

植物叶片近-远轴极性建成研究进展

郑奔, 周冰莹, 吴刚*, 徐云敏*

浙江农林大学农业与食品科学学院, 植物遗传发育实验室, 杭州311300

摘要: 叶片近-远轴极性建成是一个重要的叶片发育过程。该过程与叶片光合作用等重要的生理过程密切相关, 受众多内外环境因子所调控。本文介绍了叶片近-远轴极性的特征及发育建成过程, 探讨了近轴极性基因、远轴极性基因、小RNA、YABBY家族基因、WOX家族基因和植物激素等在叶片近-远轴极性建成过程中的功能及相互关系, 总结了叶片近-远轴极性建成相关的基因网络调控系统, 并对今后叶片近-远轴极性建成的研究方向及应用前景提出了一些见解。

关键词: 叶片; 近-远轴; 极性基因; 形态建成

Advance in the Study of Leaf Adaxial-Abaxial Polarity Development in Plants

ZHENG Ben, ZHOU Bing-Ying, WU Gang*, XU Yun-Min*

The Laboratory of Plant Genetics and Development, School of Agriculture and Food Sciences, Zhejiang Agriculture & Forestry University, Hangzhou 311300, China

Abstract: The establishment of leaf adaxial-abaxial polarity comprises one of the most important aspects of leaf development. Leaf polarity development is tightly related to a series of important physiological processes such as photosynthesis, and it is under the regulation of both extrinsic and intrinsic cues. In this review, the basic characteristics and developmental process of leaf adaxial-abaxial polarity were introduced, followed by the function of different abaxial genes, adaxial genes, small RNAs, YABBY genes, WOX genes, and plant hormones in leaf adaxial-abaxial polarity development. The interaction between different regulators and gene networks controlling leaf polarity development were also summarized. Based on all available information about leaf polarity development, the future direction of leaf adaxial-abaxial polarity development was brought forward in this review as well.

Key words: leaf; abaxial-adaxial axis; polarity gene; morphogenesis

叶片是植物重要的营养器官, 行使光合作用、气体交换和蒸腾作用等功能。成熟叶片在解剖学结构上存在3个不对称轴: 中-边轴(central-lateral axis) (由叶主脉指向叶边缘), 基-顶轴(proximal-distal axis) (由叶基部指向叶尖部), 以及近-远轴(adaxial-abaxial axis) [靠近生长点为近轴面(adaxial side), 远离生长点则为远轴面(abaxial side)] (严松等2008)。叶片发育过程中, 在内部遗传因子及外部环境因子的协调作用下, 按照上述3个不对称轴, 形成组织结构、细胞形态、生理功能的不对称性, 这种不对称性称为叶片极性(leaf polarity) (McConnell和Barton 1998)。

叶片近轴面细胞呈长柱形、排列紧密且富含叶绿体, 主要负责光合作用; 远轴细胞形状不规则且排列疏松, 主要负责气体交换和蒸腾作用。此外, 叶片中的维管束也存在近-远轴极性特征及功能区分, 其木质部位于近轴面, 负责水分与矿物质

的运输, 而韧皮部位于远轴面, 负责糖类等有机物运输(图1)。因此近-远轴极性建成是叶片光合作用、蒸腾作用等功能行使的结构基础, 对该发育过程开展研究具有重要的科学价值和应用前景。结合本实验室近年来在拟南芥近-远轴极性建成方面的研究积累, 我们综述了植物叶片近-远轴极性建成最新研究进展, 并展望了叶片近-远轴极性建成未来研究方向及应用前景。

1 植物叶片近-远轴极性起源及形态特征

植物叶片生长发育过程主要如下: 茎尖分生组织(shoot apical meristem, SAM)外周特定区域形成细胞突起, 随后发育形成叶原基, 叶原基经生

收稿 2015-08-14 修定 2015-11-09

资助 浙江农林大学人才启动项目(2013FR084)和浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划) (2015R412042)。

* 共同通讯作者(E-mail: wugang@zafu.edu.cn; E-mail: xuyunmin@zafu.edu.cn, Tel: 0571-63741826)。

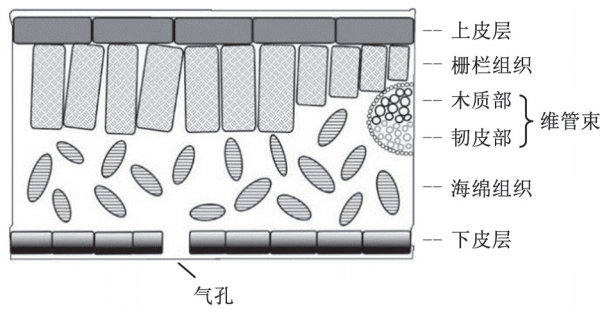


图1 叶片近-远轴极性特征的模式图

Fig.1 The structure of leaf adaxial-abaxial polarity

长、分化发育最终形成成熟叶片。叶原基发育过程中, 靠近SAM一侧发育为叶片近轴面, 而远离SAM一侧则发育为叶片远轴面。叶片近-远轴极性建成研究最早见于马铃薯(*Solanum tuberosum*)叶原基离体培养实验, 研究发现新生叶原基剥离SAM进行离体培养时, 发育形成中-边轴伸展缺陷的条状叶片。解剖学观察发现, 上述畸形叶片近-远轴极性形态学特征发生变化, 呈现出维管束中的韧皮部包围木质部的特征。此后, 对番茄的研究中也得到了相似的结果。由此可知SAM对于叶片极性形态建成及维持具有重要作用, 仅具有单面极性无法发育形成正常形态叶片(Reinhardt等2005)。

对模式植物拟南芥的研究发现, 野生型拟南芥叶片除典型的双子叶植物形态学和解剖学结构特征外, 其近轴面叶色深、有光泽、表面有表皮毛覆盖; 而远轴面则叶色浅、无光泽、早期发生叶片(即幼年叶)远轴面无表皮毛、后期发生叶片(即成年叶)远轴面有表皮毛。叶片远轴面表皮毛发生与否是区分鉴别拟南芥幼年与成年状态的重

要形态学标记(Telfer等1997), 由此可知叶片极性建成与植物发育时序性(developmental timing)间存在着一种目前尚未探讨的、未知的相关性。

