

利用芸薹属植物嵌合体对组织与器官细胞层起源的研究

王 燕 李俊星 陈利萍*

(浙江大学园艺系, 农业部园艺植物生长发育与生物技术重点开放实验室, 杭州 310058)

摘要 运用两种同时具备表型和分子谱系标记的芸薹属植物(榨菜和紫甘蓝)合成的种间平周嵌合体材料对植物的组织、器官的细胞层谱系进行了追踪分析。研究发现: 植物的茎、叶、花等器官一般由茎尖分生组织的L1、L2、L3三层谱系细胞共同发育而成, 但在不同组织器官中各层的贡献量不同; L1和L2层共同参与了叶缘的发育; 不定根由L3层单独发育而成; 分子标记分析显示花粉起源于L2层, 但有性杂交实验也发现了少量L1层起源的花粉。该文为研究植物组织与器官的细胞层起源提供了新方法。

关键词 组织器官; 细胞层起源; 嵌合体; 谱系标记; 榨菜; 紫甘蓝

植物茎端分生组织(shoot apical meristem, SAM)是植物产生茎、叶、花和果实等主要器官的场所。在被子植物生活周期完成过程中, 其地上部分所出现的多数器官都是SAM不断活动的产物^[1-2]。大部分双子叶植物的SAM都具有明显的三层分层结构, 从外向内依次为L1、L2、L3层。其中, L1和L2层细胞主要进行垂周分裂, 被称为原套; L3层及其之下的细胞则既可以进行垂周分裂也可以进行平周分裂, 被称为原体。

在SAM中, 细胞谱系的位置与其发育命运有着密切的关系, 而这种关系的揭示很大程度上需要具有细胞谱系标记的植物嵌合体(chimera), 即SAM由两种或两种以上不同遗传背景的细胞组成, 并由这些细胞共同发育成的完整植株^[3-4]。植物嵌合体一般分为扇形嵌合体、平周嵌合体和混合嵌合体三种类型。其中, 平周嵌合体是最为稳定的类型, 它们的SAM中不同层的细胞谱系一般会发育成特定的组织与器官。2007年, Zonneveld^[5]利用倍性平周嵌合体系统地追踪了单子叶植物的组织器官的细胞层起源。但是, 目前对于双子叶植物的组织器官的细胞层起源研究还不够系统完善, 所用的研究材料大多是具有色素合成异常等表型标记的嵌合体植株, 缺乏在整株植物所有组织器官中稳定存在的谱系标记, 这对于系统揭示组织器官的细胞层起源尚有一定的局限性^[6]。而对于基因嵌合体来说, 则只能通过组织原位杂交技术加以检测, 操作步骤较为繁琐

^[7]。此外, 谱系研究中常用的激光切除技术对植物体存在一定的损伤, 可能会影响植物正常的发育模式。因此, 具有在整株植物中稳定存在且易于观察的谱系标记的平周嵌合体, 对于探索SAM细胞位置与其衍生器官的命运之间的关系具有重要的价值^[8-9]。

本研究利用两种同时具有表型标记和分子标记的十字花科芸薹属平周嵌合体植株, 通过普通聚合酶链式反应检测结合植物形态学及生长特性观察, 探讨了榨菜和紫甘蓝嵌合体中组织及器官的细胞层起源, 为探索双子叶植物的生长和发育模式提供了一种新材料与新方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料的准备

本实验所用的植物材料为榨菜(*Brassica juncea* Coss. var. *tumida* Tsen et Lee)、紫甘蓝(*B. oleracea* L. var. *capitata* L.)及两种通过离体茎尖嫁接获得的榨菜与紫甘蓝的平周嵌合体TCC和TTC(L1-L2-L3, T=榨菜, C=甘蓝)^[10-11]。两种嵌合体以茎段为外植体在1/2MS+0.1 mg/L 6-BA培养基上进行扩繁, 待腋芽诱导后转入1/2MS培养基上生长, 当植株长至4、5片叶时转入1/2MS+0.1 mg/L NAA培养基上生根^[12]。

收稿日期: 2011-03-02 接受日期: 2011-04-19

国家自然科学基金(No.30971993)和浙江省重大科技专项(No.2008C12004-2)资助项目

*通讯作者。Tel: 0571-88982006, E-mail: chenliping@zju.edu.cn

培养条件为 $25\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、12 h光周期, $84\ \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 光强。于2009年10月将生根的嵌合体试管苗移入温室, 炼苗10 d后定植于田间并培养至开花结实。以亲本材料榨菜(TTT)和紫甘蓝(CCC)作为对照。

