



综述 Reviews

植物NLR免疫受体的结构、生化功能及分子调控

胡智杰, 吴忠长*

浙江大学生命科学学院, 杭州310058

*通信作者(wzchang@zju.edu.cn)

摘要: NLR受体是植物免疫中重要的抗病蛋白, 植物体在应对病原微生物入侵时需要激活NLR受体以触发免疫反应。随着功能基因组学、结构生物学技术的快速发展, NLR受体蛋白的结构功能以及激活机制取得了极大的进展, 尤其是抗病小体结构的精密解析。本文综述了NLR受体蛋白的结构类型, 并阐述了NLR受体对病原微生物效应蛋白的识别方式、NLR受体的激活机制以及分子调控模式, 以期今后的植物抗病免疫研究提供参考依据。

关键词: NLR受体; 植物免疫; 抗病小体; 分子调控

Structure, biochemical function and molecular regulation of plant NLRs

HU Zhijie, WU Zhongchang*

College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

*Corresponding author (wzchang@zju.edu.cn)

Abstract: NLR receptors are important disease resistance proteins in plant immunity. Plants need to activate NLR receptors in response to pathogenic microbial invasion to trigger immune responses. With the rapid development of functional genomics and structural biology technologies, great progress has been made in the structure, function and activation mechanism of NLR receptors, especially in the sophisticated resolution of the structure of resistosome. In this paper, we review the structure of NLR protein, and describe its recognition pattern, activation mechanism and molecular regulation mode of NLR receptors to pathogen effectors, in order to provide a reference for broadening the research direction of plant immunity.

Key words: NLR receptor; plant immunity; resistosome; molecular regulation

植物在自然环境中持续地受到细菌、真菌、病毒等病原微生物的入侵, 为了保护生长发育不受影响, 植物进化出了一套复杂的免疫系统来识别并限制病原微生物的入侵。尽管缺乏类似高等动物的适应性免疫系统(adaptive immune system), 植物细胞依靠自身的固有免疫(innate immunity)也能够应对病原微生物的侵染(Zipfel 2014; Jacob等2013)。由于植物体中没有可循环转移的免疫细胞, 植物细胞必须以适当的方式来识别病原微生物并

触发免疫反应。因此, 植物基因组进化出了数百种免疫受体(immune receptor)来整合环境中的生物信号(Jacob等2013)。

植物免疫受体可分为两大类: 第一类是细胞表面受体, 也称模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR), 主要包括类受体激酶(receptor-like

收稿 2022-12-16 修定 2023-05-07

资助 国家重点研发项目(2021YFF1000404)。

kinase, RLK)和类受体蛋白(receptor-like protein, RLP); 第二类是胞内识别受体, 主要为一类包含核苷酸结合结构域和亮氨酸富集重复序列(nucleotide-binding leucine-rich repeat, NLR)的受体类蛋白。PRRs一般定位于细胞膜, 而NLRs通常定位于细胞内。尽管蛋白结构和细胞定位不同, PRRs和NLRs有一套共同的下游免疫响应体系, 包括 Ca^{2+} 内流、活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累、激活有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联反应、产生植物细胞因子和防御性激素, 例如水杨酸(salicylic acid, SA)和乙烯, 以及大规模的转录重编程(周冕2022)。位于细胞膜表面的PRRs监测细胞外环境中来自病原微生物原发性分泌的异物分子, 例如脂多糖、几丁质、鞭毛等, 进而触发免疫反应, 称为“模式触发免疫”[pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity, PTI] (吴玉俊和吴旺泽2021; Jones和Dangl 2006)。PTI激活的免疫信号通常是保守的(Boutrot和Zipfel 2017), 赋予植物一定的免疫力来抵御病原微生物的进一步侵染。但是, 病原微生物能够通过分泌效应蛋白的方式干扰植物PTI反应(Varden等2017; Büttner 2016)。这些效应蛋白突破PRRs控制的细胞表面防线后被位于细胞内的NLRs特异性识别, 进而引发更强烈的免疫反应, 称为“效应蛋白触发免疫”(effector-triggered immunity, ETI)。ETI与PTI能够引发类似的下流免疫信号途径, 但ETI是大幅度的长时间免疫反应, 通常伴随有病原微生物感染部位发生局部程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD), 称为超敏反应(hypersensitive response, HR)。局部抗性的产生也会引发更持久的系统免疫, 称为系统获得型抗性(systemic acquired resistance, SAR), 使尚未受到感染的植物组织能够抵御病原微生物的入侵(Fu和Dong 2013)。NLRs具有多种结构类型, 能够以不同的策略识别效应蛋白, 从而触发ETI反应。

NLRs作为植物体内普遍存在的一类免疫受体, 在识别病原微生物效应蛋白后能够迅速触发免疫反应, 从而在植物抗病中发挥重要作用。因此, 有关NLR免疫受体的相关研究成为植物病理学上

的一个研究热点。近几年有关NLR免疫受体的研究又取得了一系列进展, 尤其是冷冻电镜(cryo-EM)技术的发展, 在解析NLR蛋白的晶体结构以及揭示NLRs调控植物免疫的生物学功能发挥了巨大的作用。在这里, 本文将对分别从NLRs的结构功能、效应蛋白的识别方式、受体激活机制和分子调控模式的研究进展进行综述, 以期为NLRs调控植物免疫反应的相关研究提供参考依据。

1 NLRs的结构类型

1.1 NLRs的结构

典型的植物NLRs包含3个结构域: N端的非保守结构域、中间的核苷酸结合(nucleotide binding, NB)结构域以及C端的富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)结构域(图1-A)。

经典的N端结构域主要包括Toll-白介素1受体结构域(Toll-interleukin-1 receptor, TIR)和卷曲螺旋结构域(coiled-coil, CC)。编码CC结构域的基因家族中, 有一支源自陆生植物小立碗藓(*Physcomitrella patens*)的RPW8基因亚家族, 编码RPW8结构域, 并在进化过程中与NB-LRR结构的N端整合, 形成一类具有独立系统发育路径的NLR (RPW8-NB-LRR), 研究者将这类CC结构域命名为RPW8类型的CC结构域, 也称 CC^{R} 结构域(Zhong和Cheng 2016; Collier等2011)。拟南芥RPW8.1和RPW8.2通过依赖于水杨酸相关的信号通路介导对白粉病的广谱抗性(Xiao等2001)。因此, 根据N端结构域的不同, 植物NLRs可分为TNL (TIR-NLR)、CNL (CC-NLR)以及RNL (CC^{R} -NLR)三大类。有研究表明, 删除N端结构域的截短NLRs不能触发植物免疫反应, 而仅N端结构域自身就可以引起适当的免疫反应(Williams等2016; Collier等2011; Maekawa等2011a), 说明N端结构域与下游免疫信号传导有关。N端结构域的寡聚化是NLRs激活所必需的, 该过程可被效应蛋白诱导, 例如烟草R蛋白(Mestre和Baulcombe 2005)、拟南芥RPP1 (Schreiber等2016)。

保守的NB结构域由动物凋亡蛋白酶活化因子(apoptotic protease activating factor1, Apaf-1)、植物抗性蛋白(resistance protein)和动物凋亡蛋白(cell death protein4, CED4)几种蛋白结构域组成, 因此

