

# 植物受体激酶BAK1介导的细胞死亡调控研究进展

冯丽平<sup>1</sup> 黎艳<sup>1</sup> 蒋亨珂<sup>1</sup> 孙歆<sup>1</sup> 袁明<sup>2</sup> 杜俊波<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>四川农业大学农学院, 成都 611130; <sup>2</sup>四川农业大学生命科学院, 雅安 625014)

**摘要** 植物在生长发育和抵抗逆境时都会发生细胞程序性死亡, 植物受体激酶在细胞死亡调控中发挥着十分重要的作用。植物细胞可以通过质膜表面的受体激酶感受细胞间及环境信号, 并将信号传递到下游, 诱导一系列级联反应, 导致细胞程序性死亡。植物受体激酶BAK1在植物程序性死亡中发挥着关键的作用, BAK1与BRI1、FLS2、BIR1、EFR、BIK1等受体激酶互作, 识别和转导胞外信号, 共同调控细胞死亡。该文以BAK1为中心, 综述了近年发现的参与植物细胞死亡调控的BAK1受体激酶复合物介导的信号转导机制, 并提出需要深入研究的科学问题。

**关键词** 植物受体激酶; BAK1; BIR1; FLS2; EFR; BIK1; 细胞死亡

## Advances in Plant Receptor-Like Kinase BAK1-Mediated Cell-Death Control

Feng Liping<sup>1</sup>, Li Yan<sup>1</sup>, Jiang Hengke<sup>1</sup>, Sun Xin<sup>1</sup>, Yuan Ming<sup>2</sup>, Du Junbo<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Agriculture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

<sup>2</sup>College of Life Sciences, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China)

**Abstract** The programmed plant cell death is extensively involved in plant growth and stress resistance. Plant receptor-like kinases (RLKs) play important roles in cell-death control. Under stresses, plant cells are able to perceive signals from extracellular environment through RLKs, and transmit downstream signaling factors to regulate the expression of related genes, causing a series of physiological and biochemical reactions that lead to cell death. BAK1 is crucial in plant cell death as an RLK. BAK1 interacts with the RLKs such as BRI1, FLS2, BIR1, EFR and BIK1 to sense extracellular signals and regulate cell death. Here we focused on the role of BAK1 and summarized the mechanisms of BAK1-interacting RLK complex-mediated cell death signal transduction and proposed scientific questions that need further study.

**Keywords** plant receptor-like kinase; BAK1; BIR1; FLS2; EFR; BIK1; cell death

细胞程序性死亡广泛存在于植物生长发育及免疫反应中。在逆境胁迫时, 植物通过受体激酶(receptor-like kinases, RLKs)等感受外界信号因子, 并将信号因子传递到下游, 调控相关基因的表达, 引起一系列生理生化反应, 最终导致细胞死亡。目前已经发现了一些参与细胞死亡信号转导的受体激酶, 并发现部分受体激酶之间存在相互作用, 接受、

传导信号的机制也不断有新的发现。BAK1(BRI1-ASSOCIATED RECEPTOR KINASE 1)是目前功能研究得最多的植物受体激酶之一。不同的实验室陆续发现了与BAK1互作的其他受体激酶, 在这些互作的受体激酶复合物中, 以BAK1为核心构成了一个复杂的互作网络, 与BAK1共同调控植物的生长发育及抗逆反应。本文将重点介绍近年来以BAK1为核心

收稿日期: 2018-05-23 接受日期: 2018-07-23

国家自然科学基金(批准号: 31671445)和四川省科技厅项目(批准号: 2018HH0108)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 028-86290960, E-mail: junbodu@hotmail.com

Received: May 23, 2018 Accepted: July 23, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31671445) and Sichuan Provincial Science and Technology Agency Project (Grant No.2018HH0108)

\*Corresponding author. Tel: +86-28-86290960, E-mail: junbodu@hotmail.com

网络出版时间: 2018-10-29 15:19:20

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20181029.1519.006.html>

的细胞死亡调控研究进展。

## 1 植物细胞死亡

程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)是植物正常生长、发育、分化必不可少的过程<sup>[1]</sup>。小孢子的败育、叶片发育过程中叶缘各种形态分化都是由于相关部位细胞的PCD造成的<sup>[2-3]</sup>。植物抵抗病原物侵染时常发生超敏反应(hypersensitive response, HR), 即植物在病原物侵染处诱发局部细胞死亡。植物HR一直被看作是植物抗病的标志, HR可以将病原物限制在侵染部位, 防止其进一步扩散, HR过程中伴随着PCD。因此, PCD也是植物抵抗外来胁迫的重要机制, 且参与调节的信号网络纷繁复杂<sup>[4-5]</sup>。

在功能正常的细胞中, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)被控制在稳态水平。当植物细胞受到胁迫时, ROS在植物被侵染位点急剧增加, 称为氧爆发, 并常常伴随着胞内激素水平平衡的破坏, 诱发下游的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联反应、蛋白质氧化与亚硝基化作用等并反馈调节ROS水平, 诱发细胞死亡相关基因的表达、蛋白质的从头合成、细胞形态的变化、细胞膜的脂质化、核膜的解体、染色质皱缩、DNA降解等, 最终导致细胞死亡<sup>[6]</sup>。这些过程中, 植物激素如水杨酸(salicylic acid, SA)、乙烯(ethylene, ET)、油菜素甾醇(brassinosteroids, BRs)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)等与ROS相互作用精准调控细胞死亡信号转导。钙调素和Ca<sup>2+</sup>作为信号分子也对植物PCD起着十分重要的作用。研究发现, Ca<sup>2+</sup>的升高能激活依赖于钙的核酸内切酶, 使DNA降解<sup>[7]</sup>。另外, Ca<sup>2+</sup>刺激导致ROS和NO的积累, 其中NO作为蛋白酶活性的上游信号分子参与调控PCD过程<sup>[8]</sup>。

