

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.180653

张科, 郭鑫鑫, 刘西岗, 郭琳. 植物花分生组织终止发育机制的研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(10): 1573–1584

ZHANG K, GUO X X, LIU X G, GUO L. Advances in research on floral meristem determinacy mechanisms in plants[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(10): 1573–1584

植物花分生组织终止发育机制的研究进展*

张科^{1†}, 郭鑫鑫^{1,2†}, 刘西岗¹, 郭琳^{1**}

(1. 中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心 石家庄 050022; 2. 中国科学院大学 北京 100049)

摘要: 植物花的发育依赖于花分生组织(floral meristem, FM)活性的维持与分化。当 FM 完成各轮花器官原基的起始后, 其活性会程序性地终止(termination), 这个过程就是 FM 的终止发育过程(FM determinacy)。FM 的终止发育是一个复杂精细且多步骤的调控过程。WUSCHEL(WUS)是一个具有同源异型结构域(homeodomain)的转录因子, 其对 FM 的活性维持及终止发育发挥着重要作用。越来越多的研究表明许多转录因子以及环境信号、激素信号和表观遗传相关因子通过对 WUS 及其调节基因的调控来影响 FM 终止发育过程。本研究组首次在组织水平阐明了生长素和细胞分裂素调控 FM 活性的分子机制: AUXIN RESPONSE FACTOR3(ARF3)能够整合 AG、APETALA2(AP2)和生长素(auxin)的信号通过抑制细胞分裂素(cytokinin)信号系统调控 FM 终止发育; 还首次证实光信号对 FM 活性调控的分子机制: FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL3(FHY3)通过 PHYTOCHROME A(PHYA)信号途径介导光信号对 WUS 表达的调控; 在基因水平上首次揭示了染色质构象变化对 FM 终止发育的调控作用: AGAMOUS(AG)可以直接结合到 WUS 的调控区并招募 PcG 蛋白对 WUS5'-TSS 和 WUS3'-CRE 的结合, 以介导 WUS 染色质环状结构(chromatin loop)的形成, 进而抑制 WUS 的转录, 而 DNA TOPOISOMERASE 1 TOP1 α (TOP1 α)对染色质的高级结构的重塑作用也是该染色质环形成的基础。随着 3D 基因组(three dimensional genomics)时代的到来为我们进一步理解 FM 终止发育机制提供了新的窗口, 而 FM 终止发育机制在农业生产上的运用也体现了其巨大的应用价值。本文首先简述了拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)花发育研究的发展史, 介绍了花发育相关领域所关心的 3 个科学问题, 并着重阐述了 FM 终止发育调控的研究进展与前景。

关键词: 花分生组织; 终止发育; WUS; 环境信号; 激素信号; 表观遗传

中图分类号: Q756 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2018)10-1573-12

Advances in research on floral meristem determinacy mechanisms in plants*

ZHANG Ke^{1†}, GUO Xinxin^{1,2†}, LIU Xigang¹, GUO Lin^{1**}

(1. Center for Agricultural Resources Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Shijiazhuang 050022, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In higher plants, plant tissues and organs are generated from meristems. Shoot apical meristem (SAM) gives rise to all of

* 国家自然科学基金项目(31701423)、河北省重点方向培育项目(ZZKT201601)和中国科学院遗传与发育生物学研究所植物细胞与染色体工程国家重点实验室项目(PCCE-KF-2018-04)资助

** 通信作者: 郭琳, 主要研究方向为植物遗传与表观遗传学。E-mail: guolin@sjziam.ac.cn

† 同等贡献者: 张科, 主要研究方向为植物遗传发育与作物栽培, E-mail: zhangke0126@163.com; 郭鑫鑫, 主要研究方向为植物遗传学, E-mail: guoxinxin16@mails.ucas.ac.cn

收稿日期: 2018-07-03 接受日期: 2018-07-16

* Supported by the National Natural Science Foundation of China (31701423), the Training Program of Key Direction of Hebei Province (ZZKT201601) and the State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences (PCCE-KF-2018-04)

** Corresponding author, E-mail: guolin@sjziam.ac.cn

† Equal contributors

Received Jul. 3, 2018; accepted Jul. 16, 2018

the aboveground parts for the entire life of plant through continuous production of new organ primordial, including floral meristem (FM) which finally develops as flowers. Floral development is based on the balance between FM meristem maintenance and termination. At the initial stage, floral stem cells proliferate and produce defined number of floral organs based on the “ABC model” rules. At this stage, FM activity is maintained mainly by *CLV* (*CLAVATA*)-*WUSCHEL* (*WUS*) feedback loop. *WUS* encodes a homeodomain containing protein. It promotes stem cell marker gene *CLV3* expression when *WUS* expression is low. It also inhibits *CLV3* expression when *WUS* expression is high. Thus FM activity is maintained and can promote initiation of floral organs. However, after two carpels primordia initiation, FM activity is terminated in a process called FM determinacy. FM determinacy is a dynamic and multi-step process in which *WUS* plays a central role. *WUS* expression is regulated by many transcription factors related to floral organ identity [*AGAMOUS* (*AG*), *APETALA2* (*AP2*) and *SUPERMAN*], environmental signals (light, temperature, etc.), plant hormones (auxin, cytokinin, gibberellin, etc.) and epigenetic-related factors (histone modification, chromatin remodeling, non-coding RNA, DNA methylation, etc.). Using model plant *Arabidopsis*, our study noted that *AG* terminates FM maintenance by directly repressing *WUS* through chromatin higher structure (chromatin loop), formed by *AG* and one of Polycomb Group components *TERMINAL FLOWER2/LIKE HETEROCHROMATIN PROTEIN1* (*TFL2/LHP1*); binding to *WUS5'*-TSS (transcription start site) and *WUS3'*-CRE (cis-regulatory element). DNA TOPOISOMERASE 1 (*TOP1 α*) inhibited *WUS* expression by modulating *WUS* nucleosome density to inhibit DNA accessibility, which also participated in the progress. *AUXIN RESPONSE FACTOR3* (*ARF3*) induced by auxin regulated FM determinacy by repressing cytokinin biosynthesis [inhibiting cytokinin synthesis genes *ISOPENTENYLTRANSFERASE* (*IPTs*) and *LONELY GUY* (*LOGs*)] and signaling [inhibiting cytokinin receptor gene *ARABIDOPSIS HISTIDINE KINASE4* (*AHK4*)], which clarified how auxin and cytokinin integrated to regulate FM activity; *FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL 3* (*FHY3*) activated *SEPALLATA2*, but inhibited *CLAVATA3* to regulate meristem determinacy and maintenance, which shed light on how light affected meristem activity. As 3D (3-dimensional) genome organization technology developed, the importance of the impact of chromatin structure on gene expression was realized and more techniques were developed and improved. Using the newly reported methods, FM determinacy mechanism required further in-depth studies. What was more was that since plant FM determinacy was regulated precisely and accurately, any defects in FM determinacy affected seed development. Exploitation of FM determinacy mechanism had the potential to importantly contribute to agricultural production, which was helpful for ensuring reproductive success, seed development and yield of agricultural crops (maize, tomato, etc.). In this review, we gave a short introduction on floral organ identity in *Arabidopsis thaliana* and the mechanism of meristem maintenance and differentiation. Then we mainly focused on FM determinacy, including some recent studies by our group. Finally, we advanced the application of fundamental studies in crop yields and further prospects for research.

