

# 拟南芥eATP受体DORN1的研究进展

王爽<sup>1</sup> 周骏辉<sup>1,2</sup> 张越<sup>1</sup> 荆艳萍<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083; <sup>2</sup>中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700)

**摘要** 作为一种重要的信号分子, 胞外ATP(extracellular ATP, eATP)通过与质膜受体结合, 可以激发钙离子等第二信使, 并进一步诱导胞内多种信号反应。DORN1是植物中发现的第一个eATP受体蛋白, 它通过响应eATP信号, 参与植物多种生理过程, 包括植物抗病、气孔开闭以及胞吞循环等。该文就DORN1的发现、结构及功能进行综述, 并对DORN1相关领域的研究进行了展望。

**关键词** eATP; 受体; DORN1; 结构; 功能

## Recent Advances on eATP Receptor DORN1 in *Arabidopsis thaliana*

WANG Shuang<sup>1</sup>, ZHOU Junhui<sup>1,2</sup>, ZHANG Yue<sup>1</sup>, JING Yanping<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

<sup>2</sup>National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**Abstract** As an important signaling molecule, eATP (extracellular ATP) triggers a series of cellular responses by binding to plasma membrane receptors and subsequently stimulates the production of second messengers such as calcium ions. DORN1 is identified as the first plant eATP receptor and can mediate eATP signaling to participate in many physiological processes in plants, including disease resistance, stomatal opening and closing, as well as the endocytosis cycle. This review summarizes the researches on discovery, structure and functions of DORN1, and gives some prospects for the future studies of DORN1.

**Keywords** eATP; receptor; DORN1; structure; function

胞外ATP(extracellular ATP, eATP)在植物生长发育过程中发挥着重要的作用, 它可以调控根的生长, 影响生长素极性运输, 调节气孔的开闭, 参与了植物众多的生理过程<sup>[1-2]</sup>。当植物受到生物或非生物胁迫时, 也会自发地向细胞外释放ATP<sup>[3-5]</sup>, 引起植物体不同的响应, 从而适应不同的环境变化。

eATP是动植物细胞中一个重要的信号分子<sup>[6-7]</sup>, 它能被质膜上存在的eATP受体识别并结合, 从而引发下游信号分子的产生。1993年, WEBB等<sup>[8]</sup>及LUSTIG等<sup>[9]</sup>分别从鸡胚脑组织和小鼠神经母细胞瘤细胞中, 克隆获得了eATP嘌呤受体, 随后哺乳动物eATP信号

及其通路的研究得到了飞速的发展, 因此对eATP信号受体的研究是探究eATP作用机制及生理功能的重要基础。近年来, 有关植物eATP受体的研究在拟南芥中取得了较大的进展, 本文就其发现、结构与生物学功能进行综述, 并对未来的研究进行了展望。

## 1 拟南芥eATP受体的发现

植物对eATP的响应与动物对eATP的响应十分类似<sup>[10]</sup>, 例如响应eATP后都会引起活性氧(reactive oxygen species, ROS)及一氧化氮(nitric oxide, NO)的产生, 胞内钙离子(Ca<sup>2+</sup>)增加等现象。2014年, CHOI

收稿日期: 2019-08-28 接受日期: 2019-12-30

国家自然科学基金(批准号: 31771493)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 010-62336308, E-mail: yjpj@bjfu.edu.cn

Received: August 28, 2019

Accepted: December 30, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31771493)

\*Corresponding author. Tel: +86-10-62336308, E-mail: yjpj@bjfu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5254>

等<sup>[11]</sup>利用正向遗传学的方法, 通过筛选不同的拟南芥突变体并检测其对eATP的响应能力, 发现了两种不能响应eATP信号的突变体。在这两种拟南芥突变体中, ATP处理后没有明显的胞内Ca<sup>2+</sup>增加, 同时它们也不能响应除了嘧啶核苷酸外的一系列核苷酸。这两种突变体突变的基因是等位的, 因此将其命名为*dorn1-1*(does not respond to nucleotides 1-1)和*dorn1-2*。对野生型植株和两种突变体植株的全基因组进行比对, 发现了*dorn1*突变体中At5g60300基因存在独立的点突变, 该基因编码了凝集素类受体激酶-I.9(lectin receptor kinase, LecRK-I.9)。ROMANO等<sup>[12]</sup>和SCHENK等<sup>[13]</sup>研究发现, 这几个突变的位点会直接影响蛋白激酶激活环的磷酸化和激酶催化环的稳定性。同时CHOI等<sup>[11]</sup>通过体外激酶实验也证明, *dorn1-1*和*dorn1-2*突变体中DORN1蛋白的激酶域是完全失活的。

