

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学号: 21720091152201

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

具有 NB-ARC 结构域的 OsPDRH9N 蛋白质
功能鉴定及其在逆境响应中的表达分析

Functional Identification and Expression Analysis in Stress

Responses of a NB-ARC Domain Containing Protein

OsPDRH9N

赵婷婷

指导教师姓名: 陈亮 教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2012 年 月 日

论文答辩时间: 2012 年 月 日

学位授予日期: 2012 年 月 日

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2012 年 6 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目录	
摘要.....	I
缩略词.....	V
第 1 章 前言	1
1.1. 植物免疫	1
1.1.1. 植物免疫反应的研究历史.....	1
1.1.2. 水稻先天性免疫反应.....	3
1.1.3. 水稻细菌性条斑病.....	12
1.2. 研究目的与意义	14
第 2 章 材料与方法	15
2.1. 实验材料	15
2.1.1. 生物材料.....	15
2.1.2. 主要试剂及耗材.....	15
2.1.3. 主要仪器.....	16
2.1.4. 常用试剂的配置.....	17
2.2. 实验方法	23
2.2.1. DNA、mRNA 水平检测相关实验方法	23
2.2.2. Southern Blot 实验方法	27
2.2.3. 转基因植株插入位点侧翼序列分析.....	29
2.2.4. 转基因植株纯合、杂合性鉴定.....	32
2.2.5. 水稻细菌性条斑病病原菌侵染水稻植株.....	33
2.2.6. 防御信号化合物处理水稻植株.....	34
2.2.7. 原核表达载体的构建、融合蛋白的表达及多克隆抗体的制备.....	34
第 3 章 实验结果	42
3.1. OsPDRH9N 生物信息学分析	42
3.1.1. <i>OsPDRH9N</i> 基因的核苷酸序列分析.....	42
3.1.2. <i>OsPDRH9N</i> 蛋白质的氨基酸序列分析.....	42

3.1.3. NBS-LRR 类蛋白质的聚类分析.....	44
3.1.4. NB-ARC 结构域的氨基酸序列分析	45
3.1.5. <i>OsPDRH9N</i> 基因在水稻各组织中的表达分析.....	48
3.1.6. <i>OsPDRH9N</i> 基因上游启动子区域顺式作用元件预测.....	49
3.2. 转基因水稻植株分析	50
3.2.1. <i>OsPDRH9N</i> 超量表达植株 DNA 水平鉴定	50
3.2.2. <i>OsPDRH9N</i> 超量表达 T ₀ 代植株 mRNA 水平鉴定.....	51
3.2.3. <i>OsPDRH9N</i> 转基因水稻植株的 Southern Blot 分析	51
3.2.4. <i>OsPDRH9N</i> 转基因水稻植株的插入位点分析.....	52
3.2.5. <i>OsPDRH9N</i> 转基因水稻植株的纯合体鉴定.....	55
3.3. 细菌性条斑病对 <i>OsPDRH9N</i> 超量表达转基因植株的影响分析	56
3.3.1. <i>OsPDRH9N</i> 超量表达 T ₁ 代转基因植株 mRNA 水平鉴定.....	56
3.3.2. 水稻植株接种细菌性条斑病后的表型分析.....	58
3.3.3. 野生型水稻植株接种 <i>Xoc</i> 前后防御相关基因的相对表达量	59
3.3.4. 转基因水稻植株接种 <i>Xoc</i> 前后防御相关基因的相对表达量	61
3.4. 防御信号化合物对 <i>OsPDRH9N</i> 的影响分析.....	64
3.4.1. 防御信号化合物对 <i>OsPDRH9N</i> 基因表达量的影响.....	64
3.4.2. 脱落酸对 <i>OsPDRH9N</i> 超量表达水稻幼苗早期生长速率的影响.....	66
3.5. <i>OsPDRH9N</i> 蛋白多克隆抗体制备及其 ATP 酶活性的初步测定	68
3.5.1. 蛋白质抗原表位预测.....	68
3.5.2. 原核表达载体的构建.....	68
3.5.3. 融合蛋白的诱导表达与分离纯化.....	70
3.5.4. 多克隆抗体的制备与检测.....	73
3.5.5. GST- <i>OsPDRH9N</i> ₁₆₉₋₄₅₃ 融合蛋白 ATP 酶活性的初步测定	76
第 4 章 分析与讨论	77
第 5 章 结论与展望	82
参考文献	84
致谢.....	91