1.2 方法

1.2.1 植物学形态观察 对田间生长的嵌合体及其亲本的叶片和茎的形态、颜色等植物形态学特征进行观察和比较分析。

1.2.2 DNA的提取及聚合酶链式反应(PCR)条件 采用SDS法提取平周嵌合体及两亲本各个器官及组织的DNA, 包括叶片、叶缘、叶脉、茎、不定根(茎基部再生)、薹叶、薹茎、花柄、花萼、花瓣、花丝、花药、花粉、子房^[13]等。其中, 花粉的收集参照Aziz等^[14]的方法。本实验中PCR分析所涉及的基因为*atpA*—ATPase alpha subunit gene (GenBank accession No. AY211266), 所用引物为: 5'-GCT GCT TAC AGG AGT TAG CC-3'和5'-GTC CAA TCG CTA CAT AGA CA-3'。在榨菜和紫甘蓝谱系DNA中, *atpA*的PCR扩增产物的片段长度不同, 分别是1 050 bp和1 500 bp^[15]。因此, *atpA*可以用来作为嵌合体中不同谱系的分子标记。PCR扩增条件为: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性2 min, $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性1 min, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火1 min, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸2 min, 30个循环后 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。PCR产物于1.0%的琼脂糖凝胶中进行电泳检测并拍照。

1.2.3 田间授粉实验 人工授粉实验于蕾期进行, 与两亲本进行回交的嵌合体花粉分别取自TCC和TTC上的一朵花(开花前两天套袋)。待种子成熟后, 进行结实率的统计和比较。每个授粉组合重复3次, 使用SPSS统计分析软件包(SPSS Inc, Chicago, USA)对数据进行差异分析(ANOVA)和显著性差异分析(LSD)。

2 结果

2.1 嵌合体的植物形态学特征观察

榨菜表皮具刺毛, 叶片呈绿色; 而紫甘蓝叶光滑具蜡质, 叶片为紫色, 这些明显的形态特征成为两种细胞谱系的表型标记。田间形态学观察发现: 两种平周嵌合体与亲本比较具有很多独特且稳定的植物学特征(图1)。TCC和TTC的组织器官的形态特征有的与某一亲本相同, 例如它们都具有与榨菜亲本相似的表皮毛、与紫甘蓝亲本相似的茎着生方式和叶片厚度; 而更多的性状则介于两亲本之间, 如叶片特性, 包括叶色、叶尖及叶缘类型等(表1)。

2.2 嵌合体组织器官的细胞层起源分析

为了追踪嵌合体SAM中两种亲本谱系细胞在各个组织与器官中的发育命运, 我们利用分子标记进行了相关研究。在PCR产物电泳图中, 1 050 bp的条带代表的是榨菜谱系, 1 500 bp代表的是紫甘蓝谱系。通过对嵌合体TCC和TTC中相同组织器官DNA的电泳条带进行比较分析后可以看出: 大多数组织

表1 嵌合体与其亲本的形态学特征比较

Table 1 Comparison of morphological characteristics between chimeras and their parents

特征	榨菜	TCC	TTC	紫甘蓝
Characteristics	Tuber mustard	TCC	TTC	Red cabbage
Stem color	Light green	Prunusus	Light green	Purple
Stem pattern	Tubercular	Breviate	Breviate	Breviate
Leaf vein	White	Prunusus	Pink	Purple
Leaf surface	Spiny hair	Spiny hair	Spiny hair	Wax
Leaf shape	Lanceolate	Ovate	Ovate	Ovate
Leaf margin	Split	Undulate	Undulate	Entire
Leaf margin color	Light green	Dark green	Light green	Purple
Mid. leaf	Light green	Dark green	Green	Purple
Leaf thickness	Thin	Thick	Thick	Thick



A: 榨菜; B: 紫甘蓝; C: 嵌合体TCC; D: 嵌合体TTC。

A: tuber mustard; B: red cabbage; C: chimera TCC; D: chimera TTC.