近年来, 随着分子生物学技术的发展, 对这些小分子信号的研究逐渐深入, 但仍有许多问题有待解决。例如, 这些信号因子的原初感受器是什么? 在ROS的信号转导过程中, 细胞如何感知和控制ROS的水平? 引起细胞伤害的ROS阈值是多少? 这些信号因子之间如何相互作用? 又是如何在转录水平上调控细胞相关基因的表达? 与细胞死亡调控相关的基因是近年的研究热点。

## 2 植物受体激酶BAK1介导的细胞死亡

生物信息学分析显示, 拟南芥基因组中有600

多个RLKs, 其中包括400多个典型的跨膜受体激酶和200多个类受体胞内激酶(receptor-like cytoplasmic kinase, RLCK)。一个典型的植物受体激酶由三部分构成, 即胞外结构域、跨膜域和胞内的蛋白激酶结构域<sup>[9]</sup>。根据胞外区的不同, RLKs主要分为以下亚家族: (1)富含亮氨酸重复区(leucine-rich repeats, LRRs)的RLKs(LRR-RLKs); (2)具有S结构域(S-domain)的RLKs; (3)与细胞壁相连(WAK-like)的RLKs; (4)富含脯氨酸的类伸展素受体激酶(PERKs); (5)类肿瘤坏死因子受体(TNFR-like)RLKs<sup>[10]</sup>。BAK1就是LRRs-RLKs第二亚家族中一个重要的成员。

### 2.1 BAK1及其同源基因家族

根据胞外LRR结构和数量的差异, LRR-RLKs被划分成15个亚家族, 植物体细胞胚发生受体激酶SERKs(SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR-LIKE KINASEs)属于第二亚类, 其成员包括SERK1、SERK2、BAK1/SERK3、BKK1/SERK4和SERK5<sup>[11-14]</sup>, 它们在油菜素内脂(BR)信号转导、细胞死亡调控及病原菌的抵抗等方面发挥关键作用<sup>[15]</sup>。可逆磷酸化反应是BR信号转导的主要调控方式。BR受体BRI1(BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1)在细胞表面感知和结合BR后, 发生自磷酸化向下传递信号, BRI1的突变体***bri1-1***表现出植株矮小的表型, 叶片皱缩, 同时还伴随着育性的降低。受体激酶BAK1作为BRI1的共受体, 二者相互作用形成BRI1/BAK1受体复合体是BR信号的早期感知和转导的关键步骤<sup>[11,13]</sup>, BAK1与BRI1彼此磷酸化激活BRI1, 为下游调控因子提供作用位点, 从而将信号向下传递<sup>[16-17]</sup>。后来有研究发现, BAK1的同源蛋白SERKs也在BRI1的早期感知中不可或缺<sup>[13]</sup>。

SERKs是近年来植物受体激酶领域研究的热点, 不断有新的发现丰富SERKs调控网络, 但仍有许多问题需要进一步深入研究。例如, SERKs在多个信号通路中发挥功能, 其信号又如何特异性地传递到下游? 除了SERKs以外, 是否还有其他共受体参与信号转导? SERKs参与的抗病机制是怎样的?

### 2.2 BAK1与BKK1共同介导的细胞死亡

BAK1通过与不同的受体激酶形成受体复合物, 参与多条信号转导通路的调控。一方面, 它作为BRI1的共受体调节了BR信号转导通路; 另一方面, 它还参与了植物的先天防卫反应。在研究受体激酶BAK1和BKK1参与的BR早期信号感知时发现, BAK1、BKK1

能调控不依赖于BR信号的细胞死亡<sup>[18]</sup>。研究发现, *BAK1*的完全突变体只表现出轻微的BR不敏感表型。由此推测, 可能还有*BAK1*的功能冗余蛋白一起参与信号感知与转导<sup>[19]</sup>。后续研究发现, 在无菌条件下生长的*BAK1*及其冗余基因*BKK1*完全缺失双突变体*bak1-4 bkk1-1*却发生自发性细胞死亡。利用基因芯片分析及遗传学手段研究发现, *bak1-4 bkk1-1*的细胞死亡不依赖于BR信号途径, 而依赖于光和水杨酸<sup>[20]</sup>。这些研究表明, *BAK1*、*BKK1*调控不依赖于BR的细胞死亡, 且两者对细胞死亡的调控具有冗余性, 该细胞死亡途径可能和*BAK1*介导的病原菌诱发的细胞自身免疫(pattern-triggered immunity, PTI)有关。同时, 多种遗传学以及生理生化证据表明, *BAK1*和它的同源物*BKK1*可作为*BIR1*、*FLS2*、*EFR*的共受体在植物胁迫反应中起着重要作用, 但是其分子机理目前还不甚清楚<sup>[21]</sup>。根据前人研究推测, *BAK1*、*BKK1*调控细胞死亡的可能机制是: 植物细胞在光照条件下, 叶绿体电子传递链产生大量的ROS, 一部分穿过细胞膜, *BAK1*、*BKK1*与未知受体激酶结合感知初始的ROS, 激活下游信号途径并传递至细胞核内, 诱导细胞核内编码、叶绿体中表达的ROS清除酶基因大量表达, 使细胞内的ROS控制在正常水平。当*BAK1*、*BKK1*缺失突变后, 叶绿体中产生的过量ROS不能被感知, 使细胞对过量产生的ROS失去“知觉”, 不能启动细胞内ROS清除系统。细胞内ROS的积累, 使水杨酸的水平升高, 促进水杨酸的进一步合成以及*PR*基因的表达上调, 从而导致细胞死亡。