Keywords: Floral meristem; Determinacy; *WUS*; Environmental signal; Plant hormone; Epigenetics

20 世纪 80 年代初, 随着拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 作为模式植物的优势逐渐被人们认可^[1], 人们对植物花发育机制的研究也揭开了序幕。通过对拟南芥诱变筛选, 很多与花器官的决定以及发生位置相关的突变体被陆续发现^[2-3]。1991 年, Bowman 和 Meyerowitz^[4] 博士通过对这些花发育突变体进行遗传分析提出了经典的“ABC 模型”: 拟南芥四轮花器官的起始分化(花萼、花瓣、雄蕊和心皮)分别被 A(*AP2*)、B(*APETALA3* 和 *PISTILLATA*, *AP3/P1*) 和 C(*AG3*) 组基因所控制; 每一类基因分别在相邻的两轮花器官中表达, 并控制所在轮次花器官的形态建成; 此外 A 类基因与 C 类基因间存在着相互拮抗作用^[4-5], 这个理论为我们更好地理解花发育及其形态建成提供了基本的模型^[6]。

20 世纪 80 年代末, 拟南芥中根癌农杆菌介导的 T-DNA 对拟南芥进行的遗传转化体系的建立^[7]、首个 RFLP 图谱的绘制^[8]以及基于 T-DNA 插入和基因组图谱的基因克隆方法的建立^[9-10]为 2000 年后分子

生物学的迅猛发展和花发育分子调控机制的研究提供了基础。

花发育机制的研究主要围绕着 3 个科学问题展开: 1) 花器官决定及形态建成机制; 2) 分生组织的维持与分化机制; 3) 花分生组织活性终止发育的调控机制。本文介绍了拟南芥花发育研究领域的 3 个主要科学问题, 并重点综述了拟南芥 FM 终止发育过程中所受到不同层次调控的机制, 同时展望该领域的未来研究趋势。

1 花器官决定及形态建成机制

早期研究中大量的参与花器官形态建成的突变体被发现^[3], 随着这些基因被陆续的克隆定位, 它们的时空表达模式和分子调控机制也相继被解析。“ABC 模型”也逐渐被完善: 除 *AP2* 外, 所有 A、B 和 C 基因都是 MADS 转录因子^[11]; *API* 被归为 A 类基因^[12-13], 此外有 4 个 MADS 基因(*SEPALLATAs*) 被归为新的一类基因, 即 E 类基因, 进而发展出了

“ABCE 模型”^[14-15]; A、B 和 C 3 类基因均需要 E 类基因的参与才能发挥功能; *AP2* 既能够被 miRNA 调控, 又可以负调控参与 3 轮和 4 轮花器官形成建成的 *AG*^[16-18]。

遗传学研究同时发现这些同源异型基因除调控花器官的发生外, 还可调控 FM 的活性, 如 *AG* 不仅特异地调控雄蕊和心皮的决定(organ identity), 还能促进 FM 活性的终止发育^[2,4,19-21]; *AP2* 除调控萼片和花瓣的决定外, 还能增强 *AG* 完全缺失突变体 *ag-1* 的花中花表型, 暗示其也可以调控 FM 活性^[22]。

2 分生组织的维持与分化机制

分生组织活性的维持与分化依赖于源自周围细胞的各种外源信号及内部基因的协同调控。其中 *WUSCHEL(WUS)-CLAVATA(CLV)* 构成的反馈调节回路对干细胞活性的维持起着重要作用^[23]。WUS 是具有同源异型结构域的转录因子, 在顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM)和花序分生组织(inflorescence, IM)的组织中心区(organizing center, OC)表达, 并可以通过细胞间迁移扩散到分生组织的前 3 层细胞中, 即中心区(central zone, CZ)^[24-28]。WUS 可以促进干细胞的增殖, 维持分生组织干细胞活性。*wus-1* 突变体丧失顶端优势, 在萌发 1 周后由于缺少足够的干细胞仍没有真叶产生^[29]; 相反, 异位表达 *WUS* 基因可以使体细胞转变成干细胞而发育出新的器官原基, 甚至把根细胞转化成叶原基细胞^[30-31], 从而证明 WUS 具有诱导植物干细胞产生的作用。Rodriguez 等^[25]证明 WUS 的空间分布模式受到复杂而精细的调控; WUS 蛋白 C-端 63 个氨基酸对其维持正常的空间分布模式是必需的, 其中 WUS-box 负责 WUS 蛋白在核内驻留, 而 EAR-like 参与 WUS 蛋白的向核外输出的过程。*CLV3* 是分生组织干细胞的标记基因, 编码一个多肽作为信号分子扩散到 OC 区, 并与该区域定位在细胞膜上的 *CLV1-CLV2* 所形成的受体结合, 经过信号转导最终抑制 *WUS* 的表达^[32-33]。WUS 对 *CLV3* 的调控作用依赖于自身的浓度, 即高浓度抑制 *CLV3* 的转录而低浓度激活 *CLV3* 的转录^[34-35]。Perales 等^[34]发现, WUS 能与 *CLV3* 调控区内多个顺式作用元件结合, 并且对这些元件有不同的亲和力, 较低浓度的 WUS 以单体形式与 *CLV3* 的顺式作用元件结合, 而较高浓度的 WUS 以二聚体的形式与 *CLV3* 的顺式作用元件结合。

这样 *WUS-CLV* 就形成了一个负反馈调节回路,

即 *CLV3* 的表达能够抑制 *WUS* 的表达, 而 *WUS* 下调表达又会导致 *CLV3* 表达的下降从而缓解 *CLV3* 对 *WUS* 的抑制作用, 通过这样的反馈调节机制调控干细胞增殖和分化的动态平衡^[23]。所以在花发育过程中, *WUS* 的作用至关重要, 它的表达必须在时间和空间上受到精确控制。

3 花干细胞活性的终止调节

花发育过程中, 当各轮次花器官发育起始后 FM 活性将适时地终止, 这个过程就是 FM 的终止发育过程, 该过程是花发育成熟的保证, 也是植物胚胎发育及世代交替的前提。*WUS* 是维持分生组织干细胞活性的关键基因, 因此植物对于 FM 活性的调控就主要体现在对 *WUS* 表达模式的调控上。在花发育第 6 期时各轮花器官原基起始完成, 植物会通过不同层次的调控方式来终止 *WUS* 的表达, 进而终止 FM 的活性^[21,36-39]。FM 的终止发育是一个十分复杂的调控过程, 受到不同因素的影响, 如花发育相关基因、环境信号、激素信号和表观遗传学等。

3.1 花器官决定基因对 FM 活性的调控

3.1.1 AG 信号途径对 FM 活性的调控

AG 可以对 *WUS* 表达进行直接调控。在花发育的第 3 期, *AG* 在 *WUS* 与开花起始因子 *LEAFY(LFY)* 协同作用下被激活表达; 第 6 期时, *AG* 通过关闭 *WUS* 表达进而终止 FM 活性, 其是 FM 终止发育主要的调控因子之一^[21,36]。在 *AG* 的完全缺失突变体 *ag-1* 中由于 *WUS* 没能适时地终止表达而导致严重的 FM 缺陷, 即形成重复的萼片-花瓣-花瓣的花中花表型^[36,40]。

Liu 等^[39]发现 *AG* 能够直接结合到 *WUS* 的转录起始位点(TSS), 即 *WUS5'-TSS*, 以及下游非翻译区 *WUS3'-CRE*, 其包含两个 CArG 元件。*AG* 可能通过在这两个区域招募 PcG 蛋白 *TERMINAL FLOWER2 (TFL2)* 来调控组蛋白甲基化修饰状态, 最终影响 *WUS* 的表达; 随后的研究表明拟南芥中 DNA 拓扑异构酶 *DNA TOPOISOMERASE 1 TOP1α (TOP1α)* 可以通过影响 *WUS* 位点核小体的组装及密度进而影响 *AG* 对于 *WUS* 位点的结合^[41]。最新的研究证明 *AG* 和 *TFL2* 可以直接相互作用在花发育时可以促进 *WUS* 位点染色质环的形成进而抑制 *WUS* 基因表达^[42]。

AG 还可以对 *WUS* 表达进行间接调控。虽然 *AG* 对于 *WUS* 表达的关闭是必需的, 但是超表达 *AG(35S:AG)* 并不能产生明显的 FM 终止缺陷表型, 而 *WUS* 的表达也只有轻微的下调^[43]; 另一方面, 从第 3 期 *AG* 的表达被激活到第 6 期 *WUS* 的表达关闭

大约需要 2 d 时间, 这暗示 AG 对 *WUS* 的抑制作用可能还需要其他基因的参与^[37]。KNUCKLES(KNU) 是一个具有 C2H2 锌指结构域的转录抑制因子^[44]。研究表明 *KNU* 介导 AG 对 *WUS* 的抑制调控。AG 通过促进 *KNU* 基因位点 H3K27me3 的去甲基化来直接激活 *KNU* 的表达, 进而抑制 *WUS* 的表达, 这个过程大约需要 2 d 时间^[37,45]。

此外还有许多其他的调控因子通过 AG 信号途径对 *WUS* 表达进行调控。LFY 协同 *WUS* 启动 *AG* 的表达; *ULTRAPETALAI(ULTI)* 编码一个具有 SAND 结构域的转录因子^[46-47], 而 *PERIANTHIA(PAN)* 编码一个 bZIP 转录因子, 两者均可以激活 *AG* 的表达^[48-49]。*CRC* 编码具有锌指结构域的 YABBY 家族的转录因子, 参与协调 FM 终止发育与心皮发育的过程^[50-51]。*CRC* 受到 AG 的诱导表达并协同 *KNU* 介导 AG 对 *WUS* 的抑制作用^[37,52-53]。*ENHANCER OF AG-4 1(HUAI)* 编码一个 RNA 结合蛋白, 包含 6 个串联的 CCCH 锌指结构域^[54]; *HUA2* 是一个转录因子, *hual hua2* 双重突变能够增强 *AG* 弱突变体 *ag-10* 的 FM 终止缺陷, 且 *ag-1 hual hua2* 的表型与 *ag-1* 一致, 暗示 *HUAI* 和 *HUA2* 均参与 *AG* 信号途径^[55]。