叶片远轴面极性缺失或近轴面极性增强会造成叶片发生近轴化, 叶片远轴面原本形状不规则且间距大的细胞变为外形规则、间隙减小的细胞, 产生类似于近轴面的细胞特征, 并且叶片颜色加深、有光泽、叶缘上卷(图2-A); 叶片近轴化剧烈时, 叶片在生长过程中无法正常舒展, 呈现卷曲状叶片, 并且叶片远轴面具有针状突起结构(Eshed等2004)。反之, 叶片近轴面极性缺失或远轴面极性增强会造成叶片发生远轴化, 叶片近轴面细胞间距增大, 而远轴面细胞形态趋于规则、细胞密度增加(Wu等2008)。远轴化叶片表现出叶边缘下卷(图2-C), 而远轴化严重的叶片将发生皱缩且不能正常扩展(McConnell和Barton 1998)。

叶片维管束在叶片近-远轴极性变化过程中也存在类似的结构变化特征(图3)。近轴化叶片中, 木质部生长发育旺盛于韧皮部, 最终木质部会包围韧皮部(图3-A); 与之相反, 远轴化叶片中, 其维管束结构中的韧皮部生长发育旺盛于木质部, 最终韧皮部会逐渐包围木质部(图3-C) (Bowman等2002; Carlsbecker和Helariutta 2005)。

2 叶片近-远轴极性建成的基因调控网络

植物叶片近-远轴极性基因研究最早见于金鱼草(*Antirrhinum majus phantastica* (*phan*)缺失突变体研究。*phan*缺失突变体叶片表现为近轴面细胞形态缺陷, 显示出远轴面的细胞形态; 叶片维管束解剖结构显示, *phan*缺失突变体叶片维管束中的韧皮部包围着木质部, 为典型远轴化叶片特征(Waites和Hudson 1995)。PHAN编码一个含MYB

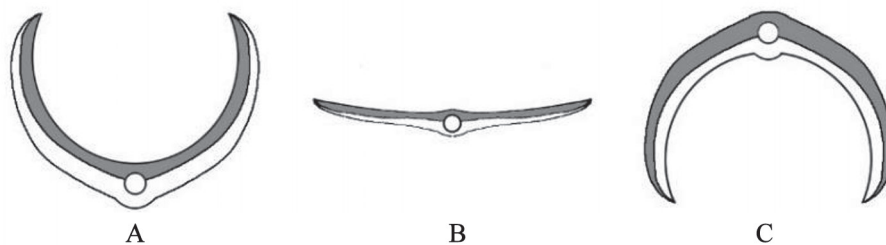


图2 叶片近远轴极性形态模式图

Fig.2 The polarized morphology of leaves

根据Liu等(2011)文献修改。A: 近轴化形态; B: 正常形态; C: 远轴化形态。

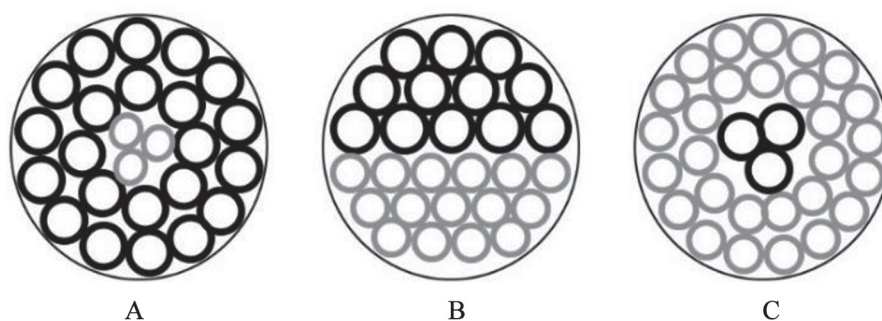


图3 叶片维管束木质部(黑)韧皮部(灰)模式图

Fig.3 The structure of vascular bundles (xylem, black; phloem, grey) in leaves
根据Carlsbecker和Helariutta (2005)文献修改。A: 近轴化形态; B: 正常形态; C: 远轴化形态。

结构域的转录因子, 为叶片近轴极性建成功能基因(Waites等1998), *PHAN*极性基因的研究为后续叶片极性基因及其调控网络的研究提供了良好的开端。随着拟南芥、水稻、玉米等植物全基因组测序完成, 以及遗传学、分子生物学等研究手段的不断改进, 人们发现植物叶片近-远轴极性建成涉及复杂的基因调控网络, 主要包括近-远轴极性基因、近-远轴边界相关基因、小RNA和植物激素等, 上述各因子间通过协同或拮抗作用来调控叶片近-远轴极性建成。

2.1 叶片近轴极性基因

2.1.1 *HD-ZIP*基因家族

HD-ZIP (*homeodomain-leucine zipper*)家族基因编码一类植物特有的转录因子, 由DNA-同源结构域和Leu zipper (*Zip*)元件组成。*HD-ZIP*转录因子具有4个亚族(*HD-ZIP I-IV*), 具有不同的功能(王宏等2013)。

2.1.1.1 *HD-ZIP III*基因家族

*HD-ZIP III*蛋白含有N端的DNA结合结构域、蛋白二聚化所需的亮氨酸拉链结构域、油脂或固醇类结合结构域、C端响应刺激的PAS-like MEKHLA结构域(Yamaguchi等2012)。

拟南芥中*HD-ZIP III*基因家族包括*REVOLUTA* (*REV*)、*PHABULOSA* (*PHB*)、*PHAVOLUTA* (*PHV*)、*ATHB8*和*ATHB15* [也被称作*CORONA* (*CNA*)和*INCUVATA4*]。 *REV*、*PHB*和*PHV*功能冗余, 属于*REV*亚家族, 表达于SAM中心区域、叶原基近轴面及维管束木质部区域, 参与控制SAM细胞分裂、叶片近轴极性维持及维管束结构分化(Otsuga等2001; McConnell等2001)。拟南芥*rev*缺失突变

体叶片形态缺陷不显著, 仅表现出叶片细胞分裂异常及叶边缘下卷(Otsuga等2001; McConnell等2001)。*REV*亚家族基因双缺失突变体或三缺失突变体则表现出明显的缺陷表型, *rev phv*双缺失突变体叶基部发生远轴化而形成喇叭状结构(Prigge等2005); *phb phv rev*三缺失突变体SAM发生缺陷, 仅产生远轴化的子叶(Emery等2003)。反之, *PHV*和*PHB*显性突变体的叶片则发生近轴化, 形成外周为近轴极性特征的放射状叶片(McConnell和Barton 1998; McConnell等2001)。*ATHB8*和*ATHB15*仅表达于维管束组织, 通过调控维管束近轴面生长素的含量及分布来影响维管形成层的分化过程。*ATHB8*缺失突变体中维管束的形成不受影响; *ATHB8*异位表达植株的木质部生长增强, 表现出近轴化的特征(Baima等2001)。