在植物微生物相关的或病原菌相关的分子模式(microbial- or pathogen-associated molecular patterns, MAMPs or PAMPs)介导的免疫反应中, *FLS2*参与了对鞭毛蛋白N末端22个氨基酸flg22的感知, *EFR*参与对病原菌的延伸因子elf18的响应, 而*BAK1*作为共受体同时参与了这两个激酶对外界信号的感知, 调节了PAMP激活的植物先天免疫反应<sup>[22]</sup>。同时, *BAK1*还作为一个负调控因子参与*R*基因介导的抗病反应。由上述可见, 细胞的程序性死亡是受一系列基因精细调控的, 其中*BAK1*与其他受体激酶互作, 形成一个网络调控细胞免疫与死亡。但关于植物-病原微生物互作过程PCD的许多机制仍不清楚。比如除了SERKs以外, 是否还有其他共受体? 受体激酶调控植物PCD下游信号转导机制是怎样的?

*BAK1*的多功能角色是如何分配的? 解决这些问题都需要进行更加深入的科学研究。详细阐明*BAK1*调控的信号转导分子机制对于将来通过生物工程手段改良植物抗性具有重要的意义。

### 2.3 *BAK1*与*BIR1*互作介导的细胞死亡

*BIR1*编码一个胞外区有4个LRR结构域的受体激酶。同源性分析将*BIR1*归于LRR-RLK第十个亚家族。*BIR1*蛋白定位于细胞质膜上, 在拟南芥的各个组织器官和生长发育阶段都有不同程度的表达。*T-DNA*插入缺失突变体*bir1-1*表现出植株矮小和一系列与超敏反应相似的表型: SA大量积累、ROS爆发、*PR*基因表达上调、细胞死亡和抗病性增强等<sup>[23]</sup>。酵母双杂交结果显示, 在与*BON1*的互作中, *BIR1*的激酶区是必不可少的, *BIR1*的缺失突变体*bir1-1*和*bir1-2*都表现出与*bon1 bon2*和*bon1 bon3*双突变体类似的表型, 暗示*BON1*和*BIR1*之间可能存在着相互调控的机制<sup>[24-25]</sup>。*BON1*编码植物生长动态平衡和抗病性的钙依赖性相关的磷脂结合蛋白。*BON1*和*BIR1*可以被*BAK1*体外磷酸化<sup>[26]</sup>。通过图位克隆, Gao等<sup>[23]</sup>找到了一个*BIR1*的抑制子*SOBIR1*。*SOBIR1*编码一个RLK, 它的过表达可以导致细胞死亡, 证明*SOBIR1*正调控植物的抗病反应<sup>[27-29]</sup>。以上研究结果表明, *BIR1*作为植物抗病性的负调控因子起作用, *BAK1*可以与*BIR1*和*BON1*互作, 共同抑制植物的细胞死亡以及*R*基因介导的先天免疫反应。

*BIR1*在植物体内可以与*BAK1*互作共同调控植物的防卫反应, 而*BAK1*则在调控植物防卫反应中发挥了两个不同的作用。一方面, 它参与调控了*FLS2*介导的PTI; 另一方面, 它又调控*R*基因介导的植物ETI。此外, *BAK1*可以体外磷酸化*BIR1*和*BON1*。由此推断, *BAK1*可能通过磷酸化修饰*BIR1*、*BON1*来转导ETI(effector-triggered immunity)信号。但在*BON1*与*BAK1*互作过程中, *BIR1*扮演了一个什么样的角色我们无从得知, 它究竟是作为*BAK1*的一个伙伴共同激发了*BAK1*对*BON1*的磷酸化, 还是与这两个蛋白保持着独立的互作关系, 这需要通过进一步实验来验证。

### 2.4 *BAK1*与*FLS2*互作调控的细胞死亡

PAMP引发免疫反应包括植物对微生物相关分子模式(MAMP)和伤害相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMP)的识别产生的免疫反应, 是植物细胞抵御入侵病原微生物的第一道防



线。所谓MAMP, 是指广泛存在于多种微生物而在宿主体内不存在的高度保守的分子特征, 一般是微生物生存所必需的成分, 例如鞭毛蛋白、延伸因子等。植物细胞表面识别MAMP的蛋白质称为模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)。在植物中, PRRs是定位于膜上的受体激酶或受体蛋白<sup>[30]</sup>。在拟南芥中最早发现的PRR是鞭毛蛋白受体FLS2。植物中不同的PRRs受到特异MAMP的激活将产生一系列普遍的反应, 包括离子流的改变、ROS的爆发、MAPK级联信号的激活、抗病基因的表达和植保素的合成等<sup>[31]</sup>。

