



模式识别受体的胞内转运及其在植物免疫中的作用

崔亚宁, 钱虹萍, 赵艳霞, 李晓娟*

北京林业大学生物科学与技术学院, 北京林业大学高精尖创新中心, 北京 100083

摘要 植物利用细胞表面模式识别受体(PRRs)来感知病原相关分子模式(PAMPs), 进而触发自身的免疫反应(PTI)。在植物免疫过程中, PRRs在细胞内的正确定位对其生理功能的发挥至关重要。PRRs蛋白可以在内质网(ER)上合成, 并通过胞吐被分泌到质膜(PM)上。此外, PRRs蛋白也可以通过胞吞进行胞内循环或降解。细胞可以通过胞内转运降解PRRs蛋白以终止信号转导, 也可以通过形成胞内体进行信号传递。该文概述了PRRs蛋白及其配体的研究进展以及PRRs蛋白的胞内转运在植物免疫中的重要作用。

关键词 模式识别受体(PRRs), 病原相关分子模式(PAMPs), 胞内转运, 病原相关分子模式触发的免疫(PTI), 植物免疫

崔亚宁, 钱虹萍, 赵艳霞, 李晓娟 (2020). 模式识别受体的胞内转运及其在植物免疫中的作用. 植物学报 55, 329–339.

植物在整个生活史中时刻面临着细菌、真菌和病毒等各种病原微生物的侵害。在与病原微生物对抗的过程中, 植物逐渐形成了一套免疫机制, 以保证其完成正常的生长发育过程。与高等脊椎动物的天然免疫和获得性免疫相比, 植物只具备先天免疫反应, 由感染部位产生的系统信号来抵抗病原微生物的入侵。植物先天免疫又分为病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)触发的免疫(PAMP-triggered immunity, PTI)和病原物效应蛋白触发的免疫(effector-triggered immunity, ETI) (Zipfel and Oldroyd, 2017; Liang and Zhou, 2018)。PAMP引发的防卫反应通常被称为基础抗性, 它可以使植物具有抵抗大多数病原菌侵染的基本抗病能力。通常情况下, 当病原微生物停留在植物细胞的质外体上时, 细胞表面的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)会对病原微生物相关分子模式进行识别, 最终触发植物模式识别受体进行胞内转运, 进而激发植物的防御反应, 使植物产生抗病性(季东超等, 2015; Boutrot and Zipfel, 2017)。模式识别受体在植物防卫信号转导过程中扮演着重要角色, 目前研究较多的有鞭毛敏感蛋白(flagllin sensitive 2, FLS2)、延伸因子受体(elongation factor Tu receptor, EFR)、几丁

质受体(chitin elicitor receptor kinase 1, CERK1)、木聚糖酶受体(ethylene-inducing xylanase, EIX)及内源激发多肽PEP受体(peptide receptor, PEPR) (Yamaguchi et al., 2010; Hayafune et al., 2014; Lori et al., 2015)等。近年来, 植物模式识别受体的胞内转运及抗病分子机制研究取得了一系列进展。本文主要综述模式识别受体的胞内转运及其在免疫反应中的作用。

1 模式识别受体的概况

1.1 病原相关分子模式

许多病原菌或潜在病菌普遍具有PAMPs, 在进化上比较保守。一般情况下, 植物识别PAMPs并激活免疫反应是抵抗病原微生物的第一道屏障, 是植物基础抗病性的最主要体现。这类抗病反应一般具有相对广谱、稳定和持久的特点。目前已经发现的植物PAMPs包括细菌鞭毛蛋白、细菌延伸因子、真菌几丁质多糖、真菌木聚糖酶以及内源激发多肽等(图1) (Delmotte et al., 2009; Zipfel and Robatzek, 2010)。

1.1.1 细菌鞭毛蛋白和延伸因子

细菌鞭毛蛋白是目前研究得最为清楚的激活植物PTI

收稿日期: 2019-07-28; 接受日期: 2020-02-26

基金项目: 国家自然科学基金(No.31622005)和北京林业大学优秀青年人才培育项目(No.2019JQ03003)

* 通讯作者。E-mail: lixj@bjfu.edu.cn

免疫的PAMP,它是细菌运动性器官的主要成分(Couto and Zipfel, 2016)。植物鞭毛蛋白N端含有22个氨基酸组成的保守区域(flgl22),这一区域可以代替鞭毛蛋白的完整序列,并能诱导植物发生免疫反应(Hohmann et al., 2017; Liang et al., 2018)。用flgl22处理非宿主植物会引起强烈的防御响应,表明flgl22是一种广谱性的PAMPs,可作用于大部分植物。

延伸因子Tu (EF-Tu)是细菌体内含量最高的一种蛋白质。研究表明,EF-Tu与鞭毛蛋白相似,是一种非常保守的蛋白。在细菌中,EF-Tu蛋白的主要作用是参与mRNA的翻译。研究表明,将EF-Tu蛋白应用于拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)及其它十字花科植物上,能诱导类似flgl22的防御反应(Carrasco et al., 2015)。

1.1.2 几丁质和EIX

几丁质又称壳多糖,由多聚N-乙酰-D-氨基葡萄糖组成,是真菌细胞壁的主要成分,然而这类物质却不存在于植物细胞中。因此,当植物受到病原真菌感染时,细胞的几丁质酶能够将几丁质降解为几丁质片段,进而降低入侵病菌的致病力。同时,降解几丁质所产生的壳寡糖(chitin oligosaccharide)能够作为激发子(elicitor)触发植物的防御反应(Bozsoki et al., 2017)。

EIX是从绿色木霉菌(*Trichoderma aviride*)中分离出来的一种木聚糖酶(Sharfman et al., 2011)。对番茄(*Lycopersicon esculentum*)和烟草(*Nicotiana tabacum*)的研究表明,EIX能够引发植物的过敏反应(hypersensitive response, HR),如乙烯的合成、病原相关基因的表达以及细胞的程序性死亡(Guigón-López et al., 2014; Leibman-Markus et al., 2017)。

Furman-Matarasso等(1999)发现,对于病原菌侵染宿主植物来说,木聚糖酶激发子的活性是必需的;而从宿主植物的防御反应来看,植物识别木聚糖酶激发子并不依赖于其木聚糖酶的活性。

1.1.3 分泌肽PEP

Huffaker等(2006)在拟南芥悬浮细胞中发现了能够诱发细胞快速碱化的多肽AtPEP1,并证实它是1个含有23个氨基酸的肽段。AtPEP1由蛋白前体proPEP1产生。研究表明,proPEP1由92个氨基酸残基组成,并且在拟南芥中有8个成员。当植物受到病原菌侵染或因机械刺激而导致细胞损伤时,AtPEP1被释放到胞外,并与细胞表面受体PEPR1和PEPR2相结合,最终触发一系列防卫反应(Huffaker et al., 2006)。将这种病原菌侵染植物时,因伤害释放内源多肽或者自身的细胞壁降解分子,统称为伤害相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)。DAMPs可以作为危险信号激活免疫反应。

