

植物干细胞调控研究新进展

赵中华 南文斌 梁永书 张汉马*

(植物环境适应分子生物学重庆市重点实验室, 重庆师范大学生命科学院, 重庆 401331)

摘要 植物干细胞是植物胚后发育形成各种组织和器官的细胞来源和信号调控中心, 其调控机理是植物学研究的重要内容。过去20多年在模式植物拟南芥中发现了多个干细胞调控因子, 但这些因子间如何相互作用, 尤其是不同调控通路间如何整合是未来植物学研究需要解决的关键问题。该文简要介绍了近期以WUSCHEL-RELATED HOMEBOX(WOX)家族蛋白为中心开展的有关植物干细胞调控因子间相互作用的一些新的研究进展, 并对未来该研究领域的发展进行了展望。

关键词 植物干细胞; 调控机理; WOX

Recent Advances in Studying the Regulatory Network of Plant Stem Cells

Zhao Zhonghua, Nan Wenbin, Liang Yongshu, Zhang Hanma*

(Chongqing Key Laboratory of Molecular Adaptations of Plants, College of Life Science, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract Stem cells in plants are the ultimate source of cells and also the signaling centre of the postembryonic development of various tissues and organs. Their regulation is a key area in plant science research. Studies in the model plant *Arabidopsis* in the past two decades have discovered many key regulators of plant stem cells, but how these factors interact, in particular how the different regulatory pathways integrate is a key question for future plant science studies. In this article, we briefly summarized some recent progresses in studying the interactions of plant stem cell regulators, with WUSCHEL-RELATED HOMEBOX (WOX) proteins at the center of focus, and discuss the possible directions for future research in this area.

Keywords plant stem cell; regulation mechanism; WOX

植物与动物在发育学上的显著差异是植物能在其整个生命周期内不断发育和形成新器官, 这是植物克服自身不能移动、适应环境变化的重要机制^[1]。有些植物可以存活几百甚至上千年, 它们之所以具有如此顽强的生命力, 是因为其体内终生保留着不同类型的干细胞^[2]。这些干细胞位于各器官的特定部位, 如茎尖生长点、根尖生长点和维管形成层等, 能通过细胞分裂自我更新以及为器官的生长发育提供细

胞来源^[3-4]。过去二十多年以拟南芥为材料对植物干细胞的调控机理进行了较为系统的研究, 并已发现多条调控通路^[2,5-9]。本文将WUSCHEL-RELATED HOMEBOX(WOX)家族蛋白与CLAVATA3(CLV3)/ENDOSPERM SURROUNDING REGION(CLE)多肽构成的调控通路为中心, 系统介绍该调控通路在茎尖、根尖、维管束干细胞调控中的作用以及它们与其他干细胞调控通路间整合方面的一些新进展, 并

收稿日期: 2015-01-15 接受日期: 2015-04-07

973计划前期研究专项(批准号: 2014CB160306)、重庆市教委创新团队建设基金(批准号: KJTD201307)和重庆师范大学引进人才启动基金项目(批准号: 12XLR36)资助的课题

*通讯作者。Tel: 023-65912976, E-mail: hanmazhang@126.com

Received: January 15, 2015 Accepted: April 7, 2015

This work was supported by the National Grand Fundamental Research Pre-973 Program of China (Grant No.2014CB160306), the Innovation Team Fund of the Education Department of Chongqing Municipality (Grant No.KJTD201307) and a Start-Up Fund from Chongqing Normal University (Grant No.12XLR36)

*Corresponding author. Tel: +86-23-65912976, E-mail: hanmazhang@126.com

网络出版时间: 2015-07-01 16:53

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150701.1653.001.html>

对未来该研究领域的发展进行展望。

1 WOX蛋白家族

WOX蛋白家族属于同源异型域转录因子家族,其成员均含有1个由60个氨基酸构成的能与DNA特异结合的“螺旋-转角-螺旋”(helix-turn-helix, HTH)同源异型域^[10]。该类蛋白普遍存在于动植物中,包括WOX、HD-Zip、KNOX、PHD、BELL和ZF-HD六个亚家族^[11-13],其中,WOX蛋白为植物所特有,均含有与WUSCHEL(WUS)蛋白相似的DNA结合域^[14]。拟南芥基因组中WOX家族基因有15个成员,分别为WUS和WOX1~14^[11]。WOX蛋白的作用非常广泛,其功能涉及胚胎发育、干细胞维持、植物生长、种子形成和离体组织器官再生等植物生长发育过程^[10-14](表1),目前它对干细胞调控的作用研究得最为清楚^[15]。

2 茎尖干细胞调控通路

茎尖分生组织位于茎的顶端,呈圆柱状,由中央圆顶状的中心区、中心区两侧的外周区及中心区

下方的组织中心三部分组成。茎尖干细胞存在于茎尖分生组织内,它的维持是植物地上部分持续生长发育的关键,近年来对其调控机理已经有了较为深入的研究,并已发现WUS-CLV3调控通路及它与激素、HECATE(HEC)、HAIRY MERISTEM(HAM)等之间构成的复杂调控网络^[5,8,32-34](图1A)。

2.1 WUS-CLV3反馈调控通路

WUS是WOX家族蛋白中最早被发现的成员,是茎尖干细胞维持的主要调控因子。它能与另一重要调控因子CLV3形成一个反馈调控通路^[5,35]。在蛋白功能上,CLV3与WUS的作用相反,WUS促进干细胞特性的维持,缺失其功能导致茎尖干细胞丧失,而其过量表达则引起茎尖干细胞数量增加;相反CLV3功能缺失则导致茎尖分生区膨大和茎尖干细胞数量增加。在基因表达模式上,WUS与CLV3的主要表达区相邻但不重叠,WUS主要在组织中心表达,而CLV3则主要在中心区表达^[2,5,8-9]。WUS蛋白能从组织中心向中心区移动,并在中心区促进CLV3表达;而CLV3则能限制WUS的表达量和表达区向中心区的扩展,从

