

研究简报

蔗糖对细胞周期进程的影响

周康迪^{1,2} MAGEZI Joshua² 何文翀^{1,2} 马伟^{1*}(¹江南大学未来食品科学中心, 无锡 214122; ²江南大学生物工程学院, 无锡 214122)

摘要 根的生长通过细胞增殖和细胞伸长实现, 二者都直接或间接地受细胞周期调控, 前期研究表明缺乏蔗糖会影响拟南芥主根的细胞增殖和细胞伸长, 并且对于细胞周期也具有一定的影响。该研究分析拟南芥幼苗全根在含1%蔗糖以及不含蔗糖条件下的生长差异, 以根尖为研究材料通过5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)染色指示根尖细胞增殖能力并通过流式细胞术进一步检测细胞类型。结果表明蔗糖可调控拟南芥根尖细胞增殖, 并且蔗糖是一个激活细胞增殖的信号; 蔗糖缺乏时根尖细胞S期缩短、G₁期细胞占比明显增多且核内再复制能力下降, 使得细胞增殖和细胞伸长都受到影响。该研究证实蔗糖影响到根尖细胞周期中G₁-S期转换以及核内再复制能力, 进而调控细胞增殖和细胞伸长, 为理解根尖生长调控机制提供进一步的证据。

关键词 细胞周期; 细胞增殖; 细胞伸长; 蔗糖

Effect of Sucrose on Cell Cycle Process

ZHOU Kangdi^{1,2}, MAGEZI Joshua², HE Wenchong^{1,2}, MA Wei^{1*}(¹Science Center for Future Foods, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;²School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract The growth of roots is achieved by cell proliferation and cell elongation, both of which are directly or indirectly regulated by cell cycle. Previous studies have shown that the lack of sucrose will affect the cell proliferation and cell elongation of *Arabidopsis* tap roots, and have a certain impact on the cell cycle. In this study, the growth differences of *Arabidopsis* seedlings under the conditions of 1% sucrose and no sucrose were analyzed, and the proliferation ability of root tips was indicated by EdU (5-ethynyl-2-deoxyuridine) staining, and the cell types were further detected by flow cytometry. The results showed that sucrose regulated the proliferation of *Arabidopsis* root tip cells, and sucrose was a signal to activate cell proliferation. When sucrose is deficient, the S phase of root tip cells is shortened, the proportion of G₁ phase cells is obviously increased, and the ability of nuclear replication is decreased, which affects cell proliferation and cell elongation. This study proves that sucrose affects the G₁-S phase transition and the ability of nuclear replication in the cell cycle of root tip, and then regulates cell proliferation and cell elongation, which provides further understanding for the regulation of root tip growth.

Keywords cell cycle; cell proliferation; cell elongation; sucrose

收稿日期: 2025-01-12

接受日期: 2025-02-10

国家自然科学基金面上项目(批准号: 32270097)、江苏省研究生科研与实践创新计划(批准号: KYCX23_2567)、江苏省基础 Research 计划(批准号: BK20233003)和江苏省合成生物基础研究中心资助的课题

*通信作者。Tel: 15202663433, E-mail: weima03@jiangnan.edu.cn

Received: January 12, 2025

Accepted: February 10, 2025

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32270097), the Postgraduate Research & Practice Innovation Program of Jiangsu Province (Grant No.KYCX23_2567), the Basic Research Program of Jiangsu Province (Grant No.BK20233003), and the Jiangsu Provincial Synthetic Biology Basic Research Center

*Corresponding author. Tel: +86-15202663433, E-mail: weima03@jiangnan.edu.cn

植物主根生长通过细胞增殖和细胞伸长实现,根分生区负责细胞增殖,伸长区负责细胞伸长^[1]。细胞增殖最直观的表现是细胞分裂,即由原来的一个亲代细胞变为两个子细胞,使细胞的数目增加。从一次细胞分裂结束开始,经过DNA的复制(S期),直到下一次分裂结束为止,称为一个细胞周期。细胞周期是一个高度受控的相互联系的过程^[2]。在靠近根尖的顶端分生组织中,新细胞通过细胞分裂不断形成。离开分生组织后,这些细胞会经过过渡区,细胞在生理和机械上做好快速伸长的准备。在快速伸长区,细胞的长度和体积都会快速增加^[3]。细胞伸长主要由包括内复制(重复进行DNA复制但并不进行分裂的细胞周期)在内的多种因素共同控制^[4]。细胞增殖使细胞数目增加,细胞伸长则增大细胞的长度和体积,细胞增殖以及细胞伸长都直接或间接地受细胞周期影响^[5-6],它们通过协调作用共同促进主根生长。

在高等植物中,根的发生和生长受内外因素调控,其中糖是最重要的因素之一^[7]。蔗糖已被证实拟南芥根的发育中起着不可或缺的作用,还能刺激下胚轴和根的伸长生长^[8-10]。缺乏蔗糖时,拟南芥主根生长受到明显抑制;在培养基中添加蔗糖会使根的数量、长度和直径增加,分裂细胞的数量也会增加并且伴随顶端分生组织的尺寸扩大,主根长度显著增加^[11-14],对于拟南芥根的细胞增殖和细胞伸长都具有促进作用。