Contents

ABSTRACT.....	III
ABBREVIATIONS	V
CHAPTER 1 INTRODUCTION.....	1
PLANT IMMUNITY	1
History of plant immunity research	1
Rice innate immunity	3
Bacterial leaf streak disease	12
AIM AND SIGNIFICANCE OF THIS WORK.....	14
CHAPTER 2 MATERIALS AND METHODS.....	15
EXPERIMENTAL MATERIALS	15
Biological materials	15
Reagents and consumables	15
Apparatus	16
Preparation of common reagents	17
EXPERIMENTAL METHODS.....	23
DNA and mRNA detection methods.....	23
Southern Blot protocol.....	27
Flanking sequences analysis of GMO plants	29
Homozygote identification of GMO plants	32
Rice pathogen inoculation with <i>Xoc</i>	33
Rice seedlings treated with defense-signal compounds.....	34
Preparation of polyantibodies	34
CHAPTER 3 RESULTS	42
BIOINFORMATIC ANALYSIS OF OsPDRH9N.....	42
Nucleic acid sequence analysis of <i>OsPDRH9N</i>	42
Amino acid sequence analysis of OsPDRH9N	42
Phylogenetic analysis of NBS-LRR class proteins.....	44

Amino acid sequence analysis of NB-ARC domain.....	45
Tissue-specific expression pattern of <i>OsPDRH9N</i>	48
Predication of <i>cis</i> -regulatory elements in <i>OsPDRH9N</i> upstream sequence	49
ANALYSIS OF TRANSGENIC PLANTS	50
DNA identification of transgenic plants	50
mRNA identification of T ₀ -generation transgenic plants.....	51
Southern Blot analysis of <i>OsPDRH9N</i> over-expression plants	51
Insertional site analysis of <i>OsPDRH9N</i> over-expression plants.....	52
Homozygous identification of <i>OsPDRH9N</i> over-expression plants.....	55
EFFECTS OF <i>XOC</i> ON <i>OsPDRH9N</i> OVER-EXPRESSION PLANTS.....	56
mRNA identification of T ₁ -generation transgenic plants.....	56
Rice phenotype analysis after <i>Xoc</i> inoculation	58
Expression profile of defense-related genes in wild type plants.....	59
Expression profile of defense-related genes in GMO plants inoculated with <i>Xoc</i>	61
EFFECTS OF DEFENCE-RELATED COMPOUNDS ON <i>OsPDRH9N</i>.....	64
Effects of defense-related signal compounds on <i>OsPDRH9N</i> gene expression	64
Effect of ABA on seedling growth rate of <i>OsPDRH9N</i> over-expression rice plants....	66
PREPARATION OF POLYCLONAL ANTIBODIES AND DETECTION OF	
<i>OsPDRH9N</i> PROTEIN'S ATPASE ACTIVITY	68
Prediction of protein antigenic sites.....	68
Construction of prokaryotic expression vector	68
Induced expression and purification of fusion protein	70
Preparation and detection of polyantibody	73
Preliminary Detection of GST- <i>OsPDRH9N</i> ₁₆₉₋₄₅₃ Protein's ATPase Activity.....	76
CHAPTER 4 ANALYSIS AND DISCUSSION	77
CHAPTER 5 CONCLUSION AND OUTLOOK	82
REFERENCES.....	84
ACKNOWLEDGEMENTS	91

摘要

水稻细菌性条斑病是由水稻黄单胞杆菌条斑致病变种 *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzicola* (*Xoc*) 侵染引起的细菌性病害, 简称细条病, 是亚洲和非洲地区水稻生产的重要病害。抗病相关基因的发掘不仅有利于农作物产量的提高, 而且是植物与微生物互作基础研究的一个重要课题。