表1 拟南芥WOX家族基因的表达模式及功能(根据参考文献[10]修改)

Table 1 The expression pattern and function of WOX family genes in *Arabidopsis* (modified from reference [10])

基因名 Gene names	表达模式 Expression pattern	功能 Function	参考文献 References
WUS	Shoot apical meristem, ovule, inflorescence	Shoot stem cell maintenance, ovule and inflorescence development	[5,12,15]
WOX1	Lateral organ primordia, inflorescence	Lateral organ formation and inflorescence development	[12,16-17]
WOX2	Apical embryo domain, leaf primordia	Embryo patterning, leaf development	[18-21]
WOX3	Peripheral regions of the shoot apical meristem, inflorescence	Lateral organ and inflorescence development	[12,17,22]
WOX4	Vascular procambium	Vascular stem cell maintenance and development	[23-26]
WOX5	Root apical meristem	Root stem cell maintenance	[6,27]
WOX6	Female gametophyte, ovule	Ovule development, prevents primordia differentiation	[28]
WOX7	Unknown	Unknown	
WOX8	Basal embryo domain	Embryo patterning development	[18-21]
WOX9	Basal embryo domain, inflorescence	Embryo patterning and inflorescence development	[12,19,21]
WOX10	Unknown	Unknown	
WOX11	Wounded or detached plant tissues or organs	<i>De novo</i> organogenesis	[29]
WOX12	Wounded or detached plant tissues or organs	<i>De novo</i> organogenesis	[29]
WOX13	Root, inflorescence	Replum formation and root development	[30]
WOX14	Vascular procambium	Vascular stem cell maintenance and development	[31]

而限制茎尖干细胞的数量^[36-37]。*WUS*与*CLV3*之间的反馈调控需要*CLV1*、*CLV2/CORYNE(CRN)*等蛋白的参与^[38-39]。此外, *WUS*蛋白的移动也是影响该调控通路的重要因素。最近的研究发现, *WUS*蛋白的移动可能是通过胞间连丝实现的^[40], *Daum*等^[41]在茎尖干细胞区过量表达胼胝质合成酶造成胞间连丝部分堵塞后, 发现*WUS*蛋白的移动受到限制, 并因此引起茎尖干细胞丧失。此外, 该研究还发现, *WUS*蛋白的移动需要Homeodomain(HD)等结构域的参与, 而HD与*WUS-Box*之间非保守序列则能使*WUS*蛋白形成同源二聚体, 进而调控*WUS*蛋白的移动^[41]。

2.2 WUS调控通路及激素的相互作用

细胞分裂素是参与茎尖干细胞调控的重要因素, 已有大量证据表明, 它与*WUS*蛋白之间存在相互调控作用^[42]。一方面, 细胞分裂素在茎尖生长点组织中心累积, 促进*WUS*基因在该区域的表达; 另一方面, *WUS*能够抑制细胞分裂素信号负调控基因*Arabidopsis RESPONSE REGULATOR7/15(ARR7/15)*的表达, 由此促进细胞分裂素信号的接收与传导^[5,40]。此外, 生长素作为重要的植物激素, 通过正调控生长素相应因子*MONOPTEROS(MP)*的转录进而抑制*ARR7/15*的表达, 参与到*WUS*-细胞分裂素信号调控通路中^[32,43]。

2.3 WUS调控通路及HEC蛋白的相互作用

HEC蛋白是bHLH(basic helix-loop-helix)转录因子家族中的一个亚家族, 在拟南芥中有3个成员(*HEC1*、*HEC2*和*HEC3*), 且它们在功能上是冗余的^[33]。早期研究显示, *HEC1*与属于另一亚家族的*SPATULA(SPT)*蛋白结合形成复合体, 在雌性生殖器官包括柱头、花柱、隔膜的发育调控中发挥作用^[44]。最近研究发现, *HEC*蛋白具有调控茎尖干细胞分裂与分化平衡的功能, 但缺失单个*HEC*基因对茎尖干细胞维持无明显影响, *hec1/hec2/hec3*三突变体则呈现茎尖分生组织明显减小, 茎尖器官发育异常的表型。进一步研究发现, *hec1/hec2/hec3*三突变体茎尖*WUS*表达量下降, 而*CLV3*表达量上升且表达区域扩大, 这说明*HEC*蛋白能参与调控*WUS*和*CLV3*基因的表达^[32-33]。此外, 表达谱分析发现了80个受*HEC1*和*WUS*共同调控的基因, 它们对其中68个基因的调控方向呈相反趋势^[32]。由于*WUS*与*HEC1*在靶基因上的高度重叠, 因此推测, 它们可能作用于同一调控通路; 而相反的调控方向表明, 它们在功能上相互拮抗。值得一提的是, *WUS*与*HEC1*共同

调控的基因有参与细胞分裂素信号的基因(如*ARR7/ARR15*)。因此, *HEC1*和*WUS*可能是通过影响细胞分裂素信号的传导实现对茎尖干细胞的调控^[32-33]。

