

· 综 述 ·

植物多细胞网络分析研究进展

施般若^{1,2}, 黄小萍^{1,2}, 付秀荣^{1,2}, 王邦俊^{1,2}

1 西南大学 生命科学学院 重庆市资源植物保护与种质创新重点实验室, 重庆 400715

2 西南大学 教育部三峡库区生态环境重点实验室, 重庆 400715

施般若, 黄小萍, 付秀荣, 王邦俊. 植物多细胞网络分析研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(8): 2798-2810.

SHI BR, HUANG XP, FU XR, WANG BJ. Advances in the plant multicellular network analysis. Chin J Biotech, 2022, 38(8): 2798-2810.

摘 要: 多细胞网络分析是一种可用于分析细胞空间结构的方法。器官的功能是由组成它们的细胞决定的, 细胞空间排列赋予了器官更高层次的功能。目前关于植物细胞的空间排列结构是如何影响器官的机理仍然知之甚少。通过对植株进行 3D 扫描提取细胞网络模型用于多细胞网络分析, 可深入揭示植物发育机制, 并为人工合成植物多细胞系统提供参考。本文回顾了多细胞模型的发展历程, 总结了多细胞网络分析的流程, 并阐述了多细胞网络分析在植物生长发育中的发展与应用。此外, 本文还对植物多细胞网络分析未来的发展趋势进行了展望。

关键词: 多细胞网络分析; 器官发育; 多细胞图像处理技术; 植物适应性进化; 空间组学

Advances in the plant multicellular network analysis

SHI Bore^{1,2}, HUANG Xiaoping^{1,2}, FU Xiurong^{1,2}, WANG Bangjun^{1,2}

1 Chongqing Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation, College of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

2 Key Laboratory of Eco-Environments in Three Gorges Reservoir Region (Ministry of Education), Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Multicellular network analysis is a method for topological properties analysis of cells. The functions of organs are determined by their inner cells. The arrangement of cells within organs endows higher-order functionality through a structure-function relationship, though the organizational properties of

Received: February 22, 2022; **Accepted:** May 12, 2022; **Published online:** May 17, 2022

Supported by: National Key Research and Development Program of China (2016YFD0100504); National Natural Science Foundation of China (31571584, 31370317); Natural Science Foundation of Chongqing, China (cstc2013jcyjA80016)

Corresponding author: WANG Bangjun. Tel/Fax: +86-23-68253235; E-mail: bangjunwang@swu.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0100504); 国家自然科学基金 (31571584, 31370317); 重庆市自然科学基金 (cstc2013jcyjA80016)

these multicellular configurations remain poorly understood. Multicellular network analysis with multicellular models established by 3D scanning of plants, will further discover the plant development mechanism, and provide clues for synthesizing plant multicellular systems. In this paper, we review the development of multicellular models, summarize the process of multicellular network analysis, and describe the development and application of multicellular network analysis in plants. In addition, this review also provides perspective on future development of plant multicellular network analysis.

Keywords: multicellular network analysis; organ development; multicellular image processing technology; plant adaptive evolution; spatial omics

过去的二十年里我们见证了网络科学 (network science) 时代的到来。网络无处不在,除了常见的信息科学领域,生物领域中基因网络、蛋白网络、代谢网络、器官网络与生态系统网络也是网络科学的研究领域^[1-2]。要完全理解复杂的生物系统,如细胞、组织、整个生物体,甚至到生态系统,仅依靠识别和描述系统中的单个构件是不够的,有必要对分子、细胞、器官个体与物种之间的相互作用进行深入了解。然而,由于各组间相互作用的非直接性、数据量较大以及个体的非线性成长,生物系统的相互作用模式难以评估^[3]。现代网络理论被证明是理解复杂体系结构的有效方法,通过识别复杂系统的内在关系,为系统和不同规模的结构和功能之间的关系提供了新的假设。

网络在植物发育中起着重要作用。通过对植物生命系统中基因网络、蛋白质网络与代谢的网络分析,可以深入理解植物发育与抗逆等复杂过程^[4-5]。除经典分子层网络外,前人在研究中对组织与细胞网络进行了初步研究。研究发现植物组织或细胞在植株全局网络中的位置可以揭示植株形态适应环境的深层原因。荠菜 (*Capsella bursa-pastoris*) 花瓣异变为雄蕊的突变群体中,其生殖功能受到不同程度影响,但其他器官随之变化,使突变体适应度无明显变化。该结果揭示了植株整体株形变化不是由于单基

因的基因多效性,而是为维持网络结构稳定,突变体花器官以外器官随之变异^[6]。拟南芥根发育受复杂调控,将拟南芥根结构网络与外围生态网络结合,可对植株根空间分布进行预测,从而达到精确控制植株根系空间分布的目标^[2,7]。虽然组织与细胞网络对于研究生物的发育具有重要意义,但受技术手段限制,进展缓慢。

随着科技的发展,相应的细胞图谱计划被提上日程。人类细胞图谱计划 (human cell atlas, HCA) 项目在 2006 年启动,旨在从单个细胞出发加强对器官全局的理解。植物细胞图谱计划 (plant cell atlas, PCA) 于 2021 年提出^[8],旨在利用先进技术对植物的发育进行探究。在前期的探究中发现植物细胞通常位于相对固定的位置,不像动物细胞容易发生迁移,这种相邻细胞之间的不变性降低了操作难度^[9]。通过激光共聚焦显微镜技术就可对植物细胞进行注释,使精准的植物网络分析成为了可能。

多细胞系统生物学分析 (multicellular systems biology analysis) 可以帮助研究人员从网络的角度理解不同植物细胞之间是如何相互作用并最终实现器官形态建成的^[10]。在实际应用中,该技术有望为基因工程育种提供更为坚实的理论依据。随着技术的进步,多细胞系统生物学分析有望结合合成生物学,为设计人造植物多细胞系统提供理论参考。

本文简述了植物多细胞网络的发展历程、构建方法、评价标准以及分析算法，并介绍了植物多细胞网络分析的 4 种应用场景，包括对基因功能的深层了解、对器官的潜在机制进行阐述、对进化适应的揭示以及作为形态发生工程的理论基础。

1 多细胞模型的发展

多细胞模型的雏形第一次出现在神经科学研究领域。Cajal 等将神经组织中的高尔基体进行染色并使用光学显微镜检查，观察到在动物中不同神经组织之间的联系，从而建立了神经细胞联系网络，这项工作作为神经科学中细胞联系的分析开创了先例^[11]。

随后 Chalfie 等使用了透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 绘制了线虫体内的 302 个神经元，细胞之间的关系被描述为一个有向的神经链接网络，这是第一次对于器官中特定细胞类型进行全面描述^[12]。2005 年 Sporns 等建立了人脑中的神经网络，在分析中开始对细胞使用节点 (nodes) 与物理上的链接 (edges) 进行描述，这证明了网络分析可以用于解释神经细胞间的区别^[13]。2016 年，Ryan 等利用了网络分析技术解析了玻璃海鞘 (*Ciona intestinalis* L.) 的神经系统，预测出神经系统中单个神经元的功能，这为该技术在其他器官系统分析中打下了基础^[14]。