本课题组前期通过水稻细菌性条斑病差异蛋白质组学分析, 分离出一个拟抗病蛋白 *OsPDRH9N*, 并通过反向遗传学的方法获得了超量表达 *OsPDRH9N* 基因的转基因植株。生物信息学分析显示 *OsPDRH9N* 蛋白是一个包含 NB-ARC 保守结构域的 NBS-LRR 类蛋白质, 该类蛋白质在动物体的细胞凋亡、植物体的超敏反应中发挥重要的作用; *OsPDRH9N* 可能响应光调控、生物以及非生物胁迫。为了进一步研究 *OsPDRH9N* 的生物学功能, 鉴定其参与的生理过程, 本论文开展了以下几个方面的研究, 主要结果如下:

通过 Southern Blot、侧翼序列扩增技术分析转基因植株的拷贝数和插入位点, 结果表明, T_2 代转基因植株中有 1 株纯合、单拷贝且超量表达 *OsPDRH9N* 基因的植株, 外源基因插入位点为水稻第二号染色体 *LOC_Os02g44380.2* 基因的第十个内含子。

荧光定量 PCR 数据表明, 正常生长条件下, *OsPDRH9N* 基因的超量表达上调水杨酸合成关键基因 *CHS*, 茉莉酸合成关键基因 *AOS*, 以及病程相关基因 *PR1a*、*PR1b2* 和 *PR1#12* 的表达, 说明 *OsPDRH9N* 参与了 SA、JA 和抗病信号途径。水稻细菌性条斑病病原菌侵染的条件下, *OsPDRH9N* 基因的超量表达没有引起病斑表型的明显变化, 但在 mRNA 水平上, 水杨酸合成关键基因 *CHS*、*ICS* 和 *NPR1*, 茉莉酸合成关键基因 *AOS* 以及病程相关基因 *PR1a* 的表达均被 *Xoc* 上调, 说明转基因植株对 *Xoc* 的侵染更具敏感性。

OsPDRH9N 基因的逆境表达谱分析表明, *OsPDRH9N* 受各种防御信号化合物不同程度的诱导表达, 脱落酸快速上调 *OsPDRH9N* 基因的表达, 而水杨酸和双氧水快速地抑制 *OsPDRH9N* 基因的表达。对 T_1 代超量表达 *OsPDRH9N* 基因的转基因植株外施脱落酸, 发现相比于野生型, 转基因植株的种子萌发和侧根生长不受脱落酸的抑制。

通过构建 OsPDRH9N 蛋白质第 169 至 453 位氨基酸的原核表达载体，体外表达并且纯化 GST-OsPDRH9N₁₆₉₋₄₅₃ 融合蛋白，以此蛋白作为生产检测水稻 OsPDRH9N 蛋白质的多克隆抗体和体外初步检测 ATP 酶活性的材料。结果表明，所得的多克隆抗体能够特异性的检测水稻内源 OsPDRH9N 蛋白，此外，GST-OsPDRH9N₁₆₉₋₄₅₃ 融合蛋白还显示了微弱的 ATP 酶活性。

综上，OsPDRH9N 基因超量表达转基因植株对 *Xoc* 的侵染更具敏感性，OsPDRH9N 可能参与 ABA 信号、光信号调控系统，OsPDRH9N 蛋白质可能具有 ATP 酶活性。

关键词：水稻细菌性条斑病；OsPDRH9N；NBS-LRR；NB-ARC结构域；脱落酸；多克隆抗体；ATP酶。

Abstract

Rice (*Oryza sativa*) bacterial leaf streak (BLS) disease is a major disease that impact rice production in much of Asia and parts of Africa, which is caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzicola* (Xoc). The isolation of resistance gene is not only important for crop yields, but also a basic research issue in plant-microbe interaction.

