

高等植物核内再复制的生理功能及 分子调控研究进展

董丽丽 史会 陈丽萍*

(浙江大学农业与生物技术学院园艺系, 杭州 310029)

摘要 核内再复制是一种特殊的细胞周期, 它主要通过增加相关基因的表达量和细胞质物质的合成调控细胞生长, 并有利于细胞在此基础上进一步分化, 从而实现多种生理功能, 如贮藏营养物质、固氮、适应胁迫等。核内再复制有着与正常细胞周期不同的调控方式, 它通过下调M期CDK(Cyclins和cyclin-dependent kinases复合体)活性, 而使S期CDK活性呈现周期性正常或上调表达, 使细胞重复进入DNA复制期; 同时还协调RB/E2F、APC/C等调节途径, 构成有机统一的调控网络, 配合完成细胞周期的时序转换与细胞周期的有序进行。

关键词 核内再复制; 有丝分裂; 细胞周期调控; DNA复制

核内再复制(endoreduplication)在定义上有狭义与广义之分。狭义的核内再复制是一种DNA复制多次循环完成而没有分裂期(mitotic phase, M期)间隔的特殊细胞周期。在此过程中, 细胞内全部DNA完成复制, 但没有出现染色质凝聚、细胞膜解体、纺锤体形成、姐妹染色单体分离以及细胞核、细胞质分裂等现象^[1,2]。染色体数目没有改变, 复制后的染色体彼此连在一起, 通常比较粗大, 表现为多线性(polytenic)^[3]。而广义的核内再复制包括所有经历了DNA再复制的类型, 除上述情况之外, 还包括细胞核中仅有一部分染色质进行了复制; 染色体存在不同程度的分离等多种情况^[1]。核内再复制是最主要也是研究得最为清楚的一种导致细胞多倍化的现象。其它如异常终止的有丝分裂、细胞核融合以及多核细胞等导致细胞多倍化的情况, 均不包含在核内再复制范围内^[4]。

关于核内再复制, 早在1939年, Levan^[4]就从洋葱根部伸长区细胞中观察到了此现象。此后, 人们对不同植物组织或器官的DNA相关研究报道证实了核内再复制的普遍性: 高达90%以上的被子植物物种中存在这种现象^[5]。然而在一个特定的植物组织或器官中, 并不是所有细胞都会经历或在同等程度上经历这一过程。细胞核内再复制的程度通常在4C~64C(生物体单倍体基因组所含的DNA总量称为C值)之间, 在有些细胞类型中可能会更高, 如在一种海芋属植物细胞中甚至可以高达24576C。核内再复制是生物体调控细胞生长并在此基础上实现一定生理

功能所采用的一种方式。作为一种特殊的细胞周期, 它在分子水平上对正常的有丝分裂细胞周期进行了独特巧妙的调整, 对其分子调控的研究引起了人们极大的关注。早期的研究主要集中在哺乳动物及酵母菌等物种上^[6], 近年来, 对于植物核内再复制的研究取得了较大进展。本文就其在高等植物生长发育过程中的生理功能及分子调控方面的研究进展予以综述。

1 核内再复制对植物细胞生长的调控及其生理功能

1.1 核内再复制对植物细胞生长的调控作用

生物体整体水平的生长所需决定了各组织中的细胞是否进行分裂或生长分化等过程^[7]。通常细胞以以下几种状态存在: 进行正常增殖分裂; 停止增殖进入G₀期(暂时退出细胞周期, 进入休眠状态); 脱离生长调控, 持续进行增殖或进入特殊细胞周期, 即进行核内再复制。我们认为核内再复制是生物体基于整体水平(organism-based growth)对生长发育过程进行有效调控所采用的一种方式。很早以来, 人们就认识到核内再复制导致的DNA含量的增加通常与细胞核及细胞的增大相关。很多实验结果都证实了这一观点。在拟南芥、水稻、小麦、高粱、番茄、甘

收稿日期: 2009-07-17 接受日期: 2010-05-31

浙江省自然科学基金项目(No.y307380)和浙江省重大科技专项(优先主题)农业项目(No.2008C12004-2)资助

*通讯作者。Tel: 0571-86971006, E-mail: chenliping@zju.edu.cn

蓝、曼陀罗等多种植物组织细胞中, DNA含量的增加的确伴随着细胞核及细胞体积的增大^[6]。核内再复制作为一种生长调节机制参与调控生长过程。首先, 核内再复制产生了更多的基因模板, 从而使基因转录增加^[4]; 其次, 进行这种过程的细胞可能会增加RNA及核糖体的合成, 导致蛋白合成速率的提高; 此外, 还有研究推测在核内再复制过程中, 染色质主要处于解压缩状态, 这可能也有利于通过维持RNA合成从而对提高基因表达有利。

