

· 热点评述 ·

WUSCHEL介导的固有免疫: 植物干细胞抵御病毒侵害的新机制

杜斐¹, 焦雨铃^{1,2*}

¹中国科学院, 种子创新研究院, 遗传与发育生物学研究所, 国家植物基因研究中心(北京),
植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101; ²中国科学院大学, 北京 100049

摘要 植物茎顶端分生组织干细胞是具有持续分化潜能的细胞团, 是植物体地上部所有组织和器官的来源。由于植物行固着生长模式, 其无法通过移动来趋利避害, 因此保护植物干细胞免受病毒和其它病原体侵害对于植物正常生长发育至关重要。尽管人们很早就观察到植物茎顶端干细胞区域与其它部位相比具有极强的抗病毒特性, 但很长时间以来对于植物干细胞如何抵御病毒侵染却知之甚少。近日, 中国科学技术大学赵忠团队阐明了拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)茎顶端干细胞通过WUS蛋白介导的固有免疫反应抵御病毒侵害的机制。WUS能被黄瓜花叶病毒诱导表达, 并抑制病毒在茎尖中央区 and 周边区积累。WUS通过直接抑制S-腺苷-L-甲硫氨酸依赖的甲基转移酶(SAM MTase)基因的转录, 影响rRNA的加工和核糖体的稳定性, 使病毒蛋白质合成受阻, 从而阻止病毒的复制与传播。该研究揭示了植物体的一种保守且广谱抗病毒策略, 具有重要的理论意义和应用价值。

关键词 拟南芥, 干细胞, WUS, MTase, rRNA, 蛋白质合成

杜斐, 焦雨铃 (2020). WUSCHEL介导的固有免疫: 植物干细胞抵御病毒侵害的新机制. 植物学报 55, 537–540.

植物茎顶端分生组织干细胞(stem cell, SC)是一团长期维持低分化状态的细胞, 具有自我更新能力以及分化成不同类型组织器官的潜能, 是植物体地上部所有组织和器官的来源(Bäumle and Laux, 2003) (图1A)。自然界中生长的植物体在整个生命周期中均会受到多种病毒和其它病原微生物的侵害, 因此保护植物茎顶端分生组织干细胞的完整性对于植物的正常生长发育至关重要。人们很早就发现在植物病毒侵染宿主的过程中, 病毒在宿主体内的分布不均一。植物组织内的病毒含量随着与茎尖距离的缩短而减少(Holmes, 1948)。在组织培养和再生研究中, 通过切取植物茎尖作为外植体来繁育脱毒苗(virus-free plant)已经成为一项常规的技术手段(Wang et al., 2008)。人们由此推测, 与植物体其它部位相比, 植物茎尖可能具有特殊的机制来抵御病毒侵染。然而, 在很长一段时间内, 该机制始终未能得到阐明。

中国科学技术大学赵忠团队以模式植物拟南芥

(*Arabidopsis thaliana*)为研究材料, 对茎顶端分生组织干细胞的维持及分化机理进行了长期探索。近日, 该团队在植物干细胞抵御病毒侵染的机制研究方面取得重要突破, 揭示了WUS (WUSCHEL)作为干细胞的重要调控因子, 通过抑制病毒蛋白质合成, 介导了干细胞对病毒的广谱抗性(Wu et al., 2020)。

黄瓜花叶病毒(CMV)是一类常见的RNA病毒, 具有广泛的植物宿主, 是多种蔬菜和花卉的主要病原病毒之一(Jacquemond, 2012)。赵忠团队以黄瓜花叶病毒侵染拟南芥叶片作为实验系统, 追踪了病毒在茎尖的扩散和分布模式。接种病毒9天后, 他们对病毒RNA的原位杂交实验表明, 黄瓜花叶病毒大量积累在茎的中柱区(shoot zone, SZ)和肋状区(rib zone, RZ), 中央区(central zone, CZ)、周边区(peripheral zone, PZ)和花原基(flower primodium, FP)中则无积累(图1A)。需要特别指出的是, 黄瓜花叶病毒的分布区域恰好位于WUS表达区域的下方。在*clv3-7*突变体

收稿日期: 2020-08-28; 接受日期: 2020-09-03

基金项目: 中国科学院王宽诚率先进入人才计划卢嘉锡国际团队(2020–2022)