OsPDRH9N is a putative disease resistance protein which has been detected from rice genome based on the study of differentially expressed proteins in response to bacterial leaf streak (BLS). Previous studies have obtained the transgenic plants over-expressing *OsPDRH9N* gene by reverse genetic method. Bioinformatics analysis indicated that OsPDRH9N is a NB-ARC conservative domain-containing protein which belongs to the NBS-LRR class. This type of proteins plays important roles in apoptosis of animal cells and hypersensitive responses of plant cells, respectively. It was also shown that OsPDRH9N might response to light, biotic and abiotic stresses. In order to study its biological functions and identify its physiological pathways in depth, the following research aspects were carried out in this thesis and results were as follows:

Gene copy numbers and insertional sites of the transgenic plants were analyzed using Southern Bolt and Flanking Sequences Retrieval methods respectively. We then obtained a homozygous overexpression transgenic plant with only one copy number of external *OsPDRH9N* gene. This gene was inserted into the tenth intron of *LOC_Os02g44380.2* gene in the second chromosome of Rice genome.

Quantitative RT-PCR (qRT-PCR) assays showed that the expression of patterns of salicylic acid biosynthesis-related gene *CHS*, jasmonic acid biosynthesis-related gene *AOS*, pathogen-related genes *PR1a*, *PR1b2* and *PR1#12* were up-regulated in *OsPDRH9N* over-expression plants without any external challenge. This indicates that *OsPDRH9N* gene participates in SA, JA and plant immunity pathways. Although there is no observable susceptibility change in *OsPDRH9N* over-expression plants

after inoculation with *Xoc*, the expression patterns of some marker genes were greatly changed, these genes including salicylic acid biosynthesis-related genes *CHS*, *ICS* and *NPRI*, jasmonic acid biosynthesis-related gene *AOS*, and pathogen-related gene *PR1a*, indicating that transgenic plants were more susceptible to *Xoc* infection.

The stress expression profile *OsPDRH9N* gene indicated that it can be regulated by several types of defense-related signal compounds in different degrees, for example in abscisic acid treatment, its expression level was up-regulated rapidly, while it was quickly down-regulated by salicylic acid and hydrogen peroxide treatments. Then, T₀ generation plants over-expressing *OsPDRH9N* gene were treated with abscisic acid, we found that compared with wild type plants, transgenic seeds' germination rate and root branching did not repressed by abscisic acid.

The GST-*OsPDRH9N*₁₆₉₋₄₅₃ fusion protein was expressed and purified in vitro through prokaryotic expression plasmids with *OsPDRH9N* protein's 169 to 453 amino acid sequences. And the fusion protein was used as antigen for polyclonal antibody production and materials for ATPase activity preliminary detection. The results indicated that the obtained polyclonal antibodies could specifically detect rice source *OsPDRH9N* proteins, besides, GST-*OsPDRH9N*₁₆₉₋₄₅₃ fusion protein showed weak ATPase activity in vitro.

All in all, transgenic plants over-expressing *OsPDRH9N* are more susceptible to *Xoc* infection, *OsPDRH9N* might participate in the regulation of ABA signals and light signals, whatsmore, *OsPDRH9N* protein might have ATPase activity.

Key words: Rice bacterial leaf streak disease; *OsPDRH9N*; NBS-LRR; NB-ARC domain; abscisic acid; polyclonal antibody; ATPase activity.

缩略词

缩写与英文名称	中文名称
ABA (Abscisic acid)	脱落酸
ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid)	1-氨基环丙烷-1-羧酸
ATP (Adenosine Triphosphate)	三磷酸腺苷
BSA (bovine serum albumin)	牛血清白蛋白
CTAB (cetyltriethylammonium bromide)	十六烷基三甲基溴化铵
DTT (dethiothreitol)	二硫苏糖醇
EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid)	乙二胺四乙酸
ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)	酶联免疫吸附测定法
GA (Gibberellin)	赤霉素
GST (glutathione S-transferase)	谷胱甘肽-S-转移酶
His (Histidine)	组氨酸
HRP (horseradish peroxidase)	辣根过氧化物酶
Hyg (hygromycin B)	潮霉素 B
JA (Jasmonic acid)	茉莉酸
MeJA (Methyl jasmonate)	茉莉酸甲酯
PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis)	聚丙烯酰胺凝胶电泳
PCR (Polymerase chain reaction)	聚合酶链式反应
qRT-PCR (Quantitative Real time PCR)	实时荧光定量 PCR
RT-PCR (Reverse transcriptase-PCR)	反转录聚合酶链式反应
SA (Salicylic acid)	水杨酸
SDS (sodium dodecyl sulfate)	十二烷基磺酸钠
<i>Xoc</i> (<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>Oryzicola</i>)	水稻细菌性条斑病病原菌
<i>Xoo</i> (<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>Oryzae</i>)	水稻白叶枯病病原菌