此外,研究表明蔗糖对于拟南芥细胞周期具有一定的影响。真核细胞通过有丝分裂细胞周期的不同阶段是由称为细胞周期依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族控制的。CDK的活性通过激酶与调节亚单位细胞周期蛋白(cyclin)的结合来调节^[15]。蔗糖可以诱导拟南芥细胞中CDK编码基因*CdkA1*、A型细胞周期蛋白编码基因*CycA*和D型细胞周期蛋白编码基因*CycD*的表达^[16]。拟南芥细胞经历饥饿后,外源补充蔗糖,在施用蔗糖后的30 min内诱导*CycD2*的表达,而直到施用后4 h我们可观察到*CycD3*水平的增加^[17],与在G₁早期表达*CycD2*,在G₁晚期接近S期边界表达*CycD3*的观点相符。这表明*CycD2*和*CycD3*作为蔗糖参与细胞周期的直接介质^[17]。对拟南芥幼苗根分生组织进一步研究表明,蔗糖参与分生组织激活和植物生长中的葡萄糖驱动雷帕霉素靶标(target-of-

rapamycin, TOR)信号网络转导,通过控制TOR信号转导(该信号主要由葡萄糖通过糖酵解和线粒体生物能量学接力刺激)以快速控制代谢转录网络并激活根分生组织中的细胞周期^[18]。葡萄糖-TOR信号转导通过E2Fa转录因子执行其细胞增殖调控。蔗糖在其中扮演激活E2Fa靶基因的角色,使E2Fa转录因子可在细胞周期进入时以非常规方式激活S期基因表达^[18]。

本研究以拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)幼苗为实验材料,证实蔗糖缺乏会抑制主根生长,细胞增殖能力显著降低,补充蔗糖后细胞增殖能力恢复,表明蔗糖是一个可以激活细胞增殖的信号,对细胞周期进程具有一定的调控作用;此外,蔗糖缺乏时,根尖细胞S期的持续时间会缩短并且处于G₁期的细胞占比明显升高,根尖细胞核内复制能力也会降低,揭示蔗糖通过影响细胞周期进程调控细胞伸长。这些结果表明蔗糖通过参与细胞周期进程影响到细胞增殖和细胞伸长能力,可为根系发育以及细胞周期调控的研究提供理论依据和研究基础。

材料

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)哥伦比亚野生型种子Col-0购自美国拟南芥生物资源中心(arabidopsis biological resource center, ABRC)。

培养基配制与拟南芥培养

本研究使用的含蔗糖培养基(S+)为含有1%(质量分数:质量/体积, W/V)蔗糖以及85 mg/L KH₂PO₄ (Pi)的1/2 MS基础盐(减磷,含维生素)培养基,用KOH调至pH=5.7,固体培养基中加入1.2%(W/V)琼脂。蔗糖缺乏培养基(S-)中不添加蔗糖。MS基础盐(减磷,含维生素)培养基购自北京酷来搏科技有限公司, KH₂PO₄和KCl购自国药集团化学试剂有限公司,琼脂购自德国赛国生物科技有限责任公司,蔗糖购自上海生工生物工程有限公司。

拟南芥种子用70%(体积浓度:体积/体积, V/V)乙醇+0.05%(V/V) Triton X-100消毒液浸泡12 min,进行表面消毒。随后用95%(V/V)乙醇洗2遍,吹干表面残留的乙醇后,将种子用100 μL枪头均匀播种在固体1/2 MS培养基上。将培养平板用Parafilm封口后避光放置于4℃冰箱中春化2天,使种子萌发整齐。春化结束后将平板垂直放在智能人工气候箱中,使幼苗

的根可以沿着培养基表面竖直生长。培养条件: 光照处理16 h, 光照强度为8 000 Lx, 温度为22 °C, 湿度为60%; 黑暗处理8 h, 温度为18 °C, 湿度为60%。

幼苗主根长度测定

春化2天, 生长5天后(第7天), 选取根长度和幼苗长势基本一致的幼苗转移到S+和S-固体培养基上。每个平板种植15~20棵苗, 每种平板3个重复。竖直放置于智能人工气候箱, 每隔24 h用凝胶成像仪(Tanon 2500B)拍照, ImageJ软件(NIH)用于测量主根长度, 调整亮度和对比度, 并呈现最大投影图像。

EdU标记分析

拟南芥幼苗移苗后再生长4天(第11天), 转移至液体培养基过夜进行适应性培养, 第二天置于含有10 $\mu\text{mol/L}$ 的EdU的培养基中室温孵育20 min; 孵育结束后, 将植株转移至含1 mL 4%多聚甲醛溶液的EP管中, 室温固定1 h; MTSB溶液(15.1 g/L PIPES, 1.23 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 以及1.9 g/L EGTA; pH 7.0)清洗2次后, 放入ClearSee溶液(100 g/L木糖醇, 150 g/L脱氧胆酸钠以及250 g/L尿素)中透明化处理7天。多聚甲醛购自上海默克化工技术有限公司。YF 488 Click-iT EdU染色试剂盒购自苏州优逸兰迪生物科技有限公司。其余试剂配制所需原料购自上海生工生物工程有限公司。

透化结束后, 用Click-iT工作液检测EdU标记。依次用碘化丙啶(propidium iodide, PI)的染色液(10 mmol/L Tris-HCl, pH7.5, 内含2 mg/L PI)染色10 min以及荧光增白剂(Calcofluor)染色液(10 mmol/L Tris-HCl, pH9.2, 内含40 mg/L PI)染色20 min。PI以及Calcofluor购自上海源叶生物科技有限公司, 其余试剂配制需要的原料购自上海生工生物工程有限公司。

用共聚焦显微镜20倍空气镜(蔡司LSM880)拍照, z轴纵向拍摄0.68 μm /层(根尖厚度约100 μm); 拍摄Calcofluor、EdU和PI染色结果时所用激发光波长分别为405、488和546 nm。ImageJ软件(NIH)用于测量EdU和PI标记细胞数, 调整亮度和对比度, 并呈现最大投影图像。

