

DOI: 10.13376/j.cbls/2021060

文章编号: 1004-0374(2021)05-0576-06

植物免疫受体FLS2的胞内运输机制

刘沁松

(西华师范大学生命科学学院, 西南野生动植物资源保护教育部重点实验室, 南充 637009)

摘要: 植物通过细胞表面的模式识别受体 (PRRs) 识别病原相关分子模式 (PAMPs), 启动植物免疫的第一道防线 (PTI)。拟南芥 FLS2 是第一个被发现的植物 PRR, 近年来围绕 FLS2 开展了大量的工作, 相关研究成果已成为植物与病原微生物互作的重要理论基础。在真核细胞中, 细胞膜受体从产生到降解经过了一系列的胞内运输过程, 膜受体的胞内转运与其功能调节密切相关。研究表明, FLS2 的胞内运输在其介导的免疫过程中起重要作用。该文综述了 FLS2 向细胞膜运输及在细胞膜超微区中的定位、FLS2 的内吞, 以及选择性自噬和泛素-蛋白酶体系统对 FLS2 的降解等, 并分析了该领域今后研究的主要内容和方向。

关键词: FLS2; 免疫信号转导; 内吞; 选择性自噬; 泛素-蛋白酶体系统

中图分类号: Q942.5; S432.2 **文献标志码:** A

Intracellular trafficking of the plant immune receptor FLS2

LIU Qin-Song

(Key Laboratory of Ministry of Education for Southwest China Wildlife Resources Conservation, College of Life Science, China West Normal University, Nanchong 637009, China)

Abstract: Cell surface-localized pattern recognition receptors (PRRs) sense microbes through perception of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) to trigger the first layer of immunity (PTI). In plants, the first characterized PRR is *Arabidopsis* FLS2. During recent years, extensive studies on FLS2 have significantly advanced our understanding of plant-pathogen interactions. In eukaryotic cells, cell surface-localized receptors undergo subcellular trafficking from synthesis to degradation, and receptor trafficking processes are implicated in the regulation of receptor function. Accumulating evidence suggests that intracellular trafficking of FLS2 plays critical roles in FLS2-mediated immune signaling. Therefore, this review summarizes recent progress on FLS2 secretion, localization of FLS2 in plasma membrane nanodomains, FLS2 endocytosis, as well as FLS2 degradation via selective autophagy and ubiquitin-proteasome system, and discusses key questions for future research.

Key words: FLS2; immune signaling; endocytosis; selective autophagy; ubiquitin-proteasome system

生物胁迫 (biotic stress) 是限制植物生长和作物产量的主要因素, 研究植物与病原微生物相互作用机制一直是植物学领域的热点。虽然植物不像动物一样具有免疫细胞, 但是在与病原微生物长期共生的过程中, 植物进化出了复杂高效的免疫机制来进行防御。植物对病原微生物的抗性通常依赖于两个层面的免疫体系。模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 是位于细胞表面的免疫受体, 其主要成员为类受体激酶 (receptor-like kinases, RLKs) 与类受体蛋白 (receptor-like proteins, RLPs), 通过感

知病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 进而激活防御反应, 即 PTI (PAMP-triggered immunity)^[1-2]。为实现成功的侵染和定植, 病原体分泌效应子 (effector) 到植物细胞内, 干扰宿主生理功能并抑制 PTI。由植物抗病蛋白 (resistance protein, R 蛋白) 直接或间接识别效应子后可激活另

收稿日期: 2021-01-05; 修回日期: 2021-03-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(31900277); 四川省科技计划资助(2019YFH0130)

通信作者: E-mail: qinsongliu@126.com

一层次的免疫屏障，即 ETI (effector-triggered immunity)^[3]。作为抵御病原入侵的第一道防线，PRRs 介导的 PTI 使植物产生一系列的基础防御反应，包括活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 爆发、胞外钙离子内流、MAPK 级联反应 (mitogen-activated protein kinase cascades) 激活、气孔关闭、免疫基因表达、胼胝质沉积等^[1-2]。目前研究较多的 PRRs 包括鞭毛蛋白受体 FLS2 (flagellin sensing 2)、延伸因子受体 EFR (elongation factor Tu receptor)、植物激发子肽受体 PEPRs (plant elicitor peptide receptors)、几丁质受体 CERK1 (chitin elicitor receptor kinase 1) 等^[1-2]。其中，拟南芥 FLS2 是第一个被鉴定的植物 PRR，其功能被研究地较为清楚。FLS2 是一个典型的富亮氨酸重复受体样激酶 (leucine-rich repeat receptor-like kinase, LRR-RLK)，在识别细菌鞭毛蛋白 (flagellin) 保守 N 末端表位 (flg22) 后，与共受体 BAK1 (BRI1-associated kinase 1) 异聚化而起始免疫信号^[4-7]。

