

· 热点评述 ·

从损伤到重生——REF1小肽如何激发植物的 内在再生潜能

廖人玉^{1, 2, 3}, 王佳伟^{1, 2, 3*}

¹中国科学院分子植物科学卓越创新中心, 上海 200032; ²中国科学院大学, 北京 101408; ³新基石科学实验室, 上海 200032

摘要 多细胞生物常因暴露在各种生物和非生物胁迫下而导致器官损伤或缺失。植物因固着性而演化出强大的再生能力以适应环境。尽管细胞损伤是植物组织修复和器官再生的原初物理诱因, 然而引发再生反应局部伤口信号的化学本质及其调控再生机制一直是科学界的难解之谜。最近一项研究发现1个调控植物局部伤口响应与再生能力的小肽REF1。研究表明, REF1与其受体PORK1通过植物损伤响应及细胞重编程关键转录因子WIND1促进植物再生。尤为重要的是, 外源施加REF1小肽可不同程度地提高几种作物的再生效率。这一发现不仅为理解植物损伤响应和再生的分子机制打开了全新视角, 而且为提高作物的再生能力和遗传转化效率提供了潜在的应用策略。

关键词 REF1 (REGENERATION FACTOR1), 植物诱导肽(Pep), 番茄, 损伤响应, 损伤信号, 再生, 再生因子, 系统素
廖人玉, 王佳伟 (2024). 从损伤到重生——REF1小肽如何激发植物的内在再生潜能. 植物学报 59, 347–350.

多细胞生物常因暴露在各种生物和非生物胁迫下而导致器官损伤或缺失。无论植物还是动物受伤之后都具备组织修复和器官再生能力(Birnbaum and Alvarado, 2008; Sena and Birnbaum, 2010; Sugimoto et al., 2011, 2019; Pulianmackal et al., 2014; Mathew and Prasad, 2021)。在偌大的生物世界中, 植物无法通过移动来规避危险, 因而更容易受到损伤, 也因此演化出强大的再生能力。伤口是植物进行再生的先决条件, 在损伤发生后, 植物能迅速启动一系列生物学反应, 包括局部(local) (即伤口处)和系统性(systemic) (即远离伤口处的植物组织)防御反应、激素合成(如生长素和茉莉素)以及细胞重编程与再生(Liao and Wang, 2023)。以往的研究中, 系统素(systemin)作为从植物中分离出的内源小肽信号分子, 已被证明在调控植物系统性防御反应中发挥关键作用(Pearce et al., 1991)。然而, 引发再生反应局部伤口信号的化学本质一直是科学界的难解之谜。*Science*杂志于2005年发布的125个重大科学问题中, “是什么调控器官再生”被列为最重要的25个科学问题之一(Kennedy and Norman, 2005; Davenport,

2005)。

最近, Yang等(2024)报道了1个调控植物局部伤口响应与再生能力的小肽REF1 (REGENERATION FACTOR1)。研究表明, REF1被细胞膜表面受体PORK1 (PEPR1/2 ORTHOLOG RECEPTOR-LIKE KINASE1)识别, 进而激活植物损伤响应及细胞重编程关键转录因子WIND1 (WOUND INDUCED DIFFERENTIATION 1)的表达, 从而促进植物再生。令人惊喜的是, 外源施加REF1小肽可以不同程度地提高大豆(*Glycine max*)、玉米(*Zea mays*)和小麦(*Triticum aestivum*)等农作物的再生效率, 表明REF1小肽具有良好的潜在应用价值。

该研究首先通过对局部和系统性损伤诱导防御基因的表达量进行筛选, 鉴定到1个局部和系统性防御反应同时发生部分缺失的隐性基因突变体*spr9*。通过图位克隆, 确定了*spr9*突变体中缺陷的基因编码番茄(*Solanum lycopersicum*)中Pep家族单一成员SIPep的前体PRP (PROPEP)。PRP与模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中PROPEP6的亲缘关系最近, 这些前体蛋白可在II型金属半胱天冬酶(type II