细胞周期持续时间及S期持续时间计算

用10 $\mu\text{mol/L}$ 的EdU分别室温孵育270 min、360 min

以及460 min, 再经PI和Calcofluor染色后进行共聚焦成像。根据每个细胞文件中相邻细胞核区域边缘之间的最近距离指定分生区。然后, 绘制了含蔗糖条件与蔗糖缺乏条件EdU标记比例(EdU标记的细胞核除以PI染色的细胞核乘以100)与EdU标记时间的函数关系图。细胞周期和S期持续时间由线性近似公式估算^[19]:

$$\text{细胞周期长度} = 100/a \quad (1)$$

$$\text{S期长度} = b/a \quad (2)$$

其中“a”是斜率, “b”是线性近似公式的x轴截距。

流式细胞术检测细胞倍性

细胞悬浮液制备

取第11天幼苗根尖约1.5 cm样品, 将样品组织垂直切碎, 使其在解离液中室温静置10 min, 然后过滤得到细胞核悬浮液。在细胞核悬液中加入适当体积的碘化丙啶和适当体积的RNAase溶液, 置于冰上避光染色0.5~1.0 h^[20-22]。

流式细胞仪检测

利用流式细胞仪(BD FAC Scalibur)对染色后的细胞核悬浮液样品上机检测, 采用波长488 nm蓝光激发, 检测碘化丙啶的发射光荧光强度, 每次检测收集10 000个颗粒。变异系数(coefficient of variation, CV%)控制在5%以内。使用Modifit 3.0分析软件作图分析。

基因组大小计算

PI对DNA进行特异性染色, 进行流式细胞仪检测, 荧光强度可以表示出基因组DNA的相对含量。计算公式: 待测样品DNA含量=内参DNA含量×待测样品的荧光强度/内参样品的荧光强度^[22]。

数据分析

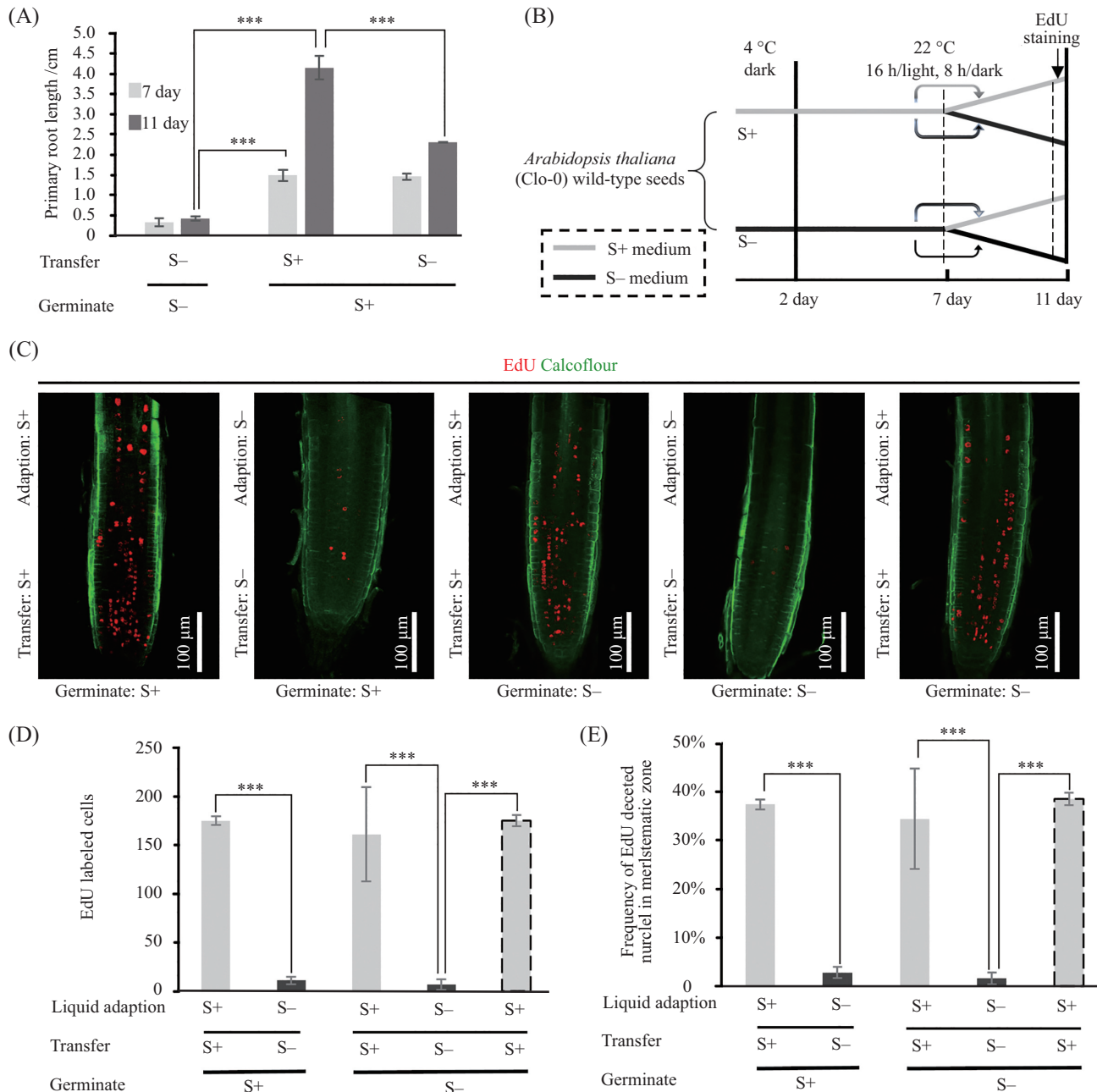
使用GraphPad Prism版本9.5.0(GraphPad软件)分析所有数据。为了估计两组之间的显著性差异, 进行t检验。为了估计大于等于3组之间的显著性差异, 进行了单因素方差分析(One-Way ANOVA)。