2.4 WUS与HAM蛋白结合形成调控复合体

*HAM*家族蛋白在植物发育调控中的重要作用早在上世纪90年代就有报道^[45], 但它们在干细胞调控中的作用直到最近才阐明^[34]。*HAM*属于植物特有的GRAS家族转录因子中的一个亚家族^[46], 在拟南芥中有4个成员, 分别为*HAM1(At2g45160)*、*HAM2(At3g60630)*、*HAM3(At4g00150)*、*HAM4(At4g36710)*^[45]。*HAM1*、*HAM2*、*HAM3*在茎尖及幼叶中均有表达^[47]。突变体缺失单个*HAM*基因的功能在茎尖干细胞调控方面无明显表型, 但*hec1/hec2/hec3*和*ham1/ham2/ham4*三突变体中均出现茎尖干细胞发育异常: 茎尖分生区呈现扁平形, 宽度增加、细胞层数增多、叶原基形成终止、干细胞活性丧失等表型^[34,48-49], 表明*HAM*基因在功能上冗余。*HAM*与*WUS*调控通路间的相互作用表现在两个层面。在转录层面, *HAM*对*CLV3*基因的表达区有调控作用^[34,48], *hec1/hec2/hec3*突变体中*WUS*的表达量与表达区与野生型中相似, 但*CLV3*的主要表达区从中心区转移到组织中心的*WUS*表达区^[34,48]。在蛋白层面, *Zhou*等^[50]发现, *WUS*能与*HAM*家族蛋白相互作用。他们用酵母双杂交、Pull-down、双分子荧光互补、免疫共沉淀实验发现, *WUS*与*HAM*家族的四个成员间具有蛋白相互作用, 且该相互作用与茎尖干细胞调控密切相关。*wus7/ham1/ham2/ham3*、*wus-1/ham1/ham2/ham3*及*ham1/ham2/ham3/ham4*四突变体的表型与*wus*单突变体相似, 说明*WUS*和*HAM*蛋白功能上有相互依赖关系^[50]。此外, *WUS*与*HAM*在靶基因上出现重叠, *WUS*与*HAM1*、*HAM2*在茎尖分生组织中的组织中心共表达, 这些证据都与*WUS*和*HAM*蛋白作用于同一调控通路的结论相吻合。*Zhou*等^[50]还查明, *WUS*蛋白中与*HAM1*结合所需要的区段位于C-端第203~236氨基酸之间。

3 根尖干细胞调控通路

根尖干细胞位于根尖生长点内, 包括静止中心(quiescent center, QC)和围绕它们的一圈组织原基细胞。QC对其外围干细胞的特性、分裂与分化活动具有直接的调控作用, 这些干细胞能通过细胞分裂和分化为根的持续生长发育提供细胞

来源^[6]。根尖由于结构简单、细胞数目少且透明度高而成为研究干细胞调控的理想材料^[11]。如图1B所示,近年来对拟南芥根尖干细胞调控机理的研究发现了WOX5-ARABIDOPSIS CRINKLY4(ACR4)-CLAVATA3/ESR-RELATED40(CLE40)调控通路及与它相关联的SHORTROOT(SHR)/SCARECROW(SCR)-RETINOBLASTOMA-RELATED(RBR)、AUXIN-TYOSYLPROTEIN SULFOTRANSFERASE(TPST)-PLETHORA(PLT)等调控通路构成的网络^[27,51-54]。

3.1 WOX5-ACR4-CLE40调控通路

WOX5是WOX蛋白家族成员,是根尖干细胞的重要调控因子,它只在根尖生长点的静止中心表达。WOX5功能缺失引起柱干细胞分化、根冠细胞不规则分裂^[6]。在茎尖和根尖,WOX5与WUS的功能可以互换^[27]。在根尖干细胞调控中WOX5与CLE家族成员CLE40形成一个类似于茎尖WUS-CLV3的调控通路。CLE40主要在已分化的柱细胞中表达,然后通过扩散进入上方的柱干细胞,并在该处与其受体激酶ACR4结合,进而抑制WOX5的表达^[55-56]。CLE40或ACR4的缺失突变体均具有短根、根冠细胞分化延迟以及分裂不规则的表型;而CLE40过量表达则导致柱干细胞分化以及WOX5的表达区域向近端分生组织移动^[55-57]。

3.2 WOX5调控通路与其他调控因子的相互作用

最近,Zhou等^[50]用Pull-down和免疫共沉淀等手段证实了WOX5与HAM2蛋白间具有相互作用,并且表达分析证明HAM2与WOX5在QC中共表达。*ham1/ham2/ham3*三突变体呈现短根、柱干细胞分化等表型^[34,48],这说明WOX5与HAM的相互作用可能是参与根尖生长点干细胞调控的重要机制。

SHR和SCR是两个重要的调控根径向模式的GRAS家族转录因子^[58],SHR基因在中柱表达,其蛋白质可进入内皮层、QC和皮层/内皮层起始细胞(cortex/endodermal initial, CEI)^[59-62]。*shr*与*scr*突变体呈现QC特性消失、干细胞分化、CEI的子细胞不发生不对称平周分裂的表型^[63-64]。另外,*shr*或*scr*突变体中WOX5的表达几乎消失,表明WOX5基因的表达需要SHR/SCR的参与^[27]。遗传分析发现,SCR对RETINOBLASTOMA(RB)家族蛋白RBR的表达具有调控作用^[53-54];而在动物细胞中,RB负责调控细胞从G₁期进入S期^[65],因此,WOX5可以通过与SHR/SCR的调控关系进而与细胞周期联系起来。此外,