物理损伤可以作为一种危险信号(danger signal), 当植物受到物理损伤时, ATP会被释放到胞外<sup>[14]</sup>, 被DORN1受体识别而引起胞内的一系列响应。在ATP诱导表达的基因中, 60%左右的基因在发生物理损伤时也会被诱导表达, 这其中90%左右的基因表达发生在早期的损伤响应过程中。在发生物理损伤时, 这些基因在*DORN1*过表达植株中表达量显著升高, 而在*DORN1*的T-DNA插入突变体*dorn1-3*植株中表达量显著减少<sup>[11]</sup>。

由于DORN1的分子结构域与动物ATP受体的结构域完全不同, 因此把这个未知的嘌呤受体家族命名为P2K(K代表激酶)。DORN1(P2K<sub>1</sub>)是这个家族中第一个被发现的成员, 目前尚未在其他生物, 如动物、细菌和真菌等微生物中发现典型的P2K蛋白家族<sup>[15]</sup>。在拟南芥中, *DORN1*属于一个有45个成员的多基因家族, 并且几乎所有的陆生植物都存在一个或者多个DORN1的同源蛋白<sup>[7,16]</sup>。

## 2 DORN1的结构

BOUWMEESTER等<sup>[17]</sup>推测, *DORN1*(At5g60300)编码的LecRK-I.9可以作为细胞壁和细胞质膜之间黏结的中介物, 在植物防御过程中发挥重要功能。DORN1是一个典型的类受体蛋白, 它在N-端有信号肽, 具有1个胞外L型凝集素结构域、1个跨膜结构域和1个胞内丝/苏氨酸激酶结构域<sup>[7,18]</sup>(图1), 这样的结构也为其发挥生理功能奠定了基础。

### 2.1 胞外L型凝集素结构域

BARRE等<sup>[19]</sup>研究预测出, DORN1的胞外结构域包含13条β链, 其中6条β链形成1个β折叠, 而另外7条β链形成另1个β折叠, 2个β折叠反向平行, 并且通过1个延伸环(extended loop)连接。相对于嘧啶核苷酸, DORN1对嘌呤核苷酸有更高的配体结合偏好性, 它的胞外凝集素结构域与ATP结合具有很高的亲和力, 两者之间结合的平衡解离常数K<sub>d</sub>是45.7 nmol/L, 说明两者在生理上是相关的<sup>[11]</sup>。

与典型的L型凝集素结构域相比, DORN1中的胞外L型凝集素结构域缺少了保守的钙离子和锰离子结合残基, 这些残基对受体与单糖的结合非常关键<sup>[20]</sup>。BOUWMEESTER等<sup>[17,21]</sup>及GOUGET等<sup>[22]</sup>发现, DORN1的胞外结构域在植物抗病中发挥功能, 其定位在细胞质膜上, 通过胞外凝集素结构域中的2个精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)结合位点与细胞壁发生相互作用, 从而介导细胞壁和质膜的黏结。

**2.1.1 胞外结构域模型** DORN1胞外凝集素结构域包括5个环结构, 分别是Loop A、B、C、D和延伸环(图1和图2)。与其他L型凝集素结构域相比, DORN1这些环结构的氨基酸残基组分表现出更高的可变性, 同时结构预测表明, 与结合碳水化合物化合物的凝集素残基相比, DORN1与ATP发生相互作用的残基中有4个是非保守的。DORN1凝集素结构域的4个环(Loop A、B、C、D)所形成的腔与ATP有很高的亲和力, 并且ATP能通过氢键和疏水作用与4个环上的残基发生相互作用<sup>[18]</sup>。DORN1的ATP结合腔在结构上与典型的L型凝集素的碳水化合物结合腔有很高的相似性<sup>[18]</sup>。DORN1的折叠方式与其他L型凝集素也有很高的相似性, 其中有相对平直的6条股状的β折叠(β1、β4、β9、β10、β11和β13)位于亚基的侧边, 还有弯曲的7条股状的β折叠(β2、β3、β5、β6、β7、β8和β12)位于单体中间的位置<sup>[18,23]</sup>。其中的两条β链中(β8和β9)有13个残基的插入, 形成了一个延伸环(图2)。延伸环包含ASY基序, 它是RGD结合域, 在DORN1(LecRK-I.9)介导质膜和细胞壁黏结中发挥着重要的作用<sup>[17,22]</sup>。进一步研究发现, Loop B和Loop C对DORN1与ATP的结合十分关键, 而延伸环结构不参与DORN1和ATP的结合<sup>[18]</sup>。