鞭毛是细菌的主要运动器官, 同时也是重要的致病因子, 其主要组成成分是鞭毛蛋白。鞭毛蛋白可作为PAMP因子被寄主识别, 引发植物细胞的免疫反应。研究人员通过筛选对人工合成的鞭毛蛋白flg22不敏感的拟南芥突变体, 发现了植物细胞中的鞭毛蛋白受体FLS2<sup>[32]</sup>。FLS2编码一个富含亮氨酸重复序列的受体激酶。flg22被FLS2识别后诱发早期防卫反应, 激活细胞内钙离子的瞬时升高, 产生ROS及其他信号以启动微生物防御, 例如限制细菌入侵的气孔关闭<sup>[33]</sup>。同时, 遗传及生理生化实验表明, flg22诱导的免疫反应的激活还需要受体激酶BAK1的参与, 在烟草和拟南芥的研究中都发现缺少BAK1基因的植株对flg22不敏感, 携带BAK1的植株表现出正常的鞭毛蛋白结合能力, 但是早期和晚期鞭毛蛋白触发的反应异常<sup>[33]</sup>。由此可见, BAK1在植物响应PAMP的早期信号传导过程中起正调控作用。在对第一个被解析的植物LRR模式识别受体复合物结构FLS2LRR-flg22-BAK1LRR的研究中发现, 当植物宿主细胞感受到细菌鞭毛蛋白时, 细菌鞭毛蛋白通过诱导植物细胞膜上的FLS2和BAK1异源二聚化来完成配体感应并激活下游防卫反应信号通路, 对细胞死亡进行负向调控<sup>[34-35]</sup>。

BAK1参与FLS2抗病信号转导机制进展迅速, 目前已经发现了许多与之互作的受体和下游信号分子。但是, FLS2与flg22的识别机制如何? 免疫信号转导后, FLS2如何进一步调控下游的免疫机制? 这些问题还有待进一步研究。

## 2.5 BAK1与EFR互作调控的细胞死亡

EF-Tu是在细菌内大量存在的一类蛋白质, 它在蛋白质的翻译过程中起着重要作用。EF-Tu N-端的18个氨基酸足够行使全长EF-Tu的功能。EFR

是负责识别EF-Tu并触发植物先天免疫以抵御植物病原体的质膜受体激酶<sup>[36-37]</sup>。EFR对EF-Tu识别后, 诱导植物细胞积累大量ROS和乙烯, 从而产生对病原菌的抗性。农杆菌GV3101对拟南芥的侵染依赖于EF-Tu把T-DNA整合到植物基因组中。通过对GV3101侵染突变体的效率进行检测发现, 突变体*efr*的转化效率要高于野生型, 表明EFR对EF-Tu的识别能抵抗农杆菌侵染过程<sup>[38]</sup>。

有研究发现, BAK1、BKK1作为共受体参与细菌鞭毛蛋白受体FLS2和细菌生长因子EF-Tu受体EFR调控的植物抗病反应信号转导<sup>[39]</sup>。近期研究结果表明, BAK1的第408位半胱氨酸突变成酪氨酸之后(C408Y), FLS2和EFR介导的免疫反应被严重削弱, 但这个突变并不影响BAK1对BR和细胞死亡的调控<sup>[37]</sup>。另一方面, FLS2或EFR的缺失突变体并未表现出*bak1-4 bkk1-1*的细胞死亡表型, 证明BAK1、BKK1调控的自发性细胞死亡可能与FLS2和EFR调控的抗病反应并不完全是同一条途径。BAK1、BKK1、FLS2、EFR之间相互作用转导信号的机制还需进一步研究证明。

## 2.6 BAK1与BIK1互作介导的细胞死亡

在众多参与免疫调控的信号分子中, BIK1越来越受到关注。BIK1功能对于核融合、染色体分离和有丝分裂期间的核分离是必需的, 且对细胞死亡的调控十分重要<sup>[40]</sup>。BIK1是一个多功能的RLCK, 调控植物生长发育和PTI。由于定位在细胞膜上, 推断它可能参与PRR早期的信号调控<sup>[41]</sup>。研究发现, BIK1作为FLS2和BAK1下游信号分子调控免疫信号转导。BRI1直接磷酸化BIK1以转导BR信号, BAK1能够磷酸化BIK1的酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸残基并正向调节植物免疫。BIK1分别通过BAK1和BRI1的不同磷酸化传递植物免疫信号和BR介导的发育信号<sup>[42-43]</sup>。

体内和体外互作实验研究发现, BIK1与FLS2和BAK1互作, 而且BIK1能磷酸化BAK1以及BAK1和FLS2的复合体, 同时, BIK1的磷酸化功能是通过其自身Thr237磷酸化后激发的<sup>[44]</sup>。由此推断, FLS2识别flg22后, 磷酸化的BIK1激发自身激酶活性, 之后磷酸化FLS2和BAK1。由于FLS2磷酸化活性较低, BIK1可能在FLS2和BAK1互作过程中通过与BAK1反式磷酸化作用放大免疫信号。此外, 研究还发现, BIK1磷酸化FLS2和BAK1后便不再与之结合, 而转

向免疫信号下游的调控<sup>[42]</sup>。BIK1成为BAK1下游免疫信号调控的枢纽, BIK1在PAMP感知时直接与NADPH氧化酶相互作用并磷酸化, BIK1磷酸化不依赖于钙的蛋白激酶的残基, 这些残基的磷酸化对PAMP诱导的ROS爆发和抗菌免疫至关重要<sup>[45]</sup>。但是, BIK1如何连接上游不同信号通路, 如何进行下游免疫信号转导, 还需进行深入研究。

