

· 植物免疫与抗病性 ·

NLR 免疫受体介导的作物抗病机制： 发展现状、机遇与挑战

陶小荣* 朱 敏

南京农业大学 植物保护学院/作物免疫学重点实验室, 南京 210095

[摘 要] 利用抗病基因进行抗病育种是防控作物病害最为有效的手段之一, 其中最有利用价值且应用最广的一类是被称为 NLR 免疫受体的抗病基因, 该类基因是植物免疫系统中最大的一类抗病基因。NLR 受体通过识别各种病原物效应蛋白激活寄主对病原物的抗性反应。虽然距离 NLR 抗病基因被克隆已经将近 26 年, 但是学界对于 NLR 受体在识别病原菌入侵以及如何启动抗病反应等问题还知之甚少。当前 NLR 抗病领域研究最为活跃的科学问题包括 NLR 受体识别效应蛋白、受体多聚体化在抗病中发挥的作用、受体的亚细胞定位、受体如何激活下游抗性反应等等, 本文综述了 NLR 免疫受体介导抗病机制的最新研究进展和发展现状, 并探讨了未来 5~10 年该领域最具研究价值的科学问题, 以及我国科学家面临的机遇和挑战。

[关键词] NLR 免疫受体; 抗病分子机制; 病原识别; 抗病反应; 抗病基因的改良与利用

植物具有丰富的营养和水分, 因此是真菌、细菌和病毒等病原微生物的良好寄主。当真菌、细菌和病毒等病原物定殖时, 植物进化出了一套有效的先天免疫系统(Innate Immune System)来抵御病原物的入侵^[1, 2]。植物免疫系统需要利用不同类型的免疫受体蛋白来激活植物的抗性反应, 其中最大的一类免疫受体蛋白是一种称为核苷酸结合(NBD)/富亮氨酸重复序列(LRR)的蛋白, 简称 NLR 免疫受体^[1, 3, 4], 编码这一类蛋白的抗病基因是抗病育种中最有利用价值并且也应用得最广的一类抗性基因。NLR 受体通过识别特定的病原物效应蛋白(即无毒因子), 进而激活植物的免疫反应(Effector-Triggered Immunity, ETI), 激活的 ETI 免疫反应产生过敏性反应(Hypersensitive Response, HR)将病原物杀死在局部侵染细胞中。

所有的陆地植物包括被子植物、裸子植物和苔藓植物都进化出了 NLR 免疫受体基因^[1]。在哺乳动物中也含有结构相关的 NOD-LRR 受体, 它们用于感知微生物相关的分子模式(Microbe-Associated



陶小荣 南京农业大学植保学院教授、博士生导师。主要从事植物病毒学和植物抗病机制研究。1999 年和 2004 年分别获浙江大学学士和博士学位, 2010 年回国后到南京农业大学植保学院任教至今。先后主持国家自然科学基金重点项目和杰出青年科学基金等项目。在 *PNAS*、*Plant Cell*、*PLoS Pathogens* 等共发表学术论文 65 篇, 研究成果获国家自然科学基金二等奖(2014, 第 3 完成人)、国家科技进步奖二等奖(2016, 第 9 完成人)。

Molecular Pattern, PAMP)或损伤相关的分子模式(Damage Associated Molecular Pattern, DAMP)进而启动免疫反应^[5, 6]。动物和植物的 NLR 都含有保守的 NBD 和 LRR 结构域, 但它们在 N 端和 C 端都各自进化出不同的结构域。NBD 属于信号转导腺苷三磷酸 ATP 酶 STAND [Signal Transduction Adenosine Triphosphatase AAA + (ATPases)]超家族成员, NBD 结构域通常包括 Walker A(P-环)和 Walker B 基序, 分别负责核苷酸的结合和水解^[7, 8]。植物 NLRs 携带的是一种 NBD 的亚型, 称为 NB-ARC(Nucleotide Binding, Apaf1,

收稿日期: 2020-03-27; 修回日期: 2020-05-06

* Email: taoxiaorong@njau.edu.cn

本文受国家自然科学基金重点项目(31630062)和国家杰出青年科学基金项目(31925032)的资助

Resistance, CED4), 这个结构域在进化上与哺乳动物 Apaf-1、果蝇 Dark 和线虫 CED4 蛋白具有同源性^[9], 因此, 该结构域可能是从一类原核 ATP 酶进化而来。与植物 NLRs 相比, 动物 NLRs 携带一种独特的 NBD 亚型, 称为 NACHT (NAIP, CIITA, HET-E 和 TP1)^[7, 10]。

根据 N 端结构域的不同, 植物编码的 NLR 免疫蛋白大致分为两个主要的亚类: N-端含 Toll-白介素 1 受体 (TIR) 结构域的 TNL 蛋白和 N-端含卷曲螺旋 (CC) 结构域的 CNL 蛋白。CNL 同时存在于双子叶植物和单子叶植物中, 而 TNL 仅在双子叶植物中存在^[11, 12]。植物这两个不同的结构域被认为可以激活不同的下游抗性信号通路^[13, 14]。与植物 NLR 相比, 动物 NOD-LRR 具有不同的 N 末端结构域, 以用于下游的免疫信号传导^[15]。尽管动植物的 NLR 免疫受体在序列和功能上有较大的差异, 但它们的 NLR 被认为具有相同的激活机制, 即分子开关激活模型。最新的研究表明, 动植物免疫受体的 NBD 结构域结合 ADP 时, 受体处于“关闭 (自抑制)”状态, 而在结合 ATP 时, 受体则处于“开启 (激活)”状态^[16-18]。在植物的模型中, N 末端的 TIR 或 CC 结构域和 C 末端 LRR 结构域通过分子内相互作用, 抑制 NBD 结合域发生 ATP/ADP 交换^[17, 18]; 在监测到特定的病原效应蛋白时, 分子内的相互作用被破坏, NBD 结构域从结合 ADP 的状态转变为结合 ATP 的状态, NLR 受体状态发生变化并驱动 NLR 的寡聚化, 进而启动对病原物的抗性反应。

1 抗病基因克隆的简要历史

1942 年, 弗洛尔 (HH Flor) 基于对亚麻锈病的抗性遗传研究, 开创性地提出了“基因对基因”的假说, 该模型指出寄主植物抗病基因和病原物中无毒基因共同决定了作物抗病的特异性, 这为探索免疫受体—效应蛋白识别模式奠定了遗传基础。在“基因对基因”假说被提出 40 多年以后, 第一个无毒基因 *AvrA15* 于 1984 年首先从大豆丁香假单胞菌中被克隆^[19]。接着第一个抗病基因于 1992 年被克隆, 该抗病基因 *Hml* 来自玉米, 编码一种针对真菌毒素的解毒酶^[20]。1993 年, *Pto* 基因从番茄中被克隆^[21]; 1994 年, Jones 等人又从番茄上克隆了 *Cf-9*^[22], 同年 *N*^[23] 和 *RPS2*^[24, 25] 分别从烟草和拟南芥上被克隆, 其中 *N* 和 *RPS2* 是真正意义上的 NLR 抗病基因; 1995 年, 拟南芥 *RPM1* 被克隆^[26], 同年, 亚麻