**2.1.2 胞外结构域ATP结合位点** NGUYEN等<sup>[18]</sup>利用基于知识的方法(knowledge-based method)和自由对接方法(free docking method)预测了DORN1

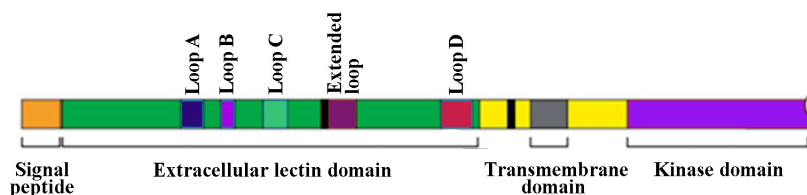


图1 DORN1的结构域(根据参考文献[18]修改)

Fig.1 Domain structure of DORN1 (modified from reference [18])

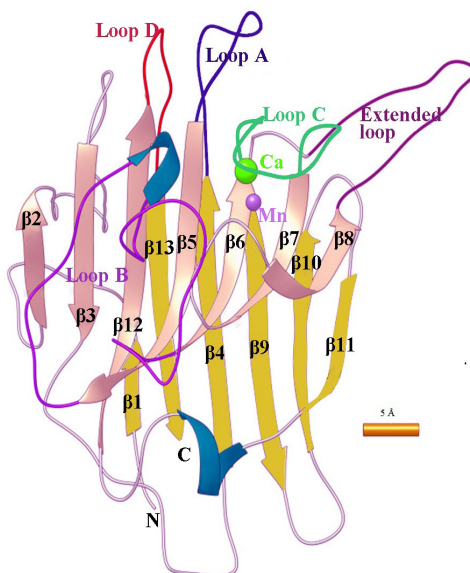


图2 DORN1叠加模型(根据参考文献[18]修改)

Fig.2 DORN1 superimposed models (modified from reference [18])

中存在的可能的ATP结合位点, 两种方法找到了一个相同的ATP结合腔, 其定位与其他L型凝集素中典型的碳水化合物结合位点十分相似。除了这个预测的位点, free docking method发现了另外一个定位在Loop A和延伸环中的结合位点。两种方法同时发现了8个能与ATP互作的残基, 分别是Gly98、His99、Thr117、Arg118、Ile143、Gly245、Thr246和Ala247。DORN1在残基组成上与其他L型凝集素组分不同, 可以由其他L型凝集素组分变化而来, 而且形成的环结构的尺寸不同, 这也说明, 相对于其他配体, DORN1对ATP可能具有更高的结合亲和力。

**2.1.3 胞外结构域的晶体学研究** 对拟南芥DORN1的胞外结构域(AtDORN1-ECD)以及其在亚麻芥中同源凝集素类受体激酶蛋白的胞外结构域进行晶体及X射线衍射分析, 为进一步理解DORN1介导的ATP信号的识别与传导提供了思路。拟南芥DORN1胞外结构域重组蛋白的分子量是35 kDa, 比

预测的分子量大了6 kDa, 高出的分子量是由于糖基化修饰造成的。糖基化修饰可以增加分泌蛋白的稳定性, 保护它们免被蛋白酶降解, 同时也有利于蛋白折叠及蛋白与配体的结合<sup>[24-30]</sup>。与典型的L型凝集素结构域相比, DORN1的凝集素结构域存在更高程度的N-端糖基化<sup>[22]</sup>。DORN1凝集素结构域中的13个天冬酰胺残基, 有8个暴露在DORN1凝集素结构域模型的表面(Asn37、Asn56、Asn124、Asn128、Asn181、Asn204、Asn225和Asn232), 可以作为糖基化的位点, 另外5个残基可能位于蛋白内部(Asn128、Asn145、Asn154、Asn161和Asn185), 不会发生糖基化修饰。突变预测的糖基化位点, 将这些位点的天冬酰胺分别突变为天冬氨酸, 结果发现, Asn181的糖基化对DORN1蛋白的折叠及稳定至关重要, 但糖基化对于DORN1与ATP结合没有起到关键作用<sup>[18,31]</sup>。

