

病原效应蛋白 HopB1 抑制植物的天然免疫反应

王国勋, 李磊, 周俭民

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101



李磊 博士

植物在完成整个生活史的过程中无时无刻不受到环境中各种病原微生物(如细菌, 真菌和病毒等)的侵染。这些病原微生物的侵染会引发严重的植物病害, 造成世界范围内许多重要经济和粮食作物的大量减产, 导致大量的经济损失并严重威胁人类的粮食安全。长期以来, 农业育种人员经过不断的尝试和持续的改良大大提高了作物品种的抗病性, 但由于病原微生物与植物互作的复杂性, 目前人们依然需要面对各种严重的植物病害。因此研究病原微生物的致病机理和植物抗性机制显得尤为重要, 通过对病原物和植物互作的研究能够为解决农业生产中农作物病虫害提供强有力的理论支持。

植物在长期的进化过程中形成了复杂而精细的防卫系统来抵抗各种病原微生物的侵染。位于植物细胞表面的模式识别受体(Pattern recognition receptors, PRRs)能够特异地识别来自微生物的病原相关分子模式(Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)从而激活天然免疫反应(PAMP-triggered immunity, PTI)。然而, 绝大多数病原微生物都能够分泌效应蛋白(Effector)进入植物的细胞间质或细胞内干扰宿主的防卫反应, 例如典型的革兰氏阴性细菌能通过保守的III型分泌系统向植物细胞内分泌大量的效应蛋白, 这些具有各种酶活功能的效应蛋白能够特异地靶向模式识别受体以及 PTI 信号通路的下游组分, 从而抑制植物的免疫反应发挥其毒性功能, 进一步促进病原微生物的侵染。本课题组前期的研究发现, 来自黄单胞杆菌(*Xanthomonas campestris*)的效应蛋白 AvrAC 具有特殊的尿苷转移酶活功能, 能够特异地将尿苷修饰到 PTI 信号通路中的重要组分 BIK1 和 RIPK 上, 从而抑制这两个胞内受体类激酶的激酶活性进而阻断植物免疫信号的传递。但是截至目前多数效应蛋白的生化功能及分子

机制还不清楚, 通过对这些效应蛋白毒性功能的研究不但能够了解病原微生物如何利用这些毒性因子来侵染植物, 也有助于进一步解析植物的免疫反应。同时, 植物细胞内还存在另一类型的受体蛋白(NLR protein)可以直接识别来自病原菌的效应蛋白, 或者间接监视受到效应蛋白攻击的内源靶标, 从而激活另一层面的免疫反应(Effector-triggered immunity, ETI)。

BAK1 蛋白最初发现与植物激素油菜素内酯的受体 BRI1 形成异源二聚体共同介导其信号传递。后续的研究发现 BAK1 在调节植物生长发育过程中具有更为广谱的功能。例如, 其能够与多肽类激素受体根分生组织生长因子的受体 RGFR(Root meristem growth factors receptor)、导管分化抑制因子的受体、植物磺胺素 PSK 受体(PSKR)等形成受体复合体激活多肽类激素的信号。除了参与调控植物的生长发育, BAK1 蛋白在植物天然免疫反应过程中也发挥重要作用, 其作为共受体与多种模式识别受体如 FLS2, EFR, PEPR 等形成异源复合体共同起始天然免疫反应, 本课题组曾与清华大学的柴继杰课题组合作共同解析了鞭毛蛋白受体 FLS2 与 BAK1 复合体的胞外区晶体结构和复合体激活机制, 结构分析表明 BAK1 与 FLS2 共同参与对配体的识别, 进一步证实了 BAK1 作为共受体在起始天然免疫信号过程中的重要作用。作为众多病原物相关分子模式的共受体, BAK1 也是病原效应蛋白的主要毒性靶标之一。同时 BAK1 也可能受到植物 NLR 蛋白的监视, 因为 BAK1 缺失突变体也表现出了部分免疫激活的表型。