L6^[27] 和水稻 *Xa21*^[28] 被克隆。迄今为止, 已有数百个抗病基因被克隆, 这其中有 61% 的编码 NLR 免疫受体。

2 NLR 介导的抗病机制的关键科学问题、研究现状和未来方向

2.1 病原物效应蛋白的识别机制

(1) 直接互作模型

就 NLR 对效应蛋白的识别而言, “基因对基因”模型的一种分子解释是寄主植物的 NLR 受体与其对应的病原物效应蛋白之间的直接相互作用, 进而触发免疫反应。卵菌效应蛋白 *ATR1* 与拟南芥 NLR 受体 *RPP1* 被证明确实是通过直接相互作用而得到识别^[29], 不同的 *RPP1* 等位基因对不同的 *ATR1* 等位基因具有不同的识别特异性, 这种识别的特异性是由 *RPP1* 的 LRR 结构域介导的。亚麻 NLR 受体 *L5*、*L6* 和 *L7* 与真菌的效应蛋白 *AvrL567* 也通过直接相互作用而识别^[30, 31]。番茄 NLR 受体 *Sw-5b* 的 N 端 SD 结构域和 C 端 LRR 结构域都可以与番茄斑萎病毒的激发子 *NSm* 互作, 并进化出了两步识别机制以增强对病毒的监测灵敏度^[32, 33]。

(2) 警戒模型

虽然“基因对基因”假说推断 NLR 与效应蛋白是一种直接互作的关系, 但是在很多情况下, 植物 NLR 与病原物效应蛋白之间并没有直接互作关系。相反, 许多植物的 NLR 主要监测宿主自身蛋白质的状态, 这些被监测的自身蛋白被称为“警戒蛋白 (Guardee)”。警戒蛋白是防御反应中的重要组分, 因此时常被病原物效应蛋白所靶向, 如果病原物效应蛋白改变了警戒蛋白的构象, 相应的 NLR 就会被激活。警戒模型这种监控策略被认为可以允许数目相对较少的植物 NLRs 受体种类来防御自然界中成千上万种的病原物效应蛋白。丁香假单胞菌的 III 型效应蛋白 *AvrB* 或 *AvrRpm1* 攻击并引起寄主蛋白 *RIN4* 特定苏氨酸残基的磷酸化, *RPM1* 监测 *RIN4* 被攻击后的磷酸化修饰状态, 进而触发 *RPM1* 介导的免疫反应^[34, 35]。与 *RPM1* 的作用机制不同, NLR *RPS2* 则监控细菌丁香假单胞菌 III 型效应子 *AvrRpt2* 对 *RIN4* 的裂解进而激活受体^[36, 37]。同样, *RPS5* 监测寄主蛋白激酶 *PBS1* 的状态^[38, 39], 效应蛋白 *AvrPphB* 对 *PBS1* 进行蛋白水解切割, 进而激活 *RPS5* 介导的抗性。 *RPS5*/*PBS1* 系统可以被人为改造, *PBS1* 的切割位点被改造后从识别细菌转

变为识别病毒,进而扩展免疫受体 RPS5 识别病原物的功能^[40]。

(3) 诱饵模型

警戒蛋白是参与寄主基础防卫反应的重要蛋白,缺失该蛋白往往会使基础抗性受到破坏。但是在 PBS1 的研究中却发现,PBS1 的突变并不导致病原物易感性提高,这表明 PBS1 可能是一类胞质激酶的诱饵蛋白,效应蛋白实际攻击的是寄主的胞质激酶,当病原物效应蛋白在攻击寄主真正靶标时,该靶标模拟蛋白可以感知到效应蛋白的攻击行为,进而被 NLR 所识别,这种识别方式也被称为“诱饵(Decoy)模型”^[41]。另一个经典的诱饵模型是番茄丝氨酸/苏氨酸激酶 Pto,丁香假单胞菌的 AvrPto 和 AvrPtoB 效应蛋白的实际攻击目标是 CERK1、BAK1、EFR1 和 FLS2 等 PRR 受体激酶,Pto 被认为是作为诱饵来模拟激酶从而捕获 AvrPto 和 AvrPtoB,进而激活免疫受体 Prf^[42]。Prf 还可监测蛋白激酶 Fen,进而介导杀虫剂 Fenthion 所激活的免疫反应^[43]。诱饵模型的另一个例子是 ZAR1 监测多个假激酶来监控病原菌的入侵^[44-46]。

(4) 整合诱饵模型

植物有些 NLR 蛋白除了含有保守的 CC/TIR、NBD 和 LRR 结构域之外,还进化出了一些额外的非典型结构域,有些非典型的结构域也作为诱饵蛋白而直接整合到 NLR 免疫受体蛋白中,这种识别模式被称为“整合诱饵(Integrated Decoy)模型”。拟南芥免疫受体蛋白 RRS1-R 在 C 末端整合了一个 WRKY 结构域,这一 WRKY 结构域可识别细菌的效应蛋白 AvrRps4 或 PopP2 从而激活抗性^[47, 48]。效应蛋白 AvrRps4 和 PopP2 与 RRS1 的 WRKY 结构域直接互动,PopP2 和 AvrRps4 的实际攻击靶标则是宿主体内含有 WRKY 结构域的转录因子,这种攻击干扰了依赖于 WRKY 转录因子的抗性途径的激活,进而促进病原菌的侵染。PopP2 则对 WRKY 结构域进行乙酰化修饰,乙酰化修饰导致含 WRKY 的 RRS1 不再与 DNA 结合从而激活受体。植物全基因组分析发现在许多植物 NLR 蛋白中都整合有额外的非典型结构域^[49],因此整合诱饵模型在植物 NLR 中可能具有广泛的适用性。水稻 NLR RGA5 C 末端包含 RATX1 或结合金属的 HMA 结构域,效应蛋白 AVR Pia 和 AVR1-CO39 与该结构域互动并触发依赖 RGA4 的抗性反应^[50]。对茄科植物全基因组分析也发现,很多茄科 NLR 免疫受体基因中也较为频繁地整合了额外的非典型结构域^[51]。

