

拟南芥早期胚胎模式建成及分子机制的研究进展

李淑勤, 李璐, 陈洪宇, 赵洁*

杂交水稻国家重点实验室, 武汉大学生命科学院, 武汉430072

摘要: 起源于受精卵(合子)的胚胎发生是植物个体发育的起点, 早期胚胎发育过程中的细胞命运决定和模式建成决定了组织和器官的形成, 从而奠定了成熟胚胎的发育以及植株产生的基础。早期胚胎发育中的细胞分裂方向非常精确, 导致了被子植物的胚胎发育具有丰富的多样性。近年来已有大量研究揭示了拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)早期胚胎发育中一些重要生物学事件的遗传途径和分子调控机制, 本文综述了拟南芥早期胚胎发育过程中合子激活和极性建立、顶-基轴模式建成、表皮原形成和辐射对称模式建成、茎顶端分生组织和胚根原的分化、以及维管束原和基本组织原的分化等重要的生物学事件和分子机制的最新研究进展, 并展望了今后有待研究的方向和需要进一步解决的问题。

关键词: 拟南芥; 早期胚胎; 细胞分化; 模式建成; 分子机制

高等植物的胚胎发生(embryogenesis)是个体发育的一个关键过程, 胚胎发生是以受精后形成的单细胞合子为起点, 启动胚胎发生进程有次序并精确地发育为成熟胚胎的过程(Hamamura等2012)。目前对模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的胚胎发生已经有了比较深刻和清楚的认识, 在这个过程中, 胚胎细胞遵循定向且高度有序的分裂模式, 使其成为研究细胞分裂和组织分化机制的十分理想的模型(Jeong等2011; Wendrich和Weijers 2013; Costa等2014; Huang等2014)。拟南芥早期胚胎发育的细胞命运决定和模式建成产生了不同的细胞类型, 决定了胚胎发育及胚后发育过程, 从而形成成熟的个体(Smit和Weijers 2015)。早期胚胎发育涉及许多重要的生物学过程, 包括合子激活和极性转变、顶-基轴模式建成、表皮原形成和辐射对称模式建成、茎顶端分生组织和胚根原的分化、以及维管束原和基本组织原的细胞分化等等。本文将阐述上述这些生物学事件以及调控这些事件的分子机制等方面取得的最新研究进展, 并探讨早期胚胎发生过程中涉及的热点问题。

1 早期胚胎的细胞分裂及模式建成

拟南芥胚胎经历十分规律且高度有序的细胞分裂, 产生组织和器官的分化和模式建成, 最终发育为成熟胚胎(ten Hove等2015)。在过去很长一段时间里, 人们主要通过切片技术和光学显微观察的方法对这个过程中的细胞分裂模式进行研究, 但是对于细胞分裂面定位相关的细节仍然知之甚少。最近Yoshida等(2014)通过三维结构分析了拟南芥胚胎的定向发育, 进一步提高了人们对早期胚胎发育的理解和认知(Yoshida等2014)。

拟南芥卵细胞与精细胞融合形成二倍体的合子(受精卵), 合子被激活后迅速伸长为约为原来的3倍, 并进行一次不对称分裂, 形成一个较小的顶细胞和一个较大的基细胞(Wendrich等2013)。基细胞经过数次横向分裂发育为由7~9个细胞组成的胚柄, 胚柄最上层的一个细胞参与胚根的发育, 其他细胞随着胚胎成熟的进程逐渐退化(Haecker等2004)。与此同时, 顶细胞先进行两次纵向分裂形成四个大小相等的细胞, 然后进行一次横向分裂形成八细胞原胚, 胚胎被分为上、下两层, 上层细胞略小于下层细胞。之后胚体所有细胞以辐射对称的模式进行一次切向分裂, 产生八个外层细胞和八个内层细胞, 形成表皮原(proto-derm)和内部组织(inner tissues)。以前, 通过切片技术的二维图像难以确定细胞体积的差异。最近, 通过三维模型重建发现, 该阶段外层细胞的体积约是内层细胞的两倍(Yoshida等2014)。在其后的发育过程中, 胚体细胞的分裂方向、体积大小、不均等分裂等方面均非常规则和精确。表皮原细胞进行垂周分裂使外层进一步扩大, 而内层细胞则进行纵向分裂形成维管束原(vascular primordia)和基本组织原(ground tissue primordia)。在早球形期向晚球形期转化的过程中, 胚柄最上层的一个细胞分化为胚根原(hypophysis), 并通过一次不对称分裂形成一个较小的棱镜状细胞和一个较大的基部细胞, 这

收稿 2016-12-28 修定 2017-02-27

资助 国家重点基础研究发展计划(2012CB944801)和国家自然科学基金(30970277)。

* 通讯作者(E-mail: jzhao@whu.edu.cn)。

两个细胞随后分别发育为静止中心(quiescent centre, QC)和中柱干细胞(stele stem cells) (Schlereth等2010)。在晚球形期向转换期(是指胚胎发育过程中在球形期和心形期之间的过渡时期)转化的过程中, 胚胎产生子叶原基和茎顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM), 其形态从辐射对称转变为两侧对称(Nawy等2010)。紧接着胚胎发育过程依次经历心形期、鱼雷期和弯叶子叶期, 最终发育为成熟的胚胎。本文旨在阐述和讨论早期胚胎发育过程中(心形期之前)的重要生物学事件及相关分子机制的最新研究进展。

2 合子激活及早期胚胎模式建成的分子调控机制

拟南芥胚胎发育过程中细胞命运的决定通常受特定的分子信号调节, 并且是受特异基因的表达进行调控。近年来对一些在胚胎发育过程中发挥重要功能的基因的研究取得了很多重要的进展, 这里仅针对早期胚胎发育中的重要生物学事件及所涉及的分子调控机制的最新研究进展进行论述。

2.1 合子基因的激活开启胚胎发育的进程

合子基因激活(zygotic genome activation, ZGA)是从母本向合子转化的标志性事件, 也是胚胎发生的起始。高等植物的精卵细胞融合之后, 受精前处于转录沉默状态的卵细胞被激活, 开始合成mRNA和蛋白质, 并启动合子活性和早期胚胎发生进程。

由于植物的受精卵在体外操作较为困难, 人们对于植物中合子激活事件的了解与动物相比相对较少(Del Toro-De León等2016)。植物中合子激活的研究方法主要有检测报告基因的表达、实时荧光定量PCR及转录组测序后通过单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)来量化父母本基因组在合子激活中的贡献等(Luo等2014; García-Aguilar等2015)。近年来一些研究表明母本和父本基因组在合子早期发育中的转录是等效的(Nodine和Bartel 2012; Yu等2012), 而其他研究证明母本基因组具有转录优势(Autran等2011; Del Toro-De León等2014)。因此, 在转录水平上对于父母本基因组在合子激活中的贡献仍存在争议(Guo等2016)。

拟南芥*FAC1* (*EMBRYONIC FACTOR 1*)编码腺苷酸脱氢酶, 通过降解adenosine monophosphate (AMP)为合子激活提供能量; 而*ZEUS1*编码胸腺嘧啶激酶, 对合子的第一次分裂是必需的(Xu等2005;

Ronceret等2008)。此外, *ATLIG1* (*ARABIDOPSIS THALIANA DNA LIGASE 1*)、*ATYAO* (*ARABIDOPSIS THALIANA YAOZHE*)以及*ATCDC5* (*ARABIDOPSIS THALIANA CELL DIVISION CYCLE 5*)和*ATCUL1* (*ARABIDOPSIS THALIANA CULLIN 1*)的突变均会导致合子细胞停滞分裂, 暗示这些基因在合子分裂中具有重要作用(Andreuzza等2010; Li等2010; Lin等2007; Shen等2002)。

2.2 合子极性的建立

合子极性的建立是胚胎发生过程中的首要事件。大多数双子叶植物中, 受精前的卵细胞具有明显的极性: 细胞核位于合点端, 一个大液泡位于珠孔端。受精后卵细胞中的大液泡转变为均匀分布的许多小液泡, 细胞核移到合子中间, 此时细胞并没有明显的极性, 为瞬时对称的阶段(Sprunck和Gross-Hardt 2011; Lau等2012)。此后合子开始快速合成细胞壁并迅速伸长, 基部产生一个大液泡, 细胞核移到合子顶端, 出现明显的细胞器、细胞核和细胞质的极性分布, 由此可见合子具有去极化和复极化的显著特征(Ueda和Laux 2012; Zhao和Sun 2015)。拟南芥转录因子*WRKY2* (*WRKY DNA-BINDING PROTEIN 2*)在基细胞及其子代细胞中表达, 通过直接调控*WOX8* (*WUSCHEL RELATED HOMEBOX 8*)的表达来参与合子极性建立, *WOX9* (*WUSCHEL RELATED HOMEBOX 9*)可能也在此途径中被诱导表达(图1)。然而, 在*wkry2*突变体中超表达*WOX8*不能完全恢复突变体的表型, 暗示可能还有参与此过程的其他成员尚未被发现(Ueda等2011)。CLE (*CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION-RELATED*)分泌蛋白家族的CLE8也被认为参与*WOX8*的活性调节, *cle8*突变体胚柄细胞中*WOX8*的表达基本消失, 暗示该蛋白可能位于*WOX8*上游(Fiume等2012)。GN (*GNOM*)编码一个ARF-GEF (ADP ribosylation factor-guanine nucleotide exchange factor), 与其同源蛋白GNL1 (*GNOM-LIKE 1*)冗余地在内质网-高尔基体分泌途径中发挥作用(Wolters等2011)。最近的研究表明, GNOM/GNL1介导的早期分泌途径参与调节生长素输出载体PIN1 (*PIN-FORMED 1*)的极性分布, 从而导致生长素信号的极性分布, 在早期胚胎的极性建立中发挥重要作用(图1) (Doyle等2015)。