## 2.7 其他可能与BAK1互作的受体激酶

### 2.7.1 BAK1与PEPR1、PEPR2互作介导的细胞死亡

Pep1和Pep2是拟南芥中发现的新型短肽激素, Pep可以引起活性氧的产生、细胞膜的去极化和叶片中胞质Ca<sup>2+</sup>的瞬时升高, 增强植物的应答反应, Pep起到一个正反馈信号的级联放大作用<sup>[46]</sup>。拟南芥Pep受体PEPR1、PEPR2是典型的LRR-RLK家族成员。PEPR途径在微生物识别后介导防御信号转导。在发现病原体入侵后, 植物会积累一些防御性的激素, 如乙烯、茉莉酸、水杨酸等, 还有与损伤相关的分子模式, 以扩大免疫反应<sup>[47-48]</sup>。研究发现, 拟南芥Pep1及其家族成员就是与损伤相关的分子模式, 能通过受体激酶PEPR1和PEPR2启动免疫应答<sup>[48]</sup>。生化实验表明, Pep1能诱导PEPR1LRR-BAK1LRR稳定结合, 引发类似于由病原体诱导的免疫应答<sup>[49]</sup>。PEPR1能特异性与BIK1相互作用, 介导Pep1诱导的防御机制。通过体内和体外实验, 研究人员发现, PEPR1(也可能是PEPR2)能在Pep1进行处理后产生应答, 直接磷酸化BIK1<sup>[50]</sup>。但PEPR1识别配体、参与免疫应答级联放大的机制还不清楚。

### 2.7.2 BAK1与CERK1互作介导的细胞死亡

在植物免疫机制的前期研究中, 研究人员在水稻中鉴定到了两个具有真菌几丁质与细菌肽聚糖双重识别能力的免疫受体LYP4/6, 进一步研究发现, 免疫受体激酶CERK1作为共受体参与其信号转导<sup>[51]</sup>。几丁质在拟南芥中的受体CERK1是一种LysM类型的受体激酶, 胞外含有3个串联的LysM结构域。最近有实验通过系统点突变筛查, 鉴定到拟南芥CERK1中两个影响几丁质应答的酪氨酸位点<sup>[52]</sup>。据此, 研究人员首先分析了CERK1的胞外区与几丁质五糖的复合物结构, 由此揭示了几丁质激活CERK1的机理——当植物宿主细胞感受到几丁质时, 植物细胞膜上的CERK1通过胞外LysM结构域二聚化来完成配体感应, 使其胞内结构域磷酸化并激活下游防卫反应信号通路<sup>[53]</sup>。在拟南芥中, 受体激酶BIK1直接与

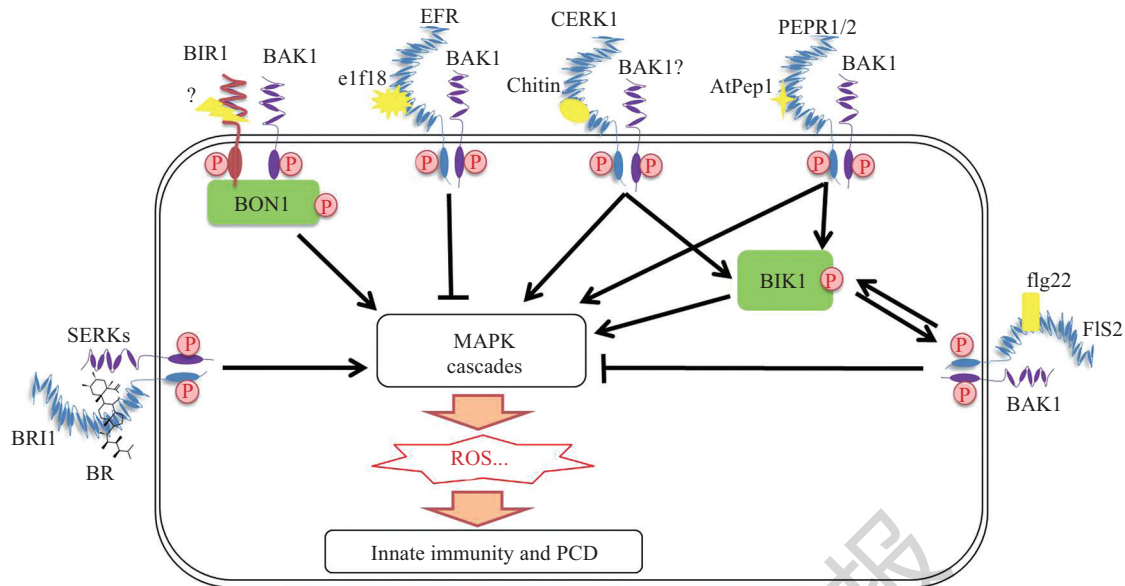
CERK1相互作用, 而在诱导条件下BIK1能与BAK1相互作用。因此, BAK1很可能在几丁质介导的免疫信号转导中也扮演重要角色。

BIK1作为PEPR1、PEPR2、CERK1下游信号转导的关键因子参与细胞死亡调控, 而BIK1又与BAK1相互作用转导免疫信号, 那么在这个调控网络中, PEPR1、PEPR2、CERK1、BIK1、BAK1相互之间如何联系? 下游的信号转导与基因转录调控机制是怎样的? 这个网络中是否还有其他受体激酶在发挥作用? 这些问题还有待进一步深入研究。

