

刘艳艳,丁颖,郑佳秋,等.植物 PRRs 和 NLRs 介导的免疫信号通路研究进展[J].江苏农业科学,2023,51(8):43-50.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.08.006

植物 PRRs 和 NLRs 介导的免疫信号通路研究进展

刘艳艳,丁颖,郑佳秋,宛柏杰,曹婷,刘兴华

(江苏沿海地区农业科学研究所,江苏盐城 224002)

摘要:植物在生长发育的过程中进化出大量细胞表面和胞内免疫受体以感知病原体侵染相关的各种信号。细胞表面模式受体 PRR 可以感知病原物模式分子以激活基础免疫,引起活性氧(ROS)快速产生、 Ca^{2+} 内流和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联反应的启动等,从而限制其致病性。病原物为了克服植物的这种免疫反应,通过分泌效应蛋白干扰 PRR 蛋白的功能及其免疫相关过程,促进病菌致病性。为了应对效应蛋白的致病效应并阻止病害发生,植物进一步进化出胞内核苷酸结合富亮氨酸重复序列受体(NLRs),以感知病原体效应物并启动强烈的特异性免疫反应。长期以来,病原相关分子模式激发的免疫反应(pattern-triggered immunity,PTI)和效应蛋白激发的免疫反应(effector-triggered immunity,ETI)在识别机制及早期信号转导上存在较大差异,被认为是相对独立的2类系统。但是随着植物免疫学研究的广泛和深入,PTI和ETI从相对独立变得交叉模糊,而研究PTI和ETI如何相互作用以抵抗病原体也成为植物免疫学亟需解决的重要科学问题之一。本文以 PRRs 和 NLRs 介导的免疫反应为重点,综述了 PRRs 与 NLRs 信号通路、免疫调控及二者的互作。

关键词:植物免疫;PRRs;NLRs;分子机制;相互作用

中图分类号:S184 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)08-0043-08

植物病害是影响作物产量的重要因素之一。植物在生长发育的过程中不断受到病毒、细菌、真菌、卵菌、食草动物和寄生植物等的挑战,为了对抗病原菌的入侵,植物进化出了一套非常复杂的免疫系统,深入了解植物的免疫机制是现代农业中作物遗传改良工作的重要理论基础^[1]。高等植物细胞

表面和胞内有大量免疫受体以感知病原体侵染相关的各种信号。抗病基因和模式识别受体的发现,为理解植物免疫的分子识别机制和生物学重要性奠定了坚实基础。细胞表面的免疫受体包括类受体蛋白(receptor-like proteins,RLPs)及受体类激酶(receptor-like kinases,RLKs),通常被称为模式识别受体(pattern-recognition receptors,PRRs),可感知病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns,PAMPs)、损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns,DAMPs)、微生物相关分子模式(microbe-associated molecular patterns,MAMPs)及食草动物相关分子模式(herbivore-associated molecular patterns,HAMP),并

收稿日期:2022-06-14

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(21)3031];江苏省农业重大新品种创制项目(编号:PZCZ201715)。

作者简介:刘艳艳(1990—),女,山东日照人,硕士,助理研究员,研究方向为作物栽培与抗逆生理。E-mail:1052233980@qq.com。

通信作者:刘兴华,博士,副研究员,主要从事植物发育与环境适应性研究。E-mail:1123153147@qq.com。

[68]张艇.烟草种质资源的遗传多样性研究[J].农技服务,2010,27(1):101-103.

[69]林杰.烟草品种抗旱性鉴定与评价[D].杨凌:西北农林科技大学,2013.

[70]王素琴,李杨立,刘凤兰,等.烤烟新品种豫烟二号选育及特征特性[J].烟草科技,1996,29(4):33-34.

[71]杨铁钊,张小全,李群平,等.烤烟新品种豫烟6号的选育及特征特性[J].中国烟草科学,2010,31(3):7-12.

[72]杨铁钊,张小全,殷全玉,等.烤烟新品种豫烟10号的选育及特征特性[J].中国烟草学报,2015,21(3):48-56.

[73]李雪君,孙计平,丁燕芳,等.烤烟新品种豫烟13号的选育及特征特性[J].中国烟草科学,2017,38(4):17-22.

[74]温贤芳.中国核农学[M].郑州:河南科学技术出版社,1999.

[75]张正斌.作物抗旱节水的生理遗传育种基础[M].北京:科学出版社,2003.

[76]Anwar A, Liu Y M, Dong R R, et al. The physiological and molecular mechanism of brassinosteroid in response to stress: a review[J]. Biological Research, 2018, 51(1): 46.

[77]任学良,王云鹏,史跃伟.烤烟抗旱品种选育研究进展和方法[J].中国烟草科学,2009,30(4):74-80.

可激活分子模式触发的基础免疫(pattern-triggered immunity, PTI),包括活性氧(reactive oxygen species, ROS)的快速产生、 Ca^{2+} 内流和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联反应的启动等,从而限制病原物的致病性^[2]。成功侵染宿主的病原体可以通过分泌效应蛋白(effector)干扰宿主 PRR 蛋白的功能及其免疫相关过程,来逃避或抑制 PTI,导致发生效应蛋白激活的感病性(effector-triggered susceptibility, ETS)。为了应对效应蛋白的致病效应并阻止病害发生,植物进一步进化出胞内核苷酸结合富亮氨酸重复序列受体(nucleotide-binding domain leucine-rich repeat containing receptors, NLRs),以感知病原体效应蛋白并启动强烈的特异性免疫反应(effector-triggered immunity, ETI)。随后病原体也可能会通过进化、改变或失去效应蛋白来抑制或逃避 ETI。植物免疫理论的主要框架形成于 2006 年,即英国学者 Jonathan Jones 和美国学者 Jeffery Dangl 于 2006 年提出了“Zig-Zag”模型,该模型总结了病原相关分子模式处罚的免疫反应(PTI)、效应子触发的敏感性(ETS)和效应子触发的免疫(ETI)之间的关系^[3-4]。近年来,有关植物免疫的研究取得了一系列重大进展,除了免疫受体外,目前还发现了免疫信号网络的许多组成元件^[5-10]。本文以 PRRs 和 NLRs 介导的免疫反应为重点,综述了它们介导的免疫信号通路,以及 PRRs 与 NLRs 信号通路之间的互作关系。