NLR 受体与效应蛋白的识别是寄主诱导抗性反应的第一步,也是 NLR 介导的抗性反应中很关键的一步。当前的研究已经鉴定了一部分 NLR 受体与效应蛋白的互作关系,但是还有许多的 NLR 受体如何识别对应病原物仍不清楚,另外它们是如何去监测成千上万的病原物也有待在未来的研究中进一步解析。

2.2 抗病信号的激活机制

(1) NLR 受体多聚化在启动抗病信号中的功能

NLR 受体的 N 端结构域可以发生多聚体化,并且多聚体化对启动下游抗病信号很关键。MLA10 CC 结构域的晶体结构呈现为二聚体^[52],但是亲缘关系较近的 Sr33 和更远的 Rx CC 结构域的晶体结构则为单体^[53, 54]。破坏 MLA10 CC 自身互作可抑制下游信号的传导,表明二聚化对于激活下游抗性信号是必需的。L6 TIR 结构域的晶体结构也呈现二聚体,过表达 TIR 结构域就足以诱导免疫反应^[55],与 MLA10 CC 结构域相似,破坏 L6 TIR 的二聚化干扰下游信号的启动。

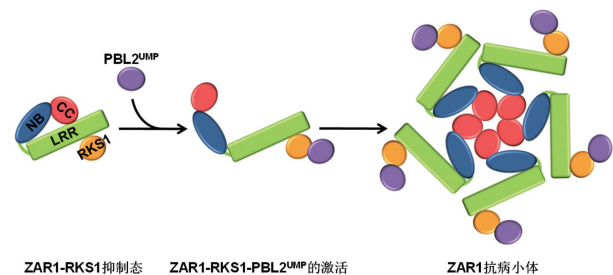


图 1 免疫受体 ZAR1 的结构及其抗病小体的形成。细菌效应蛋白 AvrAC 诱导 PBL2 尿苷酰基化并结合到 ZAR1/RKS1 复合体的假激酶 RKS1 上,使 RKS1 的构象发生变化,进而激活 ZAR1,促进 ZAR1/RKS1/PBL-UMP 复合物发生寡聚化,形成五聚体形态的即抗病小体(Resistosome)。

最近,在通过冷冻电镜解析的第一个植物全长免疫受体 ZAR1 的三维结构中(图 1),假激酶 AtRKS1 与 AtZAR1 相互作用,将 ZAR1 保持在结合 ADP 的自抑制状态中。细菌效应蛋白 AvrAC 诱导的 PBL2 尿苷酰基化使 PBL₂ 结合到预先形成的 ZAR1/RKS1 复合物中的假激酶 RKS1 上,这种结合诱导了 RKS1 的构象变化,导致 ZAR1 NB 结构域略微向外旋转并释放 ADP^[17, 18],由此使 NLR 转换为激活状态。ZAR1/RKS1/PBL-UMP 复合物在结合 ATP 时发生寡聚化形成五聚体,这种复合物被称为抗性小体(Resistosome)^[17, 18]。研究认为抗病小

体可能会在膜上形成穿孔,从而使钙离子流入并触发防御反应^[56]。最近发现免疫受体蛋白 RPP7 也可以自身互作形成 5 聚体^[57],其他植物受体 NLRs 是否也像 ZAR1 一样能够形成寡聚体还有待进一步研究。总体而言,植物中第一个全长 NLR 结构的解析将促使抗病领域的研究者重新去探究不同 NLRs 免疫受体激活后的多聚体状态,以及这一过程在启动下游抗性中发挥的功能,其中包括测试 NLR 多聚体化是否导致膜穿孔进而促进钙离子内流等重要科学假说。

(2) NLR 受体激活抗性的亚细胞定位

在病原物感染期间,寄主植物内膜运输系统通过分泌抗菌蛋白到质外体对抗病原菌^[58],病原物进化出了效应蛋白攻击该过程^[59],但寄主植物至少进化出了三个质膜 CNL 受体 RPM1、RPS2 和 RPS5 来监控这些病原物的效应蛋白的攻击^[14]。亚麻 TNL L6 定位至高尔基体内膜,而亚麻 M 定位至液泡(液泡膜)内膜^[60],L6 和 M 亚细胞定位的关键位点由 TIR 结构域上游的不同氨基酸序列所决定。在疫霉菌效应子 Avr3aKI 的作用下,马铃薯 CNL 受体 R3a 从细胞质重新定位到内体中,并且它特异性地将 Avr3aKI 募集到内体,R3a 重新定位到内体的抑制剂能阻止效应蛋白触发的 R3a 细胞死亡^[61]。

许多 NLR 受体包括 RPS4、N、SNC1、MLA10、Pb1、Rx 和 R1 既定位于细胞质,也定位于细胞核^[39, 62-68],并且不少 NLR 受体的细胞核定位对抵抗病原物是必不可少的。此外,大麦核质定位的 CNL MLA10 和拟南芥 TNL RRS1 在识别病原物后,在细胞核中的积累增加,表明 NLR 激活后发生了亚细胞的重新排布^[69]。RPS4 的核定位对于激活抗菌反应至关重要,而其核质分布对于 HR 和转录重编程是必需的^[70]。马铃薯 CNL 受体 Rx 的细胞质和细胞核分布的平衡对于完整的抗性反应很重要^[68],尽管马铃薯 X 病毒(PVX)外壳蛋白(CP)对 Rx 的激活是在胞质,但 Rx 的核积累也有助于对病毒的抵抗。Rx 的核质分配受 N 和 C 端结构域间的相互作用以及 Rx CC 结构域与 RanGAP2 的调控^[68, 71],RanGAP2 通过增加马铃薯病毒 X CP 诱导的 Rx 胞质浓度来促进 Rx 的抗性^[71]。大麦 CNL 受体 MLA10 积聚在细胞质触发细胞死亡,而定位在细胞核触发对病原菌的抗性^[72]。

