

**Univerzita Karlova  
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální biochemické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Dagmar Králíková**

Interakce plasmatické membrány s buněčnou stěnou – adheze a signalizace

Interaction plasma membrane - cell wall – adhesion and signalization

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Edita Tylová, Ph.D.

Konzultanti:

RNDr. Aleš Soukup, Ph.D.

RNDr. Kateřina Schwarzerová, Ph.D.

Praha, 2016



**Poděkování:**

Chtěla bych velice poděkovat své školitelce RNDr. Editě Tylové, Ph.D. za obrovskou trpělivost, cenné rady a také za pečlivé korektury mé práce.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 22.08.2017

Podpis



## Obsah

1. Úvod.....	1
2. Buněčná stěna.....	2
3. Interakce buněčné stěny s plazmatickou membránou .....	3
4. Mechanismy fyzického propojení (adheze) plazmalemy s buněčnou stěnou .....	5
4.1 Celulózasyntázové komplexy (CSC).....	5
4.2 Forminy .....	7
4.3. RGD proteiny .....	7
4.4. Arabinogalantanové proteiny (AGP).....	12
4.5. Transmembránové kinázy .....	16
4.5.1. WAK kinázy.....	19
4.5.2. CrRLK.....	20
5. Adheze membrány v místě Casparyho proužku.....	21
6. Závěr.....	22
7. Seznam použité literatury .....	23



**Abstrakt:**

Interakce plazmatické membrány s buněčnou stěnou je zásadní pro správné fungování buňky, jelikož ovlivňuje např. růst buňky, vodní provoz nebo průnik patogenů a zajišťuje ochranu před vnějšími vlivy. Tato interakce může mít podobu výměny signálů nebo transportu komponent a její podmínkou je kontakt mezi oběma strukturami. Ten je zajištěn nejenom působením turgoru, ale i jejich přímým propojením. Již dlouho jsou známy experimentální důkazy, které ukazují, že k tomuto propojení skutečně dochází – jedná se např. o Hechtovy provazce, které jsou viditelné u plazmolyzované buňky. Dalším příkladem je pásková plazmolýza u buněk s Casparyho proužky u endodermis a exodermis, kde v místě proužku zůstává plazmalema stále připojena, a to z toho důvodu, aby ani při plazmolýze nebyla narušena ochranná apoplastická bariéra v kořeni. Po anatomické stránce jsou tyto fenomény poměrně dlouho zkoumány, ale na molekulární úrovni zatím nebyly experimentálně potvrzeny konkrétní proteiny zapřičiňující tuto interakci. Cílem bakalářské práce je proto shrnout recentní poznatky o mechanismech zajišťující fyzické propojení (adhezi) mezi plazmalemou a buněčnou stěnou v rostlinné buňce. Mezi kandidátní proteiny, které by mohly toto propojení zajišťovat, řadíme např. proteiny s RGD motivem, WAK (wall-associated) kinázy a také arabinogalaktanové proteiny.

**Klíčová slova:**

Interakce, Hechtovy provazce, Casparyho proužky, plazmalema, CASP, WAK kinázy, arabinogalaktanové proteiny.

**Abstract:**

Interaction of the cell wall and plasma membrane is essential for proper cell functioning as it affects, for example, cell growth, water relations or pathogen penetration, and provides protection against external factors. This interaction may take the form of signal exchange or component transport and its necessary prerequisite is the contact between the two structures. The contact is ensured not only by turgor pressure but also by their direct connection. Experimental evidences have long been known to show that this connection indeed exists - for example, Hechtian strands that are visible in the plasmolyzed cell. Another example is band plasmolysis in cells of the endodermis and exodermis with the Casparian strips, where the plasma membrane is still attached to the cell wall at the site of the strip. This attachment contributes to the protective feature of the apoplastic barrier and allows maintaining it even during plasmolysis. The anatomic aspects of the phenomenon have long been investigated, but specific proteins providing this interaction at the molecular level have not yet been experimentally confirmed. The aim of the bachelor thesis is to summarize recent findings about the mechanisms ensuring the physical connection (adhesion) between the plasma membrane and the cell wall in the plant cell. Protein with RGD motif, WAK (wall-associated) kinases and arabinogalactan proteins are among the candidate proteins that could provide this link.