最近研究发现,在QC中WOX5直接下调细胞周期调控基因CYCD3:3的表达,从而抑制QC细胞分裂^[66]。PLEIOTROPIC REGULATORY LOCUS1(PRL1)是一个含WD40重复序列的蛋白,缺失该蛋白导致根尖静止中心细胞的排列紊乱,根尖干细胞提前分化以及细胞分裂活性阻滞。遗传分析显示,PRL1在根尖生长点干细胞中的作用机理可能是促进WOX5在QC中的特异表达^[67]。

生长素是参与根尖干细胞调控的重要激素,它通过极性运输和局部合成在根尖生长点干细胞区累积,由此决定该区域细胞的干细胞特性^[68-69]。研究发现,WOX5在QC中能促进生长素的合成,而后者则反过来通过上调INDOLE-3-ACETIC ACID 17(IAA17)基因的转录,从而反馈抑制WOX5的功能^[70],这一发现将WOX5与多个其他根尖干细胞调控因子联系起来形成调控网络,如PLT、TPST等^[51,69,71]。PLT1和PLT2属于AP2/EREBP转录因子家族,拟南芥*plt1/plt2*双突变体呈现短根、干细胞分化等表型^[51,69,71]。酪蛋白磺基转移酶TPST通过对ROOT GROWTH REGULATOR(RGR)的修饰作用影响根尖生长点功能和根尖干细胞维持,另有研究发现,TPST参与了生长素对PLT2基因表达的过程^[52]。因此,通过与生长素的调控关系,WOX5与AUXIN-TPST-PLT调控通路间实现了连接。

4 维管束干细胞调控通路

陆生植物均具有维管系统,维管系统的发育受维管束干细胞的调控,维管束干细胞通常也被称为原形成层细胞和形成层细胞,它们分别调控维管组织的初生生长和次生生长,源源不断地为植物维管组织的生长提供新细胞。维管系统起到运输、支撑和连接不同组织器官的作用,其中木质部主要负责运输水分和矿物质,而韧皮部则主要负责运输光合产物和信号分子^[7,23-25,72]。目前研究已发现了几条调控维管束干细胞发育、维持和分化的通路(图1C),但是它们之间还有待进一步的联系和整合。

4.1 WOX4-TIDF-PXY调控通路

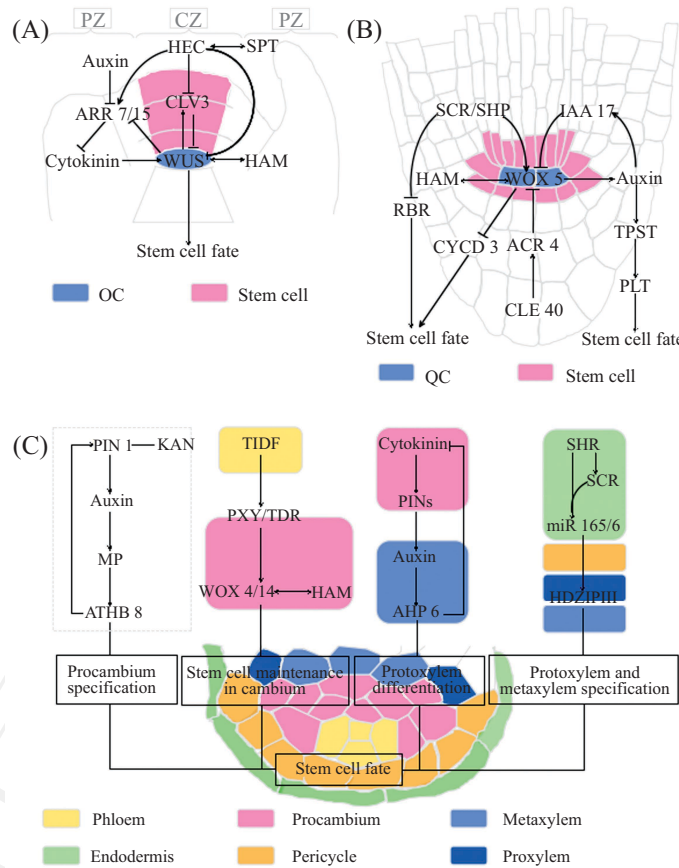
与茎尖和根尖干细胞调控情形相似,微管束干细胞也受到WOX-CLE信号通路的调控。目前已知,参与维管束干细胞调控的WOX家族蛋白成员有WOX4和WOX14^[23,31],CLE家族蛋白成员有CLE41和CLE44^[24]。WOX4基因在多个器官的维管原形成

层中表达, 用RNAi技术下调WOX4基因表达后, 出现多层未分化的基本组织层和极少量的可分化成木质部和韧皮部的原形成层细胞, 并引起韧皮部发育标记基因ALYTERED PHLOEM1(APL1)和Arabidopsis thaliana HOMEBOX GENE8(ATHB8)在维管原形成层的表达延迟及表达量的下降^[23,72]。另外, 有研究显示, WOX蛋白家族的另一成员WOX14也能参与维管束干细胞的维持, 并与WOX4存在功能上的冗余^[31]。CLE41/CLE44(又名TRACHEARY ELEMENT DIFFERENTIATION INHIBITORY FACTORS或TIDF)在韧皮部表达, 扩散到维管形成层与其受体激酶PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM(PXY)/TDIF RECEPTOR/PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM(TDR)结合形成复合体, 共同促进WOX4基因