2.1.1.2 *HD-ZIP II*基因家族

*HD-ZIP II*基因家族转录因子的结构特征同*HD-ZIP III*相似, 包括*ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX 2* (*ATHB2*)、*ATHB4*、*HOMEOBOX ARABIDOPSIS THALIANA 1* (*HAT1*)、*HAT2*和*HAT3*基因。*HD-ZIP II*家族基因受远红光/红光比例的调控, 参与控制植物的避荫反应。*HD-ZIP II*家族基因间功能冗余, *HAT*和*ATHB4*具有在叶原基和鱼雷胚时期子叶近轴面表达的极性模式。*hat3 athb4*双缺失突变体表现出个体小、子叶发育缺陷、体内生长素减少且分布不均匀、叶片为远轴化的放射状(Bou-Torren等2012; Turchi等2013, 2015)。

2.1.2 *ARP*基因家族

*ARP*基因家族包括拟南芥*ASYMMETRIC LEAVES1* (*ASI*)、玉米*ROUGH SHEATH* (*RS2*)及金

鱼草*PHAN*基因。*ARP*基因家族编码一类MYB转录因子,可与其他蛋白形成复合体以调控叶片近轴面特征(Fukushima和Hasebe 2014)。

拟南芥中,AS1与AS2蛋白互作形成复合体共同调控叶片近轴极性(Xu等2003),*AS2*基因编码植物特有LATERAL ORGAN BOUNDARIES (LOB)结构域蛋白。*asl*与*as2*缺失突变体具有相似的叶片缺陷表型,表现出叶面褶皱、叶片不对称且叶边缘下卷、茎生叶深裂及产生附属小叶。但不同于*AS1*过表达植物,*AS2*过表达植物具有近轴化极性特征,植株叶片边缘上卷,剧烈时叶片收缩成放射细条状,且叶片远轴面产生向外生长的手指状附属结构;叶片维管束中也表现出木质部发育强于韧皮部的特征(Semiarti等2001; Iwakawa等2002; Lin等2003; Xu等2003)。此外,远轴面异位表达*AS2*也表现出近轴化表型(Wu等2008)。

2.2 叶片远轴极性建成基因

2.2.1 *KANADI*基因家族

KANADI (*KAN*)属于GARP家族的转录因子,表达于叶原基的远轴面和维管组织中的韧皮部,参与远轴极性维持与近轴极性的抑制(Kerstetter等2001)。拟南芥中,*KAN*家族包括4个功能冗余基因(*KAN1~4*),*KAN*家族基因单缺突变体无缺陷表型或缺陷表型不明显。*KAN*家族基因双缺突变体或三缺突变体表现出剧烈的远轴极性缺陷表型。*kan1 kan2*双缺突变体和*kan1 kan2 kan3*三缺突变体叶片剧烈向上收缩,呈现近轴化的辐射纤维状特征(Eshed等2001, 2004)。*KAN*基因过表达可导致SAM和子叶维管束发育缺陷。近轴面异位表达*KAN*导致植物叶片变窄且无法展开,子叶近轴面产生远轴面的结构特征(Eshed等2001)。

水稻叶片极性研究发现一个属于*KAN*家族的*SHALLOT-LIKE1* (*SLL1*)基因。*SLL1*表达于水稻叶片远轴面,*sll1*缺失突变体叶片远轴面叶肉细胞发生程序性死亡,叶片远轴面极性特征缺失,转变为近轴面极性特征,产生富含叶绿体的叶肉细胞,叶片的光合作用增强。*SLL1*过表达则出现远轴化特征,表现为韧皮部发育增强、栅栏组织发育受到抑制(Zhang等2009)。*MILKWEED POD1* (*MWPI*)是玉米中的*KAN*家族基因,野生型玉米苞叶近轴面细胞呈规则长方体状、表面平滑且具有少量细针

状表皮毛;苞叶远轴面细胞呈圆形、表面附着大量表皮毛;玉米*mwp-R*功能获得型突变体中,苞叶近轴面细胞变圆、表面附着大量表皮毛,即表现出叶片远轴化特征(Candela等2008)。综上可知,*KAN*家族基因是植物保守的叶片远轴面极性建成基因。

2.2.2 *ARF*基因家族

AUXIN RESPONSIVE FACTOR (*ARF*)家族基因编码响应植物生长素的转录因子,包括*ARF3* (也称*ETTIN*)和*ARF4*。*ARF3*和*ARF4*功能冗余,表达于叶原基远轴面,属于远轴极性建成基因(Pekker等2005)。研究发现*arf3*或*arf4*缺失突变可抵消*KAN1*异位表达引起的缺陷表型,使得叶片形态近似于野生型(Pekker等2005)。*arf3 arf4*双缺突变体与*kan1 kan2*双缺突变体表型相似,叶片均表现出近轴化,表明*ARF3*和*ARF4*是维持叶片远轴极性特征所必需的(Pekker等2005)。*ARF3*过表达不改变叶片极性特征,但对生长素响应能力增强,植株营养阶段转变加速(Pekker等2005; Hunter等2006)。

2.3 小RNA调控叶片近-远轴极性建成

小RNA包括small interfering RNAs (siRNAs)、*tans*-acting short interfering RNAs (ta-siRNAs)、microRNAs (miRNAs)等,可以通过靶基因的mRNA切割、蛋白翻译抑制、异染色质化及DNA甲基化等作用形式调控靶基因的表达,从而控制生物体的生长发育过程,新近研究表明小RNA还参与植物近-远轴极性建成(Chitwood等2009)。

2.3.1 ta-siRNA参与叶片近-远轴极性建成

ta-siRNA由基因组中特定基因位点转录,经加工形成小分子RNA,最后通过与不同位点的靶标mRNA匹配而切割靶标mRNA (Allen等2005)。拟南芥中有5个编码ta-siRNA的位点:*TAS1a*、*TAS1b*、*TAS1c*、*TAS2*和*TAS3*。其中*TAS3*编码的ta-siR2141和ta-siR2142 (tasiR-ARF)可直接负调控*ARF3*和*ARF4*基因(Allen等2005)。tasiR-ARF转录本仅表达于叶片近轴面,而tasiR-ARF成熟体可从近轴面移动至远轴面,形成由近轴面向远轴面的从高到低的浓度梯度,进而将*ARF*基因限制于远轴面(Chitwood等2009)。*AGO7*表达于叶片近轴面,参与tasiR-ARF极性梯度形成(Iwasaki等2013; Xu等2006)。miR390和RDR6参与tasiR-ARF加工形成过