生物体中除了神经系统外，还有很多细胞存在信息与物质的沟通与交换，绘制细胞关联图谱也逐渐开始应用于理解多种生物系统中^[3,15-17]。目前，网络分析技术已在植物中进行了初步应用^[18]。

2 多细胞网络分析流程

与动物细胞不同，植物细胞在生物体内的

位置相对固定，这为进行网络分析提供了基础。目前在植物中应用最多的是由 Montenegro-Johnson 等开发的 3DcellAtlas 技术，通过获得高质量的共聚焦显微图片后提取图片中的细胞网络用于后续多细胞网络结构分析^[18]。

2.1 构建多细胞网络模型

为了实现植物器官细胞模式的分析，首先需获得高质量的立体模型，具体操作需根据材料进行方法选择。因为常规的激光共聚焦显微镜只能完成扫描 8–10 层的高质量细胞，所以需将观察部位直接暴露在视野下。如叶绿素自发荧光对成像质量产生干扰，可尝试 ClearSee (CS) 或 ClearSeeAlpha (CSA) 技术，对组织进行背景荧光信号清除^[19]。如需进一步提高成像深度，可尝试双光子激发显微镜 (two-photon excitation microscopy) 与激光片层扫描显微镜 (light-sheet fluorescence microscopy) 进行活体成像。

通过 ImageJ 软件处理获得的图片后使用 3DcellAtlas 技术对样本的 3D 结构进行分割并根据细胞类型进行识别和注释^[20]。通过识别不同的细胞并对其进行手工标注校正，生成由细胞类型标注的全器官细胞链接网络 (图 1)。为

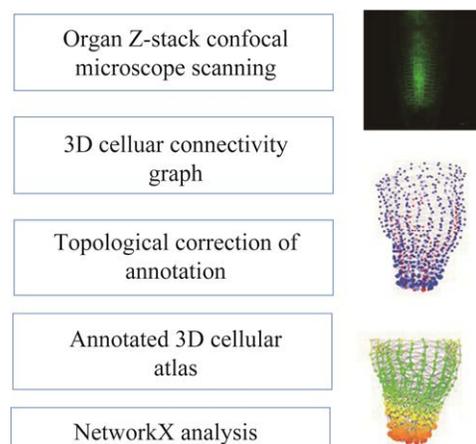


图 1 植物多细胞网络生成及分析流程^[21]

Figure 1 Workflow used to generate and analyze plant multicellular interaction networks^[21].

了建立更加准确的细胞交互作用模型, 计算中删除了表示细胞间空隙的片段与相对较小的接口, 并在分析中纳入了成像器官外围的细胞, 为计算提供缓冲, 使得后续分析得以进行。

针对扫描效果欠佳的植物营养生长期的茎尖分生组织 (shoot apical meristem) 和生殖生长期的花序分生组织 (inflorescence meristem), Montenegro-Johnson 等在 3DCellAtlas 的基础上研发出了 3DCellAtlas Meristem 技术。该技术对拟南芥分生组织有 99% 的预测成功率, 对番茄分生组织有 96% 的预测成功率。在实际应用中, 研究人员可以结合 3DCellAtlas Meristem 对分生组织进行标注, 减少工作量^[21]。

2.2 分析多细胞网络

在多细胞网络分析中, 细胞被认为是一个节点。一个节点拥有直接相邻节点的数量被称为节点的度 (node degree), 而细胞表面的相接被计算为链接 (edge)。这两个几何属性可以揭示细胞如何适应直接环境, 但不能解释细胞是

如何与未直接接触的细胞的作用 (图 2A、2B)^[22-25]。植物器官拥有三维空间结构, 器官中的细胞处于一个立体网络中^[20]。计算网络路径长度的方法是通过中介中心性 (betweenness centrality, BC), 使用配套的方法计算节点之间的最短路径的数量 (图 2C)。随机游走中心性 (random walk centrality, RWC) 使用完整网络来计算一个节点在所有其他节点之间的最短路径上的次数 (图 2E)。因此, BC 高的节点多次位于其他节点之间的最短路径上, 具有高 RWC 的细胞在网络中比其他细胞更容易经历大量的信息流。边缘加权 (edge weighting) 中的每个链接都有自己的权重, 权重可以通过链接的长度体现, 在网络科学研究中该网络模型因为复杂度较高, 所以目前研究较少 (图 2D)。

通过中心性网络的知识来计算节点与节点之间最短路径的技术可用于确定器官中核心节点, 并为器官间运输提供新的见解^[22]。近年来导航中心性 (navigation centrality, NC) 出现在

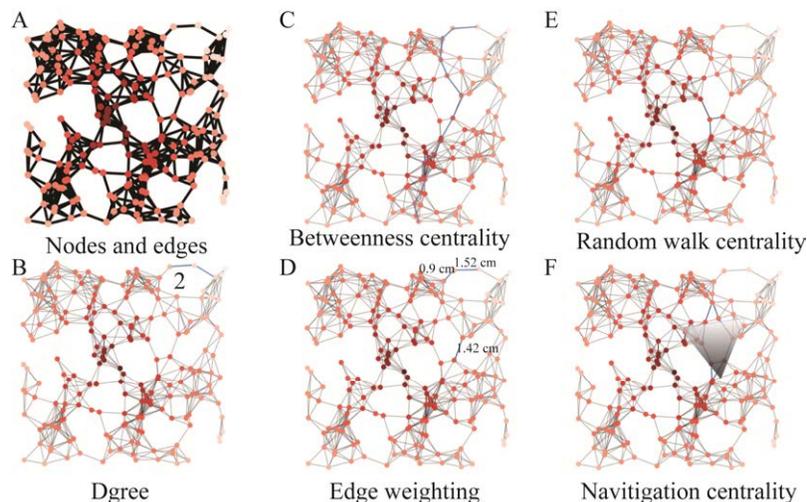


图 2 细胞网络分析方法^[18]

Figure 2 Schematic illustration for topological analyses of cellular interaction networks^[18]. (A–B) Degree, immediate neighbor numbers in a cell. (C) Betweenness centrality, the number of times a cell lies upon the shortest paths between all other pairs of cells. (D) Edge weighting, the size of cell interfaces. (E) Random walk centrality, identification of the shortest paths using multiple random walkers. (F) Navigation centrality identifies the near-optimal shortest paths following a gradient to a destination node.

