

· 研究报告 ·

拟南芥黏连蛋白RAD21对增强UV-B辐射后细胞分裂的响应

贺芳芳, 陈慧泽, 冯金林, 高琳, 牛娇, 韩榕*

山西师范大学生命科学学院, 植物分子与环境胁迫响应山西省高校重点实验室, 临汾 041000

摘要 UV-B辐射对植物的影响体现在多个水平, 其会引起植物DNA损伤, 造成有丝分裂异常, 最终影响植物的生长发育及生理生化过程。RAD21.3是黏连蛋白复合物的一个亚基, 参与有丝分裂中染色体的分离。该研究以哥伦比亚生态型拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和*atrad21.3*突变体为材料, 设置对照(CK)及UV-B处理组, 对野生型(WT)、*atrad21.3*及过表达株系的根长、株高、抽薹时间和生理生化指标进行统计分析。利用碱性品红染色观察拟南芥根尖的有丝分裂现象, 并统计畸变率。SPSS分析结果表明, UV-B处理后, WT UV-B和*atrad21.3* CK的抽薹时间、株高及各项生理生化指标与WT CK相比无显著差异, 但*atrad21.3* UV-B与之相比差异显著。通过烟草(*Nicotiana benthamiana*)的瞬时表达和亚细胞定位观察, 发现RAD21.3集中在细胞核; 进一步观察分裂期细胞发现落后染色体、染色体桥和游离染色体等异常现象。统计结果表明, 与WT CK相比, WT UV-B和*atrad21.3* CK的畸变率较高, 但*atrad21.3* UV-B的畸变率更高, 表明RAD21.3可能响应UV-B辐射诱导的异常有丝分裂。

关键词 拟南芥, *atrad21.3*突变体, UV-B辐射, 染色体, 有丝分裂

贺芳芳, 陈慧泽, 冯金林, 高琳, 牛娇, 韩榕 (2020). 拟南芥黏连蛋白RAD21对增强UV-B辐射后细胞分裂的响应. 植物学报 55, 407–420.

紫外线辐射是太阳电磁辐射的一部分, 到达地球表面的太阳辐射约有7%是紫外线(Frohnmeier and Staiger, 2003)。紫外线分为UV-A (315–400 nm)、UV-B (280–315 nm)和UV-C (200–280 nm)。最具活力的UV-C被臭氧(O₃)层完全吸收; UV-A未被臭氧层衰减, 但破坏最小且参与植物的光形态建成(Björn, 1996)。UV-B属于中长波段, 约95%的UV-B辐射被臭氧层吸收, 到达地表的UV-B平均强度为1 W·m⁻² (Čejka et al., 2011), 可引起多种破坏效应, 属于强效应波(Sugimoto-Shirasu and Roberts, 2003)。近年的研究表明, UV-B辐射影响植物的生长发育和生理生化过程(Björn et al., 1997), 导致其形态结构、生理代谢、遗传特性和生长周期等发生改变(Caldwell et al., 1995; Nogués et al., 1998), 包括植物的生物量减少(Vandenbussche et al., 2018)、表皮变化、异常

生长(Searles et al., 2001)以及光系统受损害(Liu et al., 2013)等。因此, 揭示UV-B辐射对植物的影响及作用机理尤为重要。

控制细胞分裂和扩张是调节器官大小的核心(方荧等, 2018)。细胞水平上, UV-B诱导细胞分裂、伸长和分化变化等异常现象的发生(Robson et al., 2015)。韩榕(2002)在小麦(*Triticum aestivum*)根尖中发现UV-B辐射导致植物DNA损伤, 造成有丝分裂异常, 出现翘根、分束分裂和染色体畸变等现象, 并抑制细胞的分裂, 最终在生理水平上表现出生物量的减小。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)是一种优良的模式植物(陈建权等, 2018), 目前已有一些UV-B辐射对其影响的研究。UV-B辐射抑制拟南芥细胞周期的进程(Jiang et al., 2011), DNA受损使拟南芥根尖细胞G1/S期的转变延缓, 可能是其抑制植物生长的原因之一(王静

收稿日期: 2020-01-15; 接受日期: 2020-05-15

基金项目: 国家自然科学基金(No.30671061)、山西省研究生教育创新项目(No.2019SY313)和山西师范大学研究生科技创新项目(No.01053011)

* 通讯作者。E-mail: hhwrsl@163.com

等, 2009)。延缓G1/S期的转变, 推测可能是由于切除CPDs后才可进行DNA复制, 细胞周期的抑制促进DNA修复, 但也会导致细胞数量减少或者核内复制发生(陈慧泽和韩榕, 2015)。UV-B辐射减小拟南芥莲座叶直径及面积, 主要原因是细胞分裂和扩张受到抑制(Hectors et al., 2010), 进而抑制叶片生长(Casadevall et al., 2013)。

细胞分裂是生物体生长繁殖的基础, 真核生物的细胞分裂包括有丝分裂和减数分裂(Suzuki et al., 2013)。染色体黏着在有丝分裂和减数分裂过程中扮演着重要角色, 是保证姐妹(或同源)染色体正确分离并分配到子细胞中的关键调控环节之一(张亮然, 2006)。黏着素(cohesin)是一种将姐妹染色单体紧密连接在一起的蛋白质复合物, 由SMC1、SMC3、SCC1/RAD21和SCC3组成, 参与有丝分裂期间姐妹染色单体的凝聚(Losada, 2007; Skibbens, 2009), 其不正常的黏着与分离可导致染色体分离出现错误。芽殖酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)姐妹染色单体的内聚性在G1晚期和S期建立, 在中期/后期转变中被消除, 以允许有丝分裂姐妹染色单体正确且及时分离(da Costa-Nunes et al., 2014)。免疫荧光定位分析表明, OsRad21-1和OsRad21-3特异地定位于有丝分裂染色体上, 可能参与有丝分裂姐妹染色体之间的黏着(张亮然, 2006)。拟南芥复合体核心蛋白亚基REC8/RAD21有3个同源基因: *AtRAD21.1/SYN2*、*AtRAD21.2/SYN3*和*AtRAD21.3/SYN4* (Dong et al., 2001; Da Costa-Nunes, 2006)。*AtRAD21.1* (At5g40840)和*AtRAD21.3* (At5g16270)位于V号染色体上, *AtRAD21.2* (At3g59550)位于III号染色体上。RAD21.3编码一个SCC1/REC8同源物, 可能参与有丝分裂。由于*AtRAD21.3*与核基质或姐妹染色单体的内聚性有关(Sadano et al., 2000), *AtRAD21.1*与*AtRAD21.3*可能代表有丝分裂凝聚蛋白, 但在有丝分裂中功能冗余(Da Costa-Nunes et al., 2006; Jiang et al., 2007)。有丝分裂过程中, 染色体S期复制产生的姐妹染色单体通过黏着素紧密联系, 直到后期起始时才分开(Xu et al., 2004)。凝聚力缺陷会导致中期染色体错位(Hoque and Ishikawa, 2002), 从而阻止进入后期; RAD21缺陷则导致有丝分裂停滞和非整倍体产生(Hirano, 2000; Nasmyth et al., 2000)。γ射线对*atrad21.3*突变体的作用已有报道(da Costa-Nunes

et al., 2014), 关于UV-B辐射对*atrad21.3*突变体有丝分裂的影响目前尚未有研究。

我们通过构建过表达载体, 检测RAD21.3的亚细胞定位, 设置对照与UV-B辐射处理组, 初步比较野生型(WT)、*atrad21.3*突变体和过表达株系形态及生理生化指标的变化, 并进一步观察*atrad21.3*的有丝分裂现象, 统计畸变率, 研究RAD21.3对UV-B辐射诱导的异常有丝分裂的响应。

1 材料与方法

1.1 材料及培养方法

哥伦比亚生态型拟南芥(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) (Col-0)和本氏烟草(*Nicotiana benthamiana*)种子由植物分子与环境胁迫响应山西省高等学校重点实验室保存。*atrad21.3*突变体(salk_076116C)购自拟南芥资源中心(Nottingham *Arabidopsis* Stock Centre, NASC)。植物表达载体*pSuper1300-GFP*、大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5α、农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*) GV3101均由本课题组保存。过表达载体*pSuper1300-RAD21.3-GFP*为本实验室构建。

培养方法: 将种子在4°C下春化, 之后用1.5%次氯酸钠溶液消毒10分钟, 灭菌水清洗3–5次, 点种到MS或1/2MS培养基上。移栽后密封托盘, 放置在温度为(22±2)°C、相对湿度为60%–80%、光周期为16小时光照/8小时黑暗的培养室中培养。

1.2 *AtRAD21.3*的克隆及亚细胞定位

1.2.1 *AtRAD21.3*的克隆

从拟南芥基因组数据库(TAIR)中查找RAD21.3基因序列并设计引物。LP: 5'-GCGTCGACATGTTTTA-TTCGCAGTTTATATTAGCTAA-3'; RP: 5'-GGGGT-ACCGAAGATGGATTTGGTGAGCTT-3'。以反转录cDNA为模板, 使用Supermix酶扩增。扩增程序: 95°C预变性1分钟; 95°C20秒, 53.5°C20秒, 72°C90秒, 35个循环; 72°C延伸5分钟。PCR产物使用1%琼脂糖凝胶电泳检测, 使用DNA纯化回收试剂盒回收约3 096 bp的*AtRAD21.3*目的片段。用*Sal*I以及*Kpn*I双酶切载体与目的基因, 切胶回收。载体与目的基因按照等摩尔比例混合, 用T4-DNA连接酶4°C过夜连