在维管束干细胞的表达^[7,25]。

4.2 其他维管束干细胞调控通路

HAM家族蛋白HAM4与WOX4间存在蛋白相互作用, 并且能在各组织的原形成层中共表达。另外, ham1/ham2/ham3/ham4四突变体的维管束发育也存在缺陷, 木质部、韧皮部干细胞活性降低、数目减少、未分化基本组织细胞比例较高, 这些表型与WOX4基因的RNAi株系相似^[23,50]。以上研究结果表明, HAM4与WOX4蛋白的相互作用在维管束干细胞调控中具有重要作用。另有研究发现, 在pxy/wox4突变体中受体激酶PXY-CORRELATED1(PXC1)的转录显著增加, 说明它与WOX4调控通路相关联, 并参与调控次生木质部细胞壁的增厚, 但其配体以及作用机理尚不清楚^[26]。除此之外, 目前尚未发现



A: 植物茎尖干细胞调控网络。图示WUS-CLV3调控通路与其他茎尖干细胞调控因子间的整合。PZ: 外周区; CZ: 中心区; OC: 组织中心; QC: 静止中心; B: 植物根尖干细胞调控网络。图示WOX5-ACR4-CLE40调控通路及与它相关联的调控因子整合所形成的调控网络; C: 植物维管束干细胞调控网络。图示AUXIN-MP-ATHB8-PIN1、TIDF-PXY/TDR-WOX4/14、Cytokinin-PINs-AUXIN-AHP6和SHR/SCR-miR65/6-HDZ1PIII等调控通路间整合所形成的调控网络。

A: the regulatory network of stem cells in SAM, showing the integration between the WUS-CLV3 pathway and other SAM stem cell regulators; CZ: central zone; OC: organizing centre; QC: quiescent center; B: the regulatory network of stem cells in RAM, showing the integration between the WOX5-ACR4-CLE40 pathway and other related RAM stem cell regulators; C: the regulation network of plant stem cells in vascular procambium, showing the integration of different regulatory pathways.

图1 植物茎尖、根尖及维管束干细胞调控网络

Fig.1 The regulation network of plant stem cells in shoot apical meristem, root apical meristem and vascular procambium

其他与WOX4-TIDF-PXY通路有联系的调控因子。

近年来, 分子生物学及遗传学研究揭示了几条维管束干细胞发育及分化的调控通路, 如在拟南芥胚胎发育阶段, 生长素和转录因子共同调控维管束干细胞的形成, 原形成层前体细胞中生长素正调控生长素响应因子MP的表达, MP直接激活一个III类同源域亮氨酸拉链转录因子HD-ZIP III家族基因ATHB8的表达, 此后ATHB8基因通过诱导生长素输出载体PIN-FORMED 1(PIN 1)基因转录, 进而正反馈调控维管束干细胞的形成^[73]。另有研究证实, GARP家族转录因子KANADI(KAN)也参与了维管束干细胞形成的调控, 并通过负调控PIN 1表达, 呈现出与HD-ZIP III拮抗的效应^[74]。综上所述, HD-ZIP III和KAN基因主要通过调控“生长素-MP-PIN 1”通路从而促进维管束干细胞的形成^[7,72]。除生长素外, 细胞分裂素也参与了维管束干细胞的调控, 如在胚后发育阶段的根维管组织中, 细胞分裂素信号诱导PIN蛋白在原生木质部的外周分布使生长素在维管组织的中部积累, 并达到浓度最大值。高浓度的生长素促进ARABIDOPSIS HISTIDINE PHOSPHOTRANSFER PROTEIN 6(AHP6)的表达, 但是AHP6的表达反过来又能抑制细胞分裂素信号, 即生长素与细胞分裂素通过构成反馈调节进而调控原生木质部的形成^[75]。此外, 在根尖干细胞调控中起关键作用的转录因子SHR/SCR也参与调控维管束木质部的分化, SHR蛋白从维管束移动到内皮层与SCR蛋白共同作用活化miR165/166的转录, 随后miR165/166从内皮层向维管束移动, 并且降解其靶基因HD-ZIP III的mRNA, 使后者形成一个浓度梯度进而调控木质部的分化方向, 低浓度的HD-ZIP III促进原生木质部的形成, 高浓度的HD-ZIP III则促进后生木质部形成^[76]。

5 展望

干细胞调控机理是植物学研究的热点之一, 近年来通过遗传学、现代分子生物学等方法发现了很多参与植物干细胞调控的因子, 其中包括植物激素及其信号响应因子、转录调控因子、小分子多肽、修饰蛋白等^[2-4]。但是这些调控因子以及它们所在的调控通路之间如何协调目前仍知之甚少。本文围绕植物干细胞调控网络中的核心因子WOX家族蛋白, 综述了近期研究发现及其相关的一些重要进展,

如WUS与HEC1蛋白在植物茎尖干细胞调控中的拮抗作用, WOX与HAM蛋白家族之间的直接结合等。这些研究成果将不同的干细胞调控因子整合到同一调控网络, 为整合植物干细胞调控网络提供了重要的证据支持。同时, 这些研究进展也引出了一些有待进一步探究的问题, 如在茎尖干细胞调控中HEC1与HAM蛋白之间是否相互作用, 细胞分裂素信号传导是否位于WUS-HAM蛋白调控复合体的下游等。目前有关上述相互作用与植物干细胞调控之间联系的证据主要来自于对茎尖干细胞调控的研究, 虽然有一些证据表明这些相互作用可能在根尖和维管束干细胞调控中也很重要, 但要证明这一点仍需更加直接的证据, 如在不同类型的干细胞的调控中参与相互作用的具体WOX、HEC或HAM蛋白家族成员, 相互作用的确切位点及其空间构型, 编码基因间的相互作用等。此外, 不同干细胞类型中特有的调控因子如何与WOX蛋白及其所在的调控通路间相互作用也有待进一步明确, 如在根尖干细胞调控中WOX5与其特有的调控因子PLT、SHR、SCR、RBR等之间如何连接目前尚不清楚, 有待进一步阐明。另外, 已知干细胞调控因子、调控通路在细胞水平如何实现调控是植物干细胞研究中一个比较薄弱的环节, 有待进一步加强。总之, 植物干细胞调控通路间的整合无论在分子、细胞以及器官层面都还有大量的工作要做, 近期的这些研究进展为今后的研究提供了重要的思路与框架。

