亮点

植物干细胞的抗病毒先天免疫

刘远征¹, 朱玉贤^{1,2}, 皮利民^{1*}

1. 武汉大学高等研究院, 武汉 430072;

2. 武汉大学生命科学学院, 武汉 430072

* 联系人, E-mail: limin.pi@whu.edu.cn

收稿日期: 2020-11-02; 接受日期: 2020-11-13; 网络版发表日期: 2020-12-03

茎顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM)中的干细胞(stem cell, SC)具有自我更新和分化为各种细胞类型的潜能, 是植物地上组织和器官生长发育的细胞源泉^[1]. 干细胞团稳态的维持对植物的生长发育至关重要^[2]. 早在20世纪50年代, 便已有研究发现植物的茎尖分生组织病毒含量少, 甚至没有病毒. 如果将感染病毒的植株茎尖切割后进行组织培养, 在植株长大后再次重复进行茎尖切割, 放入试管中组织培养, 如此数代之后, 就能够获得无病毒植株, 最终达到脱毒的目的^[3]. 该技术已广泛应用于农业生产中^[4]. 然而, 长久以来科学家始终无法理解为什么大部分植物病毒不能侵染茎顶端分生组织. 最近, 中国科学技术大学赵忠教授课题组^[5]以模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为研究材料, 发现植物茎顶端干细胞关键调控因子WUSCHEL(WUS)介导了分生组织对植物病毒的先天免疫.

首先, 研究者以黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus, CMV)为例, 接种拟南芥叶片, RNA原位杂交实验结果显示, 在植物茎顶端分生组织肋区(rib zone, RZ)有大量CMV病毒RNA积累, 而中央区(central zone, CZ)、周边区(peripheral zone, PZ)和花原基(flow-er primodium, FP)中则没有病毒积累迹象. 这进一步证实了植物“茎尖无毒”的猜想. 有趣的是, 茎顶端分生组织中CMV积累的部位恰恰位于WUS表达区域——组

织中心区(organizing center, OZ)的下方. *clv3-7*和*mp clv3-7*突变体中WUS表达范围上移到茎顶端分生组织第二层细胞(L2)中, CMV病毒的分布也随之上移至L2的下层细胞, 表明WUS表达区域的细胞对病毒的入侵具有免疫能力. 通过激光共聚焦显微观察发现, 植物感染病毒9天后, 虽然WUS mRNA表达量并没有明显变化, 但WUS蛋白水平显著上升而且异位表达在整个PZ和幼嫩FP中; 通过条件性诱导WUS蛋白的降解, 病毒随之积累在整个茎顶端分生组织中. 这些结果表明, WUS蛋白在抑制病毒入侵分生组织细胞反应中具有非常重要的作用^[5].

为进一步解析WUS抗病毒的分子机制, 研究者分析了各种突变体中干细胞对病毒的免疫效应后发现, WUS所介导的抗病毒免疫通路独立于RNA沉默、自噬及植物激素等通路. 随后, 结合诱导共表达和转基因沉默分析认为, WUS蛋白作为转录抑制因子发挥效应; 同时证实其抑制蛋白积累的功能是通过抑制相应蛋白的合成来实现的, 而不是加速蛋白的降解. 进一步将CMV病毒蛋白2a, 3a, CP以及2b分别与GFP融合, 在组成性启动子35S驱动下分别与35S::WUS在烟草叶片中共表达, GFP荧光强度测定和Western blot实验结果均证实, WUS能够抑制病毒蛋白的合成. 为阐明WUS介导的蛋白合成抑制是否具有病毒特异性, 研究者对在WUS蛋白过表达的拟南芥植株中内源新生蛋白总量

引用格式: 刘远征, 朱玉贤, 皮利民. 植物干细胞的抗病毒先天免疫. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 102–104

Liu Y Z, Zhu Y X, Pi L M. Antiviral innate immunity in plant stem cells (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 102–104, doi: 10.1360/SSV-2020-0371

进行原位测定评估后发现, 其相对蛋白总含量远低于对照组. 这说明WUS对抑制病毒蛋白合成并无特异性, 而是对植物和病毒所有蛋白的合成都有影响^[5].