程, 而AS1/AS2蛋白复合体可间接激活该过程(Montgomery等2008; Xu等2006)。此外, AGO7是稳定 *TAS3* ta-siRNA形成与活性所必需的(Montgomery等2008; Iwasaki等2013; Xu等2006)。

2.3.2 miRNAs参与叶片近-远轴极性建成

miRNAs是一种普遍存在于后生动物和植物中的大小为21~24 nt的核酸分子。miRNAs可通过靶基因mRNA切割或蛋白翻译抑制来调控靶基因表达, 进而调控生物体生长发育过程(Wu 2013)。植物极性建成相关的miRNAs及其靶基因包括: miR165/166-*HD-ZIP III* (Juarez等2004)、miR396-*GRFs* (Wang等2011a)和miR319-*TCPs* (Schommer等2012)。

拟南芥和玉米中miR165/166与其靶基因*HD-ZIP III*家族基因表现出互补的极性分布模式: miR165/166积累于叶原基的远轴面, 而*HD-ZIP III*家族基因则表达于SAM和叶原基近轴面(Juarez等2004)。miR165/166不敏感型*HD-ZIP III*基因可解除miR165/166的负调控作用, 使得不敏感型*HD-ZIP III*基因积累于叶原基远轴面; 异位表达miR165/166可抑制近轴面*HD-ZIP III*基因, 使得叶片发生远轴化(Zhong和Ye 2007); 表明远轴极性miR165/166可通过抑制近轴极性*HD-ZIP III*家族基因来调控叶片极性建成。miR165/166-*HD-ZIP III*家族基因的极性分布模式与AGO10相关, AGO10特异表达于SAM及叶片近轴面, AGO10可特异识别结合miR165/166并限制其功能行使, 从而参与调控叶片极性(Zhu等2011)。此外, 玉米中研究报道显示miR165/166还受近轴极性基因ta-siRNA抑制(Nogueira等2007)。

miR396通过负调控*GRFs* (*GROWTH-REGULATING FACTORS*)参与调控细胞增殖和分化过程, 进而影响叶片近-远轴极性的建成(Wang等2011a)。此外, miR396与miR390相似, 与RDR6共同参与tasiR-ARF的加工合成途径, 以调控叶片极性建成(Mecchia等2013)。

miR319的靶基因编码TCP家族转录因子, TCPs通过抑制细胞增殖和促进细胞分化而调控叶片的形态建成(Schommer等2012)。miR319过表达或TCPs功能缺失均造成拟南芥叶片褶皱及缺刻增多的极性变化表型(Palatnik等2003; Li等2012)。此外, TCP3能直接正调控AS1或与AS2蛋白相互作用

后共同抑制*class-1 KNOX*基因, 进而参与叶片极性建成过程(Koyama等2010; Li等2012)。

2.4 叶面发育(Lamina outgrowth)基因

植物叶片发育过程包括SAM外周细胞突起(第1步)、叶原基形成(第2步)、叶面形成(第3步)及生长(第4步)。其中, 叶面生长发育过程中(第3、4步)叶片极性维持对于叶片极性建成也具有重要作用, 该过程发生于叶边缘处的近-远轴毗邻区(adaxial-abaxial juxtaposition), 主要参与基因包括*YABBY*家族基因和*WOX*家族基因(Nakata和Okada 2013)。

2.4.1 YABBY基因家族

*YABBY*家族基因编码的蛋白含有一个保守锌指结构域和一个HMG-like结构域。拟南芥含有6个*YABBY*基因: *FILAMENTOUS FLOWER (FIL)*、*YABBY2 (YAB2)*、*YAB3*、*YAB5*、*CRABS CLAW (CRC)*和*INNER NO OUTER (INO)*。*FIL*、*YAB2*、*YAB3*和*YAB5*表达于叶原基远轴面和叶片边缘区域, 而*CRC*和*INO*仅在花中表达(Siegfried等1999)。*YABBY*家族基因间功能存在冗余, 各自单缺突变体无显著叶片极性缺陷表型, 但*fil yab3*双缺突变体叶片极性分化缺陷, 产生近轴化的狭长叶。*FIL*过表达拟南芥叶片发生远轴化, 且SAM也产生缺陷表型(Siegfried等1999)。对*fil yab2 yab3 yab5*四缺突变体研究发现, 其叶原基期的极性已建成, 但叶片后续发育过程中极性不能被维持, 导致叶面发育缺陷, 表明*YABBY*功能不在于叶片极性初始的建成, 而在于后续极性维持及叶面发育(Sarojam等2010)。

2.4.2 WOX基因家族

*WUS-related homeobox (WOX)*家族基因表达于叶边缘的近-远轴毗邻区, 行使维持近-远轴极性平衡和叶面发育的功能(Nakata等2012)。拟南芥*WOX*基因家族包括*PRESSED FLOWER (PRS)*和*WOX1*, *PRS*和*WOX1*功能冗余, *wox1*缺失突变体无显著缺陷表型, *prs wox1*双缺突变体叶面生长缺陷显著(Nakata等2012; Vandenbussche等2009)。遗传关系分析显示, *prs wox1*双缺突变体可增强远轴极性缺失突变体(*kan1 kan2*或*fil yab3*)的近轴化表型, 同时也可增强近轴极性缺失突变体(*as2*或*rev*)的远轴化表型。但是, *prs wox1*双缺突变体仅表现为叶边缘近-远轴极性缺陷, 表明*PRS*和*WOX1*主要负责

叶边缘近轴极性和远轴极性的平衡(Nakata和Okada 2013)。研究发现, *WOX*基因在促进叶面发育上的作用位于近-远轴极性途径的下游, *WOX*基因可在近-远轴极性基因的反馈调节下促进叶面的发育(Nakata和Okada 2012; Yamaguchi等2012)。

2.5 植物激素调控叶片近-远轴极性建成

生长素是植物重要激素之一, 通过合成调控或运输调控使得生长素在不同组织中形成浓度差异, 进而调控植株生长发育过程。叶片极性建成相关研究表明, 叶原基发生阶段, 生长素从叶原基近轴面流向SAM, 造成叶原基近轴面瞬时低浓度生长素状态, 进而保证叶片正常极性建成; IAA添加至叶原基近轴面可破坏叶片正常极性模式, 使得近轴面产生远轴面的极性特征; 而IAA添加至叶原基远轴面并不影响近-远轴极性建成; 表明IAA从叶原基向SAM运输对于叶片极性建成具有重要作用(Qi等2014; Pekker等2005)。