## 3 总结与展望

在植物细胞死亡信号转导中, BAK1通过与其他蛋白互作使其功能得以发挥。已鉴定与BAK1直接互作的蛋白有BRI1、BON1、BIRs、FLS2、EFR、PEPR1/2、BIK1、CERK1等。其中, BAK1、BKK1、属于LRR-RLK第二亚家族; BRI1、BIR1属于LRR-RLKs第十个亚家族。最近有研究表明, BAK1和BIR3的双缺失突变体也会引起细胞死亡, BIRs家族的4个成员均可与BAK1互作<sup>[54]</sup>; BON1属于Copine蛋白家族, 可以被BAK1磷酸化, 也可以与BIR1互作调控植物免疫反应; FLS2、EFR属于LRR-RLK第十二亚家族, 可通过直接磷酸化BAK1转导胞外免疫信号, 且这两个受体激酶对细胞死亡进行负向调控; PEPR1/2属于LRR-RLK第十一亚家族; BIK1是没有胞外域结构的胞质受体激酶, 它被分类在RLK超分支内; CERK1是一种LysM类型的受体激酶。FLS2、PEPR1/2、CERK1能磷酸化BIK1, 也可直接与BAK1互作转导胞外免疫信号, 诱导MAPK级联反应, 调控程序性细胞死亡相关基因的表达。各组分之间也存在相互磷酸化作用, 形成一个以BAK1为核心的调控网络, 在植物的生长发育、抗病抗逆等方面发挥重要作用(图1)。

自BAK1磷酸化位点的鉴定开始, 研究人员试图从受体-复合物相互磷酸化方面来研究其互作机理, 并进一步揭示BAK1参与的信号转导分子机理。免疫信号的转导可能与不同的模式识别受体自身磷酸化位点有关, 也可能与其下游互作的信号分子有关, BAK1如何实现差异磷酸化来特异调控不同信号通路还需要深入研究。近年来, LRR-RLK家族中不断有新成员被发现与BAK1互作调控细胞死亡, 该受体激酶家族成员功能的不断发现为研究BAK1调控



BAK1作为共受体,与受体激酶BR11、FLS2、EFR结合,形成二聚体,共同感知胞外配体;BIR1接受外界未知信号并能与BAK1结合,并磷酸化BON1;BAK1也可直接磷酸化BIK1;PEPRI/2、CERK1、FLS2可磷酸化BIK1传递胞外信号,也与BAK1存在互作。以BAK1为核心的信号转导网络将信号传递到下游,诱导MAPK级联反应,引起胞内ROS爆发、水杨酸积累等,最终导致细胞程序性死亡。

Once BR11, FLS2 and EFR bind to the ligands, they interact with BAK1 to form a dimer to sense extracellular signals. BIR1 binds to BAK1 after receiving signals from the extracellular environment, and phosphorylates BON1. BAK1 can directly phosphorylate BIK1. PEPRI/2, CERK, FLS2 can phosphorylate BIK1 to transmit extracellular signals, and they may also interact with BAK1 to sense survival signals. The signal transduction network based on BAK1 transmits downstream signaling factors, and then triggers MAPK cascades, induces intracellular ROS burst, salicylic acid accumulation, and finally leads to programmed cell death eventually.

图1 BAK1介导的细胞死亡信号通路

Fig.1 BAK1-mediated cell-death signaling pathway

机制拓宽了研究思路。

有关植物细胞程序性死亡相关基因及其互作机制是目前的研究热点,并取得了许多突破性进展,从分子生物学和遗传学角度揭示了病害侵染机制和植物的防御机理,对抗病品种选育具有重要的应用价值。弄清BAK1调控植物生长发育、先天免疫及细胞死亡等方面的分子机理有利于进一步了解BAK1基因功能,也有利于通过模式植物拟南芥BAK1的研究了解水稻、小麦等主要粮食作物同源基因的功能。对BAK1的深入研究为运用生物工程技术改良作物奠定了坚实的理论基础。相信在未来的研究中,借助更加高效的研究手段与科学技术,以BAK1为核心的细胞死亡调控网络会得到更加详细的解析。

### 参考文献 (References)

- 1 刘驰,关和新,周瑞阳.植物细胞程序性死亡研究进展.基因组学与应用生物学(Liu Chi, Guan Hexin, Zhou Ruiyang. Update on programmed cell death in plants. Genomics and Applied Biology) 2007; 26(4): 356-60.
- 2 李杰,朱碧岩,张铭光.植物发育过程中的细胞程序性死亡.植

物学报(Li Jie, Zhu Biyan, Zhang Mingguang. Developmental programmed cell death in plants. Chinese Bulletin of Botany) 2005; 22: 22-8.

- 3 孔琼,杨红玉,王云月,霍达,胡海林,刘振华,等.植物与病原物互作中的细胞程序化死亡.植物保护(Kong Qiong, Yang Hongyu, Wang Yunyue, Huo Da, Hu Hailin, Liu Zhenhua, et al. Programmed cell death of trachearyelements as a paradigm in plants. Plant Protection) 2012; 38(6): 1-6.
- 4 李云霞,程晓霞,代小梅.植物在逆境胁迫中的细胞程序性死亡.生物技术通报(Li Yunxia, Chen Xiaoxia, Dai Xiaomei. Study on programmed cell death of plants in environmental stress. Biotechnology Bulletin) 2009; 4: 7-11.
- 5 夏启中,吴家和,张献龙.与植物超敏反应(HR)相关的细胞编程性死亡.华中农业大学学报(Xia Qizhong, Wu Jiahe, Zhang Xianlong. Programmed cell death associated with plant hypersensitivity (HR). Journal of Huazhong Agricultural University) 2005; 24(1): 97-103.
- 6 林久生,王根轩.活性氧与植物细胞编程性死亡.植物生理学报(Lin Jiusheng, Wang Genxuan. Reactive oxygen species and programmed cell death in plant cells. Plant Physiology Journal) 2001; 37(6): 551-5.
- 7 Sanchez-Pons N, Vicent CM. Identification of a type I  $Ca^{2+}$ /Mg $^{2+}$ -dependent endonuclease induced in maize cells exposed to camptothecin. BMC Plant Biol 2013; 13: 186.
- 8 Greenberg JT, Yao N. The role and regulation of programmed cell death in plant pathogen interactions. Cell Microbiol 2010; 6(3): 201-11.