蔗糖导致主根长度和根尖分生区细胞增殖能力变化

为深入研究蔗糖对根系细胞周期的影响, 我们首先评估了蔗糖对拟南芥主根生长的影响。结果表

明S-主根长度相比于S+表现为显著性降低;并且拟南芥幼苗处于缺乏蔗糖的条件下,主根生长到一定程度后停止生长(图1A)。使用5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)来监测根分生组织的细胞周期S期的进入情

况,研究蔗糖对细胞增殖能力的影响^[19](图1B)。结果显示,无论发芽培养基是S+还是S-, 移苗到S-培养基之后,EdU标记细胞数目相较于移苗到S+培养基显著降低,仅有个位数的细胞被EdU标记,而S+的



A: S+和S-培养基上7天和11天时拟南芥幼苗主根平均长度($n=3$, 每个重复有15株幼苗)。B: EdU标记根尖过程示意图。C: 将幼苗在含有10 $\mu\text{mol/L}$ EdU的培养基中孵育20 min后, 固定并处理以检测EdU(红色)、Calcofluor染色(绿色)以及PI染色(未展示)。D: 根尖分生区EdU标记细胞数($n=3$)。E: 根尖分生区EdU掺入细胞核的频率($n=3$)。*** $P < 0.001$ 。

A: the average length of taproot of *Arabidopsis* seedlings on S+ and S- media for 7 days and 11 days ($n=3$, 15 seedlings per replicate). B: schematic diagram of root tip labeling process by EdU. C: after the seedlings were incubated in a culture medium containing 10 $\mu\text{mol/L}$ EdU for 20 min, they were fixed and treated to detect EdU (red), Calcofluor staining (green) and PI staining (not shown). D: number of EdU labeled cells in apical meristem ($n=3$). E: the frequency of EdU incorporation into the nucleus in apical meristem ($n=3$). *** $P < 0.001$.

图1 蔗糖对主根长度和根尖分生区S期进入的影响

Fig.1 Effects of sucrose on taproot length and S-phase entry of apical meristem

EdU标记细胞数大于150个(图1C和图1D)。缺乏蔗糖时,细胞无法进入细胞周期S期,根尖分生区细胞的细胞增殖能力受到抑制,显著降低。11天时,对S-条件下的幼苗补充蔗糖,EdU标记细胞数恢复到S+水平,细胞增殖能力相较于S-显著提高,表明快速补充蔗糖可以恢复细胞增殖能力(图1C和图1D)。计算EdU掺入细胞核的频率(EdU标记数目除以PI标记数目乘以100),结果显示蔗糖也会显著影响EdU掺入细胞核的频率。S+时,EdU掺入细胞核的频率接近40%,而S-时比例仅为2%左右,快速补充蔗糖后同样的使EdU掺入细胞核的频率恢复到S+水平(图1E)。

蔗糖导致根尖分生区细胞S期持续时间变化

蔗糖的供给影响了根系细胞增殖能力差异(图1D),计算细胞周期持续时间,我们进一步将拟南芥根分别用EdU标记270 min、360 min以及460 min,结果表明当拟南芥根在含有EdU的液体培养基中培养不同时间时,在所有细胞层中均检测到了EdU掺入的细胞(图2A),并且标记的细胞数目随着时间的延长而增加,S+条件下EdU标记细胞数目从210左右增长至280,S-条件下仅从160增长至210左右;S-条件下根尖EdU标记数目在所有的时间点都显著低于S+条件(图2B)。此外,根分生区EdU掺入细胞核频率随着培养期的延长而增加,且任一时间点S-条件下的EdU掺入细胞核频率都显著低于S+条件(图2C)。用最小二乘法分别绘制S+和S-条件下,根分生区EdU掺入细胞核频率与EdU标记时间的函数关系图(图2D和图2E),计算得到S+和S-条件下根分生区细胞周期持续时间以及S期持续时间^[19]。S+条件下的细胞周期及S期持续时间约为22 h和6 h,在S-条件下,细胞周期持续时间约为23 h,与S+条件相比略有增加,但是S期持续时间仅有4 h,低于S+条件(图2F)。