1 PRRs 信号通路及其免疫调控

基础抗性是植物的先天性免疫反应,可以保护植物免受大多数病原的侵袭,在非寄主免疫中发挥主要作用。根据“zig-zag-zig”模型,植物细胞质膜上的 PRRs 通过感知和识别 PAMPs 引发 PTI,从而构成植物抗病的第一道防线。

1.1 PRRs 蛋白质类型

绝大多数 PRRs 位于植物细胞膜上,由宿主编码,其胞外结构域可以感知 MAMPs/DAMPs,调节先天免疫。它们高度敏感,能够感知来自病原菌的 PAMPs 或植物自身的 DAMPs,当配体被识别后就会刺激信号级联放大,导致一系列特有的防御反应。植物的 PRR 蛋白包含类受体蛋白和类受体激酶,其中 RLKs 由胞外结构域、跨膜结构域和细胞质激酶结构域组成,RLPs 缺乏细胞质激酶结构域,其胞内区域很短,不含有明显的信号结构域,二者都需要

共受体(co-receptor)来传递免疫信号。RLPs 和 RLKs 都通过一系列细胞外结构域与配体结合并将信号传递到细胞内,其中包括富含亮氨酸重复序列(LRR)、凝集素、马来凝集素(malectin)、赖氨酸基序(LysM)和表皮生长因子(EGF)样结构域^[11]。RLKs 存在于疟原虫(*Plasmodium*)、植物和动物中,但不存在于真菌中^[12-13]。根据激酶的结构域,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) RLKs 可以分为 44 个亚家族^[12]。LRR-RLKs 代表 RLKs 最大的亚家族,是植物中最具特征的 RLKs。对 33 种植物的系统发育研究得出,每种被子植物中 LRR-RLKs 的平均数量约为 250 个^[14]。LRR-RLKs 进一步被分为 20 个亚组,其中第Ⅻ亚组的基因参与了病原体识别,如 *FLS2*、*EFR* 和 *Xa21*^[14]。LRR-RLPs 代表植物中 RLPs 最大的亚家族,该基因家族的大小在植物物种中也存在高度差异^[15]。

1.2 PRR 信号通路及其免疫调控

PRRs 属于细胞表面受体,能够识别来自细菌、真菌、卵菌、寄生植物和食草动物的 PAMPs、MAMPs、HAMPs。一些 PRRs 还可以识别植物自身的分子,如 DAMPs 和其他植物内源性肽(植物细胞因子)^[16]。大多数 PRRs 与共受体共同作用激活下游免疫反应,这些共受体在陆地植物中高度保守,对 PRRs 介导的免疫反应至关重要。一些 PRR 不参与直接的配体识别,而是作为 PRR 共受体和免疫信号的负调节器发挥作用。与配体结合后,PRRs 与其共受体之间形成二聚体复合物,如细菌鞭毛蛋白肽 *FLS2*、*EFR* 和 *PEPRs*,与共受体 *AtBAK1* 和 *AtBKK1* 一起发挥作用^[13,17]。LRR-RLPs 与共受体 *SOBIR1* 和 *BAK1* 一起发挥作用,*LysM-RLK-LYKs* 和 *LysM-RLP-LYMs* 与共受体 *CERK1* 一起发挥作用^[18-21]。这些共受体在陆地植物中高度保守,对 PRR 介导的免疫至关重要。

在植物中,PRRs 主要是类受体激酶(RLKs),其构成植物最大和最多样蛋白超家族,在植物发育、自我不亲和、感受病原和响应多种环境胁迫中发挥重要作用。植物 PRRs 的胞外区域识别不同的配体^[11],配体的结合导致 PRRs 与其共受体(如 *BAK1* 和 *CERK1*)之间形成异二聚体受体复合物^[18,22-23]。在拟南芥(*Arabidopsis*)中,细菌鞭毛蛋白 N-末端的 22 个氨基酸的多肽 flg22 被 LRR-RLK *FLS2*(flagellin sensitive 2)识别^[24-25]。Flg22 充当“分子胶水”,与 *FLS2* 和 *BAK1* 的胞外 LRR 结

构域相互作用并结合在一起^[23,26]。FLS2 和 BAK1 的富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeats, LRR)结构域之间形成的异二聚体复合物,使得它们的细胞质激酶结构域非常紧密,从而导致一系列自磷酸化、反式磷酸化过程^[26-28]。

在 PRRs 识别 PAMPs 分子后,植物在短时间内可作出快速的防御应答,包括 MAPKs 级联反应的激活、ROS 水平的升高,同时启动水杨酸(salicylic acid, SA)和茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号传导途径、胼胝质沉积、气孔关闭和基因沉默等。在拟南芥中,CPK4/5/6/11 与 BIK1 一起发生磷酸化并激活 RbohD,从而产生活性氧^[29-31]。细胞质受体类激酶(RLCKs)对多个离子通道的磷酸化也会导致气孔关闭,以响应 PAMPs^[32-33]。同时,MAPKKK3、MAPKKK5 使 MAPKKs - MKK4、MKK5 磷酸化,然后磷酸化拟南芥中的 MPK3、MPK6,并赋予拟南芥对细菌、真菌的抗性。PTI 诱导的转录重组会导致抗菌化合物和防御相关激素的生物合成,如乙烯(ET)、水杨酸^[34-37]。过氧化氢(一种活性氧)可以促进蛋白质和酚醛交联,从而导致胼胝质沉积,并限制真菌、卵菌感染^[38-39]。