第1章 前言

1.1. 植物免疫

1.1.1. 植物免疫反应的研究历史

早在 20 世纪, Harold Flor 就通过遗传学的实验手段证明了植物对病原菌免疫作用的可遗传性, 同时指出, 病原菌对植物的致病性是由植物和病原菌中所对应的基因对控制的(Flor, 1942)^[1]。植物中的这类遗传因子被称作 *R* 基因(resistance gene), 而决定病原菌致病能力的遗传因子被称作 *Avr* 基因(avirulence gene)。起初认为, 抗病植物所具有的特征是: 植物体内能够合成可以特异性地识别病原菌致病因子的 *R* 蛋白, 而病原菌可以合成相应的 *Avr* 蛋白。而且, 这种基因对基因的抗病反应(gene-for-gene resistance)是由 *R* 蛋白与 *Avr* 蛋白的直接作用而引发的, 即配体与受体相互作用(ligand-receptor interaction)(Keen, 1990)^[2]。然而, 与预期相悖的各种实验结果导致了另一种假说的提出, 也就是防卫假说(guard hypothesis)(Van der Biezen and Jones, 1998)^[3]。该假说指出, 植物的抗病反应不仅仅是由 *R* 蛋白对 *Avr* 蛋白的单一识别引起的, 它还需要植物体内其它蛋白的协作, 才能激发抗病反应。病原菌产生的各类病原菌分子都具有致病能力(virulence), 而且它们靶向不同的宿主成分, *R* 蛋白正是通过协调各个宿主成分而调控植物免疫反应的(Chisholm et al., 2006; Jones and Dangl, 2006)^{[4][5]}。因此, 起初所认为的病原菌分子-无毒致病因子(avirulence factors)实际上是广义的致病因子(virulence factors)。现在, 效应子(effector)一词通常被用来描述病原菌所产生的各类致病或者非致病因子。(Bent and Mackey, 2007; Boller and Felix, 2009)^{[6][7]}。

与此同时, 另外一种诱发因子(inducers)所引起的植物防卫反应的研究也在进行着。这种防卫反应区别于上述防卫反应的典型特征是: 不具有株系特异性(race or cultivar specificity)(Ebel and Cosio, 1994)^[8], 这些非生理小种专化的防卫反应诱发因子被称作引发子(elicitors)。由效应子(effectors)所引发的植株抗病反应是由某一株系的植株对某一生理小种的病原菌所产生的特异抗性, 但是, 引发子(elicitors)却可以和很多种不同类型的病原菌分子发生相互作用(Boller,

1995)^[9]。至此，基因对基因抗性与引发子 (elicitors) 诱导的防卫反应之间的关系是什么？引发子 (elicitors) 引起的防卫反应是否在生理上与植物免疫反应相关？围绕这些问题展开了很长一段时间的争论。2000 年，第一个引发子 (elicitors) 受体 FLS2 被鉴定 (Gomez-Gmez and Boller, 2000)^[10]，随后，FLS2 被证实参与植物免疫反应 (Zipfel et al., 2004)^[11]，并且，微生物效应子 (effectors) 对这种类型的免疫反应具有抑制作用 (Hauck et al., 2003)^[12]，证明了这两种类型的防卫反应同时对植物免疫做出贡献。