1.2 模式识别受体

目前,已证实的PRRs均是类受体蛋白激酶,具有高度灵敏性和专一性(Couto and Zipfel, 2016)。PRRs作为识别病原菌PAMPs的膜受体,是植物类受体激酶(receptor-like kinase, RLK)和类受体蛋白(receptor-like proteins, RLPs)的家庭成员,通常由胞外结构域、跨膜结构域和胞内结构域3部分组成。其胞外域可以被配体识别,而胞内域作为1个信号激酶结构域或1个短的胞内域与胞内信号组分互作,进而激活下游的免疫反应(Couto and Zipfel, 2016)(图1)。根据不同病原菌的感知可以将PRRs分为以下3种。

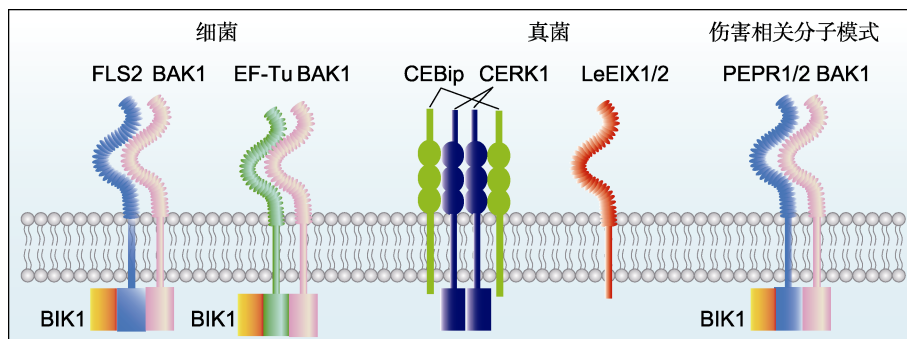


图1 植物模式识别受体及其信号分子

Figure 1 Plant pattern recognition receptors and their signaling adaptors

1.2.1 感知细菌的PRRs

目前研究得较为清楚的是拟南芥中富含亮氨酸重复序列的类受体激酶(leucine-rich repeat receptor kinases, LRR-RKs) FLS2, 它是识别细菌鞭毛蛋白的PRRs (Bücherl et al., 2017)。FLS2能够特异性识别鞭毛蛋白N端高度保守的22个氨基酸(flag22) (Liang et al., 2016), 进而诱发一系列防卫反应, 如气孔关闭、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)级联反应激活、钙依赖型蛋白激酶的激活、抗性基因的转录激活、钙离子与活性氧(reactive oxygen species, ROS)爆发以及胼胝质沉积, 最终限制细菌的生长(Schulze et al., 2010; Schwesinger et al., 2011; Bi et al., 2018)。FLS2在烟草、番茄、水稻(*Oryza sativa*)和葡萄(*Vitis vinifera*)等多种植物中都具有同源蛋白, 它们均能够识别与flag22相似结构的多肽。由此表明, FLS2对鞭毛蛋白的识别在植物进化中非常保守。

另一个研究较多的PRRs是EFR。EFR是细菌转录延伸因子EF-Tu的受体, 与FLS2同属于LRR亚家族(Kunze et al., 2004)。EF-Tu N端由18个氨基酸组成乙酰化修饰的多肽elf18, 能够引发类似于flag22诱导的免疫反应, 包括细胞质碱化、活性氧爆发、植物生长抑制、丝裂原活化蛋白激酶活性以及乙烯合成(Schoonbeek et al., 2015)。一个有趣的现象是, 虽然烟草并不感知EF-Tu, 但在烟草中瞬时表达AtEFR基因后, AtEFR能够与elf18结合并产生相应的免疫应答, 表明EFR的下游信号转导成分在不同植物中可能是保守的(Zipfel et al., 2006)。

1.2.2 识别真菌的PRRs

水稻几丁质激发子结合蛋白(chitin elicitor binding protein of *Oryza sativa*, OsCEBiP)是首个被鉴定的真菌几丁质触发子结合的多糖受体, 其胞外具有2个LysM结构域和1个跨膜域, 属于类受体蛋白家族(Kaku et al., 2006)。几丁质的结合可以诱导CEBiP形成受体复合体, 进而导致蛋白磷酸化, 激活下游免疫反应(Liu et al., 2012)。研究表明, 敲除该基因后, 几丁质诱导的活性氧爆发、MAPKs激活和病原相关基因表达等免疫反应受到抑制(Akamatsu et al., 2013)。随后, 拟南芥中几丁质受体也很快被鉴定出来, 命名为CERK1, 该蛋白具有典型的受体激酶结构, 包括3

个胞外LysM结构域、1个跨膜域及1个胞内激酶域(Miya et al., 2007)。对其进行敲除后, 植物几乎丧失了几丁质触发的所有反应, 包括活性氧爆发、MAPKs级联反应启动以及防御基因的表达等, 从而使植物对病原真菌的免疫力大幅降低(Zipfel and Oldroyd, 2017)。

另一个真菌识别受体是番茄LeEIX1/2。该受体蛋白是类受体蛋白RLPs, 能够结合乙烯诱导的木聚糖酶。研究发现LeEIX1和LeEIX2能够分别与EIX相结合, 且当LeEIX2的胞吞基序Yxx ϕ 突变时, EIX引发的HR也会消失, 表明胞吞在EIX引发的免疫反应中起重要作用(Sharfman et al., 2011)。

1.2.3 识别内源肽的PRRs

PEPRs是一种能够识别PEP1及家族肽的受体, 同时也能被机械伤害、MeJA和flag22等诱导表达(Yamaguchi et al., 2010)。PEPRs一旦被激活, 将引发一系列防卫反应。例如, 胞质钙浓度升高, FDF-1.2、MPK3和WRKY33等相关防御基因表达, MAPKs级联反应启动。PEPRs可以发生胞吞, 网格蛋白(clathrin)在其胞吞过程中发挥重要作用(Ortiz-Morea et al., 2016)。