依据“核质比”理论: 细胞核的大小可以影响细胞质的体积, 两者之间存在一定的比例。这可能是由于基因复制及表达的加强为组织的迅速增生提供了充足的DNA储备, 并触发了高代谢活性以便适应装配大量新生细胞器及细胞质物质的需要, 从而导致了整个细胞的膨大生长^[8]。然而, 核内再复制对细胞大小的影响并不是绝对的。细胞体积的增大还依赖于液泡化程度及细胞所处的微环境: 即邻近细胞的生理生化代谢及分子信号转导等因素。在多细胞有机体中, 只有当单个细胞的分裂和生长按其所处的精确位置同其邻近细胞协调配合并按程度进行时, 组织的完整活性才得以维持, 生物体整体才会处于最适状态。

1.2 核内再复制有利于生物体实现特定生理功能

在调控细胞生长的基础上, 核内再复制有利于细胞进一步分化, 从而实现某些生理功能。例如: 在一些草本植物中, 通过核内再复制形成大的含有无机包合物或粗短刺状的毛状体细胞以抵御食草动物的摄食^[9,10]; 在固氮植物中, 形成大的根瘤细胞容纳固氮根瘤菌的共生从而促进植物的氮素固定^[11]; 许多植物的胚乳及绒毡层细胞普遍高度核内再复制化。在这些暂时性的组织中, 通过这一过程, 可以有效地减少细胞分裂对细胞壁物质合成的需要, 从而为将来胚及花粉粒的发育提供尽量多的营养物质和能量^[12,13]。由于核内再复制通常伴随着细胞质贮藏物质的增加, 因此果实或种子中许多储藏淀粉、糖分等物质的薄壁组织细胞也是经过核内再复制的^[14]。另外, 核内再复制在适应胁迫、保护基因组避免发生退化突变等方面也有其独特功能。例如, 连作障碍中的自毒物质抑制黄瓜胚根的生长, 导致细胞周期相关基因表达下调, 而核内再复制水平的升高可能是植物对逆境响应的一种保护机制^[15,16]。植物细胞的分化过程不一定需要经历核内再复制, 但它却可能作为一种细胞状态的明确记号, 表明这些细胞已进入分化过程。核内再复制一般情况下是不可逆的, 它阻止了细胞再次

进入正常的增殖, 因此在旺盛分裂部位的组织细胞中一般不会出现。推测它可能在引导相关细胞进行进一步分化或导入程序性死亡过程中发挥作用。在某些培养条件或特殊刺激下, 发生核内再复制的细胞可以重新进入有丝分裂, 以完成创伤愈合或发挥其他潜在功能^[17]。

2 核内再复制的分子调控

正常有丝分裂细胞周期要依次经历间期1 (Gap1, G₁期)、DNA合成期(DNA synthesis phase, S期)、间期2(Gap2, G₂期)和M期, DNA复制与染色体分离是紧密配合的^[18]。然而, 在核内再复制过程中, 多轮DNA复制能够完成而没有M期的参与, 这表明核内再复制细胞周期存在着独特的调节方式, 对正常细胞周期予以了“修改”或“调整”。目前的研究主要集中在CDK(Cdk-Cyclin复合体)活性、RB/E2F的调控、APC/C的调控等方面。这些调控因素是有机统一的整体, 协调配合调控细胞周期的时序转换, 保证核内再复制这种特殊细胞周期能够有序进行。