在证实WUS可抑制蛋白质合成后, 研究者着手阐明其中的生化机制. 首先利用RNA-seq方法分析了WUS诱导过量表达后转录组的变化情况. 他们发现, 包括7个S-腺苷-L-甲硫氨酸依赖的甲基转移酶(*S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase*, *SAM MTase*)基因在内的11个调控蛋白质翻译的基因有显著变化. 进一步的RT-qPCR和ChIP实验证实, WUS蛋白能直接结合在其中大部分*SAM MTase*的启动子上, 进而抑制其转录. 已有研究报道了其中甲基转移酶*NUCLEOLAR PROTEIN 2A(NOP2A)*基因和同源基因*NOP2B*可能负责了25S核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA)的胞嘧啶甲基化(5-methylcytosine, m^5C), 维持了其稳定性^[6]. 于是研究者检测了*nop2a nop2b*敲低突变体中 m^5C 含量, 发现突变体中的总含量和25S rRNA m^5C 含量均显著低于野生型. 与此结果一致, WUS过量表达植株中60S和80S核糖体水平显著下降; 而在WUS过量表达背景下再过量表达*SAM MTase*则能阻断WUS介导的植物干细胞对病毒的免疫力. 研究者通过测试芜菁皱缩病毒(Turnip crinkle virus, TCV)、烟草脆裂

病毒(Tobacco rattle virus, TRV)和芜菁花叶病毒(Turnip mosaic virus, TuMV), 发现WUS介导的这种抗病毒机制具有广谱性^[5].

WUS在茎顶端分生组织中心区抑制了S-腺苷-L-甲硫氨酸依赖的甲基转移酶基因的表达, 降低了rRNA甲基化的水平, 从而影响了核糖体的稳定性, 致使病毒蛋白不能有效翻译, 最终使干细胞能够抵御病毒入侵.

综上所述, 植物茎尖干细胞关键因子WUS通过直接抑制*SAM MTase*的转录, 降低了rRNA m^5C 的含量, 致使核糖体的稳定性下降, 进而抑制病毒蛋白的翻译, 最终赋予茎尖分生组织抵御病毒入侵的免疫力(图1). 这一机制的阐明不仅为茎尖脱毒提供了坚实的理论支撑, 还将为研发环境友好型的广谱抗病毒生物技术提供一条崭新的思路. 此外, 这项研究也带来一系列引人深思的科学问题, 诸如入侵病毒是如何触发WUS蛋白含量的上升的? WUS介导的这一崭新抗病毒通路是否与已知抗病毒通路有协同作用? 如何利用WUS-*SAM MTase*这一调节模块作为靶点研发新型植物抗病毒生物技术? 毫无疑问, 这些问题的解决将极大促进人们对植物干细胞抗病毒的先天免疫机制的理解和作物抗病毒技术在农业生产中的应用.

图1 WUS介导的植物茎尖干细胞抗病毒的分子机制模型(网络版彩图)

Figure 1 A working model of the molecular mechanisms of the WUS-mediated antiviral immunity in plant stem cells in shoot (color online)

参考文献

- 1 Aichinger E, Kornet N, Friedrich T, et al. Plant stem cell niches. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63: 615–636
- 2 Bäurle I, Laux T. Apical meristems: the plant's fountain of youth. *Bioessays*, 2003, 25: 961–970
- 3 Morel G, Martin C. Cure of dahlias attacked by a virus disease. *C R Hebd Seances Acad Sci*, 1952, 235: 1324–1325
- 4 Wang Q, Cuellar W J, Rajamäki M L, et al. Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. *Mol Plant Pathol*, 2008, 9: 237–250
- 5 Wu H, Qu X, Dong Z, et al. WUSCHEL triggers innate antiviral immunity in plant stem cells. *Science*, 2020, 370: 227–231
- 6 Burgess A L, David R, Searle I R. Conservation of tRNA and rRNA 5-methylcytosine in the kingdom Plantae. *BMC Plant Biol*, 2015, 15: 199

Antiviral innate immunity in plant stem cells

LIU YuanZheng¹, ZHU YuXian^{1,2} & PI LiMin¹

1 The Institute For Advanced Studies, Wuhan University, Wuhan 430072, China;

2 College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

doi: [10.1360/SSV-2020-0371](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0371)