2006 年，Jones and Dangl 提出一种之字模型^[5]，如图 1.1，用来描述植物与病原菌相互作用过程中发生的免疫反应。这一模型指出：植物主动防卫反应的第一步是通过位于细胞膜上的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 识别病原菌相关的分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)^[7]，从而激发第一道免疫反应，这种反应被称作病原菌相关的分子模式诱发的免疫反应 (PTI)。PAMPs 是一类组成微生物结构与功能的高度保守的分子物质，一般情况下，PTI 反应可以有效地拦截这种入侵，然而还是有一些微生物分子逃脱了这种防卫监控，引起植物感病反应。能够引起植物致病反应的病原菌通过 III 型分泌系统直接将效应子注入宿主细胞质，抑制 PTI 反应，导致由效应子 (effector) 诱发的感病反应。植物体在细胞质中进化出一种能够特异性地识别某一效应物分子 (effector) 的 R 蛋白来对抗这种入侵，这类 R 蛋白大多具有核苷酸结合位点的亮氨酸重复序列 (NBS-LRR)，从而激活效应子诱发的免疫反应 (ETI)，即第二道免疫反应。一般来说，能够诱发 ETI 反应的病原菌具有种属特异性，并且常常伴随着超敏反应 (hypersensitive response, HR) 以及宿主植株的系统获得性抗性 (systemic acquired resistance, SAR)。在选择压的作用下，病原物通过进化丢失或者改变效应子 (effectors) 的结构来逃避 R 蛋白的识别，从而进一步抑制 ETI 反应。反之，植物则进化出可以识别新的入侵分子的受体，从而再次引发 ETI 反应。这种共进化的模式就是之字模式。

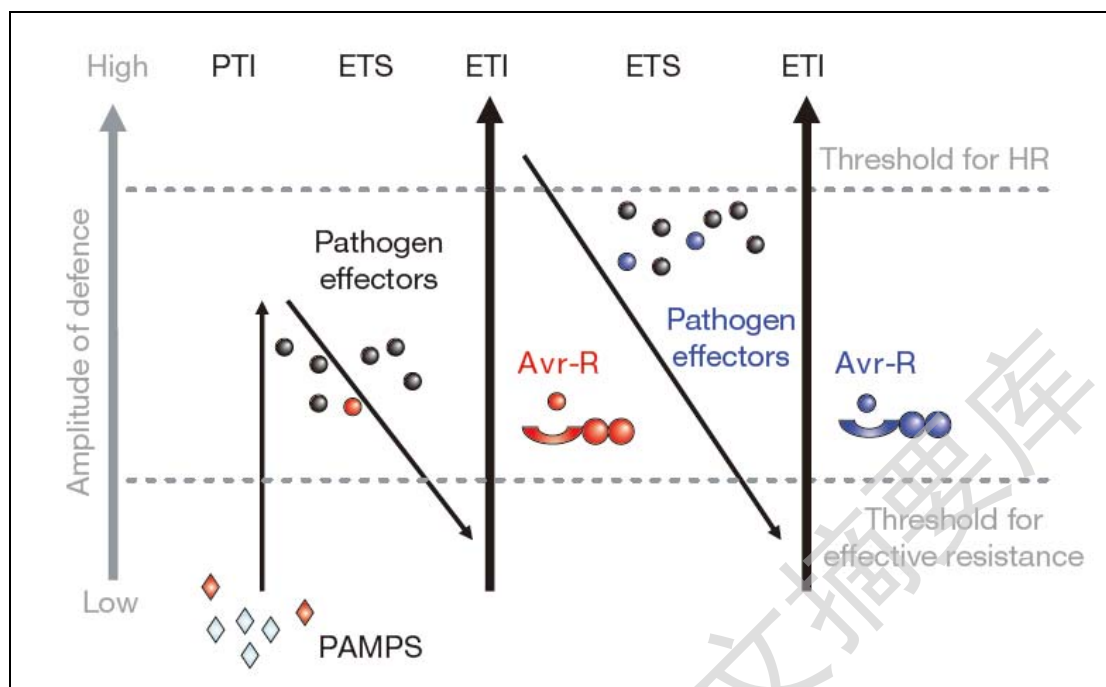


图 1.1: 植物免疫系统之字模型^[5]

Fig. 1.1: A zigzag model illustrates the quantitative output of the plant immune system.