2.1 CDK的调控

CDK被称为细胞周期引擎分子, 对细胞周期的运转起着核心性调控作用^[19]。CDK具有蛋白激酶活性, 是由周期蛋白(Cyclins)和周期蛋白依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinases, Cdk)结合形成的异源二聚体复合物。其中, Cyclins为调节亚基, Cdk为催化亚基。只有与相应的Cyclin结合, 并在一些蛋白激酶如Wee1/Mik1、CAK(cdk-activating kinase)和磷酸酶Ep80^{cdc25}参与下, 经过磷酸化和去磷酸化作用, Cdk才能表现出激酶活性。高等真核生物中, Cyclin家族成员根据其序列相似性及生理功能可以分为不同类型, 迄今已被鉴定出的有CyclinA、B、C、D、E、F、G、H等; Cdk家族成员有Cdk1(cdc2)、Cdk2、Cdk3、Cdk4、Cdk5、Cdk6、Cdk7等。Cdk家族与Cyclin家族成员之间协调配合, 调节细胞由G₁→S、G₂→M, 维持M期的进行或转入核内再复制等各个进程。不同的CDK在细胞周期中起调节作用的时间和功能不同。如Cdk4等与D型Cyclin结合的复合物主要在G₁期R(Restriction)点起作用; Cdk2在G₁期和早S期分别与CyclinD和CyclinE结合, 作用于G₁→S和S期的起始; Cdk2与CyclinA的结合作用于S期起始与进行; Cdk1(cdc2)可分别与CyclinA和CyclinB结合(其中主要是CyclinB), 为G₂→M过渡所必需, 也被称为有丝分裂启动因子(M phase-promot-

ing factor, MPF)。

不同时期的CDK渐次表达,通过底物磷酸化/去磷酸化作用,发挥其调节细胞周期时序转换的作用,推动细胞周期的运转。核内再复制过程中,细胞没有进入M期,这表明由G₂期向M期过渡的CDK复合体产生受阻或者其激酶活性受到抑制^[10]。很多结果证明了这种观点:无论是在酵母中,CyclinB(*cdc13ts*)发生突变或M期CDK抑制蛋白RUM1的表达量提高^[19];还是在哺乳动物中,M期CDK转录水平的下降^[20];或者在果蝇中,使Cdk-CyclinB的激活物STRING处于非最适活性水平^[21];以及在拟南芥和番茄中,起负性调节作用的CDK活性水平提高或M期CDK抑制物Wee1的表达^[22,23],均使得M期CDK活性水平下降,导致细胞跳过M期,出现核内再复制现象。

在正常增殖的细胞周期中,细胞也正是通过维持高水平的Cdk1-CyclinB的活性来保证细胞进入M期。真核细胞对DNA复制起始点的调控是通过一套高度协调的机制来完成的。当一个细胞在G₁期达到适当大小并有足够物质准备之后,包括复制起始点识别复合物(origin recognition complex, ORC)、细胞周期蛋白6(*cell division cycle 6, CDC6*)、细胞周期蛋白10的靶蛋白1(*cyclin 10 target 1, CDT1*)和微染色体维持蛋白2-7(*minichromosome maintenance 2-7, MCM2-7*)复合物在内的多种“执照蛋白”(licensing proteins)开始有步骤地装载,形成预复制复合体(*pre-replication complex, Pre-RC*)。在G₁期向S期的转变过程中,Pre-RC被增强的S期CDK活性所激活,起始DNA复制。而一旦复制起始,Cdk1-CyclinB便与ORC结合,并使之磷酸化失去活性,其他关键“执照蛋白”也纷纷从染色体上卸载,由不同的CDK调节,运出细胞核或受到抑制、水解等使其水平下降,被拆分的Pre-RC便失去了再次准许DNA复制起始的权利^[24]。随后细胞通过S、G₂期,在由G₂→M转变时,M期CDK(主要是Cdk1-CyclinB)活性增强,驱使细胞进入M期。直到M期后期,相关CDK被降解,导致新形成的子细胞中M期CDK活性下降,缓解了其对ORC的磷酸化作用,使其可以重新与CDC6、CDT1、MCM等蛋白结合,形成新的Pre-RC,起始新一轮DNA复制^[24,25]。

在一个细胞周期中,各CDK的活性水平都在活性极限(即驱动细胞进入相应细胞周期进程的活性)和允许极限(本底活性)间呈现周期性振荡。M期Cdk-Cyclin活性处于一种较正常低水平的振荡状态,使其

活性不足以驱动细胞进入M期,但仍然可以在恰当的时候维持其对ORC的磷酸化作用^[25,26];而S期CDK活性打破了其在正常细胞周期中的出现规律,按照较高表达水平持续地在活性极限和允许极限间交替重复出现时^[10],就会将细胞引入一轮又一轮的DNA复制过程,从而导致核内再复制现象的产生。目前的研究一致发现,在核内再复制细胞周期中,S期CDK蛋白呈现周期性的持续或上调表达,M期CDK蛋白则表达下调^[1,2,27]。而残留的M期CDK活性也是十分必要的,并非M期CDK活性越低越容易产生核内再复制现象。在玉米胚乳中,起负性调控作用的CDKA;1的表达导致M期CDK活性过度降低反而使核内再复制水平下降^[12]。因此,当一个细胞复制完成后是进入有丝分裂还是再次进入复制,很大程度上是由细胞对各种CDK活性的精准有序的调控决定的。