接, 连接产物用热激法转入DH5 α , 将转化成功的大肠杆菌接种到LB固体培养基(含卡那霉素)上, 于37°C恒温培养箱中培养12–16小时。挑取单菌落于LB液体培养基中(含卡那霉素), 通过菌液PCR验证阳性菌落。提取质粒, 进行双酶切验证后, 送北京华大基因公司测序。

1.2.2 AtRAD21.3的亚细胞定位

将构建成功的载体转化GV3101, 涂板, 于28°C培养箱中培养。挑取单菌落摇菌, OD₆₀₀为0.8–1集菌。重悬菌液, OD₆₀₀为0.5–0.6, 暗培养3小时, 注射烟草叶片。避光处理30小时后对叶片注射DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole), 用激光共聚焦扫描显微镜观察烟草叶片的瞬时表达; 并进一步观察转基因拟南芥根尖、AtRAD21.3的亚细胞定位及UV-B辐射后的变化。

1.3 UV-B辐射对AtRAD21表达量的影响

采用本课题组前期筛选出的UV-B剂量(5 kJ·m⁻²)处理拟南芥幼苗, 提取整株幼苗的RNA, 反转录成cDNA, 以ACTIN为内参, 通过RT-PCR检测AtRAD21.1和AtRAD21.3在UV-B辐射前后表达量的变化, 使用Image J软件分析。

1.4 UV-B辐射对拟南芥形态及生理生化指标的影响

植物在胁迫条件下会表现出形态和生理生化变化。本研究统计了UV-B辐射后, WT、*atrada21.3*和过表达株系的种子萌发率(李晓阳等, 2013), 幼苗根长、株高和抽薹时间, 叶绿素和可溶性糖含量, 及丙二醛(malondialdehyde, MDA)浓度和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的变化。叶绿素含量、MDA浓度和SOD活性的测定及可溶性糖的提取参考张志良等(2009)所述方法, 并稍作修改。

1.5 UV-B辐射对*atrada21.3*有丝分裂的影响

通过设置对照和UV-B处理组, 对WT和*atrada21.3*进行转录组高通量测序(RNA-seq), 筛选出部分与细胞周期相关的基因, 通过RT-qPCR观察UV-B辐射前后细胞周期相关基因的相对表达量变化。切取不同处理组的根尖, 用1 mol·mL⁻¹盐酸, 60°C下解离5分钟。碱性品红染色后在荧光显微镜下观察有丝分裂现象, 并

统计染色体畸变率。

1.6 数据分析

所有检测指标均重复测定3次。使用Microsoft Excel 2010软件进行实验数据统计。使用SPSS Statistics 17.0软件中的Duncan法进行差异显著性分析。用SigmaPlot 12.5软件绘图。

2 结果与讨论

2.1 *atrada21.3*突变体的鉴定与表型观察

从TAIR数据库中查阅*atrada21.3*突变体的基因信息。测序结果显示, *atrada21.3*纯合突变体的T-DNA插在基因的第11个外显子(图1A)。*atrada21.3*的表达分析表明, T-DNA插入阻止了全长AtRAD21.3转录物的表达。利用三引物法(LP、RP和BP)鉴定突变体, 用LP+RP和RP+BP引物进行DNA水平的鉴定(图1B)。通过检测突变体中RAD21.3基因的转录本情况鉴定RNA水平。提取生长7天的WT和*atrada21.3*突变体的RNA, 用LP+RP引物进行PCR扩增(图1C), 发现WT扩增出特异性条带, *atrada21.3*突变体相应位置无条带, 而内参基因ACTIN在WT和*atrada21.3*突变体中得到很好的扩增。由此可知, *atrada21.3*突变体中RAD-

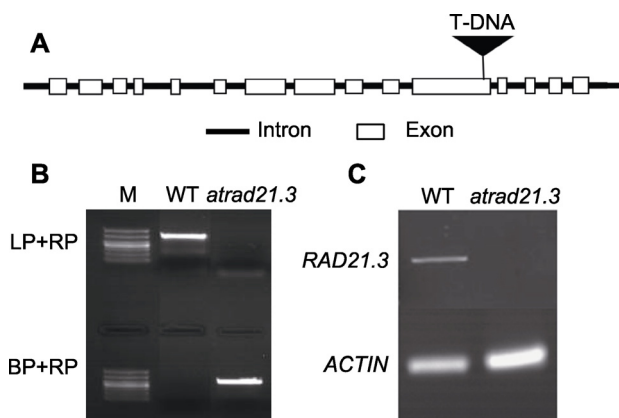


图1 *atrada21.3*的T-DNA插入示意图及鉴定 (A) *atrada21.3*基因结构以及T-DNA插入位点示意图; (B) *atrada21.3* DNA水平鉴定(M: 分子量标记); (C) *atrada21.3*中RAD 21.3基因的转录本水平。WT: 野生型

Figure 1 T-DNA insertions and identification of *atrada21.3* (A) Gene structure and T-DNA insertions of *atrada21.3*; (B) Identification of DNA level in *atrada21.3* (M: Marker); (C) Transcriptional level of RAD21.3 gene in *atrada21.3*. WT: Wild type

21.3基因的转录本水平受到影响。

有研究表明, *AtRAD21.3*在染色体结构维持中的作用可以解释拟南芥发育延迟现象, 特别是*atrad21.3*突变体延迟抽薹表型(Da Costa-Nunes et al., 2006)。故我们首先对突变体的表型进行了观察。使用体式显微镜观察WT和*atrad21.3*的种子(图2A, D), 发现二者形态无明显差异。之后, 观察第12天的WT与*atrad21.3*的莲座叶数目, 发现也无区别(图2B, E); 但第32天的WT抽薹, *atrad21.3*尚未抽薹(图2C, F)。比较WT与*atrad21.3*突变体的株高, 结果表明*atrad21.3*突变体较矮(图2G)。综上, 在营养生长阶段WT与*atrad21.3*无明显差异, 但在生殖阶段*atrad21.3*抽薹延迟且株高较矮。说明*atrad21.3*突变体在营养阶段无明显的发育表型, 可育且可收获有活力的种子, 并经历正常的营养生长。

2.2 *AtRAD21.3*的克隆及亚细胞定位分析

2.2.1 *AtRAD21.3*的克隆

构建*AtRAD21.3*过表达载体。以WT的cDNA为模板进行PCR扩增, 经琼脂糖凝胶电泳检测到长度约为3 096 bp的单一一条带(图3A), 且条带大小与预期相符。切胶纯化, 条带如图3B所示, 位置正确, 条带单一, 浓度可用; 双酶切载体与目的基因, 并切胶回

收。将*AtRAD21.3*基因片段连接在pSuper1300-GFP载体上; 转化DH5 α , 挑取单菌落进行RT-PCR检测, 筛选出2、3、4和6号管, 其条带明显(图3C), 说明转化成功。提取质粒, 用限制性内切酶*KpnI*和*Sall*进行双酶切验证, 电泳结果显示出现2条产物, 切出大小约为3 096 bp的条带(图3D)。初步认定重组质粒构建成功, 送北京华大基因公司测序, 验证正确。

2.2.2 *AtRAD21.3*的亚细胞定位分析

(1) 过表达载体在烟草中的瞬时表达 将测序成功的pSuper1300-RAD21.3-GFP质粒转入GV3101, 摇菌, 重悬菌液; 对4片叶的烟草叶表皮细胞进行注射, 黑暗培养30小时后向叶片注射DAPI (染细胞核), 取烟草下表皮, 在激光共聚焦显微镜下观察, 发现DAPI和GFP均在细胞核表达(图4), 因此推测*AtRAD21.3*可能定位于细胞核。

(2) pSuper1300-RAD21.3-GFP过表达植株根尖的亚细胞定位观察 生物信息学预测*AtRAD21.3*定位在细胞核, 并显示*AtRAD21.3*中间区域含有潜在的核定位信号, 及PEST序列等。本研究以pSuper1300-RAD21.3-GFP转基因植株的根尖为材料, 进行DAPI染色, 用激光共聚焦扫描显微镜观察。UV-B处理前后*AtRAD21.3*蛋白的荧光信号集中在细胞核上; CK组细胞核