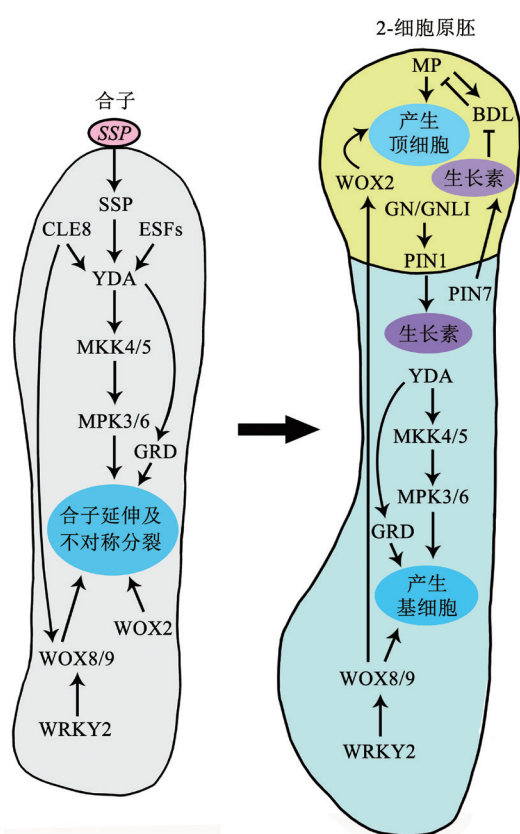


图1 拟南芥合子和胚胎顶-基轴极性建立

Fig.1 Polarity establishment of zygote and apical-basal axis during early embryogenesis of *Arabidopsis*

2.3 早期胚胎顶-基轴极性的建立

拟南芥合子的第一次不对称分裂产生大小不同的顶细胞和基细胞, 顶、基细胞差异性的命运分化奠定了胚胎顶-基轴极性建立的基础。目前, 对于顶、基细胞命运分化机制的研究主要集中在3个方面, 即 WOX ($WUSCHEL$ -RELATED HOMEBOX) 转录因子家族在顶、基细胞中的差异表达, 生长素依赖途径和 YDA /MAPK ($YODA$ /mitogenactivated protein kinase)途径的调控作用。

WOX 基因家族是在早期胚胎发生过程中差异表达的基因。 $WOX2$ 和 $WOX8$ 在卵细胞和合子中均有表达, 合子第一次分裂后, $WOX2$ 在顶细胞中特异表达, 而此时 $WOX8$ 和 $WOX9$ 在基细胞中表达, 然而有研究表明 $WOX8$ 和 $WOX9$ 可能参与介导 $WOX2$ 在顶细胞中表达的信号通路(图1)(*Wu等2007; Breuninger等2008*)。

生长素依赖途径对于胚胎顶-基轴极性建立同

样具有至关重要的作用。合子第一次分裂后, 定位在基细胞顶部的细胞膜的PIN7 (PIN-FORMED 7)介导生长素从基细胞运输至顶细胞, 顶细胞后代中产生的生长素响应对于细胞的分化十分重要(图1)(*Friml等2003*)。转录调节因子 MP ($MONOPTEROS$)编码生长素响应因子ARF5 (AUXIN RESPONSE FACTOR 5), BDL ($BODENLOS$)编码生长素响应抑制子IAA12 (INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE 12), 二者在顶细胞及其子代细胞中均有表达(*Hardtke和Berleth 1998; Hamann等2002*)。由 MP 和 BDL 组成的两个反馈回路相互关联, 生长素介导IAA12蛋白降解从而激活ARF5的表达(图1)(*Lau等2011*)。

YDA ($YODA$)编码的MAPKK (mitogenactivated protein kinase kinase)激酶, 在合子、顶细胞和基细胞中均有表达。 YDA 缺失后合子的伸长受到严重影响, 胚柄变短且分裂异常; 而将 YDA 过表达后胚柄过度伸长且细胞数目增多(*Lukowitz等2004; Musielak和Bayer 2014*)。虽然目前对 YDA /MAPK途径的具体机制尚不清楚, 但是已有研究报道部分基因参与该过程。*Bayer等(2009)*证实 SSP ($SHORT SUSPENSOR$)编码白细胞介素-1受体相关激酶(interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK), 受精前被抑制的父本 SSP 转录产物在合子中被激活翻译, 在 YDA 上游将其激活从而触发合子伸长及不对称分裂(*Bayer等2009*)。一个富含半胱氨酸的多肽家族 $ESFs$ (EMBRYO SURROUNDING FACTORS)也被认为作用于 YDA 的上游影响胚胎顶-基轴极性分裂以及胚柄长度(*Costa等2014*)。已有的研究表明, $ESFs$ 蛋白在胚乳中生成, 而最近对早期胚胎的转录组分析显示 $ESFs$ 的转录产物在原胚中可能也有分布(*Le等2010; Nodine等2012; Slane等2014*)。MAPK家族的 $MPK3$ ($MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 3$)和 $MPK6$ ($MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 6$)双突变体胚胎的表型与 $yda-1$ 类似, 推测它们位于 YDA 下游, 且功能冗余。此外, 遗传学实验证实 $MKK4$ ($MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE 4$)和 $MKK5$ ($MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE 5$)位于 YDA 的下游及 $MPK3$ / $MPK6$ 的上游, 参与胚胎顶-基轴模式建成(*Wang等2007*)。RKD

(RWP-RK domain-containing)转录因子GRD/RKD4 (GROUNDED/RWP-RK DOMAIN-CONTAINING 4)以独立于YDA/MAPK的其他途径受YDA调控,影响合子延伸和胚柄形成,具体机制尚待探究(图1)(Jeong等2011; Waki等2011; Bayer等2016)。

2.4 表皮原形成和辐射对称模式建立

拟南芥早期胚胎的胚体发育至八细胞时,进行一次平周分裂形成十六细胞原胚,包括内、外两个细胞群:表皮原和内层细胞。内外层细胞的命运决定与ATML1 (*ARABIDOPSIS THALIANA MERISTEM LAYER 1*)表达模式的改变密切相关。ATML1编码HD-ZIP IV (class IV homeodomain leucine zipper)转录因子(Mukherjee等2009),在八细胞胚胎之前ATML1在胚胎的所有细胞中表达,十六细胞开始在胚体中的表达仅限制在外层细胞(Lu等1996; Sessions等1999)。研究表明处于ATML1上游的调控因子可能是生长素或经microRNA途径(Takada和Jürgens 2007; Nodine和Bartel 2010)。PDF2 (*PROTODERMAL FACTOR 2*)与ATML1高度同源,PDF2从四细胞胚体开始广泛表达,早球形期后其

表达被限制在胚体的最外层细胞(图2), ATML1和PDF2双突变后表皮细胞的分化产生严重缺陷(Abe等2003; San-Bento等2014)。有研究表明ATML1和PDF2与顺式作用元件L1-Box结合从而调控下游基因的表达,这两个基因自身也含有该元件,推测ATML1和PDF2能够通过调控自身的活性来促进表皮原的分化(Abe等2001, 2003; Nakamura等2006)。最近的研究发现ATML1是表皮原分化的主要转录调控因子,将其过表达会使其他表皮特异基因在内层组织中异位表达,诱导非表皮组织产生类似表皮组织的分化(Peterson等2013; Takada等2013)。此外,从八细胞胚开始,两个亮氨酸富集重复的受体类激酶RPK1 (RECEPTOR-LIKE PROTEIN KINASE 1)和RPK2 (RECEPTOR-LIKE PROTEIN KINASE 2)通过将内层细胞的命运限制在胚胎的中央区域也影响了内、外层细胞的命运决定(图2)(Nodine等2007)。