大众视野中与 BC、RWC 不同, NC 仅仅通过计算局部的链接数量就可以获得最近的最优路线数据, 无需考虑更外围的细胞分布, 这为模型简化提供了便利 (图 2F)^[26]。

3 多细胞分析技术的应用

3.1 多细胞分析揭示植物基因调控多样化

植物形态多样性是由自然选择导致植物遗传因子改变产生的。在植物中基因的改变可以产生与原始形态不同的后代, 但通常后代的适应性会降低^[27]。通过对已知突变体细胞模式进行研究, 可以揭示基因在复杂细胞组合形成中的作用。这些分析还可以辅助探索植物器官中现存的形态空间存在的意义^[28-29], 揭示细胞组织水平上结构-功能关系。

拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) *Atcyclin dependent kinase1;1* (*CDKA1;1*) 是细胞周期调节因子, 介导了不对称细胞分裂^[30-32] (图 3A)。拟南芥 *cdka1;1* 突变体下胚轴和野生型相比, 成毛细胞 (*trichoblast cell*) 和非成毛细胞 (*atrachoblast cell*) 细胞空间分布和度分布频率无显著差异 (图 3B-C)。然而突变体中两种表皮细胞类型路径长度的差异消失了, 内皮层路径长度也显著缩短 (图 3D-E)。这表明 *CDKA1;1* 基因的作用机理是通过减少非成毛细胞的运输路径长度, 限制内皮层短路径的构建来实现的, 这将基因活动与细胞中特定细胞与全局拓扑特征联系起来^[20]。

拟南芥 *AtMONOPTEROS* (*MP/ARF5*) 是与生长素相关的转录因子^[33] (图 3A)。*mp* 突变体胚胎缺乏维管组织, 不能产生下胚轴与胚根, 这为研究植物胚胎发育中维管组织的功能提供了材料^[34-35]。*mp* 胚的成毛细胞分布度与野生型相似, 而非成毛细胞有更多的局部链接 (图 3B-C)。*mp* 突变体中两种表皮细胞类型的 BC

都有所增加, 细胞路径显著缩短 (图 3D-E)。这表明在胚胎发生过程中 *mp* 基因介导在下胚轴表皮产生较长路径, *mp* 基因缺失后, 一个更短的径向运输路线随之出现^[20,36] (图 4)。

拟南芥 *laterne* 突变体植株因为缺少生长素信号导致幼苗缺少子叶 (图 3A)。通过对其突变体进行拓扑分析, 显示表皮细胞的度与 BC 的分布均有明显下降, 并且非成毛细胞减少的较成毛细胞更多, 因此可以推断出突变体中下胚轴表皮的整体路径长度发生了改变 (图 3B-E)。这可能是因为非细胞信号层面的变化导致的胚胎发育异常 (图 4)^[20]。

另外, 多细胞分析技术还被应用于解释拟南芥 *WUSCHEL-RELATED HOMEBOX (WOX)* 蛋白是如何通过抑制叶片的近端分化和促进远端分化来塑造近端分化的梯度, 使叶片持续增长并使叶片达到其最终形态^[37]。

3.2 多细胞分析发现植物器官发育的深层机制

在拟南芥中, 表皮毛的起始是由位置效应决定的。位于两个皮层细胞之间的表皮细胞发育成为生毛细胞, 而仅与一个皮层细胞相连的表皮细胞发育成非生毛细胞^[38]。在分析中, BC 值与器官中路径的长短成反比, BC 值越高代表该细胞路径越短。下胚轴中具有最高 BC 值的是维管细胞, 但表皮细胞中的非生毛细胞也具有高 BC 值, 这些细胞所处的路径明显短于表皮毛细胞, 通过相关分析发现了一条从未被描述过的细胞运输路径。数据表明, 除维管系统外, 非生毛细胞优化了下胚轴的轴向信息运输。虽然成毛细胞的分布度明显大于非成毛细胞, 但是后者位于更短的路径上, 说明了多细胞系统的非直观全局性, 下胚轴内细胞的高阶特性不是由它们局部相互作用的数量决定的, 而是由器官与组织背景决定的 (图 4)^[20]。

2017 年一项研究对茎尖分生组织 (shoot apical meristem, SAM) 内的细胞组织进行了多细胞网络研究。提取的 SAM 中细胞网络揭示了细胞组织与细胞周期控制之间的关系。模型中细胞被分为 3 类: 不分裂的细胞、会分裂的细胞以及分裂后的子细胞。根据细胞体积能够对这些细胞进行区分。通过网络分析表明位于低 BC 与 RWC 上的细胞更有可能进行分裂。组织

中最短路径的数量是有限的, 这为使用多细胞网络模型预测细胞分裂平面位置提供了可能 (图 5A-D)。在野生型拟南芥中最小化 RWC 意味着最大化细胞之间的交流, 可以排除因为某几个细胞在整个系统中权重过大使得单个细胞的扰动 (perturbation) 或者故障 (internal failure) 影响 SAM 全局的发育, 有助于提高整个系统的鲁棒性 (robustness)^[39]。