1.3 PAMP激活的免疫反应

模式识别受体PRRs识别PAMPs分子后, 在短时间内可诱导植物多种防卫反应的发生, 其中包括早期防御反应和晚期防御反应(Boller and Felix, 2009; Boudsocq et al., 2010; Segonzac et al., 2011) (图2)。早期的防御反应在5分钟之内发生, 并伴随细胞质碱化、活性氧爆发、钙离子流的产生、MAPKs和钙依赖的蛋白激酶激活(calcium-dependent protein kinases, CDPKs) (Boller and Felix, 2009; Yeh et al., 2015; Wyrsh et al., 2015)等多种反应。晚期的防御反应在几小时内被诱导, 包括防御基因如PR1 (*pathogenesis-related 1*)的上调、防御激素水杨酸(salicylic acid, SA)的上调以及胼胝质的沉积等(Boller and Felix, 2009)。有些情况下, 植物晚期的防御事件可能导致在侵染位点产生程序性细胞死亡(Hann and Rathjen, 2007); 同时, 可能会有大量防御基因上调、乙烯产生、气孔关闭以及细胞骨架重组等(Melotto et al., 2006; Faulkner et al., 2013; Henty-Ridilla et al., 2013)。但是, 这些防御事件是如

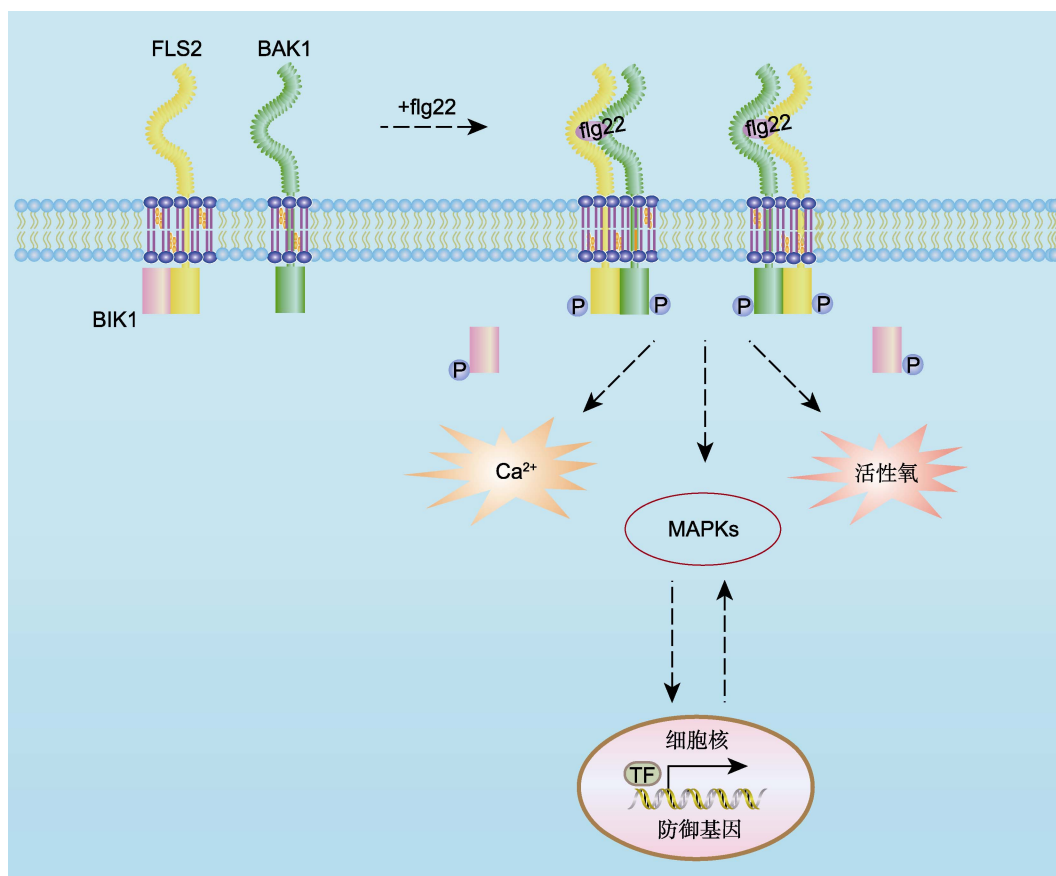


图2 以FLS2为例图示细胞表面防卫反应

Figure 2 A model of FLS2-mediated defense at the cell surface

何正向或负向调控以及如何响应这些免疫反应尚不明晰。

2 模式识别受体的胞内转运

植物感受病原菌的入侵后, 会激活多种防卫反应。研究表明, PRRs 家族成员在细胞内的分布是可变的, 而这种改变可能影响 PAMP 识别、PRRs 含量和防卫反应的激活(Mithoe et al., 2016)。定位在质膜上的 PRRs 可以通过蛋白的胞内转运来调控对病原物的感知和防卫。FLS2 作为最典型的免疫受体, 在细胞中的定位和胞内转运备受关注。

2.1 模式识别受体的分泌

在植物免疫过程中, PRRs 蛋白在内质网上合成后, 通过高尔基体(Golgi apparatus)和反面高尔基体(trans-Golgi network, TGN)加工修饰, 加工完成的蛋

白通过胞吐囊泡的形式被运送到质膜上(图3)。PRRs 成员携带一类典型的N端膜定位信号肽, 新合成的 PRRs 蛋白在该信号肽的引导下, 经上述分泌途径最终到达质膜(Ben Khaled et al., 2015)。

PRRs 蛋白运输到质膜的过程受到精密调控。研究显示, 内质网定位的内质网蛋白(如RTN1/2)参与内质网小管的形成和囊泡的转运(Sparkes et al., 2010; Ben Khaled et al., 2015), 当RTN1/2缺失或突变时, FLS2 蛋白从内质网到高尔基体的分泌过程被阻断, 导致FLS2在内质网中积累(Ben Khaled et al., 2015)。另有研究表明, RAB (Ras超家族中成员最多的小GTP酶家族)家族成员能够调节囊泡运输, 进而影响 PRRs 蛋白的分泌。当在烟草中共表达 FLS2-GFP 和显性抑制RabA1b (DN-RabA1b)时, 发现FLS2在质膜的定位减少, 同时在胞质中出现大量 FLS2 的荧光信号, 表明RabA1b对于FLS2从早期内

涵体转运到质膜是必需的(Choi et al., 2013)。

2.2 模式识别受体的亚细胞定位

最新研究表明, PRRs蛋白不仅存在于质膜上, 在一些特殊的成分中也有发现。胞间连丝是连接2个原生质体的胞质丝, 它可以贯穿2个相邻植物细胞的细胞壁(Faulkner et al., 2013), 并通过调控分子流量来响应细胞间的特异性反应(Epel, 1994)。在植物体的免疫反应中, 当受到病原菌刺激后, 细胞之间便可以通过胞间连丝来交流, 进而激活防御系统来调控植物免疫(Faulkner et al., 2013)。