* 通讯作者。E-mail: yljiao@genetics.ac.cn

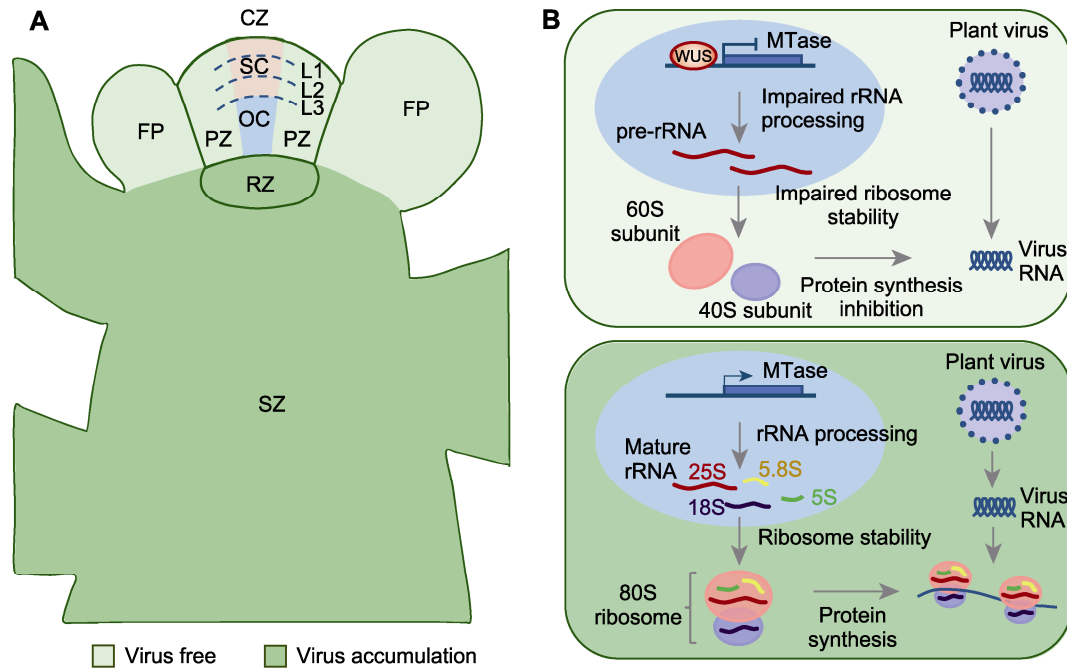


图1 WUS介导的茎尖干细胞抗病毒免疫机制

(A) 植物病毒侵染拟南芥叶片后在茎尖分布模式; **(B)** 表达WUS和不表达WUS的细胞面对病毒侵染呈现不同的反应。L1—L3表示3层细胞。CZ: 中央区; PZ: 周边区; RZ: 肋状区; SZ: 中柱区; FP: 花原基; SC: 干细胞; OC: 组织中心

Figure 1 Mechanism of WUS-mediated antiviral immunity in shoot stem cells

(A) Distribution of plant virus in *Arabidopsis* shoot apex after infecting leaves; **(B)** Cells with or without WUS expression response differently to plant virus invasion. L1—L3 indicate 3 layers of cells. CZ: Central zone; PZ: Peripheral zone; RZ: Rib zone; SZ: Shoot zone; FP: Flower primordium; SC: Stem cell; OC: Organizing center

中, 伴随着WUS表达区域上移至茎顶端分生组织的第2层细胞(L2), 黄瓜花叶病毒的分布区也发生了上移, 但依然位于WUS表达区域以下。由此他们得出两种假设: (1) WUS表达区域可以形成一个屏障, 抑制病毒的移动; (2) WUS蛋白本身可抑制病毒的积累。为验证上述假设, 他们将黄瓜花叶病毒直接接种在具有异常增大的茎顶端分生组织表型的 $mpS193/clv3-7$ 双突变体第1层干细胞(L1)或者组织中心(OC, L2), 发现病毒仍然积累在L2下方区域。这一结果表明, WUS的表达并不阻碍病毒的扩散, 但可抑制病毒在WUS蛋白表达区域的积累。由于WUS蛋白的表达部位仅包括组织中心和位于其上的干细胞, 如何解释周边区和花原基中无病毒积累? 针对这一问题, 他们进行了深入研究, 发现WUS蛋白的表达受到黄瓜花叶病毒的强烈诱导, 病毒侵染可诱导WUS蛋白并在周边区和花原基中异位积累, 从而扩大抗病毒区域。组成型表达WUS可使整株植物获得对黄瓜花叶病毒的抵抗力, 在干细胞中降解WUS蛋白则可促使病毒

入侵中央区 and 周边区。上述结果表明, WUS可以介导植物干细胞的抗病毒免疫反应, 且WUS蛋白的功能对于抑制黄瓜花叶病毒的积累非常重要(Wu et al., 2020)。