AG 除了受到转录水平的调控, 还受到转录后水平的调控。*HUA ENHANCER 1(HEN1)* 在植物体中广泛表达, 编码具有 RNA 切割活性的酶, 与 miRNA 在组织中的积累有关^[56]。miRNA 是一类 ~22 nt 的非编码 RNA, 由 Dicer 切割具有发卡结构的转录本产生, 可以特异地介导靶基因 mRNA 的降解, 从而抑制该基因表达^[57]。*HEN1* 可能通过 miRNA 来介导其对 *AG* 的抑制作用^[58]; *HEN2* 作为一个推定的 RNA 解旋酶, 可能参与对 *AG* mRNA 前体的加工过程; *HEN4* 是含有 K 同源异型结构域蛋白。*hen4 hual hua2* 表型与 *ag-1* 相似, 研究表明 *HUAI*、*HUA2* 和 *HEN4* 共同参与了对 *AG* 的第 2 个内含子加工过程^[59]。

3.1.2 AP2 对 FM 活性的调控

花器官决定基因中 A 类基因 *AP2* 也参与了 FM 的终止调控, 并且可以拮抗 *AG* 的功能^[4,22]。*AP2m3* 指 *AP2* cDNA 中在与 miRNA172 匹配的位点处引入了 6 个错配的碱基, 从而消除 miRNA172 对 *AP2* 表达的抑制作用^[17]。在 *35S:AP2m3* 转基因植株中, *AG* mRNA 丰度大幅度降低; 将其导入 *ag-1* 会导致花器官数量以及 FM 活性的增加, 暗示 *AP2* 不仅可以负调控 *AG* 的表达, 还可以通过独立于 *AG* 信号途径调控 FM 活性^[22], 而有证据表明 *AP2* 对 *CLV* 信号途径起负调控作用^[60]。最近的研究表明, *ARF3* 是 *AP2* 的靶基

因, 其编码一个生长素反应因子, 介导了 *AP2* 和 *AG* 对 *WUS* 的调控作用^[61]。

3.1.3 SUP 对 FM 活性的调控

SUPERMAN(SUP) 包含一个 C2H2 锌指结构域且在 C-端含有 EAR 样基序, 可以界定 3 轮和 4 轮花器官的边界, 对于雄蕊的发育具有重要作用^[62-65]。*sup* 中雄蕊数目增多, *WUS* 的表达被延长, 而且 *sup wus-1* 与 *wus-1* 的表型一致, 暗示 *SUP* 可通过 *WUS* 来调控 FM 的终止发育^[64,66]。*sup* 还能够增强 *ag-1* 的 FM 缺陷表型, *sup ag-1* 在心皮位置产生更多轮次的花瓣, 意味着 *SUP* 对 FM 活性的调控独立于 *AG* 信号途径^[62]。分子机制的研究表明, *SUP* 可以抑制生长素的合成, 在 *sup* 突变体中第 3 和第 4 轮花器官原基部位有过量的生长素合成, 导致产生额外的雄蕊原基, 而外施生长素抑制剂 PCIP 可以部分互补 *sup* 突变体多雄蕊表型^[65]。

3.2 环境信号对 FM 活性的调控

植物的生长发育需适应自身所处环境, 而分生组织活性的维持与终止是重要的发育过程, 光和温度等环境信号对这一过程有重要的调控作用^[67-68]。

3.2.1 光信号对 FM 活性的调控

对于植物来说, 光不仅是一种能源, 也是调节其生长发育的重要的环境信号。光信号能够通过影响植物激素, 如生长素和细胞分裂素, 调控干细胞的活性。黑暗处理能改变分生组织中 PIN1 的亚细胞定位和生长素的浓度分布, 而生长素与细胞分裂素互作调控了分生组织活性^[69]。拟南芥中, *FHY3* 是重要的 *PHY A* 信号途径的成员, 其编码一个转录因子并拥有特异的结合位点(CACGCGC)^[70-71]。Li 等^[67]发现, *FHY3* 对 FM 的终止发育和 SAM 活性的维持均具有重要作用; 在 SAM 中, *FHY3* 介导光信号对 *CLV3* 的抑制作用, 进而调控 *WUS* 的表达; 在 FM 中, *FHY3* 可以直接抑制 *CLV3* 而激活 *SEP2* 来促进 FM 的终止发育。

3.2.2 温度对 FM 活性的调控

温度对花发育也有着重要影响, 但是其作用机制并不十分清楚。最近, Conn 等^[72]发现 *SEP3* mRNA 存在着不同的剪接形式, 其中 *SEP3.3/SEP3^{Δtet}* 相对于野生型 *SEP3.2* 缺少第 6 个外显子, 即 161~174 碱基。有趣的是 *SEP3.3/SEP3^{Δtet}* 受到温度诱导, 在低温条件下 *SEP3.3/SEP3^{Δtet}* 的丰度升高。作为 MADS 结构域的转录因子, *SEP3* 可以形成四聚体, 其 K 结构域负责两个二聚体间的互作, 以形成同源四聚体或异源四聚体, 而 *SEP3.3/SEP3^{Δtet}* 中碱基的缺失使 K

结构域的功能丧失, 导致 SEP3.3 只能以二聚体的形式发挥功能^[68,72]。SEP3:SEP3^{Atet} 只能恢复 sep1/2/3 的花器官决定缺陷而无法恢复其 FM 终止缺陷; 这是由于 SEP3.3 无法与 AG 形成的异源四聚体, 导致无法有效调控 AG 下游基因的表达, 如 CRC 和 KNU, 最终导致 FM 活性不能适时终止^[68]。

3.3 激素对 FM 活性的调控

植物激素对于植物的花发育过程同样具有重要的调节作用。例如赤霉素(gibberellin, GA)能够通过拮抗 DELLA 蛋白而促进花发育相关的同源异型基因表达, 如 AP3、PI 和 AG, 以保证正常的花形态建成^[73]。

3.3.1 生长素对 FM 活性的调控

生长素在分生组织的维持与分化的调节过程中发挥着重要作用。在 SAM 中, 生长素能够促进器官原基的分化与生长^[74], 报告基因 DR5:VENUS 显示在器官原基起始部位生长素活性最强^[75]。在花发育过程中, SUP 通过对生长素合成的精细调控, 协调了 3 轮和 4 轮花器官的发育以及 FM 的活性, 其通过与 PcG 蛋白互作抑制 YUC1 和 YUC4 的表达进而影响生长素在雄蕊-心皮边界上的积累^[65]。此外第 6 期时, 生长素还介导了 CRC 对 FM 活性的抑制以及对心皮发育的促进作用, CRC 通过抑制膜蛋白基因 TORNADO2(TRN2)的转录影响生长素的运输过程, 协调 FM 的终止和心皮的分化过程^[57]。

ARF3 是生长素响应因子, 受生长素的诱导表达^[76-77]。Liu 等^[61]发现, ARF3 可以促进 FM 的终止发育; arf3 突变显著增强 ag-10 的 FM 终止缺陷; ARF3 不仅可以直接结合到 WUS 的调控区, 还介导 AG 对 WUS 的抑制作用; AP2 也通过直接抑制 ARF3 的表达调控 FM 的活性, 所以 ARF3 能够整合花发育相关基因 AG 和 AP2 的信号调控 FM 的终止发育。

3.3.2 细胞分裂素对 FM 活性的调控

细胞分裂素对维持细胞增殖和分生组织活性起着至关重要的作用^[78-82]。报告基因 TCSn:GFP 显示, 在 SAM 的 OC 区和 FM 的中心区域细胞分裂素活性最强, 这与 WUS 和细胞分裂素受体基因 ARABIDOPSIS HISTIDINE KINASE 4(AHK4)的表达区域一致^[77,83]。Zhang 等^[77]发现, 用细胞分裂素类似物 6-BA 外源处理拟南芥花序分生组织能显著增强 ag-10 的 FM 终止缺陷, 说明细胞分裂素也参与了 FM 的终止调控; ARF3 通过直接抑制细胞分裂素的合成基因 ISOPENTENYLTRANSFERASE 3/5/7(IPT3/5/7) 以及受体基因 AHK4, 而间接抑制 LONELY GUYS (LOGs)的表达促进 FM 的终止发育; ARF3 还介导了