此外, FLS2已被证明存在于抗去垢剂膜(detergent-resistant membrane, DRM)组分中, 而且在flg22的刺激下, FLS2在DRM中的含量增加(Keinath et al., 2010)。同时, 在活细胞中FLS2的侧向位移等动态特征与质膜固醇密切相关(Cui et al., 2018)。此

外, Jarsch等(2014)发现flg22可以诱导质膜微区相关的膜筏蛋白(remorin)发生不同程度的磷酸化。上述研究表明, 膜筏微区可能是植物抗病信号转导的平台。

2.3 模式识别受体的胞吞

研究表明, 根据其是否激活FLS2, 胞吞被划分为组成型胞吞和诱导型胞吞(Cui et al., 2018)。非激活状态的FLS2通过BFA (brefeldin A)敏感的方式胞吞, 且不需要BAK1的参与, 该方式被称为组成型胞吞。当用flg22处理时, FLS2可以在短时间内发生胞吞, 并且在flg22处理1小时后胞吞量达到最大, 此时FLS2的胞吞是通过一条BFA不敏感的途径, 但需要BAK1的参与, 这种方式被称为诱导型胞吞(Beck et al., 2012b; Yeh et al., 2016)。通过与胞吞标记蛋白共定位的方法进一步证明, 当用flg22处理拟南芥幼苗时, FLS2-GFP产生的胞吞小泡主要存在于多泡

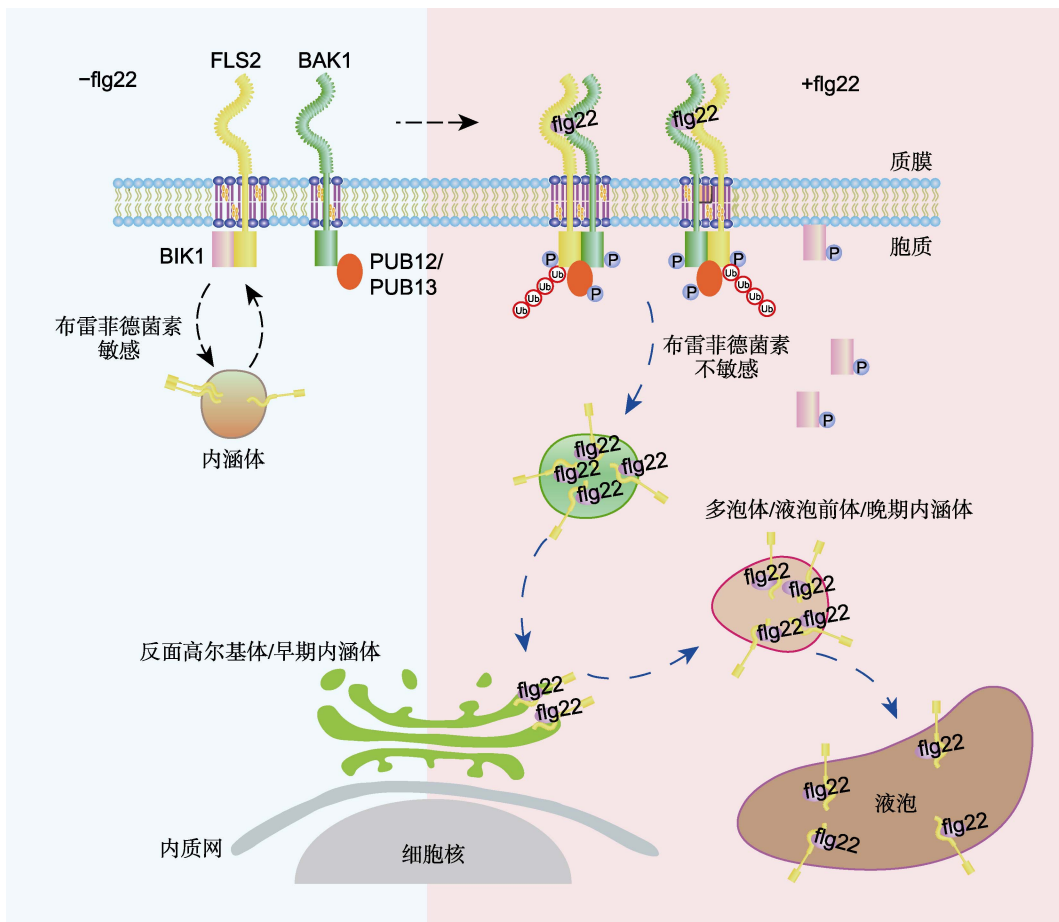


图3 FLS2蛋白胞吞转运模式

Figure 3 Schematic overview of FLS2 endocytosis

体(multivesicular body, MVB)和液泡(vacuoles)中(图3)(Ortiz-Morea et al., 2016)。对烟草的研究也表明, FLS2的胞吞小泡主要与ARA7/RabF2b和VAMP727有显著的共定位, 而ARA7/RabF2b和VAMP727分别是晚期内涵体和液泡的标记蛋白, 这表明大部分胞吞小泡最后会到达液泡中降解(Beck et al., 2012b)。因此, 根据FLS2是否被激活, FLS2可以被划分为BFA敏感的胞吞途径和BFA不敏感的胞吞途径(图3)。然而, FLS2的胞吞途径对免疫的贡献尚不明确。

细胞内蛋白的降解主要通过2条途径, 即自噬和泛素蛋白酶体系统。在对植物细胞的研究中, 蛋白的泛素化降解一直备受关注。泛素(ubiquitin)是一种存在于大多数真核细胞中的小蛋白, 由76个氨基酸组成, 在真核生物中具有高度保守性, 它的主要功能是标记需要分解的蛋白质, 使其被水解。质膜蛋白的泛素化不仅能够通过内吞体分选转运复合体(ESCRT)机制促进蛋白降解, 还能够诱导蛋白胞吞。例如, 在拟南芥原生质体的H⁺-ATPase上加上泛素分子, 便可以使H⁺-ATPase胞吞到细胞质内进行降解(Herberth et al., 2012)。拟南芥的BOR1在高硼环境下, 特殊赖氨酸残基的单泛素化以及去泛素化是降解囊泡转运所必需的(Kasai et al., 2011)。拟南芥IRT1蛋白胞质赖氨酸残基的单泛素化能够诱导该蛋白的胞吞以及促进其降解囊泡的转运(Barberon et al., 2011)。生长素转运蛋白PIN2是ESCRT的货物蛋白(Spitzer et al., 2009), 同样也是泛素化蛋白(Abas et al., 2006)。

