植物学通报 *Chinese Bulletin of Botany* 2008, **25** (3): 363–372, www.chinbullbotany.com

·专题介绍·

拟南芥根的辐射形态相关基因 *SHORT-ROOT* 研究进展

高潜[1], 刘玉瑛[1], 费一楠[2], 李大朋[1], 刘祥林[1*]

[1] 首都师范大学生命科学学院, 北京 100037; [2] 中国专利信息中心, 北京 100088

摘要 从模式植物拟南芥中克隆得到的*SHORT-ROOT*基因(*SHR*)被证明参与根部形态建成途径。目前已知*SHR*是与根辐射形态直接相关的重要调控因子, 同时也参与维持根尖分生组织的活性。SHR既作为转录因子启动下游基因的表达, 又作为短程信号调节根的发育。本文综述了SHR相关研究进展, 并展望其研究前景。

关键词 辐射形态, *SHORT-ROOT*, 信号网络, 转录因子

高潜, 刘玉瑛, 费一楠, 李大朋, 刘祥林 (2008). 拟南芥根的辐射形态相关基因 *SHORT-ROOT* 研究进展. 植物学通报 **25**, 363–372.

根是植物重要的营养器官, 它是植物在长期适应陆地生活过程中发展起来的, 担负着吸收水分和营养物质以及使植物固着在基质上的重要作用。根的顶端叫根尖(root tip), 由数目众多的致密细胞组成(Dolan et al., 1994)。植物的根尖依次分为分生区、伸长区和分化区。其中分生区(meristem)的顶端是根的干细胞区域, 与茎尖分生组织(shoot apical meristem, SAM)一样是植物干细胞研究的热点(Nakajima and Benfey, 2002; 徐云远和种康, 2005)。根尖分生组织的中心区域由有丝分裂旺盛的干细胞群组成, 它们是根生长所必需的。由这些细胞共同围绕的静止中心(quiescent center, QC)是根部的干细胞组织中心, 静止中心细胞几乎不分裂, 其作用是提供维持这一干细胞区域的信号(van den Berg et al., 1995; Aida et al., 2004)。其周围的干细胞(stem cell)(也称为起始细胞)随着连续的不对称分裂将新产生的子细胞(daughter cells)推离分生区, 接受新的信号调控后经过严格有序的平周分裂(periclinal division)和垂周分裂(anticlinal division)并逐渐分化为特定的细胞类型(Stahl and Simon, 2005), 从而形成根的各种解剖学形态, 其中包括辐射形态(radial patterning)(Ueda et al., 2005)(图 1)。

大多数植物, 包括公认的模式植物拟南芥的根尖分生组织从横截面上可以看作是由4个同心圆(由外向内分别是表皮层、皮层、内皮层和中柱鞘)共同围绕着的一个圆柱状结构(维管组织)(Benfey and Scheres, 2000)。这一模型的提出把根的三维结构简化成为平面的对称问题。在过去的 10 年里, 研究表明破坏根的辐射形态会导致根生长的停滞, 例如 *SHORT-ROOT*(*SHR*)和 *SCARECROW*(*SCR*)基因突变体的根长都明显短于野生型(Benfey et al., 1993), 组织切片观察也表明它们的内皮层特征消失, 根尖分生组织干细胞活性丧失(di Laurenzio et al., 1996)。*SHR*(AT4G37650)属于 GRAS 转录因子基因家族, 其作用方式和途径已经得到部分揭示。本文将对有关 *SHR* 已取得的研究成果作一综述, 并对其研究前景进行了展望。

1 GRAS转录因子家族

GRAS蛋白家族是高等植物所特有的一大类具有相当保守羧基末端的蛋白质家族, 其长度一般在400-700个氨基酸残基之间, 在烟草、水稻、大麦、矮牵牛和百合等植物中都有发现, 并以其最先被发现的 3 个成员 GAI、RGA 和 SCR 的特征字母命名(di Laurenzio et al., 1996; Peng and Harberd, 1997; Silverstone et al., 1998; Pysh et al., 1999; Czikkel and Maxwell, 2007)。系统进化树分析结果表明, GRAS 家族中至少 33 个成

收稿日期: 2007-08-28; **接受日期**: 2007-11-19

* **通讯作者**。E-mail: xlliu@mail.cnu.edu.cn

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306

员可以被分为7个分支, 分别为DELLA蛋白分支、SCR分支、Ls 分支、HAM 分支、PAT1 分支、SHR 分支和 SCL9 分支(Bolle, 2004)。其保守的羧基末端一般由几个典型的结构组成: LXXLL、7 个亮氨酸重复区 I (LHRI)、NLS、VHIID、7 个亮氨酸重复区 II(LHRII)、PFYRE 和 SAW(Pysh et al., 1999)。LXXLL 基序(motif)是在动物中存在的参与类固醇受体共激活复合体与其核受体结合的元件(Heery et al., 1997; Peng and Harberd, 1997; Torchia et al., 1997; Silverstone et al., 1998)。目前普遍认为 LHRI-VHIID-LHRII 结构是 DNA 结合区(其中 2个 LHR 可能与其它转录因子或蛋白结合, VHIID 则与 DNA 相结合), 因此推测 GRAS 家族具有转录因子活性(Pysh et al., 1999)。特别是其羧基末端具有与非植物体 STAT 家族相似的 DNA 结合结构域, 核定位序列(nuclear localization signal, NLS)分析也更加验证了这一点(Bolle, 2004)。Pysh 等(1999)的研究表明: VHIID 基序是所有 GRAS 家族成员所共有的, 尽管它在序列上不十分保守; 与 VHIID 和 SAW 相比, PFYRE基序的保守程度更低, 其中只有脯氨酸残基绝对保守, 但是所有 GRAS 家族成员在其高级结构上仍然表现出相似性; SAW基序的特征是具有3对绝对保守的氨基酸残基对, 即 R-E、W-G 和 W-W。GRAS 基因家族的重要成员在植物根和茎的生长发育过程中分别发挥着十分重要的作用。例如: 番茄中的 *LS* 基因参与叶腋分生组织形成侧芽(Schumacher et al., 1999); 矮牵牛中的 *HAM* 基因参与了茎尖分生组织的维持(Stuurman et al., 2002); *GAI*(*GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE*)、*RGA*(*REPRESSOR OF GA1-3*)和 *RGL*(*RGA-LIKE*)基因负调控赤霉素的信号转导途径, 使赤霉素对植物茎的伸长作用降低, 其突变导致植物对赤霉素不敏感而呈现矮化(Peng and Harberd, 1997; Silverstone et al., 1998; Lee et al., 2002; Wen and Chang, 2002)。GRAS 家族成员氨基末端的极度不保守正好解释了各分支成员的不同作用, 如DELLA分支成员特有的 DELLA 结构域、VHYNP 结构域和多聚 S/T 位点的丝氨酸残基参与赤霉素诱导的泛素降解过程, 解除了 DELLA 蛋白的负调控作用(Gubler et al., 2002; Itoh et al., 2002; Gomi and Matsuoka, 2003; Fleet and Sun, 2005)。