CDK活性受到许多因素的影响,现以核内再复制过程活性降低的M期CDK为例予以介绍:(1) Cyclins的影响。Cdk1(*cdc2*)可分别与CyclinA/B结合,形成MPF,促使细胞进入M期。对Cyclins进行转录水平的调控,如阻抑或者增强特异转录因子的功能;对Cyclins基因的定点或随机转录错误和转录后错误的选择性拼接等,都可造成CyclinA和CyclinB形成异常的mRNA,这样便不能合成正常的Cyclins,从而直接影响了MPF复合体的装配^[10]。(2) CDK的磷酸化/去磷酸化作用。CDK蛋白在正确组装以后,某些控制位点还需要经过磷酸化/去磷酸化过程才能发挥作用。以CDK1为例:当T161(161位苏氨酸)位点完成磷酸化,T14(14位苏氨酸)和Y15(15位酪氨酸)位点去磷酸化后才能启动CDK1的激酶活性。CAK可以催化T161位点的磷酸化,它的变动将会对CDK活性产生重要影响。另外,若Y15位被Wee1激酶磷酸化,或其T14和Y15位同时被P80^{myt1}磷酸化,都可使CDK1失去激酶活性^[28]。(3) CDK激活物或抑制物。拟南芥中SIAMESE基因编码的SIM蛋白具有CDK结合位点,可以抑制有丝分裂,促进核内再复制。植物表皮细胞中的TRY基因调控SIM的表达,对核内再复制起负调控作用,GLL基因则起着正调控作用^[29]。装配完整且有活性的Cdk1-CyclinA/B结合上抑制物(CDK kinase inhibitors, CKIs)后,MPF复合体的活性可被抑制。如拟南芥叶片中,NtKIS1a和KRP引起的CDK活性下降,抑制了毛状体细胞的核内再复制^[30,31]。CKIs是一类与CDK相互作用的蛋白,在体内外均可以结合CDK1和CDK2,具有对CDK正

负双向调控的能力,同时在有丝分裂和核内再复制中起作用^[30,32]。(4) CDK的降解。M期 Cyclins N端结构域中有一段保守的 D box 序列,它是 M期泛素化和随后降解所必需的。转录因子 CCS52 激活的 APC (anaphase-promoting complex)是一种泛素连接酶 E3,通过将带泛素的 E2s 和含 D box 的底物连接在一起,实现了对 M期 CDK 蛋白的降解。而其他时期的 CDK 也可经由 APC 途径或其他蛋白降解途径予以降解。这些影响因素都可以直接或间接调节 CDK 的活性,从而影响细胞周期的进程。

2.2 RB/E2F 的调控

除调控 CDK 活性抑制细胞进入 M 期外,核内再复制还需要其他过程的相互协调,有序进行。细胞进行 DNA 的复制,需要完成由 G₁ 期向 S 期的转化。RB/E2F (retinoblastoma/adenovirus E2 promoter binding factor)在这一过程中起着重要作用。E2F 是一种可以促进 G₁ → S 期转化和 DNA 复制的转录因子。RB 通过抑制 E2F 转录因子从而对细胞周期起负调节作用。G₁ 期的晚期阶段 Cdk-CyclinD/E 通过磷酸化 RB 使其失活,缓解了对 E2F 的抑制作用,E2F 促进启动 S 期相关基因的转录,诱导产生大量的 CyclinA, CyclinA 便与相应的 Cdk 结合形成 SPF (S phase-promoting factor, SPF)复合物,启动细胞进入 S 期。在 S 期末, CyclinA 被 APC 引入的泛素降解途径降解失去活性。而此时若再与 M 期的 CDK 低活性配合,细胞便再次进入间期准备。实验表明:在哺乳动物和植物中,磷酸化导致的 RB 和 RB 相关蛋白 (retinoblastoma related protein, RBP) 的失活,减轻了其对 DNA 复制和 S 期相关基因转录的抑制作用。E2F 靶蛋白表达量上升并在不同的器官、组织中表现出了与核内再复制现象的相关性^[33-36]。