YUCCA (*YUC*)基因在生长素合成途径中发挥重要功能, 拟南芥基因组共编码11个*YUC*基因。对*YUC*基因研究表明, 生长素作用于近-远轴极性基因途径下游, 具有促进叶面生长及叶边缘形成的功能。拟南芥*YUC*基因表达于叶边缘及出水孔处, *yuc1 yuc2 yuc4 yuc6*四突变体叶片狭窄且缺乏正常叶缘特征。 *kan1 kan2*或者*as2 rev*双突变体中, *YUC*基因将在各自异位叶片处上调并促进异位附

属凸起物产生, 相对应的, 将*YUCs*突变引入*kan1 kan2*或*as2 rev*双突变体中可抑制异位叶片生长(Wang等2011b)。

PIN-FORMED1 (*PIN1*)为生长素转运蛋白, 通过响应近-远轴极性基因的调控而影响叶片极性建成。 *kan1 kan2 kan4*三突变体胚胎发育后期原本集中于SAM的*PIN1*蛋白转移至下胚轴; *phb phv rev*三突变体中, *PIN1*则作用于维管束的中间区域, 进而影响植物极性建成(Izhaki和Bowman 2007)。此外, 一些早期生长素响应基因(如*GH*基因家族和*SAUR-like*基因家族)还受到*KAN1*蛋白的直接抑制(Merelo等2013)。

2.6 叶片近-远轴极性基因间互作

叶片近-远轴极性建成是一个复杂的生长发育过程, 涉及众多调控因子。叶片近轴极性基因正调控近轴极性建成, 对远轴极性建成起负调控作用; 相对应的, 叶片远轴极性基因正调控远轴极性建成, 对近轴极性起负调控作用。叶片由近轴极性基因和远轴极性基因共同作用下完成极性建成过程(图4)。

2.6.1 叶片极性基因间协同促进作用

在叶片极性建成过程中, *KAN*家族基因与*YAB*家族基因间存在协同促进作用。 *YAB*家族基因受近轴极性基因和远轴极性基因双重调控, *AS1/AS2*可负调控*YAB*, *KAN*和*ARF*则可正调控*YAB* (Eshed

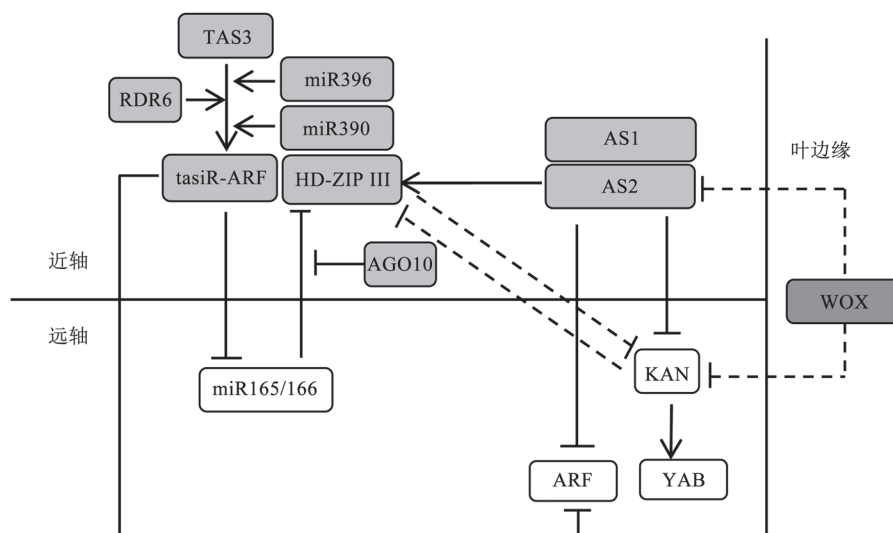


图4 植物叶片近-远轴极性基因调控网络

Fig.4 The gene regulatory network for the establishment of the leaf adaxial-abaxial polarity in plants

等2004; Fu等2007; Lin等2003), *YAB*又可反馈促进 *KAN*和*ARF*表达(Bonaccorso等2012)。*kan1 kan2 kan3*三缺突变中叶原基*YAB3*表达缺失; *kan1 kan2 fil yab3*四缺突变体叶片远轴面极性特征缺失, 呈现剧烈近轴化的辐射状皱缩叶; 此外, *KAN2*异位表达可造成*FIL*异位表达, 并产生远轴化特征(Eshed等2004)。

*KAN*蛋白能与*ARF*蛋白互作形成蛋白复合体(ETT-KAN protein complex), 该复合体通过生长素依赖途径来调控植物生长发育过程(Kelley等2012)。

*HD-ZIP III*基因家族的*REV*可正调控*HD-ZIP II*基因家族的*ATHB2*, 作用于胚胎期SAM区域以控制生长素合成、运输和生长素响应基因表达, 进而影响叶片极性建成(Turchi等2015)。此外, *AS1*过表达植物中*HD-ZIP III*家族基因表达量显著上调, 而*as1*缺失突变体中*HD-ZIP III*表达量降低, 说明*AS1*可正向调控*HD-ZIP III*家族基因(Fu等2007)。

2.6.2 叶片极性基因间拮抗作用

研究表明, *KAN*家族基因与*HD-ZIP III*家族基因间存在拮抗作用。*kan1 kan2 kan3*三缺突变体中*HD-ZIP III*家族基因在叶原基近轴面及远轴面均过量表达(Eshed等2004); 反之, 异位表达*KAN1*或*KAN2*可使得叶片产生与*HD-ZIP III*家族基因缺陷相类似的远轴化叶片(Eshed等2004)。*KAN*家族基因与*HD-ZIP III*家族基因还存在非直接的双向抑制作用关系。此外, *KAN1*与*REV*在调控共同下游靶基因上还存在相反的作用。例如, *KAN1*作为抑制子调控生长素途径基因, 而*REV*则可作为激活子调控生长素途径基因(Huang等2014; Reinhart等2013)。