与通道蛋白相似, 植物受体蛋白(特别是FLS2蛋白)通过胞吞囊泡进入细胞后也会被部分降解。已有报道显示, flg22的刺激会导致FLS2蛋白的降解, 这一过程与FLS2的多聚泛素化相关(Lu et al., 2011; Wang et al., 2018)。PUB12和PUB13是植物的2个E3连接酶, 它们通过BAK1被招募到FLS2受体上, 被磷酸化后介导FLS2的泛素化(Lu et al., 2011)。关于FLS2蛋白最终是通过蛋白酶体降解还是囊泡转运降解目前仍存在争议。有观点认为, MG132(蛋白酶体抑制剂)处理可以引起细胞泛素分子的消耗, 进而抑制flg22诱导的FLS2胞吞(Robatzek et al., 2006), 并通过FLS2类PEST基序突变, 使FLS2丧失响应flg22发生胞吞的能力, 进一步研究表明FLS2发生泛素化后通过蛋白酶体途径进行降解(Lu et al., 2011), 然而蛋白酶体降解跨膜蛋白的机制还不清楚。也有研究表明,

活化的FLS2通过ESCRT分选后进入后期的胞吞循环途径, 这一过程需要泛素PUB12/PUB13连接酶去识别货物分子FLS2, 并将其泛素化, 最终到液泡中进行降解。渥曼青霉素(wortmannin, Wm)抑制flg22诱导的FLS2胞吞和降解研究结果也证实了这一观点(Beck et al., 2012b; Smith et al., 2014)。

3 模式识别受体的胞内转运在植物免疫中的作用

3.1 模式识别受体的分泌对植物免疫的作用

真核生物中, 蛋白质的合成极其复杂, 很多分泌蛋白和膜蛋白都需要进入内质网进行正确折叠和修饰之后, 才能被转运到细胞质膜上发挥作用(Sitia and Braakman, 2003)。一旦内质网的功能受到影响, 将直接导致蛋白的合成受阻(Vitale and Boston, 2008)。研究表明, 植物PRR蛋白的分泌与免疫密切相关, 内质网在PRR蛋白分泌过程中起重要作用。Lee等(2011)指出, 内质网分泌相关蛋白RTNLB1和RTNLB2突变后, 能显著降低flg22和elf18诱导的防御反应, 进而增强植物的感病能力(图4)。另有研究表明, 定位于内质网上的热激蛋白ERdj3B和基质衍生因子SDF2(stromal-derived factor-2)功能缺失时, 会导致EFR蛋白在内质网上的积累减少, 进而EFR分泌量减少使植物对elf18不敏感, 最终造成植物的抗病性减弱(Beck et al., 2012a)(图4)。Chen等(2010)在水稻中也发现, 内质网的分子伴侣Hsp90能够与CERK1相互作用, 调控CERK1的合成, 进而提高植物的抗病性(图4)。因此, 模式识别受体的分泌对植物抗病具有重要意义。

3.2 模式识别受体的胞吞在植物免疫中的作用

胞吞作用在细胞的生长发育和信号转导等方面具有重要作用。近年来的研究表明, 模式识别受体的胞吞在其免疫过程中发挥重要作用。研究表明, 当敲除网格蛋白重链基因时, 能显著抑制flg22诱导的FLS2胞吞小泡的产生, 并且抑制气孔关闭, 进而降低植物对细菌侵染的防御能力(Mbengue et al., 2016)。Robatzek等(2006)对拟南芥FLS2^{P1076A}-GFP点突变材料进行研究, 发现flg22处理不能诱导FLS2^{P1076A}-GFP胞吞; 对其表型的研究显示, 点突变材料的根长

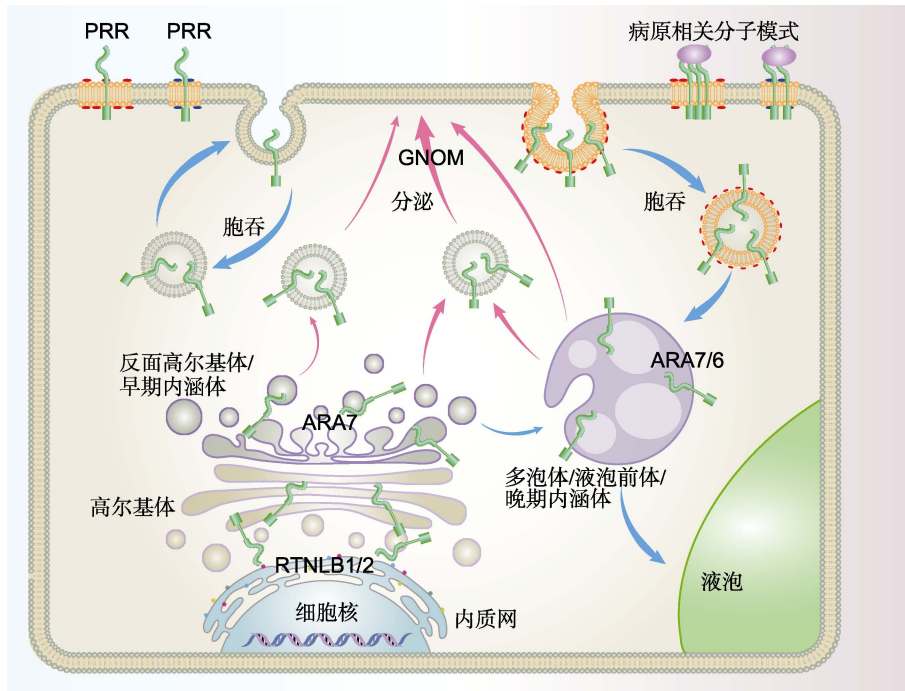


图4 模式识别受体(PRRs)蛋白分泌途径

Figure 4 Pattern recognition receptors (PRRs) trafficking in the endomembrane system

不能被flg22抑制。这一结果表明FLS2的胞吞在植物免疫中发挥一定的作用。最新研究表明,膜筏也参与FLS2的胞吞,当膜筏的组成物质固醇发生突变时,flg22诱导的FLS2胞吞被显著抑制,且固醇突变体也显著影响flg22诱导的信号传递(Cui et al., 2018)。另有研究表明,网格蛋白重链基因突变能严重影响pep1诱导的PEPR1的胞吞和植株生长(Ortiz-Morea et al., 2016)。综上所述,配体诱导的模式识别受体的胞吞与植物的免疫反应有密切联系。