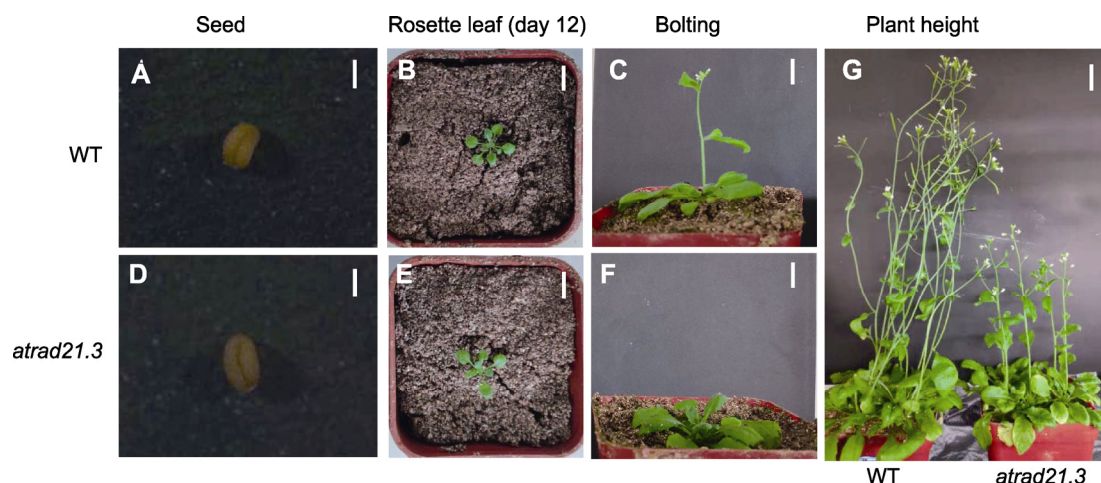


图2 野生型(WT)和*atrad21.3*的表型分析

(A) WT种子; (B) 第12天的WT莲座叶; (C) WT抽薹; (D) *atrad21.3*种子; (E) 第12天的*atrad21.3*莲座叶; (F) *atrad21.3*未抽薹; (G) WT和*atrad21.3*的株高. (A), (D) Bars=10 μ m; (B), (C), (E)–(G) Bars=1.0 cm

Figure 2 Phenotypic analysis of wild type (WT) and *atrad21.3*

(A) Seed of WT; (B) Rosette leaf (day 12) of WT; (C) Bolting of WT; (D) Seed of *atrad21.3*; (E) Rosette leaf (day 12) of *atrad21.3*; (F) Bolting of *atrad21.3*; (G) Plant height of WT and *atrad21.3*. (A), (D) Bars=10 μ m; (B), (C), (E)–(G) Bars=1.0 cm

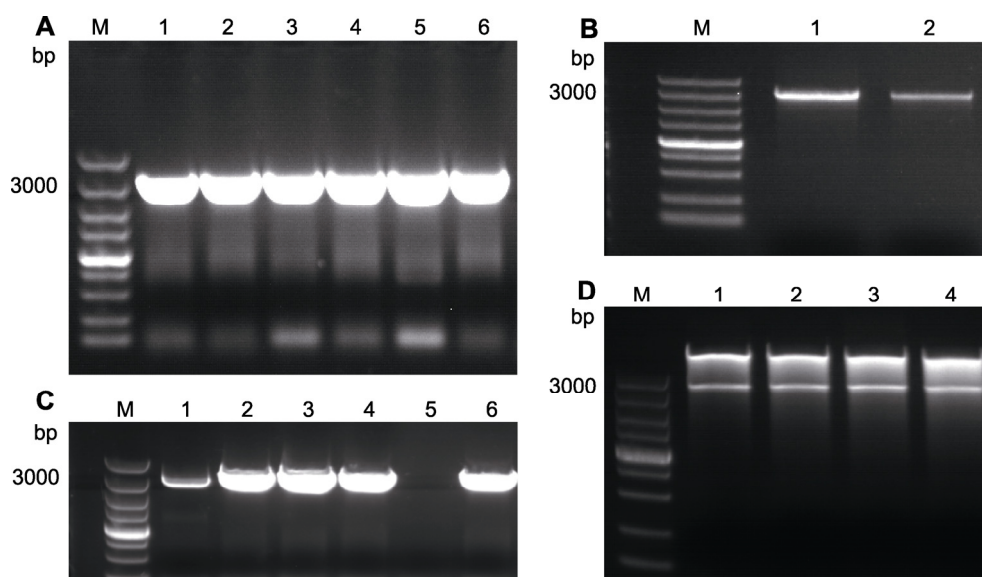


图3 *AtRAD21.3*的克隆

(A) *AtRAD21.3*的扩增产物(1-6: 产物); (B) *AtRAD21.3*切胶回收电泳结果(1, 2: 切胶回收产物); (C) 菌液PCR结果(1-4, 6: 阳性单菌落; 5: 阴性对照); (D) 质粒双酶切验证(1-4: 双酶切结果)。M: 分子量标记

Figure 3 Cloning of *AtRAD21.3*

(A) PCR products of *AtRAD21.3* (1-6: Products); (B) Gel cutting recovery result of *AtRAD21.3* (1, 2: Gel cutting recovery products); (C) Bacterial PCR result (1-4, 6: Positive single colony; 5: Negative control products); (D) Dual-restriction digestion of plasmid (1-4: Dual-restriction result). M: DNA marker

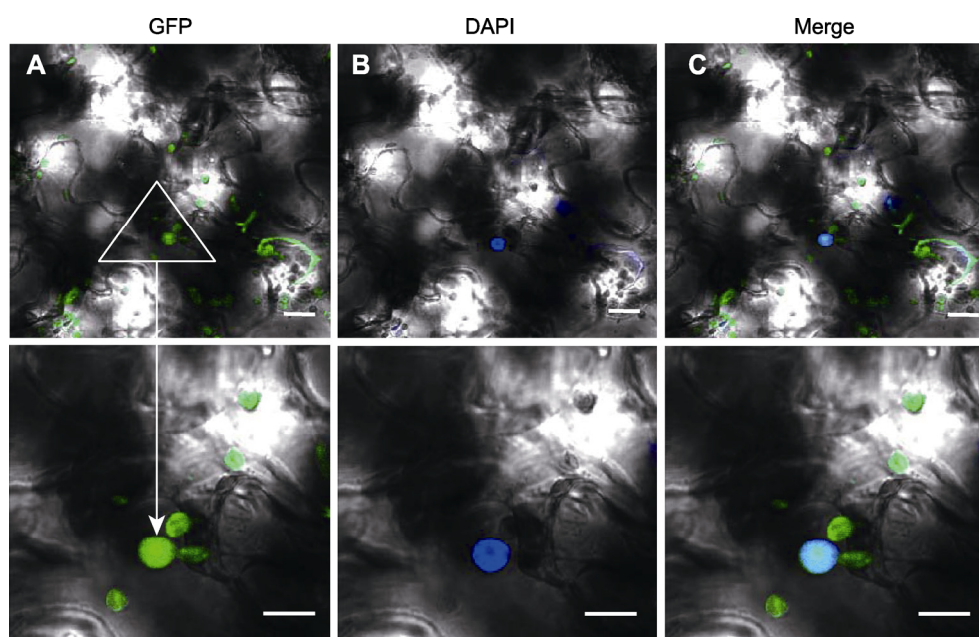


图4 pSuper1300-RAD21.3-GFP在烟草叶片的瞬时表达

(A) pSuper1300-RAD21.3-GFP的GFP荧光信号图像; (B) pSuper1300-RAD21.3-GFP在烟草叶片的DAPI染色图像; (C) A和B叠加的图像。Bars=10 μm

Figure 4 Transient expression of pSuper1300-RAD21.3-GFP in leaves of *Nicotiana benthamiana*

(A) GFP signal of pSuper1300-RAD21.3-GFP; (B) DAPI staining of pSuper1300-RAD21.3-GFP in leaves of *Nicotiana benthamiana*; (C) Merged image of A and B. Bars=10 μm

边缘比较整齐,而UV-B处理后细胞核整体形态发生变化(图5)。

2.3 UV-B辐射后*AtRAD21*表达量的检测

将WT用 $5\text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 的UV-B辐射7天,迅速提取整株RNA,并反转录成cDNA;设计引物,采用半定量RT-PCR检测*AtRAD21.1*和*AtRAD21.3*在UV-B辐射前后表达量的变化。结果表明,UV-B辐射后,*AtRAD21.1*和*AtRAD21.3*的表达量均降低,但*AtRAD21.3*在UV-B辐射后表达量降低更明显(图6)。使用Image J软件进行灰度值分析,发现*AtRAD21.3*的表达量在UV-B辐射前后差异显著($P<0.05$) (图6B)。说明UV-B辐射对*AtRAD21.3*表达量的影响更大。

2.4 UV-B辐射对不同株系拟南芥形态及生理生化的影响

2.4.1 UV-B辐射对不同株系拟南芥种子萌发、根长、株高及抽薹的影响

为进一步验证观察到的表型差异,我们设置了对照与UV-B处理组,统计分析了不同处理对拟南芥WT、*atrad21.3*突变体以及*RAD21.3*的过表达植株

(35S:*RAD21.3*-GFP1和35S:*RAD21.3*-GFP2)的种子萌发率、幼苗根长、株高和抽薹时间的影响。 $5\text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ 的UV-B处理后,所有株系种子的萌发率与CK组相比均降低。与WT CK相比,*atrad21.3*突变体在UV-B处理后种子的萌发率降低了44%,并且达显著水平($P<0.05$);WT UV-B处理和*atrad21.3* CK分别降低了28.46%和22.4% (图7A, E);而35S:*RAD21.3*-GFP的萌发率比WT CK稍有增加。由此可知,*RAD21.3*基因缺失与WT UV-B处理的种子萌发率相近,UV-B处理*atrad21.3*突变体后萌发率降低更加明显,过表达植株减缓了UV-B辐射导致的萌发率降低现象。