**Key words:**

Interaction, Hechtian strands, Casparian strips, plasma membrane, CASP, WAK kinase, arabinogalactan protein



## Seznam zkratek

ABA – kyselina abscisová

AFL1 – s membránou asociovaný protein At14a-like

AG – arabinogalaktanové řetězce

AGP – arabinogalaktanové proteiny

CASP – proteiny membránové domény Casparyho proužku (Casparian strip membrane domain proteins)

CESA – celulózasyntáza (cellulose synthase)

CIF – ‚Casparian strip integrity factor‘

COB – extracelulární protein COBRA

CSC – celulózasyntázový komplex

CSD – doména Casparyho proužku

CSII – CESA interagující protein 1 (cellulose synthase-interactive protein1)

CTL – chitináza-like protein

CW – buněčná stěna (cell wall)

EGF – epidermální růstový faktor (epidermal growth faktor)

ETI – efektorová imunita (effector-triggered immunity)

FER – receptorová kináza FERONIA

FH<sub>2</sub> – formin homology doména

FLA – fasciclin-like arabinogalaktanové proteiny

FLS2 – protein senzitivní na flagellin (flagellin sensitive 2)

GALT – galaktosyltransferázy

GDP – guanosindifosfát

Glc – glukóza

GPI – glykofosfatidylinositol

GRP – glycin bohaté proteiny (glycin – rich protein)

GT – glykosyltransferázy

HERK1 – receptorová kináza HERKULES1

HRGP – hydroxyprolin bohaté proteiny (hydroxyprolin-rich glycoprotein)

ILP – protein vázající buněčnou stěnu k cytoskeletu

KOR – protein KORRIGAN interagující s celulózasyntázovým komplexem

LDV – sekvence aminokyselin leucin-kyselina asparagová-valin

LRR – repetice s vysokým obsahem leucinu (leucin rich repeat)

Man – manóza

ML – malectin-like doména

NDR1 – ‚non-race specific disease resistance‘

PDI5 – disulfid izomeráza 5

PERK4 – receptorová kináza extensin-like bohatá na prolin (prolin-rich extensin-like receptor kinase 4)

POM2/CSI – ‚pom pom 2/cellulose synthase-interactive protein1‘

PRP – prolin bohaté proteiny (prolin – rich protein)

RALF1 – peptid vázající se k receptor-like doméně ‚rapid alkalization factor1‘

RGD – sekvence aminokyselin arginin-glycin-kyselina asparagová

RLCK – receptor-like cytoplasmatické kinázy

RLK – receptor-like kináza

SGN1 – cytoplasmatická receptor-like kináza SCHENGEN1

SGN3 – receptor-like kináza s repetitivy bohatými na leucin

SRK – S – receptor-like kináza

STK – Serin/Threonin kinázy

TED6 – ‚tracheary element differentiation-related 6‘

THE 1 – receptorová kináza THESEUS1

UDP – uridindifosfát

VCAM1 – ‚vascular cell adhesion molecule 1‘

WAK – s membránou asociované kinázy (wall associated kinase)