蔗糖导致根尖细胞倍性的变化

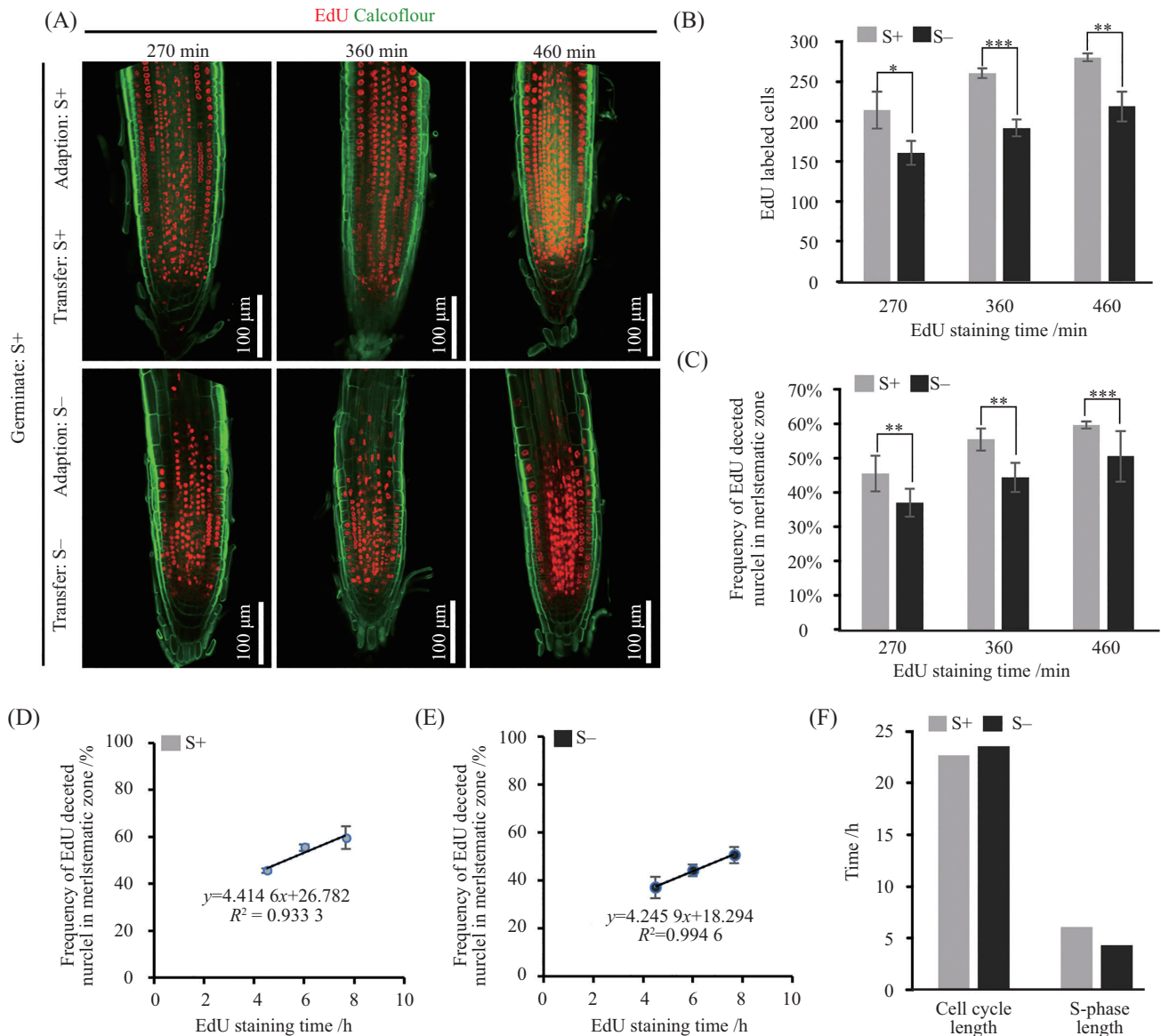
本研究通过流式细胞术测定S+和S-条件下根尖的细胞倍性,通过双参数图可以明显的分开样品细胞群(图3A和图3D)。过调整虚线的位置选择门控区域,裁剪包含完整细胞核信号的区域,以排除背景信号,可以看出四个强区域的信号,从下到上分别代表2C(C值表示拟南芥的单倍体基因组所含DNA总值)、4C、8C和16C细胞(图3B和图3E)。最后通过

程序将生成一个信号直方图,使每个倍性范围选择最佳信号区域,每个倍性范围的百分比将由程序自动计算(图3C和图3F)。可以看到S+相比与S-条件,细胞群数目以及信号强度都较大。通过S+以及S-条件下不同细胞倍性的占比柱状图,可以明显的看出缺乏蔗糖显著提高2C类型的细胞占比,对于4C和8C的细胞占比没有影响,然而却显著降低16C类型的细胞占比(图3G)。

讨论

蔗糖在调节植物细胞代谢和生理方面起着重要作用,是从光合作用组织到吸收器官的主要运输糖,也是一种信号分子^[23]。蔗糖会通过影响细胞增殖和细胞伸长过程进而影响到拟南芥的主根发育^[11-14]。由于植物中的细胞分裂对能量可用性有反应,蔗糖或其代谢物的存在可能是细胞周期进程的调节剂^[17]。单细胞转录组测序分析也表明了蔗糖对于细胞增殖和细胞伸长基因的调控^[24]。*Smo4*(small organ 4)和*Oli7*(oligo cellula 7)表达量在缺乏蔗糖时显著降低,*Smo4*蛋白是酵母Nop53的同源物,已被证实为器官生长过程中细胞增殖的重要调节器^[25],*Oli7*蛋白参与核糖体的生物合成,通过促进细胞增殖和防止正常叶片发育中的补偿在器官大小控制中发挥作用^[26]。还有一些参与DNA修复以及微管活性蛋白的差异表达也都揭示蔗糖在细胞增殖和细胞伸长过程中具有相应的功能^[24]。我们通过EdU染色检测S期的进入情况,指示根尖细胞增殖能力,结果表明蔗糖可以显著影响根尖分生区细胞的细胞增殖能力(图1D),并且缺乏蔗糖时根尖分生区细胞的细胞周期时长没有明显变化,但是S期的持续时间将会缩短(图2F)。

细胞周期进程中S期是DNA复制的时期,在细胞增殖过程中起着不可或缺的作用。*G₁*期则是响应诸如温度^[27]、CO₂水平^[28]和光照水平^[29]的条件变化的细胞周期的主要可扩展部分,因此外部条件对细胞周期的影响可能在于控制*G₁*期的起始或结束^[30]。蔗糖已被证实通过参与分生组织激活和植物生长中的TOR信号网络,葡萄糖-TOR信号转导通过E2Fa转录因子的表达执行其细胞增殖调控^[18]。E2F转录因子对控制*G₁*期到S期的进程至关重要,并且拟南芥*CycD3*基因的启动子位置具有与哺乳动物E2F结合的近似位点,E2F的DNA结合结构域有非常高的保



A: 将幼苗在含有10 μmol/L EdU的培养基中孵育270 min、360 min以及460 min后, 固定并处理以检测EdU(红色)、Calcofluor染色(绿色)以及PI染色(未展示)。B: 根尖分生区EdU标记细胞数($n=3$)。C: 根尖分生区EdU掺入细胞核的频率($n=3$)。D、E: S+和S-条件下, 根尖分生区EdU掺入细胞核的频率与EdU标记时间之间的函数图($n=3$)。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