生长素和 AG 信号通路对细胞分裂素信号系统的抑制作用; 原位杂交显示细胞分裂素能够延迟 FM 中 WUS 的关闭时间。此外细胞分裂素能够通过维持 WUS 的稳定性, 来保持 WUS 正常的空间分布^[35]。

3.4 表观遗传对 FM 活性的调控

2000 年以来, 人们逐渐意识到表观遗传学对生长发育的重要性^[84-86], 而随着高通量测序技术等多种实验技术的突破, 使表观遗传学研究迅速成为一个生物学新兴领域^[87]。表观遗传学的调控机制涉及多个层面: 组蛋白修饰(histone modification)、染色质重塑(chromatin remodeling)、非编码 RNAs (noncoding RNAs, ncRNA)以及 DNA 甲基化(DNA methylation)等, 而越来越多的证据表明表观遗传学对 FM 终止发育有着重要的调控作用^[88-89]。

3.4.1 组蛋白的修饰

核小体是染色质的基本单元, 它由 4 种组蛋白(H3、H4、H2A 和 H2B)和缠绕其上的约 146 bp 的 DNA 组成^[88]。组蛋白的氨基酸残基存在着各种修饰, 如甲基化、乙酰化、磷酸化以及泛素化等。这些修饰的改变能够影响染色质的高级结构, 进而影响基因的表达^[90-92]。

核小体 H3 第 27 位赖氨酸的 3 甲基化, 即 H3K27m3, 是一类重要的起负调控作用的组蛋白修饰, 该修饰的建立与维持依赖于 PcG(polycomb group)蛋白复合体的调控, 其包括 PRC2(polycomb repressive complex 2)和 PRC1^[93], 而 TrxG(trithorax group)具有甲基转移酶的活性, 可调控 H3K27m3 的甲基化。AG 是 PcG 的靶基因, 其基因上的组蛋白存在着 H3K27m3 修饰; CURLY LEAF(CLF)是 PRC2 的成员之一, clf 中 AG 的表达升高^[94-98]。ULT1 包含 SAND 结构域, 具有 trxG 的功能, 其能够独立于 LFY 而促进 AG 的表达^[47,99]。

KNU 的基因位点也存在着高水平的 H3K27m3, 其可以介导 AG 对 WUS 的抑制作用, AG 能直接结合到 KNU 的启动子区且结合位点与 PcG 蛋白重合, 其通过促进 KNU 基因位点的去甲基化激活该基因的表达^[100]。

WUS 同样受到 PcG 蛋白的调控, clf 能剧烈地增强 ag-10 的 FM 的终止缺陷表型; 在 clf 及其同源基因 swinger(swn)组成的双突 clf swn 中 WUS 基因位点的 H3K27m3 水平显著下降^[39]; 此外 PRC1 的成员 TFL2 的突变也能增强 ag-10 的缺陷, 该基因能结合到 WUS 的调控区, 即 WUS5'-TSS 和 WUS3'-CRE, 与 AG 的结合位点重合, 而且 TFL2 对 WUS 的结合依赖于 AG, 因此 AG 可能通过募集 PcG 蛋白引起 WUS

基因位点 H3K27m3 状态的变化来实现对 *WUS* 表达的调控^[39]。

3.4.2 染色质重塑

染色质重塑涉及染色质包装状态的改变及核小体组装与去组装过程, 这需要一系列 ATP 依赖的酶参与, 它们可以通过打乱原有的组蛋白与 DNA 间的联系, 进而达到重塑染色质结构的目的^[101-102]。SPRAYED (SYD) 属于 SWITCH/SNF 家族, 能直接促进 *WUS* 的表达^[103]。*syd* 突变体中 *WUS* 的表达下降, 且存在 FM 终止缺陷^[103-104]。此外, 研究表明 SYD 和 BRAHMA (BRM) 还介导了 LFY 对 *AG* 的激活作用^[105]。

FASCIATA1(FAS1)和 FAS2 是 CAF-1 复合体 (chromatin assembly factor1 complex) 的亚基, 负责核小体的装配。在 *fas1* 和 *fas2* 突变体中, *WUS* 被异位表达在 CZ 区且 SAM 形态异常^[106]。TOP1 α /MGOUN1(MGO1)编码 I 型 DNA 拓扑异构酶, 其参与染色质重塑、DNA 复制和修复等过程^[107]。*top1a* 能增强 *ag-10* 以及 *clf* 和 *tfl2* 的 FM 缺陷表型, 暗示其对 FM 活性的调控作用; 研究表明 TOP1 α 可以通过影响核小体密度来促进 AG 和 PcG 蛋白与 *WUS* 的结合^[41,108]。

3.4.3 非编码 RNAs

ncRNA 作为一种不编码蛋白的 RNA, 主要参与转录后水平的调控, 其主要包括两类: 一类为 long ncRNA, 其长度大于 200 bp; 另一类为 short RNA, 包括 micro RNA(miRNA)和 small interfering RNA (siRNA), 其长度为 20~24 bp^[109]。

如上文提到的 miR172 可能通过阻止 *AP2* 的转录或对 *AP2* mRNA 切割来抑制其表达。miR172 与 *AP2* mRNA 的 3'端附近区域高度互补^[110], 其主要分布在花的 3、4 轮, 使 *AP2* 只能表达在外侧两轮^[17]。

POWERDRESS(PWR)含有一个非典型的 SANT 结构域, 它既可以激活 *CRC* 的表达, 也可以通过促进 miRNA172 的积累来调控 FM 活性。*pwr-1* 和 *pwr-2* 中 miRNA172 水平明显下降; 此外 Yumul 等^[111]证明, *PWR* 只对 5 个 *MIR172* 的成员中的 3 个(*MIR172a*, *b* 和 *c*)有促进作用。

ARGONAUTE(AGO)家族有 10 个成员, 是 RNAi 的效应因子^[112]。AGO 可以结合 miRNA 并具有切割活性^[113-116]。在植物中, AGO1 分布广泛, 而 AGO10 则主要分布在分生组织、维管束和器官原基的近轴端^[117]。*AGO1* 和 *AGO10* 可能通过抑制 *AP2* 信号途径参与 FM 发育调控, 两者均对 miRNA172 所介导的 RNA 沉默过程有调节作用^[116]。

3.4.4 DNA 甲基化

植物中 DNA 甲基化发生在富含 CG、CHG 和 CHH (H 包括 A、T 或 C)的 C 上, 是重要的表观遗传的修饰方式, 其可以改变染色质的结构、DNA 的构象及稳定性^[118]。DNA 的甲基化需要甲基转移酶, 即 DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE2(DRM2), 而甲基化状态的维持则需 DNA METHYLTRANSFERASE1(MET1)和 CHROMOMETHYLASE3(CMT3)的作用^[117,119-120]。*SUP* 的表达受到 DNA 甲基化的调控; *clark kent* 的表型与 *sup* 一致, 就是由于 *SUP* 基因位点 DNA 的高度甲基化程度升高, 使其表达下降所致^[62-63]。

4 农业资源研究中心在相关方面的研究进展

多年来, 中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心刘西岗研究组一直致力于对拟南芥 FM 终止发育分子机制的解析。该组利用分子及细胞生物学、遗传学和生化分析结合生物信息学, 系统研究了不同层次因素对 FM 终止发育的调控机制, 并取得多项创新突破及研究成果。本研究组发现, ARF3 能够整合 *AG*、*AP2* 和生长素的信号通过直接抑制 *IPT3/5/7* 以及 *AHK4* 表达, 而间接地抑制 *LOGs* 来促进 FM 的终止发育^[61,77]。FHY3 可以通过介导光信号直接抑制 *CLV3* 的表达, 而激活 *SEP2* 的转录来调控 FM 的活性^[67]。*AG* 能够直接结合到 *WUS* 的调控区, 并可以招募 PcG 蛋白 TFL2 对 *WUS5'-TSS* 和 *WUS3'-CRE* 的结合, 进而导致在这两个调控区域形成染色杂环^[39,42]; 而 TOP1 α 可以通过调控染色质的高级结构来促进 AG 和 PcG 蛋白与 *WUS* 的结合^[41]。在未来的研究中, 本研究组试图在 3D 基因组水平上探究拟南芥 FM 终止发育的机制, 并尝试解析小麦穗发育的分子机制, 探索小麦增质增产的有效途径。