*KAN1*同*AS2*基因也存在拮抗作用。*AS2*基因启动子区域含有*KAN1*转录因子的保守结合位点, *KAN1*通过此结合位点直接结合抑制*AS2*基因在远轴面表达; 此结合位点序列突变可解除*KAN1*对*AS2*基因的结合抑制作用, 使得*AS2*基因在叶原基远轴面异位表达(Wu等2008)。*as2*突变体中*KAN1*基因表达上调, 表明*AS2*对*KAN1*也具有反向抑制作用(Wu等2008)。

*AS1/AS2*蛋白复合体可通过*tasiR-ARF*间接调控*ARF3*; 此外, *AS1/AS2*蛋白复合体还可通过结合启动子或维持*ARF3*编码区DNA甲基化修饰来抑

制*ARF3*, 进而调控叶片发育(Iwasaki等2013; Machida等2015)。

另外Class I *KNOTTED-LIKE HOMEBOX (KNOX)*家族基因与*ARF*家族基因同样存在拮抗作用来调控叶片极性建成。*KNOX*家族包括*KNAT1/BREVIPEDICELLS (BP)*、*KNAT2*、*KNAT6*和*SHOOT MERISTEMLESS (STM)*。*STM*表达于SAM中心区域, 可负调控*ARP*家族基因; *KNAT1*和*KNAT2*表达于SAM周围区域, 受*ARP*家族基因负调控(Orl等2000)。简单叶的叶原基中*KNOX*表达量低, 复杂叶的叶原基中*KNOX*表达量高; *ARP*家族基因突变后, *KNOX*家族基因的表达抑制被解除, 叶片边缘缺刻加剧, 形成类似于复杂叶的结构(Bharathan等2002)。

3 叶片近-远轴极性建成的研究展望

叶片近-远轴极性建成过程是叶片发育的关键生物学发育过程。数十年的遗传学及分子生物学研究已逐步揭示叶片近-远轴极性特征、极性建成调控以及作用过程。未来植物叶片极性建成研究有望揭示如下科学问题: 进化过程中植物基因组中的极性基因变化及相应极性建成改变; 单子叶植物及裸子植物极性建成与双子叶植物极性建成的区别; 不同类型植物叶片的近-远轴极性模式及其极性建成过程; 叶片近-远轴极性的起始信号及作用过程; 叶片近-远轴极性建成相关极性基因家族(如*KAN*家族、*ARF*家族、*YAB*家族、*HD-ZIP III*家族等)间的遗传关系及作用过程; 极性基因家族的上游信号因子及下游靶基因等等。

叶片是研究植物极性建成的最佳材料, 叶片极性基因功能及其调控网络研究解析可为植物其他组织器官建成发育过程研究提供参考。研究已知除叶片极性建成外, 极性基因还参与调控植物其他众多的形态建成过程, 比如调控茎中形成层分化为木质部和韧皮部(Ursache等2014)以及根(Singh等2014)和水稻颖花(Toriba和Hirano 2014)极性结构建成等等。因此, 植物组织器官极性发育调控基因网络阐明有望为调控经济植物叶形、株型、根、花及果实的发育等提供指导。

参考文献

- 王宏, 李刚波, 张大勇, 蔺经, 盛宝龙, 韩金龙, 常有宏(2013). 植物HD-Zip转录因子的生物学功能. 遗传, 35 (10): 1179~1188