随后, 他们分析了大量突变体, 结果表明WUS介导的抗病毒免疫与RNA沉默、自噬和植物激素信号通路之间相互独立。进一步研究发现, WUS可作为转录抑制因子, 在本氏烟(*Nicotiana benthamiana*)叶片中引起蛋白水平的转基因沉默, 且这种作用对蛋白酶体抑制剂MG132处理不敏感, 提示WUS可能的作用机制是抑制蛋白质合成, 而非加速蛋白质降解。为验证WUS是否能够抑制黄瓜花叶病毒的蛋白质合成, 他们将WUS与GFP融合的病毒蛋白(2a、3a、2b和CP)在烟草叶片中共表达, 发现GFP荧光信号与单独表达病毒蛋白的对照组相比显著降低。在接种了黄瓜花叶病毒的拟南芥中过表达WUS, 同样可显著降低病毒蛋白在茎顶端分生组织的积累。为阐明WUS引起的蛋白质合成受阻是否为转基因或者病毒特异, 他们

检测了过表达 *WUS* 情况下拟南芥内源新生蛋白质水平的变化。与蛋白质合成抑制剂 *CHX* 处理相似, *WUS* 的表达显著抑制了内源新生蛋白质的合成水平, 说明 *WUS* 能够通过抑制细胞的蛋白质合成以及阻止病毒的复制, 使植物体形成固有(或天然)免疫反应, 从而保护茎尖免受病毒侵害(Wu et al., 2020)。

此外, 为探究 *WUS* 作为转录抑制因子调控蛋白质合成的分子机制, 他们分析了过表达 *WUS* 植株在接种和未接种黄瓜花叶病毒条件下的基因表达谱, 发现 11 个参与蛋白质合成的基因表达量发生了改变; 其中, 包括 7 个编码 *S*-腺苷-*L*-甲硫氨酸依赖的甲基转移酶(*SAM MTase*)基因表达下调, 且内含的 5 个 *SAM MTase* 编码基因受到 *WUS* 直接抑制(Wu et al., 2020)。*SAM MTase* 广泛存在于自然界, 参与多种生物大分子(包括核酸、蛋白质和小分子代谢物)的甲基化过程。由 *SAM MTase* 介导的甲基化可显著改变底物的功能或生物学活性(Bennett et al., 2017)。在 5 个受到 *WUS* 直接抑制的 *SAM MTase* 编码基因中, 仅有 *NOP2A* 基因在茎顶端分生组织的周边区和花原基中表达, 并在黄瓜花叶病毒侵染时表达量下降。与之前的预测(*NOP2A* 及其同源基因 *NOP2B* 可能负责 25S rRNA 在 C2860 位点的 m^5C 甲基化)一致, 在 *nop2a*/*NOP2B* RNAi 植物中, RNA 整体的 m^5C 甲基化水平和包含 m^5C 甲基化修饰的 25S rRNA 丰度均显著降低, 证明 *NOP2A* 和 *NOP2B* 协同调控植物体内 25S rRNA 的甲基化(Wu et al., 2020)。

rRNA 甲基化对于 rRNA 的加工和稳定核糖体结构非常重要。与野生型相比, rRNA 的加工在 *nop2a* 和其它 4 个 *SAM MTase* 编码基因的突变体中受到抑制, 导致 rRNA 中间体积聚; 这与过表达 *WUS* 产生的表型一致。多聚核糖体分析表明, 过表达 *WUS* 或突变 *SAM MTase* 编码基因可进一步导致 80S 和 60S 核糖体含量下降。因此, *WUS* 可能通过抑制 *SAM MTase* 编码基因的转录影响核糖体的正常组装, 从而影响细胞内整体的蛋白质合成。进一步研究显示, 过表达 *SAM MTase* 编码基因不仅可在烟草细胞中部分阻断 *WUS* 过表达引起的蛋白水平的转基因沉默, 还可在拟南芥茎顶端分生组织中部分抑制 *WUS* 介导的免疫反应, 增加黄瓜花叶病毒蛋白和 RNA 的积累。以上结果表明, *WUS* 对 *SAM MTase* 编码基因的转录抑制在植物抗病毒反应中发挥了重要作用(图 1B)。通过接种另外

3 种病毒, 他们又证明了 *WUS* 能够抑制多种病毒对拟南芥茎顶端分生组织的侵害。因此, *WUS* 介导的免疫反应具有广谱的抗病毒效果(Wu et al., 2020)。