SHORT-ROOT与其它功能已知的GRAS蛋白序列相似性相对较小, 只具有 VHIID 基序和 PFYRE 基序(Pysh et al., 1999; Helariutta et al., 2000), 因此推测

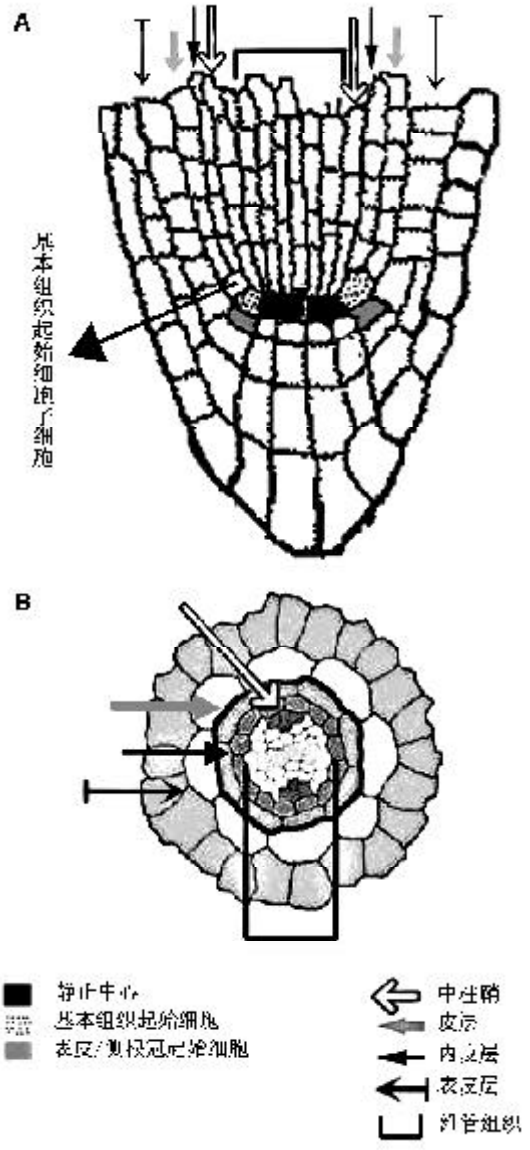


图 1 拟南芥根尖结构示意图(改绘自 Scheres et al., 2002)
(A) 纵截面; **(B) 横截面**

Figure 1 Schematic of Arabidopsis root anatomy (adopted from Scheres et al., 2002)
(A) Longitudinal section view; **(B)** Transverse section view

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306

其在功能上与其它成员有所不同, 成为系统进化树上单独的一个分支(Czikkel and Maxwell, 2007)。

2 *SHORT-ROOT* 基因与基本组织

Benfey 等(1993)利用 T-DNA 插入失活的方法得到了 *short-root*(*shr*)突变体, 此突变体在 1×MS 固体培养基上生长 28-42 天后, 虽然地上部分与野生型(*Col-0*)相似, 但是根部生长明显停止。木栓质染色实验还表明由于 *SHR* 基因的突变导致了凯氏带结构消失(Scheres et al., 1995),取而代之的是具有皮层特征的单层细胞(Nakajima and Benfey, 2002; Sabatini et al., 2003), 暗示了 *SHR* 在基本组织细胞分裂与分化中的重要作用。

拟南芥的 *SHORT-ROOT* 基因(*AtSHR*)在 2000 年被成功克隆, 其编码区全长 1 593 bp, 在根和茎中都能检测到其转录产物(Helariutta et al., 2000)。SHR 具备 GRAS 蛋白家族的特征序列, 细胞核定位揭示了其作为转录因子的可能性, 但是与已知的其它成员在功能上有所不同。

总体来说, 基本组织(ground tissue)细胞包括基本组织起始细胞(或称为干细胞)(initials)、基本组织起始细胞子细胞、皮层(cortex)、中皮层(middle-cortex)和内皮层细胞(endodermis)。基本组织起始细胞进行一次不对称的垂周分裂产生基本组织子细胞, 基本组织子细胞再进行一次不对称的平周分裂而同时产生皮层细胞和内皮层细胞(Scheres et al., 1995)。多数高等植物的根都只有一层内皮层, 皮层的数目则表现出种属间的差异, 这说明植物在内皮层细胞特化方面存在进化上的保守性(Cui et al., 2007)。