参考文献 (References)

- 1 Heidstra R, Sabatini S. Plant and animal stem cells: Similar yet different. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(5): 301-12.
- 2 Zhang W, Yu R. Molecule mechanism of stem cells in *Arabidopsis thaliana*. *Pharmacogn Rev* 2014; 8(16): 105-12.
- 3 Stahl Y, Simon R. Plant stem cell niches. *Int J Dev Biol* 2005; 49(5/6): 479.
- 4 Aichinger E, Kornet N, Friedrich T, Laux T. Plant stem cell niches. *Annu Rev Plant Biol* 2012; 63: 615-36.
- 5 Perales M, Reddy GV. Stem cell maintenance in shoot apical meristems. *Curr Opin Plant Biol* 2012; 15(1): 10-6.
- 6 Stahl Y, Wink RH, Ingram GC, Simon R. A signaling module controlling the stem cell niche in *Arabidopsis* root meristems. *Curr Biol* 2009; 19(11): 909-14.
- 7 Miyashima S, Sebastian J, Lee JY, Helariutta Y. Stem cell function during plant vascular development. *EMBO J* 2013; 32(2): 178-93.
- 8 Liu CM, Hu YX. Plant stem cells and their regulations in shoot apical meristems. *Front Biol* 2010; 5(5): 417-23.
- 9 Fiers M, Ku KL, Liu CM. CLE peptide ligands and their roles in establishing meristems. *Curr Opin Plant Biol* 2007; 10(1): 39-43.