2 NLRs 信号通路及其介导的免疫调控

根据“zig-zag-zig”模型,适应性病原通过分泌效应蛋白到宿主体内抑制或作用于 PTI,导致效应蛋白引发感病性。比较典型的是病原细菌通过Ⅲ型分泌系统直接将效应蛋白释放到植物细胞中,抑制 PTI。在协同进化过程中,植物进化出 R 基因,其编码的 R 蛋白能够直接或间接特异性识别病原编码的无毒蛋白,从而引发 ETI。R 蛋白属于胞内受体,许多 R 基因编码 NLRs,它们作为免疫受体起作用。拟南芥中大约存在 200 个编码与核苷酸结合位点及其他植物抗性蛋白结构域相似的基因,其中约有 150 个为 NB-LRR 蛋白^[40-41]。

2.1 NLR 蛋白结构

植物和动物 NLRs 都包含 1 个位于中间的核苷酸结合(nucleotide-binding, NB)域和 1 个位于 C 端的 LRR 区域。其中,NB 结构域为受体寡聚化后形成的更高级复合物(如高等植物中的抗病小体和哺乳动物中的炎症小体)传递信号所必需的;高度可变的 LRR 区域通常参与自我抑制、蛋白质-蛋白质相互作用和效应子识别^[42]。典型的植物 NLRs 根据 N 末端的不同,分为 TIR 型和 CC 型 2 种主要类

型。TIR 型 NLR(TIR-type NLRs, TNL)的特征是其 N 末端具有 Toll/白介素 1 受体(Toll/inter-leukin-1 receptor, TIR)结构域,而 CC 型 NLR(CC-type NLRs, CNL)的 N 末端含有 1 个卷曲螺旋(coiled-coil, CC)结构域^[42-43],NLR 受体可直接感知分泌的毒性效应蛋白。NLRs 广泛分布于细胞质、细胞核、质膜(plasma membrane, PM)、液泡膜和内质网等亚细胞结构中^[44],如大麦(*Hordeum vulgare*) CNLMLA10 和拟南芥 TNLRPS4 位于细胞核、细胞质中,并且这 2 个亚细胞定位均为抗性激活所必需的^[45-46]。

2.2 NLRs 信号通路与免疫调控

NLRs 介导的免疫是通过细胞内 NLR 检测病原体效应蛋白而触发的。在拟南芥中,CNLs、TNLs 充当传感器 NLR 来识别效应蛋白,而 RNLs(RPW8-type NLRs)充当传递免疫信号的 NLRs 助手^[47]。虽然拟南芥中的大多数传感器 NLRs 需要 NLRs 助手来介导免疫,但是一些 CNLs 可以单独介导免疫应答,如 ZAR1 和 RPM1^[48]。近期的研究发现,CNL 型抗病小体 ZAR1 包含 ZAR1、受体样胞质激酶(RLCKs)RKS1 及假激酶 PBL2,具有阳离子通道活性^[49]。来自野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)分泌的效应蛋白 AvrAC 通过其尿苷酰转移酶功能将 PBL2 转化为 PBL2UMP, ZAR1 与 RKS1 形成复合物并结合 PBL2UMP 形成有活性的 PBLUMP-ZAR1-RKS1 复合体,导致 ZAR1/RKS1/PBL2UMP 形成定位于质膜的五聚抗病小体,从而完成对 AvrAC 的特异性识别。ZAR1 中的 N 端 α -螺旋构成的漏斗状结构,带有负电的羧酸环,允许阳离子进入胞液。ZAR1 与 RKS1、PBL2 和 AvrAC 在植物原生质体中的共同表达,导致细胞质钙内流、ROS 积累及叶绿体和液泡的扰动^[49]。在 ZAR1 激活过程中,ROS 的大量积累可能是由多种下游信号成分(如 NADPH 氧化酶)的激活引起的,因为 CPKs 是由胞浆钙内流激活的^[16]。防御相关转录因子也可能被胞浆钙内流激活^[28,50]。叶绿体和液泡的扰动很快就会导致质膜丧失完整性、细胞破裂^[49]。目前尚不清楚上述过程是如何被免疫信号成分调控以及它们与转录重组间的关系。

CNL 和 TNL 激活后,最终产生相似的转录表达,引发局部、系统抗性^[51-54]。CNL 类 NLRs 可以作为质膜上的阳离子通道介导 Ca^{2+} 内流,证明多个 Ca^{2+} 渗透通道可传导 Ca^{2+} 内流,并激活具有激酶活

性的膜定位受体,从而触发免疫反应。TNL 类 NLRs 通过 NADase 活性将 NAD⁺ 裂解成多种产物,包括烟酰胺腺嘌呤单核苷酸等^[55],这些产物及其衍生物可作为下游激活 EDS1 依赖性防御信号。大量试验证实,EDS1、PAD4 和 SAG101 是 TNL 介导的免疫反应所必需的。一些分子伴侣可以调控 NLRs 蛋白的折叠和更新,如 RAR1、SGT1 和 HSP90 作为蛋白伴侣共同调节 NLRs 的折叠、定位和转换^[56-59]。此外,NLR 蛋白的转换受到 SGT1 互作蛋白 SRFR1、MUSE 和 E3 连接酶 SNIPER1、SNIPER2 的调控^[60-63]。ZAR1 介导的抗性需要 ZAR1 抗病小体定位在质膜上^[49,64]。此外,抑制 NPR1 - 1 (SUPPRESSOR OF NPR1 - 1, SNC1) 介导的免疫需要拟南芥输入蛋白 α 核转运受体蛋白 IMP - α 3/MOS6^[65]。

3 PRR 与 NLRs 相互作用

随着研究的不断扩展和深入,人们逐渐发现 PTI 和 ETI 这 2 类看似截然不同的免疫反应具有许多相似的下流免疫信号传递途径,如病程相关蛋白的诱导表达、水杨酸的合成等,并且近期的研究发现,PTI 与 ETI 免疫反应具有相互加强的作用。ETI 免疫反应可以通过促进 PTI 免疫信号传递途径中关键蛋白的表达来提高 PTI 的免疫反应。