2.1 *SHR* 在根发育中的作用

2.1.1 *SHR* 与 *SCR*

AtSHR 的多个突变体(*shr-1*、*shr-2*、*shr-3*、*shr-4* 和 *shr-5*)都表现出根生长减弱和子叶颜色深暗的表型。显微观察拟南芥根尖分生组织, 发现 *shr* 植株的基本组织子细胞不能发生不对称平周分裂, 因此没有产生单独的内皮层和皮层, 而仅有一层类似皮层的细胞(Benfey et al., 1993; Scheres et al., 1995)。GRAS 家族的第 1 个成员 *SCARCROW*(AT3G54220)正常情况下在基本组织子细胞不对称分裂前就有表达, 并且在分裂后的内皮层中持续表达。*scr* 突变株根的基本组织也仅有一层细胞, 但不同于 *shr*, 其兼具内皮层和皮层的特征(Scheres et al., 1995; di Laurenzio et al., 1996; Wysocka-Diller et al., 2000)。这说明在根的辐射形态形成中, *SHR* 和 *SCR* 具有各自的作用。*SCR* 仅参与基本组织子细胞的分裂; *SHR* 则负责内皮层细胞的极性分化和基本组织子细胞的分裂。那么 *SHR* 和 *SCR* 之间有没有联系呢?

scr×*shr* 双突变体植株表现为 *shr* 的表型, 而且原位杂交实验和 GFP 融合实验分别证明在 *scr* 突变体中 *SHR* 的转录和转 *pSHR::GFP* 植株中的 GFP 荧光表达及定位未受到 *SCR* 突变的影响; 反之, *shr* 突变体中 *SCR* 的转录和转 *pSCR::GFP* 植株中的 GFP 荧光表达都明显降低(Wysocka-Diller et al., 2000)。过量表达 *SHR* 的实验中, 在转 *p35S::SHR* 植株的根部根分生组织原本 *SCR* 表达域以外的区域(中柱和根冠除外)中也检测到了 *SCR* 的杂交信号(Helariutta et al., 2000)。相似地, 在转 *pSCR::SHR* 植株中也检测到了多个内皮层的出现(Nakajima et al., 2001)。这些实验结果表明在同一功能途径中 *SHR* 在 *SCR* 上游起作用, 其可以在特定的组织(例如多余的内皮层)中直接诱导 *SCR* 启动子的活性, SHR 和 SCR 都是辐射形态形成的正调控因子。

Sabatini 等(2003)随后发现, 即使在 *shr* 植株内转入 *SCR* 并表达也不能恢复根的生长和根尖分生组织的干细胞活性。另外, *scr* 中能检测到的内皮层特异基因在 *shr* 植株中没有转录, 因此可以推断出根分生组织活性的维持不仅需要 SCR, 还需要其它依赖于 *SHR* 的途径平行地发挥作用(Cui et al., 2007)。在研究植物细胞再生机制过程中, 静止中心被破坏的 *shr*、*scr* 突变体都不能完全再生 QC 细胞, 因而导致这一区域附近的细胞去分化(只有小柱细胞可以再分化), 这也证明 SHR 可以作为细胞命运决定子维持分生组织的活性(Xu et al., 2006)。

在最近的一项研究中, SCR 与 SHR 的关系得到进

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306

一步阐明。Cui 等(2007)采用染色体免疫共沉淀(Chromatin immunoprecitation, ChIP)、酵母双杂交和启动子扫描技术, 揭示了 SCR 与 SHR 在转录因子功能上的相互依赖性, 建立了 SCR/SHR 复合体正反馈调节 SCR 的模型。在这一模型中, SCR 与 SHR 通过 VHIID 基序直接形成二聚体启动下游基因的转录, 同时也激活 *SCR* 自身的转录。

2.1.2 *SHR* 参与基本组织的成熟

在 MS 培养基上生长 14 天左右的拟南芥成熟基本组织由 3 层细胞组成: 内皮层、中皮层和皮层。中皮层细胞是由内皮层远离 QC 区的细胞再次发生不对称平周分裂后, 形成的 2 个子细胞中接近于皮层的那个细胞产生的, 具有皮层细胞的特征(Baum et al., 2002; Paquette and Benfey, 2005)。赤霉素(GA)和 *SCR* 在这一发育途径中起着负调控因子的作用, *SCR*在时空上调控着中皮层细胞的产生, 即防止中皮层提早形成, 并将首先形成的中皮层限制在木质部(Paquette and Benfey, 2005), 但是GA 与*SCR*之间的调控关系还有待进一步研究。在 *shr* 突变体中由于缺乏相应的转录因子, 因此 *SCR* 的负调控作用应该受到抑制, 即中皮层应该提早发生。然而 Paquette 和 Benfey(2005)发现 *shr* 突变体不能产生中皮层, 这表明中皮层的产生依赖于 *SHR* 的存在, 并且这一过程是独立于 *SCR* 的。

2.1.3 *SHR* 与 *SCZ*

根的表皮由生毛体细胞(trichoblast)和非生毛体细胞(atrichoblast)间隔构成(Dolan et al., 1994), 称为根的周缘形态(circumferential patterning)(Ueda et al., 2005)。*SCHIZORIZA*(*SCZ*)基因突变导致伸长区和分化区的基本组织细胞转变成生毛体细胞产生根毛, 并产生额外的基本组织细胞层(Mylona et al., 2002), 这与 *scr* 和 *shr* 突变体细胞层数减少的表型相反。为了验证 *SCZ* 是否在同一途径中起作用, 研究人员还观察到 *scz*×*scr* 和 *scz*×*shr* 2 种双突变体植株中额外的细胞层减少, 表明 *scr* 和 *shr* 抑制了 *scz* 引起的额外平周分裂。这仅能说明*SCR*在基本组织细胞分裂中的作用, 但是进一步的分子机制还未见报道, 特别是 *SHR* 与 *SCZ* 之间的拮抗关系仍然缺乏实验证据。

2.1.4 *SHR* 下游基因

在研究 *SCR* 维持根尖分生组织干细胞活性的作用时发现, 即使在 *shr* 突变体中的静止中心细胞内组成性表达 SCR 仍不能恢复这一干细胞组织中心的功能(Sabatini et al., 2003), 因此在 *SHR*下游应该还有一系列基因平行于 *SCR* 发挥作用。