图1 两种芸薹属周缘嵌合体及其亲本

Fig.1 Two types of Brassica periclinal chimeras and their parents

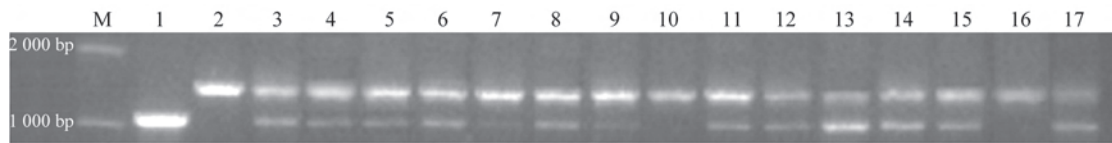
和器官都同时扩增出了两个亲本谱系的条带, 为三细胞层起源(图2和图3); 但各谱系条带的亮度存在差异, 说明三个细胞层在不同组织、器官中的贡献量不同。

嵌合体TCC和TTC的不定根均只扩增出了紫甘蓝谱系条带, 表明它们的不定根为紫甘蓝谱系细胞发育而来的, 说明植物的不定根为L3起源。TCC的花粉为紫甘蓝谱系, TTC的则为榨菜谱系, 充分说明了花粉是由L2层发育而来的。在嵌合体TCC中, 其叶缘DNA的扩增产物同时具有两个亲本的条带, 说

明其叶缘中既有榨菜谱系细胞也有紫甘蓝谱系细胞; 而在嵌合体TTC中, 其叶缘DNA的扩增产物只有一条榨菜谱系的条带, 即它的叶缘中只有榨菜谱系的细胞。根据以上分析我们可以推断出: 叶缘是L1和L2共同起源的。

2.3 嵌合体及亲本不同授粉组合的结实率分析

榨菜与紫甘蓝的杂交属于远缘杂交, 自然条件下不能结实。因此, 为了进一步研究芸薹属植物花粉的细胞层起源, 我们对嵌合体及其亲本进行了授粉实验, 授粉组合及相应的结实率如表2所示。嵌合体

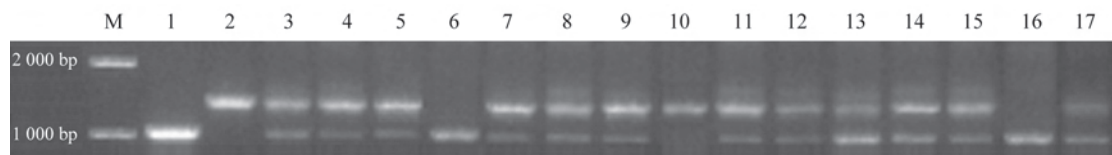


M: DNA marker; 1: 榨菜叶片; 2: 紫甘蓝叶片; 3-17: TCC的不同组织或器官: 3: 叶片; 4: 叶柄; 5: 叶脉; 6: 叶缘; 7: 茎; 8: 薹叶; 9: 薹茎; 10: 不定根; 11: 花柄; 12: 花萼; 13: 花瓣; 14: 花丝; 15: 花药; 16: 花粉; 17: 花柱。

M: DNA marker; 1: tuber mustard leaf (control); 2: red cabbage leaf (control); 3-17: different tissues or organs of TCC: 3: leaf; 4: petiole; 5: leaf vein; 6: leaf margin; 7: stem; 8: bolting leaf; 9: bolting stem; 10: adventitious root; 11: pedicel; 12: sepal; 13: petal; 14: filament; 15: anther; 16: pollens; 17: style.

图2 嵌合体TCC的组织及器官的 $atpA$ 的PCR分析

Fig.2 PCR analysis of $atpA$ gene in tissues and organs of TCC chimera



M: DNA marker; 1: 榨菜叶片; 2: 紫甘蓝叶片; 3-17: TTC的不同组织或器官: 3: 叶片; 4: 叶柄; 5: 叶脉; 6: 叶缘; 7: 茎; 8: 薹叶; 9: 薹茎; 10: 不定根; 11: 花柄; 12: 花萼; 13: 花瓣; 14: 花丝; 15: 花药; 16: 花粉; 17: 花柱。

M: DNA marker; 1: tuber mustard leaf (control); 2: red cabbage leaf (control); 3-17: different tissues or organs of TTC: 3: leaf; 4: petiole; 5: leaf vein; 6: leaf margin; 7: stem; 8: bolting leaf; 9: bolting stem; 10: adventitious root; 11: pedicel; 12: sepal; 13: petal; 14: filament; 15: anther; 16: pollens; 17: style.