3.1 NLRs 保护 PRR 信号通路

目前植物已经进化出多个 NLRs,通过保护 PRR 信号成分或诱饵来检测病原物效应子。因此,许多 PRRs 和 PRR 信号功能丧失的突变体,如拟南芥突变体 *bak1 - 4* *bkk1 - 1*、*bik1*、*cngc2/4*、*rbohdf*、*mekkl1*、*mkk1/2*、*mpk4* 和 *camta3*,表现出了自身免疫表型^[17,66-72]。在这些突变体中观察到的自身免疫是由多个 NLRs 的激活引起的。TNL CONSTITUTIVE SHADE - AVOIDANCE 1 (CSA1) 保护 BAK1 - 相互作用受体 3 (BAK1 - INTERACTING RECEPTOR 3, BIR3) 和 BAK1^[73]。此外,*bak1 - 3* *bkk - 1* 自身免疫和 HopB1 触发的免疫依赖于 ADR1s^[74]。近期的研究表明,RLCKs 还与感知油菜素内脂和信号肽的受体激酶 (RKs) 联系起来以协调生长、花柱导向、胚胎和气孔模式、花器官脱落和非生物胁迫反应。RLCKs 的活性和稳定性不仅受到 RKs 的动态调控,还受到其他 RLCK 相关蛋白的动态调控。CNL ZAR1 可以与 RLCK RK1 监测器 PBL2 及 CNL RPS5 监测器 PBS1 一起,逆转

(reverse) 病原物效应蛋白激发的 ETS^[75-77]。CNL SUMM2 通过 MAPK4 的底物——蛋白钙调蛋白结合受体样细胞质激酶 3 (CALMODULIN - BINDING RECEPTOR - LIKE CYTOPLASMIC KINASE 3, CRCK3) 保护并感知 MEKK1 - MKK1/2 - MPK4 激酶级联的破坏^[67,78]。SUMM2 还检测丁香假单胞菌效应子 HopAII,其能抑制 MPK4 激酶的活性^[50]。TNL RPS6 也有助于 HopAII 触发的免疫^[79]。*bik1*、*cngc2/4* 和 *rbohdf* 中的自身免疫是否依赖于 NLRs 尚不清楚。保护 PRR 信号通路的其他 NLRs 仍有待确定。

3.2 PRRs 和 NLRs 之间信号组分的相互依赖性

PRR 共受体、RLCKs、NADPH 氧化酶、钙通道、CPKs 和 MAPKs 被认为是典型的 PRR 信号成分,而 EP 蛋白和 NLRs 助手被认为是典型的 NLR 信号成分。然而,最近的研究结果表明,PRR 介导的抗性依赖于典型的 NLR 信号成分,反之亦然^[5-8]。Ngou 等通过可诱导性 ETI 免疫系统,分析了拟南芥中 PTI 和 ETI 等 2 种不同免疫系统之间的相互作用,该研究发现,植物细胞表面受体对病原体的识别会激活多种蛋白激酶和 NADPH 氧化酶,同时还发现,细胞内受体主要通过几种机制增加蛋白的丰度来促进这些蛋白的激活。此外,依赖于细胞内受体的超敏反应通过细胞表面受体的激活而得到大大增强^[5]。因此,植物中细胞表面和细胞内受体激活的免疫途径相互增强,从而增强了对病原体的防御能力^[5]。Yuan 等利用拟南芥的 PRR 和 PRR 共受体突变体感染病原体模型,发现 NADPH 氧化酶 RBOHD 的磷酸化促进了 ROS 的产生,是连接 PRR 和 NLR 介导的免疫系统的早期关键信号事件,受体样细胞质激酶 BIK1 的磷酸化是 ETI 系统中 RBOHD 完全激活、基因表达和细菌抗性所必需的^[6]。此外,NLR 信号迅速增加了 PTI 信号因子的转录和蛋白质表达。该研究结果揭示了 PTI 和 ETI 免疫系统之间的协同互作模式,同时 ETI、PTI 免疫系统存在诸多相似的下流免疫反应,自然界中通过增强 PTI 通路来达到加强 ETI 响应,为植物抗病性的增强提供了理论依据^[6]。NLR 可以参与植物免疫的下流关键信号传导,其中 EDS1 (ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY 1)、PAD4 (PHYTOALEXIN DEFICIENT 4) 和 SAG101 (SENESCENCE ASSOCIATED GENE 101) 组成的信号网络涉及大多数 NLRs 及所有 TNLs,如 *flg22* 和 *nlp20* 诱导的抗性部分依赖于

NLRs 信号的关键组分 EDS1、PAD4、SAG101、ADRI1s 和 NRG1s^[7-8]。Pruitt 等提出,EP 蛋白和 NLRs 助手通过 RLP 共受体(SOBIR1)、EP 蛋白和 NLRs 助手之间的相互作用被 RLPs 激活,尽管 EP 蛋白在 RLP 防御信号中是起主要作用还是起次要作用仍有待确定^[8]。然而,有研究结果显示,PRRs 的激活导致多个 NLRs 和其他含 TIR 结构域的蛋白质表达量增加,从而促进下游信号的传导^[7]。这 2 个假设并不相互排斥,PRR 介导的免疫涉及 NLR 信号成分的确切机制仍有待确定。