Levesque等(2006)在对一系列彼此独立的基因芯片结果(包括在*shr*突变体背景下直接诱导表达*SHR*, *SHR* 功能缺失和异位表达 *SHR*)进行后设分析(meta-analysis)后得出, SHR 具有转录因子活性, 其下游可能有 495 个基因受其调控, 其中 106 个基因上调表达, 另外 389个基因下调表达。统计学分析进一步表明有8个基因的调控情况具有高度置信性, 极可能直接被SHR诱导表达。对这 8 个基因的启动区分别单独研究后确定, 其中包括 *SCR* 在内的 4 个基因(*SCARCROW*、*MAGPIE*、*TROPINONE REDUCTASE*、*NUTCRACKER*)可由SHR直接诱导转录, 而另外4个基因还缺乏有力的证据证明它们与 SHR 有直接的调控关系。

Levesque等(2006)经过GO(Gene Ontology, http://www.geneontology.org)分析进一步筛选聚类的特征基因, 总结并按照功能将受SHR间接调控的基因划分为转录因子(46 个)、蛋白质磷酸化酶(40 个)、物质代谢类(111 个)和激酶(37 个)。一般认为大多数转录因子的下游激活因子数目与受其抑制的因子数目大致相等, 而对于 *SHR* 则受抑因子数目(79%)多于被激活因子的数目(21%)。因此总体来说 SHR 很可能主要以抑制子的身份起作用。进一步的研究发现受抑因子中 75% 的基因参与编码受体样激酶(receptor-like kinases, RLKs), 在数量上远远高于被诱导激活的因子数目, 并且一个未知功能的RLK(AT5G67280)(Shiu and Bleecker, 2001)已经被证明直接受到 *SHR* 的调控。RLK 家族显然介导了 *SHR*的信号途径(3个被上调, 29个被下调)(Levesque et al., 2006)。

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306

2.1.5 ***SHR*与植物激素**

上述基因芯片分析结果还提示我们, *SHR*调控的对象跟3类植物激素都有关系。其中4个基因与赤霉素(GA)信号途径有关(*RGL1*、*RGL2*、*GA3* 和 *SNE*); 还有4个与油菜素内酯(BR)的合成、转导和感应有关(*BRL3*、*BIN3*、*CYP90D1* 和 *Br6ox2*), 其中 *BRL3* 被证明参与了根系维管组织分化和侧根发育(Cano-delgado et al., 2004), 与*shr*突变体的维管组织发育缺陷表型十分吻合(Levesque et al., 2006); 更多的是与生长素途径相关的基因, 共12个(*PIN3*、*PIN7*、*CYP79B2*、*SPS* 和 *SU2* 等), 并且都受到了负调控。已知生长素的极性运输在植物根系生长(Fu and Harberd, 2003; Chilley et al., 2006)、向地性(Firml et al., 2002; Ottenschlager et al., 2003)和侧根发生(Bao et al., 2004; Fukaki et al., 2007; Wu et al., 2007)等过程中有着广泛而重要的作用, 因此在生长素信号途径中 *SHR* 可能具有抑制作用。2种DELLA蛋白(RGA和GAI)共同抑制拟南芥根的伸长, 此抑制作用可被赤霉素和生长素所抵消(Fu and Harberd, 2003)。*SHR* 同时调控上述2种激素的信号转导和生物合成, 显示了其在维持干细胞微环境中的重要地位。

此外, 我们通过实时荧光定量PCR实验也检测到细胞分裂素促使 *SHR* 转录水平升高(未发表)。*SHR* 是否如此广泛地参与到多种激素信号转导途径中还有待深入研究。

2.2 SHR在根部细胞间的移动和定位机制

原位杂交实验显示, *SHR*的mRNA分布在中柱结构内除韧皮细胞及其伴胞以外的区域, 而*pSHR::SHR::GFP*和 *pSHR::SHR::GUS* 融合定位实验也证明其翻译产物能扩展到与中柱直接相邻接的所有细胞类型中, 表现为一种细胞间的信号传递, 并且SHR在内皮层中只在细胞核中定位(Helariutta et al., 2000; Nakajima et al., 2001)。以上证据表明 *SHR* 在中柱内转录并翻译, 然后向相邻的细胞层扩散, 最终定位于内皮层细胞核。SHR的这种离向(centrifugal direction)移动与根辐射形态的形成过程十分吻合, 在 *scr* 突变体中仍能观察到SHR-GFP这样的移动方式。这些实验证据说明了SHR在辐射形态的形成中以非细胞自主方式(non-cell-autonomous manner)作用于基本组织原细胞的子细胞。由此不难联想到SHR可能与已发现的KNOTTED1和LEAFY (Lucas et al., 1995; Sessions et al., 2000; Kim et al., 2002, 2003)等转录因子相类似, 以胞间连丝构成的共质体(symplastic)作为被动扩散的通道。进一步的研究发现, 在内皮层中表达的SHR-GFP信号没有出现在中柱细胞内, 而带有核定位序列的SHR-nls-GFP被局限在中柱结构内。在韧皮细胞及其伴胞的特异启动子控制下表达的SHR-GFP融合蛋白也不能移出这一区域(Sena et al., 2004)。也就是说, 不同于KNOTTED1和LEAFY, SHR的移动不仅不是自由扩散, 并且还必须借助于中柱细胞质内未知的转运蛋白或者分子伴侣(Gallagher et al., 2004; Sena et al., 2004), 或者必须克服某些限制其移动的因子。而这与植物中另外一个可移动的转录因子CARPRICE(CPC)类似(Kurata et al., 2005)。

更有意思的是, 在研究 *shr-5* 突变体时发现, SHR的第289位的苏氨酸残基发生错义突变(T>I)以后, 其移动和功能都受到严重影响。转 *pSHR::SHRT>I-GFP* 植株的荧光信号集中在中柱细胞的核内, 内皮层中没有荧光信号, 说明SHR的细胞质定位和移动都与这一突变位点有密切的关系。而且即使借助 *SCR* 的启动子在内皮层细胞核中表达SHRT>I-GFP, 也没有发现转 *pSCR::SHRT>I-GFP* 植株中额外细胞层的产生, 即这一位点也与SHR的功能直接相关(Gallagher et al., 2004)。虽然经过软件预测和与STAT蛋白磷酸化(Hoey and Schindler, 1998)类比分析, 这一位点很可能是一个磷酸化位点, 但是仍缺乏有力的实验证据。