植物细胞含有一套由多个细胞器组成的内膜系统 (endomembrane system)，包括内质网、高尔基体、反式高尔基体网络 / 初级内体 (trans-Golgi network/

early endosome, TGN/EE)、多囊泡体 / 液泡前体 (multivesicular body/prevacuolar compartment, MVB/PVC)、液泡等。植物细胞利用内膜系统完成蛋白质等生物大分子的定向运输^[6,8]。例如，细胞膜受体在内质网上合成后通过蛋白质分泌途径运输至细胞表面发挥生物学功能；另一方面，细胞膜受体可通过内吞进行胞内循环，回到细胞表面或者转运到液泡进行降解。越来越多的证据表明，FLS2 在植物细胞内正确的动态分布对其免疫功能至关重要。因此，本文结合最新研究进展，从细胞生物学角度系统介绍了 FLS2 的胞内运输机制，以期增加对植物免疫受体的认识，从而为植物抗病育种提供新的思路。

1 FLS2向细胞膜运输及在细胞膜超微区中的定位

FLS2 在细胞表面利用胞外 LRR 结构域识别 flg22^[7]，因此新合成的 FLS2 需要被正确地运输到细胞膜上，并维持适宜的蛋白质丰度以诱导有效的免疫反应。包括 FLS2 在内的众多 PRRs 是在内质网上合成，再通过高尔基体、TGN/EE 被运输到细胞膜的^[8] (图 1)。目前已报道了调控这一运输过程