5 展望

5.1 染色质间的互作对 FM 活性的调控

随着染色质精细结构的解析^[121-123], 其复杂的空间结构对基因功能的影响逐渐引起了人们的兴趣, 随后用以检测两个特异位点染色质互作状况的 3C 技术便应运而生^[124-125]。Guo 等^[42]利用 3C 技术证明, *WUS* 的 *WUS5'-TSS* 和 *WUS3'-CRE* 两个调控区域能够相互作用, 从而形成一个染色质环状结构抑制 *WUS* 的转录; AG 可以通过招募 TFL2 结合 *WUS5'-TSS* 和 *WUS3'-CRE* 区域, 并促进 *WUS* 染色质环状结构的形成, 进而调控 FM 的终止发育。

伴随着高通量测序技术以及生物信息分析技术的发展, 由 3C 技术发展而来的 4C(circular chromosome conformation capture)可以检测某一特定位点与全基因组染色质的互作情况; 5C(3C-carbon copy)可以检测多个位点与多个位点间的染色质互作, 两者可以用以检测染色质之间长距离互作^[126-127]; 而 Hi-C(high-throughput/resolution chromosome conformation capture)和 ChIA-PET(chromatin interaction analysis by paired-end tag sequencing)技术则能以 de novo 的方式在全基因组范围内研究染色质构象以及蛋白与染色质互作的关系^[128-129], 这些技术的发展为进一步在 3D 基因组水平研究 FM 终止发育机制提供了基础, 我们必定会对这一发育过程有更深刻的了解。

5.2 作物中 FM 终止发育机制的研究

在作物生长过程中, FM 的产生及维持是作物花器官生成及发育的前提, 而 FM 活性的程序性终止也是后续的生殖生长及世代交替的保证, 更是多数作物产量的保证。

在玉米(*Zea mays*)中, *WUS-CLV* 反馈调节回路对维持分生组织活性有重要作用。Je 等^[130]报道, *FASCIATED EAR3 (FEA3)*编码一个具有富亮氨酸重复序列的受体蛋白, 可以响应 *CLV3/ESR-related (CLE)*多肽分子。*FEA3* 主要表达在 SAM 的 OC 区, *fea3*的 SAM 增大且呈扁平状。*fea3* 虽不能拮抗 *CLV3* 的作用, 但对 *Zm FON2-LIKE CLE PROTEIN 1 (ZmFCP1)*不敏感, 而 *ZmFCP1* 与水稻(*Oryza sativa*)中发现的 *CLV3* 类似物 *FCP1* 同源^[130-131]。此外含有 *fea3* 等位基因的杂交种, 如 *fea3-2* 和 *fea3-3*, 表现出更优质的农艺性状, 如其拥有增加的穗长和穗重以及更多的行数和行粒数^[130]。

番茄(*Solanum lycopersicum, S.lyc*)是重要的蔬菜作物, 经过多年的驯化人们逐渐选择了具有更多花序分枝和能结出更大果实的品种^[132]。番茄中 SAM 活性的维持同样依赖于 *WUS-CLV* 反馈回路, *CLV* 途径性状相关的突变体表现为多花序分枝、多花、花器官数目增多, 果实变大等^[133]。Xu 等^[134]通过诱变筛选发现 *FASCIATED AND BRANCHED(FAB)*的突变导致过渡分生组织(transition meristem, TM)显著增大; *FAB* 是 *CLV1* 的同源基因(Solyc04g081590); 同时发现 *FASCIATED INFLORESCENCE(FIN, Solyc11g064850)* 编码一种羟脯氨酸 O-阿拉伯糖基转移酶(hydroxyproline O-arabinosyltransferase, HPAT), 而 *FAB2* 编码一种阿拉伯糖基转移酶(arabinosyltransferase), 属于 GT77 家族成员, *FIN*和 *FAB2*的突变体均表现为 TM

增大的表型, 此外通过 CRISPR/Cas9 技术突变同属于 GT77 家族的阿拉伯糖基转移酶基因的 *REDUCED RESIDUAL ARABINOSE 3(RRA3, Solyc04g080080)*, 也能产生与 *fin* 和 *fab2* 相似的表型; 这些发现暗示 *CLV3* 的阿拉伯糖基化对调节 *CLV* 信号途径有着重要作用, 而生理实验证明阿拉伯糖基化的 *SICLV3 ([Ara₃]SICLV3)*确实能够恢复 *fin* 的突变表型。

在番茄中, 相对于祖先种 *S. pimpinellifolium (S.pim)*的小的两腔室的果实, 驯化种 *S.lyc* 果实腔室数目以及果实尺寸的增加, 这主要是由于 *fasciated(fas)* 和 *locule number(lc)*两个位点贡献的^[135]。其中 *lc* 在 *SIWUS* 基因下游推定的 *SIWUS3'-CRE* 区域 *CArG* 元件处存在两 SNP 位点^[39]。在近等基因系 *S.pim-lc^{NIL}* 中 11%的果实发育出 3~4 个腔室; 而利用 CRISPR/Cas9 技术使 *CArG* 元件缺失 4 个碱基, 即 *S.pim-lc^{CR}*, 同样可以导致 10%的果实发育出 3 个腔室。*fas* 位点在 *SICLV3* 基因中存在着一个 294 Kb 的颠倒变异, 因而导致 3~4 腔室果实的比例接近 43%, 而 *S.pim-lc^{CR} fas^{NIL}* 和 *S.lyc-lc^{CR}* 果实中 3~4 腔室的比例可高达 70%以上^[136]。Rodriguez-Leal 等^[136]还利用 CRISPR/Cas9 技术在 *SICLV3* 的启动子区快速地产生多个等位突变, 从而得到控制果实腔室数这一数量性状的多个变异位点, 为作物育种提供了新思路。由此, 基于对作物中干细胞及分生组织活性维持的研究结合基因编辑等现代分子生物学技术将极大促进作物高产稳产的机理及应用的研究。

参考文献 References

- [1] MEYEROWITZ E M, PRUITT R E. *Arabidopsis thaliana* and plant molecular genetics[J]. Science, 1985, 229(4719): 1214-1218
- [2] BOWMAN J L, SMYTH D R, MEYEROWITZ E M. Genes directing flower development in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 1989, 1(1): 37-52
- [3] SMYTH D R, BOWMAN J L, MEYEROWITZ E M. Early flower development in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 1990, 2(8): 755-767
- [4] BOWMAN J L, MEYEROWITZ E M. Genetic control of pattern formation during flower development in *Arabidopsis*[J]. Symposia of the Society for Experimental Biology, 1991, 45: 89-115
- [5] COEN E S, MEYEROWITZ E M. The war of the whorls: Genetic interactions controlling flower development[J]. Nature, 1991, 353(6339): 31-37
- [6] BOWMAN J L, SMYTH D R, MEYEROWITZ E M. The ABC model of flower development: Then and now[J]. Development, 2012, 139(22): 4095-4098
- [7] LLOYD A M, BARNASON A, ROGERS S G, et al.