## 2.2 跨膜结构域

在烟草中进行DORN1的异源表达, 结果表明



DORN1定位于细胞质膜<sup>[17,21]</sup>, 本实验室在拟南芥中稳定表达DORN1-GFP, 同样确定DORN1为细胞质膜蛋白。已有的报道表明, 当跨膜结构域发生单核苷酸突变(A306)时, ATP诱导的钙离子转运受到影响, 这可能是与DORN1的跨膜结构域和下游信号的传导有关<sup>[7]</sup>。对DORN1跨膜结构域的研究还相对较少, 因此, DORN1跨膜结构域的功能还需要更为深入的探究。

### 2.3 胞内激酶结构域

DORN1胞内有一个丝/苏氨酸激酶结构域, 其自身磷酸化对下游信号的传导至关重要。CHEN等<sup>[32]</sup>构建了磷酸化位点突变的点突变载体, 将391、440和451位点的氨基酸突变为丙氨酸(磷酸化活性丧失)或者天冬氨酸(持续磷酸化), 来探究这些位点的磷酸化在DORN1发挥功能过程中的作用。实验发现, S391A、S440A、S451A失活型磷酸化位点突变不能恢复*dorn1-3*突变体植株不响应ATP的表型, 然而S391D、S440D、S451D持续磷酸化突变的DORN1, 能够恢复*dorn1-3*突变体植株对ATP的响应, 引发胞内钙离子浓度显著增高, 这也说明, S391、S440、S451的磷酸化对于DORN1激酶结构域介导ATP信号是十分关键的。有报道表明, DORN1可能响应ATP信号, 磷酸化下游目标蛋白RBOHD从而介导嘌呤信号<sup>[32]</sup>。

## 3 DORN1的功能

当植物体受到生物及非生物胁迫时, 会自发向细胞外释放ATP, eATP作为一种信号分子引起细胞的一系列响应, 而DORN1作为植物中发现的第一个ATP受体, 在此过程中发挥着关键作用, 它不仅在植物抗病方面发挥重要的功能, 也通过介导eATP信号参与植物许多的生理过程。

### 3.1 DORN1在植物抗病方面的功能

在植物生长发育过程中, 其有效的防御响应依赖于有功能的细胞壁和细胞质膜连续统一体(cell wall-plasma membrane continuum, CW-PM continuum)。在拟南芥中, *DORN1*基因编码的LecRK-I.9是介导细胞壁和细胞质膜黏结的中介物<sup>[11,17]</sup>。BOUWMEESTER等<sup>[17]</sup>研究发现, 致病疫霉菌可以破坏CW-PM的连续统一体从而侵染植物, 而宿主植物可以通过加强CW-PM的黏结阻止病原体的入侵。体外实验发现, LecRK-I.9(DORN1)可以识别致病

疫霉RXLR-dEER效应器IPI-O中的RGD细胞附着基序, 两者会发生相互作用并相互结合, 致病疫霉依靠IPI-O与LecRK-I.9结合, 影响CW-PM黏结的中介物LecRK-I.9的功能, 进一步破坏CW-PM连续统一体, 从而侵染宿主植物。在甘蓝根肿菌(*P. brassicae*)侵染实验中, 将*P. infestans*的*IPI-O*基因克隆到野生型拟南芥中得到过表达植株, 与野生型拟南芥植株相比, *lecrk-I.9*突变体植株和35S-*ipiO1*过表达植株都对*P. brassicae*表现出易感性, 并出现感病表征, 同时植株中胼胝质沉积也减少, 而35S-LecRK-I.9过表达植株抗病性明显增强<sup>[17]</sup>。在正常生长条件下, 植物中的LecRK-I.9可以作为一种RGD结合蛋白, 与不同的胞外配体结合, 由其胞内结构域介导信号, 激活或者抑制激酶活性, 从而调控植物的正常生长发育<sup>[17]</sup>。

TRIPATHI等<sup>[33]</sup>发现, DORN1可以识别eATP信号, 通过产生第二信使如Ca<sup>2+</sup>、ROS、NO等直接激活茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号通路, 不需要合成茉莉酸就能够引起植物的防御响应<sup>[33]</sup>, 同时诱导钙离子转运并起始下游丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路的激活及防御相关基因的表达<sup>[11]</sup>。随后的研究进一步证实了DORN1在JA信号通路中的作用, 当植物受到生物胁迫时, eATP可以作为一种危险信号与DORN1受体结合, 随后通过第二信使Ca<sup>2+</sup>、ROS及NO, 加强JA信号通路关键调控蛋白JAZ(jasmonate ZIM-domain proteins)与JA受体COI1(coronatine-insensitive 1)的相互作用, 激活JA信号通路介导的防御响应相关基因的表达, 从而增强植物对病原菌的防御<sup>[34]</sup>。