这些研究表明细胞质定位可能是 NLR 激活 ROS 和 MAPK 途径等免疫应答反应的关键,细胞核定位则对于 NLR 诱导寄主的转录重编程很重要。

这些 NLR 受体如何在细胞质诱导这些免疫应答反应,而在细胞核诱导抗性相关的转录重编程,是抗病领域下一步需要解答的重要科学问题。

(3) NLR 受体募集转录因子调控抗病途径

研究发现 NLR 受体可以募集转录因子来调控抗病途径。大麦 NLR MLA10 通过其 CC 结构域与 WRKY 转录因子相互作用,解除 WRKY 对植物免疫系统的负调控,进而对抗白粉病^[66]。MLA10 CC 结构域还与转录因子 MYB6 互作,后者可正向调节对病原菌的抗性,WRKY1 与 MYB6 相互作用抑制其 DNA 结合活性,而 MLA10 通过解除 WRKY1 对 MYB6 的抑制作用来增强 MYB6 与 DNA 的结合,最终达到调控该转录因子的目的^[73]。烟草 TNL 受体 N 在细胞核中与 SBP 结构域转录因子 NbSPL6 结合,并参与了 N 对 TMV 的抗性反应^[74];拟南芥中的同源蛋白 AtSPL6 也有助于 TNL 受体 RRS1/RPS4 介导地对丁香假单胞菌的抗性。TNL SNC1 可至少与两种不同的转录因子 TPR1 和 bHLH84 相互作用。TPR1 是一种转录阻遏物,可抑制多种已知的免疫负调控蛋白的表达,tpr 三突变体可完全抑制 *snc1* 的自身免疫^[75]。bHLH84 是一种螺旋-环-螺旋型转录因子,可作为免疫的正调节因子。除了 SNC1,bHLH84 还与 RPS4 互作,bHLH84 的过表达可增强免疫能力,而敲除 bHLH84 及其两个最接近的旁系同源物则抑制 RPS4 和 *snc1* 介导的抗性^[76]。水稻 CNL 受体 Pb1 通过其 CC 结构域与 OsWRKY45 转录因子相互作用来调节 ETI,这是 Pb1 介导的稻瘟病抗性所必需的^[67]。在未激活的水稻细胞中,OsWRKY45 被 26S 蛋白酶体降解,Pb1 在细胞核中积累则可保护 OsWRKY45 免受蛋白酶体降解,提高 OsWRKY45 的积累,从而增强其转录活性以启动下游防御反应。

NLR 激活后触发了一系列免疫反应,包括 ROS 迸发、Ca²⁺ 上调、MAPK 级联反应、转录重编程和植物激素的产生^[77]。已有的研究证据表明,尽管某些 NLR 能够直接调节转录,但其他 NLR 却可以在细胞核以外来控制核转录重编程。当前,我们对免疫受体 NLR 在感受病原菌后如何启动 ETI 下游抗性反应的了解还是有限的,免疫受体 NLR 如何启动下游抗性反应将是未来抗病领域的重要研究方向。

(4) 辅助型 NLRs 免疫蛋白在抗病信号传递中的功能

用于感知病原物效应蛋白的 NLR 免疫受体被称为感知型 sNLR(sensor NLR)。最近的研究表

明,免疫受体蛋白 NLR 在识别病原物效应蛋白后,启动特定的 sNLR 抗病反应还需要另一个辅助型 hNLR(helper NLR),辅助型 hNLR 对于下游抗病信号的传递和扩增起到关键作用^[78]。在哺乳动物中,NAIP/ NLRC4 炎性小体是由感知型 sNLR 和辅助型 hNLR 成对组成。在该系统中,感知型 sNLR NAIP 通过直接结合细菌鞭毛蛋白^[79, 80],NAIP 激活后募集 NLRC4 作为辅助型免疫蛋白 NLR。NLRC4 并不直接与配体结合,而是在 NAIP 的下游起作用。NLRC4 募集并激活 caspase-1, caspase-1 蛋白是炎性小体信号通路的关键执行者。结构分析表明,在没有病原菌刺激的情况下,NAIPs 和 NLRC4 作为单体形式存在,并通过分子内相互作用处于自抑制状态,NAIP 识别病原菌相关分子模式后,NAIP 与 NLRC4 形成的寡聚体含有 1 个分子的 NAIP 和 9 至 11 个分子的 NLRC4^[81, 82]。这些研究表明,NAIP 的激活触发了由 NLRC4 介导的抗性信号的传递和放大。

植物免疫受体 NLR 在激活 ETI 抗病下游中也发现辅助型 hNLR 发挥信号传递和放大的作用,如果辅助型 hNLR 丧失功能,则抗病信号无法有效传递^[78]。目前,在植物中已经报道了三种类型的辅助型 hNLR,都属于 CNL,它们包括 ADR1(Activated Disease Resistance 1) 家族、NRG1(N Required Gene 1)家族和 NRC(NB-LRR protein required for HR-associated cell death)家族(图 2)。ADR1 和 NRG1 家族由于其非典型的 N 末端 RPW8-CC 结构域,在 hNLR 中形成一个子类别,称为 RNL。它们的 CC 结构域缺少 EDVID 保守基序,与拟南芥抗病蛋白 RPW8 CC 结构域极为相似。NRC 家族在进化上不同于 RNL,形成了独立的进化谱系。在大多数被子植物中都可以找到 ADR1 和 NRG1 基因家族成员,而 NRC 家族成员则多数存在于茄科植物中。NRG1 在单子叶植物中已经被丢失,与之相对应,这些植物谱系中的 TNL 类免疫受体基因也发生了丢失。

在拟南芥中,有三个同源的 CNLs-ADR1、ADR1-L1 和 ADR1-L2 在 ETI 下游发挥辅助 hNLR 的作用^[83, 84]。ADR1 并不需要完整的磷酸结合环(P-环)来启动下游 ETI 信号^[83]。拟南芥 ADR1 蛋白还有助于 PTI 基础抗性,ADR1-L2 的自体突变体导致 SA 的大量上升,表明 ADR1-L2 是涉及到 SA 信号放大的重要一环^[85]。ADR1 家族蛋白普遍参与 TNL 和 CNL 介导的免疫反应^[83, 86, 87]。ADR1、ADR1-L1 和 ADR1-L2 的 CC 结构域本身足以激活

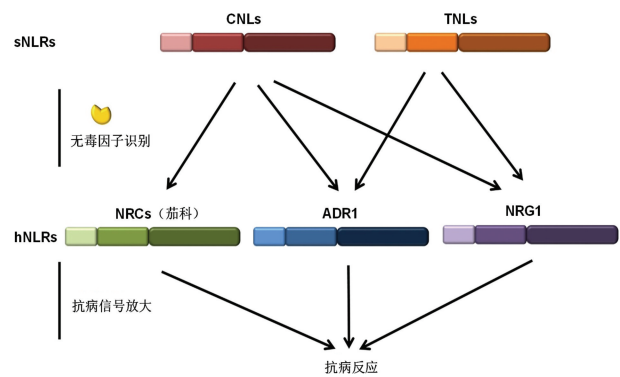


图 2 植物感知型 sNLR/辅助型 hNLR 的抗病信号转导 (在植物 ETI 免疫反应过程中,sNLR 主要负责识别病原物的效应蛋白并启动抗病反应,根据 N 端结构域的不同 sNLRs 主要分为 CNLs 和 TNLs 两大类。在植物中已经报道了三种类型的 hNLR,包括 ADR1 家族、NRG1 家族和 NRC 家族,其中 ADR1 和 NRG1 家族成员在大多数被子植物中都可以找到,而 NRC 家族成员则只存在于茄科植物中。CNLs 和 TNLs 类型的 sNLRs 将信号通过不同的途径传递给 NRC、ADR1 或 NRG1 家族,hNLR 在 sNLR 的下游发挥抗病信号的中继和扩增,最终诱导强烈的抗病反应。)