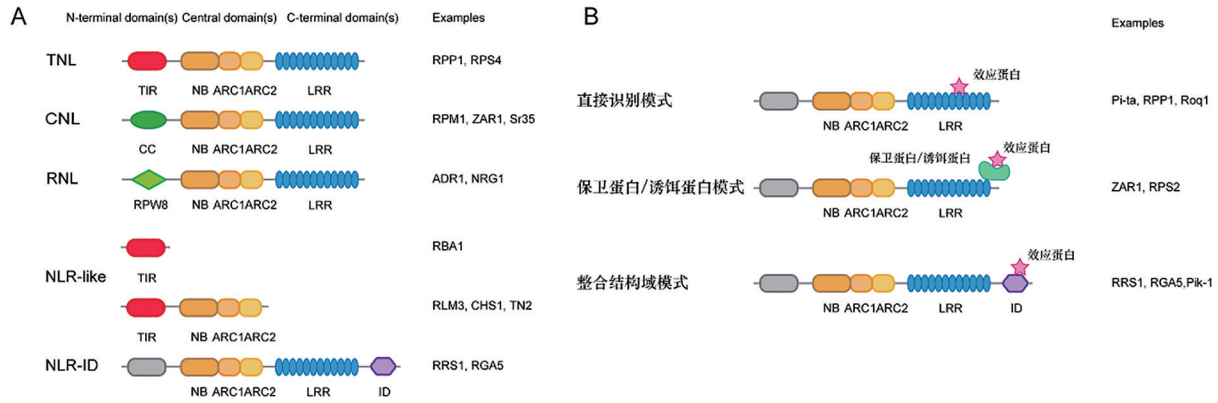


图1 NLRs的结构类型及其识别效应蛋白的模式

Fig. 1 Structures of NLRs and their effector recognition models

A: 典型的植物NLR蛋白包括3个结构域: N端的TIR、CC或类RPW8的CC结构域, 中间的核苷酸结合结构域和C端的富含亮氨酸重复序列(LRR)结构域; 也有一些NLRs缺失了部分结构域或整合了额外的结构域; B: 植物NLRs识别效应蛋白的不同模式: 部分植物NLRs可以直接与效应蛋白结合将其识别, 或通过保卫蛋白以及诱饵蛋白间接识别效应蛋白; 此外, 也有一些植物NLRs具有额外的整合结构域(ID), 辅助识别效应蛋白。本图改自Duxbury等(2021)一文。

也称NB-ARC (nucleotide-binding adaptor shared by Apaf-1, resistance proteins and CED-4)结构域(Jones等2016)。NB结构域的功能主要涉及ATP/ADP的结合, 并具有类似AAA-ATPase酶活性作为“分子开关”关联免疫感知和信号传导(Saur等2021; Burdett等2019; Wang等2019a, 2019b; Jones等2016)。

当NB结构域结合ADP时, NLR受体蛋白呈现封闭的非激活构象; 当NB结构域结合ATP时, NLR受体蛋白呈现开放的激活构象(图2-A) (Monteiro和Nishimura 2018)。

LRR结构域通常被认为与病原微生物的识别相关, 影响NLR受体的识别特异性(Sun等2020;

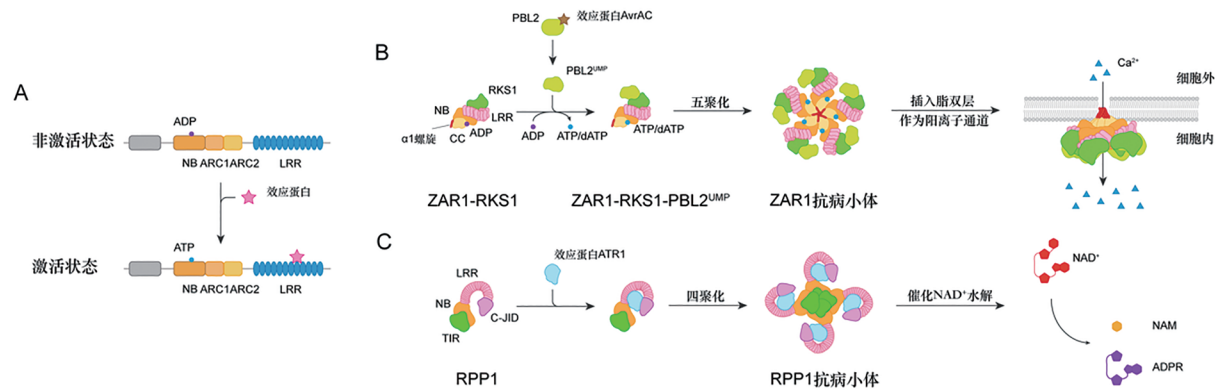


图2 NLRs激活和抗病小体的形成

Fig. 2 Activation of NLRs and formation of resistosome

A: NLR蛋白的激活机制; B: ZAR1抗病小体的形成, 效应蛋白AvrAC使激酶PBL2发生尿苷酰化形成PBL2^{UMP}, PBL2^{UMP}与预先形成的静息状态复合物ZAR1-RKS1结合, 引起ZAR1蛋白构象发生变化, 释放ADP并结合ATP或dATP, 进而复合物ZAR1-RKS1-PBL2^{UMP}组装成漏斗状五聚体的抗病小体; C: RPP1抗病小体的形成, RPP1通过LRR结构域和末端结构域(C-JID)直接识别效应蛋白ATR1, 并形成具有NADase活性的四聚体结构。本图改自Duxbury等(2021)一文。

Maekawa等2011b)。作为不同效应因子的结合平台, LRR结构域亦具有多样性, 这可能是在进化过程中受效应因子的多样化驱使所导致(Goritschnig等2016; Krasileva等2010)。LRR结构域的缺失可导致NLR受体发生异常自激活, 说明LRR结构域的功能与NLR受体寡聚化激活的负调控有关(Jones等2016)。

1.2 NLRs的其他类型

NLRs并非都是典型的TIR/CC/CC^R-NB-LRR结构, 研究者已经发现缺少LRR结构域或NB-LRR结构域的截短NLRs以及带有额外结构域的NLRs也具有免疫功能(图1-A)。拟南芥RLM3是第一个得到研究证实的截短TNL, 其蛋白结构仅含有TIR-NB结构域, 参与对几种坏死性真菌的免疫防御(Staal等2008)。此外, 缺失LRR结构域的TNLs还包括拟南芥CHS1, 参与低温胁迫下的防御反应(Wang等2013; Zbierzak等2013); 拟南芥TN2, 参与效应物EXO70B1介导的免疫反应(Zhao等2015)。拟南芥中只含有TIR结构域的RBA1响应细菌类型III效应蛋白HopBA1的免疫刺激以诱导细胞死亡(Nishimura等2017)。植物NLR还可以在蛋白结构上整合额外的结构域作为诱饵蛋白, 与效应蛋白具有一定的结构相似性, 辅助NLR进行特异性识别(Duxbury等2021)。

1.3 NLRs发挥功能的形式

NLRs的结构类型多样决定了其能够以不同的形式发挥功能。植物NLRs能够以单体形式发挥功能, 也可以成对共同作用介导植物免疫, 后者可分为两类: 成对NLR (NLR pair)和感知NLR/辅助NLR (sensor NLR/helper NLR, sNLR/hNLR)。典型的以单体形式介导免疫反应的NLRs蛋白包括拟南芥CNL RPM1 (Grant等1995)、ZAR1 (Wang等2015; Lewis等2010)和小麦CNL Sr35 (Salcedo等2017)。成对NLRs包括拟南芥CHS1/SOC (Zhang等2017a)、水稻Pik-1/Pik-2 (Bialas等2021; De la Concepcion等2019; Zhai等2011)和PigmR/PigmS (胡叶舟和辛秀芳 2022; Deng等2017)。成对NLRs介导植物免疫时通常形成二聚体, 携带有整合结构域的NLR受体感知病原微生物, 进而与另一NLR受体互作触发免疫反应。整合结构域大部分是WRKY结构域