2.5 茎顶端分生组织和胚根原的分化

当胚胎发育至表皮原阶段(十六细胞胚体)时,茎顶端分生组织(SAM)和胚根原的细胞命运决定

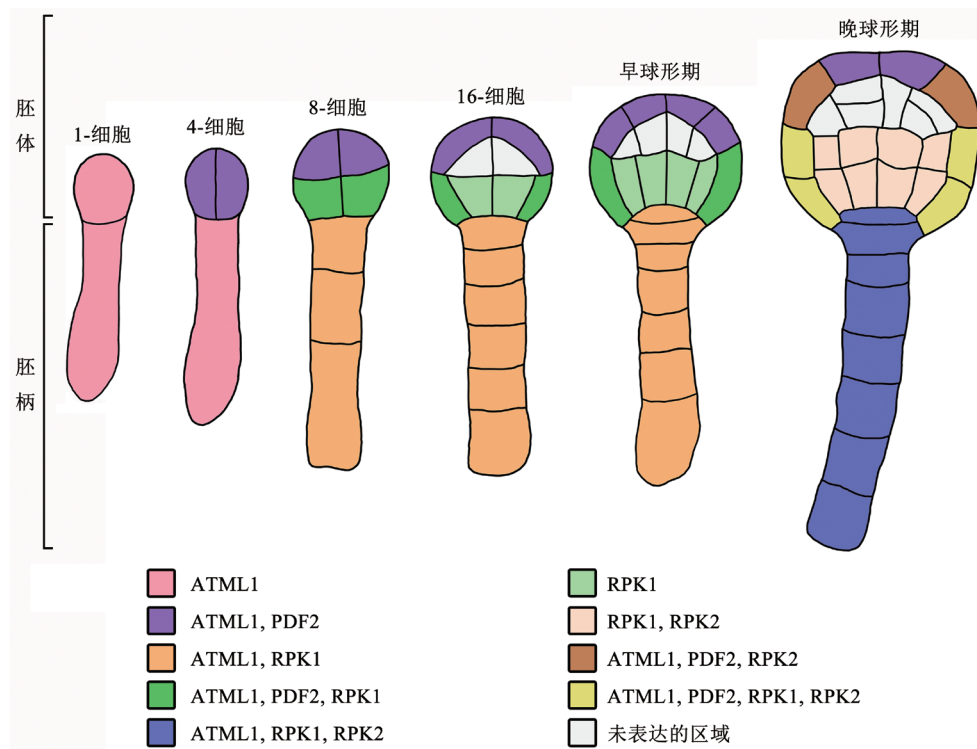


图2 拟南芥早期胚胎辐射对称模式建立

Fig.2 Establishment of radial patterning during early embryogenesis of *Arabidopsis*

就已经开始。十六细胞胚胎的胚体可分为上层和下层, 在这两层细胞中基因表达出现明显的差异。在早球形胚的上层细胞中, HD-ZIP III (class III homeodomain leucine zipper) 转录因子家族 *PHB* (*PHABULOSA*), *PHV* (*PHAVOLUTA*), *REV* (*REVOLUTA*), *ATHB8* (*ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX GENE 8*) 和 *ATHB15* (*ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX GENE 15*) 等基因的表达对于茎顶端分生组织的维持必不可少 (Emery 等 2003)。而 *PLT* (*PLETHORA*) 转录因子家族中 *PLT1* 和 *PLT2* 基因只在早球形胚的下层细胞中表达 (Aida 等 2004; Galinha 等 2007)。研究表明转录共抑制因子 *TPL* (*TOPELESS*) 直接结合 *PLT* 基因的启动子从而抑制其转录, 而 *tpl* 突变体的胚胎上部产生类似胚根的结构, 这种结构在 *HD-ZIP III* 基因 *PHB* 突变后消失。此外, *PLT* 启动子驱动 *HD-ZIP III* 异位表达会使基部细胞产生类似 SAM 的结构, 推测 *HD-ZIP III* 和 *PLT* 转录因子家族相互拮抗地决定胚胎上下层细胞的命运 (Smith 和 Long 2010)。*HD-ZIP III* 基因的表达同样受到胚体远轴区域表达的 *microRNA 165/166* 家族成员的调控, 其中 *miR166* 限制 *HD-ZIP III* 基因在近轴区域表达 (图 3-A) (Mallory 等 2004; Williams 等 2005; Miyashima 等 2013)。最近发现 *HD-ZIP II* 家族的部分基因在胚体上层细胞中的表达受到 *REV* 的直接调控, 暗示 *HD-ZIP III* 通过激活 *HD-ZIP II* 来调控胚胎发育 (Brandt 等 2012; Turchi 等 2013; Reinhart 等 2013)。*miR394B* (*microRNA-A394B*) 在早球形胚中广泛表达, 而茎顶端分生组织开始形成时 *miR394B* 的表达限制在 SAM 的 L1 层。*miR394B* 通过解除 *LCR* (*LEAF CURLING RESPONSIVENESS*) 对 *CLV3* (*CLAVATA3*) 和 *WUS* (*WUSCHEL*) 的抑制作用来维持茎顶端分生组织。*CLV3* 和 *WUS* 通过反馈循环调节来控制茎顶端分生组织的大小, *CLV3* 的缺失导致干细胞和 SAM 的增殖, 而 *WUS* 缺失后茎顶端分生组织会停止分化 (Knauer 等 2013)。此外, *STM* (*SHOOTMERISTEMLESS*) 是调控茎顶端分生组织形成和分化的重要基因, 其蛋白活性能够维持茎顶端分生组织的细胞状态, 缺失该基因将导致茎顶端分生组织无法形成 (图 3-B) (Barton 和 Poethig 1993)。

胚根原的形成与分化标志着根尖分生组织发育的起始。球形时期 *WOX5* 在胚根原细胞中特异

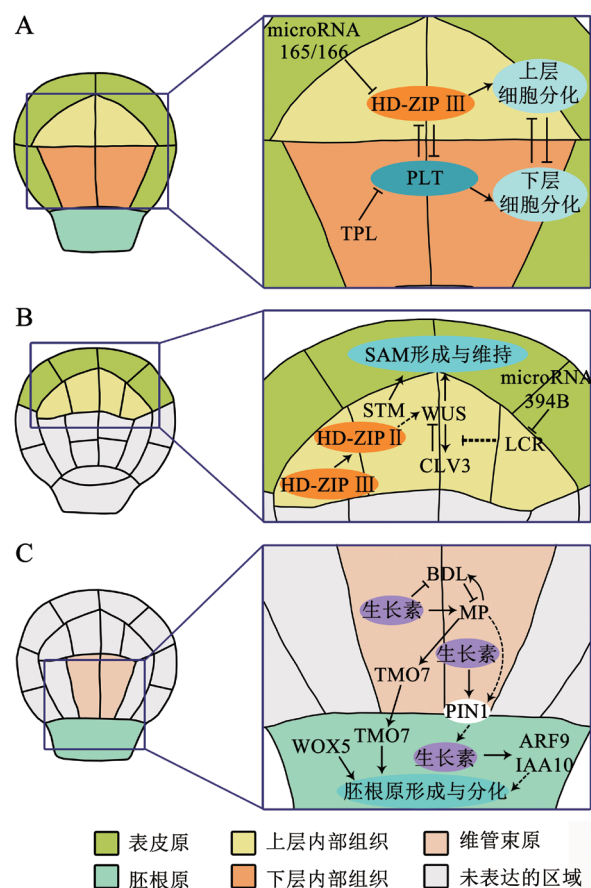


图3 拟南芥早期胚胎茎顶端分生组织和胚根原的分化
Fig.3 Determination of shoot apical meristem and hypophysis during early embryogenesis of *Arabidopsis*

A: 16-细胞时期HD-ZIP III和PLT转录因子家族相互拮抗地决定胚体上下层细胞的命运; B: 球形期胚胎茎顶端分生组织的分化; C: 球形期胚胎胚根原的分化。

表达, 胚根原不对称分裂后 *WOX5* 的表达被限制在静止中心 (Haecke 等 2004)。生长素在胚根原的形成和分化中也发挥重要作用 (Möller 和 Weijers 2009): *PIN1* 在维管束原中表达, 将生长素转运至胚根原; *MP* 和 *BDL* 不仅调控维管束原的形成, 也参与胚根原的分化, *MP* 能够调控胚根原周围的细胞发育成为胚根 (Weijers 等 2006)。TOM7 (*TRANSLOCASE OF OUTER MEMBRANE 7*) 是位于 *MP* 下游的 bHLH (basic Helix-Loop-Helix) 转录因子, 下调其表达会使胚根原分裂异常 (Schlereth 等 2010); *IAA10* (*INDOLEACETIC ACID-INDUCED PROTEIN 10*) 和 *ARF9* (*AUXIN RESPONSE FACTOR 9*) 可能参与介导胚根原中的生长素响应 (图 3-C) (Rademacher 等 2011, 2012)。

2.6 维管束原和基本组织原的分化

在拟南芥胚体发育至32~64细胞时期的球形胚胎中,下部细胞由外向内可分为三层:最外层为表皮原细胞,最内层中央的细胞为维管束原,而这两层中间的细胞为基本组织原。目前对维管束原和基本组织原分化的认识主要来源于GRAS(包括GAI, RGA和SCR 3个蛋白)蛋白家族的转录因子SHR (SHORT ROOT)和SCR (SCARECROW) (Pysh等1999)。SHR在晚球形胚的维管束原中表达(Helariutta等2000; Sena等2004),但SHR蛋白能够从维管束原转运至周围的基本组织和静止中心,激活这些细胞中SCR的转录(Nakajima等2001; Gallagher等2004; Vatén等2011),SCR能促进基本组织中最靠近内层的细胞分化为内皮层(Heidstra等2004)。胚胎发育至晚球形期之后SCZ (SCHIZORIZA)在维管束原、基本组织原和静止中心表达,目前认为SCZ可能通过下调SHR和SCR的表达来促进皮层分化,并且抑制内皮层的分化(图4) (ten Hove等2010)。转录因子TOM5和LHW (LONESOME HIGHWAY)均含有bHLH结构域,二者能够形成同源二聚体,作用于MP下游促进维管束原的形成和维持(Ohashi-Ito和Bergmann 2007; De Rybel等2013)。最近研究证实参与细胞分裂素生物合成途径最后一步的LOG4 (LONELY GUY 4)酶,可能是TMO5-LHW复合体的直接靶标(De Rybel等2014)。双突变体*tmo5 tmo5-like1*和*lhw lhw-like3*中维管束原细胞的平周分裂产生异常(Schlereth等2010; Ohashi-Ito等2013),而采用外源细胞分裂素处理后,该双突变体能进行正常平周分裂,细胞数目增加,甚至达到野生型的水平,暗示LOG4基因和细胞分裂素对TMO5-LHW复合体在维管束原形成中的功能发挥十分重要(图4) (De Rybel等2014; Smit和Weijers 2015)。