除抑制 E2F 复合物之外, RB 还可能通过与复制起始点相互作用,下调复制“执照蛋白”的表达或者提高正常有丝分裂检验点蛋白的表达等方式抑制核内再复制。但是, RB/E2F 对核内再复制过程的调节好像很大程度上依赖于细胞发育的环境。事实上,很多研究表明 RB 的下调(E2F 的上调)倾向于促进进行有丝分裂细胞或组织的细胞增殖。但是,在进行核内再复制或已分化的细胞或组织中则促进核内再复制^[34]。目前对于 RB 是如何实现这一功能及如何受到细胞发育环境影响的研究还未见报道。

2.3 APC/C 的调控

通过泛素途径对某些蛋白质进行有调节性地降

解对于调控细胞周期也是十分重要的。APC/C 除了降解 CDK 以外,对于降解干扰 Pre-RC 形成的蛋白也具有关键作用^[37]。CDH1 是 APC/C 的激活物,对于 APC/C 与底物的相互作用是必需的^[38]。从果蝇和苜蓿中已经分别鉴定出 CDH1 的同源物 Fzr 和 CSS52A。研究发现:根瘤发育过程中, CSS52A 不仅在有丝分裂细胞周期转变为核内 DNA 再复制的过程中发挥重要作用,而且在已经分化了的细胞中可以维持或增强核内 DNA 的再复制^[39]。位于 CDTI 及其抑制物 geminin 和 CycA/CDKS 上游的 Emil,作为 APC/C 的抑制物,可以通过染色质绑定和过磷酸化,激活 CDTI、CDC6、MCMs,而导致 DNA 再复制^[40]。这项研究成果同时也表明了 APC/C 活性的适当变动对于 Pre-RC 的装配及 S 期与 M 期的配合具有重要意义。但是,植物中尚未发现 Emil 同源物,因此它们是否利用这一途径还有待进一步探索。APC/C 另外一个显为人知的作用是促进姐妹染色单体的分离。因为进行 DNA 再复制的染色体通常是多线性的,研究细胞中 APC/C 这方面的活性是否受到影响也是一个令人感兴趣的地方。

3 小结与展望

综上所述,对核内再复制虽然前期研究比较缓慢,多限于描述现象,然而细胞周期调控理论的发现为其打下了基础,使人们对核内再复制的本质有了初步认识。另外,核内再复制过程还受到基因型、植物激素、环境及双亲效应等许多因素的影响和调节,对于这些因素是如何同细胞周期调节机制相联系的研究也在进行中。核内再复制的许多调控机制有别于正常的细胞周期,其中一些调控因子或途径在不同的微环境中发挥着不同的作用,目前,对其进行系统的研究还存在许多限制,今后更多影响细胞周期基因表达的突变体或转基因植株的发现或构建,将会使核内再复制的研究得以进一步的深入和发展。

参考文献(References)

- 1 Edgar BA, Orr-Weaver TL. Endoreplication cell cycles: more for less. *Cell* 2001; 105(3): 297-306.
- 2 Larkins BA, Dilkes BP, Dante RA, Coelho CM, Woo YM, Liu Y. Investigating the hows and whys of DNA endoreduplication. *J Exp Bot* 2001; 52(355): 183-92.
- 3 Carvalheira GMG. Plant polytene chromosomes. *Genet Mol Biol* 2000; 23(4): 1043-50.
- 4 Levan A. Cytological phenomena connected with the root swelling caused by growth substances. *Hereditas* 1939; 25: 87-96.