图3 嵌合体TTC的组织及器官的 $atpA$ 的PCR分析

Fig.3 PCR analysis of $atpA$ gene in tissues and organs of TTC chimera

表 2 不同授粉组合的结籽水平分析

Table 2 Seed-setting rate analysis of different pollination combination

授粉组合 ♀ × ♂	授粉花蕾数(朵)	结角果数(只)	获得种子数(粒)	结实水平(粒/角果)
Pollinated combination	No. of pollenated	No. of silique	No. of seed obtained	Seed-setting rate
♀ × ♂	flowers	obtained	(grain)	(grain/silique)
TTT × TTT	50	46	527	11.49±0.47 ^a
CCC × CCC	58	50	554	11.10±0.37 ^a
CCC × TCC	54	46	188	4.18±0.73 ^b
TTT × TCC	59	58	3	0.05±0.00 ^c
CCC × TTC	65	64	0	0.00±0.00 ^c
TTT × TTC	63	62	246	3.96±0.24 ^b

每组实验重复三次, 不同的字母代表各组之间有差异。P=0.05。

Three replicates were tested for each sample, and letters indicate significance groups, using LSD and P=0.05.

TCC的花粉授到紫甘蓝和榨菜上,结实率分别为4.18粒/角果和0.05粒/角果,而TTC与亲本榨菜回交的结实率为3.96粒/角果,与亲本紫甘蓝的回交不结实。

3 讨论

前人利用叶色素突变嵌合体通过形态学观察或组织切片研究表明:在大多数双子叶植物中,茎、叶、花等器官需要L1、L2、L3三个细胞层共同发育而成^[3]。通常情况下,L1发育成植物的表皮层;L2发育成紧贴着表皮下面的组织,如叶片的栅栏组织、雌雄配子等^[16-17];L3则发育成植物的内部组织,如维管组织、叶片较内部的组织等^[18]。

但是,在一些特殊的植物组织中,它们的发育并不需要全部细胞层的参与。有研究表明,植物的叶缘是由L1层形成的,但也有报道认为L2也会参与叶缘的发育^[19-20]。在我们的研究中,嵌合体TCC与TTC的叶缘DNA的PCR结果表明,芸薹属植物的叶缘是由L1和L2层共同参与发育而来的。形态学特性观察显示:嵌合体TCC的叶缘为深绿色,而TTC则呈现出与榨菜亲本相似的浅绿色,这与PCR分析的结果是一致的。

在花瓣和花药的起源上,Dermen等^[21]对由两种不同细胞学形态的细胞谱系构成的桃树嵌合体进行了研究,通过染色体数目和细胞核大小的比较分析,认为L3不参与它们的形成。2003年,Plaschil等^[22]以四种花瓣嵌合体植物为材料,通过花色分析研究得出:花瓣组织通常起源于茎尖分生组织的最外两层细胞,即L1和L2。但是,在我们的研究中发现,L3层也参与了花瓣和花药的建成(图3)。可见,分子标记使得对植物组织及器官的谱系追踪更加便捷和准确,因而具有重要的应用研究价值。

以往的研究认为:植物的花粉一般来源于L2层^[3,23],但也有少数情况下L1或L3层会参与花粉的形成^[9,24-25]。本实验中的PCR分析表明:两种嵌合体的花粉都是由L2谱系细胞发育而来的。然而值得关注的是,TCC的花粉能使榨菜亲本受精结实并获得数量极少的榨菜后代植株。对于这种现象的解释,有研究认为:当植物的茎端分生组织转化为花序分生组织后,茎尖的细胞学区域会变的模糊,某一细胞层区域可能会被另一细胞层的细胞侵入,但是茎尖的分层结构并不改变。侵入细胞的命运会按新的位置信息进行分化,而与其细胞谱系无关。而且,植物中的

细胞入侵一般是外层细胞向内层细胞的入侵^[26]。在我们的研究中,通过有性杂交实验发现嵌合体TCC中存在L1谱系的花粉,而在TTC中却没有来源于L3谱系的花粉,这与上述观点一致。因此,我们推测,TCC中L1层谱系来源的花粉是由少数L1层细胞在生长和分裂过程中侵入到L2层后分化产生的。至于其DNA未被PCR分析检测出的原因,我们认为这很可能是由于它在TCC花粉中所占份额太少(大约1.43%)导致的。然而,对于植物细胞的侵入性还需要进一步的考证,大多数研究者认为植物细胞由胞间连丝稳固相连,是不可以移动的^[9]。