抗性^[88]。迄今为止,尚未发现辅助 hNLR 与感知 sNLR 的直接相互作用。

CLR NRG1 蛋白最早是在烟草中被鉴定参与 TNL N 下游抗性通路的一个关键成员^[89]。本氏烟中有两个 NRG1 同源物(NRG1 和 NRG2),拟南芥则含有三个同源物(NRG1a、NRG1b 和 NRG1c)。NRG1 家族成员在许多 TNL 蛋白的下游防御反应中起作用,但不在 CNL 蛋白介导的抗性中发挥作用^[86, 87, 89, 90]。NRG1 CC 结构域本身足以诱导 HR 反应^[88]。NRG1a 与 NRG1b 的功能并不依赖于 P-环^[87],但 NRG 的 P-环对于 Roq1 介导的 HR 是必需的^[90]。另外,NRG1 被发现在 EDS1 的下游起作用^[90]。

NRC 家族有四个成员,分别是 NRC1、NRC2、NRC3 和 NRC4。NRC 是在抑制子遗传筛选中被鉴定的,是 Cf-4 介导的抗真菌通路中的关键组分^[91]。在本氏烟中,NLR 受体 Prf、R8 和 Pto 介导的 HR 需要 NRC2a、NRC2b 和 NRC3,而对 Rx 和 Mi-1.2 介导的 HR 则不需要^[92]。NRC4 是 Rpi-blb2、R1 和 Mi-1.2 在本氏烟中介导的 HR 所必需^[93],而番茄中的 PRR 受体 LeEIX2 和 FLS2 也需要 NRC4^[94]。NRC4 的 P-环在本氏烟中介导下游抗性反应中是不可少的,另外,NRC 的 CC 结构域足以诱导番茄和本氏烟中的免疫反应^[95, 96]。在本氏烟中将 NRC2、NRC3 和 NRC4 全部沉默后,Rx、R1、R8、Mi-1.2、

Sw-5b 和 Bs2 介导 HR 的功能丧失^[93],因此这些感知型 sNLR 受体依赖于辅助型 hNLR 发挥作用,这表明 NRC 代表了 ETI 抗性通路上的一个下游汇合点。

总而言之,最近的研究已基本呈现出植物抗性信号转导的一个重要框架:其中感知型 sNLR 识别病原物效应蛋白并启动免疫反应,而辅助型 hNLR 则发挥信号放大和转导的作用,负责防御信号的中继和扩增。但是到目前为止,尚不清楚感知型 sNLR 如何激活辅助型 hNLR,它们是如何进行分子对接,以及辅助型 NLR 如何进一步放大抗病信号,这是未来研究中需要阐述的重要科学问题。

3 机遇与挑战

近年来,我国科学家逐渐成长为国际上推动抗病领域发展的重要力量,在国际植物抗病研究领域发表的论文数量和质量大幅提升,不少学者受邀在重要国际会议上做报告,在国际权威期刊上撰写综述,在抗病领域国际期刊上担任责任编辑。但当前我国抗病领域的研究也存在一些不足,在过去 30 多年的研究中,大多数育种学家侧重于抗病育种研究,而植物病理学家则侧重于病原物的致病机制研究,两者较少交集,但是解析作物对病原物的抗病机制研究必须有效结合两方面的学科背景。我国从事抗病育种和病原致病机制研究的学者数量都不在少数,两个研究领域的学者总体基数使我国科学家在抗病机制方面具有取得重大突破的潜力,如果能够整合两个不同学科背景的研究者共同参与到抗病机制的研究中,我国科学家将在抗病领域不断取得重要突破并做出应有的学术贡献。另外,我国科学家在原始创新上的整体水平和能力也有待进一步提升,在国际上我国还极度缺乏引领一个方向的国际领军人物,能够开辟前沿领域并不断深入开拓和发展。因此,这方面需要重点培养领军科学家。

在未来的研究中,我国科学家应瞄准植物免疫领域重大前沿科学问题,包括 NLR 免疫受体如何诱导抗性、NLR 如何诱导死亡、ETI 和 PTI 诱导的抗性到底有何不同等,集中力量做出重大原创性基础理论科研成果,推动国际抗病领域不断发展;同时在 NLRs 抗病基因的应用研究上,在新的 CRISPR/Cas9 技术发展和抗病小体结构解析的基础上改良和利用抗病基因,加速作物抗病分子育种进程。随

着我国综合国力的提升,在未来的研究中,我国科学家应在国际植物免疫研究领域形成具有重要国际影响力的研究团队,培养和产生一批学科领军人才,引领抗病领域相关研究方向,产生一大批原创性重大研究成果,服务于我国农作物抗病虫绿色防控国家重大战略需求,同时争取创办具有国际影响力的学术期刊,争夺国际学术话语权,实现我国植物抗病研究从跟跑、并跑到领跑的跨越,在国际植物抗病研究的舞台扮演更为重要的角色。

参 考 文 献

- [1] Jones JDG, Vance RE, Dangl JL. Intracellular innate immune surveillance devices in plants and animals. *Science*, 2016, 354(6316): 6316.
- [2] Jones JD, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444(7117): 323—329.
- [3] Tameling WIL, Takken FLW. Resistance proteins; scouts of the plant innate immune system. *European Journal of Plant Pathology*, 2008, 121(3): 243—255.
- [4] Cui HT, Tsuda K, Parker JE. Effector-triggered immunity: from pathogen perception to robust defense. *Annual Review of Plant Biology*, 2015, 66: 487—511.
- [5] Griebel T, Maekawa T, Parker JE. NOD-like receptor cooperativity in effector-triggered immunity. *Trends in Immunology*, 2014, 35(11): 562—570.
- [6] Maekawa T, Kufer TA, Schulze-Lefert P. NLR functions in plant and animal immune systems: so far and yet so close. *Nature Immunology*, 2011, 12(9): 817—826.
- [7] Leipe DD, Koonin EV, Aravind L. STAND, a class of P-loop NTPases including animal and plant regulators of programmed cell death: multiple, complex domain architectures, unusual phyletic patterns, and evolution by horizontal gene transfer. *Journal of Molecular Biology*, 2004, 343(1): 1—28.
- [8] Walker JE, Saraste M, Runswick MJ, et al. Distantly related sequences in the alpha- and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The EMBO Journal*, 1982, 1(8): 945—951.
- [9] Koonin EV, Aravind L. Origin and evolution of eukaryotic apoptosis: the bacterial connection. *Cell Death and Differentiation*, 2002, 9(4): 394—404.
- [10] Koonin EV, Aravind L. The NACHT family—a new group of predicted NTPases implicated in apoptosis and MHC transcription activation. *Trends in Biochemical Sciences*, 2000, 25(5): 223—224.
- [11] Jacob F, Vernaldi S, Maekawa T. Evolution and Conservation of Plant NLR Functions. *Frontiers in Immunology*, 2013, 4: 297.