4 研究展望

随着对植物先天免疫反应研究的不断深入,细胞对病原菌的识别和感知成为细胞生物学领域的热点,越来越多关于植物对抗病原菌的机制被揭示。在植物抗病过程中,模式识别受体的合成至关重要,同时可能还伴随着胞吞的发生,这些过程对植物抗病具有积极的生理作用。深入研究植物的抗病机制将为植物病害防治提供新的思路。虽然目前已经对植物抗病信号转导途径进行了大量的研究,但有很多问题仍不清楚。例如,模式识别受体即抗病基因进化保守性的功能和意

义;植物防卫反应过程中信号转导和胞吞的调控关系;多条胞吞途径参与抗病蛋白胞吞的意义。相信随着对模式识别受体结构及功能的解析,有望在不久的将来阐明这些问题,并为植物抗病机理的研究以及植物基因工程技术的应用提供新思路。

近年来,对模式识别受体活性的研究大多采用生化分析方法,尽管这些结果有助于揭示蛋白的结构和信号传递等分子机制,但由于生化手段获得的是集群的平均值(ensemble averaging),而且取材时间跨度比较大,加之存在实验蛋白浓度远高于材料蛋白本底浓度,在体外复杂生理环境下,蛋白实时动态特征往往无法得到精确体现。因此,为了进一步阐明模式识别受体蛋白的功能和胞吞转运,需要借助新的研究手段和方法解析植物与病原菌相互作用的多维关系。

参考文献

季东超, 宋凯, 邢晶晶, 陈彤, 田世平 (2015). LysM蛋白介导植物免疫防卫反应及其信号激发的研究进展. 植物学报 50, 628-636.
Abas L, Benjamins R, Malenica N, Paciorek T, Wiñnie-

- wska J, Moulinier-Anzola JC, Sieberer T, Friml J, Luschnig C** (2006). Intracellular trafficking and proteolysis of the *Arabidopsis* auxin-efflux facilitator PIN2 are involved in root gravitropism. *Nat Cell Biol* **8**, 249–256.
- Akamatsu A, Wong HL, Fujiwara M, Okuda J, Nishide K, Uno K, Imai K, Umemura K, Kawasaki T, Kawano Y, Shimamoto K** (2013). An OsCEBiP/OsCERK1-OsRacGEF1-OsRac1 module is an essential early component of chitin-induced rice immunity. *Cell Host Microbe* **13**, 465–476.
- Barberon M, Zelazny E, Robert S, Conejero G, Curie C, Friml J, Vert G** (2011). Monoubiquitin-dependent endocytosis of the IRON-REGULATED TRANSPORTER 1 (IRT1) transporter controls iron uptake in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* **108**, E450–E458.
- Beck M, Heard W, Mbengue M, Robatzek S** (2012a). The INs and OUTs of pattern recognition receptors at the cell surface. *Curr Opin Plant Biol* **15**, 367–374.
- Beck M, Zhou J, Faulkner C, MacLean D, Robatzek S** (2012b). Spatio-temporal cellular dynamics of the *Arabidopsis* flagellin receptor reveal activation status-dependent endosomal sorting. *Plant Cell* **24**, 4205–4219.
- Ben Khaled S, Postma J, Robatzek S** (2015). A moving view: subcellular trafficking processes in pattern recognition receptor-triggered plant immunity. *Annu Rev Phytopathol* **53**, 379–402.
- Bi GZ, Zhou ZY, Wang WB, Li L, Rao SF, Wu Y, Zhang XJ, Menke FLH, Chen S, Zhou JM** (2018). Receptor-like cytoplasmic kinases directly link diverse pattern recognition receptors to the activation of mitogen-activated protein kinase cascades in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **30**, 1543–1561.
- Boller T, Felix G** (2009). A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu Rev Plant Biol* **60**, 379–406.
- Boudsocq M, Willmann MR, McCormack M, Lee H, Shan LB, He P, Bush J, Cheng SH, Sheen J** (2010). Differential innate immune signaling via Ca²⁺ sensor protein kinases. *Nature* **464**, 418–422.
- Boutrot F, Zipfel C** (2017). Function, discovery, and exploitation of plant pattern recognition receptors for broad-spectrum disease resistance. *Annu Rev Phytopathol* **55**, 257–286.
- Bozsoki Z, Cheng J, Feng F, Gysel K, Vinther M, Andersen KR, Oldroyd G, Blaise M, Radutoiu S, Stougaard J** (2017). Receptor-mediated chitin perception in legume roots is functionally separable from Nod factor perception. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**, E8118–E8127.
- Bücherl CA, Jarsch IK, Schudoma C, Segonzac C, Mbengue M, Robatzek S, MacLean D, Ott T, Zipfel C** (2017). Plant immune and growth receptors share common signaling components but localise to distinct plasma membrane nanodomains. *eLife* **6**, e25114.
- Carrasco SE, Yang YY, Troxell B, Yang XL, Pal U, Yang XF** (2015). *Borrelia burgdorferi* elongation factor EF-Tu is an immunogenic protein during Lyme borreliosis. *Emerg Microbes Infect* **4**, 1–8.
- Chen LT, Hamada S, Fujiwara M, Zhu TH, Thao N, Wong HL, Krishna P, Ueda T, Kaku H, Shibuya N, Kawasaki T, Shimamoto K** (2010). The Hop/Sti1-Hsp90 chaperone complex facilitates the maturation and transport of a PAMP receptor in rice innate immunity. *Cell Host Microbe* **7**, 185–196.
- Choi SW, Tamaki T, Ebine K, Uemura T, Ueda T, Nakano A** (2013). RABA members act in distinct steps of subcellular trafficking of the FLAGELLIN SENSING 2 receptor. *Plant Cell* **25**, 1174–1187.
- Couto D, Zipfel C** (2016). Regulation of pattern recognition receptor signaling in plants. *Nat Rev Immunol* **16**, 537–552.
- Cui YN, Li XJ, Yu M, Li RL, Fan LS, Zhu YF, Lin JX** (2018). Sterols regulate endocytic pathways during flg22-induced defense responses in *Arabidopsis*. *Development* **145**, dev165688.
- Delmotte N, Knief C, Chaffron S, Innerebner G, Roschitzki B, Schlapbach R, von Mering C, Vorholt JA** (2009). Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 16428–16433.
- Epel BL** (1994). Plasmodesmata: composition, structure and trafficking. *Plant Mol Biol* **26**, 1343–1356.
- Faulkner C, Petutschnig E, Benitez-Alfonso Y, Beck M, Robatzek S, Lipka V, Maule AJ** (2013). LYM2-dependent chitin perception limits molecular flux via plasmodesmata. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 9166–9170.
- Furman-Matarasso N, Cohen E, Du QS, Chejanovsky N, Hanania U, Avni A** (1999). A point mutation in the ethylene-inducing xylanase elicitor inhibits the beta-1,4-endoxylanase activity but not the elicitation activity. *Plant Physiol* **121**, 345–352.
- Guigón-López C, Guerrero-Prieto V, Lanzuise S, Lorito M** (2014). Enzyme activity of extracellular protein induced in *Trichoderma asperellum* and *T. longibrachiatum* by sub-