### 3.2 DORN1在植物气孔开闭过程中的功能

植物气孔控制水蒸气和CO<sub>2</sub>等气体的进出, 影响植物的光合作用、蒸腾作用和耐旱性等。同时, 气孔也是病原菌首选的侵入位点。DORN1受体识别eATP信号后产生ROS, 诱导植物气孔关闭, 有效地封锁了病原体进入植物内部的重要途径, 有益于植物抵御外界细菌的入侵, 从而在植物抗病中发挥重要的作用<sup>[35-36]</sup>。

CHEN等<sup>[32]</sup>首先利用DORN1磷酸化位点突变体, 发现在接受ATP信号后DORN1会发生自磷酸化, 其中S391、S440和S451的自磷酸化对于ATP的下游信号至关重要。进一步通过质谱以及体外磷酸化等实验, 找到了DORN1磷酸化的目标蛋白NADPH氧化酶RBOHD, 从而揭示了DORN1介导eATP信号引

起气孔关闭的机制。当植物受到胁迫时,胞内ATP释放到胞外,DORN1与eATP结合后发生自磷酸化,通过磷酸化RBOHD的S22残基,激活RBOHD酶活性,引起ROS的产生,胞内高浓度的ROS引起气孔的关闭。

### 3.3 DORN1在胞吞循环中的作用

植物根尖过渡区作为感受环境变化的传感器,在受到刺激或胁迫时会有大量的ATP从该区域释放<sup>[4,37-39]</sup>,DORN1在根尖过渡区的表达量显著高于其他部位<sup>[40]</sup>。NAKAYAMA等<sup>[41]</sup>研究发现,质膜流动性和硬度的维持需要胞吞循环的活性,细胞的囊泡循环同时也参与调控信号转导过程。甘露醇诱导质壁分离实验中,在利用高渗甘露醇溶液处理后,dorn1-1突变体植株根尖过渡区细胞出现了明显的皱缩,野生型植株中细胞呈椭圆形,而DORN1过表达植株更能承受甘露醇引起的质壁分离,细胞维持正圆形。质壁分离的结果说明,不同的DORN1转基因株系有着不同的胞吞活性,DORN1参与维持质膜的完整性,可能通过影响细胞壁黏附域和胞吞囊泡循环,维持细胞结构<sup>[40]</sup>。

研究表明,DORN1通过介导eATP信号调控植物细胞胞吞囊泡循环的活性。在植物生长过程中,根尖可以感受重力而向地生长,KAGENISHI<sup>[40]</sup>研究发现,一定浓度的eATP能够抑制根的向地性。eATP处理不能抑制dorn1-1突变体根的向地性,而DORN1过表达植株中根的向地性受到了eATP的显著抑制。胞吞囊泡循环对于根向地性响应非常重要<sup>[42]</sup>,布雷菲德菌素A(brefeldin A, BFA)可以阻碍植物细胞中的分泌途径以及囊泡循环转运过程,常被用于胞吞循环相关实验中。利用BFA和eATP对拟南芥幼苗进行实验,结果显示,eATP的处理明显减小了根尖细胞中BFA小体(BFA bodies)的尺寸大小。同时在BFA洗脱实验中,eATP增强了BFA诱导的BFA小体的恢复,BFA小体恢复速度反映了胞吐速率的快慢,因此,eATP的处理增强了胞吐<sup>[40]</sup>。综上所述,eATP在胞吞和胞吐过程中发挥着相反的作用:它可以抑制胞吞、增强胞吐,胞吞和胞吐途径的不平衡可能会干扰PIN蛋白介导的生长素极性运输<sup>[40]</sup>。利用野生型以及DORN1转基因植株进一步研究发现,在DORN1过表达植株中eATP处理减小了根尖细胞BFA小体的尺寸大小,而在dorn1-1突变体植株中BFA小体的大小在eATP处理下没有明显的变化,并且dorn1-1