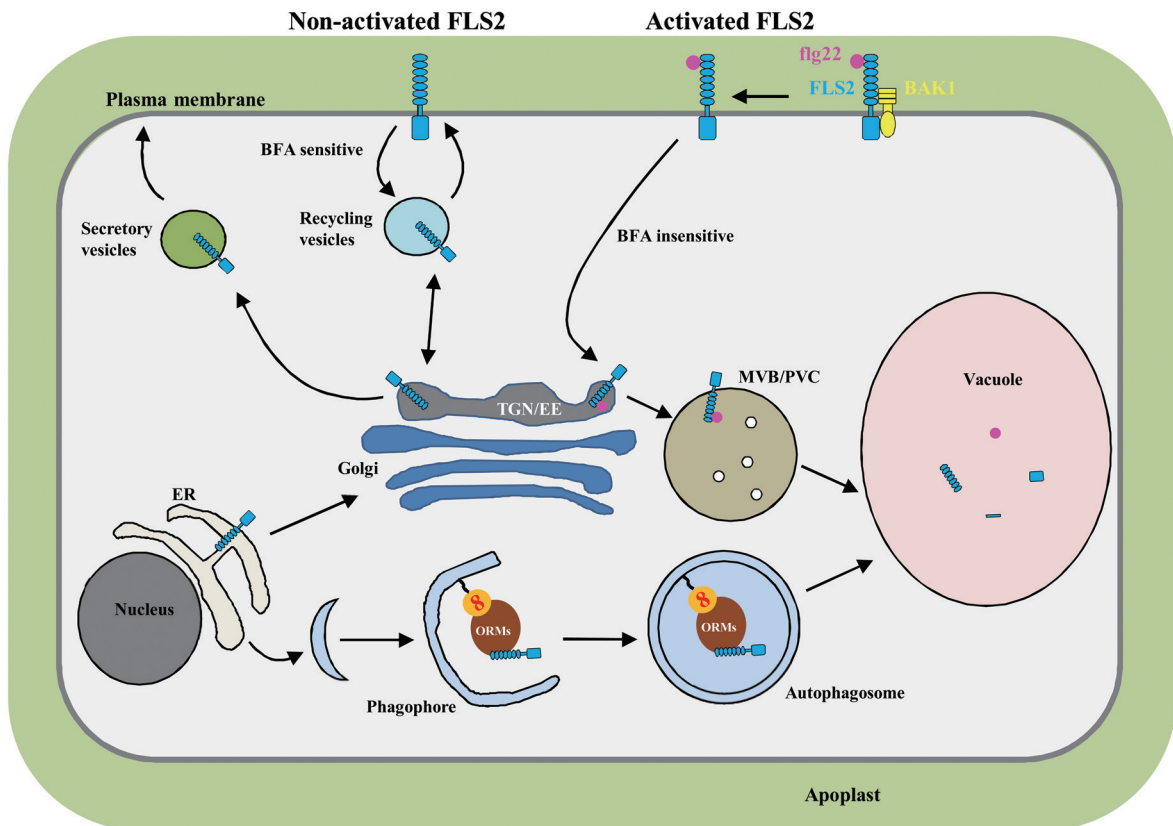


图1 免疫受体FLS2在植物细胞内的转运过程^[6]

的关键组分。定位于内质网的RTNLB1 (reticulon-like protein B1) 及其同源蛋白RTNLB2 均可与 FLS2 相互作用^[9]。在 *rtnlb1 rtnlb2* 双突变体中, FLS2 的免疫活性下降, 同时伴随细胞表面的 FLS2 含量减少, 提示 RTNLB1 与 RTNLB2 参与调控 FLS2 运输到细胞膜的过程^[9]。*RTNLB1* 过表达阻断了 FLS2 从内质网到高尔基体的运输过程, 使 FLS2 在内质网中积累, 这导致内质网相关的降解途径被激活从而清除 FLS2^[9]。在 *rtnlb1 rtnlb2* 双突变体和 *RTNLB1* 过表达植株中, FLS2 的免疫活性均下降, 表明严格调控的 RTNLB1 和 RTNLB2 含量是最优化的 FLS2 胞内运输所必需的。小 GTP 酶 Rab 家族蛋白在囊泡运输的调控中起关键作用^[10]。在烟草细胞中表达显性负性突变体 (dominant-negative, DN) 形式的 RAB-A1b 可引起 TGN/EE 形态变化; 共表达 DN 形式的 RabA1b 和 FLS2-GFP 则显著降低了 FLS2-GFP 在细胞膜上的定位, 导致 FLS2-GFP 主要弥散分布于胞质中的点状结构^[11]。这些结果表明, RabA1b 是 FLS2 从 TGN/EE 向细胞膜运输的重要调节因子。定位于 TGN/EE 的网格蛋白接头蛋白 (clathrin adaptor) EPSIN1 也参与调控 FLS2 从 TGN/EE 向细胞膜的运输^[12]。*EPSIN1* 基因的缺失使质膜上的 FLS2 及其共受体 BAK1 含量降低, 从而抑制了 flg22 诱发的免疫反应^[12]。Exocyst 复合体是一个进化保守的八蛋白复合体, 由 SEC3、SEC5、SEC6、SEC8、SEC10、SEC15、EXO70 和 EXO84 亚基组成, 介导运输囊泡与细胞膜之间的接触即拴系过程 (tethering)^[13]。拟南芥 exocyst 复合体组分 EXO70B1 和 EXO70B2 参与调控 PTI 反应, 二者可相互作用, 且均与 FLS2 互作^[14]。细胞表面 FLS2 的含量在 *exo70B1-3* 或 *exo70B2-1* 突变体中显著下降, 提示将装载 FLS2 的运输囊泡拴系到细胞膜上依赖于 EXO70B1 和 EXO70B2^[14]。另外, 丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000) 分泌的效应蛋白 AvrPtoB 具有 E3 泛素连接酶活性, 可在植物中靶向 EXO70B1, 引起 EXO70B1 的泛素化降解^[15], 因此可导致 FLS2 向细胞膜运输受抑制, 从而减少细胞膜上 FLS2 的含量。

位于细胞表面的 FLS2 并非处于自由扩散的状态, 而是存在于特定的超微区 (nanodomain)/ 脂筏 (lipid raft) 中, 从而介导特异的免疫信号转导^[16]。肌动蛋白和微管细胞骨架可调控 FLS2 在膜中的移动性, 同时细胞壁直接参与调节 FLS2 蛋白侧向位移以及超微区大小^[17]。此外, 酰基化 (S-acylation)