WAKL – proteiny podobné s membránou asociovaným proteinům

# 1. Úvod

Jedním z rozdílů rostlinné a živočišné buňky je přítomnost buněčné stěny na povrchu buňky nad plazmatickou membránou. Buněčná stěna je nesmírně důležitý kompartment zajišťující mnoho funkcí, mezi něž patří především funkce mechanická, funkce ve vodním provozu a funkce v morfogenezi rostlinného těla (podílí se na regulaci růstu a diferenciaci buňky, udává buňce tvar). Buněčná stěna také funguje jako ochrana před vnějšími vlivy prostředí, především jako strukturní bariéra např. pro průnik patogenů. Nic z toho by nebylo možné, pokud by buněčná stěna nebyla v těsném kontaktu s plazmalemou buňky. Samotné ukládání buněčné stěny i její přestavby jsou závislé na plazmalemě (exocytóza komponent syntetizovaných uvnitř buňky, lokalizace enzymů syntézy celulózy atd.). Senzory v plazmalemě také detekují změny v buněčné stěně, např. při průniku patogenů, což umožňuje aktivaci signálních drah vedoucích k odpovědi buňky (Liu et al. 2015). Buněčná stěna tak s plazmalemou vytváří kontinuum, které je pro fungování buňky velmi důležité. Toto kontinuum je zajištěno i přímým propojením plazmalemy a buněčné stěny. Důkazem, že k tomuto fyzickému spojení opravdu dochází, jsou např. tzv. Hechtovy provazce viditelné u plazmolýzované buňky (Oparka 1994) nebo existence páskové plazmolýzy v buňkách s Casparyho proužky v endodermis a exodermis (Enstone and Peterson 1997). Existence fyzického propojení plazmalemy a buněčné stěny je právě u buněk s Casparyho proužky důležitou vlastností, která se podílí na jejich funkci apoplastické bariéry (Geldner 2013a). Přesto není mechanismus tohoto propojení zcela objasněn; předpokládá se, že se na něm podílí přímo proteiny CASP (Casparyan strip membrane domain proteins) (Roppolo et al. 2011), ale přímé experimentální důkazy chybí.

Cílem bakalářské práce je proto shrnout aktuální poznatky o fyzickém propojení mezi buněčnou stěnou a plazmatickou membránou (tento fyzický jev označuji jako adhezi a je tím myšleno propojení mezi kompartmenty, nikoliv propojení mezi buňkami) a charakterizovat proteiny, které zapříčiňují nebo jsou možnými zprostředkovateli adheze. To může pomoci následně najít možné kandidáty účastníci se adheze plazmalemy k buněčné stěně Casparyho proužku.

Ze shrnutí literatury je patrné, že adheze plazmalemy k buněčné stěně je v rostlinné buňce zajišťována několika mechanismy. K fyzickému propojení dochází ve chvíli, kdy jsou syntetizovány celulózové mikrofibrily komplexem celulózasyntázy. Dále se na adhezi podílí i membránové proteiny, které interagují s komponentami buněčné stěny (Baluška et al. 2003, Liu et al. 2015). Vzhledem k velké dynamice buněčné stěny po dobu života buňky je

zapotřebí více proteinů, které budou adhezi neustále udržovat nebo případně rozvolňovat. Dnes jsou z experimentů vyvozeny proteiny, které tuto funkci mohou zajišťovat. Jsou to např. WAK (Wall-associated kinase) kinázové proteiny nebo některé proteiny ze skupiny proteinů bohatých na hydroxyprolin (Anderson et al. 2001), které jsou v práci představeny. V rámci práce jsou také stručně zmíněny i další proteiny zajišťující kontinuum plazmalemy a buněčné stěny, nezbytné např. pro příjem signálů z vnějšího prostředí buňky.

## 2. Buněčná stěna

Buněčná stěna je jedním ze základních charakteristických rysů rostlinné buňky, odlišujících ji od buňky živočišné. Nachází se na vnější straně plazmatické membrány a obklopuje celou buňku. Nejedná se o uniformní strukturu; je proměnlivá ve svém složení i tloušťce. Jednou z mnoha důležitých funkcí buněčné stěny je udržování tvaru buňky, s čímž se spojuje i cílené rozvolňování buněčné stěny při růstu buňky – růst je tedy kontrolován. Jedná se také o ochrannou strukturu, která chrání buňku před vnějšími vlivy. Dělí se na dva základní typy, a to na primární a sekundární. Primární stěna je formována v dělicích se a rostoucích buňkách. Sekundární stěna je tvořena až po dokončení růstu, může být vysoce specializovaná v jednotlivých pletivech (Steinwand and Kieber 2010, Taiz and Zeiger 2010).