此外,UV-B处理后所有株系幼苗的根长与CK组相比均变短(图7B, F)。与WT CK相比,*atrad21.3*突变体UV-B处理后根长明显变短,并且达显著水平($P<0.05$);WT UV-B处理和*atrad21.3* CK的根长分别为1.178 4和1.216 7 cm;35S:*RAD21.3*-GFP CK的根长则较WT CK的长。由此可知,*RAD21.3*基因缺失与UV-B处理WT后的根长无显著性差异,UV-B处理*atrad21.3*后加剧了根长变短,严重阻碍了拟南芥根的生长,然而过表达株系减缓了这种变化。

此外,UV-B处理后所有株系的株高与CK组相比

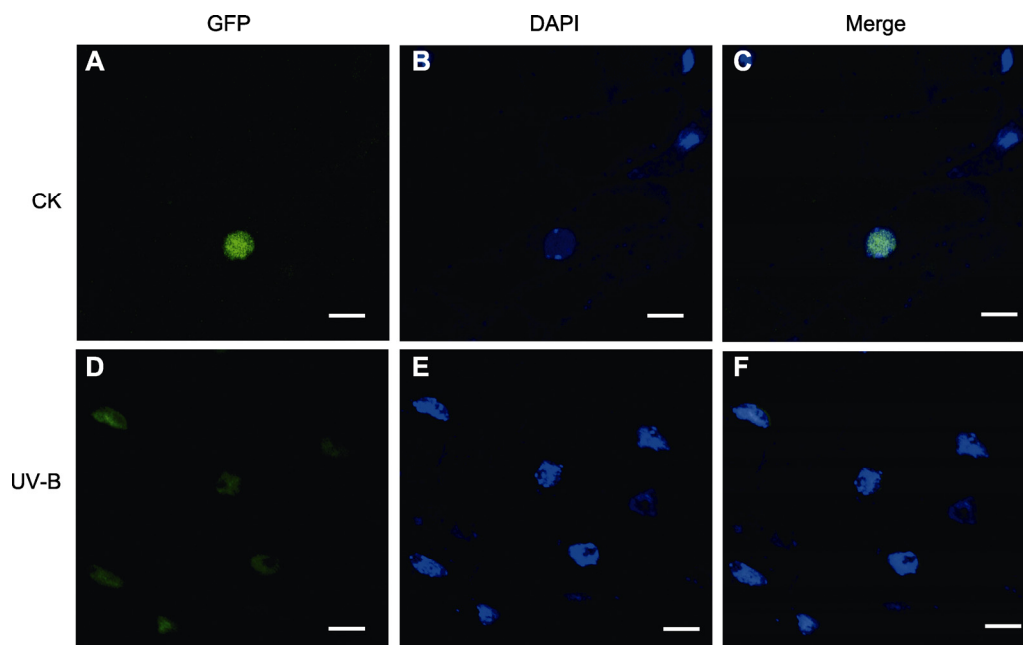


图5 过表达载体pSuper1300-*RAD21.3*-GFP在UV-B处理前后的定位(Bars=10 μm)

Figure 5 Localization of pSuper1300-*RAD21.3*-GFP before and after UV-B treatment (Bars=10 μm)

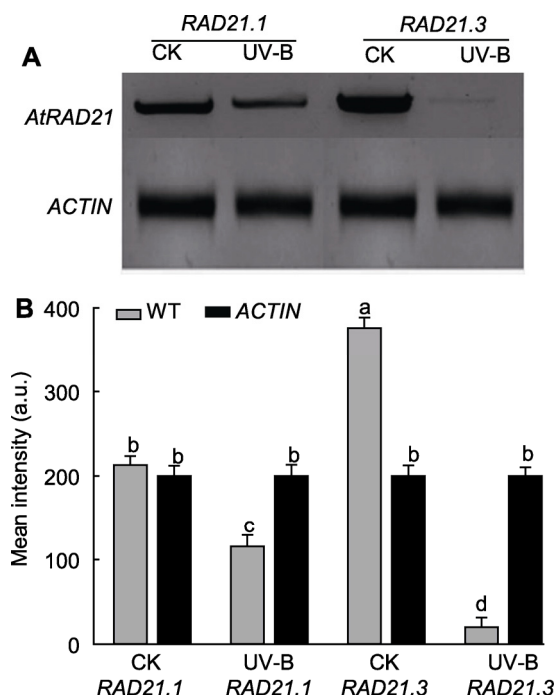


图6 UV-B辐射后*AtRAD21*基因表达量检测

(A) 半定量RT-PCR电泳图; (B) 灰度值分析。WT: 野生型。不同小写字母表示差异显著(Duncan法, $P < 0.05$)。

Figure 6 Detection of UV-B radiation on *AtRAD21* expression quantity

(A) Result of RT-PCR; (B) Gray value analysis. WT: Wild type. Different lowercase letters show significant differences (Duncan method, $P < 0.05$).

均变矮(图7D, G)。与WT CK相比, *atrada21.3*突变体在UV-B处理后株高降低了46.9%, 且达显著水平($P < 0.05$); WT UV-B处理和*atrada21.3* CK的株高分别降低了18.83%以及21.5%; 35S:RAD21.3-GFP CK的株高则高于WT CK。由此可知, UV-B处理WT与RAD21.3基因缺失的拟南芥株高相近, *atrada21.3* UV-B处理的株高变矮更明显, 但过表达株系的株高变矮现象有所减缓。

有文献报道*atrada21.3*突变体抽薹延迟(Da Costa-Nunes et al., 2006)。本研究对拟南芥各株系的抽薹情况进行了观察与统计(图7C, H), 表明UV-B处理后所有株系的抽薹与CK组相比均延迟。与WT CK相比, *atrada21.3*突变体UV-B处理后抽薹时间延迟了10天, 达显著水平($P < 0.05$); *atrada21.3* CK和WT UV-B处理的抽薹时间分别为36.9和35.2天; 35S:RAD21.3-GFP CK的抽薹时间比WT CK延迟3天。由此可知, UV-B处

理WT与RAD21.3基因缺失的拟南芥抽薹时间相近, UV-B处理*atrada21.3*后其抽薹延迟现象更明显, 过表达株系则减缓了抽薹延迟现象。

2.4.2 UV-B辐射对拟南芥各项生理生化指标的影响

为进一步探究*atrada21.3*突变体抽薹延迟和株高变矮现象的内在机制, 我们从生理生化水平(包括丙二醛浓度、超氧化物歧化酶活性、叶绿素和可溶性糖含量)探讨了不同处理对拟南芥各生理生化指标的影响。结果表明, UV-B处理后所有株系的MDA浓度与CK组相比均增加。与WT CK相比, *atrada21.3*突变体UV-B处理后MDA浓度增加了24.5%, 达显著水平($P < 0.05$); *atrada21.3* CK和WT UV-B处理的MDA浓度分别增加了10.3%和6.64%; 35S:RAD21.3-GFP CK降低了10.2% (图8A)。由此可知, RAD21.3基因缺失与WT UV-B处理的膜脂过氧化增加程度相近, 说明RAD21.3基因缺失与WT UV-B处理均导致植株生长受影响, UV-B处理*atrada21.3*后加剧了膜脂过氧化程度, 使植物生长受影响更加严重, 而过表达株系的膜脂过氧化程度降低。

UV-B处理后, 所有株系的SOD活性与CK组相比均降低(图8B)。与WT CK相比, *atrada21.3*突变体UV-B处理后SOD活性降低了24.4%, 达显著水平($P < 0.05$)。 *atrada21.3* CK与WT UV-B处理的SOD活性相近, 分别降低了11.4%和8.36%; 35S:RAD21.3-GFP CK的SOD活性比WT CK稍有增加(图8B)。上述结果表明, RAD21.3基因缺失与UV-B处理WT的SOD活性无显著差异, UV-B处理*atrada21.3*后其SOD活性降低更明显, 过表达植株则减缓此现象。

叶绿素含量表征植物的生长状况。从图8C可以看出, UV-B处理后所有株系的叶绿素含量与CK组相比均下降。与WT CK相比, *atrada21.3*突变体UV-B处理后叶绿素含量降低了30.5%, 达显著水平($P < 0.05$); *atrada21.3* CK与WT UV-B处理的叶绿素含量相近; 35S:RAD21.3-GFP CK的叶绿素含量比WT CK增加了6.3%, 达显著水平($P < 0.05$) (图8C)。以上表明RAD21.3基因缺失与UV-B处理WT后的叶绿素含量无差异; UV-B处理*atrada21.3*后加剧了叶绿素含量的降低, 植株长势弱, 过表达植株则缓解了叶绿素降低现象, 促进了植物的生长。