- Transformation of *Arabidopsis thaliana* with *Agrobacterium tumefaciens*[J]. Science, 1986, 234(4775): 464–466
- [8] CHANG C, BOWMAN J L, DEJOHN A W, et al. Restriction fragment length polymorphism linkage map for *Arabidopsis thaliana*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1988, 85(18): 6856–6860
- [9] AMBROS P F, MATZKE A J M, MATZKE M A. Localization of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in plant chromosomes by *in situ* hybridization[J]. The EMBO Journal, 1986, 5(9): 2073–2077
- [10] KONCZ C, MARTINI N, MAYERHOFER R, et al. High-frequency T-DNA-mediated gene tagging in plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1989, 86(21): 8467–8471
- [11] WEIGEL D, MEYEROWITZ E M. The ABCs of floral homeotic genes[J]. Cell, 1994, 78(2): 203–209
- [12] SUNDSTRÖM J F, NAKAYAMA N, GLIMELIUS K, et al. Direct regulation of the floral homeotic *APETALA1* gene by *APETALA3* and *PISTILLATA* in *Arabidopsis*[J]. The Plant Journal, 2006, 46(4): 593–600
- [13] GUSTAFSON-BROWN C, SAVIDGE B, YANOFSKY M F. Regulation of the arabidopsis floral homeotic gene *APETALA1*[J]. Cell, 1994, 76(1): 131–143
- [14] PELAZ S, DITTA G S, BAUMANN E, et al. B and C floral organ identity functions require *SEPALLATA* MADS-box genes[J]. Nature, 2000, 405(6783): 200–203
- [15] LOHMANN J U, WEIGEL D. Building beauty: The genetic control of floral patterning[J]. Development Cell, 2002, 2(2): 135–142
- [16] DINH T T, GIRKE T, LIU X G, et al. The floral homeotic protein *APETALA2* recognizes and acts through an AT-rich sequence element[J]. Development, 2012, 139(11): 1978–1986
- [17] CHEN X M. A microRNA as a translational repressor of *APETALA2* in *Arabidopsis* flower development[J]. Science, 2004, 303(5666): 2022–2025
- [18] AUKERMAN M J, SAKAI H. Regulation of flowering time and floral organ identity by a MicroRNA and its *APETALA2*-like target genes[J]. The Plant Cell, 2003, 15(11): 2730–2741
- [19] MIZUKAMI Y, MA H. Separation of *AG* function in floral meristem determinacy from that in reproductive organ identity by expressing antisense *AG* RNA[J]. Plant Molecular Biology, 1995, 28(5): 767–784
- [20] SIEBURTH L E, RUNNING M P, MEYEROWITZ E M. Genetic separation of third and fourth whorl functions of *AGAMOUS*[J]. The Plant Cell, 1995, 7(8): 1249–1258
- [21] LOHMANN J U, HONG R L, HOBE M, et al. A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in *Arabidopsis*[J]. Cell, 2001, 105(6): 793–803
- [22] ZHAO L, KIM Y, DINH T T, et al. miR172 regulates stem cell fate and defines the inner boundary of *APETALA3* and *PISTILLATA* expression domain in *Arabidopsis* floral meristems[J]. The Plant Journal, 2007, 51(5): 840–849
- [23] CARLES C C, FLETCHER J C. Shoot apical meristem maintenance: The art of a dynamic balance[J]. Trends in Plant Science, 2003, 8(8): 394–401
- [24] YADAV R K, PERALES M, GRUEL J, et al. WUSCHEL protein movement mediates stem cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex[J]. Genes & Development, 2011, 25(19): 2025–2030
- [25] RODRIGUEZ K, PERALES M, SNIPES S, et al. DNA-dependent homodimerization, sub-cellular partitioning, and protein destabilization control WUSCHEL levels and spatial patterning[J]. Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America, 2016, 113(41): E6307–E6315
- [26] MAYER K F X, SCHOOF H, HAECKER A, et al. Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem[J]. Cell, 1998, 95(6): 805–815
- [27] FLETCHER J C, BRAND U, RUNNING M P, et al. Signaling of cell fate decisions by *CLAVATA3* in *Arabidopsis* shoot meristems[J]. Science, 1999, 283(5409): 1911–1914
- [28] DAUM G, MEDZIHRADESKY A, SUZAKI T, et al. A mechanistic framework for noncell autonomous stem cell induction in *Arabidopsis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(40): 14619–14624
- [29] LAUX T, MAYER K F, BERGER J, et al. The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem integrity in *Arabidopsis*[J]. Development, 1996, 122(1): 87–96
- [30] GALLOIS J L, NORA F R, MIZUKAMI Y, et al. WUSCHEL induces shoot stem cell activity and developmental plasticity in the root meristem[J]. Genes & Development, 2004, 18(4): 375–380
- [31] XU Y Y, WANG X M, LI J, et al. Activation of the *WUS* gene induces ectopic initiation of floral meristems on mature stem surface in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Molecular Biology, 2005, 57(6): 773–784
- [32] BRAND U, FLETCHER J C, HOBE M, et al. Dependence of stem cell fate in *Arabidopsis* on a feedback loop regulated by *CLV3* activity[J]. Science, 2000, 289(5479): 617–619
- [33] LENHARD M, LAUX T. Stem cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot meristem is regulated by intercellular movement of *CLAVATA3* and its sequestration by *CLAVATA1*[J]. Development, 2003, 130(14): 3163–3173
- [34] PERALES M, RODRIGUEZ K, SNIPES S, et al. Threshold-dependent transcriptional discrimination underlies stem cell homeostasis[J]. Proceedings of National Academy Sciences of the United States of America, 2016, 113(41): E6298–E6306
- [35] SNIPES S A, RODRIGUEZ K, DEVRIES A E, et al. Cytokinin stabilizes WUSCHEL by acting on the protein domains required for nuclear enrichment and transcription[J]. PLoS Genetics, 2018, 14(4): e1007351
- [36] LENHARD M, BOHNERT A, JÜRGENS G, et al. Termination of stem cell maintenance in *Arabidopsis* floral meristems by interactions between *WUSCHEL* and *AGAMOUS*[J]. Cell, 2001, 105(6): 805–814
- [37] SUN B, XU Y F, NG K H, et al. A timing mechanism for stem

- cell maintenance and differentiation in the *Arabidopsis* floral meristem[J]. *Genes & Development*, 2009, 23(15): 1791–1804
- [38] SUN B, ITO T, Floral stem cells: From dynamic balance towards termination[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2010, 38(2): 613–616
- [39] LIU X G, KIM Y J, MÜLLER R, et al. *AGAMOUS* terminates floral stem cell maintenance in *Arabidopsis* by directly repressing *WUSCHEL* through recruitment of Polycomb Group proteins[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(10): 3654–3670
- [40] ITO T, NG K H, LIM T S, et al. The homeotic protein *AGAMOUS* controls late stamen development by regulating a jasmonate biosynthetic gene in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(11): 3516–3529
- [41] LIU X G, GAO L, DINH T T, et al. DNA topoisomerase I affects polycomb group protein-mediated epigenetic regulation and plant development by altering nucleosome distribution in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(7): 2803–2817
- [42] GUO L, CAO X W, LIU Y H, et al. A chromatin loop represses *WUSCHEL* expression in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2018, 94(6): 1083–1097
- [43] MIZUKAMI Y, MA H. Determination of *Arabidopsis* floral meristem identity by *AGAMOUS*[J]. *The Plant Cell*, 1997, 9(3): 393–408
- [44] PAYNE T, JOHNSON S D, KOLTUNOW A M. *KNUCKLES (KNU)* encodes a C2H2 zinc-finger protein that regulates development of basal pattern elements of the *Arabidopsis* gynoecium[J]. *Development*, 2004, 131(15): 3737–3749
- [45] SUN B, ITO T. Regulation of floral stem cell termination in *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 17
- [46] CARLES C C, CHOFFNES-INADA D, REVILLE K, et al. *ULTRAPETALAI* encodes a SAND domain putative transcriptional regulator that controls shoot and floral meristem activity in *Arabidopsis*[J]. *Development*, 2005, 132(5): 897–911
- [47] CARLES C C, FLETCHER J C. The SAND domain protein *ULTRAPETALAI* acts as a trithorax group factor to regulate cell fate in plants[J]. *Genes & Development*, 2009, 23(23): 2723–2728
- [48] DAS P, ITO T, WELLMER F, et al. Floral stem cell termination involves the direct regulation of *AGAMOUS* by *PERIANTHIA*[J]. *Development*, 2009, 136(10): 1605–1611
- [49] MAIER A T, STEHLING-SUN S, WOLLMANN H, et al. Dual roles of the bZIP transcription factor *PERIANTHIA* in the control of floral architecture and homeotic gene expression[J]. *Development*, 2009, 136(10): 1613–1620
- [50] LI J J, JIA D X, CHEN X M. *HUAI*, a regulator of stamen and carpel identities in *Arabidopsis*, codes for a nuclear RNA binding protein[J]. *The Plant Cell*, 2001, 13(10): 2269–2281
- [51] CHEN X M, MEYEROWITZ E M. *HUAI* and *HUA2* are two members of the floral homeotic *AGAMOUS* pathway[J]. *Molecular Cell*, 1999, 3(3): 349–360
- [52] PARK W, LI J J, SONG R T, et al. *CARPEL FACTORY*, a dicer homolog, and *HEN1*, a novel protein, act in microRNA metabolism in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Current Biology*, 2002, 12(17): 1484–1495
- [53] AMBROS V. MicroRNA pathways in flies and worms: Growth, death, fat, stress, and timing[J]. *Cell*, 2003, 113(6): 673–676
- [54] CHEN X M, LIU J, CHENG Y L, et al. *HEN1* functions pleiotropically in *Arabidopsis* development and acts in C function in the flower[J]. *Development*, 2002, 129(5): 1085–1094
- [55] CHENG Y L, KATO N, WANG W M, et al. Two RNA binding proteins, *HEN4* and *HUA1*, act in the processing of *AGAMOUS* pre-mRNA in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Development Cell*, 2003, 4(1): 53–66
- [56] BOWMAN J L, SMYTH D R. *CRABS CLAW*, a gene that regulates carpel and nectary development in *Arabidopsis*, encodes a novel protein with zinc finger and helix-loop-helix domains[J]. *Development*, 1999, 126(11): 2387–2396
- [57] YAMAGUCHI N, HUANG J B, XU Y F, et al. Fine-tuning of auxin homeostasis governs the transition from floral stem cell maintenance to gynoecium formation[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 1125
- [58] GÓMEZ-MENA C, DE FOLTER S, COSTA M M R, et al. Transcriptional program controlled by the floral homeotic gene *AGAMOUS* during early organogenesis[J]. *Development*, 2005, 132(3): 429–438
- [59] Lee J Y, BAUM S F, ALVAREZ J, et al. Activation of *CRABS CLAW* in the nectaries and carpels of *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(1): 25–36
- [60] WÜRSCHUM T, GROB-HARDT R, LAUX T. *APETALA2* regulates the stem cell niche in the *Arabidopsis* shoot meristem[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(2): 295–307
- [61] LIU X, DINH T T, LI D M, et al. *AUXIN RESPONSE FACTOR 3* integrates the functions of *AGAMOUS* and *APETALA2* in floral meristem determinacy[J]. *The Plant Journal*, 2014, 80(4): 629–641
- [62] BOWMAN J L, SAKAI H, JAKE T, et al. *SUPERMAN*, a regulator of floral homeotic genes in *Arabidopsis*[J]. *Development*, 1992, 114(3): 599–615
- [63] SAKAI H, MEDRANO L J, MEYEROWITZ E M. Role of *SUPERMAN* in maintaining *Arabidopsis* floral whorl boundaries[J]. *Nature*, 1995, 378(6553): 199–203
- [64] PRUNET N, YANG W B, DAS P, et al. *SUPERMAN* prevents class B gene expression and promotes stem cell termination in the fourth whorl of *Arabidopsis thaliana* flowers[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(27): 7166–7171
- [65] XU Y F, PRUNET N, GAN E S, et al. *SUPERMAN* regulates floral whorl boundaries through control of auxin biosynthesis[J]. *The EMBO Journal*, 2018, 37(11): e97499
- [66] PRUNET N, MOREL P, THIERRY A, et al. *REBELOTE*, *SQUINT*, and *ULTRAPETALAI* function redundantly in the temporal regulation of floral meristem termination in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(4): 901–919
- [67] LI D M, FU X, GUO L, et al. *FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL3* activates *SEPALLATA2* but inhibits