3 线粒体蛋白在早期胚胎发育中发挥着重要的作用

线粒体是真核细胞的能量工厂,为细胞内的各种生命活动提供ATP。作为半自主细胞器,线粒体自身基因组的表达对其结构维持和功能的发挥必不可少。目前拟南芥线粒体的结构元件已十分清晰,高通量测序也揭示了线粒体的基因组成和表达情况(Millar等2008)。遗传学和分子生物学研究表明,部分核基因编码的线粒体蛋白在植物生长发育中发挥重要作用。Law等(2012)通过大规模生物信息学分析及正反向遗传筛选,获得了拟南

芥239个编码线粒体蛋白的核基因,其中已有报道的78个基因中近40%基因的突变体具有胚胎致死的表型,而拟南芥基因组中能够产生胚胎致死表型的基因占基因总数的比例远低于40%,因此这一比例远高于胚胎发育相关基因在拟南芥整个基因组中的相对值(Tzafrir等2004; Law等2012)。随后的研究鉴定出更多参与胚胎发育的线粒体蛋白,拟南芥线粒体转运蛋白TIM9/10 (TRANSLOCASE OF THE INNER MEMBRANE9 and 10)缺失后早期胚胎细胞的分裂停滞在16/32-细胞时期,研究发现其突变体胚胎细胞中线粒体膜通透性升高,细胞色素c从线粒体释放至细胞质中,且胞质内活性氧大量聚集,导致早期胚胎细胞发生程序性死亡,表明ATTIM9和ATTIM10对维持早期胚胎细胞中的线粒体功能十分必要(Deng等2014)。定位在线粒体上的具有磷酸泛酰巯基乙胺基转移酶活性的催化酶mtPPT (mitochondrial phosphopantetheinyl transferase)通过磷酸化线粒体中乙酰基载体蛋白mtACP (mitochondrial acyl carrier protein)参与脂肪酸合成及光呼吸作用(Guan等2015);其基因缺失后胚胎发育停滞在球形期,最终产生种子败育。GRXS15 (glutaredoxin S15)是线粒体铁硫蛋白组装复合体中的重要元件,能够结合铁硫原子簇并将其转移给铁氧还蛋白,其基因的缺失导致胚胎细胞中线粒体铁硫蛋白不能成熟,引起胚胎发育早期停滞(Moseler等2015)。这些研究表明线粒体作为真核生物中进化保守且广泛存在的细胞器,其结构维持和功能发挥对于胚胎正常发育十分重要。

4 叶绿体蛋白在早期胚胎发育中发挥着重要的作用

叶绿体是高等植物细胞中独特且重要的半自主细胞器,其拟核中的基因组DNA能够通过转录和翻译生成RNA和蛋白质,这些产物与核基因编码的叶绿体蛋白一起共同维持叶绿体的结构和功能(Woodson和Chory 2008)。叶绿体的主要功能是光合作用,但其胚细胞中的前体——原质体的代谢对胚胎发生也具有重要影响。在拟南芥中,叶绿体的形成与胚胎发育过程紧密相关。胚胎细胞中叶绿体由合子的母性遗传的原质体分化而来,胚胎发育至晚球形期时,分生组织细胞中的原质体内膜向内折叠形成大量囊泡,囊泡之间相互连接和环绕形成类囊体膜,分化成为叶绿体(Mansfield等1991)。前人总结和分析了拟南芥中与胚胎发育

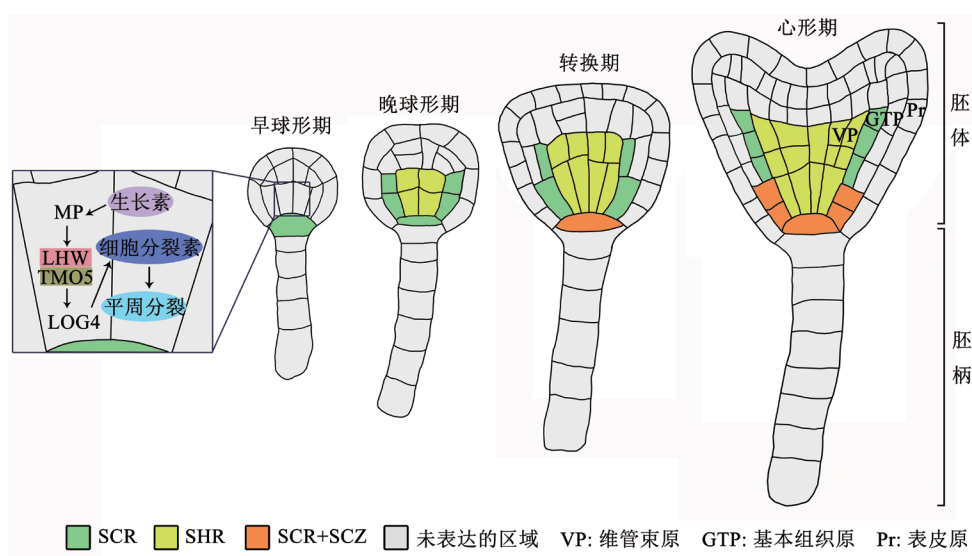


图4 拟南芥早期胚胎维管束原和基本组织原的分化

Fig.4 Specification of vascular and ground tissue primordia during early embryogenesis of *Arabidopsis*

相关且定位于叶绿体的各种蛋白, 建立了一个包含119个核基因的综合数据集(Bryant等2011)。分析发现干扰叶绿体基因的正常表达或叶绿体的生物合成通常会引起胚胎致死。最近, 报道了一些在拟南芥胚胎发生中发挥关键功能的叶绿体蛋白质: 热休克蛋白(heat shock protein 90, Hsp90C)作为分子伴侣与叶绿体蛋白输入复合体TOC-TIC (Translocon at the outer/inner envelope membrane of chloroplasts)相互作用, 参与胞质蛋白进入叶绿体前的正确折叠, 杂合体*hsp90c*植株的角果包含约25%的白化胚珠, 随后皱缩不能形成正常的种子, 表明Hsp90C参与胞质蛋白向叶绿体内部的转运是胚胎发育所必需的(Inoue等2013)。磷酸甘油酸盐脱氢酶(phosphoglycerate dehydrogenase1, PGDH1)是铵盐同化及色氨酸生物合成途径的必需组分, 其活性能被色氨酸的反馈调控所抑制。对*pgdh1*突变体的分析发现胚胎致死的表型, 纯合体胚的形态异常且形成白化透明的种子(Benstein等2013), 推测PGDH1基因的突变导致色氨酸及其衍生物如磷脂酰丝氨酸(Yamaoka等2011)的缺乏, 影响了胚细胞中蛋白质或其他信号分子的合成。拟南芥核糖核酸酶J (Ribonuclease J, RNJ)具有核糖核酸外切及内切酶活性, 通过降解叶绿体中由于低效的转录终止所形成的反义RNA, 从而保证叶绿体基因的正常翻译水平(Sharwood等2011)。进一步的

研究发现RNJ缺失会引起胚胎细胞中叶绿体的结构缺陷, 球形期之后胚胎的发育紊乱且生长素分布产生障碍, 表明ATR NJ可能通过参与叶绿体基因转录产物的代谢调控从而控制叶绿体的发育, 进而在胚胎器官的模式建成中发挥着重要作用(Chen等2015)。以上研究表明, 叶绿体蛋白在胚胎发育从球形胚到心形胚的过渡时期中起到必不可少的功能。已有的研究证实质体的发育及其基因组的表达在很大程度上受到核基因的顺行控制(Woodson和Chory 2008)。最近的研究发现, 质体中产生的信号也可以被转导至细胞核从而调节核基因的表达。这种逆行调控可以协调质体和核基因组之间基因表达的平衡, 对于维持质体的发生和其最佳功能的发挥是必需的(Chi等2013; Petrillo等2014; Chan等2016)。叶绿体是高等植物必不可少的细胞器, 其不仅是光合作用的场所, 也负责胞内许多重要化合物的储存及信号分子的合成代谢(Sakamoto等2008), 在胚胎发育过程中破坏叶绿体的结构和功能将会导致胚胎建成中必需物质的缺乏, 也有可能造成质体向细胞核的逆行调控发生故障, 引发核基因异常表达, 最终导致胚胎发育不能正常进行。