综上所述, SHR若要发挥正常的作用, 既需要从中柱细胞进行出核转运, 同时也需要内皮层中的限制因子, 因此它是一种短程(short-range)信号。

移动到相邻细胞层发挥作用可能只是SHR的作用方式之一。利用组织特异启动子异位表达SHR::GFP融合蛋白的实验显示, 在*WEREWOLF*(*WER*)启动子控制下, 融合蛋白在表皮细胞谱系中表达, 导致了多个额

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306

外细胞层的产生，但是融合蛋白仅在表皮层细胞谱系中出现，而且在*scr-1*背景下也具有额外的细胞层(Sena et al., 2004)。在表皮层异位表达 *SCR* 却没有这种现象(Levesque et al., 2006)，暗示 SHR 在细胞平周分裂过程中似乎还有其它不依赖于 SCR 的作用方式。Sena 等(2004)还观察到 *SHR* 的启动子在韧皮部伴随细胞(companion cells)中转录不活跃，*pSUC2::SHR-GFP*的荧光信号也不能移动到其它相邻的细胞中，也就是说 *SHR* 的转录和移动具有一定的组织特异性。RNAi 实验中 *SCRi* 植株分裂出额外的细胞层，且数目与 *SCR* 的转录水平呈负相关，在内皮层细胞以外的细胞中也观察到 SHR 的出现(Cui et al., 2007)。这些都说明了 SCR 参与了限制 SHR 的移动，即 SHR 与 SCR 形成复合体后就不再具备被转运出细胞核的能力，从而维持了根的辐射形态。在此基础上，Welch 等(2007)进一步鉴定出了参与构成 SCR-SHR 复合体的 C2H2 锌指蛋白、JACKDAW(JKD)和前面提到的 MAGPIE (MGP)。*JKD* 的表达域在 QC、基本组织起始细胞和内皮层细胞。在这些细胞中 JKD 首先通过调控 *SCR* 的表达来间接定位SHR，双分子荧光互补实验(bimolecular fluorescence complementation, BiFC)和酵母双杂交实验也都证明 JKD 与 SHR、SCR 及 JKD 自身存在不同程度的相互作用，但都不如 SHR 与 SCR 的作用那样强。其次，JKD 也能直接参与 SHR 的定位，*jkd* 突变体中 GFP-SHR融合蛋白的细胞核定位受到影响，基本组织也发生额外的平周分裂。而 *mgp-i*×*jkd* 植株中 *jkd* 突变体的大部分表型得到了回复，说明在基本组织中 JKD是通过抑制 SHR 的定位以及依赖于 *SHR*、*SCR* 和 *MGP* 的不对称分裂来维持根的辐射形态的。值得一提的是，尽管水稻 OsSCR1 与 OsSHR1 也存在直接的相互作用，但是 *OsSHR1* 的表达模式不同于 *AtSHR*，暗示着 *SHR* 的功能在进化上也有不保守的一面(Kamiya et al., 2003; Cui et al., 2007)。

2.3 胚胎发育时期的*SHR*

观察 *pSHR::SHR-GFP* 植株中 GFP 荧光信号在胚胎形成时期的表达和定位，发现 SHR-GFP 最早在球形胚晚期的前形成层细胞中开始表达，经过三角胚时期、心形胚时期、鱼雷胚时期的持续表达最终在成熟胚胎的中柱和子叶柄部中心形成 Y 型分布(Helariutta et al., 2000)。这些证据说明 SHR 对于植物根、茎、叶维管组织形成的促进作用很早就已经建立。*SHR* 下游的2个基因，*MGP*和*SCR*也在球形胚时期的基本组织细胞原中开始表达，*SCR*随后持续在基本组织和前静止中心细胞中出现(Wysocka-Diller et al., 2000)，而 *MGP* 仅出现在基本组织中(Welch et al., 2007)。从鱼雷胚阶段开始，已经可以分辨出与成熟胚胎相类似的辐射形态，因此 SHR 与 SCR 的相互作用很可能也在胚胎发育早期建立，同样以非细胞自主方式发挥作用。

3 小结与展望

植物细胞的命运主要由其周围细胞发出的信号共同决定(Stahl and Simon, 2005)，然而对这些信号的作用机理和生物学本质知之甚少。近 10 年来，对于 *SHR* 的功能研究有了突破性进展，但是关于*SHR*在干细胞维持中的作用及其参与的下游信号途径仍然不明晰，而且其翻译产物的移动通道也有待进一步阐明。

植物的分生组织一直是细胞生物学研究的热点。早先认为植物根尖分生组织和茎尖分生组织分别由不同的信号网络调控(Laux, 2003)。在茎尖分生组织中，WUS与CLE的反馈调节环参与决定了干细胞命运(徐云远和种康, 2005)。*WUS* 是 *WOX* 转录因子家族的成员，其中 *WOX5* 在胚胎发育时期的静止中心前体中特异表达(Haecker et al., 2003)。*wox5-1* 突变体中 QC 及其周围的干细胞异常膨大且部分发生分化，而且在 *shr* 和 *scr* 背景下 *WOX5* 低水平表达(Sarkar et al., 2007)，因此可以推测根尖分生组织可能与茎尖分生组织有着相似的信号调控网络(Stahl and Simon, 2005)。但是 WUS 重要的反馈抑制因子CLE中只检测到了CLV2在根尖中的表达(Birnbaum et al., 2003)，不足以构成反馈调节环，可能还有未知因子起到了类似的作用(Fiers et al., 2005)，因此证实上述猜测还需要更多的线索。Benfey 实验室不仅利用基因芯片对 QC 特异的基因进行了高通

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306

量筛选(Nawy et al., 2005), 还通过后设分析提出了大量可能的 *SHR* 下游基因(Levesque et al., 2006)。Aida 等(2004)提出了 Auxin-*PLETHORA*-*SHR* 模型, 认为生长素参与激活转录因子 PLT, 再与 SHR 及其下游的 SCR 共同维持了分生组织的干细胞微环境。其中很可能还有其它激素发挥了作用(Long and Benfey, 2006)。围绕这一模型展开研究可能有助于揭示这一复杂的信号调控网络。

作为在细胞间移动的大分子, SHR在分子大小和功能上都不简单等同于已知的植物多肽信号(李琛等, 2006), 它更多地被看作可移动的转录因子(Nakajima et al., 2001; 王建国等, 2007)。众多谜题仍在等待解答, 如 SHR 通过什么途径促使胞间连丝打开?又是什么辅助了它的定向移动?是否具有未曾发现的信号肽序列?