或激酶蛋白结构域, 也有一些尚未鉴定的结构域(Sarris等2016)。成对NLRs的基因邻近排列于相同的基因座上, 并共享一个启动子, 而大多数sNLRs/hNLRs则由位于不同基因座的基因编码(Sun等2020; Monteiro和Nishimura 2018)。sNLR受体通常也带有整合结构域以感知病原微生物刺激从而触发免疫反应。hNLR受体的主要功能是辅助sNLR受体识别效应蛋白, 也可以作为Ca²⁺通道调节胞内Ca²⁺离子水平进而细胞死亡(Jacob等2021)。不同的hNLRs可在免疫反应中独立地发挥协同作用(Castel等2019; Wu等2019)。

2 NLR蛋白识别效应蛋白的方式

尽管NLRs的蛋白结构有多种类型, 其识别效应蛋白的方式是类似的。植物NLRs通过直接或间接的方式识别病原微生物效应蛋白并触发免疫反应(图1-B)。少数与效应蛋白直接互作的NLRs已经得到验证, 但大部分NLRs感知效应蛋白的方式是通过额外的蛋白结构域与效应蛋白发生间接的互作。这些额外蛋白可以是保卫蛋白、诱饵蛋白或整合结构域。

2.1 直接识别

水稻Pi-ta的LRR结构域是第一个得到研究证实的效应蛋白结合位点, 具有金属蛋白酶活性的效应蛋白Avr-Pita特异性结合Pi-ta的LRR结构域引发免疫应答(Jia等2000)。组成型表达的*Ptr*基因编码一个具有Armado (ARM)重复序列的非典型抗性蛋白, 该蛋白是Pi-ta介导对稻瘟病抗性所必需的(Zhao等2018)。亚麻TNL蛋白L和M能够分别对亚麻栅锈菌(*Melampsora lini*)效应蛋白AvrL567和AvrM进行直接识别, 并且L蛋白的同源蛋白L5、L6、L7能识别AvrL567蛋白的不同变异体, 从而推动AvrL567基因高度多样化, 6个锈病菌株系中鉴定出了12个序列变异, 其中有5个AvrL567蛋白变体能够逃避L蛋白的识别(Catanzariti等2010; Dodds等2006, 2004)。这种协同作用推动了免疫受体和效应蛋白共同进化的多样性。

拟南芥RPP1蛋白是TNLs的典型代表, 电镜结构研究显示RPP1的LRR结构域直接参与卵菌病菌(*Hyaloperonospora arabidopsis*)效应蛋白ATR1

的结合,并且在RPP1蛋白的C端发现了一个新的结构域C-JID (C-terminal jell roll and Ig-like domain)也直接参与对ATR1的识别((Ma等2020)。烟草ROQ1蛋白的LRR结构域和C-JID结构域通过与黄单胞菌(*Xanthomonas euvesicatoria*)效应蛋白XopQ表面的活性残基位点将其识别,进而激活ROQ1受体引发免疫反应(Martin等2020)。此外,小麦CNL Sr35的LRR结构域也能够直接识别AvrSr35形成的同源二聚体并将其解离成单体,从而引发Sr35免疫复合物的装配及后续的免疫反应(Zhao等2022)。

2.2 间接识别

在NLRs直接识别效应蛋白的模型中,效应蛋白能够通过基因变异的多样化来逃避NLR受体的识别,NLRs也始终处于筛选效应蛋白和共同进化的选择压力之下。与直接识别模式相比,通过保卫蛋白、诱饵蛋白和整合结构域等间接识别效应蛋白的方式能够大大地降低NLRs的选择压力,并提供更为有效的识别行为。

保卫蛋白模型最早用来解释番茄Pto/Prf识别丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)效应蛋白AvrPto的分子机制(van der Biezen和Jones 1998)。蛋白激酶Pto识别效应蛋白AvrPto和AvrPtoB后,与Prf受体的N端发生相互作用被进一步识别,引起Prf受体激活介导免疫反应(Du等2012; Gutierrez等2010)。Prf蛋白的NB结构域发生单个氨基酸突变(D1416V)导致其发生异常的自激活,引起细胞程序性死亡,而Prf的LRR结构域与突变蛋白Prf^{D1416V}共表达时则会促进后者的降解,进而抑制细胞死亡(Du等2012)。拟南芥RIN4蛋白被多个效应蛋白作为靶标,具有ADP-核糖转移酶活性的HopF2靶向RIN4对其进行蛋白修饰,效应蛋白AvrB和AvrRpm1诱导RIN4发生磷酸化,半胱氨酸蛋白酶AvrRpt2则在两个裂解位点(RCS1和RCS2)对RIN4蛋白进行裂解(Afzal等2013)。AvrB和AvrRPM1诱导的RIN4蛋白磷酸化引起RPM1组成型激活引起免疫反应,而RIN4受AvrRpt2介导裂解后则解除了对RPS2介导免疫反应的负调控(Chung等2011; Liu等2011; Day等2005; Axtell和Staskawicz 2003; Mackey等2003)。

随着效应蛋白和NLRs的不断进化,出现了一些新的识别方式,这些结果与保卫蛋白模型所描

述的机制不太一致,被进一步解释为诱饵蛋白模型。区别保卫蛋白和诱饵蛋白的关键特征是,保卫蛋白具有一定的免疫防御功能和易感性,并且能够适应效应蛋白的结构变化从而增强植物的抗病性;而诱饵蛋白除了结合效应蛋白外没有其他的生物功能,也不会对植物的抗病性产生影响(van der Hoorn和Kamoun 2008)。Kim等(2016)发现拟南芥RPS5和PBS1可以形成免疫复合物,PBS1在该复合物中充当诱饵蛋白。具有蛋白酶活性的效应蛋白AvrPphB靶向PBS1使其裂解,PBS1的构象变化激活了RPS5,从而触发免疫反应。此外,PBS1中的AvrPphB切割位点可以被其他病原微生物蛋白酶的切割位点所取代,从而使RPS5被这些蛋白酶激活,对新的病原微生物产生抗性。另一个典型的例子是ZED1,它参与丁香假单胞菌效应蛋白HopZ1a诱导的免疫反应。具有乙酰转移酶活性的HopZ1a能够特异性靶向ZED1与其发生互作,将ZED1蛋白第125位和177位的苏氨酸乙酰化,而ZED1又可与ZAR1的N端结构域发生强相互作用,进而作为一种诱饵蛋白辅助ZAR1受体识别HopZ1a触发免疫反应(Bastedo等2019; Lewis等2013)。