A: the seedlings were incubated in a culture medium containing 10 μmol/L EdU for 270 min, 360 min and 460 min, then fixed and treated to detect EdU (red), Calcofluor staining (green) and PI staining (not shown). B: number of EdU labeled cells in apical meristem ($n=3$). C: the frequency of EdU incorporation into the nucleus in apical meristem ($n=3$). D,E: under the conditions of S+ and S-, the function diagram between the frequency of EdU incorporation into the nucleus and the labeling time of EdU ($n=3$). * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

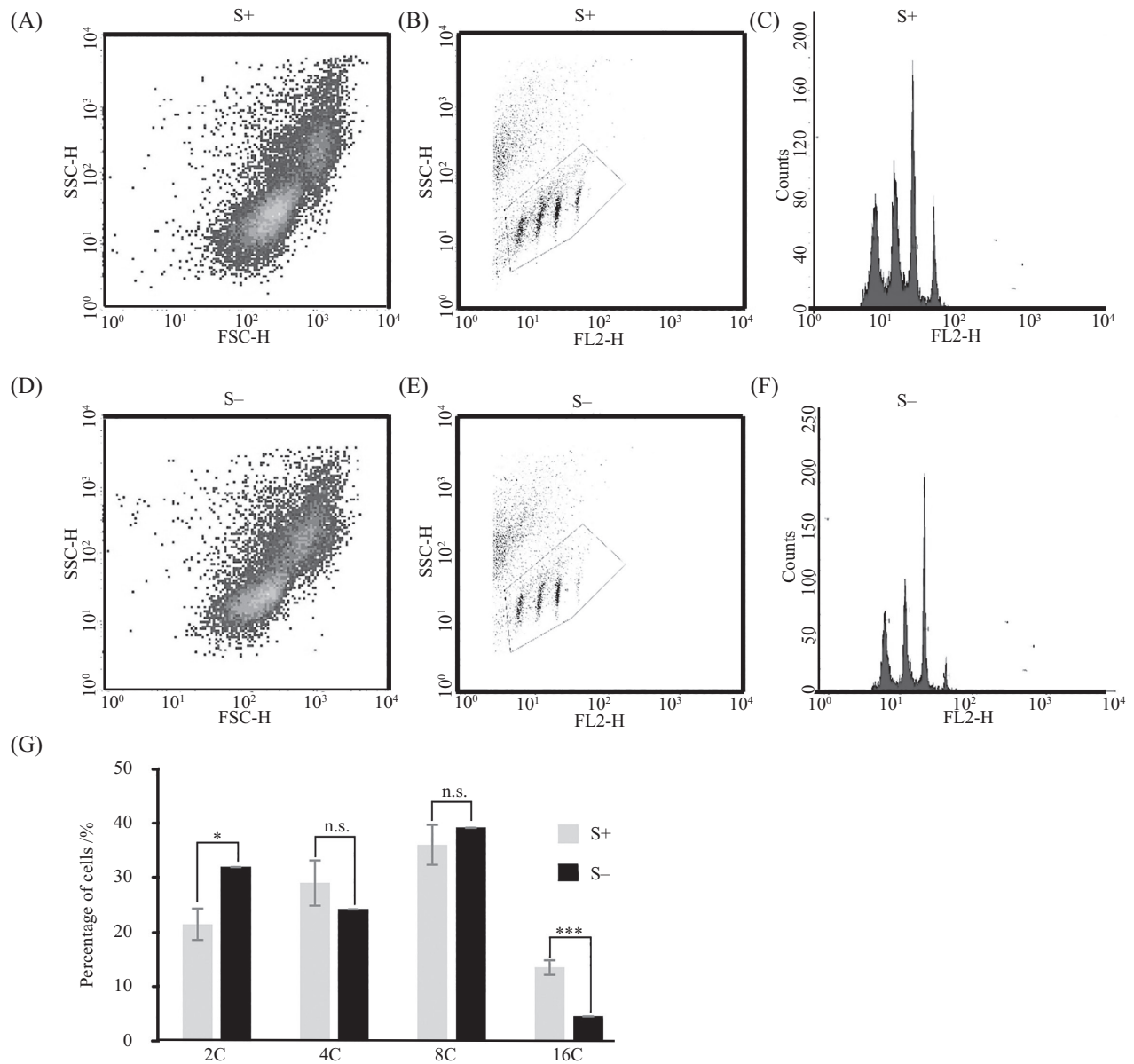
图2 蔗糖对根尖细胞周期和S期持续时间的影响

Fig.2 Effects of sucrose on cell cycle and S-phase duration of root tip cells

守性^[31-32], 表明可能与相似的DNA序列结合, CycD3蛋白可能是E2F调节的^[17]。植物的D型细胞周期蛋白被认为在G₁-S相转变过程中起着至关重要的作用^[33-34]。这似乎与流式细胞术检测根尖细胞类型占比的结果对应, 流式细胞术结果显示缺乏蔗糖时G₁期(2C)细胞占比显著增多, 并且S期(4C)细胞占比略有减少(图3G)。这揭示了蔗糖在根尖分生区细胞G₁

期发挥作用, 在G₁期向S期转变的过程中发挥重要作用, 这一功能通过影响细胞周期D型蛋白实现^[16]。

在许多双子叶植物和动物器官发育过程中, 一些细胞由于受发育信号和/或环境因素的影响会在S期完成后跳过G₂和M期直接回到G₁期, 重新开始DNA复制, 如此循环可形成多倍体的细胞。这种重复进行DNA复制但并不进行分裂的细胞周期被称为