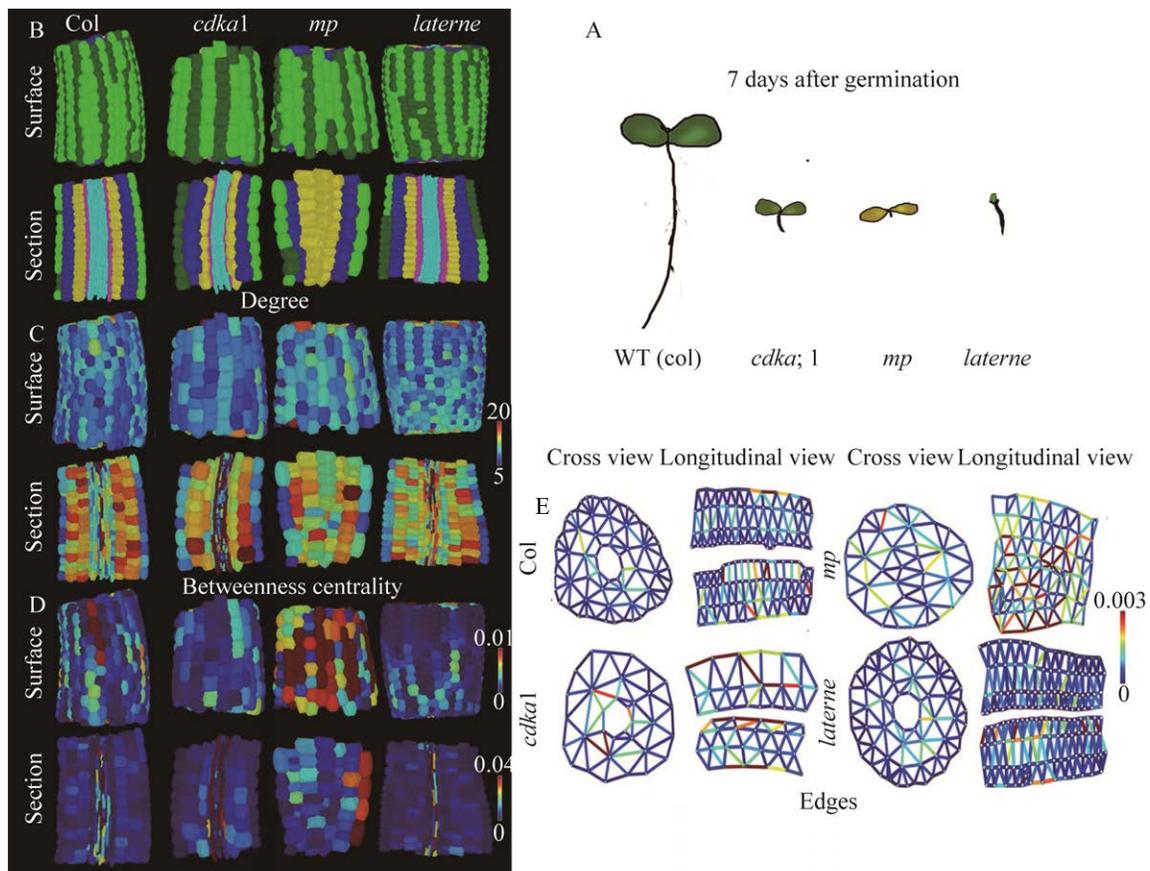


图 3 三种突变体与拟南芥野生型的下胚轴细胞网络分析^[20]

Figure 3 Cell type-specific topological characterization of hypocotyl cellular interaction networks from *Arabidopsis* and three mutants^[20]. (A) Schematic diagrams of the ecotypes of *Arabidopsis*, *cdka; 1*, *mp* and *laterne*. (B) Surface and longitudinal section meshes of *Arabidopsis*, *cdka; 1*, *mp* and *laterne* hypocotyls, with color denoting cell type (dark green-trichoblast, light green-atrachoblast, blue-outer cortex, yellow-inner cortex second layer, navy blue-inner cortex third layer, pink-endodermis, cyan-vasculature). (C) Hypocotyl meshes with false color heat maps of degree. (D) Hypocotyl meshes with false color heat maps of betweenness centrality. (E) Normalized frequency distribution of edge BC in the interfaces between different epidermises.

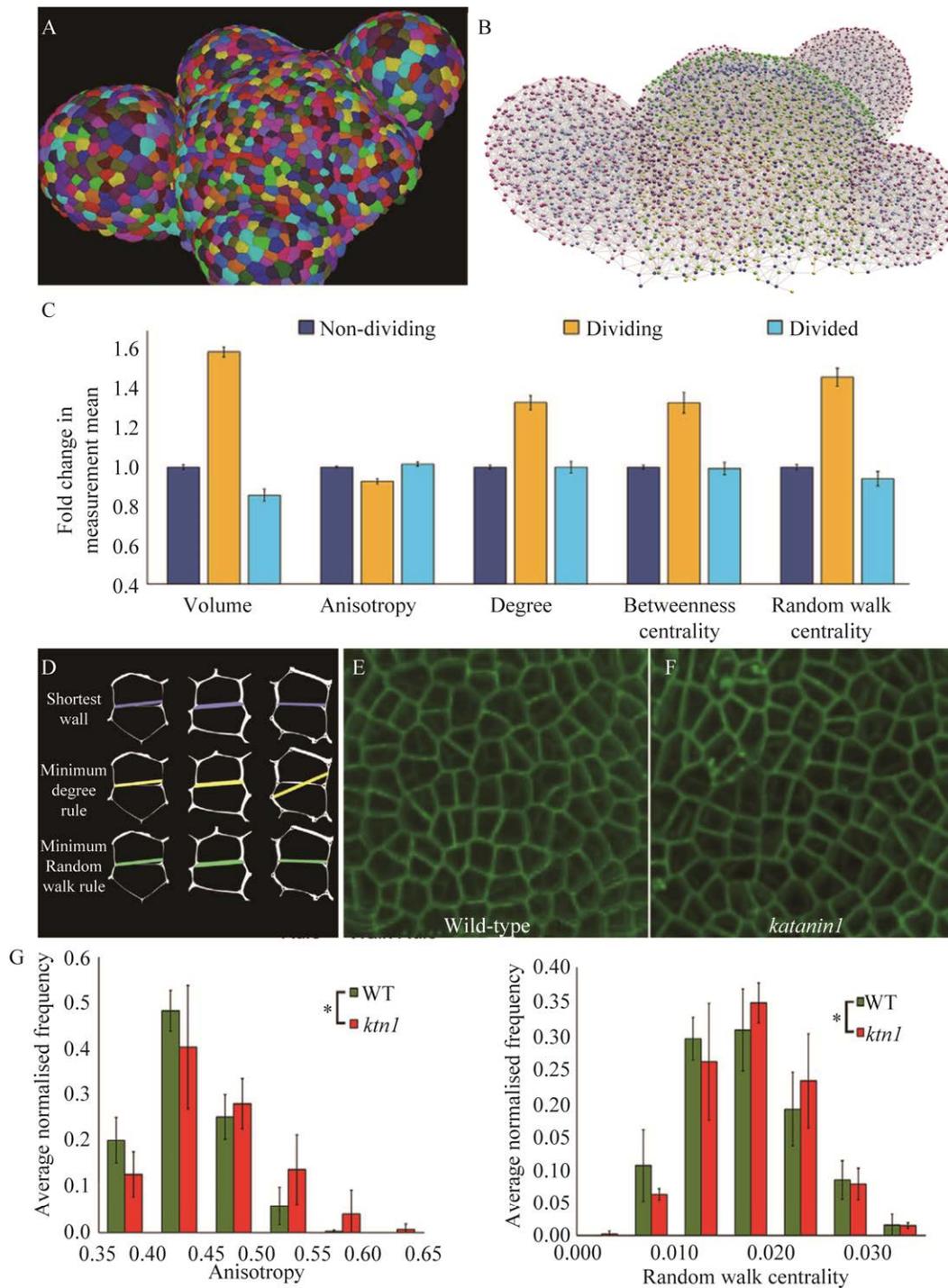


图 4 拟南芥茎尖分生组织多细胞网络分析^[21,39]

Figure 4 Topological analysis of the *Arabidopsis* shoot apical meristem^[21,39]. (A–B) The analysis process of *Arabidopsis* SAM. (C) Geometric and topological feature of non-dividing, dividing and divided cells in the SAM. (D) Computational prediction of cell division planes based on a local geometric rule, a rule that minimizes the degree of daughter cells, and a rule that minimizes the RWC of daughter cells. (E–F) Confocal images of the surface of wild-type SAM (E) and *ktn1* SAM (F). (G) Frequency distribution of cell anisotropy and RWC in the wild-type and *ktn1* SAM cells.