部分NLRs含有额外的结构域,称为整合结构域(integrated domain, ID),这些结构域通过与效应蛋白发生相互作用辅助NLRs进行识别。这种通过分子间作用力牢固结合的结构使得NLRs在进化过程中维持更强的稳定性和兼容性,从而避免对保卫蛋白或诱饵蛋白的多次选择压力。有研究表明,这种NLR与ID结构域相整合的机制是通过DNA转座或异位重组发生的(Bailey等2018)。烟草RRS1蛋白C端的WRKY结构域是一个典型的整合结构域,具有乙酰转移酶活性的效应蛋白PopP2催化该结构域上一个位于活性位点的赖氨酸基团发生乙酰化,从而破坏了RRS1与DNA的结合,促使其与RPS4发生相互作用,从而触发免疫反应(Zhang等2017b; Roux等2015)。蛋白晶体结构研究表明,除了PopP2,效应蛋白AvrRps4也靶向RRS1受体WRKY结构域中的赖氨酸(Mukhi等2021)。水稻RGA5受体的C端存在一个RATX1结构域,能够辅助RGA5识别效应蛋白AvrPia,随后RGA5的构象发生变化,进而与RGA4互作形成二聚体触发免疫反应(Césari

等2014; Cesari等2013)。

3 NLRs激活与抗病小体的形成

NLR免疫受体作为重要的抗病蛋白早已被发现,但它的激活机制和工作原理依然是模糊的。直到2019年柴继杰等团队在对抗病蛋白激活的分子机制研究中取得了突破。他们发现抗病蛋白ZAR1 (hopz-activated resistance 1)被激活后与相关蛋白组成的多蛋白复合物(抗病小体),并通过冷冻电镜技术解析了其处于不同状态的复合物结构,从而揭示了NLRs激活的核心分子机制。ZAR1是拟南芥和烟草共有的一类CNL,通过与受体样激酶(receptor-like protein kinase, RLCK)亚家族的多个成员互作形成免疫受体复合体,感知病原微生物效应蛋白后触发免疫反应(Schultink等2019; Seto等2017; Wang等2015; Lewis等2013, 2010)。柴继杰等团队发现ZAR1与抗性相关激酶RKS1 (resistance related kinase 1, RKS1)预先形成处于静息状态的复合物RKS1-ZAR1,以感知野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)效应蛋白AvrAC。RKS1-ZAR1复合体的低温电镜结构显示,ZAR1自身分子内的相互作用使其处于非活性状态,该状态通过ADP的结合得到进一步稳定。AvrAC使激酶PBL2 (PBS-like protein 2, PBL2)发生尿苷酰化生成PBL2^{UMP}。PBL2^{UMP}作为配体被招募到RKS1-ZAR1复合物与之相结合,形成识别-启动状态复合物PBL2^{UMP}-RKS1-ZAR1。RKS1参与PBL2^{UMP}结合过程中的相互作用,该过程中RKS1和ZAR1的NB结构域发生空间冲突,导致NB结构域发生构象变化释放ADP,ZAR1被激活并结合dATP或ATP,进而整个复合物组装成漏斗状五聚体,称为ZAR1抗病小体(图2-B)(Wang等2019a, 2019b)。进一步研究发现ZAR1抗病小体能够直接插入细胞质膜的脂双层中发挥Ca²⁺离子通道作用,促进Ca²⁺离子内流,从而引发活性氧产生、细胞死亡等一系列免疫相关反应(Bi等2021)。

相比CNL, TNL的激活机制更为复杂。拟南芥RPP1是典型的TNL类免疫受体,通过识别卵源菌病菌(*Hyaloperonospora arabidopsis*)效应蛋白ATR1引发免疫反应,并且RPP1对不同ATR1的识别是特

异性的,表明两者是共同进化的(Krasileva等2010; Rehmany等2006)。RPP1通过LRR结构域直接参与ATR1的结合(Goritschnig等2016; Steinbrenner等2015)。此外,电镜结构显示RPP1的C末端有一个新的结构域C-JID (C-terminal jell roll and Ig-like domain)也参与对ATR1的识别。识别ATR1后,RPP1自身蛋白构象发生变化,解除了分子内的自抑制,形成四聚体激活状态的RPP1抗病小体(图2-C)(Ma等2020)。此前的研究表明, TNLs的TIR结构域能够通过形成不同的寡聚态结合NAD⁺或RNA/DNA,发挥NAD⁺水解酶活性或2',3'-cAMP/cGMP合成酶活性功能,从而产生“第二信使”信号促进植物免疫反应(Yu等2022; Wan等2019)。RPP1抗病小体的形成是其具备NAD⁺水解酶活性所必需的,并作为一个全酶催化NAD⁺水解,该酶活性受到Mg²⁺和Ca²⁺的依赖。此外,有别于ZAR1抗病小体结合ATP/dATP, RPP1抗病小体的P环结合的是ADP,这可能与RPP1自身内在的ATPase活性有关。蛋白序列分析表明,ZAR1利用“TTR”序列中高度保守的精氨酸(R)与ATP/dATP的γ-磷酸基团结合,从而稳定其激活构象,但在RPP1中则被极性带负电的谷氨酸(E)所取代,形成“TTE”序列(Ma等2020)。

4 NLR蛋白表达的分子调控

NLRs作为植物免疫的重要抗病蛋白,其在细胞内的蛋白水平决定着免疫反应是否发生,正常情况下NLRs的表达受到严格的负调控,以免对植物生长产生影响。在正常生长的植物中,NLRs的表达是低丰度的,并且蛋白构象处于非激活状态。一些负调控因子的功能缺失性突变和部分NLRs的功能获得性突变常常导致自身免疫的发生,引起NLRs不恰当的自激活以及表达紊乱,损害植物生长发育。自身免疫突变体的表型包括植株矮化、体内SA水平升高、抗病基因组成型表达以及对病原微生物的抗性增强(van Wersch等2016)。拟南芥SNC1是一个典型的受到严格调控的TNL。激活状态下,SNC1发生寡聚化是传递自身免疫信号所必需的,其寡聚化可在细胞质和细胞核中发生,并且细胞核内的SNC1是激活下游免疫反应的关键(Xu等2014)。为了避免自身免疫的发生,SNC1的蛋白

水平受到泛素化-蛋白酶体系统的严格调节(Sun等2020)。钙调素结合转录激活因子(calmodulin binding transcription activator, CAMTA)是植物中重要的钙信号转录因子家族之一。CAMTA3此前被描述为免疫反应的负调节因子, 拟南芥中CAMTA3的功能缺失性突变能够导致自身免疫, 研究者发现在拟南芥中2个显性失活(dominant negative, DN)的NLR受体DSC1和DSC2能够抑制突变体*camta3*的自身免疫(Lolle等2017)。

4.1 转录水平调控

植物NLR基因表达在转录水平受到多层次的严格调控, 包括转录、转录后以及转录本翻转(Lai和Eulgem 2018)。转录因子WRKYs的结合位点大多集中在NLR基因的启动子区(Ichimarum等2022; Du等2021)。大麦MLA13特异性识别效应蛋白AvrMla13后, *MLA*基因的转录本迅速积累, 从而表现出快速免疫防御(Halterman等2003)。