收稿日期: 2024-05-06; 接受日期: 2024-05-13

基金项目: 国家自然科学基金委基础科学中心项目(No.32388210)、中国科学院B类先导专项(No.XDB0630201)和新基石研究员项目

* 通讯作者。E-mail: jwwang@sippe.ac.cn

metacaspase)的加工下,生成长度为23个氨基酸的小肽(Zhang et al., 2022)。基因敲除和突变体表型分析表明,PRP突变后植株几乎失去产生愈伤组织和芽再生的能力;而过表达PRP则显著提高再生能力。这些结果提示,PRP对于番茄再生能力有重要影响,Yang等(2024)将其命名为再生因子REF1。有趣的是,他们发现体外施加REF1小肽不仅能回补spr9的再生缺陷表型,而且还以剂量依赖方式增强番茄的再生能力。

体内外生化实验显示,与拟南芥类似,激酶PORK1是REF1的膜上受体。PORK1与REF1存在蛋白水平的特异性互作,REF1以PORK1依赖的方式激活MAPK信号通路。那么REF1-PORK1信号通路如何影响植物再生? WIND1是高等植物中高度保守的损伤响应因子,其过量表达可诱导拟南芥伤口处产生愈伤组织(Iwase et al., 2011, 2017)。在番茄中SIWIND1 (*Solanum lycopersicum* WIND1)突变造成其再生能力受损,表明SIWIND1对于番茄的再生能力有重要贡

献(Yang et al., 2024)。有趣的是,Yang等(2024)发现REF1-PORK1信号通路能够激活SIWIND1的表达,反之SIWIND1也能促进REF1的转录,这种调控模式形成1个正反馈回路(图1),进一步放大伤口信号,从而促进植物再生。

出人意料的是,外施REF1小肽不仅能够促进番茄的再生,还能不同程度地提高一些作物的再生及转化效率。对于不同品种的野生番茄,外施REF1小肽能提高转化效率5–19倍;对于大豆品种东农50,可提高2–9倍;对于小麦品种JM22,可提高4–8倍;对于玉米品种B104,可提高4–6倍。由此可见,REF1的作用可能具有普适性,可提高包括单、双子叶在内的多种难转化作物的再生和转化效率,因此具有广阔的应用前景。

综上,该研究从正向遗传学筛选失去系统防御信号响应及再生响应的番茄突变体开始,到精细的正反馈环路分子机制的解析,最后拓展至跨物种尺度的应用研究,层层深入,不仅为理解植物局部伤口信号与

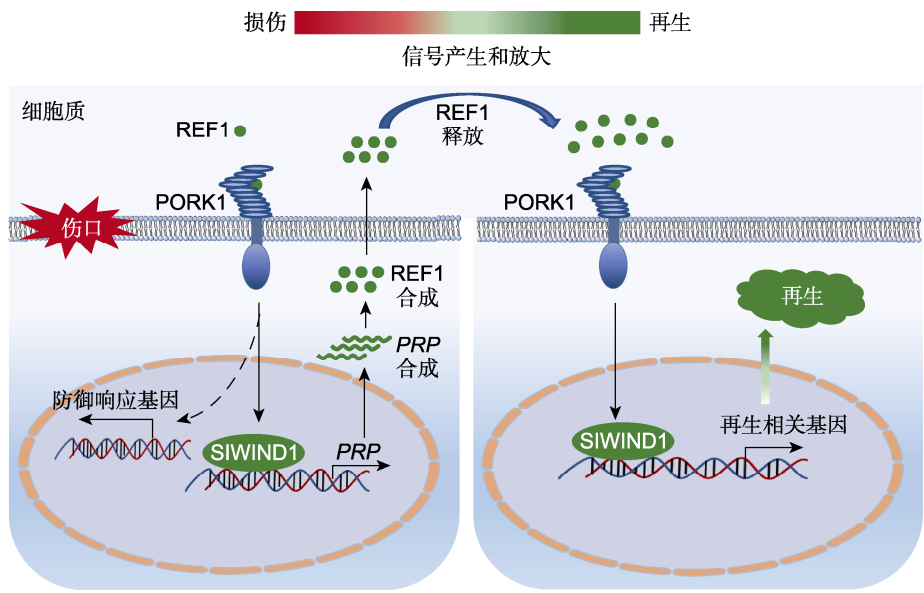


图1 番茄REF1-PORK1-SIWIND1介导的损伤响应及再生正反馈环路

REF1 (绿色圆点)作为一个局部信号调节番茄组织修复和再生。损伤促进REF1产生,REF1通过与细胞表面受体PORK1结合,启动SIWIND1调控的再生途径。除启动细胞重编程外,SIWIND1还可识别REF1前体基因PRP启动子上的VWRE基序,以激活其表达,从而放大REF1信号。