植株中BFA小体尺寸明显大于野生型植株。上述实验证实了DORN1通过介导eATP信号调控植物细胞胞吞囊泡循环的活性。进一步研究发现,DORN1介导eATP信号调控胞吞循环与下游的Ca<sup>2+</sup>息息相关,eATP与DORN1结合,增加了胞内游离的Ca<sup>2+</sup>。升高的Ca<sup>2+</sup>通过AtRBOHD的Ca<sup>2+</sup>结合基序(EF hand)激活AtRBOHD,随后生成ROS。ROS打开质膜上的Ca<sup>2+</sup>通道,导致胞内Ca<sup>2+</sup>浓度进一步升高。增加的Ca<sup>2+</sup>抑制了胞吞的活性,增强了胞吐的活性<sup>[40]</sup>。

近来发现,在高盐胁迫下,dorn1-3突变体拟南芥叶片中的叶绿素荧光参数,包括PSII原初光能转化效率(Fv/Fm)、光化学猝灭系数(qP)以及实际量子产率( $\Phi PSII$ )相比于野生型拟南芥均显著降低,同时,dorn1-3突变体拟南芥叶片的胞内ATP也显著低于野生型植株。高盐胁迫会增加拟南芥叶片的胞外ATP水平,说明DORN1介导高盐胁迫下的胞外ATP信号,在光系统II以及胞内ATP对高盐胁迫响应过程中发挥重要作用<sup>[43]</sup>。WANG等<sup>[44]</sup>通过检测野生型拟南芥根表皮的质膜发现,eATP可以激活K<sup>+</sup>和Ca<sup>2+</sup>的渗透电导,而dorn1-1和dorn1-3突变体不能响应eATP产生电导,推测DORN1在超极化电压下能够打开质膜上的超极化激活钙离子通道(hyperpolarization activated calcium channel, HAAC),瞬时激活Ca<sup>2+</sup>内向渗透电导,而在去极化电压下,DORN1也可以打开非选择性阳离子通道(nonselective cation channels, NSCCs),瞬时激活K<sup>+</sup>外向渗透电导。WANG等<sup>[45]</sup>随后利用原生质体的实验也检测到eATP处理后HAAC的Ca<sup>2+</sup>电导和NSCC的K<sup>+</sup>电导,同时还检测到了阴离子通道的Cl<sup>-</sup>外向渗透电导。DORN1可能会磷酸化这些离子通道,其中首先可能磷酸化HAAC。NIZAM等<sup>[46]</sup>最近的研究发现,与野生型拟南芥相比,dorn1-3突变体中会发生更多的真菌定殖,进一步说明了DORN1在植物抗病中的功能。

## 4 结语和展望

eATP作为信号分子,参与了植物多种胁迫响应过程,在植物生长发育和对环境的适应过程中发挥着重要的作用。对于植物eATP受体DORN1的研究不仅能帮助我们更好地理解eATP信号通路,也有助于我们在植物中进一步发现其他响应ATP的同源蛋白。作为植物中发现的第一个eATP受体,DORN1的研究还有很多地方值得深入发掘,例如DORN1

跨膜结构域的具体功能仍有待于确定; 作为跨膜蛋白, DORN1响应ATP信号后的早期反应尚不清楚; DORN1在响应ATP信号后参与调控离子通道活性的关键机制以及发生的变化仍有待于进一步解析; DORN1在eATP信号途径中的下游靶蛋白及其所参与的生物学过程, DORN1所介导的eATP信号通路中的其他组分, 以及动植物中嘌呤信号通路的异同等都值得进一步的研究。此外, 植物中是否还有其他的嘌呤受体, 它们各自的功能也需要进一步探索。在不远的未来, 随着对DORN1受体的深入研究, 植物eATP信号通路将被进一步完善。