- 5 D'Amato F. Role of polyploidy in reproductive organs and tissues. In: Jorhri BM, ed. Embryology of angiosperms, New York: Springer-Verlag 1984; 519-66.
- 6 Sabelli PA, Larkin BA. The endoreduplication cell cycle: regulation and function. In: Verma DPS, Hong Z, eds. Plant Cell Monographs (9): Cell Division Control in Plants. Berlin Heidelberg: Spinger-Verlag, 2007, 75-100.
- 7 John PCL, Qi R. Cell division and endoreduplication: doubtful engines of vegetative growth. Trends in Plant Science 2008; 13(3):121-127.
- 8 杨 蕾, 赵云云, 何奕昆. 核内再复制分子机制研究进展. 植物学通报 2004; 21(3): 280-7.
- 9 Serna L, Martin C. Trichomes: different regulatory networks lead to convergent structures. Trends in Plant Science 2006; 11(6): 274-80.
- 10 Coley PD, Barone JA. Herbivory and plant defenses in tropical forests. Annu Rev Ecol Syst 1996; 27: 305-35.
- 11 Kondorosi E, Kondorosi A. Endoreduplication and activation of the anaphase-promoting complex during symbiotic cell development. FEBS Letters 2004; 567(1): 152-7.
- 12 Leiva-Neto JT, Grafi G, Sabelli PA, Dante RA, Woo YM, Maddock S, et al. A dominant negative mutant of cyclin-dependent kinase A reduces endoreduplication but not cell size or gene expression in maize endosperm. Plant Cell 2004; 16(7): 1854-69.
- 13 Weiss H, Maluszynska J. Molecular cytogenetic analysis of polyploidization in the anther tapetum of diploid and autotetraploid *Arabidopsis thaliana* plants. Ann Bot 2001; 87(6): 729-35.
- 14 Chevalier C. Cell cycle control and fruit development. In: Inze D, ed. Cell Cycle Control and Plant Development. England: Blackwell Publishing Ltd, 2007, 269-93.
- 15 Zhang Y, Gu M, Xia XJ, Shi K, Zhu YH, Yu JQ. Effects of phenylcarboxylic acids on mitosis, endoreduplication and expression of cell cycle-related genes in roots of cucumber (*Cucumis sativus* L.). J Chem Ecol 2009; 35(6): 679-88.
- 16 Zhang Y, Gu M, Shi K, Zhu YH, Yu JQ. Effects of aqueous root extracts and hydrophobic root exudates of cucumber (*Cucumis sativus* L.) on nuclei DNA content and expression of cell cycle-related genes in cucumber radicles. Plant Soil 2010; 327:455-63.
- 17 Weinl C, Marquardt S, Kuijt SJH, Nowack MK, Jakoby MJ, Hülskamp M, et al. Novel functions of plant cyclin-dependent kinase inhibitors, ICK1/KRP1, can act non-cell-autonomously and inhibit entry into mitosis. Plant Cell 2005; 17(6): 1704-22.
- 18 崔中和, 王喜忠, 丁明孝. 细胞生物学, 北京: 高等教育出版社, 2000, 358-412.
- 19 Hayles J, Fisher D, Woollard A, Nurse P. Temporal order of S phase and mitosis in fission yeast is determined by the state of the p34cdc2-mitotic B cyclin complex. Cell 1994; 78(5): 813-22.
- 20 Itzhaki JE, Gilbert CS, Porter ACG. Construction by gene targeting in human cells of a "conditional" CDC2 mutant that rereplicates its DNA. Nat Genet 1997; 15(3): 258-65.
- 21 Jordan KC, Schaeffer V, Fischer KA, Gray, EE, Ruohola BH. Notch signaling through Tramtrack bypasses the mitosis promoting activity of the JNK pathway in the mitotic-to-endocycle transition of *Drosophila* follicle cells. BMC Dev Biol 2006; 6: 16-38.
- 22 Boudolf V, Vlieghe K, Beemster GTS, Magyar Z, Acosta JTA, Maes S, et al. The plant-specific cyclin-dependent kinase CDKB1; 1 and transcription factor E2Fa-DPa control the balance of mitotically dividing and endoreduplicating cells in *Arabidopsis*. Plant Cell 2004; 16(10): 2683-92.
- 23 Gonzalez N, Gevaudan F, Hernould M, Chivalier C, Mouras A. The cell cycle-associated protein kinase WEE1 regulates cell size in relation to endoreduplication in developing tomato fruit. Plant J 2007; 51(4): 642-55.
- 24 Blow JJ, Dutta A. Preventing re-replication of chromosomal DNA. Nat Rev Mol Cell Biol 2005; 6(6): 476-86.
- 25 Nishitani H, Lygerou Z. Control of DNA replication licensing in a cell cycle. Genes Cells 2002; 7(6): 523-34.
- 26 Wuarin J, Buck V, Nurse P, Millar JBA. Stable association of mitotic cyclin B/Cdc2 to replication origins prevents endoreduplication. Cell 2002; 111(3): 419-31.
- 27 Sauer K, Knoblich JA, Richardson H, Lehner CF. Distinct modes of cyclinE/Cdc2c kinase regulation and S-phase control in mitotic endoreduplication cycles of *Drosophila* embryogenesis. Genes Dev 1995; 9(11): 1327-39.
- 28 Sun YJ, Dilkes BP, Zhang CS, Dante RA, Carneiro NP, Lowe KS, et al. Characterization of maize(*Zea mays* L)Wee1 and its activity in developing endosperm. Proc Nati Acad Sci USA 1999; 96(7): 4180-5.
- 29 Sugimoto-Shirasu K, Roberts K. Big it up: endoreduplication and cell-size control in plants. Curr Opin Plant Biol 2003; 6(6): 544-53.
- 30 De Veylder L, Beeckman T, Beemster GTS, Krols L, Terras B, Landrieu I, et al. Functional analysis of cyclin-dependent kinase inhibitors of Arabidopsis. Plant Cell 2001; 13(7): 1653-67.
- 31 Jasinski S, Riou-Khamlichi C, Roche O, Perennes C, Bergounioux C, Glab N. The CDK inhibitor NtKIS1a is involved in plant development, endoreduplication and restores normal development of cyclin D3;1-overexpressing plants. J Cell Sci 2002; 115(5): 973-82.
- 32 Jacquard A, De Veylder L, Segers G, Engler JA, Bernier G, Montagu MV, et al. Expression of CKS1At in *Arabidopsis thaliana* indicates a role for the protein in both the mitotic and the endoreduplication cycle. Planta 1999; 207(4): 496-504.
- 33 Park JA, Ahn JW, Kim YK, Kim SJ, Kim JK, Kim WT, et al. Retinoblastoma protein regulates cell proliferation, differentiation, and endoreduplication in plants. Plant J 2005; 42(2): 153-63.
- 34 Desvoyes B, Ramirez-Parra E, Xie Q, Chua NH, Gutierrez C. Cell type-specific role of the retinoblastoma/E2F pathway during Arabidopsis leaf development. Plant Physiol 2006; 140(1): 67-80.
- 35 De Veylder L, Beeckman T, Beemster GTS, Engler JA, Ormenese S, Maes S, et al. Control of proliferation, endoreduplication and differentiation by the *Arabidopsis* E2Fa-DPa transcription factor. EMBO J 2002; 21(6): 1360-8.
- 36 Kosugi S, Ohashi Y. Constitutive E2F expression in tobacco plants exhibits altered cell cycle control and morphological change in a cell type-specific manner. Plant Physiol 2003; 132(4): 2012-22.
- 37 Nakayama KI, Nakayama K. Ubiquitin ligases: cell-cycle control and cancer. Nat Rev Cancer 2006; 6(5): 369-81.
- 38 Peters JM. The anaphase promoting complex/cyclosome: a