- 严松, 严长杰, 顾铭洪(2008). 植物叶发育的分子机理. 遗传, 30 (9): 1127~1135
- Allen E, Xie ZX, Gustafson AM, Carrington JC (2005). MicroRNA-directed phasing during *trans*-acting siRNA biogenesis in plants. *Cell*, 121: 207~221
- Baima S, Possenti M, Matteucci A, Wisman E, Altamura MM, Ruberti I, Morelli G (2001). The *Arabidopsis* ATHB-8 HD-zip protein acts as a differentiation-promoting transcription factor of the vascular meristems. *Plant Physiol*, 126 (2): 643~655
- Bharathan G, Goliber TE, Moore C, Kessler S, Pham T, Sinha NR (2002). Homologies in leaf form inferred from *KNOX1* gene expression during development. *Science*, 296 (5574): 1858~1860
- Bonaccorso O, Lee JE, Puaah L, Puaah L, Scutt CP, Golz JF (2012). *FILAMENTOUS FLOWER* controls lateral organ development by acting as both an activator and a repressor. *BMC Plant Biol*, 12: 176
- Bou-Torrent J, Salla-Martret M, Brandt R, Musielak T, Palauqui JC, Martínez-García J, Wenkel S (2012). ATHB4 and HAT3, two class II HD-ZIP transcription factors, control leaf development in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav*, 7 (11): 1382~1387
- Bowman J, Eshed Y, Baum F (2002). Establishment of polarity in angiosperm lateral organs. *Trends Genet*, 18 (3): 134~141
- Candela H, Johnston R, Gerhold A, Foster T, Hake S (2008). The *milkweed pod1* gene encodes a KANADI protein that is required for abaxial/adaxial patterning in maize leaves. *Plant Cell*, 20 (8): 2073~2087
- Carlsbecker A, Helariutta Y (2005). Phloem and xylem specification: pieces of the puzzle emerge. *Curr Opin Plant Biol*, 8 (5): 512~517
- Chitwood DH, Nogueira FTS, Howell MD, Montgomery TA, Carrington JC, Timmermans MCP (2009). Pattern formation via small RNA mobility. *Genes Dev*, 23: 549~554
- Emery JF, Floyd SK, Alvarez J, Eshed Y, Hawker NP, Izhaki A, Baum SF, Bowman JL (2003). Radial patterning of *Arabidopsis* shoots by class III HD-ZIP and KANADI genes. *Curr Biol*, 13: 1768~1774
- Eshed Y, Baum SF, Perea JV, Bowman JL (2001). Establishment of polarity in lateral organs of plants. *Curr Biol*, 11: 1251~1260
- Eshed Y, Izhaki A, Baum SF, Floyd SK, Bowman JL (2004). Asymmetric leaf development and blade expansion in *Arabidopsis* are mediated by KANADI and YABBY activities. *Development*, 131: 2997~3006
- Fu YL, Xu L, Xu B, Yang L, Ling QH, Wang H, Huang H (2007). Genetic interactions between leaf polarity-controlling genes and *ASYMMETRIC LEAVES1* and *2* in *Arabidopsis* leaf patterning. *Plant Cell Physiol*, 48: 724~735
- Fukushima K, Haesbe M (2014). Adaxial-abaxial polarity: the developmental basis of leaf shape diversity. *Genesis*, 52: 1~18
- Huang TB, Harrar Y, Lin CF, Reinhart B, Newell NR, Talavera-Rauh F, Hokin SA, Barton MK, Kerstter RA (2014). *Arabidopsis* KANADI1 acts as a transcriptional repressor by interacting with a specific *cis*-element and regulates auxin biosynthesis, transport, and signaling in opposition to HD-ZIPIII factors. *Plant Cell*, 26 (1): 246~262
- Hunter C, Willmann MR, Wu G, Yoshikawa M, Luz Gutiérrez-Nava MDL, Poethig RS (2006). Trans-acting siRNA-mediated repression of *ETTIN* and *ARF4* regulates heteroblasty in *Arabidopsis*. *Development*, 133 (15): 2973~2981
- Iwakawa H, Ueno Y, Semiarti E, Onouchi H, Kojima S, Tsukaya H, Hasebe M, Soma T, Ikezaki M, Machida C et al (2002). The *ASYMMETRIC LEAVES2* gene of *Arabidopsis thaliana*, required for formation of a symmetric flat leaf lamina, encodes a member of a novel family of proteins characterized by cysteine repeats and a leucine zipper. *Plant Cell Physiol*, 43: 467~478
- Iwasaki M, Takahashi H, Iwakawa H, Nakagawa A, Ishikawa T, Tanaka H, Matsumura Y, Pekker I, Eshed Y, Pradel VS et al (2013). Dual regulation of *ETTIN* (*ARF3*) gene expression by AS1-AS2, which maintains the DNA methylation level, is involved in stabilization of leaf adaxial-abaxial partitioning in *Arabidopsis*. *Development*, 140: 1958~1969
- Izhaki A, Bowman JL (2007). KANADI and class III HD-Zip gene families regulate embryo patterning and modulate auxin flow during embryogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 495~508
- Juarez MT, Kui JS, Thomas J, Heller BA, Timmermans MCP (2004). microRNA-mediated repression of *rolled leaf1* specifies maize leaf polarity. *Nature*, 428: 84~88
- Kelley DR, Arreola A, Gallagher TL, Gasser CS (2012). *ETTIN* (*ARF3*) physically interacts with KANADI proteins to form a functional complex essential for integument development and polarity determination in *Arabidopsis*. *Development*, 139: 1105~1109
- Kerstetter RA, Bollman K, Taylor RA, Bomblied K, Poethig RS (2001). *KANADI* regulates organ polarity in *Arabidopsis*. *Nature*, 411: 706~709
- Koyama T, Mitsuda N, Seki M, Shinozaki K, Ohme-Takagi M (2010). TCP transcription factors regulate the activities of *ASYMMETRIC LEAVES1* and miR164, as well as the auxin response, during differentiation of leaves in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 22 (11): 3574~3588
- Li ZY, Li B, Shen WH, Huang H, Dong AW (2012). TCP transcription factors interact with AS2 in the repression of class-I *KNOX* genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 71: 99~107
- Liu ZY, Jia LG, Wang H, He YK (2011). HYL1 regulates the balance between adaxial and abaxial identity for leaf flattening via miRNA-mediated pathways. *J Exp Bot*, 62 (12): 4367~4381
- Lin WC, Shuai B, Springer PS (2003). The *Arabidopsis* *LATERAL ORGAN BOUNDARIES*-domain gene *ASYMMETRIC LEAVES2* functions in the repression of *KNOX* gene expression and in adaxial-abaxial patterning. *Plant Cell*, 15: 2241~2252
- Machida C, Nakagawa A, Kojima S, Takahashi H, Machida Y (2015). The complex of *ASYMMETRIC LEAVES* (AS) proteins plays a central role in antagonistic interactions of genes for leaf polarity specification in *Arabidopsis*. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 4 (6): 655~671
- McConnell JR, Barton MK (1998). Leaf polarity and meristem formation in *Arabidopsis*. *Development*, 125: 2935~2942
- McConnell JR, Emery J, Eshed Y, Bao N, Bowman J, Barton MK (2001). Role of *PHABULOSA* and *PHAVOLUTA* in determining