A, D: S+和S-条件下的, 以FSC-H(反应细胞大小)为横坐标, 以SSC-H(反应细胞复杂程度)为纵坐标做出双参数二维图, 将样品细胞群分开。B、E: S+和S-条件下, 使用根尖的FSC-H为横坐标和SSC-H为纵坐标做出的直方图。通过调整虚线的位置选择门控区域以排除背景信号。四个强区域从下到上分别代表2C、4C、8C和16C。C、F: S+和S-条件下, 根尖的荧光信号直方图四个主峰分别来自倍性水平为2C、4C、8C和16C的细胞。G: S+和S-条件下, 2C、4C、8C和16C的细胞占比的柱状图($n=3$)。n.s.: $P>0.05$; * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

A,D: under the conditions of S+ and S-, a two-parameter two-dimensional diagram is made with FSC-H (reaction cell size) as the abscissa and SSC-H (reaction cell complexity) as the ordinate to separate the sample cell groups. B,E: under the conditions of S+ and S-, a histogram is made with FSC-H as abscissa and SSC-H as ordinate of root tip. Select the gating area by adjusting the position of the dotted line to exclude the background signal. The four strong regions represent 2C, 4C, 8C and 16C respectively from bottom to top. C,F: under the conditions of S+ and S-, the four main peaks of fluorescence signal histogram of root tip come from cells with ploidy levels of 2C, 4C, 8C and 16C respectively. G: histogram of cell proportion of 2C, 4C, 8C and 16C under S+ and S- conditions ($n=3$). n.s.: $P>0.05$; * $P<0.05$, *** $P<0.001$.

图3 蔗糖对于根尖细胞倍性的影响

Fig.3 Effect of sucrose on ploidy of root tip cells

为核内再复制周期(endocycle)或内复制(endoreduplication)^[35]。在细胞周期和内复制过程中, 细胞核内的DNA含量(细胞倍性)会发生变化。在有丝分裂周期中, 处于G₁期的体细胞为二倍体, 其DNA含量

可表示为2C, 而在S期DNA复制完成后, 细胞变为四倍体, 即为4C细胞。在G₂期和M期细胞分裂开始前, 细胞内DNA含量都维持4C, 因而单纯从DNA含量难以区分G₂期和M期的细胞。一旦有丝分裂发生, 母

代细胞分裂则形成2个子细胞, DNA含量又变为2C。在许多植物器官发育过程中, 伴随细胞的扩展和分化, 细胞退出有丝分裂进入内复制, 导致细胞倍性呈指数增长, 从2C、4C到8C、16C甚至更高^[36-37]。细胞核内复制可以控制细胞的伸长增长^[4]。流式细胞术检测结果也显示了细胞核内复制(16C)的细胞占比显著降低(图3G), 表明蔗糖对于细胞伸长的调控作用是通过影响内复制来实现的。

这些结果都说明了蔗糖主要通过调控根尖细胞周期进程中细胞周期蛋白的表达来调控的G₁期向S期的转变, 影响分生区细胞增殖能力, 进而影响主根生长; 此外, 蔗糖还会影响到细胞增殖过程中DNA复制活性。蔗糖调控细胞伸长的作用是通过调控分生区细胞内复制能力实现的, 揭示了主根发育的部分分子机制。

致谢——

感谢江南大学医学院吴晓利老师在共聚焦显微镜3D成像实验中给予的帮助; 感谢中国科学院昆明植物研究所的贾艳霞老师在流式细胞术检测实验中给予的帮助。

参考文献 (References)