- strates based on *Agaricus bisporus* and *Phymatotrichopsis omnivora*. *Fungal Biol* **118**, 211–221.
- Hann DR, Rathjen JP** (2007). Early events in the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* on *Nicotiana benthamiana*. *Plant J* **49**, 607–618.
- Hayafune M, Berisio R, Marchetti R, Silipo A, Kayama M, Desaki Y, Arima S, Squeglia F, Ruggiero A, Tokuyasu K, Molinaro A, Kaku H, Shibuya N** (2014). Chitin-induced activation of immune signaling by the rice receptor CEBiP relies on a unique sandwich-type dimerization. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**, E404–E413.
- Henty-Ridilla JL, Shimono M, Li JJ, Chang JH, Day B, Staiger CJ** (2013). The plant actin cytoskeleton responds to signals from microbe-associated molecular patterns. *PLoS Pathog* **9**, e1003290.
- Herberth S, Shahriari M, Bruderek M, Hessner F, Müller B, Hülskamp M, Schellmann S** (2012). Artificial ubiquitylation is sufficient for sorting of a plasma membrane ATPase to the vacuolar lumen of *Arabidopsis* cells. *Planta* **236**, 63–77.
- Hohmann U, Lau K, Hothorn M** (2017). The structural basis of ligand perception and signal activation by receptor kinases. *Annu Rev Plant Biol* **68**, 109–137.
- Huffaker A, Pearce G, Ryan CA** (2006). An endogenous peptide signal in *Arabidopsis* activates components of the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 10098–10103.
- Jarsch IK, Konrad SSA, Stratil TF, Urbanus SL, Szymanski W, Braun P, Braun KH, Ott T** (2014). Plasma membranes are subcompartmentalized into a plethora of coexisting and diverse microdomains in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell* **26**, 1698–1711.
- Kaku H, Nishizawa Y, Ishii-Minami N, Akimoto-Tomiyama C, Dohmae N, Takio K, Minami E, Shibuya N** (2006). Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 11086–11091.
- Kasai K, Takano J, Miwa K, Toyoda A, Fujiwara T** (2011). High boron-induced ubiquitination regulates vacuolar sorting of the BOR1 borate transporter in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* **286**, 6175–6183.
- Keinath NF, Kierszniowska S, Lorek J, Bourdais G, Kessler SA, Shimosato-Asano H, Grossniklaus U, Schulze WX, Robatzek S, Panstruga R** (2010). PAMP (pathogen-associated molecular pattern)-induced changes in plasma membrane compartmentalization reveal novel components of plant immunity. *J Biol Chem* **285**, 39140–39149.
- Kunze G, Zipfel C, Robatzek S, Niehaus K, Boller T, Felix G** (2004). The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in *Arabidopsis* plants. *Plant Cell* **16**, 3496–3507.
- Lee HY, Bowen CH, Popescu GV, Kang HG, Kato N, Ma SS, Dinesh-Kumar S, Snyder M, Popescu SC** (2011). *Arabidopsis* RTNLB1 and RTNLB2 reticulon-like proteins regulate intracellular trafficking and activity of the FLS2 immune receptor. *Plant Cell* **23**, 3374–3391.
- Leibman-Markus M, Schuster S, Avni A** (2017). LeEIX2 interactors' analysis and EIX-mediated responses measurement. In: Shan LB, He P, eds. *Plant Pattern Recognition Receptors: Methods and Protocols*. New York: Humana Press. pp. 167–172.
- Liang XX, Ding PT, Lian KH, Wang JL, Ma MM, Li L, Li L, Li M, Zhang XJ, Chen S, Zhang YL, Zhou JM** (2016). *Arabidopsis* heterotrimeric G proteins regulate immunity by directly coupling to the FLS2 receptor. *eLife* **5**, e13568.
- Liang XX, Ma MM, Zhou ZY, Wang JH, Yang XR, Rao SF, Bi GZ, Li L, Zhang XJ, Chai JJ, Chen S, Zhou JM** (2018). Ligand-triggered de-repression of *Arabidopsis* heterotrimeric G proteins coupled to immune receptor kinases. *Cell Res* **28**, 529–543.
- Liang XX, Zhou JM** (2018). Receptor-like cytoplasmic kinases: central players in plant receptor kinase-mediated signaling. *Annu Rev Plant Biol* **69**, 267–299.
- Liu TT, Liu ZX, Song CJ, Hu YF, Han ZF, She J, Fan FF, Wang JW, Jin CW, Chang JB, Zhou JM, Chai JJ** (2012). Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor. *Science* **336**, 1160–1164.
- Lori M, van Verk MC, Hander T, Schatowitz H, Klauser D, Flury P, Gehring CA, Boller T, Bartels S** (2015). Evolutionary divergence of the plant elicitor peptides (Peps) and their receptors: interfamily incompatibility of perception but compatibility of downstream signaling. *J Exp Bot* **66**, 5315–5325.
- Lu DP, Lin WW, Gao XQ, Wu SJ, Cheng C, Avila J, Heese A, Devarenne TP, He P, Shan LB** (2011). Direct ubiquitination of pattern recognition receptor FLS2 attenuates plant innate immunity. *Science* **332**, 1439–1442.
- Mbengue M, Bourdais G, Gervasi F, Beck M, Zhou J, Spallek T, Bartels S, Boller T, Ueda T, Kuhn H, Robatzek S** (2016). Clathrin-dependent endocytosis is required for immunity mediated by pattern recognition receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* **113**, 11034–11039.
- Melotto M, Underwood W, Koczan J, Nomura K, He SY** (2006). Plant stomata function in innate immunity against