可溶性糖可以反映植物的代谢程度。从图8D可以

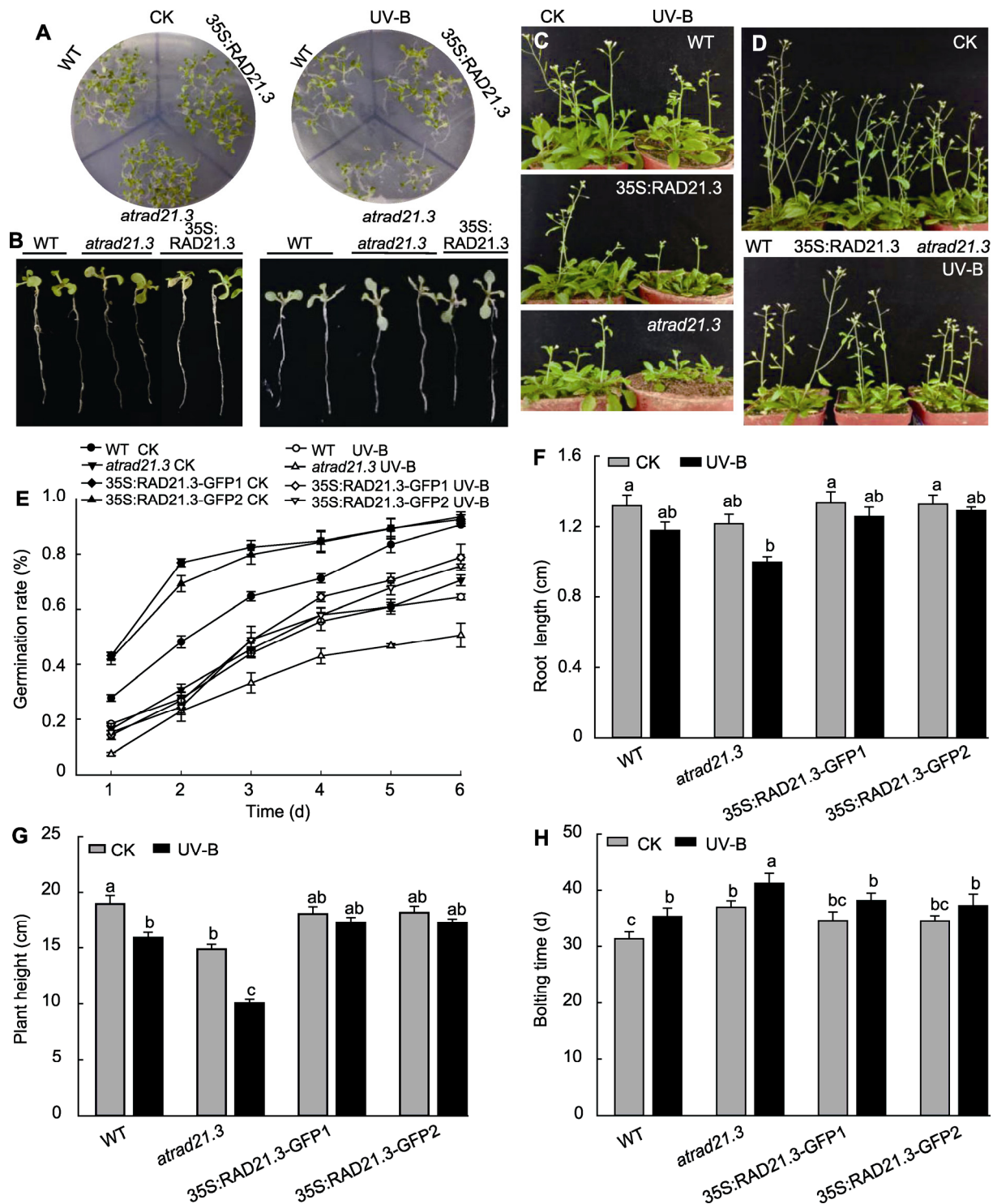


图7 UV-B处理对拟南芥种子萌发率及幼苗根长、株高和抽薹时间的影响

(A), (E) UV-B处理对拟南芥种子萌发率的影响; (B), (F) UV-B处理对拟南芥幼苗根长的影响; (C), (H) UV-B处理对拟南芥抽薹时间的影响; (D), (G) UV-B处理对拟南芥株高的影响。WT: 野生型。不同小写字母表示差异显著(Duncan法, $P < 0.05$)。

Figure 7 The seed germination rate, root length, plant height and bolting time of *Arabidopsis thaliana* with UV-B treatment (A), (E) The seed germination rate of *Arabidopsis thaliana* with UV-B treatment; (B), (F) The root length of *Arabidopsis thaliana* seedling with UV-B treatment; (C), (H) The bolting time of *Arabidopsis thaliana* with UV-B treatment; (D), (G) The plant height of *Arabidopsis thaliana* with UV-B treatment. WT: Wild type. Different lowercase letters show significant differences (Duncan method, $P < 0.05$).

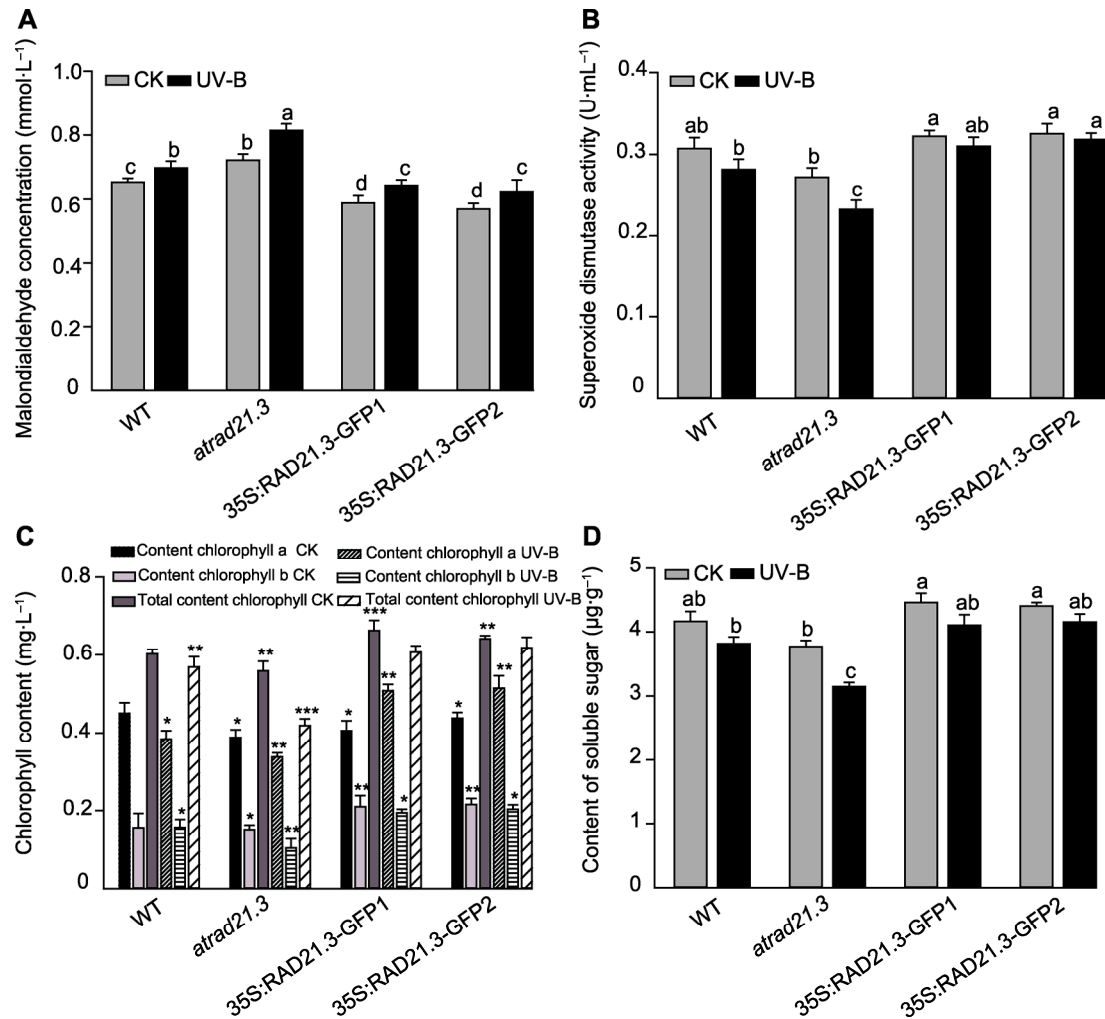


图8 UV-B辐射对拟南芥植株生理生化指标的影响

(A) UV-B辐射对拟南芥丙二醛(MDA)浓度的影响; (B) UV-B辐射对拟南芥超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响; (C) UV-B辐射对拟南芥叶绿素含量的影响; (D) UV-B辐射对拟南芥叶片可溶性糖含量的影响。WT: 野生型。不同小写字母(或*)表示差异显著(Duncan法, $P < 0.05$)。

Figure 8 The influence of physiological and biochemical in *Arabidopsis thaliana* with UV-B treatment

(A) Effect of UV-B radiation on *Arabidopsis thaliana* malondialdehyde (MDA) concentration; (B) Effect of UV-B radiation on *Arabidopsis thaliana* superoxide dismutase (SOD) activity; (C) Effect of UV-B radiation on chlorophyll content in *Arabidopsis thaliana*; (D) Effect of UV-B radiation on content of soluble sugar of *Arabidopsis thaliana*. WT: Wild type. Different lowercase letters (or *) show significant differences (Duncan method, $P < 0.05$).