要解答上述问题, 除了解析 SHR 的晶体结构, 还必须借助新的研究手段, 特别是分离出特定的细胞群(Nawy et al., 2005)以及利用激光切除技术(Reinhardt et al., 2003; Xu et al., 2006)。

总之, 细胞信号转导是一个复杂的分子和生理过程, 涉及纷繁芜杂的调控网络。传统的生物化学、分子生物学、正向遗传学与新兴的生物信息学、后基因组学相结合将帮助我们获得更多信息。

参考文献

李琛, 宋秀芬, 刘春明 (2006). 高等植物中的多肽激素. 植物学通报 **23**, 584-594.

王建国, 宋喜娥, 李润植 (2007). 植物转录因子的胞间运动. 细胞生物学杂志 **29**, 56-60.

徐云远, 种康 (2005). 植物干细胞决定基因 *WUS* 的研究进展. 植物生理与分子生物学学报 **31**, 461-468.

Aida M, Beis D, Heidstra R, Willemsen V, Blilou I, Galinha C, Nussaume L, Noh YS, Amasino R, Scheres B (2004). The *PLETHORA* genes mediate patterning of the Arabidopsis root stem cell niche. *Cell* **119**, 109-120.

Bao F, Shen J, Brady SR, Muday GK, Asami T, Yang Z (2004). Brassinosteroids interact with auxin to promote lateral root development in Arabidopsis. *Plant Physiol* **134**, 1624-1631.

Baum SF, Dubrovsky JG, Rost TL (2002). Apical organization and maturation of the cortex and vascular cylinder in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) roots. *Am J Bot* **89**, 908-920.

Benfey PN, Linstead PJ, Roberts K, Schiefelbein JW, Hauser MT, Aeschbacher RA (1993). Root development in Arabidopsis: four mutants with dramatically altered root morphogenesis. *Development* **119**, 57-70.

Benfey PN, Scheres B (2000). Root development. *Curr Biol* **10**, R813-R815.

Birnbaum K, Shasha DE, Wang JY, Jung JW, Lambert GM, Galbraith DW, Benfey PN (2003). A gene expression map of the Arabidopsis root. *Science* **302**, 1956-1960.

Bolle C (2004). The role of GRAS proteins in plant signal transduction and development. *Planta* **218**, 683-692.

Cano-Delgado A, Yin Y, Yu C, Vafeados D, Mora-Garcia S, Cheng JC, Nam KH, Li J, Chory J (2004). BRL1 and BRL3 are novel brassinosteroid receptors that function in vascular differentiation in Arabidopsis. *Development* **131**, 5341-5351.

Chilley PM, Casson SA, Tarkowski P, Hawkins N, Wang KL, Hussey PJ, Beale M, Ecker JR, Sandberg GK, Lindsey K (2006). The POLARIS peptide of Arabidopsis regulates auxin transport and root growth via effects on ethylene signaling. *Plant Cell* **18**, 3058-3072.

Cui H, Levesque MP, Vernoux T, Jung JW, Paquette AJ, Gallagher KL, Wang JY, Blilou I, Scheres B, Benfey PN (2007). An evolutionarily conserved mechanism delimiting SHR movement defines a single layer of endodermis in plants. *Science* **316**, 421-425.

Czikkel BE, Maxwell DP (2007). *NtGRAS1*, a novel stress-induced member of the GRAS family in tobacco, localizes to the nucleus. *J Plant Physiol* **164**, 1220-1230.

di Laurenzio L, Wysocka-Diller J, Malamy JE, Pysh L, Helariutta Y, Freshour G, Hahn MG, Feldmann KA, Benfey PN (1996). The *SCARECROW* gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the Arabidopsis root. *Cell* **86**, 423-433.

Dolan L, Duckett MD, Grierson C, Linstead P, Schneider K, Lawson E, Dean C, Poethig S, Roberts K (1994). Clonal relationships and cell patterning in the root epidermis of Arabidopsis. *Development* **120**, 2465-2474.

Fiers M, Golemiec E, Xu J, van der Geest L, Heidstra R, Stiekema W, Liu CM (2005). The 14-amino acid CLV3, CLE19, and CLE40 peptides trigger consumption of the root meristem in Arabidopsis through a CLAVATA2-dependent pathway. *Plant Cell* **17**, 2542-2553.

Fleet CM, Sun TP (2005). A DELLAcate balance: the role of

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306

gibberellin in plant morphogenesis. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 77-85.

Firml J, Wisniewska J, Benkova E, Mendgen K, Palme K (2002). Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in Arabidopsis. *Nature* **415**, 806-809.

Fu X, Harberd NP (2003). Auxin promotes Arabidopsis root growth by modulating gibberellin response. *Nature* **421**, 740-743.

Fukaki H, Okushima Y, Tasaka M (2007). Auxin-mediated lateral root formation in higher plants. *Int Rev Cytol* **256**, 111-137.

Gallagher KL, Paquette AJ, Nakajima K, Benfey PN (2004). Mechanisms regulating *SHORT-ROOT* intercellular movement. *Curr Biol* **14**, 1847-1851.

Gomi K, Matsuoka M (2003). Gibberellin signaling pathway. *Curr Opin Plant Biol* **6**, 489-493.

Gubler F, Chandler PM, White RG, Llewellyn DJ, Jacobsen JV (2002). Gibberellin signaling in barley aleurone cells. Control of *SLN1* and *GAMYB* expression. *Plant Physiol* **129**, 191-200.