作为一种可逆的翻译后修饰形式可以控制 FLS2 的超微区定位, 进而调节 FLS2 的活性^[18]。然而, 有研究发现 FLS2 的酰基化修饰并不影响 FLS2 的功能^[19]。GPI 锚定蛋白 (glycosylphosphatidylinositol-anchored protein, GPI-anchored protein) 主要定位于细胞质膜外表面, 参与调节多种生物学过程^[20-21]。GPI 锚定蛋白 LIG1 可与 FLS2 互作, *LIG1* 基因缺失使 FLS2 在细胞膜上的积累减少, 推测 LIG1 可能通过招募 FLS2 到超微区进而调控 FLS2 的免疫反应^[21]。植物固醇是超微区主要的脂类成分, 可影响 FLS2 在细胞膜上的时空动力学特征以及聚合状态^[22]。以上研究结果提示, 细胞膜上超微区的形成为 FLS2 介导的免疫信号转导提供了功能平台。

2 FLS2的内吞

基于定量共聚焦成像的共定位分析以及药物干扰实验, FLS2 的内吞途径被解析^[23]。根据 FLS2 是否被配体激活, 其内吞作用可以分为组成型和诱导型。非激活态 FLS2 通过组成型内吞进入细胞然后被运回细胞表面, 这一过程对囊泡运输抑制剂 BFA (Brefeldin A) 处理表现为敏感 (图 1), 且不依赖于 BAK1。当 FLS2 被 flg22 激活后, 其内吞及随后的运输过程对 BFA 不敏感 (图 1), 并依次通过由 Rab5 家族蛋白 ARA7/RabF2b 和 ARA6/RabF1 所标记的内吞体 (endosome)。Con A (Concanamycin A) 作为液泡型 ATP 酶的特异性抑制剂可阻断液泡运输, Wm (wortmannin) 作为磷脂酰肌醇 3- 激酶 (PI3K) 特异性抑制剂可抑制内吞并使 MVB/PVC 增大。研究人员利用这两种药物的处理实验验证了激活态 FLS2 主要定位于 MVB/PVC, 进一步分析发现, FLS2 存在于 MVB/PVC 腔内, 提示激活态 FLS2 随后将被运送到液泡进行降解^[24]。因此, 通过 flg22 诱导的内吞转运以及随后的液泡降解可以调节细胞膜上激活态 FLS2 的含量。配体诱导的内吞已被证明在 PRRs 中普遍存在^[25]。此外, flg22 随 FLS2 一起通过内吞进入细胞^[25-26] (图 1), 而 flg22 向微管组织转运以及 flg22 的长距离运输依赖于这一过程^[26]。

近年来的研究表明, FLS2 内吞转运受到诸多机制的调节, 同时其内吞转运对植物的免疫反应至关重要。现就相关内容总结如下。

2.1 网格蛋白介导的内吞途径

网格蛋白介导的内吞 (clathrin-mediated endocytosis, CME) 是植物细胞中主要的内吞途径。网格蛋白轻链基因的功能缺失、瞬时抑制网格蛋白重

链基因的表达或使用 CME 途径的抑制剂 TyrA23 (Tyrphostin A23) 均显著降低了 flg22 诱导的 FLS2 内吞体数量^[22,25]。TAMRA-flg22 是荧光标记的且具有生物活性的 flg22 类似物^[25,27]。网格蛋白重链基因 *CHC2* 的功能缺失抑制了 TAMRA-flg22 的内吞, 使植株更感病^[25]。拟南芥 DRP2B (dynamin-related protein 2B) 属于动力蛋白 GTP 酶超家族成员, 参与网格蛋白包被囊泡 (clathrin-coated vesicles, CCV) 的形成, 其功能缺失导致 flg22 诱导的 FLS2 内吞体数量减少和植株的感病性增强^[28]。类似地, 沉默烟草 DRP2 基因也可抑制 FLS2 的诱导型内吞^[29]。在番茄中过表达 *DRP2A* 基因显著增强了 FLS2 内吞体的密度和大小^[30]。烟草 DRP2 是致病疫霉菌 (*Phytophthora infestans*) AVR3a 类效应蛋白的靶标, Avr3a 能与 DRP2 互作进而抑制 flg22 诱导的 FLS2 内吞^[29]。这些结果表明, 激活态 FLS2 可通过 CME 途径进入细胞。