- bacterial invasion. *Cell* **126**, 969–980.
- Mithoe SC, Ludwig C, Pel MJC, Cucinotta M, Casartelli A, Mbengue M, Sklenar J, Derbyshire P, Robatzek S, Pieterse CMJ, Aebersold R, Menke FLH** (2016). Attenuation of pattern recognition receptor signaling is mediated by a MAP kinase kinase kinase. *EMBO Rep* **17**, 441–454.
- Miya A, Albert P, Shinya T, Desaki Y, Ichimura K, Shirasu K, Narusaka Y, Kawakami N, Kaku H, Shibuya N** (2007). CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 19613–19618.
- Ortiz-Morea FA, Savatin DV, Dejonghe W, Kumar R, Luo Y, Adamowski M, Van den Begin J, Dressano K, de Oliveira GP, Zhao XY, Lu Q, Madder A, Friml J, de Moura DS, Russinova E** (2016). Danger-associated peptide signaling in *Arabidopsis* requires clathrin. *Proc Natl Acad Sci USA* **113**, 11028–11033.
- Robatzek S, Chinchilla D, Boller T** (2006). Ligand-induced endocytosis of the pattern recognition receptor FLS2 in *Arabidopsis*. *Genes Dev* **20**, 537–542.
- Schoonbeek HJ, Wang HH, Stefanato FL, Craze M, Bowden S, Wallington E, Zipfel C, Ridout CJ** (2015). *Arabidopsis* EF-Tu receptor enhances bacterial disease resistance in transgenic wheat. *New Phytol* **206**, 606–613.
- Schulze B, Mentzel T, Jehle AK, Mueller K, Beeler S, Boller T, Felix G, Chinchilla D** (2010). Rapid heteromerization and phosphorylation of ligand-activated plant transmembrane receptors and their associated kinase BAK1. *J Biol Chem* **285**, 9444–9451.
- Schwessinger B, Roux M, Kadota Y, Ntoukakis V, Sklenar J, Jones A, Zipfel C** (2011). Phosphorylation-dependent differential regulation of plant growth, cell death, and innate immunity by the regulatory receptor-like kinase BAK1. *PLoS Genet* **7**, e1002046.
- Segonzac C, Feike D, Gimenez-Ibanez S, Hann DR, Zipfel C, Rathjen JP** (2011). Hierarchy and roles of pathogen-associated molecular pattern-induced responses in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Physiol* **156**, 687–699.
- Sharfman M, Bar M, Ehrlich M, Schuster S, Melech-Bonfil S, Ezer R, Sessa G, Avni A** (2011). Endosomal signaling of the tomato leucine-rich repeat receptor-like protein LeEix2. *Plant J* **68**, 413–423.
- Sitia R, Braakman I** (2003). Quality control in the endoplasmic reticulum protein factory. *Nature* **426**, 891–894.
- Smith JM, Leslie ME, Robinson SJ, Korasick DA, Zhang T, Backues SK, Cornish PV, Koo AJ, Bednarek SY, Heese A** (2014). Loss of *Arabidopsis thaliana* dynamin-related protein 2B reveals separation of innate immune signaling pathways. *PLoS Pathog* **10**, e1004578.
- Sparkes I, Tolley N, Aller I, Svozil J, Osterrieder A, Botchway S, Mueller C, Frigerio L, Hawes C** (2010). Five *Arabidopsis* reticulin isoforms share endoplasmic reticulum location, topology, and membrane-shaping properties. *Plant Cell* **22**, 1333–1343.
- Spitzer C, Reyes FC, Buono R, Sliwinski MK, Haas TJ, Otegui MS** (2009). The ESCRT-related CHMP1A and B proteins mediate multivesicular body sorting of auxin carriers in *Arabidopsis* and are required for plant development. *Plant Cell* **21**, 749–766.
- Vitale A, Boston RS** (2008). Endoplasmic reticulum quality control and the unfolded protein response: insights from plants. *Traffic* **9**, 1581–1588.
- Wang JL, Grubb LE, Wang JY, Liang XX, Li L, Gao CL, Ma MM, Feng F, Li M, Li L, Zhang XJ, Yu FF, Xie Q, Chen S, Zipfel C, Monaghan J, Zhou JM** (2018). A regulatory module controlling homeostasis of a plant immune kinase. *Mol Cell* **69**, 493–504.
- Wyrsh I, Domínguez-Ferreras A, Geldner N, Boller T** (2015). Tissue-specific FLAGELLIN-SENSING 2 (FLS2) expression in roots restores immune responses in *Arabidopsis fls2* mutants. *New Phytol* **206**, 774–784.
- Yamaguchi Y, Huffaker A, Bryan AC, Tax FE, Ryan CA** (2010). PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **22**, 508–522.
- Yeh YH, Chang YH, Huang PY, Huang JB, Zimmerli L** (2015). Enhanced *Arabidopsis* pattern-triggered immunity by overexpression of cysteine-rich receptor-like kinases. *Front Plant Sci* **6**, 322.
- Yeh YH, Panzeri D, Kadota Y, Huang YC, Huang PY, Tao CN, Roux M, Chien HC, Chin TC, Chu PW, Zipfel C, Zimmerli L** (2016). The *Arabidopsis* malectin-like/LRR-RLK IOS1 is critical for BAK1-dependent and BAK1-independent pattern-triggered immunity. *Plant Cell* **28**, 1701–1721.
- Zipfel C, Kunze G, Chinchilla D, Caniard A, Jones JDG, Boller T, Felix G** (2006). Perception of the bacterial PAMP EF-Tu by the receptor EFR restricts *Agrobacterium*-mediated transformation. *Cell* **125**, 749–760.
- Zipfel C, Oldroyd GED** (2017). Plant signaling in symbiosis and immunity. *Nature* **543**, 328–336.
- Zipfel C, Robatzek S** (2010). Pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity: veni, vidi...? *Plant Physiol* **154**, 551–554.

Intracellular Trafficking in Pattern Recognition Receptor-triggered Plant Immunity

Yaning Cui, Hongping Qian, Yanxia Zhao, Xiaojuan Li*

*Beijing Advanced Innovation Center for Tree Breeding by Molecular Design, College of Biological Science and Technology,
Beijing Forestry University, Beijing 100083, China*

Abstract Plants initially sense microbes via perception of pathogen associated molecular patterns (PAMPs) by pattern-recognition receptors (PRRs) located on the cell surface. This recognition is referred to as PAMP-triggered immunity (PTI). In order to ensure their physiological and cellular functions, PRRs must be properly conveyed from their site of synthesis, i.e., the endoplasmic reticulum, to their final destination, the plasma membrane (PM), through the secretory pathway. PRRs also rely on recycling and/or degradation, two processes that are initiated by endocytosis. Intracellular trafficking serves to terminate signaling through degradation, sustains signaling through recycling, or relays signaling inside the cell through the formation of signaling endosomes. In this review, we summarize the current knowledge of plant PRRs and their ligands, illustrating that intracellular trafficking plays an important role in plant immunity.

Key words pattern recognition receptors (PRRs), pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), intracellular trafficking, PRR-triggered immunity (PTI), plant immunity

Cui YN, Qian HP, Zhao YX, Li XJ (2020). Intracellular trafficking in pattern recognition receptor-triggered plant immunity. *Chin Bull Bot* **55**, 329–339.

* Author for correspondence. E-mail: lixj@bjfu.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)