- 10 van der Graaff E, Laux T, Rensing SA. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family. *Genome Biol* 2009; 10(12): 248.
- 11 Haecker A, Gross-Hardt R, Geiges B, Sarkar A, Breuninger H, Herrmann M, *et al.* Expression dynamics of WOX genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 2004; 131(3): 657-68.
- 12 Costanzo E, Trehin C, Vandenbussche M. The role of WOX genes in flower development. *Ann Bot* 2014; 114(7): 1545-53.
- 13 Ariel FD, Manavella PA, Dezar CA, Chan RL. The true story of the HD-Zip family. *Trends Plant Sci* 2007; 12(9): 419-26.
- 14 Ikeda M, Mitsuda N, Ohme-Takagi M. *Arabidopsis* WUSCHEL is a bifunctional transcription factor that acts as a repressor in stem cell regulation and as an activator in floral patterning. *Plant Cell* 2009; 21(11): 3493-505.
- 15 Mayer KF, Schoof H, Haecker A, Lenhard M, Jürgens G, Laux T. Role of WUSCHEL in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem. *Cell* 1998; 95(6): 805-15.
- 16 Vandenbussche M, Horstman A, Zethof J, Koes R, Rijpkema AS, Gerats T. Differential recruitment of WOX transcription factors for lateral development and organ fusion in *Petunia* and *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2009; 21(8): 2269-83.
- 17 Nakata M, Matsumoto N, Tsugeki R, Rikirsch E, Laux T, Okada K. Roles of the middle domain-specific WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN genes in early development of leaves in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2012; 24(2): 519-35.
- 18 Lie C, Kelsom C, Wu X. WOX2 and STIMPY-LIKE/WOX8 promote cotyledon boundary formation in *Arabidopsis*. *Plant J* 2012; 72(4): 674-82.
- 19 Ueda M, Zhang Z, Laux T. Transcriptional activation of *Arabidopsis* axis patterning genes WOX8/9 links zygote polarity to embryo development. *Dev Cell* 2011; 20(2): 264-70.
- 20 Breuninger H, Rikirsch E, Herrmann M, Ueda M, Laux T. Differential expression of WOX genes mediates apical-basal axis formation in the *Arabidopsis* embryo. *Dev Cell* 2008; 14(6): 867-76.
- 21 Wu X, Chory J, Weigel D. Combinations of WOX activities regulate tissue proliferation during *Arabidopsis* embryonic development. *Dev Biol* 2007; 309(2): 306-16.
- 22 Shimizu R, Ji J, Kelsey E, Ohtsu K, Schnable PS, Scanlon MJ. Tissue specificity and evolution of meristematic WOX3 function. *Plant Physiol* 2009; 149(2): 841-50.
- 23 Ji J, Strable J, Shimizu R, Koenig D, Sinha N, Scanlon MJ. WOX4 promotes procambial development. *Plant Physiol* 2010; 152(3): 1346-56.
- 24 Qiang Y, Wu J, Han H, Wang G. CLE peptides in vascular development. *J Integr Plant Biol* 2013; 55(4): 389-94.
- 25 Hirakawa Y, Kondo Y, Fukuda H. TDIF peptide signaling regulates vascular stem cell proliferation via the WOX4 homeobox gene in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2010; 22(8): 2618-29.
- 26 Wang J, Kucukoglu M, Zhang L, Chen P, Decker D, Nilsson O, *et al.* The *Arabidopsis* LRR-RLK, PXC1, is a regulator of secondary wall formation correlated with the TDIF-PXY/TDR-WOX4 signaling pathway. *BMC Plant Biol* 2013; 13: 94.
- 27 Sarkar AK, Luijten M, Miyashima S, Lenhard M, Hashimoto T, Nakajima K, *et al.* Conserved factors regulate signalling in *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers. *Nature* 2007; 446(7137): 811-4.
- 28 Park SO, Zheng Z, Oppenheimer DG, Hauser BA. The PRETTY FEW SEEDS2 gene encodes an *Arabidopsis* homeodomain protein that regulates ovule development. *Development* 2005; 132(4): 841-9.
- 29 Liu J, Sheng L, Xu Y, Li J, Yang Z, Huang H, *et al.* WOX11 and 12 are involved in the first-step cell fate transition during *de novo* root organogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2014; 26(3): 1081-93.
- 30 Romera BM, Ripoll JJ, Yanofsky MF, Pelaz S. The WOX13 homeobox gene promotes replum formation in the *Arabidopsis thaliana* fruit. *Plant J* 2012; 73(1): 37-49.
- 31 Etchells JP, Provost CM, Mishra L, Turner SR. WOX4 and WOX14 act downstream of the PXY receptor kinase to regulate plant vascular proliferation independently of any role in vascular organisation. *Development* 2013; 140(10): 2224-34.
- 32 Schuster C, Gaillochet C, Medzihradsky A, Busch W, Daum G, Krebs M, *et al.* A regulatory framework for shoot stem cell control integrating metabolic, transcriptional and phytohormone signals. *Dev Cell* 2014; 28(4): 438-49.
- 33 Sparks EE, Benfey PN. HEC of a job regulating stem cells. *Dev Cell* 2014; 28(4): 349-50.
- 34 Engstrom EM. HAM proteins promote organ indeterminacy But how? *Plant Signal Behav* 2012; 7(2): 227-34.
- 35 Schoof H, Lenhard M, Haecker A, Mayer KF, Jürgens G, Laux T. The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the CLAVATA and WUSCHEL genes. *Cell* 2000; 100(6): 635-44.
- 36 Ikeda M, Takagi MO. TCPs WUSs and WINDs: Families of transcription factors that regulate shoot meristem formation, stem cell maintenance, and somatic cell differentiation. *Front Plant Sci* 2014; 5: 427.
- 37 Brand U, Fletcher JC, Hobe M, Meyerowitz EM, Simon R. Dependence of stem cell fate in *Arabidopsis* on a feedback loop regulated by CLV3 activity. *Science* 2000; 289(5479): 617-9.
- 38 Ogawa M, Shinohara H, Sakagami Y, Matsubayashi Y. *Arabidopsis* CLV3 peptide directly binds CLV1 ectodomain. *Science* 2008; 319(5861): 294.
- 39 Zhu Y, Wang Y, Li R, Song X, Wang Q, Huang S, *et al.* Analysis of interactions among the CLAVATA3 receptors reveals a direct interaction between CLAVATA2 and CORYNE in *Arabidopsis*. *Plant J* 2010; 61(2): 223-33.
- 40 Yadav RK, Perales M, Gruel J, Girke T, Jönsson H, Reddy GV. WUSCHEL protein movement mediates stem cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex. *Genes Dev* 2011; 25(19): 2025-30.
- 41 Daum G, Medzihradsky A, Suzuki T, Lohmann JU. A mechanistic framework for noncell autonomous stem cell induction in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(40): 14619-24.
- 42 Leibfried A, To JP, Busch W, Stehling S, Kehle A, Demar M, *et al.* WUSCHEL controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators. *Nature* 2005; 438(7071): 1172-5.
- 43 Zhao Z, Andersen SU, Ljung K, Dolezal K, Miotk A, Schultheiss SJ, *et al.* Hormonal control of the shoot stem-cell niche. *Nature* 2010; 465(7301): 1089-92.
- 44 Gremski K, Ditta G, Yanofsky MF. The HECATE genes regulate female reproductive tract development in *Arabidopsis thaliana*.