2.2 网格蛋白非依赖型内吞途径

TyrA23 处理或网格蛋白轻链基因功能缺失不能完全阻断 FLS2 的诱导型内吞^[22], 表明 FLS2 还利用了网格蛋白非依赖型内吞途径。目前已证实固醇参与 FLS2 的内吞: flg22 处理使 FLS2 与超微区的共定位程度增强; 在固醇类物质的抽提剂 M β CD (methyl- β -cyclodextrin) 处理后或在固醇合成突变体 *smt1* 中, FLS2 的诱导型内吞均显著下降^[22]。另外, *smt1* 突变体在 flg22 诱导的免疫反应中存在缺陷^[22]。

2.3 蛋白质翻译后修饰

蛋白质翻译后修饰 (post-translational modifications, PTMs) 也参与调控 FLS2 内吞过程。在 FLS2 胞质部分存在 PEST 结构域, 而在动物中 PEST 结构域能够通过单泛素化 (monoubiquitination) 修饰调节受体的内吞^[31]。对 PEST 结构域中的脯氨酸残基进行定点突变阻断了 FLS2 的诱导型内吞^[32]。ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) 复合体负责将泛素化修饰的货物分选到 MVB/PVC 腔内囊泡中^[33]。其中, ESCRT-I 复合体亚基 VPS37-1 在 flg22 处理条件下可与 FLS2 共定位并形成复合体, VPS37-1 的缺失不仅减弱了 FLS2 的诱导型内吞, 而且干扰了 FLS2 从 MVB/PVC 外膜进入腔内囊泡的分拣过程^[24]。在 ESCRT-I 突变体 *vps37-1* 和 *vps28-1* 中, flg22 诱导的气孔关闭存在缺陷, 同时突受体更易感病^[24]。使用激酶抑制剂或磷酸酶抑制剂处理以及对 FLS2 近膜区中潜在的磷酸化位点进行突变均显著抑制了 FLS2 的诱导型内吞^[34-35], 提示动态的磷酸化以及去磷酸化修饰参与调控 FLS2 的内吞。

2.4 Rab GTP酶

上文提到 RabA1b 作用于 FLS2 的分泌途径, 而另外一些类型的 Rab GTP 酶家族成员在 FLS2 内吞转运的不同阶段进行调控。在烟草中表达 DN 形式的 RabA6a 促进了激活态 FLS2 与 TGN/EE 标记蛋白 SYP61 的共定位, 表达 DN 形式的 RabA4c 则导致相反的结果^[11]。在拟南芥中表达 DN 形式的 ARA7/RabF2b 几乎完全阻断了 FLS2 的诱导型内吞^[23], 在 *ara7* 和 *rha1* (*rab homolog 1*) 突变体中 flg22 诱导的 FLS2 内吞体数量也显著减少^[36]; 在 flg22 处理后的晚期 (60~90 min), *ara6* 突变体中的 FLS2 内吞体数量增多^[36]。另外, flg22 诱导的气孔关闭以及气孔免疫 (stomatal immunity) 在 *ara6*、*ara7* 和 *rha1* 中受损^[36]。

3 选择性自噬和泛素-蛋白酶体系统对FLS2的降解

植物自噬主要通过形成双层膜结构的自噬小泡 (autophagosome) 将受损的或冗余的细胞组分包裹并传递至液泡进行降解和循环利用, 长期被认为是一种非特异性的过程^[37]。近年来, 随着众多自噬受体 (autophagy receptor) 的发现, 已经证明了自噬途径对底物有很强的选择性^[37]。上文提到 FLS2 可通过内吞转运进入液泡, 2019 年, Yang 等^[38] 研究表明, 选择性自噬 (selective autophagy) 为 FLS2 进入液泡进行降解提供了另一条通路 (图 1)。ORM (orosomucoid) 蛋白是植物鞘脂代谢途径的关键负调控因子, 在拟南芥中存在两个成员 ORM1 和 ORM2。二者均含有自噬关键蛋白 ATG8 的结合基序 (ATG8-interacting motif, AIM), 可与 ATG8 和 FLS2 互作。过表达 *ORM1* 或 *ORM2* 可大幅降低 FLS2 蛋白水平, 导致植株产生感病表型, 而 *ORM1/2* 表达被抑制或缺失则促进 FLS2 蛋白的积累并增强抗病性。这些结果提示, ORM 蛋白可作为选择性自噬受体介导未活化的 FLS2 进行降解 (图 1), 从而在植物免疫反应中发挥重要作用。

泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin-proteasome system, UPS) 作为细胞内主要的蛋白质降解机制, 已被报道参与降解激活态 FLS2。flg22 处理可促进 BAK1 磷酸化植物 U-box 型 E3 泛素连接酶 PUB12 与 PUB13, 进而将二者招募到 FLS2 免疫受体复合体中。随后, PUB12 和 PUB13 特异性地对 FLS2 进行多聚泛素化修饰, 导致 FLS2 被 26S 蛋白酶体降解, 从而减弱 FLS2 介导的免疫信号转导^[39]。结瘤因子 (Nod

factor) 是根瘤菌产生的一类多糖信号分子, 在根瘤菌和植物的共生结瘤过程中发挥关键作用, 结瘤因子可促进 FLS2 的降解, 导致植物的先天免疫反应受到抑制^[40]。上文提到的病原菌效应蛋白 AvrPtoB 在植物中的作用靶标还包括 FLS2, AvrPtoB 能和 FLS2 互作并泛素化降解 FLS2^[41]。添加蛋白酶体抑制剂 MG132 可阻断结瘤因子以及 AvrPtoB 介导的 FLS2 降解过程, 表明在这两种条件下, FLS2 经 UPS 被清除^[40-41]。

4 总结与展望

为了精准地介导免疫信号转导, 植物 PRRs 的活性受到严格调控。而胞内转运作为其活性调节的重要机制, 对于在植物细胞表面建立和维持适宜的 PRRs 蛋白丰度至关重要, 同时胞内转运的调控蛋白也成为病原菌效应蛋白的攻击靶标。FLS2 是植物中第一个被分离和鉴定的 PRR, 也是创建植物抗病理论时 PRR 的经典模型。目前, 以 FLS2 为代表的 PRRs 胞内转运机制及其在植物免疫反应中的作用研究已经取得了重要突破和进展, 但仍有一些相关问题亟待解决。(1) 除了泛素化和磷酸化修饰外, FLS2 也存在 SUMO 化修饰 (SUMOylation)^[42]。flg22 处理导致 FLS2 快速被 SUMO 化修饰, 促使 BIK1 (Botrytis-induced kinase 1) 从 FLS2-BAK1 复合体中解离, 从而激发下游免疫信号转导^[42]。但是, SUMO 化修饰是否影响 FLS2 的胞内转运尚未阐明。另外, 今后的工作还可以探讨 FLS2 的几种修饰间是如何协同作用的, 以及是否存在多种蛋白质修饰交叉调控 FLS2 的胞内运输。(2) LeEIX2 作为番茄中的 PRR, 已被证明其免疫信号的放大是发生在内吞体中^[30,43]。那么, FLS2 的诱导型内吞与信号转导之间的确切关系是什么; FLS2 是否也存在类似于 LeEIX2 的内吞体信号转导 (endosomal signaling)。(3) 上文已经阐述了 FLS2 可被选择性自噬清除, 那么其他的 PRRs 以及 R 蛋白是否也能通过该途径进行降解, 分离和鉴定相关的自噬受体可能是回答这一问题的关键。(4) FLS2 可发生内吞、选择性自噬和 UPS 降解, 这三条通路之间已被证明存在密切的联系。例如, 泛素可作为这三条途径的底物识别信号, 从而将三者联系起来^[44-45]; UPS 组分 26S 蛋白酶体能够通过自噬途径被清除, 而自噬相关蛋白能被 UPS 降解^[45]; 内吞转运中 MVB/PVC 介导的液泡降解途径与自噬也存在相互作用的关系^[46]。将免疫受体 FLS2 作为胞内运输的货物深入阐述三条通路之间的交互作用

模式, 不仅有助于理解膜受体蛋白的胞内转运机制, 而且可为植物抗病机理的研究提供新的视角。

[参 考 文 献]