Haecker A, Groß-Hardt R, Geiges B, Sarkar A, Breuninger H, Herrmann M, Laux T (2003). Expression dynamics of *WOX* genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Development* **131**, 657-668.

Heery DM, Kalkhoven E, Hoare S, Parker MG (1997). A signature motif in transcriptional co-activators mediates binding to nuclear receptors. *Nature* **387**, 733-736.

Helariutta Y, Fukaki H, Wysocka-Diller J, Nakajima K, Jung J, Sena G, Hauser MT, Benfey PN (2000). The *SHORT-ROOT* gene controls radial patterning of the Arabidopsis root through radial signaling. *Cell* **101**, 555-567.

Hoey T, Schindler U (1998). STAT structure and function in signaling. *Curr Opin Genet Dev* **8**, 582-587.

Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sato Y, Ashikari M, Matsuoka M (2002). The gibberellin signaling pathway is regulated by the appearance and disappearance of *SLENDER RICE1* in nuclei. *Plant Cell* **14**, 57-70.

Kamiya N, Itoh J, Morikami A, Nagato Y, Matsuoka M (2003). The *SCARECROW* gene's role in asymmetric cell divisions in rice plants. *Plant J* **36**, 45-54.

Kim JY, Yuan Z, Cilia M, Khalfan-Jagani Z, Jackson D (2002). Intercellular trafficking of a KNOTTED1 green fluorescent protein fusion in the leaf and shoot meristem of Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 4103-4108.

Kim JY, Yuan Z, Jackson D (2003). Developmental regulation and significance of KNOX protein trafficking in Arabidopsis. *Development* **130**, 4351-4362.

Kurata T, Ishida T, Kawabata-Awai C, Noguchi M, Hattori S, Sano R, Nagasaka R, Tominaga R, Koshino-Kimura Y, Kato T, Sato S, Tabata S, Okada K, Wada T (2005). Cell-to-cell movement of the CAPRICE protein in Arabidopsis root epidermal cell differentiation. *Development* **132**, 5387-5398.

Laux T (2003). The stem cell concept in plants: a matter of debate. *Cell* **113**, 281-283.

Lee S, Cheng H, King KE, Wang W, He Y, Hussain A, Lo J, Harberd NP, Peng J (2002). Gibberellin regulates Arabidopsis seed germination via *RGL2*, *a GAI/RGA-like* gene whose expression is up-regulated following imbibition. *Genes Dev* **16**, 646-658.

Levesque MP, Vernoux T, Busch W, Cui H, Wang JY, Blilou I, Hassan H, Nakajima K, Matsumoto N, Lohmann JU, Scheres B, Benfey PN (2006). Whole-genome analysis of the *SHORT-ROOT* developmental pathway in Arabidopsis. *PLoS Biol* **4**, 0739-0752.

Long TA, Benfey PN (2006). Transcription factors and hormones: new insights into plant cell differentiation. *Curr Opin Cell Biol* **18**, 710-714.

Lucas WJ, Bouche-Pillon S, Jackson DP, Nguyen L, Baker L, Ding B, Hake S (1995). Selective trafficking of KNOTTED1 homeodomain protein and its mRNA through plasmodesmata. *Science* **270**, 1980-1983.

Mylona P, Linstead P, Martienssen R, Dolan L (2002). *SCHIZORIZA* controls an asymmetric cell division and restricts epidermal identity in the Arabidopsis root. *Development* **129**, 4327-4334.

Nakajima K, Sena G, Nawy T, Benfey PN (2001). Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning. *Nature* **413**, 307-311.

Nakajima K, Benfey PN (2002). Signaling in and out: control of cell division and differentiation in the shoot and root. *Plant Cell* **14**, S265-S276.

Nawy T, Lee JY, Colinas J, Wang JY, Thongrod SC, Malamy JE, Birnbaum K, Benfey PN (2005). Transcriptional profile of the Arabidopsis root quiescent center. *Plant Cell* **17**, 1908-1925.

Ottenschlager I, Wolff P, Wolverton C, Bhalerao RP, Sandberg G, Ishikawa H, Evans M, Palme K (2003). Gravity-regulated differential auxin transport from columella to lateral root cap cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 2987-2991.

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306

Paquette AJ, Benfey PN (2005). Maturation of the ground tissue of the root is regulated by gibberellin and *SCARECROW* and requires *SHORT-ROOT*. *Plant Physiol* **138**, 636-640.

Peng J, Harberd NP (1997). Gibberellin deficiency and response mutations suppress the stem elongation phenotype of phytochrome-deficient mutants of Arabidopsis. *Plant Physiol* **113**, 1051-1058.

Pysh LD, Wysocka-Diller JW, Camilleri C, Bouchez D, Benfey PN (1999). The *GRAS* gene family in Arabidopsis: sequence characterization and basic expression analysis of the *SCARECROW-LIKE* genes. *Plant J* **18**, 111-119.

Reinhardt D, Frenz M, Mandel T, Kuhlemeier C (2003). Microsurgical and laser ablation analysis of interactions between the zones and layers of the tomato shoot apical meristem. *Development* **130**, 4073-4083.

Sabatini S, Heidstra R, Wildwater M, Scheres B (2003). *SCARECROW* is involved in positioning the stem cell niche in the Arabidopsis root meristem. *Genes Dev* **17**, 354-358.

Sarkar AK, Luijten M, Miyashima S, Lenhard M, Hashimoto T, Nakajima K, Scheres B, Heidstra R, Laux T (2007). Conserved factors regulate signaling in *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers. *Nature* **446**, 811-814.

Scheres B, di Laurenzio L, Willemsen V, Hauser MT, Janmaat K, Weisbeek P, Benfey PN (1995). Mutations affecting the radial organisation of the Arabidopsis root display specific defects throughout the embryonic axis. *Development* **121**, 53-62.

Scheres B, Benfey PN, Dolan L (2002). Root development. In: Somerville CR, Meyerowitz EM, eds. The Arabidopsis Book. Rockville, MD: American Society of Plant Biologists. http://www.aspb.org/publications/arabidopsis/toc.cfm (21 October 2005).