- 9 Shiu SH, Bleecker AB. Receptor-like kinases from *Arabidopsis* form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(19): 10763-8.
- 10 张兆沛, 王志伟, 张慧蓉. 植物类受体蛋白激酶研究概况. 山西农业科学(Zhang Zhaopei, Wang Zhiwei, Zhang Huirong. Research advance in receptor-like protein kinases of plants. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*) 2009; 37(8): 75-8.
- 11 Li J, Wen J, Lease KA, Doke JT, Tax FE, Walker JC. BAK1, an *Arabidopsis* LRR receptor-like protein kinase, interacts with BRI1 and modulates brassinosteroid signaling. *Cell* 2002; 110(2): 213-22.
- 12 Shi YL, Zhang R, Lin Q, Guo SD. Biological function of the Somatic embryogenesis receptor-like kinases in plant. *Hereditas* 2012; 34(5): 551-9.
- 13 Gou X, Yin H, He K, Du J, Yi J, Xu S. Genetic evidence for an indispensable role of somatic embryogenesis receptor kinases in brassinosteroid signaling. *PLoS Genet* 2012; 8(1): e1002452.
- 14 Li J. Multi-tasking of somatic embryogenesis receptor-like protein kinases. *Curr Opin Plant Biol* 2010; 13(5): 509-14.
- 15 卫卓赞, 黎家. SERKs, 拟南芥中一组参与多条细胞信号传导途径的共受体. 中国科学(Wei Zhuoyun, Li Jia. SERKs, shared co-receptors in multiple cell signaling pathways in *Arabidopsis*. *Sci Sin Vitae*) 2017; 47(8): 789-97.
- 16 Wang XF, Goshe MB, Soderblom EJ. Identification and functional analysis of in vivo phosphorylation sites of the *Arabidopsis* BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE1 receptor kinase. *Plant Cell* 2005; 17(6): 1685-703.
- 17 Wang XF, Kota U, He K. Sequential transphosphorylation of the BRI1/BAK1 receptor kinase complex impacts early events in brassinosteroid signaling. *Dev Cell* 2008; 15(2): 220-35.
- 18 Rong T, Yong Y, Xiaofeng W. Research progress on BAK1 of a receptor kinase. *Acta Bot Boreal Occident Sin* 2014; 34(3): 636-44.
- 19 Nam KH, Li J. BRI1/BAK1, a receptor kinase pair mediating brassinosteroid signaling. *Cell* 2002; 110(2): 203-12.
- 20 He K. BAK1 and BKK1 regulate brassinosteroid-dependent growth and brassinosteroid-independent cell-death pathways. *Curr Biol* 2007; 17(13): 1109-15.
- 21 Roux M, Schwessinger B, Albrecht C, Chinchilla D, Jones A, Holton N, 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. *Plant Cell* 2011; 23(6): 2440-55.
- 22 Heese A, Hann, DR, Gimenezibanez S, Jones AM, He K, Li J, et al. The receptor-like kinase SERK3/BAK1 is a central regulator of innate immunity in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(29): 12217-22.
- 23 Gao M, Wang X, Wang D, Xu F, Ding X, Zhang Z, et al. Regulation of cell death and innate immunity by two receptor-like kinases in *Arabidopsis*. *Cell Host Microbe* 2009; 6(1): 34-44.
- 24 Li Y, Pennington BO, Hua J. Multiple R-like genes are negatively regulated by BON1 and BON3 in *Arabidopsis*. *Mol Plant Microbe Interact* 2009; 22(7): 840-8.
- 25 Li Y, Gou M, Sun Q, Hua J. Requirement of calcium binding, myristoylation, and protein-protein interaction for the Copine BON1 function in *Arabidopsis*. *J Biol Chem* 2010; 285(39): 29884-91.
- 26 Wang Z, Meng P, Zhang X, Ren D, Yang S. BON1 interacts with the protein kinases BIR1 and BAK1 in modulation of temperature-dependent plant growth and cell death in *Arabidopsis*. *Plant J* 2011; 67(6): 1081-93.
- 27 Bi G, Liebrand TW, Cordewener JH, America AH, Xu X, Joosten MH. *Arabidopsis thaliana* receptor-like protein At RLP23 associates with the receptor-like kinase At SOBIR1. *Plant Signal Behav* 2014; 9(2): e27937.
- 28 Albert I, Bohm H, Albert M, Feiler CE, Imkamp J, Wallmeroth N, et al. An RLP23-SOBIR1-BAK1 complex mediates NLP-triggered immunity. *Nat Plants* 2015; 1(10): 15140.
- 29 Liu Y, Huang X, Li M, He P, Zhang Y. Loss-of-function of *Arabidopsis* receptor-like kinase BIR1 activates cell death and defense responses mediated by BAK1 and SOBIR1. *New Phytol* 2016; 212(3): 637-45.
- 30 Scuffi D, Nietzel T, Di Fino L, Meyer AJ, Lamattina L, Schwarzländer M, et al. Hydrogen sulfide increases production of NADPH oxidase-dependent hydrogen peroxide and phospholipase D-derived phosphatidic acid in guard cell signaling. *Plant Physiol* 2018; 176(3): 2532-42.
- 31 孙铁峰. MAPK信号在植物免疫过程中对气孔开关的调控(硕士学位论文). 浙江大学(Sun Tiefeng. Regulating of stomatal opening and closure by a MAPK cascade in plant immunity. Zhejiang University), 2015.
- 32 Dunning FM, Sun W, Jansen KL, Helft L, Bent AF. Identification and mutational analysis of *Arabidopsis* FLS2 leucine-rich repeat domain residues that contribute to flagellin perception. *Plant Cell* 2007; 19(10): 3297-313.
- 33 Li L, Li M, Yu L, Zhou Z, Liang X, Liu Z, et al. The FLS2-associated kinase BIK1 directly phosphorylates the NADPH oxidase RbohD to control plant immunity. *Cell Host Microbe* 2014; 15(3): 329-38.
- 34 Sun Y, Li L, Macho AP, Han Z, Hu Z, Zipfel C, et al. Structural basis for flg22-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science* 2013; 342(6158): 624-8.
- 35 Koller T, Bent AF. FLS2-BAK1 extracellular domain interaction sites required for defense signaling activation. *PLoS One* 2014; 9(10): e111185.
- 36 Von NN, Survila M, Aalto M, Batoux M, Heino P, Palva ET, et al. Requirement of a homolog of glucosidase II beta-subunit for EFR-mediated defense signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant* 2010; 3(4): 740-50.
- 37 Albert M, Georg F. Chimeric receptors of the pattern recognition receptors EFR and FLS2. *Plant Signal Behav* 2010; 5(11): 1430-2.
- 38 Zipfel C, Kunze G, Chinchilla D, Caniard A, Jones JD, Boller T, et al. Perception of the bacterial PAMP EF-Tu by the receptor EFR restricts agrobacterium-mediated transformation. *Cell* 2006; 125(4): 749-60.
- 39 Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, Kemmerling B, Nurnberger T, Jones JD, et al. A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature* 2007; 448(7152): 497-500.
- 40 Berlin V, Styles CA, Fink GR. BIK1, a protein required for microtubule function during mating and mitosis in *Saccharomyces cerevisiae*, colocalizes with tubulin. *J Cell Biol* 1990; 111(6): 2573-86.
- 41 Eckardt NA. BIK1 Function in plant growth and defense signaling. *Plant Cell* 2011; 23(8): 2806.
- 42 Lin W, Li B, Lu D, Chen S, Zhu N, He P, et al. Tyrosine phosphorylation of protein kinase complex BAK1/BIK1 mediates