染色质表观遗传修饰也会对植物免疫反应造成影响, 例如甲基化、乙酰化等。通常, 植物体内DNA甲基化的增加会导致植物对病原微生物的易感性增强(van Wersch等2020)。修饰因子MOS1能够调节*SNC1*的表达, 在*mos1*功能缺失突变植株中, *SNC1*基因上游区域的DNA甲基化程度被改变, 使其表达受到抑制(Li等2010)。外源生长调节物质如SA的应用也能诱导抗性基因启动子区发生染色质重塑和DNA修饰, 从而在应对病原微生物入侵时表现出更强的免疫反应, 并且受激素依赖的抗性可继代传递(Luna等2011; Slaughter等2011)。此外, 病原微生物、外源生长调节物质等对植物体的胁迫诱导植物DNA发生差异性甲基化, 进而引起许多基因差异性表达。重复序列或转座子区域的动态DNA甲基化变化可以调节邻近基因对SA胁迫的响应(Dowen等2012)。

mRNA的选择性剪接(alternative splicing, AS)能够调节转录本的丰度, 进而影响基因表达。植物免疫反应也受到NLR基因mRNA选择性剪接的影响(Mandadi和Scholthof 2015; Yang等2014), 如染色质重塑蛋白SWP73A通过与剪接体相关蛋白CDC5互作间接调控RPS4和RRS1的表达(Huang等2021), 转运蛋白MOS14和细胞周期蛋白L的同源蛋白

MOS12参与*SNC1*和*RPS4*的剪接过程(Xu等2012, 2011)。

4.2 翻译后水平调控

NLRs也可与分子伴侣蛋白互作提高自身蛋白在激活过程中的构象稳定性。热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是一类高度保守的重要分子伴侣蛋白, 参与众多功能蛋白翻译后的修饰与激活。HSP90是植物免疫蛋白NLRs成熟过程中的重要分子伴侣, 辅助蛋白RAR1和SGT1与HSP90形成复合物共同发挥作用。RAR1动态调节HSP90的构象变化, 使得SGT1在NLRs和HSP90的相互作用中起到桥梁作用, 从而在调控植物抗病免疫方面发挥重要作用(Ito等2015; Huang等2014; Kadota和Shirasu 2012)。这些伴侣蛋白也可能成为病原微生物的靶标。细菌HopBF1效应蛋白能够磷酸化HSP90并使其丧失ATPase活性, 阻碍NLR受体激活(Lopez等2019)。拟南芥中, 不同的HSP90家族成员发挥不同功能, HSP90.2能够提高RPM1的蛋白稳定性(Hubert等2003), 而HSP90.3则抑制*SNC1*积累(Huang等2014)。SGT1作为HSP90的辅助分子调节NLR蛋白的积累。SGT1与SCF泛素复合体(SKPI-CULLIN1-F-box)的SKPI和CUL1亚基相耦联, 通过泛素化途径促进NLR蛋白降解(Azevedo等2002)。HSP90和SGT1在调控NLR蛋白积累中扮演着双重功能: 一方面作为NLR蛋白折叠的正调节子, 另一方面充当负调节子与SCF复合体的组分互作促进NLR蛋白的降解。RAR1是HSP90的另一个辅助蛋白, 能够调节许多NLR的蛋白稳定性, 如大麦MLA、水稻Rac/Rop (Thao等2007; Bieri等2004)。RAR1和SGT1之间形成平衡稳态, 与HSP90协同调节NLR蛋白的积累(Holt等2005)。

另一种对NLR蛋白水平的调控是泛素化-蛋白酶体途径介导的蛋白降解, 其中尤以E3泛素连接酶对NLR蛋白稳定性的调控最为关键(Duplan和Rivas 2014)。有研究表明E3泛素连接酶UBR7与烟草N蛋白的TIR结构域互作, UBR7表达下调使得N蛋白积累, 增强了植株对烟草花叶病毒(TMV)的抗性(Zhang等2019)。F-box蛋白CPR1/CPR30通过SCF泛素化-蛋白降解调节拟南芥中*SNC1*和*RPS2*的积累, 功能缺失突变体*cpr30-1*中*SNC1*和*RPS2*有

更高的积累,而过表达*AtCPR1*可导致SNC1和RPS2蛋白水平降低(Gou等2012; Cheng等2011)。E3泛素连接酶MIR1可以与多种MLA发生相互作用,如MLA1、MLA6和MLA10。MIR1可使MLAs的N端泛素化,并促进MLAs降解(Wang等2016)。植原体效应蛋白SWP12通过泛素依赖途径靶向介导小麦转录因子TaWRKY74的降解,降低了植物体中ROS积累,并且间接提高*TaCRR6*的转录和增强NADH脱氢酶活性,削弱小麦免疫应答(Bai等2022)。E3泛素连接酶通过调节NLRs的蛋白稳定性,在NLRs介导的免疫反应中起负调控作用。正常情况下, E3泛素连接酶与NLRs相互作用,使其蛋白水平保持在极低水平。当病原微生物入侵时,效应蛋白破坏了该平衡稳态,引起NLR蛋白水平迅速增加并触发免疫反应。

5 总结与展望

植物在进化过程中面对病原微生物的入侵发展出了多种类的NLRs来发挥免疫防御功能,并辅以复杂精细的调控机制,避免正常情况下NLR蛋白的过度积累以及不恰当的激活而引起植物自身免疫,损害生长发育。近年来,有关植物NLRs的功能及其分子调控机制的研究已经取得了极大的进展,特别是在模式生物拟南芥和水稻中进行了较为系统的研究。目前已经报道了许多NLR基因,并且研究表明NLR基因的表达会受到转录、转录后以及翻译后等不同水平层次的调控,从而引起植物适当的免疫防御。这些研究和发现进一步加深了人们对植物抗病免疫相关机制的理解,为水稻等重要粮食作物的抗病改良提供了新的依据。

目前TNL和CNL两类不同NLRs形成抗病小体的结构均已得到解析,为揭示NLRs在响应病原刺激、激活下游信号方面的机制奠定了基础(Ma等2020; Martin等2020; Wang等2019a, 2019b)。但是否有其他的NLRs能够形成类似ZAR1和RPP1的抗病小体?整合结构域是否会影响抗病小体结构的形成?以及成对NLRs在介导免疫反应的过程中是否也会形成相应的抗病小体结构?这些问题仍需要不断的探究才能得到解释。

NLRs的胞内蛋白水平是影响其发挥免疫功能

和维持自身稳定的重要因素。有关泛素化途径调节NLRs蛋白水平的研究已经相对清晰,但在转录水平层面仍有待继续研究,例如有哪些重要的转录因子调节NLRs基因的转录?转录前及转录后修饰包括哪些过程?有研究表明,大麦MLA的CC结构域能够同时诱导免疫反应和转录重编程的发生(Jacob等2018),其机制又是怎么样的?通过对这些问题的研究有助于研究人员剖析NLRs介导免疫反应和NLRs蛋白表达的相互关系。

近几年的研究发现了Ca²⁺可渗透通道在触发PTI和ETI信号启动方面的关键作用(Köster等2022; Kim等2022; Xu等2022),但是有关Ca²⁺通道的性质以及调控尚未得到详细探索。此外,PTI和ETI在植物免疫中紧密相连,相互协同作用以实现对抗病原体的抗性(Ngou等2021; Yuan等2021),但这种PTI-ETI的相互关联是否在植物中广泛存在?对该问题的探索有助于为植物抗病免疫相关研究提供新的方向。

参考文献(References)