- [12] Yue JX, Meyers BC, Chen JQ, et al. Tracing the origin and evolutionary history of plant nucleotide-binding site-leucine-rich repeat (NBS-LRR) genes. *The New Phytologist*, 2012, 193(4): 1049—1063.
- [13] Collier SM, Moffett P. NB-LRRs work a "bait and switch" on pathogens. *Trends in Plant Science*, 2009, 14(10): 521—529.
- [14] Qi D, Innes RW. Recent advances in plant NLR structure, function, localization, and signaling. *Frontiers in Immunology*, 2013, 4: 348.
- [15] Ting JPY, Duncan JA, Lei Y. How the noninflammasome NLRs function in the innate immune system. *Science*, 2010, 327(5963): 286—290.
- [16] Riedl SJ, Li WY, Chao Y, et al. Structure of the apoptotic protease-activating factor 1 bound to ADP. *Nature*, 2005, 434(7035): 926—933.
- [17] Wang JZ, Wang J, Hu MJ, et al. Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex. *Science*, 2019a, 364(6435): 43—43.
- [18] Wang JZ, Hu MJ, Wang J, et al. Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science*, 2019b, 364(6435): 44—44.
- [19] Staskawicz BJ, Dahlbeck D, Keen NT. Cloned avirulence gene of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* determines race-specific incompatibility on *Glycine max* (L.) Merr. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, 81(19): 6024—6028.
- [20] Johal GS, Briggs SP. Reductase activity encoded by the HMI disease resistance gene in maize. *Science*, 1992, 258(5084): 985—987.
- [21] Martin GB, Brommonschenkel SH, Chunwongse J, et al. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. *Science*, 1993, 262(5138): 1432—1436.
- [22] Jones DA, Thomas CM, Hammond-Kosack KE, et al. Isolation of the tomato *Cf-9* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science*, 1994, 266(5186): 789—793.
- [23] Whitham S, Dinesh-Kumar SP, Choi D, et al. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: similarity to toll and the interleukin-1 receptor. *Cell*, 1994, 78(6): 1101—1115.
- [24] Mindrinos M, Katagiri F, Yu GL, et al. The *A-thaliana* disease resistance gene *RPS2* encodes a protein containing a nucleotide-binding site and leucine-rich repeats. *Cell*, 1994, 78(6): 1089—1099.
- [25] Bent AF, Kunkel BN, Dahlbeck D, et al. *RPS2* of *Arabidopsis thaliana*: a leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes. *Science*, 1994, 265(5180): 1856—1860.
- [26] Grant MR, Godiard L, Straube E, et al. Structure of the *Arabidopsis RPM1* gene enabling dual specificity disease resistance. *Science*, 1995, 269(5225): 843—846.
- [27] Lawrence GJ, Finnegan EJ, Ayliffe MA, et al. The *L6* gene for flax rust resistance is related to the *Arabidopsis* bacterial resistance gene *RPS2* and the tobacco viral resistance gene *N*. *The Plant Cell*, 1995, 7(8): 1195—1206.
- [28] Song WY, Wang GL, Chen LL, et al. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*. *Science*, 1995, 270(5243): 1804—1806.
- [29] Krasileva KV, Dahlbeck D, Staskawicz BJ. Activation of an *Arabidopsis* resistance protein is specified by the in planta association of its leucine-rich repeat domain with the cognate oomycete effector. *The Plant Cell*, 2010, 22(7): 2444—2458.
- [30] Dodds PN, Lawrence GJ, Catanzariti AM, et al. The *Melampsora lini AvrL567* avirulence genes are expressed in haustoria and their products are recognized inside plant cells. *The Plant Cell*, 2004, 16(3): 755—768.
- [31] Dodds PN, Lawrence GJ, Catanzariti AM, et al. Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(23): 8888—8893.
- [32] Zhu M, Jiang L, Bai BH, et al. The Intracellular Immune Receptor Sw-5b Confers Broad-Spectrum Resistance to *Tospoviruses* through Recognition of a Conserved 21-Amino Acid Viral Effector Epitope. *The Plant Cell*, 2017, 29(9): 2214—2232.
- [33] Li J, Huang HN, Zhu M, et al. A Plant Immune Receptor Adopts a Two-Step Recognition Mechanism to Enhance Viral Effector Perception. *Molecular Plant*, 2019, 12(2): 248—262.
- [34] Chung EH, da Cunha L, Wu AJ, et al. Specific threonine phosphorylation of a host target by two unrelated type III effectors activates a host innate immune receptor in plants. *Cell Host & Microbe*, 2011, 9(2): 125—136.
- [35] Chung EH, El-Kasmi F, He YJ, et al. A plant phosphoswitch platform repeatedly targeted by type III effector proteins regulates the output of both tiers of plant immune receptors. *Cell Host & Microbe*, 2014, 16(4): 484—494.
- [36] Axtell MJ, Staskawicz BJ. Initiation of *RPS2*-specified disease resistance in *Arabidopsis* is coupled to the *AvrRpt2*-directed elimination of *RIN4*. *Cell*, 2003, 112(3): 369—377.
- [37] Mackey D, Holt BF, Wüig A, et al. *RIN4* interacts with *Pseudomonas syringae* type III effector molecules and is required for *RPM1*-mediated resistance in *Arabidopsis*. *Cell*, 2002, 108(6): 743—754.