NLR 介导的免疫也依赖于 PRR 和多种 PRR 信号成分。在拟南芥中,RPS2、RPS5 和 RRS1/RPS4 介导的抗性依赖于 BAK1 和 BKK1^[5-6]。相较于 PTI,ETI 与 PTI 同时激活能诱导持续时间更久的 BIK1、RBOHD 及 MPK3 的磷酸化,然而 ETI 自身激活并不能激活 RBOHD 和 MAPK 的磷酸化。ETI 与 PTI 同时激活使得 PTI 信号通路中多种蛋白表达量增多(BIK1、RBOHD、MPK3、BAK1 等),但是其他重要元件(如 MPK4、MPK6、FLS2 等)并没有表现出蛋白量的变化。与此同时,ETIAvrRps4 的转录组数据说明 ETI 自身激活可以诱导很多 PTI 元件的表达量显著提高,从而造成 ETI 的激活增强了 PTI 信号通路^[5]。在野生型植物中,RPS2 基因的激活会导致 PTI 系统中关键蛋白质(包括 BIK1 和 RBOHD)的积累并增强 PTI 系统相关基因(如 WRKY29 和 AZIs)的转录。RBOHD 的完全激活(通过磷酸化作用)需要 PRR/共受体以产生强烈的 ROS 并激活 ETI 免疫系统。在缺乏 PRR/共受体的情况下,NLR 受体的激活仍会诱导 PTI 系统某些组分的表达,但这些组分大多都处于非活性状态(如 BIK1 和 RBOHD),并导致 ROS 产生不足和 ETI 系统无法激活^[6]。RPS2 介导的耐药性也依赖于 BIK1 和 RbohD^[6,71]。RPM1 和 RPS2 介导的抗性及其过敏反应(HR)均依赖于 CPK1/2/5/6^[28]。MPK3、MPK6 的激活也是由多个 NLRs 介导的 HR 和抗性所必需的,包括 RPM1、RPS2、RPS5 和 RRS1/RPS4^[80]。ETI 阻止病原体感染的关键机制之一是加强并恢复 PTI 的周转和病原体效应子的作用^[5-6]。因此,NLR 介导的抗性需要 PRRs 和 PRR 信号成分。

3.3 PRR 和 NLR 介导的免疫相互增强

使用雌二醇诱导的识别效应器激活 TNLs RRS1/RPS4 和 RPP4 不会触发 HR。PAMPs/MAMPs 的存在恢复了这些 TNLs 诱导的 HR^[5,81]。同样的,

由 CNLs RPM1、RPS2 和 RPS5 诱导的 HR 也因 PRRs 的激活而得到增强^[5]。此外,RPS2 诱导的 HR 和抗性在 PRR 突变体中减弱^[6,82]。PRR 增强 NLR 诱导的免疫有几种可能的机制。首先,PRRs 的激活可诱导 NLRs 和 NLR 信号成分的表达^[83-86]。6 种不同 PRRs 的激活导致编码拟南芥中大多数 TNLs、CNLs、EP 蛋白和 NLRs 助手的基因上调表达^[37]。因此,这些蛋白质丰度的增加可能会在效应蛋白识别时“增强”NLR 的激活。其次,PRRs 的激活可能通过转录后修饰(PTMs)引发 NLR 介导的免疫。根据 PAMP 感知,SGT1 被 MAPKs 磷酸化,这对 NLRs 的稳定性很重要^[87]。此外,在 PAMP 识别时,NLR 转录组的无义介导衰变受到抑制^[86]。因此,PTI 激活的转录和转录后修饰都会影响 NLRs 的稳定性。但是关于 PTI 是否以及如何激发(primes)NLR 信号成分仍有待研究。

NLRs 的激活增强了 PAMP 诱导的细胞反应,如活性氧产生、胼胝质沉积和防御相关基因表达^[59]。ETI 也会增强多种 PRR 信号成分的激活,如 BIK1、RbohD 和 MPK3^[5-6]。ETI 诱导 SOBIR1、BAK1、BIK1、RbohD 和 MPK3 的转录和蛋白质积累^[5]。在 ETI 期间,BIK1、MPK3 和 RbohD 的转录水平仅短暂上调。然而,这些基因的蛋白质水平在很长一段时间内保持上调表达^[5],意味着 PTMs 或其他转录后机制也可能影响 ETI 期间 PRR 信号成分的稳定性。PRR 信号成分的蛋白质(如 BAK1、BIK1 和 RbohD 丰度)受到多个过程的严格调控,ETI 如何调节或影响这些过程尚不清楚。此外,NLRs 诱导的钙内流可能通过钙依赖蛋白激酶(CPKs)有助于 PTI 的增强^[47,88-89]。总之,PTI 和 ETI 通过多种机制相互增强,以诱导对病原体的强大免疫。

4 展望

过去几十年内,植物与病原菌相互作用的研究取得了惊人进展,PTI、ETI 在植物先天免疫中的作用机制被逐步揭示。但是,对植物抗性的研究仍然是有限的,植物和病原菌之间还存在许多惊人的互动,说明还存在许多未知的特异机制。对 PRRs、NLRs 信号通路的研究发现,PRRs、NLRs 利用一些重叠但独特的信号组分来激活下游生理反应。2 种信号通路都受到严格调控以防止自身免疫。最近的研究结果表明,NLR 介导的抗病性依赖 PRR,反之,NLR 激活增强 PRR 介导的免疫反应,表明植物免疫反应的全面激活需要 PRRs、NLRs 信号的协同

作用。由此可见,PTI 和 ETI 并非独立的免疫途径。未来研究应聚焦于细胞表面受体与胞内免疫受体之间介导的免疫反应的一般机制,例如:鉴定新的免疫受体;了解免疫受体触发的信号通路和生理反应;了解免疫是如何被外部生物和/或非生物因素内在调节和操纵的;PTI 和 ETI 的免疫协作是否广泛存在于植物与病原菌的互作中;了解不同的免疫系统在感染期间是如何协同发挥作用的^[89-90]。对 PTI 和 ETI 免疫协作潜在机制的研究将有助于全面了解植物的免疫系统,为作物抗病育种工作奠定理论基础。

参考文献:

- [1] 钱 韦,方荣祥,何祖华. 植物免疫与作物抗病分子育种的重大理论基础——进展与设想[J]. 中国基础科学,2016,18(2): 38-45.
- [2] 覃 磊,彭志红,夏石头. 植物 NLR 免疫受体的识别、免疫激活与信号调控[J]. 植物学报,2022,57(1):12-23.
- [3] Jones J D G, Dangl J L. The plant immune system[J]. Nature, 2006,444(7117):323-329.
- [4] 张 杰,刘 俊,秦 君. 植物先天免疫研究现状与前景展望[J]. 中国科学院院刊,2017,32(8):856-862.
- [5] Ngou B P M, Ahn H K, Ding P, et al. Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors[J]. Nature, 2021,592(7852):110-115.
- [6] Yuan M H, Jiang Z Y, Bi G Z, et al. Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity[J]. Nature, 2021, 592(7852):105-109.
- [7] Tian H, Wu Z, Chen S, et al. Activation of TIR signalling boosts pattern-triggered immunity[J]. Nature, 2021,598(7881):500-503.
- [8] Pruitt R N, Locci F, Wanke F, et al. The EDS1-PAD4-ADR1 node mediates *Arabidopsis* pattern-triggered immunity[J]. Nature, 2021,598(7881):495-499.
- [9] Chang M, Chen H, Liu F Q, et al. PTI and ETI: convergent pathways with diverse elicitors[J]. Trends in Plant Science, 2022,27(2): 113-115.
- [10] Wang Y, Pruitt R N, Nürnberger T, et al. Evasion of plant immunity by microbial pathogens[J]. Nature Review Microbiology, 2022,20(8):449-464.
- [11] Boutrot F, Zipfel C. Function, discovery, and exploitation of plant pattern recognition receptors for broad-spectrum disease resistance[J]. Annual Review of Phytopathology, 2017,55:257-286.
- [12] Shiu S H, Bleecker A B. Expansion of the receptor-like kinase/Pelle gene family and receptor-like proteins in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2003,132(2):530-543.
- [13] Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, et al. A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence[J]. Nature, 2007,448:497-500.
- [14] Dufayard J F, Bettembourg M, Fischer I, et al. New insights on leucine-rich repeats receptor-like kinase orthologous relationships in Angiosperms[J]. Frontiers in Plant Science, 2017,8:381.
- [15] Ngou B P M, Heal R, Wyler M, et al. Concerted expansion and contraction of immune receptor gene repertoires in plant genomes[J]. Nature Plants, 2022,8:1146-1152.
- [16] Hou S G, Liu D R, He P. Phyto cytokines function as immunological modulators of plant immunity[J]. Stress Biology, 2021,1(1):8.
- [17] Roux M, Schwessinger B, Albrecht C, et al. The *Arabidopsis* leucine-rich repeat receptor-like kinases BAK1/SERK3 and BKK1/SERK4 are required for innate immunity to hemibiotrophic and biotrophic pathogens[J]. Plant Cell, 2011,23(6):2440-2455.
- [18] Miya A, Albert P, Shinya T, et al. CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*[J]. PNAS, 2007,104(49):19613-19618.
- [19] Willmann R, Lajunen H M, Erbs G, et al. *Arabidopsis* lysin-motif proteins LYM1 LYM3 CERK1 mediate bacterial peptidoglycan sensing and immunity to bacterial infection[J]. PNAS, 2011,108(49):19824-19829.
- [20] Liebrand T W H, van den Berg G C M, Zhang Z, et al. Receptor-like kinase SOBIR1/EVR interacts with receptor-like proteins in plant immunity against fungal infection[J]. PNAS, 2013,110(24):10010-10015.
- [21] Cao Y R, Liang Y, Tanaka K, et al. The kinase LYK5 is a major chitin receptor in *Arabidopsis* and forms a chitin-induced complex with related kinase CERK1[J]. eLife, 2014,3:e03766.
- [22] Ma X Y, Xu G Y, He P, et al. SERKING coreceptors for receptors[J]. Trends in Plant Science, 2016,21(12):1017-1033.
- [23] Hohmann U, Lau K, Hothorn M. The structural basis of ligand perception and signal activation by receptor kinases[J]. Annual Review of Plant Biology, 2017,68:109-137.
- [24] Felix G, Duran J D, Volko S, et al. Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin[J]. The Plant Journal, 1999,18(3):265-276.
- [25] Chinchilla D, Bauer Z, Regenass M, et al. The *Arabidopsis* receptor kinase FLS2 binds flg22 and determines the specificity of flagellin perception[J]. The Plant Cell, 2005,18(2):465-476.
- [26] Sun Y D, Li L, Macho A P, et al. Structural basis for flg22-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex[J]. Science, 2013,342(6158):624-628.
- [27] Schwessinger B, Roux M, Kadota Y, et al. Phosphorylation-dependent differential regulation of plant growth, cell death, and innate immunity by the regulatory receptor-like kinase BAK1[J]. PLoS Genetics, 2011,7(4):e1002046.
- [28] Cao Y R, Aceti D J, Sabat G, et al. Mutations in FLS2 Ser-938 dissect signaling activation in FLS2-mediated *Arabidopsis* immunity[J]. PLoS Pathogens, 2013,9(4):e1003313.
- [29] Kadota Y, Sklenar J, Derbyshire P, et al. Direct regulation of the NADPH oxidase RBOHD by the PRR-associated kinase BIK1 during plant immunity[J]. Molecular Cell, 2014,54(1):43-55.
- [30] Kadota Y, Shirasu K, Zipfel C. Regulation of the NADPH oxidase