我们将本文中所涉及到的拟南芥中调控早期胚胎发育的基因概述在表1中。

5 讨论与展望

在拟南芥胚胎发育过程中, 单细胞的合子经

表1 拟南芥中调控早期胚胎发育的基因

Table 1 Genes involved in the regulation of early embryo development in *Arabidopsis*

基因缩写	基因全称	生物学功能	在胚胎中的表达位置	参考文献
<i>ARF5</i>	<i>AUXIN RESPONSE FACTOR 5</i>	生长素响应因子	维管束原	Hardtke和Berleth 1998; Hamann等2002
<i>ARF9</i>	<i>AUXIN RESPONSE FACTOR 9</i>	生长素响应因子	胚柄和胚根原	Rademacher等2011
<i>ATCDC5</i>	<i>ARABIDOPSIS THALIANA CELL DIVISION CYCLE 5</i>	细胞周期因子	子叶和胚根原中优势表达	Lin等2007
<i>ATCUL1</i>	<i>ARABIDOPSIS THALIANA CULLIN 1</i>	SCF泛素连接酶	整个胚胎	Shen等2002
<i>ATHB15</i>	<i>ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX GENE 15</i>	HD-ZIP III转录因子	茎顶端分生组织和维管束原	Emery等2003
<i>ATHB8</i>	<i>ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX GENE 8</i>	HD-ZIP III转录因子	茎顶端分生组织和维管束原	Emery等2003
<i>ATLIG1</i>	<i>ARABIDOPSIS THALIANA DNA LIGASE 1</i>	DNA连接酶	整个胚胎	Andreuzza等2010
<i>ATML1</i>	<i>ARABIDOPSIS THALIANA MERISTEM LAYER 1</i>	HD-ZIP IV转录因子	胚柄和胚体外层	Abe等2003
<i>ATYAO</i>	<i>ARABIDOPSIS THALIANA YAOZHE</i>	核仁蛋白	心形期胚胎之前	Li等2010
<i>BDL</i>	<i>BODENLOS</i>	生长素响应抑制子	维管束原	Hamann等2002
<i>CLE8</i>	<i>CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION-RELATED 8</i>	分泌蛋白	心形期胚胎之前	Fiume等2012
<i>CLV3</i>	<i>CLAVATA3</i>	分泌肽类激素	茎顶端分生组织	Fiume等2012
<i>ESFs</i>	<i>EMBRYO SURROUNDING FACTORS</i>	半胱氨酸富集分泌肽	胚胎周围的细胞和胚柄	Costa等2014
<i>FAC1</i>	<i>EMBRYONIC FACTOR 1</i>	腺苷酸脱氢酶	整个胚胎	Xu等2005
<i>GN</i>	<i>GNOM</i>	鸟苷酸交换因子	维管束原, 胚根原和胚体上部表皮细胞	Wolters等2011; Doyle等2015
<i>GNL1</i>	<i>GNOM-LIKE 1</i>	鸟苷酸交换因子	维管束原, 胚根原和胚体上部表皮细胞	Doyle等2015
<i>GRD</i>	<i>GROUNDED</i>	RKD转录因子	胚柄和胚体下部优势表达	Bayer等2016
<i>IAA10</i>	<i>INDOLEACETIC ACID-INDUCED PROTEIN 10</i>	生长素响应抑制子	胚柄和胚根原	Rademacher等2012
<i>IAA12</i>	<i>INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE 12</i>	生长素响应抑制子	维管束原	Hamann等2002
<i>LCR</i>	<i>LEAF CURLING RESPONSIVENESS</i>	F-box蛋白	茎顶端分生组织	ten Hove等2015
<i>LHW</i>	<i>LONESOME HIGHWAY</i>	bHLH转录因子	胚柄和胚体下部	De Rybel等2013
<i>LOG4</i>	<i>LONELY GUY 4</i>	赖氨酸脱羧酶	维管束原	De Rybel等2014
<i>miR166</i>	<i>microRNA166</i>	小分子非编码RNA	胚柄和胚胎远轴区域	Miyashima等2013
<i>miR394B</i>	<i>microRNA394B</i>	小分子非编码RNA	茎顶端分生组织	Knauer等2013
<i>MKK4</i>	<i>MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE 4</i>	有丝分裂原活化蛋白激酶	合子和基细胞	Musiak和Bayer 2014
<i>MKK5</i>	<i>MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE 5</i>	有丝分裂原活化蛋白激酶	合子和基细胞	Musiak和Bayer 2014
<i>MP</i>	<i>MONOPTEROS</i>	生长素响应因子	维管束原	Hardtke和Berleth 1998
<i>MPK3</i>	<i>MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 3</i>	有丝分裂原活化蛋白激酶	合子和基细胞	Musiak和Bayer 2014
<i>MPK6</i>	<i>MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 6</i>	有丝分裂原活化蛋白激酶	合子和基细胞	Musiak和Bayer 2014
<i>PDF2</i>	<i>PROTODERMAL FACTOR 2</i>	脯氨酸富集蛋白	胚体外层细胞	Abe等2003
<i>PGDH1</i>	<i>PHOSPHOGLYCERATE DEHYDROGENASE1</i>	磷酸甘油酸盐脱氢酶	鱼雷期之后胚子叶顶端	Benstein等2013
<i>PHB</i>	<i>PHABULOSA</i>	HD-ZIP III转录因子	茎顶端分生组织, 子叶和维管束原	Emery等2003
<i>PHV</i>	<i>PHAVOLUTA</i>	HD-ZIP III转录因子	茎顶端分生组织, 子叶和维管束原	Emery等2003
<i>PIN1</i>	<i>PIN-FORMED 1</i>	生长素输出载体	胚体	Jeong等2011
<i>PIN7</i>	<i>PIN-FORMED 7</i>	生长素输出载体	胚柄	Friml等2003
<i>PLT1</i>	<i>PLETHORA 1</i>	PLT转录因子	胚体下部	Aida等2004
<i>PLT2</i>	<i>PLETHORA 2</i>	PLT转录因子	胚体下部	Aida等2004
<i>REV</i>	<i>REVOLUTA</i>	HD-ZIP III转录因子	顶端分生组织, 子叶和维管束原	Emery等2003

表1 (续)

基因缩写	基因全称	生物学功能	在胚胎中的表达位置	参考文献
<i>RNJ</i>	<i>RIBONUCLEASE J</i>	核糖核酸酶	球形期胚胎之后	Chen等2015
<i>RPK1</i>	<i>RECEPTOR-LIKE PROTEIN KINASE 1</i>	亮氨酸富集重复受体类激酶	胚柄和胚体下部	Nodine等2007
<i>RPK2</i>	<i>RECEPTOR-LIKE PROTEIN KINASE 2</i>	亮氨酸富集重复受体类激酶	胚柄、胚体外层和下部内层细胞	Nodine等2007
<i>SCR</i>	<i>SCARECROW</i>	GRAS转录因子	基本组织原和静止中心	Heidstra等2004
<i>SCZ</i>	<i>SCHIZORIZA</i>	热休克转录因子	维管束原、基本组织原和静止中心	ten Hove等2010
<i>SHR</i>	<i>SHORT ROOT</i>	GRAS转录因子	维管束原	Vatén等2011
<i>SSP</i>	<i>SHORT SUSPENSOR</i>	白细胞介素-1受体相关激酶	合子	Bayer等2009
<i>STM</i>	<i>SHOOTMERISTEMLESS</i>	同源域蛋白	茎顶端分生组织	Barton和Poethig 1993
<i>TIM9</i>	<i>TRANSLOCASE OF THE INNER MEMBRANE 9</i>	线粒体内膜转运蛋白	整个胚胎	Deng等2014
<i>TIM10</i>	<i>TRANSLOCASE OF THE INNER MEMBRANE 10</i>	线粒体内膜转运蛋白	整个胚胎	Deng等2014
<i>TOM5</i>	<i>TRANSLOCASE OF OUTER MEMBRANE 5</i>	bHLH转录因子	维管束原	Ohashi-Ito和Bergmann 2007
<i>TOM7</i>	<i>TRANSLOCASE OF OUTER MEMBRANE 7</i>	bHLH转录因子	维管束原	Schlereth等2010
<i>TPL</i>	<i>TOPELESS</i>	转录共抑制因子	胚体下部	Smith和Long 2010
<i>WOX2</i>	<i>WUSCHEL RELATED HOMEBOX 2</i>	WOX转录因子	胚体上部	Wu等2007; Breuninger等2008
<i>WOX8</i>	<i>WUSCHEL RELATED HOMEBOX 8</i>	WOX转录因子	胚柄	Ueda等2011
<i>WOX9</i>	<i>WUSCHEL RELATED HOMEBOX 9</i>	WOX转录因子	胚柄和胚体下部	Ueda等2011
<i>WRKY2</i>	<i>WRKY DNA-BINDING PROTEIN 2</i>	WRKY转录因子	胚柄	Ueda等2011
<i>WUS</i>	<i>WUSCHEL</i>	同源域转录因子	茎顶端分生组织	Knauer等2013
<i>YDA</i>	<i>YODA</i>	有丝分裂原活化蛋白激酶激酶激酶	合子、顶细胞和基细胞	Lukowitz等2004; Musielak等2014
<i>ZEUS1</i>	<i>ZEUS1</i>	胸腺嘧啶激酶	球形期胚胎之后	Ronceret等2008