关于双子叶植物不定根的起源,很多研究者通过不同的材料和方法进行了研究。他们发现:大多数植物的不定根是由L3层发育而来的^[5]。朱雪云等^[27]对利用一种嵌合体植株材料进行了不定根的起源研究,同时进行了解剖学的观察分析,最终确定了不定根的L3起源。相比之下,本实验体系提供的研究方法更为简单和直观。

Stewart等^[26]认为L1、L2、L3层在植物地上部分的不同组织、器官中的贡献量不同。我们的研究也发现,在嵌合体各个组织或器官中来自两个亲本谱系的DNA条带亮度不尽相同。此外,在嵌合体TCC的叶脉、茎、茎、花柄、花丝等组织中,紫甘蓝谱系的DNA条带较其它组织中的更为亮一些。这与Ingram^[28]的观点是一致的,他认为L1谱系细胞在薄片状的器官或组织(如叶片、花瓣等)中的贡献率比在柱状器官组织(如茎、叶脉、花柄等)中的高,这是由不同细胞层谱系在不同组织、器官的总体积中的细胞贡献量不同导致的。

综上所述,具有完美谱系标记的嵌合体对于研究植物发育具有重要的价值。因此,人工选择同时具备形态学(色素、刺毛等)、细胞学(倍性等)及分子生物学(探针、荧光标记等)等谱系标记的植物材料来合成嵌合体,可以为植物发育学研究构建良好的实验体系,为从组织及细胞水平上探索植物SAM中不同细胞层的细胞命运及发育模式提供新方法^[29-31]。

参考文献 (References)

- 1 Meyerowitz EM. Genetic control of cell division patterns in developing plants. *Cell* 1997; 88: 299-308.
- 2 Bowman JL, Eshed Y. Formation and maintenance of the shoot apical meristem. *Trends Plant Sci* 2000; 5(3): 110-5.
- 3 Satina S, Blakeslee AF, Avery AA. Demonstration of the three