- [38] Shao F, Golstein C, Ade J, et al. Cleavage of Arabidopsis PBS1 by a bacterial type III effector. *Science*, 2003, 301 (5637): 1230—1233.
- [39] Ade J, DeYoung BJ, Golstein C, et al. Indirect activation of a plant nucleotide binding site-leucine-rich repeat protein by a bacterial protease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(7): 2531—2536.
- [40] Kim SH, Qi D, Ashfield T, et al. Using decoys to expand the recognition specificity of a plant disease resistance protein. *Science*, 2016, 351(6274): 684—687.
- [41] van der Hoorn RAL, Kamoun S. From Guard to Decoy: a new model for perception of plant pathogen effectors. *The Plant Cell*, 2008, 20(8): 2009—2017.
- [42] Ntoukakis V, Saur IML, Conlan B, et al. The changing of the guard; the Pto/Prf receptor complex of tomato and pathogen recognition. *Current Opinion in Plant Biology*, 2014, 20: 69—74.
- [43] Martin GB, Frary A, Wu TY, et al. A member of the tomato Pto gene family confers sensitivity to fenthion resulting in rapid cell death. *The Plant Cell*, 1994, 6(11): 1543—1552.
- [44] Lewis JD, Lee AH, Hassan JA, et al. The Arabidopsis ZED1 pseudokinase is required for ZAR1-mediated immunity induced by the *Pseudomonas syringae* type III effector HopZ1a. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110 (46): 18722—18727.
- [45] Wang GX, 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. *Cell Host & Microbe*, 2015, 18(3): 285—295.
- [46] Seto D, Kouloua N, Lo T, et al. Expanded type III effector recognition by the ZAR1 NLR protein using ZED1-related kinases. *Nature Plants*, 2017, 3(4): 17027.
- [47] Sarris PF, Duxbury Z, Huh SU, et al. A Plant Immune Receptor Detects Pathogen Effectors that Target WRKY Transcription Factors. *Cell*, 2015, 161(5): 1089—1100.
- [48] Le Roux C, Huet G, Jauneau A, et al. A receptor pair with an integrated decoy converts pathogen disabling of transcription factors to immunity. *Cell*, 2015, 161 (5): 1074—1088.
- [49] Kroj T, Chancelud E, Michel-Romiti C, et al. Integration of decoy domains derived from protein targets of pathogen effectors into plant immune receptors is widespread. *The New Phytologist*, 2016, 210(2): 618—626.
- [50] Maqbool A, Saitoh H, Franceschetti M, et al. Structural basis of pathogen recognition by an integrated HMA domain in a plant NLR immune receptor. *Elife*, 2015, 4: e08709.
- [51] Seong K, Seo E, Li M, et al. Evolution of NLR resistance genes with non-canonical N-terminal domains in wild tomato species. *BioRxiv*, 2019, doi: <https://doi.org/10.1101/786194>
- [52] Maekawa T, Cheng W, Spiridon LN, et al. Coiled-coil domain-dependent homodimerization of intracellular barley immune receptors defines a minimal functional module for triggering cell death. *Cell Host & Microbe*, 2011, 9(3): 187—199.
- [53] Casey LW, Lavrencic P, Bentham AR, et al. The CC domain structure from the wheat stem rust resistance protein Sr33 challenges paradigms for dimerization in plant NLR proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113 (45): 12856—12861.
- [54] Hao W, Collier SM, Moffett P, et al. Structural basis for the interaction between the potato virus X resistance protein (Rx) and its cofactor Ran GTPase-activating protein 2 (RanGAP2). *The Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(50): 35868—35876.
- [55] Bernoux M, Ve T, Williams S, et al. Structural and functional analysis of a plant resistance protein TIR domain reveals interfaces for self-association, signaling, and autoregulation. *Cell Host & Microbe*, 2011, 9 (3): 200—211.
- [56] Burdett H, Bentha AR, Williams SJ, et al. The Plant "Resistosome": Structural Insights into Immune Signaling. *Cell Host & Microbe*, 2019, 26(2): 193—201.
- [57] Li L, Harbing A, Wang K, et al. Oligomerization of NLR immune receptor RPP7 triggered by atypical resistance protein RPW8/HR as ligand. *BioRxiv*, 2019, doi: 10.1101/682807.
- [58] Wang D, Weaver ND, Kesarwani M, et al. Induction of protein secretory pathway is required for systemic acquired resistance. *Science*, 2005, 308(5724): 1036—1040.
- [59] Nomura K, Mecey C, Lee YN, et al. Effector-triggered immunity blocks pathogen degradation of an immunity-associated vesicle traffic regulator in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(26): 10774—10779.
- [60] Takemoto D, Rafiqi M, Hurley U, et al. N-terminal motifs in some plant disease resistance proteins function in membrane attachment and contribute to disease resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2012, 25 (3): 379—392.
- [61] Engelhardt S, Boevink PC, Armstrong MR, et al. Relocalization of late blight resistance protein R3a to endosomal compartments is associated with effector recognition and required for the immune response. *The Plant Cell*, 2012, 24(12): 5142—5158.
- [62] El Kasmi F, Chung EH, Anderson RG, et al. Signaling from the plasma-membrane localized plant immune receptor RPM1 requires self-association of the full-length protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(35): E7385—E7394.