- [1] BEEMSTER G T, BASKIN T I. Analysis of cell division and elongation underlying the developmental acceleration of root growth in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiol*, 1998, 116(4): 1515-26.
- [2] MCINTOSH J R. Mitosis [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8(9): a023218.
- [3] VERBELEN J P, CNODDER T D, LE J, et al. The root apex of *Arabidopsis thaliana* consists of four distinct zones of growth activities: meristematic zone, transition zone, fast elongation zone and growth terminating zone [J]. *Plant Signal Behav*, 2006, 1(6): 296-304.
- [4] TAKATSUKA H, UMEDA M. Hormonal control of cell division and elongation along differentiation trajectories in roots [J]. *J Exp Bot*, 2014, 65(10): 2633-43.
- [5] COSGROVE D. Mappings [C]. Reaktion Books, 1999.
- [6] WOLF S, HÉMATY K, HÖFTE H. Growth control and cell wall signaling in plants [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63: 381-407.
- [7] JARVIS P G, MCNAUGHTON K. Stomatal control of transpiration: scaling up from leaf to region [J]. *Adv Ecol Res*, 1986, 15: 1-49.
- [8] TAKAHASHI F, SATO-NARA K, KOBAYASHI K, et al. Sugar-induced adventitious roots in *Arabidopsis* seedlings [J]. *J Plant Res*, 2003, 116(2): 83-91.
- [9] BINGHAM I, STEVENSON E. Control of root growth: effects of carbohydrates on the extension, branching and rate of respiration of different fractions of wheat roots [J]. *Physiol Plant*, 1993, 88(1): 149-58.
- [10] KURATA T, YAMAMOTO K T. Light-stimulated root elongation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *J Plant Physiol*, 1997, 151(3): 346-51.
- [11] LEE-HO E, WALTON L J, REID D M, et al. Effects of elevated carbon dioxide and sucrose concentrations on *Arabidopsis thaliana* root architecture and anatomy [J]. *Botany*, 2007, 85(3): 324-30.
- [12] KARTHIKEYAN A S, VARADARAJAN D K, JAIN A, et al. Phosphate starvation responses are mediated by sugar signaling in *Arabidopsis* [J]. *Planta*, 2007, 225(4): 907-18.
- [13] HAUSER M T, BENFEY P N. Genetic regulation of root expansion in *Arabidopsis thaliana* [C]. *Plant Mol Biol*, 1994, 31-40.
- [14] HAUSER M T, BAUER E. Histochemical analysis of root meristem activity in *Arabidopsis thaliana* using a cyclin: GUS (β -glucuronidase) marker line [C]. *Rec Adv Plant Root Str Fun*, 1998, 3-12.
- [15] PINES J. Cell cycle. Confirmational change [J]. *Nature*, 1995, 376(6538): 294-5.
- [16] RICHARD C, LESCOT M, INZÉ D, et al. Effect of auxin, cytokinin, and sucrose on cell cycle gene expression in *Arabidopsis thaliana* cell suspension cultures [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2002, 69: 167-76.
- [17] RIOU-KHAMLIHI C, MENGES M, HEALY J S, et al. Sugar control of the plant cell cycle: differential regulation of *Arabidopsis* D-type cyclin gene expression [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(13): 4513-21.
- [18] XIONG Y, MCCORMACK M, LI L, et al. Glucose-TOR signaling reprograms the transcriptome and activates meristems [J]. *Nature*, 2013, 496(7444): 181-6.
- [19] HAYASHI K, HASEGAWA J, MATSUNAGA S. The boundary of the meristematic and elongation zones in roots: endoreduplication precedes rapid cell expansion [J]. *Sci Rep*, 2013, 3: 2723.
- [20] DOLEŽEL J, BARTOŠ J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size [J]. *Ann Bot*, 2005, 95(1): 99-110.
- [21] DOLEŽEL J, GREILHUBER J, SUDA J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry [J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(9): 2233-44.
- [22] 田新民, 周香艳, 弓娜. 流式细胞术在植物学研究中的应用——检测植物核DNA含量和倍性水平[J]. *中国农学通报* (TIAN X M, ZHOU X Y, GONG N. Applications of flow cytometry in plant research: analysis of nuclear DNA content and ploidy level in plant cells [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*), 2011(9): 21-7.
- [23] JACOBS T W. Cell cycle control [J]. *Plant Mol Bio*, 1995, 46(1): 317-39.
- [24] SHULSE C N, COLE B J, CIOBANU D, Lin J, et al. High-throughput single-cell transcriptome profiling of plant cell types [J]. *Cell Rep*, 2019, 27(7): 2241-7.e4.
- [25] ZHANG X R, QIN Z, ZHANG X, et al. *Arabidopsis* SMALL ORGAN 4, a homolog of yeast NOP53, regulates cell proliferation rate during organ growth [J]. *J Integr Plant Biol*, 2015, 57(10): 810-8.
- [26] AGABEKIAN I A, ABDULKINA L R, LUSHNENKO A Y, et al. *Arabidopsis* AN3 and OLIGOCELLULA genes link telomere

- maintenance mechanisms with cell division and expansion control [J]. *Plant Mol Biol*, 2024, 114(3): 65.
- [27] FRANCIS D, BARLOW P W. Temperature and the cell cycle [J]. *Symp Soc Exp Biol*, 1988, 42: 181-201.
- [28] KINSMAN E A, LEWIS C, DAVIES M S, et al. Elevated CO₂ stimulates cells to divide in grass meristems: a differential effect in two natural populations of *dactylis glomerata* [J]. *Plant Cell Environ*, 1997, 20(10): 1309-16.
- [29] NOUGARÈDE A, MICHELE M N D, RONDET P, et al. Plastrochrone, cycle cellulaire et teneurs en ADN nucléaire du méristème caulinaire de plants de *Chrysanthemum segetum* soumis à deux conditions lumineuses différentes, sous une photo-période de 16 heures [J]. *Can J Bot*, 1990, 68(11): 2389-97.
- [30] MURRAY J A, FREEMAN D, GREENWOOD J, et al. Plant D cyclins and retinoblastoma (Rb) plant homologues [J]. *Plant Res Mono*, 1998 34: 99-128.
- [31] ELENA R P, XIE Q, BONIOTTI M B, et al. The cloning of plant E2F, a retinoblastoma-binding protein, reveals unique and conserved features with animal G₁/S regulators [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(17): 3527-33.
- [32] SEKINE M, ITO M, UEMUKAI K, et al. Isolation and characterization of the E2F-like gene in plants [J]. *FEBS Lett*, 1999, 460(1): 117-22.
- [33] SONI R, CARMICHAEL J P, SHAH Z H, et al. A family of cyclin D homologs from plants differentially controlled by growth regulators and containing the conserved retinoblastoma protein interaction motif [J]. *Plant Cell*, 1995, 7(1): 85-103.
- [34] RIOU-KHAMLI C, HUNTLEY R, JACQMARD A, et al. Cytokinin activation of *Arabidopsis* cell division through a D-type cyclin [J]. *Science*, 1999, 283(5407): 541-4.
- [35] 曾民环, 许德阳, 薛景石, 等. 利用流式细胞仪研究拟南芥叶发育过程中细胞周期的调控[J]. *植物生理学报*(ZENG M H, XU D Y, XUE J S, et al. Study on the cell cycle regulation during leaf development in *Arabidopsis thaliana* by flow cytometry [J]. *Plant Physiology Journal*), 2012, 48(9): 922-7.
- [36] BEEMSTER G T, DE VEYLDER L, VERCRUYSSSE S, et al. Genome-wide analysis of gene expression profiles associated with cell cycle transitions in growing organs of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138(2): 734-43.
- [37] Vlieghe K, Boudolf V, Beemster G T, et al. The DP-E2F-like gene DEL1 controls the endocycle in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Curr Biol*, 2005, 15(1): 59-63.