野生型植株中(Col-0), MED16 可以通过 DEL1 结合于 *CCS52A2* 启动子区并抑制其表达, MED16 也可通过未知转录因子(图中“?”表示)结合于 *CCS52A1* 启动子区并抑制其表达。MED16 还可抑制细胞分裂。在 MED16 功能缺失突变体(*med16-2*)中, *CCS52A1* 与 *CCS52A2* 表达量得到上调, 导致核内复制增加, 细胞变大, 同时 MED16 抑制细胞分裂能力解除, 导致细胞数目增多。