植物细胞通过细胞壁对相邻的细胞形状产生影响。拟南芥微管剪切蛋白 KATANIN1 (KTN1) 已被证实能介导细胞间的机械相互作用, 并调

节 SAM 的形态发生。在 *ktn1* 突变体中也观察到了类似的系统稳定性, 突变体的 SAM 细胞比野生型的对应细胞具有更强的各向异性 (anisotropy)

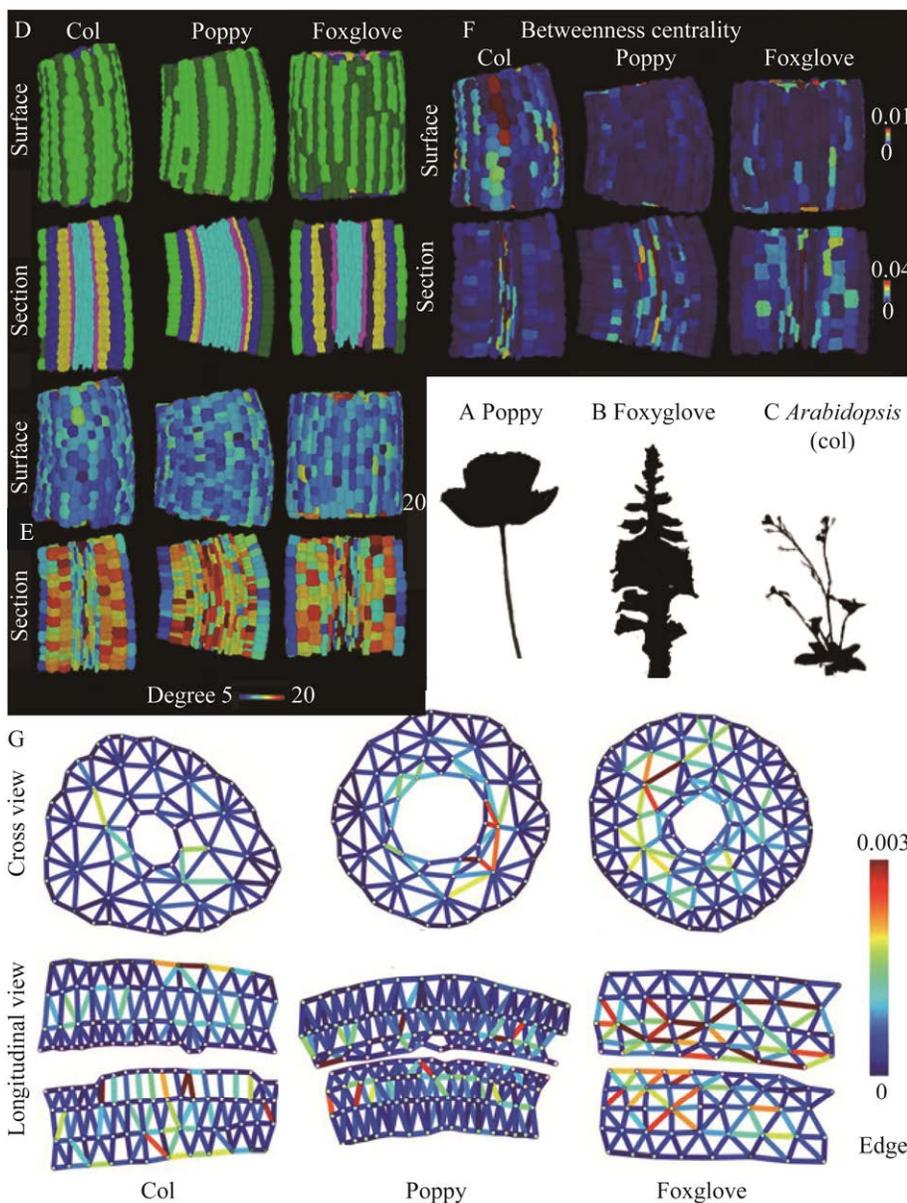


图 5 拟南芥、虞美人和毛地黄 3 种植物下胚轴细胞的特异性拓扑表征^[20]

Figure 5 Cell type-specific topological characterization of hypocotyl cellular interaction networks from *Arabidopsis*, poppy and foxglove^[20]. (A–C) Schematic diagrams of poppy (A), foxglove (B), and *Arabidopsis* (C). (D) Surface and longitudinal section meshes of *Arabidopsis*, poppy and foxglove hypocotyls, with false color denoting cell type (dark green-trichoblast, light green-atrichoblast, blue-outer cortex, yellow-inner cortex second layer, navy blue-inner cortex third layer, pink-endodermis, cyan-vasculature). (E–F) Hypocotyl meshes with false color heat maps of degree (E) and betweenness centrality (BC) (F). (G) Normalized frequency distribution of edge BC in the interfaces between different epidermises.

与更高的 RWC, 植物组织倾向于使 SAM 中的细胞间 RWC 最小, 所以细胞间产生了局部最短分裂所需的细胞形状作为对 RWC 增加的代偿反应 (图 5E-G)^[39]。

3.3 多细胞分析助力植物进化适应分析

植物存在进化适应, 随着地球上自然地理环境的变迁, 在一定的地质时期中占支配地位的类型, 其优势在发展过程中被另一类植物所取代。Jackson 教授团队根据双子叶植物的进化谱系, 选择了具有代表性的植物虞美人 (*Papaver rhoeas* L.)、毛地黄 (*Digitalis purpurea* L.) 与拟南芥进行比较分析^[20]。通过对 3 个物种进行多细胞网络分析发现, 虞美人和毛地黄中的成毛细胞的度明显高于非成毛细胞, 与拟南芥一致, 可见这种局部细胞网络特性在大多数遗传背景下都是保守的。

虞美人、毛地黄与拟南芥中非成毛细胞的路径长度都不同。虞美人表皮细胞的路径明显长于其他两个物种, 而拟南芥路径长度最短。虞美人的成毛细胞与非成毛细胞的 BC 值基本相等, 但最短的运输路径来自成毛细胞而不是非成毛细胞, 这与拟南芥不同。虽然在虞美人中不同表皮细胞类型之间的路径长度存在显著差异, 但它们的相对差异不如拟南芥中表皮细胞类型之间的明显。它们的路径长度显著延长, 运输路径的优化也变弱了。毛地黄的两种表皮细胞类型在路径长度上无显著差异, 并且在表皮细胞类型上也无明显 BC 差异。相对于虞美人和毛地黄, 拟南芥的表皮链接间距最大, 反映了该植物相对于其他植物的节段路径长度较短。由此可见, 表皮细胞类型之间的路径长度是可塑的, 从虞美人到毛地黄, 再到拟南芥, 表皮细胞路径长度逐渐减小, 这种特性可能代表了植物在适应环境中下胚轴表皮运输的优化 (图 5)。