### 参考文献 (References)

- [1] TANG W, BRADY S, SUN Y, et al. Extracellular ATP inhibits root gravitropism at concentrations that inhibit polar auxin transport [J]. *Plant Physiol*, 2003, 131(1): 147-54.
- [2] CLARK G, FRALEY D, STEINEBRUNNER I, et al. Extracellular nucleotides and apyrases regulate stomatal aperture in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2011, 156(4): 1740-53.
- [3] WU S J, LIU Y S, WU J Y. The signaling role of extracellular ATP and its dependence on  $\text{Ca}^{2+}$  flux in elicitation of *Salvia miltiorrhiza* hairy root cultures [J]. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49(4): 617-24.
- [4] DARK A, DEMIDCHIK V, RICHARDS S N L, et al. Release of extracellular purines from plant roots and effect on ion fluxes [J]. *Plant Signal Behav*, 2011, 6(11): 1855-7.
- [5] KIM S Y, SIVAGURU M, STACEY G. Extracellular ATP in plants. Visualization, localization, and analysis of physiological significance in growth and signaling [J]. *Plant Physiol*, 2006, 142(3): 984-92.
- [6] CAO Y, TANAKA K, NGUYEN C T, et al. Extracellular ATP is a central signaling molecule in plant stress responses [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2014, 20: 82-7.
- [7] CHOI J, TANAKA K, LIANG Y, et al. Extracellular ATP, a danger signal, is recognized by DORN1 in *Arabidopsis* [J]. *Biochem J*, 2014, 463(3): 429-37.
- [8] WEBB T E, SIMON J, KRISHEK B J, et al. Cloning and functional expression of a brain G-protein-coupled ATP receptor [J]. *FEBS Lett*, 1993, 324(2): 219-25.
- [9] LUSTIG K D, SHIAU A K, BRAKE A J, et al. Expression cloning of an ATP receptor from mouse neuroblastoma cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(11): 5113-7.
- [10] TANAKA K, GILROY S, JONES A M, et al. Extracellular ATP signaling in plants [J]. *Trends Cell Biol*, 2010, 20(10): 601-8.
- [11] CHOI J, TANAKA K, CAO Y, et al. Identification of a plant receptor for extracellular ATP [J]. *Science*, 2014, 343(6168): 290-4.
- [12] ROMANO P R, GARCIA-BARRIO M T, ZHANG X, et al. Autophosphorylation in the activation loop is required for full kinase activity *in vivo* of human and yeast eukaryotic initiation factor 2 $\alpha$  kinases PKR and GCN2 [J]. *Mol Cell Biol*, 1998, 18(4): 2282-97.
- [13] SCHENK P W, SNAAR-JAGALSKA B E. Signal perception and transduction: the role of protein kinases [J]. *BBA-Mol Cell Res*, 1999, 1449(1): 1-24.
- [14] WEERASINGHE R R, SWANSON S J, OKADA S F, et al. Touch induces ATP release in *Arabidopsis* roots that is modulated by the heterotrimeric G-protein complex [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(15): 2521-6.
- [15] LEHTU-SHIU M D, ZOU C, HARTADA K, et al. Evolutionary history and stress regulation of plant receptor-like kinase/pelle genes [J]. *Plant Physiol*, 2009, 150(1): 12-26.
- [16] BOUWMEESTER K, GOVERS F. *Arabidopsis* L-type lectin receptor kinases: phylogeny, classification, and expression profiles [J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(15): 4383-96.
- [17] BOUWMEESTER K, SAIN M D, WEIDE R, et al. The lectin receptor kinase LecRK-I.9 is a novel *phytophthora* resistance component and a potential host target for a RXLR effector [J]. *PLoS Pathog*, 2011, 7(3): e1001327.
- [18] NGUYEN C H, KIWAMU T, CAO Y, et al. Computational analysis of the ligand binding site of the extracellular ATP receptor, DORN1 [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0161894.
- [19] BARRE A, HERVÉ C, LESCURE B, et al. Lectin receptor kinases in plants [J]. *CRC Crit Rev Plant Sci*, 2002, 21(4): 379-99.
- [20] HERVÉ C, SERRES J, DABOS P, et al. Characterization of the *Arabidopsis* lecRK-a genes: members of a superfamily encoding putative receptors with an extracellular domain homologous to legume lectins [J]. *Plant Mol Biol*, 1999, 39(4): 671-82.
- [21] BOUWMEESTER K, HAN M, BLANCO-PORTALES R, et al. The *Arabidopsis* lectin receptor kinase LecRK-I.9 enhances resistance to *Phytophthora infestans* in Solanaceous plants [J]. *Plant Biotechnol J*, 2014, 12(1): 10-6.
- [22] GOUGET A, SENCHOU V, GOVERS F, et al. Lectin receptor kinases participate in protein-protein interactions to mediate plasma membrane-cell wall adhesions in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2006, 140(1): 81-90.
- [23] LORIS R, HAMELRYCK T, BOUCKAERT J, et al. Legume lectin structure [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1383(1): 9-36.
- [24] IMPERIALI B, O'CONNOR S E. Effect of N-linked glycosylation on glycopeptide and glycoprotein structure [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 1999, 3(6): 643-9.
- [25] WORMALD M R, DWEK R A. Glycoproteins: glycan presentation and protein-fold stability [J]. *Structure*, 1999, 7(7): R155-60.
- [26] RUDD P M, WOODS R J, WORMALD M R, et al. The effects of variable glycosylation on the functional activities of ribonuclease, plasminogen and tissue plasminogen activator [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1248(1): 1-10.
- [27] MITRA N, SINHA S, RAMYA T N C, et al. N-linked oligosaccharides as outfitters for glycoprotein folding, form and function [J]. *Trends Biochem Sci*, 2006, 31(5): 156-63.
- [28] BRAAKMAN I, BULLEID N J. Protein folding and modification in the mammalian endoplasmic reticulum [J]. *Annu Rev Biochem*, 2011, 80(1): 71-99.
- [29] OLSON T S, LANE M D. A common mechanism for posttranslational activation of plasma membrane receptors [J]? *FASEB J*, 1989, 3(5): 1618-24.
- [30] CHAMOREY A L, MAGNÉ N, PIVOT X, et al. Impact of glycosylation on the effect of cytokines. A special focus on oncology [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2002, 13(2): 154-60.
- [31] LI Z, CHAKRABORTY S, XU G. X-ray crystallographic studies of the extracellular domain of the first plant ATP receptor, DORN1, and the orthologous protein from *Camelina sativa* [J]. *Acta Cryst*