Figure 1 An REF1-PORK1-SIWIND1 directed positive feedback loop for wounding response and regeneration in tomato. REF1 (green dots) is a local wounding signal that regulates tissue repair and regeneration in tomato. Injury triggers the production of REF1, which binds to PORK1 on the cell surface and subsequently initiates SIWIND1-regulated regeneration pathway. In addition to orchestrating the cellular reprogramming for regeneration, SIWIND1 can also bind the VWRE motif on the promoter of PRP to activate its expression, thereby amplifying the REF1 signaling for regeneration.

再生的关系提供了新见解, 还实现了REF1在作物设计育种中的潜在应用价值。同时, 通过认识这一重要研究成果我们提出一系列亟需解答的科学问题。首先, REF1-PORK1信号通路与损伤诱导的钙信号和活性氧爆发之间存在何种关系? 在下游的级联反应发生之后又是如何激活细胞核内WIND1基因转录? 其次, 植物局部防御反应与再生存在何种紧密的关系? 系统性防御是否与伤口处再生也存在一定关联? 再次, 系统素对植物再生是否也有类似REF1的调控作用? 最后, 在组织培养过程中, REF1-PORK1信号通路又如何与生长素-细胞分裂素共同促进愈伤组织发生和芽再生? 值得一提的是, 在所测试的作物中, 外植体的选择和再生方式并非完全一致。例如, 大豆选用子叶节, 玉米选用幼嫩胚胎, 而番茄是用下胚轴。为什么REF1小肽对不同再生路径及不同来源的外植体都有效? REF1究竟在愈伤组织阶段还是在芽再生阶段发挥作用? 这些问题都需要深入探索。

在应用前景方面, 考虑到REF1小肽在不同物种中的功能强弱可能存在差异, 因此未来需进一步优化REF1小肽的使用剂量和处理时间, 以提升其促进再生的效果。此外, REF1小肽的大规模生产和应用技术也需要进一步开发, 以降低生产成本。尽管REF1小肽在提高作物再生和转化效率方面显示出巨大潜力, 但在将其应用于商业化育种和生产之前, 还需要进行深入的安全性评估和环境影响监测。这些评估包括REF1小肽对非目标生物的潜在影响及其在自然生态系统中的长期效应等。