- RBOHD during plant immunity [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2015, 56(8):1472–1480.
- [31] Li L, Li M, Yu L P, et al. The FLS2 – associated kinase BIK1 directly phosphorylates the NADPH oxidase RbohD to control plant immunity[J]. *Cell Host & Microbe*, 2014, 15(3):329–338.
- [32] Liu Y, Maierhofer T, Rybak K, et al. Anion channel SLAH3 is a regulatory target of chitin receptor – associated kinase PBL27 in microbial stomatal closure[J]. *eLife*, 2019, 8:e44474.
- [33] Thor K, Jiang S, Michard E, et al. The calcium – permeable channel OSCA1.3 regulates plant stomatal immunity[J]. *Nature*, 2020, 585(7826):569–573.
- [34] Macho A P, Schwessinger B, Ntoukakis V, et al. A bacterial tyrosine phosphatase inhibits plant pattern recognition receptor activation [J]. *Science*, 2014, 343(6178):1509–1512.
- [35] Bigeard J, Colcombet J, Hirt H. Signaling mechanisms in pattern – triggered immunity (PTI) [J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(4):521–539.
- [36] Guan R X, Su J B, Meng X Z, et al. Multilayered regulation of ethylene induction plays a positive role in *Arabidopsis* resistance against *Pseudomonas syringae* [J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(1):299–312.
- [37] Björnson M, Pimprikar P, Nürnberger T, et al. The transcriptional landscape of *Arabidopsis thaliana* pattern – triggered immunity[J]. *Nature Plants*, 2021, 7(5):579–586.
- [38] Luna E, Pastor V, Robert J, et al. Callose deposition: a multifaceted plant defense response[J]. *Molecular Plant – Microbe Interaction*, 2011, 24(2):183–193.
- [39] Voigt C A. Callose – mediated resistance to pathogenic intruders in plant defense – related papillae [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5:168.
- [40] Kim S H, Kwon S I, Saha D, et al. Resistance to the *Pseudomonas syringae* effector HopA1 is governed by the TIR – NBS – LRR protein RPS6 and is enhanced by mutations in SRFR1 [J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(4):1723–1732.
- [41] Saha D, Rana R S, Sureja A K, et al. Cloning and characterization of NBS – LRR encoding resistance gene candidates from Tomato Leaf Curl New Delhi Virus resistant genotype of *Luffa cylindrica* Roem[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2013, 81:107–117.
- [42] Saur I M L, Panstruga R, Schulze – Lefert P. NOD – like receptor – mediated plant immunity: from structure to cell death[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2021, 21:305–318.
- [43] Tamborski J, Krasileva K V. Evolution of plant NLRs: from natural history to precise modifications[J]. *Annual Review Plant Biology*, 2020, 71:355–378.
- [44] Chiang Y H, Coaker G. Effector triggered immunity: NLR immune perception and downstream defense responses[J]. *The Arabidopsis Book*, 2015, 13:e0183.
- [45] Shen Q H, Saijo Y, Mauch S, et al. Nuclear activity of MLA immune receptors links isolate – specific and basal disease – resistance responses[J]. *Science*, 2007, 315(5815):1098–1103.
- [46] Bai S W, Liu J, Chang C, et al. Structure – function analysis of barley NLR immune receptor MLA10 reveals its cell compartment specific activity in cell death and disease resistance [J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8:e1002752.
- [47] Feehan J M, Castel B, Bentham A R, et al. Plant NLRs get by with a little help from their friends [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2020, 56:99–108.
- [48] Adachi H, Derevnina L, Kamoun S. NLR singletons, pairs, and networks: evolution, assembly, and regulation of the intracellular immunoreceptor circuitry of plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2019, 50:121–131.
- [49] Bi G Z, Su M, Li N, et al. The ZAR1 resistosome is a calcium – permeable channel triggering plant immune signaling [J]. *Cell*, 2021, 184(13):3528–3541.e12.
- [50] Boudsocq M, Willmann M R, McCormack M, et al. Differential innate immune signaling via Ca^{2+} sensor protein kinases [J]. *Nature*, 2010, 464(7287):418–422.
- [51] Bartsch M, Gobbato E, Bednarek P, et al. Salicylic acid – independent ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY 1 signaling in *Arabidopsis* immunity and cell death is regulated by the monooxygenase *FMO1* and the Nudix hydrolase NU – DT7 [J]. *Plant Cell*, 2006, 18(4):1038–1051.
- [52] Mine A, Seyffert C, Kracher B, et al. The defense phytohormone signaling network enables rapid, high – amplitude transcriptional reprogramming during effector – triggered immunity[J]. *Plant Cell*, 2018, 30(6):1199–1219.
- [53] Saile S C, Jacob P, Castel B, et al. Two unequally redundant ‘helper’ immune receptor families mediate *Arabidopsis thaliana* intracellular ‘sensor’ immune receptor functions [J]. *PLoS Biology*, 2020, 18(9):e3000783.
- [54] Zhou J M, Zhang Y L. Plant immunity: danger perception and signaling[J]. *Cell*, 2020, 181(5):978–989.
- [55] Wan L, Essuman K, Anderson R G, et al. TIR domains of plant immune receptors are NAD^{+} – cleaving enzymes that promote cell death[J]. *Science*, 2019, 365(6455):799–803.
- [56] Azevedo C, Sadanandom A, Kitagawa K, et al. The *RAR1* interactor SGT1, an essential component of R gene – triggered disease resistance[J]. *Science*, 2002, 295(5562):2073–2076.
- [57] Peart J R, Lu R, Sadanandom A, et al. Ubiquitin ligase – associated protein SGT1 is required for host and nonhost disease resistance in plants[J]. *PNAS*, 2002, 99(16):10865–10869.
- [58] Takahashi A, Casais C, Ichimura K, et al. HSP90 interacts with RAR1 and SGT1 and is essential for RPS2 – mediated disease resistance in *Arabidopsis* [J]. *PNAS*, 2003, 100(20):11777–11782.
- [59] Shirasu K. The HSP90 – SGT1 chaperone complex for NLR immune sensors[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2009, 60:139–164.
- [60] Li Y Z, Li S X, Bi D L, et al. SRFR1 negatively regulates plant NB – LRR resistance protein accumulation to prevent autoimmunity [J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(9):e1001111.
- [61] Huang S, Chen X J, Zhong X H, et al. Plant TRAF proteins regulate