历复杂但又精确且程序化的分裂和分化模式, 最终发育成具有完整生命结构的成熟胚胎。在这个过程中不同细胞的命运分化决定了各组织和器官的形成, 这使得拟南芥胚胎发育成为一个研究细胞分化机理的理想模型。阐明这个过程有助于人们进一步理解在组织和器官形成中不同细胞分裂和分化的调控机理以及它们之间的信号交流。虽然已有大量的研究揭示了拟南芥胚胎发育中重要生物学事件的遗传途径和分子调控机制, 但是胚胎发育是一个极其复杂的过程, 并且深埋在层层组织中难以观察, 涉及许多基因转录、蛋白翻译、信号转导以及未知的调控网络, 目前的研究仍然面临诸多困难和尚待解决的问题。

(1) 由于很多植物生长发育的重要基因对于胚胎发育也是必须的, 因此这些基因的缺失首先影响了胚胎发育, 对应的突变体通常产生早期胚胎致死的剧烈表型, 在一定程度上阻碍了通过正向遗传学的方法对这些基因进行研究。虽然最近在

早期胚胎发育过程中的3D模型重建拓宽了人们对一些重要生物学事件的认识(Yoshida等2014), 但要进一步了解胚胎发育的动态过程和机制仍然存在挑战。

(2) 目前报道的多数胚胎发育相关基因的功能只是参与胚胎细胞命运的维持而非细胞命运分化的起始, 因此胚胎发育过程中细胞命运究竟是如何进行的仍然需要深入探索。例如: 植物的形态是高度极性的, 胚胎的极性建立直接导致了植物生长的根、茎轴向, 受精前卵细胞是如何产生极性的? 受精后又是何种信号使合子和胚胎产生极性? 这种信号如何起始相关基因的表达? 胚珠的环境对合子的发育有何种影响? 等等。这些仍然是一个谜。

(3) 前人在研究过程中提出了多种胚胎发育的遗传模型, 其正确与否需要从细胞和分子水平进行验证。虽然目前的研究证实, 在一定事件中特异基因的表达模式能够显示某些细胞命运的特异

性和分化的机理,但是胚胎发育是不同组织的细胞精密而协同的分裂和分化过程,在这个过程中尤为重要的不是揭示个别基因的表达模式,而是不同组织细胞间的基因信号交流和调控网络,因此要合理地解释胚胎发育的遗传模型仍然需要不断的探索。

(4)植物胚胎发生的种类繁多,虽然不同类型的胚胎发生过程中细胞的数目以及分裂方式各有差异,但是胚胎的组织分化和器官形成仍存在较为普遍的规律。拟南芥的胚胎发生遵循定向、精确且高度有序的分裂模式,使其成为研究细胞分裂和组织分化机制的十分理想的模型,而拟南芥的这种规律是否能够应用到其他植物中,需在更多的植物中开展研究。

植物胚胎发育的研究已经取得很大的进展,随着遗传学和分子生物学等技术的不断进步,这个领域的诸多难题将会逐渐得到解答,对于植物胚胎发育的未知事件和分子机制以及网络调控关系将会获得更加详细而深入的认识。

参考文献

- Abe M, Katsumata H, Komeda Y, Takahashi T (2003). Regulation of shoot epidermal cell differentiation by a pair of homeodomain proteins in *Arabidopsis*. *Development*, 130: 635–643
- Abe M, Takahashi T, Komeda Y (2001). Identification of a cis-regulatory element for L1 layer-specific gene expression, which is targeted by an L1-specific homeodomain protein. *Plant J*, 26: 487–494
- Aida M, Beis D, Heidstra R, Willemssen V, Blilou I, Galinha C, Nusse L, Noh YS, Amasino R, Scheres B (2004). The *PLETHORA* genes mediate patterning of the *Arabidopsis* root stem cell niche. *Cell*, 119: 109–120
- Andreuzza S, Li J, Guittion AE, Faure JE, Casanova S, Park JS, Choi Y, Chen Z, Berger F (2010). DNA LIGASE I exerts a maternal effect on seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 137: 73–81
- Autran D, Baroux C, Raissig MT (2011). Maternal epigenetic pathways control parental contributions to *Arabidopsis* early embryogenesis. *Cell*, 145: 707–719
- Barton MK, Poethig RS (1993). Formation of the shoot apical meristem in *Arabidopsis thaliana*: an analysis of development in the wild type and in the *shootmeristemless* mutant. *Development*, 119: 823–831
- Bayer M, Nawy T, Giglione C, Galli M, Meinel T, Lukowitz W (2009). Paternal control of embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Science*, 323 (5920): 1485–1488
- Bayer M, Slane D, Jürgens G (2016). Early plant embryogenesis—dark ages or dark matter? *Curr Opin Plant Biol*, 35: 30–36
- Benstein RM, Ludewig K, Wulfert S, Wittek S, Gigolashvili T, Frerigmann H, Gierth M, Flügge UI, Krueger S (2013). *Arabidopsis* phosphoglycerate dehydrogenase1 of the phosphoserine pathway is essential for development and required for ammonium assimilation and tryptophan biosynthesis. *Plant Cell*, 25: 5011–5029
- Brandt R, Salla-Martret M, Bou-Torrent J, Musielak T, Stahl M, Lanz C, Ott F, Schmid M, Greb T, Schwarz M, et al (2012). Genome-wide binding site analysis of REVOLUTA reveals a link between leaf patterning and light-mediated growth responses. *Plant J*, 72: 31–42
- Breuninger H, Rikirsch E, Hermann M, Ueda M, Laux T (2008). Differential expression of *WOX* genes mediates apical-basal axis formation in the *Arabidopsis* embryo. *Dev Cell*, 14: 867–876
- Bryant N, Lloyd J, Sweeney C, Myoung F, Meinke D (2011). Identification of nuclear genes encoding chloroplast-localized proteins required for embryo development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 155: 1678–1689
- Chan KX, Phua SY, Crisp P, McQuinn R, Pogson BJ (2016). Learning the languages of the chloroplast: retrograde signaling and beyond. *Annu Rev Plant Biol*, 67: 25–53
- Chen H, Zou W, Zhao J (2015). Ribonuclease J is required for chloroplast and embryo development in *Arabidopsis*. *J Exp Bot*, 66 (7): 2079–2091
- Chi W, Sun X, Zhang L (2013). Intracellular signaling from plastid to nucleus. *Annu Rev Plant Biol*, 64: 559–582
- Costa LM, Marshall E, Tesfaye M, Silverstein KA, Mori M, Umetsu Y, Otterbach SL, Papareddy R, Dickinson HG, Boutiller K, et al (2014). Central cell-derived peptides regulate early embryo patterning in flowering plants. *Science*, 344: 168–172
- De Rybel B, Adibi M, Breda AS, Wendrich JR, Smit ME, Novak O, Yamaguchi N, Yoshida S, Van Isterdael G, Palovaara J (2014). Integration of growth and patterning during vascular tissue formation in *Arabidopsis*. *Science*, 345: 1255–1259
- De Rybel B, Möller B, Yoshida S, Grabowicz I, Barbier de Reuille P, Boeren S, Smith RS, Borst JW, Weijers D (2013). A bHLH complex controls embryonic vascular tissue establishment and indeterminate growth in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 24: 426–437
- Del Toro-De León G, García-Aguilar M, Gillmor CS (2014). Non-equivalent contributions of maternal and paternal genomes to early plant embryogenesis. *Nature*, 514: 624–627
- Del Toro-De León G, Lepe-Soltero D, Gillmor CS (2016). Zygotic genome activation in isogenic and hybrid plant embryos. *Curr Opin Plant Biol*, 29: 148–153
- Deng Y, Zou W, Li G, Zhao J (2014). TRANSLOCASE OF THE INNER MEMBRANE9 and 10 are essential for maintaining mitochondrial function during early embryo cell and endosperm free nucleus divisions in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 166 (2): 853–868
- Doyle SM, Haeger A, Vain T, Rigal A, Viotti C, Langowska M, Ma Q, Friml J, Raikhel NV, Hicks GR, et al (2015). An early secretory pathway mediated by GNOM-LIKE 1 and GNOM is essential for basal polarity establishment in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (7): E806–815
- 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
- Fiume E, Fletcher JC (2012). Regulation of *Arabidopsis* embryo and endosperm development by the polypeptide signaling molecule CLE8. *Plant Cell*, 24: 1000–1012
- Friml J, Vieten A, Sauer M, Weijers D, Schwarz H, Hamann T, Offringa R, Jurgens G (2003). Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature*, 426: 147–153
- Galinha C, Hofhuis H, Luijten M, Willemsen V, Blilou I, Heidstra R, Scheres B (2007). PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of *Arabidopsis* root development. *Nature*, 449: 1053–1057
- Gallagher KL, Paquette AJ, Nakajima K, Benfey NP (2004). Mechanisms regulating *SHORTROOT* intercellular movement. *Curr Biol*, 14: 1847–1851
- García-Aguilar M, Gillmor CS (2015). Zygotic genome activation and imprinting: parent-of-origin gene regulation in plant embryogenesis. *Curr Opin Plant Biol*, 27: 29–35
- Guan X, Chen H, Abramson A, Man H, Wu J, Yu O, Nikolau BJ (2015). A phosphopantetheinyl transferase that is essential for mitochondrial fatty acid biosynthesis. *Plant J*, 84 (4): 718–732
- Guo L, Jiang L, Zhang Y, Lu XL, Xie Q, Weijers D, Liu CM (2016). The anaphase-promoting complex initiates zygote division in *Arabidopsis* through degradation of cyclin B1. *Plant J*, 86 (2): 161–174
- Haecker A, Gross-Hardt R, Geiges B, Sarkar A, Breuninger H, Herrmann M, Laux T (2004). Expression dynamics of *WOX* genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 131: 657–668
- Hamamura Y, Nagahara S, Higashiyama T (2012). Double fertilization on the move. *Curr Opin Plant Biol*, 15: 70–77
- Hamann T, Benkova E, Baurle I, Kientz M, Jurgens G (2002). The *Arabidopsis* *BODENLOS* gene encodes an auxin response protein inhibiting MONOPTEROS-mediated embryo patterning. *Genes Dev*, 16: 1610–1615
- Hardtke CS, Berleth T (1998). The *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development. *EMBO J*, 17: 1405–1411
- Heidstra R, Welch D, Scheres B (2004). Mosaic analyses using marked activation and deletion clones dissect *Arabidopsis* SCARECROW action in asymmetric cell division. *Genes Dev*, 18: 1964–1969
- Helariutta Y, Fukaki H, Wysocka-Diller J, Nakajima K, Jung J (2000). The *SHORTROOT* gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling. *Cell*, 101: 555–567
- Huang JB, Liu H, Chen M, Li X, Wang M, Yang Y, Wang C, Huang J, Liu G, Liu Y, et al (2014). ROP3 GTPase contributes to polar auxin transport and auxin responses and is important for embryogenesis and seedling growth in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26: 3501–3518
- Inoue H, Li M, Schnell DJ (2013). An essential role for chloroplast heat shock protein 90 (Hsp90C) in protein import into chloroplasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 3173–3178
- Jeong S, Bayer M, Lukowitz W (2011). Taking the very first steps: from polarity to axial domains in the early *Arabidopsis* embryo. *J Exp Bot*, 62 (5): 1687–1697
- Jeong S, Palmer TM, Lukowitz W (2011). The RWP-RK factor *GROUNDED* promotes embryonic polarity by facilitating YODA MAP kinase signaling. *Curr Biol*, 21: 1268–1276
- Knauer S, Holt AL, Rubio-Somoza I, Tucker EJ, Hinze A, Pisch M, Javelle M, Timmermans MC, Tucker MR, Laux T (2013). A protodermal miR394 signal defines a region of stem cell competence in the *Arabidopsis* shoot meristem. *Dev Cell*, 24: 125–132
- Lau S, De Smet I, Kolb M, Meinhardt H, Jurgens G (2011). Auxin triggers a genetic switch. *Nat Cell Biol*, 13: 611–615
- Lau S, Slane D, Herud O, Kong JX, Jürgens G (2012). Early embryogenesis in flowering plants: setting up the basic body pattern. *Annu Rev Plant Biol*, 63: 483–506
- Law SR, Narsai R, Taylor NL, Delannoy E, Carrie C, Giraud E, Millar AH, Small I, Whelan J (2012). Nucleotide and RNA metabolism prime translational initiation in the earliest events of mitochondrial biogenesis during *Arabidopsis* germination. *Plant Physiol*, 158: 1610–1627
- Le BH, Cheng C, Bui AQ, Wagmaister JA, Henry KF, Pelletier J, Kwong L, Belmonte M, Kirkbride R, Horvath S, et al (2010). Global analysis of gene activity during *Arabidopsis* seed development and identification of seed-specific transcription factors. *Proc Natl Acad Sci*, 107: 8063–8070
- Li HJ, Liu NY, Shi DQ, Liu J, Yang WC (2010). YAO is a nucleolar WD40-repeat protein critical for embryogenesis and gametogenesis in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol*, 10: 169
- Lin Z, Yin K, Zhu D, Chen Z, Gu H, Qu LJ (2007). *AtCDC5* regulates the G2 to M transition of the cell cycle and is critical for the function of *Arabidopsis* shoot apical meristem. *Cell Res*, 17: 815–828
- Lu P, Porat R, Nadeau JA, O’Neill SD (1996). Identification of a meristem L1 layer-specific gene in *Arabidopsis* that is expressed during embryonic pattern formation and defines a new class of homeobox genes. *Plant Cell*, 8: 2155–2168
- Lukowitz W, Roeder A, Parmenter D, Somerville C (2004). A MAP-KK kinase gene regulates extra-embryonic cell fate in *Arabidopsis*. *Cell*, 116 (1): 109–119
- Luo A, Shi C, Zhang L, Sun MX (2014). The expression and roles of parent-of-origin genes in early embryogenesis of angiosperms. *Front Plant Sci*, 5: 729
- Mallory AC, Reinhart BJ, Jones-Rhoades MW, Tang G, Zamore PD, Barton MK, Bartel DP (2004). MicroRNA control of PHABULOSA in leaf development: importance of pairing to the microRNA 5’ region. *EMBO J*, 23: 3356–3364
- Mansfield SG, Briarty LG (1991). Early embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. II. The developing embryo. *Canad J Bot*, 69: 461–476
- Millar AH, Small ID, Day DA, Whelan J (2008). Mitochondrial biogenesis and function in *Arabidopsis*. *Arabidopsis Book*, 6: e0111
- Miyashima S, Honda M, Hashimoto K, Tatsumatsu K, Hashimoto T, SatoNara K, Okada K, Nakajima K (2013). A comprehensive expression analysis of the *Arabidopsis* *MICRORNA165/6* gene