- [1] 杨俊, 吕东平. 植物PTI天然免疫信号转导研究进展. 中国生态农业学报, 2018, 26: 1585-92
- [2] Monaghan J, Zipfel C. Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15: 349-57
- [3] Cui H, Tsuda K, Parker JE. Effector-triggered immunity: from pathogen perception to robust defense. *Annu Rev Plant Biol*, 2015, 66: 487-511
- [4] Gómez-Gómez L, Boller T. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, 2000, 5: 1003-11
- [5] Chinchilla D, Zipfel C, Robatzek S, et al. A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature*, 2007, 448: 497-500
- [6] Liu Q. Novel insights into vacuole-mediated control of plant growth and immunity[D]. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 2016
- [7] Sun Y, Li L, Macho AP, et al. Structural basis for flg22-induced activation of the *Arabidopsis* FLS2-BAK1 immune complex. *Science*, 2013, 342: 624-8
- [8] Ben Khaled S, Postma J, Robatzek S. A moving view: subcellular trafficking processes in pattern recognition receptor-triggered plant immunity. *Annu Rev Phytopathol*, 2015, 53: 379-402
- [9] Lee HY, Bowen CH, Popescu GV, et al. *Arabidopsis* RTNLB1 and RTNLB2 reticulon-like proteins regulate intracellular trafficking and activity of the FLS2 immune receptor. *Plant Cell*, 2011, 23: 3374-91
- [10] Minamino N, Ueda T. RAB GTPases and their effectors in plant endosomal transport. *Curr Opin Plant Biol*, 2019, 52: 61-8
- [11] Choi SW, Tamaki T, Ebine K, et al. RABA members act in distinct steps of subcellular trafficking of the FLAGELLIN SENSING2 receptor. *Plant Cell*, 2013, 25: 1174-87
- [12] Collins CA, LaMontagne ED, Anderson JC, et al. EPSIN1 modulates the plasma membrane abundance of FLAGELLIN SENSING2 for effective immune responses. *Plant Physiol*, 2020, 182: 1762-75
- [13] Saeed B, Brillada C, Trujillo M. Dissecting the plant exocyst. *Curr Opin Plant Biol*, 2019, 52: 69-76
- [14] Wang W, Liu N, Gao C, et al. The *Arabidopsis* exocyst subunits EXO70B1 and EXO70B2 regulate FLS2 homeostasis at the plasma membrane. *New Phytol*, 2020, 227: 529-44
- [15] Wang W, Liu N, Gao C, et al. The *Pseudomonas syringae* effector AvrPtoB associates with and ubiquitinates *Arabidopsis* exocyst subunit EXO70B1. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1027
- [16] Bücherl CA, Jarsch IK, Schudoma C, et al. Plant immune and growth receptors share common signalling components but localise to distinct plasma membrane nanodomains. *Elife*, 2017, 6: e25114