- CLAVATA3 to regulate meristem determinacy and maintenance in *Arabidopsis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(33): 9375–9380
- [68] HUGOUVIEUX V, SILVA C S, JOURDAIN A, et al. Tetramerization of MADS family transcription factors SEPALLATA3 and AGAMOUS is required for floral meristem determinacy in *Arabidopsis*[J]. Nucleic Acids Research, 2018, 46(10): 4966–4977
- [69] YOSHIDA S, MANDEL T, KUHLEMEIER C. Stem cell activation by light guides plant organogenesis[J]. Genes & Development, 2011, 25(13): 1439–1450
- [70] LIN R C, DING L, CASOLA C, et al. Transposase-derived transcription factors regulate light signaling in *Arabidopsis*[J]. Science, 2007, 318(5854): 1302–1305
- [71] OUYANG X H, LI J G, LI B S, et al. Genome-wide binding site analysis of FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL3 reveals its novel function in *Arabidopsis* development[J]. The Plant Cell, 2011, 23(7): 2514–2535
- [72] CONN V M, HUGOUVIEUX V, NAYAK A, et al. A circRNA from *SEPALLATA3* regulates splicing of its cognate mRNA through R-loop formation[J]. Natural Plants, 2017, 3: 17053
- [73] YU H, ITO T, ZHAO Y X, et al. Floral homeotic genes are targets of gibberellin signaling in flower development[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(20): 7827–7832
- [74] MURRAY J A H, JONES A, GODIN C, et al. Systems analysis of shoot apical meristem growth and development: Integrating hormonal and mechanical signaling[J]. The Plant Cell, 2012, 24(10): 3907–3919
- [75] VERNOUX T, BESNARD F, TRAAS J. Auxin at the shoot apical meristem[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2010, 2(4): a001487
- [76] CHENG Z J, WANG L, SUN W, et al. Pattern of auxin and cytokinin responses for shoot meristem induction results from the regulation of cytokinin biosynthesis by AUXIN RESPONSE FACTOR3[J]. Plant Physiology, 2013, 161(1): 240–251
- [77] ZHANG K, WANG R Z, ZI H L, et al. AUXIN RESPONSE FACTOR3 regulates floral meristem determinacy by repressing cytokinin biosynthesis and signaling[J]. The Plant Cell, 2018, 30(2): 324–346
- [78] WERNER S, GROSE R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines[J]. Physiological Reviews, 2003, 83(3): 835–870
- [79] GIULINI A, WANG J, JACKSON D. Control of phyllotaxy by the cytokinin-inducible response regulator homologue *ABPHYL1*[J]. Nature, 2004, 430(7003): 1031–1034
- [80] HIGUCHI M, PISCHKE M S, MÄHÖNEN A P, et al. *In planta* functions of the *Arabidopsis* cytokinin receptor family[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(23): 8821–8826
- [81] NISHIMURA C, OHASHI Y, SATO S, et al. Histidine kinase homologs that act as cytokinin receptors possess overlapping functions in the regulation of shoot and root growth in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2004, 16(6): 1365–1377
- [82] LEIBFRIED A, TO J P C, BUSCH W, et al. WUSCHEL controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators[J]. Nature, 2005, 438(7071): 1172–1175
- [83] GORDON S P, CHICKARMANE V S, OHNO C, et al. Multiple feedback loops through cytokinin signaling control stem cell number within the *Arabidopsis* shoot meristem[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(38): 16529–16534
- [84] PASZKOWSKI J, SCHEID O M. Plant genes: The genetics of epigenetics[J]. Current Biology, 1998, 8(6): R206–R208
- [85] KIEFER J C. Epigenetics in development[J]. Developmental Dynamics, 2007, 236(4): 1144–1156
- [86] BERGER S L, KOUZARIDES T, SHIEKHATTAR R, et al. An operational definition of epigenetics[J]. Genes & Development, 2009, 23(7): 781–783
- [87] HUANG B, JIANG C Z, ZHANG R X. Epigenetics: The language of the cell?[J]. Epigenomics, 2014, 6(1): 73–88
- [88] TOLLERVEY J R, LUNYAK V V. Epigenetics: gudge, jury and executioner of stem cell fate[J]. Epigenetics, 2012, 7(8): 823–840
- [89] CAO X W, HE Z S, GUO L, et al. Epigenetic mechanisms are critical for the regulation of *WUSCHEL* expression in floral meristems[J]. Plant Physiology, 2015, 168(4): 1189–1196
- [90] NG H H, FENG Q, WANG H B, et al. Lysine methylation within the globular domain of histone H3 by Dot1 is important for telomeric silencing and Sir protein association[J]. Genes & Development, 2002, 16(12): 1518–1527
- [91] ZHANG L W, EUGENI E E, PARTHUN M R, et al. Identification of novel histone post-translational modifications by peptide mass fingerprinting[J]. Chromosoma, 2003, 112(2): 77–86
- [92] XU F, ZHANG K L, GRUNSTEIN M. Acetylation in histone H3 globular domain regulates gene expression in yeast[J]. Cell, 2005, 121(3): 375–385
- [93] PIEN S, GROSSNIKLAIUS U. *Polycomb* group and *trithorax* group proteins in *Arabidopsis*[J]. Biochimica et Biophysica Acta-Genes Structure, 2007, 1769(5/6): 375–382
- [94] GOODRICH J, PUANGSOMLEE P, MARTIN M, et al. A *Polycomb*-group gene regulates homeotic gene expression in *Arabidopsis*[J]. Nature, 1997, 386(6620): 44–51
- [95] KINOSHITA T, HARADA J J, GOLDBERG R B, et al. *Polycomb* repression of flowering during early plant development[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(24): 14156–14161
- [96] SCHUBERT D, PRIMAVESI L, BISHOPP A, et al. Silencing by plant *Polycomb*-group genes requires dispersed trimethylation of histone H3 at lysine 27[J]. The EMBO Journal, 2006, 25(19): 4638–4649
- [97] SALEH A, AI-ABDALLAT A, NDAMUKONG I, et al. The *Arabidopsis* homologs of trithorax (*ATX1*) and enhancer of zeste (*CLF*) establish ‘bivalent chromatin marks’ at the silent