参考文献

- Birnbaum KD, Alvarado AS (2008). Slicing across kingdoms: regeneration in plants and animals. *Cell* **132**, 697–710.
- Davenport RJ (2005). What controls organ regeneration? *Science* **309**, 84.
- Iwase A, Harashima H, Ikeuchi M, Rymen B, Ohnuma M, Komaki S, Morohashi K, Kurata T, Nakata M, Ohme-Takagi M, Grotewold E, Sugimoto K (2017). WIND1 promotes shoot regeneration through transcriptional activation of ENHANCER OF SHOOT REGENERATION1 in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **29**, 54–69.
- Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, Hiratsu K, Kojima M, Arai T, Inoue Y, Seki M, Sakakibara H, Sugimoto K, Ohme-Takagi M (2011). The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in *Arabidopsis*. *Curr Biol* **21**, 508–514.
- Kennedy D, Norman C (2005). What don't we know? *Science* **309**, 75.
- Liao RY, Wang JW (2023). Analysis of meristems and plant regeneration at single-cell resolution. *Curr Opin Plant Biol* **74**, 102378.
- Mathew MM, Prasad K (2021). Model systems for regeneration: *Arabidopsis*. *Development* **148**, dev195347.
- Pearce G, Strydom D, Johnson S, Ryan CA (1991). A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. *Science* **253**, 895–897.
- Pulianmackal AJ, Kareem AVK, Durgaprasad K, Trivedi ZB, Prasad K (2014). Competence and regulatory interactions during regeneration in plants. *Front Plant Sci* **5**, 142.
- Sena G, Birnbaum KD (2010). Built to rebuild: in search of organizing principles in plant regeneration. *Curr Opin Genet Dev* **20**, 460–465.
- Sugimoto K, Gordon SP, Meyerowitz EM (2011). Regeneration in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just differentiation? *Trends Cell Biol* **21**, 212–218.
- Sugimoto K, Temman H, Kadokura S, Matsunaga S (2019). To regenerate or not to regenerate: factors that drive plant regeneration. *Curr Opin Plant Biol* **47**, 138–150.
- Yang WT, Zhai HW, Wu FM, Deng L, Chao Y, Meng XW, Chen Q, Liu CH, Bie XM, Sun CL, Yu Y, Zhang XF, Zhang XY, Chang ZQ, Xue M, Zhao YJ, Meng XB, Li BS, Zhang XS, Zhang DJ, Zhao XY, Gao CX, Li JY, Li CY (2024). Peptide REF1 is a local wound signal promoting plant regeneration. *Cell* doi: 10.1016/j.cell.2024.04.040.
- Zhang J, Li YX, Bao QX, Wang HB, Hou SG (2022). Plant elicitor peptide 1 fortifies root cell walls and triggers a systemic root-to-shoot immune signaling in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav* **17**, 2034270.

From Wound to Rebirth: How does REF1 Peptide Activate Intrinsic Regenerative Potential of Plants?

Ren-Yu Liao^{1, 2, 3}, Jia-Wei Wang^{1, 2, 3*}

¹CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences, Shanghai 200032, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China; ³New Cornerstone Science Laboratory, Shanghai 200032, China

Abstract Living organisms are often exposed to a wide range of biotic and abiotic stresses that cause severe wounding, leading to partial or complete organ loss. Being sessile, plants have evolved powerful regenerative capabilities to adapt to the environment. Wounding is a prerequisite for plant regeneration, the local wound signals that trigger regenerative responses remained unknown for centuries. A recent study has identified a small peptide, REF1, that regulates local wound responses and regeneration capabilities in plants. The study found that REF1 and its receptor PORK1 can promote plant regeneration by activating WIND1, a master regulator of wound-induced cellular reprogramming in plants. Crucially, exogenous application of the REF1 peptide can improve the regeneration efficiency of several crops to varying degrees. This discovery not only provides a new perspective on the molecular mechanisms of plant injury responses and regeneration, but also offers potential application strategies for enhancing the regenerative capacity and transformation efficiency of crops.

Key words REGENERATION FACTOR1 (REF1), plant elicitor peptide (Pep), tomato, wound responses, wound signal, regeneration, regeneration factor, systemin

Liao RY, Wang JW (2024). From wound to rebirth: how does REF1 peptide activate intrinsic regenerative potential of plants? *Chin Bull Bot* **59**, 347–350.

* Author for correspondence. E-mail: jwwang@sippe.ac.cn

(责任编辑: 白羽红)

通讯作者/团队简介

王佳伟, 中国科学院分子植物科学卓越创新中心研究员, 新基石研究员, 博士生导师。曾获腾讯科学探索奖、谈家桢生命科学创新奖、中国青年科技奖及国家杰出青年基金, 入选科技部中青年科技领军人才, 国家科技创新领军人才, 科睿唯安“高被引科学家”(2021–2023 年)。主要从事植物发育生物学研究, 在植物年龄与再生领域开展系统性研究。以通讯作者身份在 *Cell*、*Science*、*Dev Cell*、*Nature Plants* 等国际主流期刊上发表研究论文 30 余篇。目前其研究团队以一年生草本植物拟南芥和十字花科多年生草本植物为模式, 利用遗传学、反向遗传学和多组学技术, 解析植物年龄不可逆的分子机理、植物生活史策略的演化、多年生植物干细胞长久维持及植物再生的分子机制。