

杨树 C2H2 型锌指蛋白 PagSUPa 负调控成膜体定位蛋白 POKs 基因抑制细胞分裂影响叶片形态

高贺升, 赵春艳, 谷子琪, 江成, 张进, 卢孟柱*

省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江农林大学, 浙江杭州, 311300 *通信作者: lumz@zafu.edu.cn

摘要:【目的】叶片是植物的能量工厂, 是人类重要的可再生能源。叶片作为植物主要的光合器官, 同时又是植物感知各种环境条件的媒介。由于叶片的重要性, 叶片发育的形态变异和遗传网络一直是植物科学研究的热点。细胞增殖与扩张直接影响叶片大小和形态。锌指蛋白是一类在植物生长、发育和分化等多种细胞活动中发挥重要作用的调控因子, C2H2 型锌指蛋白 PagSUPa 在杨树叶片发育中的作用尚不明确。本研究以 PagSUPa 转基因 84K 杨为材料, 分析 PagSUPa 在杨树叶片发育中的表达及作用, 揭示 PagSUPa 在叶片发育的调控机制, 可为杨树叶片发育研究提供参考。【方法】通过 qRT-PCR、启动子驱动 GUS 报告基因检测 PagSUPa 基因在叶片发育过程的表达情况。以 PagSUPa 过表达转基因杨树为材料, 分析其叶片大小、形态变化以及细胞大小、形态变化。利用 RNA-seq 分析杨树 PagSUPa 过表达引起的差异表达基因, GO 富集分析差异表达基因可能参与的调控路径, 并对影响细胞分裂的关键靶基因利用酵母单杂、凝胶阻滞实验、双荧光素酶报告分析进行调控验证。【结果】表达分析显示 PagSUPa 在叶片发育过程中呈下降趋势, 在叶片扩张期表达最高。PagSUPa 基因过表达杨树叶片大小显著减小, 叶片形态紊乱; 进一步观察细胞形态发现 PagSUPa 基因过表达叶片上表皮细胞相对对照显著增大, 近轴端叶肉细胞不规则变化, 叶片近-远轴极性改变。RNA-seq 分析结果显示 PagSUPa 过表达引起的差异表达基因主要富集于微管运动、细胞壁合成、肌动蛋白细胞骨架调节等。对胞质分离过程中细胞板形成起决定作用的成膜体定位蛋白 PagPOKs 基因的调控分析发现, PagSUPa 能够通过与 PagPOK1 和 PagPOK2 基因启动子上两个 C2H2 顺式作用元件 (AGTGT, ACACT) 的结合直接负调控 PagPOKs 的表达。【结论】C2H2 型锌指蛋白 PagSUPa 基因参与杨树叶片发育, PagSUPa 过表达抑制叶片细胞增殖使叶片面积减小, PagSUPa 能够直接负调控成膜体定位蛋白 PagPOKs 基因的表达抑制细胞有丝分裂过程细胞板的形成, 减缓胞质分离, 改变细胞形态, 最终影响叶片发育。

关键词: PagSUPa, 杨树, POK 基因, 细胞分裂