- radial patterning in shoots. *Nature*, 411: 709~713
- Mecchia MA, Debernardi JM, Rodriguez RE, Schommer C, Palatnik JF (2013). MicroRNA miR396 and RDR6 synergistically regulate leaf development. *Mech Dev*, 130: 2~13
- Merelo P, Xie YK, Brand L, Ott F, Weigel D, Bowan JL, Heisler MG, Wenkel S (2013). Genome-wide identification of KANADI1 target genes. *PLoS ONE*, 8: e77341
- Montgomery TA, Howell MD, Cuperus JT, Li DW, Hansen JE, Alexander AL, Chapman EJ, Fahlgren N, Allen E, Carrington JC (2008). Specificity of ARGONAUTE7-miR390 interaction and dual functionality in *TAS3* trans-acting siRNA formation. *Cell*, 133: 128~141
- Nakata M, Matsumoto N, Tsugeki R, Rikirsch E, Laux T, Okada K (2012). Roles of the middle domain-specific *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN* genes in early development of leaves in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24: 519~535
- Nakata M, Okada K (2012). The three-domain model: a new model for the early development of leaves in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav*, 7: 1~5
- Nakata M, Okada K (2013). The leaf adaxial-abaxial boundary and lamina growth. *Plants*, 2 (2): 174~202
- Nogueira FT, Madi S, Chitwood DH, Juarez MT, Timmermans MCP (2007). Two small regulatory RNAs establish opposing fates of a developmental axis. *Genes Dev*, 21: 750~755
- Ori N, Eshed Y, Chuck G, Bowan JL, Hake S (2000). Mechanisms that control *knox* gene expression in the *Arabidopsis* shoot. *Development*, 127: 5523~5532
- Otsuga D, DeGuzman B, Prigge MJ, Drews GN, Clark SE (2001). *REVOLUTA* regulates meristem initiation at lateral positions. *Plant J*, 25 (2): 223~236
- Palatnik JF, Allen E, Wu XL, Schommer C, Schwab R, Carrington JC, Weigel D (2003). Control of leaf morphogenesis by microRNAs. *Nature*, 425: 257~263
- Pekker I, Alvarez JP, Eshed Y (2005). Auxin response factors mediate *Arabidopsis* organ asymmetry via modulation of KANADI activity. *Plant Cell*, 17: 2899~2910
- Prigge MJ, Otsuga D, Alonso JM, Ecker JR, Drews GN, Clark SE (2005). Class III homeodomain-leucine zipper gene family members have overlapping, antagonistic, and distinct roles in *Arabidopsis* development. *Plant Cell*, 17: 61~76
- Qi JY, Wang Y, Yu T, Cunha A, Wu BB, Vernoux T, Meyerowitz E, Jiao YL (2014). Auxin depletion from leaf primordia contributes to organ patterning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111: 18769~18774
- Reinhart BJ, Liu T, Newell NR, Magnani E, Huang TB, Kerstetter R, Michaels S, Barton MK (2013). Establishing a framework for the ad/abaxial regulatory network of *Arabidopsis*: ascertaining targets of class III HOMEODOMAIN LEUCINE ZIPPER and KANADI regulation. *Plant Cell*, 25: 3228~3249
- Reinhardt D, Frenz M, Mandel T, Kuhlemeier C (2005). Microsurgical and laser ablation analysis of leaf positioning and dorsoventral patterning in tomato. *Development*, 132: 15~26
- Sarojram R, Sappl PG, Goldshmidt A, Efroni I, Floyd SK, Eshed Y, Bowman JL (2010). Differentiating *Arabidopsis* shoots from leaves by combined YABBY activities. *Plant Cell*, 22: 2113~2130
- Schommer C, Bresso EG, Spinelli SV, Palatnik JF (2012). Role of microRNA miR319 in plant development. In: Sunkar R (ed). *MicroRNAs in Plant Development and Stress Responses*. Berlin, Heidelberg: Springer, 29~47
- Semiarti E, Ueno Y, Tsukaya H, Iwakawa H, Machida C, Machida Y (2001). The *ASYMMETRIC LEAVES2* gene of *Arabidopsis thaliana* regulates formation of a symmetric lamina, establishment of venation and repression of meristem-related homeobox genes in leaves. *Development*, 128: 1771~1783
- Siegfried KR, Eshed Y, Baum SF, Otsuga D, Drews GN, Bowman JL (1999). Members of the *YABBY* gene family specify abaxial cell fate in *Arabidopsis*. *Development*, 126: 4117~4128
- Singh A, Singh S, Panigrahi KCS, Reski R, Sarkar AK (2014). Balanced activity of *microRNA166/165* and its target transcripts from the class III homeodomain-leucine zipper family regulates root growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep*, 33 (6): 945~953
- Telfer A, Bollman KM, Poethig RS (1997). Phase change and the regulation of trichome distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 124: 645~654
- Toriba T, Hirano H (2014). The *DROOPING LEAF* and *OsETTIN2* genes promote awn development in rice. *Plant J*, 77: 616~626
- Turchi L, Carabelli M, Ruzza V, Possenti M, Sassi M, Penalosa A, Sessa G, Salvi S, Forte V, Morelli G et al (2013). *Arabidopsis* HD-Zip II transcription factors control apical embryo development and meristem function. *Development*, 140 (10): 2118~2129
- Turchi L, Baima S, Morelli G, Ruberti I (2015). Interplay of HD-Zip II and III transcription factors in auxin-regulated plant development. *J Exp Bot*, 66 (16): 5043~5053
- Ursache U, Miyashima S, Chen QG, Vaten A, Nakajima K, Carlsoebercker A, Zhao YD, Helariutta Y, Dettmer J (2014). Tryptophan-dependent auxin biosynthesis is required for HD-ZIP III-mediated xylem patterning. *Development*, 141 (6): 1250~1260
- Vandenbussche M, Horstman A, Zethof J, Koes R, Rijpkema AS, Gerats T (2009). Differential recruitment of *WOX* transcription factors for lateral development and organ fusion in petunia and *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21: 2269~2283
- Waites R, Hudson A (1995). *phantastica*: a gene required for dorsoventrality of leaves in *Antirrhinum majus*. *Development*, 121: 2143~2154
- Waites R, Selvadurai H, Oliver IR, Hudson A (1998). The *PHANTASTICA* gene encodes a MYB transcription factor involved in growth and dorsoventrality of lateral organs in *Antirrhinum*. *Cell*, 93: 779~789
- Wang L, Gu XL, Xu DY, Wang W, Wang H, Zeng MH, Chang ZY, Huang H, Cui XF (2011a). miR396-targeted AtGRF transcription factors are required for coordination of cell division and differentiation during leaf development in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 62: 761~773
- Wang W, Xu B, Wang H, Li J, Huang H, Xu L (2011b). *YUCCA* genes are expressed in response to leaf adaxial-abaxial juxtaposi-

- tion and are required for leaf margin development. *Plant Physiol*, 157: 1805~1819
- Wu G (2013). Plant microRNAs and development. *J Genet Genomics*, 40: 217~230
- Wu G, Lin WC, Huang T, Poethig RS, Springer PS, Kerstetter RA (2008). KANADI1 regulates adaxial-abaxial polarity in *Arabidopsis* by directly repressing the transcription of *ASYMMETRIC LEAVES2*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 16392~16397
- Xu L, Xu Y, Dong AW, Sun Y, Pi LM, Xu YQ, Huang H (2003). Novel *as1* and *as2* defects in leaf adaxial-abaxial polarity reveal the requirement for *ASYMMETRIC LEAVES1* and *2* and *ERECTA* functions in specifying leaf adaxial identity. *Development*, 130: 4097~4107
- Xu L, Yang L, Pi LM, Liu QL, Ling QH, Wang H, Poething RS, Huang H (2006). Genetic interaction between the *AS1-AS2* and *RDR6-SGS3-AGO7* pathways for leaf morphogenesis. *Plant Cell Physiol*, 47: 853~863
- Yamaguchi T, Nukazuka A, Tsukaya H (2012). Leaf adaxial-abaxial polarity specification and lamina outgrowth: evolution and development. *Plant Cell Physiol*, 53 (7): 1180~1194
- Zhang GH, Xu Q, Zhu XD, Qian Q, Xue HW (2009). SHALLOT-LIKE1 is a KANADI transcription factor that modulates rice leaf rolling by regulating leaf abaxial cell development. *Plant Cell*, 21: 719~735
- Zhong RQ, Ye ZH (2007). Regulation of *HD-ZIP III* genes by microRNA 165. *Plant Signal Behav*, 2: 351~353
- Zhu HL, Hu FQ, Wang RH, Zhou X, Sze SH, Liou LW, Barefoot A, Dickman M, Zhang XR (2011). *Arabidopsis* Argonaute10 specifically sequesters miR166/165 to regulate shoot apical meristem development. *Cell*, 145 (2): 242~256