第一阶段：植物识别 PAMPs，并通过 PRRs 引发 PTI 反应；第二阶段：成功入侵的病原菌分子释放 effector 干扰 PTI 反应；最终导致 effector 诱发的感病反应（effector-triggered susceptibility, ETS）；第三阶段：一个 effector 被 NB-LRR 蛋白识别，激活 ETI 反应；第四阶段：病原菌进化出可以抑制 ETI 反应的新的 effector，植物体则进化出新的 NB-LRR alleles 引发新的 ETI 反应^[5]。

至此，之前提出的引发子（elicitors）被重新命名为 PAMPs，而无毒致病因子（avirulence factors）被命名为效应子（effectors）。PAMPs 与 PRRs 相互作用诱发植物体的第一道免疫反应 PTI，而 effectors 参与 R 蛋白调控诱发植物体的第二道免疫反应 ETI^{[5][6][13]}。然而，近年来越来越多的研究发现，这种单纯的 PTI 和 ETI 二分法并不能解释植物体内发生的复杂的免疫反应^[14]。

1.1.2. 水稻先天性免疫反应

水稻(*Oryza sativa*) 不仅是养活全世界将近一半人口的重要农产品，还是研究单子叶植物的模式生物。抗病株系的应用可以减少 10%-15%的粮食减产，因

此，水稻固有免疫反应（innate immunity）的研究不仅有助于植物逆境胁迫应答机理的解析，还有利于提高粮食作物的产量^[15]。

如前所述，水稻体内的第一类免疫反应也是由 PAMPs 引发的 PTI 反应，PAMPs 是一类在病原菌的不同株系、种属之间保守的分子物质，并且是病原菌存活和致病必不可少的分子物质。因此，保守结构域突变的菌株通常会丧失致病能力^[16]。水稻体内的第二类免疫反应是由 effector 引发的 ETI 反应，病原菌分子的 effector 在各个株系之间高度变异，因此，和 PTI 相比，ETI 激发的免疫反应特异性更高但是持久性更差^[17]。第三类免疫系统是依赖于水杨酸（salicylic acid）信号分子的系统获得性抗性（SAR），这种抗性体系有别于上述两种天然免疫体系（innate immunity），它属于适应性免疫反应（adaptive immunity），可以抵抗广谱病原菌，并且为植物提供长久的保护^[18]。

1.1.2.1. PAMP 引发的免疫反应

植物通过受体激酶识别微生物分子物质，包括脂多糖（lipopolysaccharides, LPS），多肽（peptides），几丁质(chitin)，双链 RNA，小分子 DNA 等^{[19] [20]}。被识别的微生物保守分子包括硫酸化的 Ax21, chitin, flagellin, 和 LPS, 这些分子物质可以在水稻体内诱发免疫反应^{[20] [21][22][23]}。

(1) Ax21–XA21 介导的免疫反应

水稻 *Xa21* 基因对白叶枯病菌 *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* (*Xoo*) 不同株系具有广谱抗性^[24]。*Xa21* 编码一个携带 LRRs (leucine-rich repeats) 胞外结构域的受体激酶，它包含一段跨膜结构域 TM (transmembrane)，一段近膜结构域 JM (juxtamembrane) 以及胞内 non-RD 激酶结构域^[25] (表 1.1)。RD (arginine-aspartate) 激酶带有一个保守的精氨酸，而 non-RD 激酶常常带有半胱氨酸或甘氨酸^[25]。

non-RD 结构域是参与动植物体内早期免疫反应的激酶所具有的标志性结构域^[25]。在动物体内，识别微生物保守分子的受体被分为 TLR (Toll-like receptor) 类和 NLR (Nod-like receptor) 类，这两类受体均是通过 non-RD 激酶激活体内的免疫反应的^{[25][26]}。植物体内，拟南芥 (*Arabidopsis*) 的 FLS2^[10] 和 EFR^[27] 受体，水稻的 XA21^[25]、XA3/XA26^{[28][29]}、Pid2^[30]，四倍体小麦 Yr36^[31]，大麦 Rpg1^[32]

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库