多细胞分析技术结合基因表达也被应用于解释植物叶形态多态性产生的原因。器官形状的进化是由其调节基因表达模式的变化所推动的。拟南芥是单叶叶型, 但同为十字花科植物的碎米荠 (*Cardamine hirsuta*) 为复叶。通过对两种植物叶片发育过程进行多细胞分析发现, 形状多样性取决于两种生长模式的相互作用: 一种是在物种中保守的器官分化模式, 另一种是涉及沿叶缘生长的局部定向分化。两个同源基因参与了叶型多样性的调控。其中 *SHOOTMERISTEMLESS* (*STM*) 使小叶子得以出现, *REDUCED COMPLEXITY* (*RCO*) 抑制了新出现小叶周围的局部生长, 两者联合作用调控了拟南芥的叶型^[40]。该技术也被用于揭示芥菜 (*Capsella rubella*) 心型果实产生的深层原因, 以及调节子 (regulator) 如何通过翻译后修饰影响器官的形态形成^[41]。

3.4 多细胞分析结合基因代谢网络分析奠定形态发生工程基础

形态发生工程 (morphogenetic engineering) 是通过改造生物体设计出具有自我组装能力的 (self-organization) 新型复合体的工程学。这是合成生物学中参照机械、电子、化工的工业发展路径提出的崭新概念。传统工程学一直使用的是从上至下的设计思路, 通过将复杂功能进行区块化分割并设计, 但是这种方式极其考验设计者的知识背景。

设计生物系统具有天然的优势, 为提高生物个体的适应能力, 在进化过程中生命体的结构逐渐复杂化, 这为设计者提供了丰富的理论参考 (图 6A)^[42]。在过去的研究中, 结合细胞生物学、系统发育生物学、古生物学和基因组学的研究结果已经能部分揭示进化出现的原因, 但是仍然缺少对从点到全局的研究, 而通过多细胞分析可以补充解决这一问题。

过去几十年中对于细胞环路 (cell state circuit motifs) 领域的研究收获了丰硕的结果, 但是多细胞系统的合成仍然具有较大的技术难度^[43-44]。从 2009 年开始就陆续有人尝试进行多细胞系统的构建, 2018 年 Riedel-Kruse 教授团队通过使用纳米抗体与抗原技术, 对大肠杆菌细胞进行了改造。研究人员通过改造细胞表面的抗原与抗体达到了量化控制多细胞组装的目的。在研究中已经完成了对 12 个细菌精准的格状图案排列, 这使得通过细胞对特殊形态发生信号的重构, 及对多细胞生物发育的精确的

空间进行控制成为可能^[45]。

结合工程学原理、电子信息科技、基因网络及代谢网络可以构建更加复杂的系统。以小型合成生态系统 (small synthetic ecosystems) 为例, 生态系统是生物系统的重要组成部分, 细胞与细胞之间的沟通可以简单认为是小型生态系统。通过使用产生挥发性醛、维生素衍生的小分子或抗生素可以在哺乳动物、细菌、酵母之间实现群体感应。这使得模拟自然界基本共存模式的合成生态系统的设计成为可能, 未来以此为基石可以设计更加复杂的多细胞系统 (图 6B)^[46]。

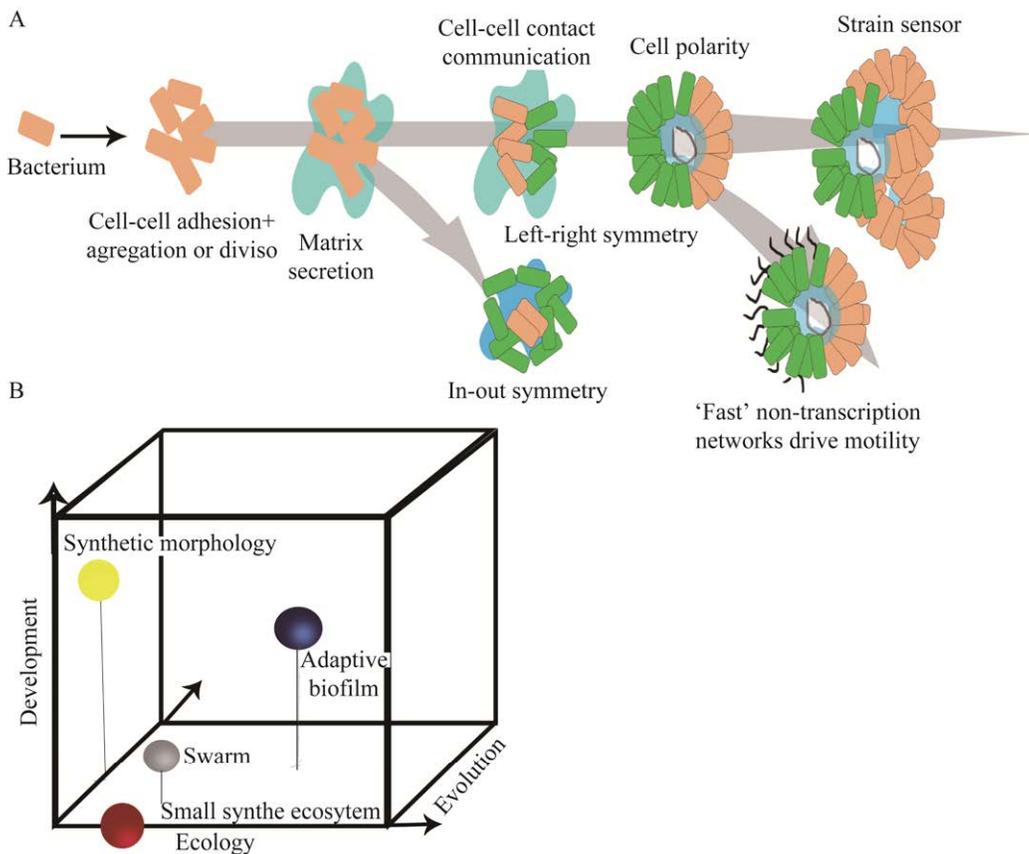


图 6 未来合成多细胞生物发展趋势^[47-48]

Figure 6 The trend of synthetic multicellular organisms in the future^[47-48]. (A) The synthesis steps of the multicellular system are still in the first and second steps, and there is still a lot of room for development in the future. (B) A morphospace of multicellular (MC) designs showing the (relative) location of several well-known examples of natural, experimentally evolved, engineered and *in silico* MC systems.