中国科学院遗传与发育生物学研究所周俭民课题组多年来一直致力于研究植物病原效应蛋白的致病机制, 解析了多个效应蛋白的生化功能及毒性致

病机理。最近, 我们以典型的模式系统拟南芥 (*Arabidopsis*) 和丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*) 为研究对象, 通过植物原生质体报告基因系统发现来自丁香假单胞菌的效应蛋白 HopB1 能够抑制 PAMPs 诱导的报告基因的表达, 说明其能抑制植物的天然免疫反应。为进一步寻找效应蛋白 HopB1 的毒性靶标, 我们构建了诱导型的转基因植物, 通过对转基因植物的分析发现 HopB1 能够阻断鞭毛蛋白所诱导的受体复合体下游的免疫信号, 说明其在植物细胞内的毒性靶标有可能是受体复合体的组分。随后通过生化实验也证实 HopB1 的确能够与免疫受体 FLS2 发生相互作用, 而更有意思是我们发现 HopB1 影响激活状态的免疫共受体 BAK1 的蛋白稳定性而不影响 FLS2 的稳定性。进一步通过生物信息分析以及生化实验发现, HopB1 是一个非典型的丝氨酸蛋白酶, 其具有丝氨酸蛋白酶活性, 体外降解实验结合质谱分析也证实 HopB1 能够识别 BAK1 家族激酶结构域保守的氨基酸基序并进行切割, 而丝

氨酸蛋白酶抑制剂能完全抑制其切割活性。我们进一步通过生化实验证实 HopB1 组成型地与免疫受体 FLS2 结合, 当植物细胞识别鞭毛蛋白后诱导 BAK1 与 FLS2 形成受体复合体, HopB1 进而特异地对激活状态的 BAK1 进行切割导致其丧失生物活性, 从而阻断了免疫反应。进一步我们与美国 Nebraska-Lincoln 大学的 James R Alfano 实验室合作, 通过细菌生长实验证实 HopB1 的毒性功能的确依赖于 BAK1 及其家族成员。综上所述, 我们的研究发现揭示了病原微生物巧妙的利用效应蛋白 HopB1 只切割免疫激活状态的 BAK1 抑制植物的免疫反应, 从而尽可能的逃避植物对 BAK1 蛋白的监控而激活植物另一层面的免疫反应。该项研究结果于 2016 年 10 月 12 日在线发表在 *Cell Host Microbe* (<http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2016.09.007>)。周俭民课题组的李磊博士是该论文的第一作者。该研究得到了国家自然科学基金, 中国科技部项目, 中国科学院先导专项和中国科学院对外合作项目等资助。

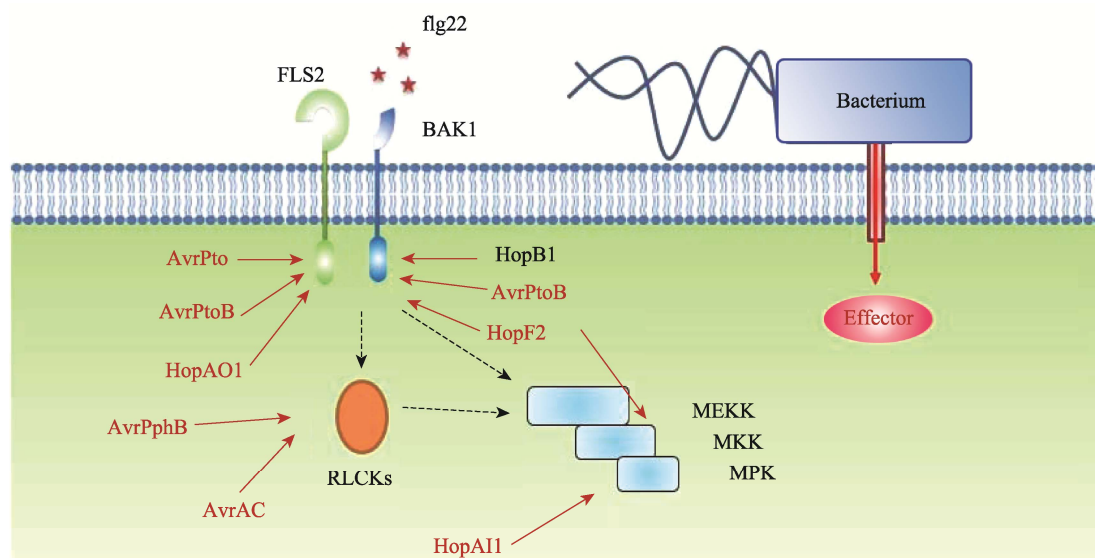


图 1 病原细菌效应蛋白攻击植物天然免疫信号示意图

Fig. 1 Model depicting bacterial pathogen effectors attacking the plant immune signaling pathway

植物细胞表面的模式识别受体通过识别来自病原微生物的保守的病原分子相关模式进而激活免疫反应, 而病原微生物能够向植物细胞内分泌效应蛋白, 靶向天然免疫信号通路的各个组分从而抑制免疫反应的发生促进其侵染。