看出, UV-B处理后所有株系的可溶性糖含量与CK组相比均降低。与WT CK相比, *atrad21.3*突变体UV-B辐射后降低了24.6%, 达显著水平($P < 0.05$); *atrad21.3* CK和WT UV-B处理的可溶性糖含量分别降低了9.6%和8.5%; 35S:RAD21.3-GFP CK的可溶性糖含量比WT CK稍有增加(图8D)。由此可知, *RAD21.3*基因缺失和UV-B处理WT后可溶性糖含量均降低, UV-B处理*atrad21.3*后可溶性糖含量降低更加明显,

但过表达植株增强了植物的代谢程度。

2.5 UV-B辐射对拟南芥有丝分裂的影响

2.5.1 UV-B辐射对拟南芥细胞周期相关基因表达量的影响

通过对对照和UV-B处理7天的WT和*atrad21.3*突变体进行RNA-seq, 我们筛选出部分细胞有丝分裂的重要调控基因, 分别为*CDKA1;1*、*CDKB2;1*、*CYCB1;1*和*CDC5*。*CDKA1;1*主要活跃在细胞有丝分裂的G1

和S期, *CYCB1;1*控制G2至M期的转换, *CDKB2;1*为植物所特有, 在S期转换至M期时表达(马兰等, 2018)。AtCDC5属于一种细胞周期蛋白, 为生物体进行正常生命活动所必需, 其突变可导致细胞分裂无法正常进行, 植物发育受到抑制(徐金龙等, 2019)。我们将提取的RNA反转录成cDNA, 对细胞周期相关基因进行RT-qPCR检测。结果表明, UV-B处理后细胞周期相关基因的相对表达量与CK组相比均降低。与WT CK的*CDKA1;1*、*CDKB2;1*、*CYCB1;1*和*CDC5*的相对表达量相比, WT UV-B处理和*atrad21.3* CK的基因表达量均降低, 但*atrad21.3* UV-B处理组降低更明显, 达显著水平($P<0.05$); WT UV-B处理的表达量比*atrad21.3* UV-B处理的高。综上, 与WT CK相比, *atrad21.3* CK与WT UV-B处理的基因表达量无显著差异, 但*atrad21.3* UV-B处理组明显降低, 35S:RAD21.3则变化不大。

2.5.2 UV-B辐射对*atrad21.3*突变体有丝分裂的影响

有丝分裂是亲代细胞的染色体经过复制以后, 精确、平均分配到2个子细胞中去。通过对拟南芥各时期的有丝分裂进行观察, 我们发现正常有丝分裂的间期可见细胞核, 看不到染色体; 前期, 高度螺旋化变成光镜可见的染色体形态, 散乱排列在纺锤体内; 中期,

染色体排列规律; 后期, 染色体均等分裂(图10)。而不同处理的拟南芥体细胞均出现异常有丝分裂现象, 如前期散乱、落后染色体、游离染色体和染色体桥现象(图11)。

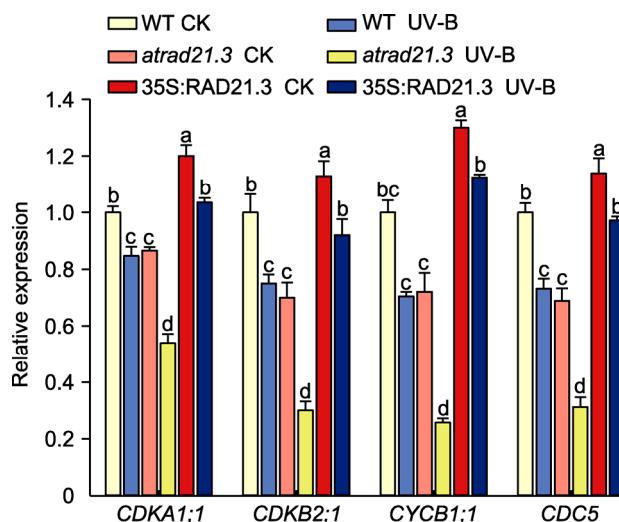


图9 拟南芥细胞周期相关基因的相对表达量

WT: 野生型。不同小写字母表示差异显著(Duncan法, $P<0.05$)。

Figure 9 Relative expression of cell cycle related genes in *Arabidopsis thaliana*

WT: Wild type. Different lowercase letters show significant differences (Duncan method, $P<0.05$).

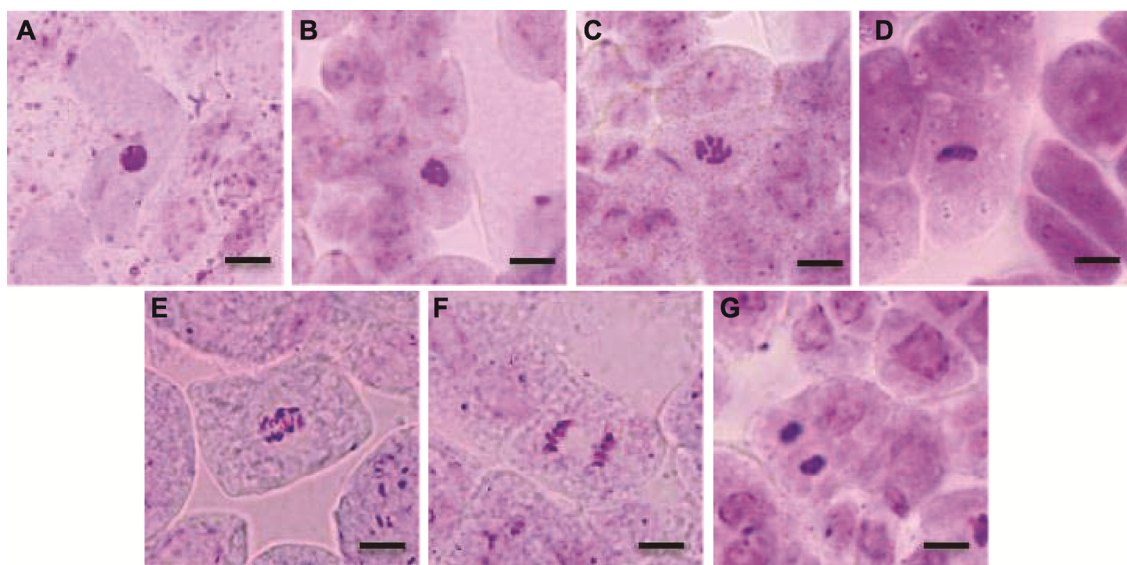


图10 拟南芥根尖正常有丝分裂各时期图

(A) 间期; (B), (C) 前期; (D) 中期; (E) 中后期; (F) 后期; (G) 末期。Bars=20 μ m

Figure 10 Normal phase types of mitosis in root tip of *Arabidopsis thaliana*

(A) Interphase; (B), (C) Prophase; (D) Metaphase; (E) Meta-anaphase; (F) Anaphase; (G) Telephase. Bars=20 μ m

我们对处于分裂期的细胞进行了统计(表1), 结果表明, 与WT CK相比, WT UV-B处理和 $atr\text{ad}21.3$ CK均抑制了细胞分裂并且染色体畸变率增加, $atr\text{ad}21.3$ UV-B处理的分裂期细胞比率为2.75%, 染色体畸变率为0.638%, 且差异显著($P<0.05$)。WT UV-B处理的分裂期细胞比率比 $atr\text{ad}21.3$ UV-B处理的高, 但是畸变率比 $atr\text{ad}21.3$ UV-B处理的低。35S:RAD21.3 UV-B处理的畸变率比WT UV-B处理的低。说明UV-B处理或RAD21.3基因缺失均抑制拟南芥细胞的分裂, $atr\text{ad}21.3$ UV-B处理加剧了对根尖细胞分裂的抑制且畸变率增加, 但35S:RAD21.3 UV-B处理的畸变率变化不大, 推测RAD21.3对细胞分裂有一定的作用可能与UV-B辐射后细胞出现异常分裂有关。

2.6 讨论

真核细胞分裂过程中染色体的准确分离依赖姐妹染色单体内聚力的建立与维持(Chen et al., 2002)。黏着素复合物的主要功能是将DNA拷贝连接在一起并使其不过早分离。RAD21作为黏着素的一个亚基在有丝

分裂和修复双链DNA断裂时将姐妹染色单体结合在一起, 在中期至后期转变时被后期类似Caspase的ESP1分离酶(一种半胱氨酸蛋白酶, 与Caspase有较远的亲缘关系)特异切割, 从而调节姐妹染色单体的分离, 使姐妹染色单体分离到纺锤体的两极(Nasmyth et al., 2000), 并确保染色体与子细胞准确分离(Jallepalli et al., 2001)。