Schumacher K, Schmitt T, Rossberg M, Schmitz G, Theres K (1999). The lateral suppressor (*Ls*) gene of tomato encodes a new member of the VHIID protein family. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 290-295.

Sena G, Jung JW, Benfey PN (2004). A broad competence to respond to *SHORT-ROOT* revealed by tissue-specific ectopic expression. *Development* **131**, 2817-2826.

Sessions A, Yanofsky MF, Weigel D (2000). Cell-cell signaling and movement by the floral transcription factors LEAFY and APETALA1. *Science* **289**, 779-782.

Shiu SH, Bleecker AB (2001). Receptor-like kinases from Arabidopsis form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 10763-10768.

Silverstone AL, Ciampaglio CN, Sun T (1998). The Arabidopsis *RGA* gene encodes a transcriptional regulator repressing the gibberellin signal transduction pathway. *Plant Cell* **10**, 155-169.

Stahl Y, Simon R (2005). Plant stem cell niches. *Int J Dev Biol* **49**, 479-489.

Stuurman J, Jaggi F, Kuhlemeier C (2002). Shoot meristem maintenance is controlled by a *GRAS*-gene mediated signal from differentiating cells. *Genes Dev* **16**, 2213-2218.

Torchia J, Rose DW, Inostroza J, Kamei Y, Westin S, Glass CK, Rosenfeld MG (1997). The transcriptional co-activator p/CIP binds CBP and mediates nuclear-receptor function. *Nature* **387**, 677-684.

Ueda M, Koshino-Kimura Y, Okada K (2005). Stepwise understanding of root development. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 71-76.

van den Berg C, Willemsen V, Hage W, Weisbeek P, Scheres B (1995). Cell fate in the Arabidopsis root meristem determined by directional signaling. *Nature* **378**, 62-65.

Welch D, Hassan H, Blilou I, Immink R, Heidstra R, Scheres B (2007). Arabidopsis JACKDAW and MAGPIE zinc finger proteins delimit asymmetric cell division and stabilize tissue boundaries by restricting *SHORT-ROOT* action. *Genes Dev* **21**, 2196-2204.

Wen CK, Chang C (2002). Arabidopsis *RGL1* encodes a negative regulator of gibberellin responses. *Plant Cell* **14**, 87-100.

Wu G, Lewis DR, Spalding EP (2007). Mutations in Arabidopsis multidrug resistance-like ABC transporters separate the roles of acropetal and basipetal auxin transport in lateral root development. *Plant Cell* **19**, 1826-1837.

Wysocka-Diller JW, Helariutta Y, Fukaki H, Malamy JE, Benfey PN (2000). Molecular analysis of *SCARECROW* function reveals a radial patterning mechanism common to root and shoot. *Development* **127**, 595-603.

Xu J, Hofhuis H, Heidstra R, Sauer M, Friml J, Scheres B (2006). A molecular framework for plant regeneration. *Science* **311**, 385-388.

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306

Research Advances into the Root Radial Patterning Gene *SHORT-ROOT*

Qian Gao[1], Yuying Liu[1], Yinan Fei[2], Dapeng Li[1], Xianglin Liu[1]*

[1]*College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100037, China*
[2]*China Patent Information Center, Beijing 100088, China*

Abstract The *SHORT-ROOT* (*SHR*) gene, first cloned from *Arabidopsis thaliana*, is a key regulator not only in root radial patterning but also in root meristem maintenance. Currently, SHR is characterized as both a transcription factor for activating downstream gene expression and a short-range signal for modulating root development. In this paper, we review recent research and provide prospective views of this field.

Key words radial patterning, *SHORT-ROOT*, signaling network, transcription factor

Gao Q, Liu YY, Fei YN, Li DP, Liu XL (2008). Research advances into the root radial patterning gene *SHORT-ROOT*. *Chin Bull Bot* **25**, 363–372.

* Author for correspondence. E-mail: xlliu@mail.cnu.edu.cn

(**责任编辑**: **刘慧君**)

新书介绍

《MicroRNA研究方法》(导读版)

原著: John J. Rossi, Gregory J. Hannon

导读: **屈良鹄**

MicroRNA**在动植物的生长、发育、分化、生殖等生理过程中发挥着重要的作用，本书由科学出版社出版，是最新的关于**microRNA**研究的方法学专著(定价**: 88.00**元)。两位主编**, John J. Rossi**博士和**Gregory J. Hannon**博士，分别来自美国加州生物科学研究所&贝克曼研究所和美国冷泉港实验室，他们都是**RNA**干扰领域的知名专家。参与编写的**34**位作者分别来自不同国家的**13**个研究小组，在**microRNA**研究的各个领域取得过突破性成果。本书的**13**个章节分别介绍了这**13**个研究小组所做的部分工作及取得的成果，并以他们的研究为主线，系统地汇集了其他研究小组的重要研究成果和主要研究方法。**

药物研究中的蛋白质组学(译)

原著: M.**哈马驰等**

翻译: **周兴茹，裴端卿等**

本书由科学出版社最新出版(定价: 58.00**元)，介绍了最传统的蛋白质二维凝胶电泳、质谱、液相色谱、芯片等蛋白质组学技术的基本原理，以及这些技术相互之间的综合运用，同时详细介绍了它们在具体研究领域中的应用和进展。**

本书探讨的关键问题不是蛋白质组学本身，而是其在药物研发中的应用。它不是一本介绍具体的蛋白质组学技术的工具书，而是一本指引药物研发工作者如何以蛋白质组学技术为工具，达到新药开发目的的概要性教科书。书中不仅包括科学内容，还用一定篇幅介绍了科研工作中必需的管理性知识，它先从管理到技术，再到应用，再回到管理，是一套完整的以蛋白质组技术进行药物开发的知识体系。

本书适用于生命科学相关专业，特别是生物化学、分子生物学、药学和基础医学专业的研究生、科研和教学人员参考。

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t27-306