- tallogr, 2016, 72(10): 782-7.
- [32] CHEN D, CAO Y, HONG L, et al. Extracellular ATP elicits DORN1-mediated RBOHD phosphorylation to regulate stomatal aperture [J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 2265.
- [33] TRIPATHI D, ZHANG T, KOO A J, et al. Extracellular ATP acts on jasmonate signaling to reinforce plant defense [J]. Plant Physiol, 2018, 176(1): 511-23.
- [34] TRIPATHI D, TANAKA K. A crosstalk between extracellular ATP and jasmonate signaling pathways for plant defense [J]. Plant Signal Behav, 2018, 13(5): e1432229.
- [35] KADOTA Y, SHIRASU K, ZIPFEL C. Regulation of the NADPH oxidase RBOHD during plant immunity [J]. Plant Cell Physiol, 2015, 56(8): 1472.
- [36] BAXTER A, MITTLER R, SUZUKI N. ROS as key players in plant stress signalling [J]. J Exp Bot, 2014, 65(5): 1229-40.
- [37] JETER C R, TANG W, HENAFF E, et al. Evidence of a novel cell signaling role for extracellular adenosine triphosphates and diphosphates in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2004, 16(10): 2652-64.
- [38] KIM S H, YANG S H, KIM T J, et al. Hypertonic stress increased extracellular ATP levels and the expression of stress-responsive genes in *Arabidopsis thaliana* seedlings [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2009, 73(6): 1252-6.
- [39] BALUŠKA F, MANCUSO S, VOLKMANN D, et al., Root apex transition zone: a signalling-response nexus in the root [J]. Trends Plant Sci, 2010, 15(7): 402-8.
- [40] KAGENISHI T. Extracellular ATP signaling is linked to endocytic vesicle recycling in root apex [D]. Bonn: Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 2016.
- [41] NAKAYAMA N, SMITH R, MANDEL T, et al. Mechanical regulation of auxin-mediated growth [J]. Curr Biol, 2012, 22(16): 1468-76.
- [42] ABAS L, BENJAMINS R, MALENICA N, et al. Intracellular trafficking and proteolysis of the *Arabidopsis* auxin-efflux facilitator PIN2 are involved in root gravitropism [J]. Nat Cell Biol, 2006, 8(3): 249-56.
- [43] HOU Q Z, SUN K, ZHANG H, et al. The responses of photosystem II and intracellular ATP production of *Arabidopsis* leaves to salt stress are affected by extracellular ATP [J]. J Plant Res, 2017, 131(2): 1-9.
- [44] WANG L, WILKINS K A, DAVIES J M. *Arabidopsis* DORN1 extracellular ATP receptor; activation of plasma membrane K<sup>+</sup>- and Ca<sup>2+</sup>-permeable conductances [J]. New Phyto, 2018, 218(4): 1301-4.
- [45] WANG L, STACEY G, LEBLANC-FOURNIER N, et al. Early extracellular ATP signaling in *Arabidopsis* root epidermis: a multi-conductance process [J]. Front Plant Sci, 2019, 10(10): 1064.
- [46] NIZAM S, QIANG X, WAWRA S, et al. *Serendipita indica* E5'NT modulates extracellular nucleotide levels in the plant apoplast and affects fungal colonization [J]. EMBO Rep, 2019, 20: e47430.