有丝分裂前期, 黏着素通过不依赖于切割的机制从染色体臂上去除, 导致DNA凝聚成离散的染色单体臂, 并留下少量黏着蛋白与着丝粒染色单体结合(Uhlmann et al., 2000; Warren et al., 2000)。中期, RAD21被ESP1裂解导致复合体解聚, 单个姐妹染色单体分开并均匀分配到子细胞中, 由此保证每个子细胞均继承1份基因组的复制本(Uhlmann et al., 1999; Hauf et al., 2001)。后期, 着丝粒上的黏着素被ESP1切割, 触发姐妹染色单体分离(Waizenegger et al., 2000; Hauf et al., 2001)。染色体分离缺陷(Hauf et al., 2001; Rao et al., 2001)以及RAD21分离酶的断裂被多种途径破坏, 均会导致异倍体发生。因此, RAD21作为黏着素蛋白复合体结构完整性的核心,

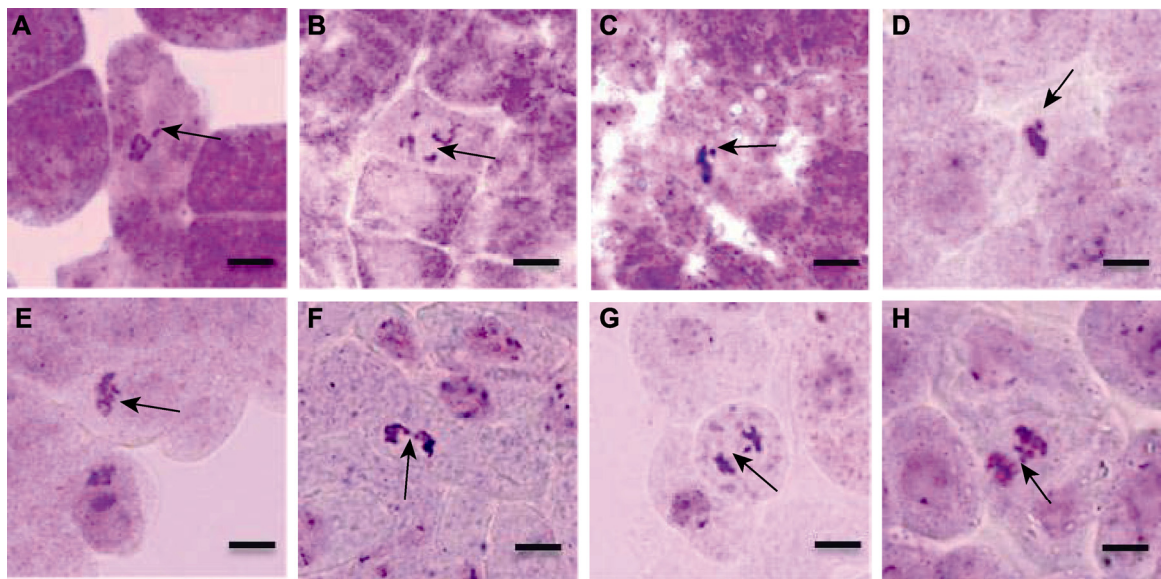


图11 拟南芥根尖染色体畸变的不同类型

(A) 前期不定向(箭头); (B) 前期散乱(箭头); (C) 游离染色体(箭头); (D) 游离染色体(箭头); (E) 后期不对称(箭头); (F) 染色体桥(箭头); (G) 落后染色体(箭头); (H) 落后染色体(箭头)。Bars=20 μm

Figure 11 Different types of chromosome aberration in root tip of *Arabidopsis thaliana*

(A) Unorientation at prophase (arrow); (B) Cofusion at prophase (arrow); (C) Fragments chromosomes (arrow); (D) Fragments chromosomes (arrow); (E) Asymmetric at anaphase (arrow); (F) Chromosome bridge (arrow); (G) Lagging chromosome (arrow); (H) Lagging chromosome (arrow). Bars=20 μm

表1 UV-B辐射对拟南芥有丝分裂的影响

Table1 Effects of the UV-B radiation on mitosis of *Arabidopsis thaliana*

Treatment	Total of observing cells	Total of dividing cells	Total of aberration cells	Percentage of dividing cells (%)	Percentage of chromosomal aberration (%)
WT CK	5390	195	8	3.6±0.202 a	0.148±0.102 c
WT UV-B	5376	166	25	3.08±0.258 c	0.465±0.056 b
<i>atr</i> ad21.3 CK	6998	215	32	3.07±0.195 c	0.457±0.085 b
<i>atr</i> ad21.3 UV-B	7044	194	45	2.75±0.182 d	0.638±0.105 a
35S:RAD21.3 CK	5603	186	7	3.3±0.132 ab	0.125±0.136 c
35S:RAD21.3 UV-B	5536	193	21	3.48±0.129 ab	0.379±0.125 bc

WT: 野生型。同列不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。

WT: Wild type. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among different treatments ($P<0.05$).

在染色体对称及平均分配到子细胞中具有关键作用 (Xu et al., 2014)。

本研究构建了RAD21.3过表达载体, 并通过烟草叶片的瞬时表达和拟南芥转基因植株根尖的观察发现RAD21.3集中在细胞核。设置对照与UV-B处理组, 比较分析了WT UV-B处理与*atr*ad21.3 CK在形态、生理生化及细胞水平的变化。结果表明, WT UV-B处理与*atr*ad21.3 CK的种子萌发率、抽薹时间、株高、MDA浓度、SOD活性、叶绿素和可溶性糖含量均无显著差异, 但*atr*ad21.3 UV-B处理受影响严重, 说明*atr*ad-21.3对UV-B辐射敏感, 35S:RAD21.3对UV-B辐射不敏感。WT UV-B处理和*atr*ad21.3 CK株系在生理生化水平上出现差异, 说明植株的生长受到影响。细胞分裂(包括有丝分裂和减数分裂)是生物体生长繁殖的基础, 推测缺少RAD21.3基因及WT在UV-B处理后, 可能影响了体细胞的有丝分裂。我们进一步在细胞水平进行了观察和统计, 使用RNA测序筛选出部分与细胞周期相关的基因, 进行RT-qPCR检测。结果表明, WT UV-B处理与*atr*ad21.3 CK的CDKA1;1、CDKB2;1、CYCB1;1以及CDC5基因的表达量无显著差异, *atr*ad21.3突变体在UV-B处理后的基因表达量明显降低。碱性品红染色并观察拟南芥根尖的有丝分裂, 统计畸变率, 结果表明RAD21.3基因缺失和UV-B处理均导致拟南芥有丝分裂异常。UV-B处理*atr*ad21.3后的有丝分裂异常现象更加严重。推测可能是RAD21.3基因缺失后, 染色体黏连蛋白缺失, 无法使染色体黏连在一起, 致使染色体过早分离, 且未能正确平均分配到子细胞中, 但具体机制有待进一步探索。

参考文献

陈慧泽, 韩榕 (2015). 植物响应UV-B辐射的研究进展. 植物学报 50, 790–801.

陈建权, 程晨, 张梦恬, 张向前, 张尧, 王爱英, 祝建波 (2018). 天山雪莲*SiSAD*基因与拟南芥*AtFAB2*基因转化烟草的抗寒性分析. 植物学报 53, 603–611.

方荧, 刘凤珍, 张昆, 张秀荣, 朱素青, 赵炎, 万勇善 (2018). UV-B辐射增强影响作物生长发育的研究进展. 山东农业科学 50, 183–188.

韩榕 (2002). He-Ne激光对小麦增强UV-B辐射损伤的修复效应及机理. 博士论文. 西安: 西北大学. pp. 52–55.

李晓阳, 陈慧泽, 韩榕 (2013). UV-B辐射对拟南芥种子萌发和幼苗生长的影响. 植物学报 48, 52–58.

马兰, 黄华孙, 程汉 (2018). 拟南芥突变体*L1.3*的表型分析及遗传定位. 分子植物育种 12, 4023–4028.

王静, 蒋磊, 王艳, 李韶山 (2009). UV-B辐射对拟南芥细胞周期G1/S期转变的影响. 植物学报 44, 426–433.

徐金龙, 梁爽, 郁飞 (2019). 拟南芥细胞周期基因*AtCDC5*的功能研究及抗体制备. 江苏农业学报 35, 26–32.

张亮然 (2006). 水稻RAD21/REC8家族基因的分离与功能分析. 博士论文. 北京: 中国科学院研究生院(植物研究所). pp. 1–3.

张志良, 瞿伟菁, 李小方 (2009). 植物生理学实验指导(第4版). 北京: 高等教育出版社. pp. 54–229.