Buněčná stěna je tvořena čtyřmi základními komponentami, a to celulózu, hemicelulózu, pektiny a proteiny. Vyjma celulózy jsou tyto složky syntetizovány v endoplazmatickém retikulu a Golgiho aparátu a do buněčné stěny se dostávají transportem váčků (Driouich et al. 2012). Celulóza jako taková je syntetizována specifickým komplexem celulózasyntáz (CESA) na plazmatické membráně do prostoru buněčné stěny. Tyto komplexy jsou tvaru hexamerních rozet o průměru 25-30 nm (Lerouxel et al. 2006, Desprez et al. 2007, Endler and Persson 2011). U *Arabidopsis thaliana* mají 10 izoform. Na syntéze primární buněčné stěny se podílí CESA1, CESA3, CESA6 (Desprez et al. 2007, Persson et al. 2007, Gu and Somerville 2010). Vznikají (1-4)- $\beta$ -D-glukózové polymery, které jsou shlukovány do lineárních svazků s průměrem okolo 7 nm (Kohorn 2000). Základní jednotkou celulózových vláken jsou glukanové řetězce. Tyto glukanové řetězce jsou vytlačovány z membrány do prostoru matrix buněčné stěny, kde krystalizují do mikrofibril a interagují s xyloglukany, které patří do hlavní skupiny hemicelulóz. Na základě dřívějších experimentů byl přikládán význam sitosterol-glukosidu jako primeru pro syntézu mikrofibril (Peng et al. 2002). V dalších experimentech se nepodařilo tuto domněnku jednoznačně potvrdit (Debolt et al. 2009, Kumar et al. 2015).

Hemicelulóza je polysacharid, který se spojuje s celulóзовými mikrofibrilami, a to tak, že je překrývá, čímž zároveň dochází k zesíťování mezi celulóзовými mikrofibrilami samotnými. Mezi hemicelulózy řadíme xyloglukany, xylany, dále i glukomanany a glukonoarabinoxylany (Lerouxel et al. 2006). Xyloglukany mají krátké řetězce obsahující xylózu, galaktózu a mnohdy i fukózu (Nishikubo et al. 2007). Tyto složky buněčné stěny jsou syntetizovány v Golgiho aparátu a odsud jsou transportovány malými váčky. Pro tuto syntézu jsou třeba enzymy glykosyltransferázy, které katalyzují přenos cukerných zbytků. Přesněji jsou třeba především dvě katalytické aktivity – glukansyntázová a xylosyltransferázová, dále případně fukosyltransferázová (Driouich et al. 2012).

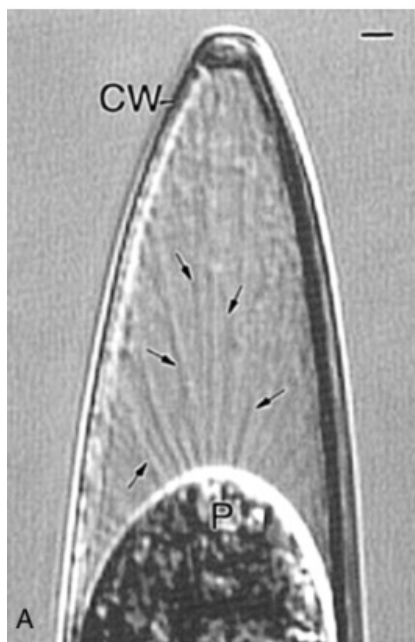
Pektiny jsou polysacharidy buněčné stěny bohaté na kyselinu galakturonovou, která tvoří až 70 % obsahu jejich obsahu. Vytváří gelovou fázi, ve které je uložená síť mikro fibril. Pektiny jsou ve větší míře zastoupené v primárních buněčných stěnách a středních lamelách. Jsou složeny ze zbytků (1,4)-  $\alpha$ -D-galaktosyl-uronové kyseliny a dělíme je na několik typů, např. homogalakturonany, rhamnogalakturonany I, II, a apiogalakturonany (Ridley et al. 2001, Mohnen 2008). Biosyntéza je velmi komplikovaný proces, vyžaduje nejméně 67 transferáz. Jsou vytvářeny z prekurzorů UDP-Glc a GDP-Man nacházejících se v Golgiho aparátu (Atmodjo et al. 2013). Pektiny bývají primárním cílem patogenů a mohou být narušeny mechanickými silami, což vede k stresové odpovědi rostliny (Espino et al. 2010, Kohorn 2016).