- [63] Cesari S, Moore J, Chen CH, et al. Cytosolic activation of cell death and stem rust resistance by cereal MLA-family CC-NLR proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(36): 10204—10209.
- [64] Wang GF, Balint-Kurti PJ. Cytoplasmic and Nuclear Localizations Are Important for the Hypersensitive Response Conferred by Maize Autoactive Rp1-D21 Protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2015, 28(9): 1023—1031.
- [65] Shen QH, Saijo Y, Mauch S, et al. Nuclear activity of MLA immune receptors links isolate-specific and basal disease-resistance responses. *Science*, 2007, 315 (5815): 1098—1103.
- [66] Burch-Smith TM, Schiff M, Caplan JL, et al. A novel role for the TIR domain in association with pathogen-derived elicitors. *PLoS Biology*, 2007, 5(3): e68.
- [67] Inoue H, Hayashi N, Matsushita A, et al. Blast resistance of CC-NB-LRR protein Pbl is mediated by WRKY45 through protein-protein interaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(23): 9577—9582.
- [68] Slootweg E, Roosien J, Spiridon LN, et al. Nucleocytoplasmic distribution is required for activation of resistance by the potato NB-LRR receptor Rx1 and is balanced by its functional domains. *The Plant Cell*, 2010, 22(12): 4195—4215.
- [69] Deslandes L, Olivier J, Peeters N, et al. Physical interaction between RRS1-R, a protein conferring resistance to bacterial wilt, and PopP2, a type III effector targeted to the plant nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(13): 8024—8029.
- [70] Heidrich K, Wirthmueller L, Tasset C, et al. Arabidopsis EDS1 connects pathogen effector recognition to cell compartment-specific immune responses. *Science*, 2011, 334(6061): 1401—1404.
- [71] Tameling WIL, Nooijen C, Ludwig N, et al. RanGAP2 mediates nucleocytoplasmic partitioning of the NB-LRR immune receptor Rx in the Solanaceae, thereby dictating Rx function. *The Plant Cell*, 2010, 22(12): 4176—4194.
- [72] Bai SW, 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. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(6): e1002752.
- [73] Chang C, Yu DS, Jiao J, et al. Barley MLA immune receptors directly interfere with antagonistically acting transcription factors to initiate disease resistance signaling. *The Plant Cell*, 2013, 25(3): 1158—1173.
- [74] Padmanabhan MS, Ma S, Burch-Smith TM, et al. Novel positive regulatory role for the SPL6 transcription factor in the N TIR-NB-LRR receptor-mediated plant innate immunity. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(3): e1003235.
- [75] Zhu ZH, Xu F, Zhang YX, et al. Arabidopsis resistance protein SNC1 activates immune responses through association with a transcriptional corepressor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(31): 13960—13965.
- [76] Xu F, Kapos P, Cheng YT, et al. NLR-associating transcription factor bHLH84 and its paralogs function redundantly in plant immunity. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(8): e1004312.
- [77] Buscaill P, Rivas S. Transcriptional control of plant defence responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 2014, 20: 35—46.
- [78] Jubic LM, Saile S, Furzer OJ, et al. Help wanted: helper NLRs and plant immune responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 2019, 50: 82—94.
- [79] Kofoed EM, Vance RE. Innate immune recognition of bacterial ligands by NAIPs determines inflammasome specificity. *Nature*, 2011, 477(7366): 592—595.
- [80] Zhao Y, Yang JL, Shi JJ, et al. The NLRC4 inflammasome receptors for bacterial flagellin and type III secretion apparatus. *Nature*, 2011, 477(7366): 596—600.
- [81] Zhang LM, Chen SB, Ruan JB, et al. Cryo-EM structure of the activated NAIP2-NLRC4 inflammasome reveals nucleated polymerization. *Science*, 2015, 350(6259): 404—409.
- [82] Hu ZH, Zhou Q, Zhang CL, et al. Structural and biochemical basis for induced self-propagation of NLRC4. *Science*, 2015, 350(6259): 399—404.
- [83] Bonardi V, Tang SJ, Stallmann A, et al. Expanded functions for a family of plant intracellular immune receptors beyond specific recognition of pathogen effectors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(39): 16463—16468.
- [84] Dong OX, Tong M, Bonardi V, et al. TNL-mediated immunity in Arabidopsis requires complex regulation of the redundant ADR1 gene family. *The New Phytologist*, 2016, 210(3): 960—973.
- [85] Roberts M, Tang SJ, Stallmann A, et al. Genetic requirements for signaling from an autoactive plant NB-LRR intracellular innate immune receptor. *PLoS Genetics*, 2013, 9(4): e1003465.
- [86] Castel B, Ngou PM, Cevik V, et al. Diverse NLR immune receptors activate defence via the RPW8-NLR NRG1. *The New Phytologist*, 2019, 222(2): 966—980.
- [87] Wu ZS, Li M, Dong OX, et al. Differential regulation of TNL-mediated immune signaling by redundant helper CNLs. *The New Phytologist*, 2019, 222(2): 938—953.
- [88] Collier SM, Hamel LP, Moffett P. Cell death mediated by the N-terminal domains of a unique and highly conserved class of NB-LRR protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2011, 24(8): 918—931.

- [89] Peart JR, Mestre P, Lu R, et al. NRG1, a CC-NB-LRR protein, together with N, a TIR-NB-LRR protein, mediates resistance against tobacco mosaic virus. *Current Biology*, 2005, 15(10): 968—973.
- [90] Qi TC, Seong K, Thomazella DPT, et al. NRG1 functions downstream of EDS1 to regulate TIR-NLR-mediated plant immunity in *Nicotiana benthamiana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(46): E10979—E10987.
- [91] Gabriels SHEJ, Vossen JH, Ekengren SK, et al. An NB-LRR protein required for HR signalling mediated by both extra- and intracellular resistance proteins. *The Plant Journal : for Cell and Molecular Biology*, 2007, 50(1): 14—28.
- [92] Wu CH, Belhaj K, Bozkurt TO, et al. Helper NLR proteins NRC2a/b and NRC3 but not NRC1 are required for Pto-mediated cell death and resistance in *Nicotiana benthamiana*. *The New Phytologist*, 2016, 209(4): 1344—1352.
- [93] Wu CH, Abd-El-Halim A, Bozkurt TO, et al. NLR network mediates immunity to diverse plant pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(30): 8113—8118.
- [94] Leibman-Markus M, Pizarro L, Bar M, et al. NRC proteins—a critical node for pattern and effector mediated signaling. *Plant Signaling & Behavior*, 2018, 13(8): e1507404.
- [95] Leibman-Markus M, Pizarro L, Schuster S, et al. The intracellular nucleotide-binding leucine-rich repeat receptor (SNRC4a) enhances immune signalling elicited by extracellular perception. *Plant, Cell & Environment*, 2018, 41(10): 2313—2327.
- [96] Adachi H, Contreras MP, Harant A, et al. An N-terminal motif in NLR immune receptors is functionally conserved across distantly related plant species. *Elife*, 2019, 8: e49956.

NLR Immune Receptors-Mediated Crop Breeding for Disease Resistance: Current Progress, Opportunities and Challenges

Tao Xiaorong* Zhu Min

Key Laboratory Cwp Immunity/College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095

Abstract Resistance crop breeding using disease resistance genes is one of the most effective means to prevent and control crop diseases. Among them, the most valuable and widely used are a class of disease resistance genes called NLRs (nucleotide-binding domain leucine-rich repeat containing) immune receptors. The NLR resistance genes are the largest class of disease resistance genes in the plant immune system. NLRs receptors play critical roles in recognition of various pathogen effectors and activation of host defense response against pathogen invasions. Although the NLR resistance gene has been cloned for nearly 26 years, the mechanisms from how NLRs receptors recognize pathogen effectors to how the receptor initiate disease resistance remain poorly understood. Currently, the most active research issues in the field of NLR resistance include recognition of effectors, the role of NLRs oligomerization, the subcellular localization of receptors and how receptors activate downstream resistance responses, etc. This article reviews the latest progresses on mechanistic studies of NLR immune receptor-mediated disease resistance, and discuss the most valuable scientific problems in this field in the next 5~10 years, as well as the opportunities and challenges that Chinese scientists are facing.

Keywords NLR immune receptor; disease resistance; pathogen recognition; defense response; engineering and utilization of NLR genes

(责任编辑 张强 吴妹)

* Corresponding Author, Email: taoxiaorong@njau.edu.cn