- family during embryogenesis reveals a conserved role in meristem specification and a non-cell-autonomous function. *Plant Cell Physiol*, 54: 375–384
- Möller B, Weijers D (2009). Auxin control of embryo patterning. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1 (5): a001545
- Moseler A, Aller I, Wagner S, Nietzel T, Przybyla-Toscano J, Mühlhoff U, Lill R, Berndt C, Rouhier N, Schwarzländer M, et al (2015). The mitochondrial monothiol glutaredoxin S15 is essential for iron-sulfur protein maturation in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (44): 13735–13740
- Mukherjee K, Brocchieri L, Burglin TR (2009). A comprehensive classification and evolutionary analysis of plant homeobox genes. *Mol Biol Evol*, 26: 2775–2794
- Musielak TJ, Bayer M (2014). YODA signaling in the early *Arabidopsis* embryo. *Biochem Soc Trans*, 42 (2): 408–412
- Nakajima K, Sena G, Nawy T, Benfy PN (2001). Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning. *Nature*, 413: 307–311
- Nakamura M, Katsumata H, Abe M, Yabe N, Komeda Y, Yamamoto KT, Takahashi T (2006). Characterization of the class IV homeodomain-Leucine Zipper gene family in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 141: 1363–1375
- Nawy T, Bayer M, Mravec J, Friml J, Birnbaum KD, Lukowitz W (2010). The GATA factor *HANABA TARANU* is required to position the proembryo boundary in the early *Arabidopsis* embryo. *Dev Cell*, 19: 103–113
- Nodine MD, Bartel DP (2010). MicroRNAs prevent precocious gene expression and enable pattern formation during plant embryogenesis. *Genes Dev*, 24: 2678–2692
- Nodine MD, Bartel DP (2012). Maternal and paternal genomes contribute equally to the transcriptome of early plant embryos. *Nature*, 482: 94–97
- Nodine MD, Yadegari R, Tax E (2007). RPK1 and TOAD2 are two receptor-like kinases redundantly required for *Arabidopsis* embryonic pattern formation. *Dev Cell*, 12: 943–956
- Ohashi-Ito K, Bergmann DC (2007). Regulation of the *Arabidopsis* root vascular initial population by LONESOME HIGHWAY. *Development*, 134: 2959–2968
- Ohashi-Ito K, Matsukawa M, Fukuda H (2013). An atypical bHLH transcription factor regulates early xylem development downstream of auxin. *Plant Cell Physiol*, 54: 398–405
- Peterson KM, Shyu C, Burr CA, Horst RJ, Kanaoka MM, Omae M, Sato Y, Torii KU (2013). *Arabidopsis* homeodomain-leucine zipper IV proteins promote stomatal development and ectopically induce stomata beyond the epidermis. *Development*, 140: 1924–1935
- Petrillo E, Godoy Herz MA, Fuchs A, Reifer D, Fuller J, Yanovsky MJ, Simpson C, Brown JW, Barta A, Kalyna M, et al (2014). A chloroplast retrograde signal regulates nuclear alternative splicing. *Science*, 344 (6182): 427–430
- Pysh LD, Wysocka-Diller JW, Camilleri C, Bouchez D, Benfey PN (1999). The GRAS gene family in *Arabidopsis*: sequence characterization and basic expression analysis of the *SCARECROW-LIKE* genes. *Plant J*, 18 (1): 111–119
- Rademacher EH, Lokerse AS, Schlereth A, Llavata-Peris CI, Bayer M, Kientz M, Freire Rios A, Borst JW, Lukowitz W, Jürgens G, et al (2012). Different auxin response machineries control distinct cell fates in the early plant embryo. *Dev Cell*, 22: 211–222
- Rademacher EH, Möller B, Lokerse AS, Llavata-Peris CI, van den Berg W, Weijers D (2011). A cellular expression map of the *Arabidopsis AUXIN RESPONSE FACTOR* gene family. *Plant J*, 68: 597–606
- Reinhart BJ, Liu T, Newell NR, Magnani E, Huang T, 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
- Ronceret A, Gadea-Vacas J, Guillemot J, Lincker F, Delorme V, Lahmy S, Pelletier G, Chaboute ME, Devic M (2008). The first zygotic division in *Arabidopsis* requires de novo transcription of thymidylate kinase. *Plant J*, 53: 776–789
- Sakamoto W, Miyagishima SY, Jarvis P (2008). Chloroplast biogenesis: control of plastid development, protein import, division and inheritance. *Arabidopsis Book*, 6: e0110
- San-Bento R, Farcot E, Galletti R, Creff A, Ingram G (2014). Epidermal identity is maintained by cell-cell communication via a universally active feedback loop in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 77: 46–58
- Schlereth A, Möller B, Liu W, Kientz M, Flipse J, Rademacher EH, Schmid M, Jurgens G, Weijers D (2010). MONOPTEROS controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor. *Nature*, 464 (7290): 913–916
- Sena G, Jung JW, Benfey PN (2004). A broad competence to respond to SHORT ROOT revealed by tissue-specific ectopic expression. *Development*, 131: 2817–2826
- Sessions A, Weigel D, Yanofsky MF (1999). The *Arabidopsis thaliana* MERISTEM LAYER 1 promoter specifies epidermal expression in meristems and young primordia. *Plant J*, 20: 259–263
- Sharwood RE, Halpert M, Luro S, Schuster G, Stern DB (2011). Chloroplast RNase J compensates for inefficient transcription termination by removal of antisense RNA. *RNA*, 17: 2165–2176
- Shen WH, Parmentier Y, Hellmann H, Lechner E, Dong A, Masson J, Granier F, Lepiniec L, Estelle M, Genschik P (2002). Null mutation of *AtCUL1* causes arrest in early embryogenesis in *Arabidopsis*. *Mol Biol Cell*, 13: 1916–1928
- Slane D, Kong J, Berendzen KW, Kilian J, Henschen A, Kolb M, Schmid M, Harter K, Mayer U, De Smet I (2014). Cell type-specific transcriptome analysis in the early *Arabidopsis thaliana* embryo. *Development*, 141: 4831–4840
- Smit ME, Weijers D (2015). The role of auxin signaling in early embryo pattern formation. *Curr Opin Plant Biol*, 28: 99–105
- Smith ZR, Long JA (2010). Control of *Arabidopsis* apical-basal embryo polarity by antagonistic transcription factors. *Nature*, 464: 423–426
- Sprunck S, Gross-Hardt R (2011). Nuclear behavior, cell polarity, and cell specification in the female gametophyte. *Sex Plant Reprod*, 24: 123–136
- Takada S, Jurgens G (2007). Transcriptional regulation of epidermal