- germ layers in the shoot apex of *Datura* by means of induced polyploidy in periclinal chimeras. *Am J Bot* 1940; 27: 895-905.
- 4 Tilney-Bassett RAE. Plant chimeras. Edward Arnold Ltd, London, 1986.
- 5 Zonneveld BJM. Nuclear DNA content of ploidy chimeras of *Hosta* Tratt. (Hostaceae) demonstrate three apical layers in all organs, but not in the adventitious root. *Plant Syst Evol* 2007; 269(1/2): 29-38.
- 6 Poethig RS. Clonal analysis of cell lineage patterns in plant development. *Amer J Bot* 1987; 74(4): 581-94.
- 7 Abe M, Katsumata H, Komeda Y, Takahashi T. Regulation of shoot epidermal cell differentiation by a pair of homeodomain proteins in *Arabidopsis*. *Development* 2003; 130: 635-43.
- 8 Szymkowiak EJ, Sussex IM. What chimeras can tell us about plant development. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1996; 47: 351-76.
- 9 Marcotrigiano M, Bernatzky R. Arrangement of cell layers in the shoot apical meristem of periclinal chimeras influences cell fate. *Plant J* 1995; 7: 193-202.
- 10 Chen LP, Ge YM, Zhu XY. Synthesis of interspecific chimeras between tuber mustard (*Brassica juncea*) and cabbage (*B. oleracea*) and cytological analysis. *Plant Cell Rep* 2006; 25: 907-13.
- 11 赵 曼. 榨菜与紫甘蓝嵌合体植株形态与分子标记研究. 浙江大学硕士学位论文 2007; 26-7.
- 12 Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB. A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Mol Biol Rpt* 1983; 1: 19-21.
- 13 Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plantarum* 1962; 15: 473-97.
- 14 Aziz AN, Sauve RJ. Genetic mapping of *Echinacea purpurea* via individual pollen DNA fingerprinting. *Mol Breeding* 2008; 21(2): 227-32.
- 15 Zhu XY, Zhao M, Ma S, Ge YM, Zhang MF, Chen LP. Induction and origin of adventitious shoots from chimeras of *Brassica juncea* and *Brassica oleracea*. *Plant Cell Rep* 2007; 26(10): 1727-32.
- 16 Ottoline L, Stephen D. Mechanism in plant development. University of New York, 2003, 32-3.
- 17 Wang Y, Cheng Q, Zhu XY, Chen LP. Studies on reproductive characteristics of an interspecific chimera between *Brassica juncea* and *Brassica oleracea*. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 2011; 104: 209-15.
- 18 Carles CC, Fletcher JC. Shoot apical meristem maintenance: The art of a dynamic balance. *Trends Plant Sci* 2003; 8: 394-401.
- 19 McHale NA, Marcotrigiano M. LAM1 is required for dorsoventrality and lateral growth of the leaf blade in *Nicotiana*. *Development* 1998; 125(21): 4235-43.
- 20 Wegner J. On the histogenesis of L1-derived tissue in the leaf-empirical investigations into the mantle structuring point. *Plant Sci* 2003; 164: 571-8.
- 21 Dermen H, Stewart RN. Ontogenetic study of floral organs of peach (*Prunus persica*) utilizing cytochimeral plants. *Amer J Bot* 1973; 60(3): 283-91.
- 22 Plaschil S, Olbricht K, Pohlheim F. Flower colour patterns for ornamental purposes. *Acta Hort* 2003; 612: 61-6.
- 23 Hirata Y, Takeda Y, Motegi T. Induction of cytoplasmic male sterility in the progeny derived from interspecific chimera between *Brassica oleracea* and *B. campestris*. *Euphytica* 2001; 117: 143-9.
- 24 Burk LG, Stewart RN, Dermen H. Histogenesis and genetics of a plastid-controlled chlorophyll variegation in tobacco. *Am J Bot* 1964; 51: 713-24.
- 25 Stewart RN, Burk LG. Independence of tissues derived from apical layers in ontogeny of the tobacco leaf and ovary. *Am J Bot* 1970; 57: 1010-6.
- 26 Stewart RN, Dermen H. Flexibility in ontogeny as shown by the contribution of the shoot apical layers to leaves of periclinal chimeras. *Am J Bot* 1975; 62: 935-47.
- 27 Zhu XY, Chai SJ, Chen LP, Zhang MF, Yu JQ. Induction and origin of adventitious roots from chimeras of *Brassica juncea* and *Brassica oleracea*. *Plant Cell Rep* 2010; 101: 287-94.
- 28 Ingram GC. Epidermal signalling and the control of plant shoot growth. *Plant Growth Signaling* 2008; 10(2008): 127-54.
- 29 Furner IJ, Pumfrey JE. Cell fate in the shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana*. *Development* 1992; 115: 755-64.
- 30 Kelly AJ, Meeks-Wagner DR. Characterization of a gene transcribed in the L2 and L3 layers of the tobacco shoot apical meristem. *Plant J* 1995; 8(1): 147-53.
- 31 Burge GK, Morgan ER, Seelye JF. Opportunities for synthetic plant chimeral breeding: Past and future. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 2002; 70: 13-21.

Studies on the Origins of Plant Tissues and Organs by *Brassica* Chimeras

Wang Yan, Li Junxing, Chen Liping*

(Department of Horticulture, Zhejiang University, Key Laboratory of Horticultural Plants Growth, Development and Biotechnology, Agricultural Ministry of China, Hangzhou 310058, China)

Abstract Two *Brassica* interspecific periclinal chimeras between tuber mustard and red cabbage which had both phenotypical and molecular markers were applied to systematically study the cell-layer origins of plant tissue and organs. The results showed that L1, L2 and L3 of SAM engaged in the formation and development of almost plant organs together, but their contributions varied in different organs. Both L1 and L2 participated the formation of leaf margin, while the adventitious root was derived from L3 only. PCR analysis suggested L2 gave rise to plant pollens, but sexual pollination trials also displayed the existence of L1-derived pollens. In conclusion, the well-marked periclinal chimeras are excellent materials for study the ontogenesis of plant tissues and organs.

Key words tissue and organ; origin; periclinal chimera; lineage marker; tuber mustard; red cabbage

Received: March 2, 2011 Accepted: April 19, 2011

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30971993) and the Special Program for the Science and Technology Plan of Zhejiang Province (No.2008C12004-2)

*Corresponding author. Tel: 86-571-88982006, E-mail: chenliping@zju.edu.cn