- Development 2007; 134(20): 3593-601.
- 45 Stuurman J, Jäggi F, Kuhlemeier C. Shoot meristem maintenance is controlled by a *GRAS*-gene mediated signal from differentiating cells. *Genes Dev* 2002; 16(17): 2213-8.
- 46 Tian C, Wan P, Sun S, Li J, Chen M. Genome-wide analysis of the GRAS gene family in rice and *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* 2004; 54(4): 519-32.
- 47 Wang L, Mai YX, Zhang YC, Luo Q, Yang HQ. MicroRNA171c-targeted SCL6-II, SCL6-III, and SCL6-IV genes regulate shoot branching in *Arabidopsis*. *Mol Plant* 2010; 3(5): 794-806.
- 48 Engstrom EM, Andersen CM, Gumulak Smith J, Hu J, Orlova E, Sozzani R, *et al.* *Arabidopsis* homologs of the petunia hairy meristem gene are required for maintenance of shoot and root indeterminacy. *Plant Physiol* 2011; 155(2): 735-50.
- 49 Schulze S, Schäfer BN, Parizotto EA, Voinnet O, Theres K. LOST MERISTEMS genes regulate cell differentiation of central zone descendants in *Arabidopsis* shoot meristems. *Plant J* 2010; 64(4): 668-78.
- 50 Zhou Y, Liu X, Engstrom EM, Nimchuk ZL, Prunedo-Paz JL, Tarr PT, *et al.* Control of plant stem cell function by conserved interacting transcriptional regulators. *Nature* 2014; 517(7534): 377-80.
- 51 Galinha C, Hofhuis H, Luijten M, Willemsen V, Blilou I, Heidstra R, *et al.* PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of *Arabidopsis* root development. *Nature* 2007; 449(7165): 1053-7.
- 52 Zhou W, Wei L, Xu J, Zhai Q, Jiang H, Chen R, *et al.* *Arabidopsis* tyrosylprotein sulfotransferase acts in the auxin/PLETHORA pathway in regulating postembryonic maintenance of the root stem cell niche. *Plant Cell* 2010; 22(11): 3692-709.
- 53 Wildwater M, Campilho A, Perez-Perez JM, Heidstra R, Blilou I, Korthout H, *et al.* The RETINOBLASTOMA-RELATED gene regulates stem cell maintenance in *Arabidopsis* roots. *Cell* 2005; 123(7): 1337-49.
- 54 Ramirez AC, Trivin Ikram, Grieneisen BV, Rosangela Sozzani. A bistable circuit involving SCARECROW/RETINOBLASTOMA integrates cues to inform asymmetric stem cell division. *Cell* 2012; 150(5): 1002-15.
- 55 Hobe M, Müller R, Grünwald M, Brand U, Simon R. Loss of CLE40, a protein functionally equivalent to the stem cell restricting signal CLV3, enhances root waving in *Arabidopsis*. *Dev Genes Evol* 2003; 213(8): 371-81.
- 56 Yamada M, Sawa S. The roles of peptide hormones during plant root development. *Curr Opin Plant Biol* 2013; 16(1): 56-61.
- 57 Delay C, Imin N, Djordjevic MA. Regulation of *Arabidopsis* root development by small signaling peptides. *Front Plant Sci* 2013; 4: 352.
- 58 Pascuzzi AS, Benfey PN. Transcriptional networks in root cell fate specification. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1789(4): 315-25.
- 59 Helariutta Y, Fukaki H, Wysocka-Diller J, Nakajima K, Jung J, Sena G, *et al.* The SHORT-ROOT gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling. *Cell* 2000; 101(5): 555-67.
- 60 Nakajima K, Sena G, Nawy T, Benfey PN. Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning. *Nature* 2001; 413(6853): 307-11.
- 61 Sparks E, Wachsman G, Benfey PN. Spatiotemporal signalling in plant development. *Nat Rev Genet* 2013; 14(9): 631-44.
- 62 Cui HC, Levesque MP, Vernoux T, Jung JW, Paquette AJ, Gallagher KL, *et al.* An evolutionarily conserved mechanism delimiting SHR movement defines a single layer of endodermis in plants. *Science* 2007; 316(5823): 421-5.
- 63 Levesque MP, Vernoux T, Busch W, Cui HC, Wang JY, Blilou I, *et al.* Whole-genome analysis of the SHORT-ROOT developmental pathway in *Arabidopsis*. *PLoS Biol* 2006; 4(5): e143.
- 64 DiLaurenzio L, WysockaDiller J, Malamy JE, Pysh L, Helariutta Y, Freshour G, *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): 423-33.
- 65 Galderisi U, Cipollaro M, Giordano A. The retinoblastoma gene is involved in multiple aspects of stem cell biology. *Oncogene* 2006; 25(38): 5250-6.
- 66 Forzani C, Aichinger E, Sornay E, Willemsen V, Laux T, Dewitte W, *et al.* WOX5 suppresses CYCLIN D activity to establish quiescence at the center of the root stem cell niche. *Curr Biol* 2014; 24(16): 1939-44.
- 67 Ji H, Wang S, Li K, Szakonyi D, Koncz C, Li X. PRL1 modulates root stem cell niche activity and meristem size through WOX5 and PLTs in *Arabidopsis*. *Plant J* 2014; 81(3): 399-412.
- 68 Ding Z, Friml J. Auxin regulates distal stem cell differentiation in *Arabidopsis* roots. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(26): 12046-51.
- 69 Grieneisen VA, Xu J, Maree AFM, Hogeweg P, Scheres B. Auxin transport is sufficient to generate a maximum and gradient guiding root growth. *Nature* 2007; 449(7165): 1008-13.
- 70 Tian H, Wabnik K, Niu T, Li H, Yu Q, Pollmann S, *et al.* WOX5-IAA17 feedback circuit-mediated cellular auxin response is crucial for the patterning of root stem cell niches in *Arabidopsis*. *Mol Plant* 2014; 7(2): 277-89.
- 71 Aida M, Beis D, Heidstra R, Willemsen V, Blilou I, Galinha C, *et al.* The PLETHORA genes mediate patterning of the *Arabidopsis* root stem cell niche. *Cell* 2004; 119(1): 109-20.
- 72 Furuta KM, Eva Hellmann, Helariutta YK. Molecular control of cell specification and cell differentiation during procambial development. *Plant Biol* 2014; 65: 607-38.
- 73 Scarpella E, Barkoulas M, Tsiantis M. Control of leaf and vein development by auxin. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2(1): a001511.
- 74 Emery JF, Floyd SK, Alvarez J, Eshed Y, Hawker NP, Izhaki A, *et al.* Radial patterning of *Arabidopsis* shoots by class III HD-ZIP and KANADI genes. *Curr Biol* 2003; 13(20): 1768-74.
- 75 Bishopp A, Help H, Showk S, Weijers D, Scheres B, Friml J, *et al.* A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots. *Curr Biol* 2011; 21(11): 917-26.
- 76 Carlsbecker A, Lee JY, Roberts CJ, Dettmer J, Lehesranta S, Zhou J, *et al.* Cell signalling by microRNA165/6 directs gene dose dependent root cell fate. *Nature* 2010; 465(7296): 316-21.