该研究具有重要的理论意义与应用价值。首先, 通过在干细胞区直接接种病毒, 他们发现 *WUS* 的表达可抑制病毒的繁殖和积累。这一结果澄清了长期以来的错误观点, 即植物茎尖不易受到病毒侵染是由于缺少维管组织, 导致病毒无法有效移动。其次, 报道了 *WUS* 除具有维持茎顶端分生组织干细胞活性外, 还参与了植物与病原微生物的互作过程, 回答了植物茎尖何以有效抵御病毒侵害这一长期困扰科学家的的问题。再次, 鉴于多种植物的茎尖均可用于繁育脱病毒苗, 本研究揭示的 *WUS* 介导的抗病毒反应很可能是一种植物体广泛采用的保守免疫策略。在生产实践中, 可利用组成型或诱导表达 *WUS*, 或抑制 *SAM MTase* 表达的方法培育抗病毒作物, 减少抗病毒农药的施用。此外, 研究结果还为后续工作提供了一些可深入探索的问题。例如, *WUS* 所在的 *WOX* 家族编码多个干细胞特异转录因子来调控植物体不同部位的干细胞活性(Aichinger et al., 2012), 其它 *WOX* 基因是否也具有类似于 *WUS* 的抗病毒功能? *WUS* 是如何避免自身的蛋白质合成受到抑制? *WUS* 介导的抗病毒免疫途径与已知的抗病毒信号通路之间是否存在联系? 相信这些有趣的问题在不久的将来均会得到一一解答。

参考文献

- Aichinger E, Kornet N, Friedrich T, Laux T (2012). Plant stem cell niches. *Annu Rev Plant Biol* **63**, 615–636.
- Bäurle I, Laux T (2003). Apical meristems: the plant's fountain of youth. *Bioessays* **25**, 961–970.
- Bennett MR, Shepherd SA, Cronin VA, Micklefield J (2017). Recent advances in methyltransferase biocatalysis. *Curr Opin Chem Biol* **37**, 97–106.
- Holmes F (1948). Elimination of spotted wilt from a stock of dahlia. In: Report and Abstracts of the Second Annual Meeting of the Northeastern Division of the American Phytopathological Society. *Phytopathology* **38**, 314.
- Jacquemond M (2012). Cucumber mosaic virus. *Adv Virus Res* **84**, 439–504.
- Wang Q, Cuellar WJ, Rajamäki ML, Hirata Y, Valkonen JP (2008). Combined chemotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, sub-

cellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. *Mol Plant Pathol* **9**, 237–250.

Wu H, Qu X, Dong Z, Luo L, Shao C, Forner J, Lohmann

JU, Su M, Xu M, Liu X, Zhu L, Zeng J, Liu S, Tian Z, Zhao Z (2020). WUSCHEL triggers innate antiviral immunity in plant stem cells. *Science* **370**, 227–231.

WUSCHEL-mediated Innate Immunity in Plant Stem Cells Provides a Novel Antiviral Strategy

Fei Du¹, Yuling Jiao^{1, 2*}

¹State Key Laboratory of Plant Genomics and National Center for Plant Gene Research (Beijing), Institute of Genetics and Developmental Biology, the Innovative Academy for Seed Design, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract Stem cells in plant shoot apical meristem maintain a high level of pluripotency, providing the source of all above-ground tissues and organs. Since plants cannot move to escape from various stresses, protection of plant stem cells from viruses and other pathogens is essential for plant growth and development. Although it has long been known that compared with other parts of the plant, the shoot apex containing the stem cell niche is against virus invasion and accumulation, the related mechanism is still elusive. A recent study from the group of Zhong Zhao at University of Science and Technology of China uncovered the mechanism of how plant stem cells in *Arabidopsis* are immune to virus infection through WUS-mediated innate immunity. WUS responds to the infection of cucumber mosaic virus, and represses virus accumulation in the central zone and peripheral zone. WUS directly represses the transcription of several S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase genes, resulting in disturbed rRNA processing and ribosome stability which affecting viral protein synthesis. This study reveals a conserved and broad-spectrum strategy of antiviral immunity in plant stem cells, which provides high values in both theory and application.

Key words *Arabidopsis*, stem cell, WUS, MTase, rRNA, protein synthesis

Du F, Jiao YL (2020). WUSCHEL-mediated innate immunity in plant stem cells provides a novel antiviral strategy. *Chin Bull Bot* **55**, 537–540.

* Author for correspondence. E-mail: yljiao@genetics.ac.cn

(责任编辑: 孙冬花)