- cell fate in the *Arabidopsis* embryo. *Development*, 134: 1141–1150
- Takada S, Takada N, Yoshida A (2013). *ATML1* promotes epidermal cell differentiation in *Arabidopsis* shoots. *Development*, 140: 1919–1923
- ten Hove CA, Lu KJ, Weijers D (2015). Building a plant: cell fate specification in the early *Arabidopsis* embryo. *Development*, 142 (3): 420–430
- ten Hove CA, Willemsen V, de Vries WJ, van Dijken A, Scheres B, Heidstra R (2010). *SCHIZORIZA* encodes a nuclear factor regulating asymmetry of stem cell divisions in the *Arabidopsis* root. *Curr Biol*, 20: 452–457
- Turchi L, Carabelli M, Ruzza V, Possenti M, Sassi M, Penalosa A, Sessa G, Salvi S, Forte V, Morelli G (2013). *Arabidopsis* HD-Zip II transcription factors control apical embryo development and meristem function. *Development*, 140: 2118–2129
- Tzafirir I, Pena-Muralla R, Dickerman A, Berg M, Rogers R, Hutchens S, Sweeney TC, McElver J, Aux G, Patton D, et al (2004). Identification of genes required for embryo development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 135 (3): 1206–1220
- Ueda M, Laux T (2012). The origin of the plant body axis. *Curr Opin Plant Biol*, 15: 578–584
- Ueda M, Zhang Z, Laux T (2011). Transcriptional activation of *Arabidopsis* axis patterning genes *WOX8/9* links zygote polarity to embryo development. *Dev Cell*, 20: 264–270
- Vatén A, Dettmer J, Wu S, Stierhof YD, Miyashima S, Yadav SR, Roberts CJ, Campilho A, Bulone V, Lichtenberger R, et al (2011). Callose biosynthesis regulates symplastic trafficking during root development. *Dev Cell*, 21: 1144–1155
- Waki T, Hiki T, Watanabe RH, ashimoto T, Nakajima K (2011). The *Arabidopsis* RWP-RK protein RKD4 triggers gene expression and pattern formation in early embryogenesis. *Curr Biol*, 21: 1277–1281
- Wang H, Ngwenyama N, Liu Y, Walker JC, Zhang S (2007). Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 63–73
- Weijers D, Schlereth A, Ehrismann JS, Schwank G, Kientz M, Jürgens G (2006). Auxin triggers transient local signaling for cell specification in *Arabidopsis* embryogenesis. *Dev Cell*, 10: 265–270
- Wendrich JR, Weijers D (2013). The *Arabidopsis* embryo as a miniature morphogenesis model. *New Phytol*, 199 (1): 14–25
- Williams L, Grigg SP, Xie M, Christensen S, Fletcher JC (2005). Regulation of *Arabidopsis* shoot apical meristem and lateral organ formation by microRNA *miR166g* and its *AtHD-ZIP* target genes. *Development*, 132: 3657–3668
- Wolters H, Anders N, Geldner N, Gavidia R, Jürgens G (2011). Coordination of apical and basal embryo development revealed by tissue-specific GNOM functions. *Development*, 138 (1): 117–126
- Woodson JD, Chory J (2008). Coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes. *Nat Rev Genet*, 9: 383–395
- Wu X, Chory J, Weigel D (2007). Combinations of *WOX* activities regulate tissue proliferation during *Arabidopsis* embryonic development. *Dev Biol*, 309: 306–316
- Xu J, Zhang HY, Xie CH, Xue HW, Dijkhuis P, Liu CM (2005). *EMBRYONIC FACTOR 1* encodes an AMP deaminase and is essential for the zygote to embryo transition in *Arabidopsis*. *Plant J*, 42: 743–756
- Yamaoka Y, Yu Y, Mizoi J, Fujiki Y, Saito K, Nishijima M, Lee Y, Nishida I (2011). *PHOSPHATIDYLSERINE SYNTHASE1* is required for microspore development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 67: 648–661
- Yoshida S, Barbier de Reuille P, Lane B, Bassel GW, Prusinkiewicz P, Smith RS, Weijers D (2014). Genetic control of plant development by overriding a geometric division rule. *Dev Cell*, 29: 75–87
- Yu D, Jiang L, Gong H and Liu CM (2012). *EMBRYONIC FACTOR 19* encodes a pentatricopeptide repeat protein that is essential for the initiation of zygotic embryogenesis in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol*, 54: 55–64
- Zhao P, Sun MX (2015). The maternal-to-zygotic transition in higher plants: available approaches, critical limitations, and technical requirements. *Curr Top Dev Biol*, 113: 373–398

Research progress of pattern formation and molecular mechanism in the early embryo of *Arabidopsis*

LI Shu-Qin, LI Lu, CHEN Hong-Yu, ZHAO Jie*

State Key Laboratory of Hybrid Rice, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

Abstract: Embryogenesis from a fertilized egg cell (zygote) is the beginning of plant development. The cell fate decisions and pattern formation determine the construction of tissues and organs during early embryonic development, which lay the foundation for the production of mature embryo and development of complete plants. The direction of cell division in early embryogenesis is precise, leading to a rich diversity of embryogenesis in angiosperms. Recently, a large number of studies have revealed the genetic pathways and molecular mechanisms of some important biological events during early embryonic development of *Arabidopsis*. Here, this review summarizes the latest research progress of molecular mechanisms that regulate important biological events in *Arabidopsis* early embryonic development, including zygotic genome activation, the establishment of apical-basal polarity, the formation of outer versus inner layers, the determination of shoot and root domains, the specification of vascular and ground tissues and so on. Furthermore, we also put forward research direction and some questions needed to be solved in the future.

Key words: *Arabidopsis*; early embryo; cell differentiation; pattern formation; molecular mechanisms

Received 2016-12-28 Accepted 2017-02-27

This work was supported by the National Key Basic Research Program of China (Grant No. 2012CB944801) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 30970277).

*Corresponding author (E-mail: jzhao@whu.edu.cn).