- Arabidopsis* innate immunity. Proc Natl Acad Sci USA 2014; 111(9): 3632-7.
- 43 Lin W, Lu D, Gao X, Jiang S, Ma X, Wang Z, *et al.* Inverse modulation of plant immune and brassinosteroid signaling pathways by the receptor-like cytoplasmic kinase BIK1. Proc Natl Acad Sci USA 2013; 110(29): 12114-9.
- 44 Liu J, Chen S, Chen L, Zhou Q, Wang M, Feng D, *et al.* BIK1 cooperates with BAK1 to regulate constitutive immunity and cell death in *Arabidopsis*. J Integr Plant Biol 2017; 59(4): 234-9.
- 45 Kadota Y, Sklenar J, Derbyshire P, Stransfeld L, Asai S, Ntoukakis V, *et al.* Direct regulation of the NADPH oxidase RBOHD by the PRR-associated kinase BIK1 during plant immunity. Mol Cell 2014; 54(1): 43-55.
- 46 Krol E, Mentzel T, Chinchilla D, Boller T, Felix G, Kemmerling B, *et al.* Perception of the *Arabidopsis* danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor AtPEPR1 and its close homologue AtPEPR2. J Biol Chem 2010; 285(18): 13471-9.
- 47 Klauser D, Desurmont GA, Glauser G, Vallat A, Flury P, Boller T, *et al.* The *Arabidopsis* pep-pepr system is induced by herbivore feeding and contributes to JA-mediated plant defence against herbivory. J Exp Bot 2015; 66(17): 5327-36.
- 48 Ross A, Yamada K, Hiruma K, Yamashita-Yamada M, Lu X, Takano Y, *et al.* The *Arabidopsis* PEPR pathway couples local and systemic plant immunity. EMBO J 2014; 33(1): 62-75.
- 49 Tang J, Han Z, Sun Y, Zhang H, Gong X, Chai J. Structural basis for recognition of an endogenous peptide by the plant receptor kinase PEPR1. Cell Res 2015; 25(1): 110-20.
- 50 Liu Z, Wu Y, Yang F, Zhang Y, Chen S, Xie Q, *et al.* BIK1 interacts with PEPRs to mediate ethylene-induced immunity. Proc Natl Acad Sci USA 2013; 110(15): 6205-10.
- 51 Liu T, Liu Z, Song C, Hu Y, Han Z, She J, *et al.* Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor. Science 2012; 336(6085): 1160-4.
- 52 Petutschnig EK, Jones AM, Serazetdinova L, Lipka U, Lipka V. The lysin motif receptor-like kinase (LysM-RLK) CERK1 is a major chitin-binding protein in *Arabidopsis thaliana* and subject to chitin-induced phosphorylation. J Biol Chem 2010; 285(37): 28902-11.
- 53 Miya A, Albert P, Shinya T, Desaki Y, Ichimura K, Shirasu K, *et al.* CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104(49): 19613-8.
- 54 Imkamp J, Halter T, Huang S. The *Arabidopsis* leucine-rich repeat receptor kinase BIR3 negatively regulates BAK1 receptor complex formation and stabilizes BAK1. Plant Cell 2017; 29(9): 2285-303.