- Afzal AJ, Kim JH, Mackey D (2013). The role of NOI-domain containing proteins in plant immune signaling. *BMC Genomics*, 14: 327
- Axtell MJ, Staskawicz BJ (2003). Initiation of *RPS2*-specified disease resistance in *Arabidopsis* is coupled to the Avr-Rpt2-directed elimination of RIN4. *Cell*, 112: 369–377
- Azevedo C, Sadanandom A, Kitagawa K, et al (2002). The RAR1 interactor SGT1, an essential component of *R* gene-triggered disease resistance. *Science*, 295: 2073–2076
- Bai B, Zhang G, Li Y, et al (2022). The ‘*Candidatus* Phytoplasma tritici’ effector SWP12 degrades the transcription factor TaWRKY74 to suppress wheat resistance. *Plant J*, 112: 1473–1488
- Bailey PC, Schudoma C, Jackson W, et al (2018). Dominant integration locus drives continuous diversification of plant immune receptors with exogenous domain fusions. *Genome Biol*, 19: 23
- Bastedo DP, Khan M, Martel A, et al (2019). Perturbations of the ZED1 pseudokinase activate plant immunity. *PLOS Pathog*, 15: e1007900
- Bi GZ, Su M, Li N, et al (2021). The ZAR1 resistosome is a calcium-permeable channel triggering plant immune signaling. *Cell*, 184: 3528–3541
- Białas A, Langner T, Harant A, et al (2021). Two NLR im-

- immune receptors acquired high-affinity binding to a fungal effector through convergent evolution of their integrated domain. *eLife*, 10: e66961
- Bieri S, Mauch S, Shen, QH, et al (2004). RAR1 positively controls steady state levels of barley MLA resistance proteins and enables sufficient MLA6 accumulation for effective resistance. *Plant Cell*, 16: 3480–3495
- Boutrot F, Zipfel C (2017). Function, discovery, and exploitation of plant pattern recognition receptors for broad-spectrum disease resistance. *Annu Rev Phytopathol*, 55: 257–286
- Burdett H, Bentham AR, Williams SJ, et al (2019). The plant “resistosome”: structural insights into immune signaling. *Cell Host Microbe*, 26: 193–201
- Büttner D (2016). Behind the lines-actions of bacterial type III effector proteins in plant cells. *Fems Microbiol Rev*, 40: 894–937
- Castel B, Ngou PM, Cevik V, et al (2019). Diverse NLR immune receptors activate defence via the RPW8-NLR NRG1. *New Phytol*, 222: 966–980
- Catanzariti AM, Dodds PN, Ve T, et al (2010). The AvrM effector from flax rust has a structured C-terminal domain and interacts directly with the M resistance protein. *Mol Plant-Microbe Interact*, 23: 49–57
- Césari S, Kanzaki H, Fujiwara T, et al (2014). The NB-LRR proteins RGA4 and RGA5 interact functionally and physically to confer disease resistance. *EMBO J*, 33: 1941–1959
- Cesari S, Thilliez G, Ribot C, et al (2013). The rice resistance protein pair RGA4/RGA5 recognizes the *Magnaporthe oryzae* effectors AVR-Pia and AVR1-CO39 by direct binding. *Plant Cell*, 25: 1463–1481
- Cheng YT, Li Y, Huang S, et al (2011). Stability of plant immune-receptor resistance proteins is controlled by SKP1-CULLIN1-F-box(SCF)-mediated protein degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 14694–14699
- Chung EH, da Cunha L, Wu AJ, et al (2011). Specific threonine phosphorylation of a host target by two unrelated type III effectors activates a host innate immune receptor in plants. *Cell Host Microbe*, 9: 125–136
- Collier SM, Hamel LP, Moffett P (2011). Cell death mediated by the N-terminal domains of a unique and highly conserved class of NB-LRR protein. *Mol Plant-Microbe Interact*, 24: 918–931
- Csari S, Bernoux M, Moncuquet P, et al (2014). A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: the ‘integrated decoy’ hypothesis. *Front Plant Sci*, 5: 606
- Day B, Dahlbeck D, Huang J, et al (2005). Molecular basis for the RIN4 negative regulation of RPS2 disease resistance. *Plant Cell*, 17: 1292–1305
- De la Concepcion JC, Franceschetti M, MacLean D, et al (2019). Protein engineering expands the effector recognition profile of a rice NLR immune receptor. *eLife*, 8: e47713
- Deng Y, Zhai K, Xie Z, et al (2017). Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance. *Science*, 355: 962–965
- Dodds PN, Lawrence GJ, Catanzariti AM, et al (2004). The *Melampsora lini* AvrL567 avirulence genes are expressed in haustoria and their products are recognized inside plant cells. *Plant Cell*, 16: 755–768
- Dodds PN, Lawrence GJ, Catanzariti AM, et al (2006). Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 8888–8893
- Downen RH, Pelizzola M, Schmitz RJ, et al (2012). Widespread dynamic DNA methylation in response to biotic stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: E2183–E2191
- Du D, Zhang CW, Xing YD, et al (2021). The CC-NB-LRR OsRLR1 mediates rice disease resistance through interaction with OsWRKY19. *Plant Biotechnol J*, 19: 1052–1064
- Du X, Miao M, Ma X, et al (2012). Plant programmed cell death caused by an autoactive form of Prf is suppressed by co-expression of the Prf LRR domain. *Mol Plant*, 5: 1058–1067
- Duplan V, Rivas S (2014). E3 ubiquitin-ligases and their target proteins during the regulation of plant innate immunity. *Front Plant Sci*, 5: 42
- Duxbury Z, Wu CH, Ding PT (2021). A comparative overview of the intracellular guardians of plants and animals: NLRs in innate immunity and beyond. *Annu Rev Plant Biol*, 72: 155–184
- Fu ZQ, Dong XN (2013). Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. *Annu Rev Plant Biol*, 64: 839–863
- Goritschnig S, Steinbrenner AD, Grunwald DJ, et al (2016). Structurally distinct *Arabidopsis thaliana* NLR immune receptors recognize tandem WY domains of an oomycete effector. *New Phytol*, 210: 984–996
- Gou M, Shi Z, Zhu Y, et al (2012). The F-box protein CPR1/CPR30 negatively regulates R protein SNC1 accumulation. *Plant J*, 69: 411–420
- Grant MR, Godiard L, Straube E, et al (1995). Structure of the *Arabidopsis RPM1* gene enabling dual-specificity disease resistance. *Science*, 269: 843–846
- Gutierrez JR, Balmuth AL, Ntoukakis V, et al (2010). Prf immune complexes of tomato are oligomeric and contain multiple Pto-like kinases that diversify effector recognition. *Plant J*, 61: 507–518