- [17] McKenna JF, Rolfe DJ, Webb SED, et al. The cell wall regulates dynamics and size of plasma-membrane nanodomains in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 12857-62
- [18] Chen D, Ahsan N, Thelen JJ, et al. S-Acylation of plant immune receptors mediates immune signaling in plasma membrane nanodomains. *bioRxiv*, 2019, doi:10.1101/720482
- [19] Hurst CH, Wright KM, Turnbull D, et al. Juxta-membrane S-acylation of plant receptor-like kinases is likely fortuitous and does not necessarily impact upon function. *Sci Rep*, 2019, 9: 12818
- [20] Li C, Yeh FL, Cheung AY, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins as chaperones and co-receptors for FERONIA receptor kinase signaling in *Arabidopsis*. *Elife*, 2015, 4: e06587
- [21] Shen Q, Bourdais G, Pan H, et al. *Arabidopsis* glycosylphosphatidylinositol-anchored protein LGL1 associates with and modulates FLS2 to regulate innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 5749-54
- [22] Cui Y, Li X, Yu M, et al. Sterols regulate endocytic pathways during flg22-induced defense responses in *Arabidopsis*. *Development*, 2018, 145: dev165688
- [23] Beck M, Zhou J, Faulkner C, et al. Spatio-temporal cellular dynamics of the *Arabidopsis* flagellin receptor reveal activation status-dependent endosomal sorting. *Plant Cell*, 2012, 24: 4205-19
- [24] Spallek T, Beck M, Ben Khaled S, et al. ESCRT-I mediates FLS2 endosomal sorting and plant immunity. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1004035
- [25] Mbengue M, Bourdais G, Gervasi F, et al. Clathrin-dependent endocytosis is required for immunity mediated by pattern recognition receptor kinases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 11034-9
- [26] Jelenska J, Davern SM, Standaert RF, et al. Flagellin peptide flg22 gains access to long-distance trafficking in *Arabidopsis* via its receptor, FLS2. *J Exp Bot*, 2017, 68: 1769-83
- [27] Underwood W, Somerville SC. Perception of conserved pathogen elicitors at the plasma membrane leads to relocalization of the *Arabidopsis* PEN3 transporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 12492-7
- [28] Smith JM, Leslie ME, Robinson SJ, et al. Loss of *Arabidopsis thaliana* Dynamin-Related Protein 2B reveals separation of innate immune signaling pathways. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004578
- [29] Chaparro-Garcia A, Schwizer S, Sklenar J, et al. *Phytophthora infestans* RXLR-WY effector AVR3a associates with Dynamin-Related Protein 2 required for endocytosis of the plant pattern recognition receptor FLS2. *PLoS One*, 2015, 10: e0137071
- [30] Pizarro L, Leibman-Markus M, Schuster S, et al. Tomato Dynamin Related Protein 2A associates with LeEIX2 and enhances PRR mediated defense by modulating receptor trafficking. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 936
- [31] Haglund K, Di Fiore PP, Dikic I. Distinct monoubiquitin signals in receptor endocytosis. *Trends Biochem Sci*, 2003, 28: 598-603
- [32] Salomon S, Robatzek S. Induced endocytosis of the receptor kinase FLS2. *Plant Signal Behav*, 2006, 1: 293-5
- [33] Raiborg C, Stenmark H. The ESCRT machinery in endosomal sorting of ubiquitylated membrane proteins. *Nature*, 2009, 458: 445-52
- [34] Robatzek S, Chinchilla D, Boller T. Ligand-induced endocytosis of the pattern recognition receptor FLS2 in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 2006, 20: 537-42
- [35] Serrano M, Robatzek S, Torres M, et al. Chemical interference of pathogen-associated molecular pattern-triggered immune responses in *Arabidopsis* reveals a potential role for fatty-acid synthase type II complex-derived lipid signals. *J Biol Chem*, 2007, 282: 6803-11
- [36] Bourdais G, McLachlan DH, Rickett LM, et al. The use of quantitative imaging to investigate regulators of membrane trafficking in *Arabidopsis* stomatal closure. *Traffic*, 2019, 20: 168-80
- [37] Marshall RS, Vierstra RD. Autophagy: the master of bulk and selective recycling. *Annu Rev Plant Biol*, 2018, 69: 173-208
- [38] Yang F, Kimberlin AN, Elowsky CG, et al. A plant immune receptor degraded by selective autophagy. *Mol Plant*, 2019, 12:113-23
- [39] Lu D, Lin W, Gao X, et al. Direct ubiquitination of pattern recognition receptor FLS2 attenuates plant innate immunity. *Science*, 2011, 332:1439-42
- [40] Liang Y, Cao Y, Tanaka K, et al. Nonlegumes respond to rhizobial Nod factors by suppressing the innate immune response. *Science*, 2013, 341: 1384-7
- [41] Göhre V, Spallek T, Häweker H, et al. Plant pattern-recognition receptor FLS2 is directed for degradation by the bacterial ubiquitin ligase AvrPtoB. *Curr Biol*, 2008, 18: 1824-32
- [42] Orosa B, Yates G, Verma V, et al. SUMO conjugation to the pattern recognition receptor FLS2 triggers intracellular signalling in plant innate immunity. *Nat Commun*, 2018, 9: 5185
- [43] Sharfman M, Bar M, Ehrlich M, et al. Endosomal signaling of the tomato leucine-rich repeat receptor-like protein LeEix2. *Plant J*, 2011, 68: 413-23
- [44] Paez Valencia J, Goodman K, Otegui MS. Endocytosis and endosomal trafficking in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2016, 67: 309-35
- [45] Su T, Yang M, Wang P, et al. Interplay between the ubiquitin proteasome system and ubiquitin-mediated autophagy in plants. *Cells*, 2020, 9: 2219
- [46] Cui Y, He Y, Cao W, et al. The multivesicular body and autophagosome pathways in plants. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 1837