Björn LO, Callaghan TV, Johnsen I, Lee JA, Manetas Y, Paul ND, Sonesson M, Wellburn AR, Coop D, Heide-Jørgensen HS, Gehrke C, Gwynn-Jones D, Johanson U, Kyprisiss A, Levizou E, Nikolopoulos D, Petropoulou Y, Stephanou M (1997). The effects of

- UV-B radiation on European heathland species. *Plant Ecol* **128**, 253–264.
- Björn OL** (1996). Effects of ozone depletion and increased UV-B on terrestrial ecosystems. *Int J Environ Stud* **51**, 217–243.
- Caldwell MM, Teramura AH, Tevini M, Bornman JF, Björn LO, Kulandaivelu G** (1995). Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial plants. *Ambio* **24**, 166–173.
- Casadevall R, Rodriguez RE, Debernardi JM, Palatnik JF, Casati P** (2013). Repression of growth regulating factors by the microRNA396 inhibits cell proliferation by UV-B radiation in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell* **25**, 3570–3583.
- Čejka C, Ardan T, Širc J, Michálek J, Beneš J, Brůnová B, Rosina J** (2011). Hydration and transparency of the rabbit cornea irradiated with UVB-doses of 0.25 J/cm² and 0.5 J/cm² compared with equivalent UVB radiation exposure reaching the human cornea from sunlight. *Curr Eye Res* **36**, 607–613.
- Chen F, Kamradt M, Mulcahy M, Byun Y, Xu HL, McKay MJ, Cryns VL** (2002). Caspase proteolysis of the cohesin component RAD21 promotes apoptosis. *J Biol Chem* **277**, 16775–16781.
- Da Costa-Nunes JA, Bhatt AM, O'Shea S, West CE, Bray CM, Grossniklaus U, Dickinson HG** (2006). Characterization of the three *Arabidopsis thaliana* RAD21 cohesins reveals differential responses to ionizing radiation. *J Exp Bot* **57**, 971–983.
- Da Costa-Nunes JA, Capitão C, Kozak J, Costa-Nunes P, Ducasa GM, Pontes O, Angelis KJ** (2014). The At-RAD21.1 and AtRAD21.3 *Arabidopsis* cohesins play a synergistic role in somatic DNA double strand break damage repair. *BMC Plant Biol* **14**, 353.
- Frohnmeier H, Staiger D** (2003). Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiol* **133**, 1420–1428.
- Hauf S, Waizenegger C, Peters JM** (2001). Cohesin cleavage by separase required for anaphase and cytokinesis in human cells. *Science* **293**, 1320–1323.
- Hectors K, Jacques E, Prinsen E, Guisez Y, Verbelen JP, Jansen MK, Vissenberg K** (2010). UV radiation reduces epidermal cell expansion in leaves of *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* **61**, 4339–4349.
- Hirano T** (2000). Chromosome cohesion, condensation, and separation. *Annu Rev Biochem* **69**, 115–144.
- Hoque MT, Ishikawa F** (2002). Cohesin defects lead to premature sister chromatid separation, kinetochore dysfunction, and spindle-assembly checkpoint activation. *J Biol Chem* **277**, 42306–42314.
- Jallepalli PV, Waizenegger IC, Bunz F, Langer S, Speicher MR, Peters JM, Kinzler KW, Vogelstein B, Lengauer C** (2001). Securin is required for chromosomal stability in human cells. *Cell* **105**, 445–457.
- Jiang L, Wang Y, Björn LO, Li SS** (2011). UV-B-induced DNA damage mediates expression changes of cell cycle regulatory genes in *Arabidopsis* root tips. *Planta* **233**, 831–841.
- Jiang L, Xia M, Strittmatter LI, Makaroff CA** (2007). The *Arabidopsis* cohesin protein SYN3 localizes to the nucleolus and is essential for gametogenesis. *Plant J* **50**, 1020–1034.
- Liu X, Yue M, Ji QR, He JF** (2013). Effects of ultraviolet-B radiation on primary photophysical process in photosystem II: a fluorescence spectrum analysis. In: Kuang TY, Lu CM, Zhang LX, eds. Photosynthesis Research for Food, Fuel and the Future. Berlin, Heidelberg: Springer. pp. 642–649.
- Losada A** (2007). Cohesin regulation: fashionable ways to wear a ring. *Chromosoma* **116**, 321–329.
- Nasmyth K, Peters JM, Uhlmann F** (2000). Splitting the chromosome: cutting the ties that bind sister chromatids. *Science* **288**, 1379–1384.
- Nogués S, Allen DJ, Morison JL, Baker NR** (1998). Ultraviolet-B radiation effects on water relations, leaf development, and photosynthesis in droughted pea plants. *Plant Physiol* **117**, 173–181.
- Rao H, Uhlmann F, Nasmyth K, Varshavsky A** (2001). Degradation of a cohesin subunit by the N-end rule pathway is essential for chromosome stability. *Nature* **410**, 955–959.
- Robson TM, Klem K, Urban O, Jansen MAK** (2015). Re-interpreting plant morphological responses to UV-B radiation. *Plant Cell Environ* **38**, 856–866.
- Sadano H, Sugimoto H, Sakai F, Nomura N, Osumi T** (2000). NXP-1, a human protein related to Rad21/Sccl/Mcd1, is a component of the nuclear matrix. *Biochem Biophys Res Commun* **267**, 418–422.
- Searles PS, Flint SD, Caldwell MM** (2001). A meta-analysis of plant field studies simulating stratospheric ozone depletion. *Oecologia* **127**, 1–10.
- Skibbens RV** (2009). Establishment of sister chromatid cohesion. *Curr Biol* **19**, R1126–R1132.
- Sugimoto-Shirasu K, Roberts K** (2003). 'Big it up': endoreduplication and cell-size control in plants. *Curr Opin Plant Biol* **6**, 544–553.

- Suzuki G, Nishiuchi C, Tsuru A, Kako E, Li J, Yamamoto M, Mukai Y** (2013). Cellular localization of mitotic RAD21 with repetitive amino acid motifs in *Allium cepa*. *Gene* **514**, 75–81.
- Uhlmann F, Lottspeich F, Nasmyth K** (1999). Sister-chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of the cohesin subunit Scc1. *Nature* **400**, 37–42.
- Uhlmann F, Wernic D, Poupart MA, Koonin EV, Nasmyth K** (2000). Cleavage of cohesin by the CD clan protease separin triggers anaphase in yeast. *Cell* **103**, 375–386.
- Vandenbussche F, Yu N, Li WD, Vanhaelewyn L, Hamshou M, Van Der Straeten D, Smagghe G** (2018). An ultraviolet B condition that affects growth and defense in *Arabidopsis*. *Plant Sci* **268**, 54–63.
- Waizenegger IC, Hauf S, Meinke A, Peters JM** (2000). Two distinct pathways remove mammalian cohesin from chromosome arms in prophase and from centromeres in anaphase. *Cell* **103**, 399–410.
- Warren WD, Steffensen S, Lin E, Coelho P, Loupart ML, Cobbe N, Lee JY, McKay M, Orr-Weaver TL, Heck MMS, Sunkel CE** (2000). The *Drosophila* RAD21 cohesin persists at the centromere region in mitosis. *Curr Biol* **10**, 1463–1466.
- Xu HL, Beasley M, Verschoor S, Inselman A, Handel MA, McKay MJ** (2004). A new role for the mitotic RAD21/SCC1 cohesin in meiotic chromosome cohesion and segregation in the mouse. *EMBO Rep* **5**, 378–384.
- Xu HL, Yan YQ, Deb S, Rangasamy D, Germann M, Malaterre J, Eder NC, Ward RL, Hawkins NJ, Tothill RW, Chen L, Mortensen NJ, Fox SB, McKay MJ, Ramsay RG** (2014). Cohesin rad21 mediates loss of heterozygosity and is upregulated via Wnt promoting transcriptional dysregulation in gastrointestinal tumors. *Cell Rep* **9**, 1781–1797.

Response of *Arabidopsis* Cohesin RAD21 to Cell Division after Enhanced UV-B Radiation

Fangfang He, Huize Chen, Jinlin Feng, Lin Gao, Jiao Niu, Rong Han*

Higher Education Key Laboratory of Plant Molecular and Environmental Stress Response in Shanxi Province, College of Life Sciences, Shanxi Normal University, Linfen 041000, China

Abstract The effect of UV-B radiation on plants is reflected in multiple levels. DNA damage is caused by UV-B radiation, which leads to abnormal mitosis and ultimately affects plant growth and physiological and biochemical processes. RAD21.3 is a subunit of cohesin complex, which is involved in chromosome separation during mitosis. In this paper, Columbia-0 *Arabidopsis thaliana* and *atrad21.3* were used as materials, and the control and UV-B treatment group were set up to analyze the root length, plant height, bolting time, physiological and biochemical parameters of WT, *atrad21.3* and overexpressed transgenic plants. The mitosis of *Arabidopsis* root tip cells was observed by basic fuchsin staining, and the aberration rate was counted. After UV-B treatment of the WT and *atrad21.3* mutants, it was found that the UV-B treated-WT and *atrad21.3* had similar bolting time, plant height and various physiological and biochemical indexes. Through the construction of expression vector, the results showed that RAD21.3 was located in the nucleus. Further observation of mitosis revealed abnormal phenomena such as lagging chromosomes, chromosomes bridge, fragments chromosomes, etc. Statistics show that the aberration rate of the UV-B treated-WT is similar to *atrad21.3*, and the aberration rate of the UV-B treated-*atrad21.3* increases. The above results indicate that RAD21.3 may respond to abnormal mitosis induced by UV-B radiation.

Key words *Arabidopsis thaliana*, *atrad21.3* mutant, UV-B radiation, chromosome, mitosis

He FF, Chen HZ, Feng JL, Gao L, Niu J, Han R (2020). Response of *Arabidopsis* cohesin RAD21 to cell division after enhanced UV-B radiation. *Chin Bull Bot* **55**, 407–420.

* Author for correspondence. E-mail: hhwrsl@163.com

(责任编辑: 孙冬花)