- machine designed to destroy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7(9): 644-56.
- 39 Gonzalez-Sama A, de la Pena TC, Kevei Z, Mergaert P, Lucas M, de Felipe MR, *et al.* Nuclear DNA endoreduplication and expression of the mitotic inhibitor Ccs52 associated to determine and lupinoid nodule organogenesis. *Mol Plant-Microbe Interact* 2006; 19(2): 173-80.
- 40 Machida YJ, Dutta A. The APC/C inhibitor, Emi1, is essential for prevention of rereplication. *Genes Dev* 2007; 21(2): 184-94.

Progress in Physiological Functions and Molecular Regulations of Endoreduplication in Higher Plants

Li-Li Dong, Hui Shi, Li-Ping Chen*

(Department of Horticulture, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract Endoreduplication is a kind of special cell cycle which regulates cell growth through increasing the expression of related genes and the synthesis of cytoplasmic substances. It also has some advantages for further cell differentiation in order to fulfill concrete physiological functions, such as accumulation of nutrient substance, nitrogen fixation, stress accommodation and so on. Compared with normal cell cycle, distinct and exquisite modifications are made during the process of endoreduplication. M phase CDK activities are depressed while S phase CDK express periodically with normal or higher activities, hence cells are led to DNA replication phase repeatedly. Besides, RB/E2F, APC/C and other pathways are also involved in the molecular regulation of endoreduplication. In a word, a whole coherent and harmonious network accomplishes the consecutive transition of cell cycle phases and guarantees the whole process to be orderly operated.

Key words endoreduplication; mitosis; cell cycle regulation; DNA replication

Received: July 17, 2009 Accepted: May 31, 2010

This work was supported by Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (No.y307380) and the Key Project of Science and Technology of Zhejiang (No.2008C12004-2)

*Corresponding author. Tel: 86-571-86971006, E-mail: chenliping@zju.edu.cn