- NLR immune receptor turnover[J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 19 (2): 204–215.
- [62] Dong O X, Ao K, Xu F, et al. Individual components of paired typical NLR immune receptors are regulated by distinct E3 ligases[J]. *Nature Plants*, 2018, 4: 699–710.
- [63] Wu Z S, Tong M M, Tian L, et al. Plant E3 ligases SNIPER1 and SNIPER2 broadly regulate the homeostasis of sensor NLR immune receptors[J]. *The EMBO Journal*, 2020, 39 (15): e104915.
- [64] Wang J Z, Hu M J, Wang J, et al. Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity[J]. *Science*, 2019, 364 (6435): eaav5870.
- [65] Lüdke D, Roth C, Kamrad S A, et al. Functional requirement of the *Arabidopsis* importin- α nuclear transport receptor family in autoimmunity mediated by the NLR protein SNC1[J]. *The Plant Journal*, 2021, 105 (4): 994–1009.
- [66] Torres M A, Dangl J L, Jones J D G. *Arabidopsis* gp91^{phox} homologues *AtrbohD* and *AtrbohF* are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response[J]. *PNAS*, 2001, 99 (1): 517–522.
- [67] Zhang Z B, Wu Y L, Gao M H, et al. Disruption of PAMP-induced MAP kinase cascade by a *Pseudomonas syringae* effector activates plant immunity mediated by the NB-LRR protein SUMM2[J]. *Cell Host and Microbe*, 2012, 11 (3): 253–263.
- [68] Chen T, Bi K, He Z C, et al. *Arabidopsis* mutant *bik1* exhibits strong resistance to *Plasmodiophora brassicae*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2016, 7: 402.
- [69] Liu J, Chen S F, Chen L J, et al. BIK1 cooperates with BAK1 to regulate constitutive immunity and cell death in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2017, 59 (4): 234–239.
- [70] Lolle S, Greeff C, Petersen K, et al. Matching NLR immune receptors to autoimmunity in camta3 mutants using antimorphic NLR alleles[J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 21 (4): 518–529.
- [71] Kadota Y, Liebrand T W H, Goto Y, et al. Quantitative phosphoproteomic analysis reveals common regulatory mechanisms between effector- and PAMP-triggered immunity in plants[J]. *New Phytologist*, 2019, 221 (4): 2160–2175.
- [72] Tian W, Hou C, Ren Z, et al. A calmodulin-gated calcium channel links pathogen patterns to plant immunity[J]. *Nature*, 2019, 572 (7767): 131–135.
- [73] Schulze S, Yu L P, Ehinger A, et al. The TIR-NBS-LRR protein CSA1 is required for autoimmune cell death in *Arabidopsis* pattern recognition co-receptor bak1 and bir3 mutants[J/OL]. *bioRxiv*, 2021, DOI:10.1101/2021.04.11.438637.
- [74] Wu Y J, Gao Y, Zhan Y Y, et al. Loss of the common immune coreceptor BAK1 leads to NLR-dependent cell death[J]. *PNAS*, 2020, 117 (43): 27044–27053.
- [75] Shao F, Golstein C, Ade J, et al. Cleavage of *Arabidopsis* PBS1 by a bacterial type III effector[J]. *Science*, 2003, 301 (5637): 1230–1233.
- [76] Zhang J, Li W, Xiang T T, et al. Receptor-like cytoplasmic kinases integrate signaling from multiple plant immune receptors and are targeted by a *Pseudomonas syringae* effector[J]. *Cell Host & Microbe*, 2010, 7 (4): 290–301.
- [77] Wang G X, Roux B, Feng F, et al. The decoy substrate of a pathogen effector and a pseudokinase specify pathogen-induced modified-self recognition and immunity in plants[J]. *Cell Host & Microbe*, 2015, 18 (3): 285–295.
- [78] Zhang Z B, Liu Y N, Huang H, et al. The NLR protein SUMM2 senses the disruption of an immune signaling MAP kinase cascade via CRCK3[J]. *EMBO Reports*, 2017, 18 (2): 292–302.
- [79] Takagi M, Hamano K, Takagi H, et al. Disruption of the MAMP-induced MEKK1-MKK1/MKK2-MPK4 pathway activates the TNL immune receptor SMN1/RPS6[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2018, 60 (4): 778–787.
- [80] Su J B, Yang L Y, Zhu Q K, et al. Active photosynthetic inhibition mediated by MPK3/MPK6 is critical to effector-triggered immunity[J]. *PLoS Biology*, 2018, 16 (5): e2004122.
- [81] Ngou B P M, Ahn H K, Ding P T, et al. Estradiol-inducible AvrRps4 expression reveals distinct properties of TIR-NLR-mediated effector-triggered immunity[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71 (6): 2186–2197.
- [82] Ma Y, Walker R K, Zhao Y C, et al. Linking ligand perception by PEPR pattern recognition receptors to cytosolic Ca²⁺ elevation and downstream immune signaling in plants[J]. *PNAS*, 2012, 109 (48): 19852–19857.
- [83] Navarro L, Zipfel C, Rowland O, et al. The transcriptional innate immune response to flg22: interplay and overlap with avr gene-dependent defense responses and bacterial pathogenesis[J]. *Plant Physiology*, 2004, 135 (2): 1113–1128.
- [84] Bonardi V, Tang S J, Stallmann A, et al. Expanded functions for a family of plant intracellular immune receptors beyond specific recognition of pathogen effectors[J]. *PNAS*, 2011, 108 (39): 16463–16468.
- [85] Brendolise C, Martinez-Sanchez M, Morel A, et al. NRG1-mediated recognition of HopQ1 reveals a link between PAMP- and Effector-triggered Immunity[J]. *bioRxiv*, 2018, DOI: 10.1101/293050.
- [86] Jung H W, Panigrahi G K, Jung G Y, et al. Pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity involves proteolytic degradation of core nonsense-mediated mRNA decay factors during the early defense response[J]. *The Plant Cell*, 2020, 32 (4): 1081–1101.
- [87] Yu G, Xian L, Xue H, et al. A bacterial effector protein prevents MAPK-mediated phosphorylation of SGT1 to suppress plant immunity[J]. *PLoS Pathogens*, 2020, 16 (9): e1008933.
- [88] Jacob P, Kim N H, Wu F H, et al. Plant “helper” immune receptors are Ca²⁺-permeable nonselective cation channels[J]. *Science*, 2021, 373 (6553): 420–425.
- [89] Ngou B P M, Ding P T, Jones J D G. Channeling plant immunity[J]. *Cell*, 2021, 184 (13): 3358–3360.
- [90] Ngou B P M, Ding P T, Jones J D G. Thirty years of resistance: zig-zag through the plant immune system[J/OL]. *The Plant Cell*, 2022 [2022-06-05]. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac041>.