- Halterman DA, Wei F, Wise RP (2003). Powdery mildew-induced Mla mRNAs are alternatively spliced and contain multiple upstream open reading frames. *Plant Physiol*, 131: 558–567
- Holt BF, Belkhadir Y, Dangl JL (2005). Antagonistic control of disease resistance protein stability in the plant immune system. *Science*, 309: 929–932
- Hu YZ, Xin XF (2022). Two-tiered immune system regulates metabolism to achieve broad-spectrum resistance in rice. *Plant Physiol J*, 58: 469–471 (in Chinese with English abstract) [胡叶舟, 辛秀芳(2022). 水稻的双层免疫系统协同调控基础代谢实现对稻瘟菌的广谱抗病性. *植物生理学报*, 58: 469–471]
- Huang CY, Rangel DS, Qin XB, et al (2021). The chromatin-remodeling protein BAF60/SWP73A regulates the plant immune receptor NLRs. *Cell Host Microbe*, 29: 425–434
- Huang S, Monaghan J, Zhong X, et al (2014). HSP90s are required for NLR immune receptor accumulation in *Arabidopsis*. *Plant J*, 79: 427–439
- Hubert DA, Tornero P, Belkhadir Y, et al (2003). Cytosolic HSP90 associates with and modulates the *Arabidopsis* RPM1 disease resistance protein. *EMBO J*, 22: 5679–5689
- Ichimaru K, Yamaguchi K, Harada K, et al (2022). Cooperative regulation of PBI1 and MAPKs controls WRKY45 transcription factor in rice immunity. *Nat Commun*, 13: 2397
- Ito M, Ohnishi K, Hikichi Y, et al (2015). Molecular chaperons and co-chaperons, Hsp90, RAR1, and SGT1 negatively regulate bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Signal Behav*, 10: e970410
- Jacob F, Kracher B, Mine A, et al (2018). A dominant-interfering *camta3* mutation compromises primary transcriptional outputs mediated by both cell surface and intracellular immune receptors in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol*, 217: 1667–1680
- Jacob F, Vernaldi S, Maekawa T (2013). Evolution and conservation of plant NLR functions. *Front Immunol*, 4: 297
- Jacob P, Kim NH, Wu FH, et al (2021). Plant “helper” immune receptors are Ca^{2+} -permeable nonselective cation channels. *Science*, 373: 420–425
- Jia Y, McAdams SA, Bryan GT, et al (2000). Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. *EMBO J*, 19: 4004–4014
- Jones JDG, Dangl JL (2006). The plant immune system. *Nature*, 444: 323–329
- Jones JDG, Vance RE, Dangl JL (2016). Intracellular innate immune surveillance devices in plants and animals. *Science*, 354: aaf6395
- Kadota Y, Shirasu K (2012). The HSP90 complex of plants. *Biochim Biophys Acta-Mol Cell Res*, 1823: 689–697
- Kim NH, Jacob P, Dangl JL (2022). Con-Ca^{2+} -tenating plant immune responses via calcium-permeable cation channels. *New Phytol*, 234: 813–818
- Kim SH, Qi D, Ashfield T, et al (2016). Using decoys to expand the recognition specificity of a plant disease resistance protein. *Science*, 351: 684–687
- Köster P, DeFalco TA, Zipfel C (2022). Ca^{2+} signals in plant immunity. *EMBO J*, 41: e110741
- Krasileva KV, Dahlbeck D, Staskawicz BJ (2010). Activation of an *Arabidopsis* resistance protein is specified by the in planta association of its leucine-rich repeat domain with the cognate oomycete effector. *Plant Cell*, 22: 2444–2458
- Lai Y, Eulgem T (2018). Transcript-level expression control of plant NLR genes. *Mol Plant Pathol*, 19: 1267–1281
- Lewis J, Lee AHY, Hassan JA, et al (2013). The *Arabidopsis* ZED1 pseudokinase is required for ZAR1-mediated immunity induced by the *Pseudomonas syringae* type III effector HopZ1a. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 18722–18727
- Lewis JD, Wu R, Guttman DS, et al (2010). Allele-specific virulence attenuation of the *Pseudomonas syringae* HopZ1a type III effector via the *Arabidopsis* ZAR1 resistance protein. *PLOS Genet*, 6: e1000894
- Li Y, Tessaro MJ, Li X, et al (2010). Regulation of the expression of plant resistance gene *SNC1* by a protein with a conserved BAT2 domain. *Plant Physiol*, 153: 1425–1434
- Liu J, Elmore JM, Lin ZJD, et al (2011). A receptor-like cytoplasmic kinase phosphorylates the host target RIN4, leading to the activation of a plant innate immune receptor. *Cell Host Microbe*, 9: 137–146
- Lolle S, Greeff C, Petersen K, et al (2017). Matching NLR immune receptors to autoimmunity in *camta3* mutants using antimorphic NLR alleles. *Cell Host Microbe*, 21: 518–529
- Lopez VA, Park B, Nowak D, et al (2019). A bacterial effector mimics a host HSP90 client to undermine immunity. *Cell*, 179: 205–218
- Luna E, Bruce TJA, Roberts MR, et al (2011). Next-generation systemic acquired resistance. *Plant Physiol*, 158: 844–853
- Ma SC, Lapin D, Liu L, et al (2020). Direct pathogen-induced assembly of an NLR immune receptor complex to form a holoenzyme. *Science*, 370: eabe3069
- Mackey D, Belkhadir Y, Alonso JM, et al (2003). *Arabidopsis* RIN4 is a target of the type III virulence effector AvrRpt2 and modulates RPS2-mediated resistance. *Cell*, 112: 379–389

- Maekawa T, Cheng W, Spiridon LN, et al (2011a). Coiled-coil domain-dependent homodimerization of intracellular barley immune receptors defines a minimal functional module for triggering cell death. *Cell Host Microbe*, 9: 187–199
- Maekawa T, Kufer TA, Schulze-Lefert P (2011b). NLR functions in plant and animal immune systems: so far and yet so close. *Nat Immunol*, 12: 818–826
- Mandadi KK, Scholthof KBG (2015). Genome-wide analysis of alternative splicing landscapes modulated during plant-virus interactions in *Brachypodium distachyon*. *Plant Cell*, 27: 71–85
- Martin R, Qi T, Zhang H, et al (2020). Structure of the activated ROQ1 resistosome directly recognizing the pathogen effector XopQ. *Science*, 370: eabd9993
- Mestre P, Baulcombe DC (2005). Elicitor-mediated oligomerization of the tobacco N disease resistance protein. *Plant Cell*, 18: 491–501
- Monteiro F, Nishimura MT (2018). Structural, functional, and genomic diversity of plant NLR proteins: an evolved resource for rational engineering of plant immunity. *Annu Rev Phytopathol*, 56: 243–267
- Mukhi N, Brown H, Gorenkin D, et al (2021). Perception of structurally distinct effectors by the integrated WRKY domain of a plant immune receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 118: e2113996118
- Ngou BPM, Ahn HK, Ding PT, et al (2021). Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. *Nature*, 592: 110–115
- Nishimura MT, Anderson RG, Cherkis KA, et al (2017). TIR-only protein RBA1 recognizes a pathogen effector to regulate cell death in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: E2053–E2062
- Rehmany AP, Gordon A, Rose LE, et al (2006). Differential recognition of highly divergent downy mildew avirulence gene alleles by *RPPI* resistance genes from two *Arabidopsis* lines. *Plant Cell*, 17: 1839–1850
- Roux CL, Huet G, Jauneau A, et al (2015). A receptor pair with an integrated decoy converts pathogen disabling of transcription factors to immunity. *Cell*, 161: 1074–1088
- Salcedo A, Rutter W, Wang SC, et al (2017). Variation in the *AvrSr35* gene determines *Sr35* resistance against wheat stem rust race Ug99. *Science*, 358: 1604–1606
- Sarris PF, Cevik V, Dagdas G, et al (2016). Comparative analysis of plant immune receptor architectures uncovers host proteins likely targeted by pathogens. *BMC Biol*, 14: 8
- Saur IML, Panstruga R, Schulze-Lefert P (2021). NOD-like receptor-mediated plant immunity: from structure to cell death. *Nat Rev Immunol*, 21: 305–318
- Schreiber KJ, Bentham A, Williams SJ, et al (2016). Multiple domain associations within the *Arabidopsis* immune receptor RPP1 regulate the activation of programmed cell death. *PLOS Pathog*, 12 (7): e1005769
- Schultink A, Qi TC, Bally J, et al (2019). Using forward genetics in *Nicotiana benthamiana* to uncover the immune signaling pathway mediating recognition of the *Xanthomonas perforans* effector XopJ4. *New Phytol*, 221: 1001–1009
- Seto D, Koulana N, Lo T, et al (2017). Expanded type III effector recognition by the ZAR1 NLR protein using ZED1-related kinases. *Nat Plants*, 3: 17027
- Slaughter A, Daniel X, Flors V, et al (2011). Descendants of primed *Arabidopsis* plants exhibit resistance to biotic stress. *Plant Physiol*, 158: 835–843
- Staal J, Kaliff M, Dewaele E, et al (2008). *RLM3*, a TIR domain encoding gene involved in broad-range immunity of *Arabidopsis* to necrotrophic fungal pathogens. *Plant J*, 55: 188–200
- Steinbrener AD, Goritschnig S, Staskawicz BJ, et al (2015). Recognition and activation domains contribute to allele-specific responses of an *Arabidopsis* NLR receptor to an oomycete effector protein. *PLOS Pathog*, 11: e1004665
- Sun Y, Zhu YX, Balint-Kurti PJ, et al (2020). Fine-tuning immunity: players and regulators for plant NLRs. *Trends Plant Sci*, 25: 695–713
- Thao NP, Chen L, Nakashima A, et al (2007). RAR1 and HSP90 form a complex with Rac/Rop GTPase and function in innate-immune responses in rice. *Plant Cell*, 19: 4035–4045
- van der Biezen EA, Jones JDG (1998). Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends Biochem Sci*, 23: 454–456
- van der Hoorn RAL, Kamoun S (2008). From guard to decoy: a new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell*, 20: 2009–2017
- van Wersch R, Li X, Zhang Y (2016). Mighty dwarfs: *Arabidopsis* autoimmune mutants and their usages in genetic dissection of plant immunity. *Front Plant Sci*, 7: 1717
- van Wersch S, Tian L, Hoy R, et al (2020). Plant NLRs: The whistleblowers of plant immunity. *Plant Commun*, 1: 100016
- Varden FA, Concepcion JCD, Maidment JH, et al (2017). Taking the stage: effectors in the spotlight. *Curr Opin Plant Biol*, 38: 25–33
- Wan L, Essuman K, Anderson RG, et al (2019). TIR domains of plant immune receptors are NAD⁺-cleaving enzymes that promote cell death. *Science*, 365: 799–803
- Wang GX, Roux B, Feng F, et al (2015). The decoy substrate of a pathogen effector and a pseudokinase specify patho-