植物作为真核生物系统比原核生物系统具有明显的优势,较动物系统而言植物的形态改造不涉及复杂的伦理问题,模型易于构造,是形态发生工程的良好材料。通过构建新型植物,可以促进植物光合效率、增加农作物产量、减少化肥使用、有望提高单位耕地利用率并减少环境污染。

4 总结与展望

植物的生命过程同时发生在时间与空间维度中,理解细胞是如何通过非直接接触影响相互作用并最终形成高等生物体是十分重要的。近年来图像技术与网络科学的发展使得多细胞分析成为现实^[43-44]。多细胞分析提供了一种解释复杂多细胞组合的高阶特性方法。通过分解器官中多细胞的排列顺序及其性质可以揭示在进化过程中对特定结构和特征的选择压力,同时也可以探讨细胞的特征是如何被遗传因子控制的。

研究者团队对于生长素如何影响拟南芥根部器官形态构成进行了详细的研究^[49]。此外,另一研究结果表明,维持花序正常持续生长需要发育中的幼嫩组织顶端持续合成生长素并向基部转运^[50]。在后续研究中,通过对生长素分布变化突变体进行筛选,发现一个花器官大小与对称性分布出现问题的突变体。通过对花序分生组织与发育早期的花瓣进行激光共聚焦扫描后,使用 3DcellAtlas 技术发现,突变体花瓣原基细胞网络拓扑性质发生了变化,承载了更多运输功能。这暗示了花瓣可能作为原有运输器官对花器官内部物质运输进行补充,当其发育发生变化时,花器官需加强物质交流,从而导致需要提高花瓣细胞转运效率,最终使得花发育出现异常。该结果可帮助研究人员更好地理解花的动态发育过程,同时该表型也可以应用于解释进化过程(另文发表)。

目前该技术存在的问题在于:(1) 复杂细胞系统的模型构建难度较大。常规的激光共聚焦显微镜技术只能对 8-10 层细胞进行详尽观察,而大部分组织的细胞层数都远远超过这个厚度,并且不同组织之间透光率不一,部分组织较难通过激光,使得模型构建更加困难。结合单细胞测序技术中的空间组学可以提高细胞标注的精准度^[51],将组织或器官内部的细胞进行测序分类校正已有的模型,可以进一步提高网络分析的可信度。目前该技术在 1 cm 左右的小鼠动物组织中实现^[52]。(2) 网络模型构建难度较大。目前植物细胞中普遍使用 Richard Smith 团队研发的 3DcellAtlas 技术,但该技术对于电脑硬件要求较高,软件使用较为不便,重复性工作量大,在实际使用过程中该软件更多起到手工对细胞注释的作用。激光共聚焦显微镜染色后获得的单色图片,可以降低神经网络的搭建难度,通过卷积神经网络(convolutional neural network, CNN)对细胞类型进行分类,搭配卷积网络图(graph convolutional networks, GCN)提取图像节点特征后进行网络模型建构,可以帮助研究人员分析结构与组成更加复杂的器官^[53-54]。(3) 网络模型分析方法过于简化。目前网络模型仅仅考虑到了节点与链接,并没有对网络模型进行方向与权重的标注,这与实际情况不同,分析的结果也因此会出现偏差。在未来的研究中,应该结合分子生物学对信息流的方向与单个节点细胞的权重进行标注,进一步完善多细胞模型。

从空间上进一步理解器官发育十分重要。最近研究人员基于 Stereo-seq 技术开发的植物单细胞空间组学技术,可对植物发育机制进行深层次解析^[55]。通过多细胞分析理解现存结构,结合合成生物学、形态发生工程,生成具有合理结构-功能适应的生物体,是多细胞网络分析

未来可实现的终极目标^[47,56-57]。

展望未来,通过对大量组织或器官进行分析并获得相应的统计数据与结论后,该技术可以加深对生物发育过程的理解,在未来的生物形态工程与人工组织或器官设计中起到至关重要的作用,也将为培育高产、优质、抗逆作物品系及设计新型多功能工业用植物贡献力量。

REFERENCES

- [1] 张晨阳, 武耀康, 徐显皓, 等. 工业微生物代谢网络模型的研究进展及应用. 生物工程学报, 2021, 37(3): 860-873.
Zhang CY, Wu YK, Xu XH, et al. Current status and future perspectives of metabolic network models of industrial microorganisms. Chin J Biotech, 2021, 37(3): 860-873 (in Chinese).
- [2] Zhang X, Man Y, Zhuang XH, et al. Plant multiscale networks: charting plant connectivity by multi-level analysis and imaging techniques. Sci China Life Sci, 2021, 64(9): 1392-1422.
- [3] Gosak M, Markovič R, Dolenšek J, et al. Network science of biological systems at different scales: a review. Phys Life Rev, 2018, 24: 118-135.
- [4] Cortes-Poza Y, Padilla-Longoria P, Alvarez-Buylla E. Spatial dynamics of floral organ formation. J Theor Biol, 2018, 454: 30-40.
- [5] Kaur A, Chitre A, Wanjale K, et al. Recognition of protein network for bioinformatics knowledge analysis using support vector machine. Biomed Res Int, 2022, 2022: 2273648.
- [6] Rellán-Álvarez R, Lobet G, Lindner H, et al. GLO-Roots: an imaging platform enabling multidimensional characterization of soil-grown root systems. Elife, 2015, 4: e07597.
- [7] Cabin Z, Derieg NJ, Garton A, et al. Non-pollinator selection for a floral homeotic mutant conferring loss of nectar reward in *Aquilegia coerulea*. Curr Biol, 2022, 32(6): 1332-1341.
- [8] Birnbaum KD, Otegui MS, Bailey-Serres J, et al. The plant cell atlas: focusing new technologies on the kingdom that nourishes the planet. Plant Physiol, 2022, 188(2): 675-679.
- [9] Green PB. Cell morphogenesis. Annu Rev Plant Physiol, 1969, 20: 365-394.
- [10] Davies J. Using synthetic biology to explore principles of development. Development, 2017, 144(7): 1146-1158.
- [11] Cajal S, Ramón Y. Histologie du système nerveux de l'Homme et des vertébrés. Paris: Maloine Press, 1911: 887-890.
- [12] Chalfie M, Sulston JE, White JG, et al. The neural circuit for touch sensitivity in *Caenorhabditis elegans*. J Neurosci, 1985, 5(4): 956-964.
- [13] Sporns O, Tononi G, Kötter R. The human connectome: a structural description of the human brain. PLoS Comput Biol, 2005, 1(4): e42.
- [14] Ryan K, Lu ZY, Meinertzhagen IA. The CNS connectome of a tadpole larva of *Ciona intestinalis* (L.) highlights sidedness in the brain of a chordate sibling. eLife, 2016, 5: e16962.
- [15] Bullmore E, Sporns O. Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. Nat Rev Neurosci, 2009, 10(3): 186-198.
- [16] DeFelipe J. From the connectome to the synaptome: an epic love story. Science, 2010, 330(6008): 1198-1201.
- [17] Queller DC, Strassmann JE. Beyond society: the evolution of organismality. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2009, 364(1533): 3143-3155.
- [18] Montenegro-Johnson TD, Stamm P, Strauss S, et al. Digital single-cell analysis of plant organ development using 3DCellAtlas. Plant Cell, 2015, 27(4): 1018-1033.
- [19] Kurihara D, Mizuta Y, Nagahara S, et al. Optical clearing of plant tissues for fluorescence imaging. J Vis Exp, 2022(179): e63428.
- [20] Jackson MD, Xu H, Duran-Nebreda S, et al. Topological analysis of multicellular complexity in the plant hypocotyl. eLife, 2017, 6: e26023.
- [21] Montenegro-Johnson T, Strauss S, Jackson MDB, et al. 3DCellAtlas Meristem: a tool for the global cellular annotation of shoot apical meristems. Plant Methods, 2019, 15: 33.
- [22] Barabási AL PM. Network Science. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2016
- [23] Gibson MC, Patel AB, Nagpal R, et al. The emergence of geometric order in proliferating metazoan epithelia. Nature, 2006, 442(7106): 1038-1041.
- [24] Heller D, Hoppe A, Restrepo S, et al. EpiTools: an open-source image analysis toolkit for quantifying epithelial growth dynamics. Dev Cell, 2016, 36(1): 103-116.
- [25] Newman MEJ. Networks: an introduction, Oxford, UK: Oxford University Press, 2010
- [26] Bassel GW. Multicellular systems biology: quantifying cellular patterning and function in plant organs using network science. Mol Plant, 2019, 12(6): 731-742.
- [27] Di Laurenzio L, Wysocka-Diller J, Malamy JE, et al. The *SCARECROW* gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the *Arabidopsis* root. Cell, 1996, 86(3): 423-433.
- [28] Avena-Koenigsberger A, Goñi J, Solé R, et al. Network