- AGAMOUS* locus[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(7): 3475–3476
- [98] CALONJE M, SANCHEZ R, CHEN L J, et al. EMBRYONIC FLOWER1 participates in polycomb group-mediated *AG* gene silencing in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(2): 277–291
- [99] ALVAREZ-VEGAS R, PIEN S, SADDER M, et al. ATX-1, an *Arabidopsis* homolog of trithorax, activates flower homeotic genes[J]. *Current Biology*, 2003, 13(8): 627–637
- [100] ITO T, SUN B. Epigenetic regulation of developmental timing in floral stem cells[J]. *Epigenetics*, 2009, 4(8): 564–567
- [101] SHEN W H, XU L. Chromatin remodeling in stem cell maintenance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Molecular Plant*, 2009, 2(4): 600–609
- [102] SHAFI M, KRAWETZ R, RANCOURT D E. Returning to the stem state: Epigenetics of recapitulating pre-differentiation chromatin structure[J]. *BioEssays*, 2010, 32(9): 791–799
- [103] KWON C S, CHEN C B, WAGNER D. *WUSCHEL* is a primary target for transcriptional regulation by *SPLAYED* in dynamic control of stem cell fate in *Arabidopsis*[J]. *Genes Development*, 2005, 19(8): 992–1003
- [104] WAGNER D, MEYEROWITZ E M. *SPLAYED*, a novel SWI/SNF ATPase homolog, controls reproductive development in *Arabidopsis*[J]. *Current Biology*, 2002, 12(2): 85–94
- [105] WU M F, SANG Y, BEZHANI S, et al. SWI2/SNF2 chromatin remodeling ATPases overcome polycomb repression and control floral organ identity with the *LEAFY* and *SEPALLATA3* transcription factors[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(9): 3576–3581
- [106] KAYA H, SHIBAHARA K, TAOKA K, et al. *FASCIATA* genes for chromatin assembly factor-1 in *Arabidopsis* maintain the cellular organization of apical meristems[J]. *Cell*, 2001, 104(1): 131–142
- [107] KIEBER J J, TISSIER A F, SIGNER E R. Cloning and characterization of an *Arabidopsis thaliana* topoisomerase 1 gene[J]. *Plant Physiology*, 1992, 99(4): 1493–1501
- [108] GRAF P, DOLZBLASZ A, WÜRSCHUM T, et al. *MGOINI* encodes an *Arabidopsis* type IB DNA topoisomerase required in stem cell regulation and to maintain developmentally regulated gene silencing[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(3): 716–728
- [109] ZHANG Y C, CHEN Y Q. Long noncoding RNAs: New regulators in plant development[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, 436(2): 111–114
- [110] JOFUKU K D, DEN BOER B G, VAN MONTAGU M, et al. Control of *Arabidopsis* flower and seed development by the homeotic gene *APETALA2*[J]. *The Plant Cell*, 1994, 6(9): 1211–1225
- [111] YUMUL R E, KIM Y J, LIU X G, et al. *POWERDRESS* and diversified expression of the *MIR172* gene family bolster the floral stem cell network[J]. *PLoS Genetics*, 2013, 9(1): e1003218
- [112] VAUCHERET H. Plant ARGONAUTES[J]. *Trends in Plant Science*, 2008, 13(7): 350–358
- [113] ZHENG X W, ZHU J H, KAPOOR A, et al. Role of *Arabidopsis* AGO6 in siRNA accumulation, DNA methylation and transcriptional gene silencing[J]. *The EMBO Journal*, 2007, 26(6): 1691–1701
- [114] MONTGOMERY T A, HOWELL M D, CUPERUS J T, et al. Specificity of ARGONAUTE7-miR390 interaction and dual functionality in *TAS3* trans-acting siRNA formation[J]. *Cell*, 2008, 133(1): 128–141
- [115] HAVECKER E R, WALLBRIDGE L M, HARDCASTLE T J, et al. The *Arabidopsis* RNA-directed DNA methylation argonautes functionally diverge based on their expression and interaction with target loci[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(2): 321–334
- [116] JI L J, LIU X G, WANG W M, et al. *ARGONAUTE10* and *ARGONAUTE1* regulate the termination of floral stem cells through two microRNAs in *Arabidopsis*[J]. *PLoS Genetics*, 2011, 7(3): e1001358
- [117] LYNN K, FERNANDEZ A, AIDA M, et al. The *PINHEAD/ZWILLE* gene acts pleiotropically in *Arabidopsis* development and has overlapping functions with the *ARGONAUTE1* gene[J]. *Development*, 1999, 126(3): 469–481
- [118] EHRlich M, GAMA-SOSA M A, HUANG L H, et al. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues of cells[J]. *Nucleic Acids Research*, 1982, 10(8): 2709–27021
- [119] CAO X F, AUFSATZ W, ZILBERMAN D, et al. Role of the *DRM* and *CMT3* methyltransferases in RNA-directed DNA methylation[J]. *Current Biology*, 2003, 13(24): 2212–2217
- [120] COKUS S J, FENG S H, ZHANG X Y, et al. Shotgun bisulphite sequencing of the *Arabidopsis* genome reveals DNA methylation patterning[J]. *Nature*, 2008, 452(7184): 215–219
- [121] LUFER K, MÄDER A W, RICHMOND R K, et al. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution[J]. *Nature*, 1997, 389(6648): 251–260
- [122] SCHALCH T, DUDA S, SARGENT D F, et al. X-ray structure of a tetranucleosome and its implications for the chromatin fibre[J]. *Nature*, 2005, 436(7047): 138–141
- [123] CHEN P, ZHU P, LI G H. New insights into the helical structure of 30-nm chromatin fibers[J]. *Protein & Cell*, 2014, 5(7): 489–491
- [124] DEKKER J, RIPPE K, DEKKER M, et al. Capturing chromosome conformation[J]. *Science*, 2002, 295(5558): 1306–1311
- [125] HAGÈGEH, KLOUS P, BRAEM C, et al. Quantitative analysis of chromosome conformation capture assays (3C-qPCR)[J]. *Nature Protocols*, 2007, 2(7): 1722–1733
- [126] DOSTIE J, RICHMOND T A, ARNAOUT R A, et al. Chromosome Conformation Capture Carbon Copy (5C): A massively parallel solution for mapping interactions between genomic elements[J]. *Genome Research*, 2006, 16(10):

- 1299–1309
- [127] GROB S, SCHMID M W, LUEDTKE N W, et al. Characterization of chromosomal architecture in *Arabidopsis* by chromosome conformation capture[J]. *Genome Biology*, 2013, 14(11): R129
- [128] BELTON J M, MCCORD R P, GIBCUS J H, et al. Hi-C: A comprehensive technique to capture the conformation of genomes[J]. *Methods*, 2012, 58(3): 268–276
- [129] ZHANG J Y, POH H M, PEH S Q, et al. ChIA-PET analysis of transcriptional chromatin interactions[J]. *Methods*, 2012, 58(3): 289–299
- [130] JE B I, GRUEL J, LEE Y K, et al. Signaling from maize organ primordia via FASCIATED EAR3 regulates stem cell proliferation and yield traits[J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(7): 785–791
- [131] SUZAKI T, YOSHIDA A, HIRANO H Y. Functional diversification of CLAVATA3-related CLE proteins in meristem maintenance in rice[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(8): 2049–2058
- [132] KLEE H J. Genetic control of floral architecture: Insights into improving crop yield[J]. *Cell*, 2017, 169(6): 983–984
- [133] PAUTLER M, TANAKA W, HIRANO H, et al. Grass meristems I: Shoot apical meristem maintenance, axillary meristem determinacy and the floral transition[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2013, 54(3): 302–312
- [134] XU C, LIBERATORE K L, MACALISTER C A, et al. A cascade of arabinosyltransferases controls shoot meristem size in tomato[J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(7): 784–792
- [135] VAN DER KNAAP E, CHAKRABARTI M, CHU Y H, et al. What lies beyond the eye: The molecular mechanisms regulating tomato fruit weight and shape[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 227
- [136] RODRIGUEZ-LEAL D, LEMMON Z H, MAN J, et al. Engineering quantitative trait variation for crop improvement by genome editing[J]. *Cell*, 2017, 171(2): 470–480