- gen-induced modified-self recognition and immunity in plants. *Cell Host Microbe*, 18: 285–295
- Wang J, Hu M, Wang J, et al (2019a). Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science*, 364: eaav5870
- Wang J, Wang J, Hu M, et al (2019b). Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex. *Science*, 364: eaav5868
- Wang T, Chang C, Gu C, et al (2016). An E3 ligase affects the NLR receptor stability and immunity to powdery mildew. *Plant Physiol*, 172: 2504–2515
- Wang Y, Zhang Y, Wang Z, et al (2013). A missense mutation in CHS1, a TIR-NB protein, induces chilling sensitivity in *Arabidopsis*. *Plant J*, 75: 553–565
- Williams S, Yin L, Foley G, et al (2016). Structure and function of the TIR domain from the grape NLR protein RPV1. *Front Plant Sci*, 7: 1850
- Wu YJ, Wu WZ (2021). Pattern recognition receptors and plant innate immunity. *Plant Physiol J*, 52: 301–312 (in Chinese with English abstract) [吴玉俊, 吴旺泽(2021). 植物模式识别受体与先天免疫. *植物生理学报*, 52: 301–312]
- Wu Z, Li M, Dong OX, et al (2019). Differential regulation of TNL-mediated immune signaling by redundant helper CNLs. *New Phytol*, 222: 938–953
- Xiao S, Ellwood S, Calis O, et al (2001). Broad-spectrum mildew resistance in *Arabidopsis thaliana* mediated by *RPW8*. *Science*, 291: 118–120
- Xu F, Cheng YT, Kapos P, et al (2014). P-loop-dependent NLR SNC1 can oligomerize and activate immunity in the nucleus. *Mol Plant*, 7: 1801–1804
- Xu F, Xu S, Wiermer M, et al (2012). The cyclin L homolog MOS12 and the MOS4-associated complex are required for the proper splicing of plant resistance genes. *Plant J*, 70: 916–928
- Xu G, Moeder W, Yoshioka K, et al (2022). A tale of many families: calcium channels in plant immunity. *Plant Cell*, 34: 1551–1567
- Xu S, Zhang Z, Jing B, et al (2011). Transportin-SR is required for proper splicing of resistance genes and plant immunity. *PLOS Genet*, 7: e1002159
- Yang S, Tang F, Zhu H (2014). Alternative splicing in plant immunity. *Int J Mol Sci*, 15: 10424–10445
- Yu D, Song W, Tan EYJ, et al (2022). TIR domains of plant immune receptors are 2',3'-cAMP/cGMP synthetases mediating cell death. *Cell*, 185: 2370–2386
- Yuan MH, Jiang, ZY, Bi GZ, et al (2021). Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. *Nature*, 592: 105–109
- Zbierzak AM, Porfirova S, Griebel T, et al (2013). A TIR-NBS protein encoded by *Arabidopsis Chilling Sensitive 1 (CHS1)* limits chloroplast damage and cell death at low temperature. *Plant J*, 75: 539–552
- Zhai C, Lin, F, Dong ZQ, et al (2011). The isolation and characterization of *Pik*, a rice blast resistance gene which emerged after rice domestication. *New Phytol*, 189: 321–334
- Zhang S, Xie M, Ren G, et al (2013). CDC5, a DNA binding protein, positively regulates posttranscriptional processing and/or transcription of primary microRNA transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 17588–17593
- Zhang Y, Song G, Lal NK, et al (2019). TurboID-based proximity labeling reveals that UBR7 is a regulator of N NLR immune receptor-mediated immunity. *Nat Commun*, 10: 3252
- Zhang Y, Wang YC, Liu JY, et al (2017a). Temperature-dependent autoimmunity mediated by *chs1* requires its neighboring TNL gene *SOC3*. *New Phytol*, 213: 1330–1345
- Zhang ZM, Ma KW, Gao L, et al (2017b). Mechanism of host substrate acetylation by a YopJ family effector. *Nat Plants*, 3: 17115
- Zhao HJ, Wang XY, Jia YL, et al (2018). The rice blast resistance gene *Ptr* encodes an atypical protein required for broad-spectrum disease resistance. *Nat Commun*, 9: 2039
- Zhao T, Rui L, Li J, et al (2015). A truncated NLR protein, TIR-NBS2, is required for activated defense responses in the *exo70B1* mutant. *PLOS Genet*, 11: e1004945
- Zhao YB, Liu MX, Chen TT, et al (2022). Pathogen effector AvrSr35 triggers Sr35 resistosome assembly via a direct recognition mechanism. *Science*, 8: eabq5108
- Zhong Y, Cheng ZM (2016). A unique *RPW8*-encoding class of genes that originated in early land plants and evolved through domain fission, fusion, and duplication. *Sci Rep*, 6: 32923
- Zhou M (2022). Molecular interplay between the circadian clock and the plant immunity. *Plant Physiol J*, 58: 21–32 (in Chinese with English abstract) [周冕(2022). 生物钟与植物免疫互作研究进展. *植物生理学报*, 58: 21–32]
- Zipfel C (2014). Plant pattern-recognition receptors. *Trends Immunol*, 35: 345–351