- morphospace. *J R Soc Interface*, 2015, 12(103): 20140881.
- [29] Ollé-Vila A, Duran-Nebreda S, Conde-Pueyo N, et al. A morphospace for synthetic organs and organoids: the possible and the actual. *Integr Biol (Camb)*, 2016, 8(4): 485-503.
- [30] Dissmeyer N, Weimer AK, Pusch S, et al. Control of cell proliferation, organ growth, and DNA damage response operate independently of dephosphorylation of the *Arabidopsis* Cdk1 homolog CDKA;1. *Plant Cell*, 2009, 21(11): 3641-3654.
- [31] Yang C, Sofroni K, Wijnker E, et al. The *Arabidopsis* Cdk1/Cdk2 homolog CDKA;1 controls chromosome axis assembly during plant meiosis. *EMBO J*, 2020, 39(3): e101625.
- [32] Weimer AK, Nowack MK, Bouyer D, et al. Retinoblastoma related1 regulates asymmetric cell divisions in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2012, 24(10): 4083-4095.
- [33] Hardtke CS, Berleth T. The *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development. *EMBO J*, 1998, 17(5): 1405-1411.
- [34] Schlereth A, Möller B, Liu WL, et al. *MONOPTEROS* controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor. *Nature*, 2010, 464(7290): 913-916.
- [35] Treml BS, Winderl S, Radykewicz R, et al. The gene *ENHANCER OF PINOID* controls *Cotyledon* development in the *Arabidopsis* embryo. *Development*, 2005, 132(18): 4063-4074.
- [36] Yoshida S, Barbier De Reuille P, Lane B, et al. Genetic control of plant development by overriding a geometric division rule. *Dev Cell*, 2014, 29(1): 75-87.
- [37] Zhang ZJ, Runions A, Mentink RA, et al. A WOX/auxin biosynthesis module controls growth to shape leaf form. *Curr Biol*, 2020, 30(24): 4857-4868.e6.
- [38] Duckett CM, Grierson C, Linstead P, et al. Clonal relationships and cell patterning in the root epidermis of *Arabidopsis*. *Development*, 1994, 120(9): 2465-2474.
- [39] Jackson MDB, Duran-Nebreda S, Kierzkowski D, et al. Global topological order emerges through local mechanical control of cell divisions in the *Arabidopsis* shoot apical meristem. *Cell Syst*, 2019, 8(1): 53-65.e3.
- [40] Kierzkowski D, Runions A, Vuolo F, et al. A growth-based framework for leaf shape development and diversity. *Cell*, 2019, 177(6): 1405-1418.e17.
- [41] Dong Y, Majda M, Šimura J, et al. HEARTBREAK controls post-translational modification of INDEHISCENT to regulate fruit morphology in *Capsella*. *Curr Biol*, 2020, 30(19): 3880-3888.e5.
- [42] Doursat R, Sayama H, Michel O. *Morphogenetic Engineering: Toward Programmable Complex Systems*. 2013th ed. Berlin: Springer Press, 2012..
- [43] Wolf DM, Arkin AP. Motifs, modules and games in bacteria. *Curr Opin Microbiol*, 2003, 6(2): 125-134.
- [44] Boyle PM, Silver PA. Harnessing nature's toolbox: regulatory elements for synthetic biology. *J R Soc Interface*, 2009, 6(Suppl 4): S535-S546.
- [45] Glass DS, Riedel-Kruse IH. A synthetic bacterial cell-cell adhesion toolbox for programming multicellular morphologies and patterns. *Cell*, 2018, 174(3): 649-658.e16.
- [46] Weber W, Daoud-El Baba M, Fussenegger M. Synthetic ecosystems based on airborne inter- and intrakingdom communication. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(25): 10435-10440.
- [47] Maharbiz MM. Synthetic multicellularity. *Trends Cell Biol*, 2012, 22(12): 617-623.
- [48] Solé R, Ollé-Vila A, Vidiella B, et al. The road to synthetic multicellularity. *Curr Opin Syst Biol*, 2018, 7: 60-67.
- [49] Ivanchenko MG, Zhu JS, Wang BJ, et al. The cyclophilin A *DIAGEOTROPICA* gene affects auxin transport in both root and shoot to control lateral root formation. *Development*, 2015, 142(4): 712-721.
- [50] Galvan-Ampudia CS, Cerutti G, Legrand J, et al. Temporal integration of auxin information for the regulation of patterning. *Elife*, 2020, 9: e55832.
- [51] Boehm CR, Pollak B, Purswani N, et al. Synthetic botany. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(7): a023887.
- [52] Liu Y, Yang MY, Deng YX, et al. High-spatial-resolution multi-omics sequencing *via* deterministic barcoding in tissue. *Cell*, 2020, 183(6): 1665-1681.e18.
- [53] Bai T, Xu J, Zhang Z, et al. Context-aware learning for cancer cell nucleus recognition in pathology images. *Bioinformatics*, 2022: 2022Mar21;btac167.
- [54] Kipf T N, Welling M. Semi-supervised classification with graph convolutional networks. 2016, arXiv: 1609.02907.
- [55] Xia KK, Sun HX, Li J, et al. The single-cell stereo-seq reveals region-specific cell subtypes and transcriptome profiling in *Arabidopsis* leaves. *Dev Cell*, 2022, 57: 1-12 .
- [56] Von Mering C, Krause R, Snel B, et al. Comparative assessment of large-scale data sets of protein-protein interactions. *Nature*, 2002, 417(6887): 399-403.
- [57] Du F, Jiao Y. Mechanical control of plant morphogenesis: concepts and progress. *Curr Opin Plant Biol*, 2020, 57: 16-23.

(本文责编 陈宏宇)