Buněčná stěna obsahuje také několik tříd proteinů, které rozdělujeme podle zastoupených aminokyselin, příp. typických sekvencí aminokyselin nebo stupně glykosylace. Patří sem hydroxyprolin bohaté proteiny (HRGP), jejichž příkladem jsou extensiny, proteiny patřící do skupiny O-glykoproteinů. Dále výrazně glykosylované arabinogalaktanové proteiny (AGP), prolin bohaté proteiny (PRP), které bývají jen málo glykosylované a proteiny bohaté na glycin (GRP) (Gaspar et al. 2001a).

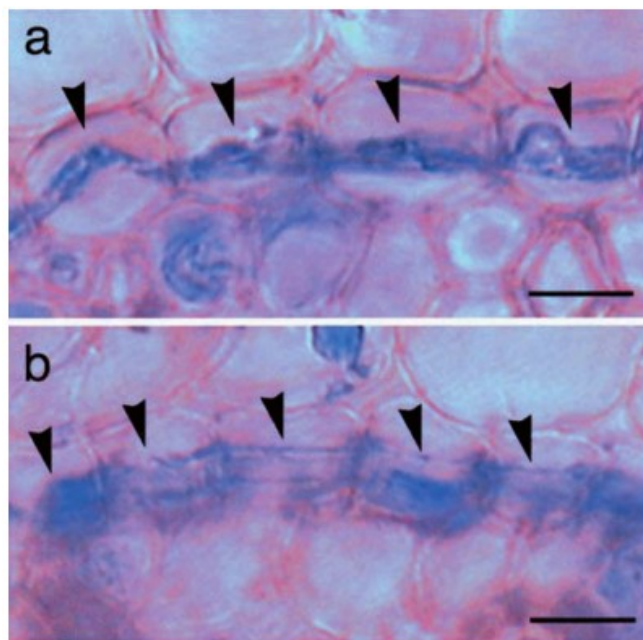
### **3. Interakce buněčné stěny s plazmatickou membránou**

Plazmatická membrána a buněčná stěna jsou v těsném kontaktu a jejich vzájemná interakce je významná v řadě buněčných procesů. Kromě vlastní syntézy a remodelace buněčné stěny je to transport komponent (na cytoplazmatické straně plazmatické membrány najdeme komplex tvořící řetězce celulózy, které jsou poté vytlačovány do vnějšího prostředí, kde se párují s dalšími řetězci a polysacharidy). Tato interakce hraje roli i v signalizaci či napomáhá lokalizaci membránových proteinů (Liu et al. 2015). Na buňku působí mnohé

stimuly (ať už vnitřní nebo vnější) a ty následně ovlivňují buněčnou stěnu, která přijímá nespočet informací, jako například informace o struktuře, remodelacích nebo biosyntéze. Tyto stimuly jsou přijímány skrze receptory, které jsou s buněčnou stěnou asociované (Seifert and Blaukopf 2010). Příkladem jsou WAK (Wall associated kinase), které spadají pod skupinu transmembránových kináz, které budu blíže rozebírat v pozdější kapitole. Signály mohou vnímat také mechanosenzitivní receptory nebo iontové kanály (Nakagawa et al. 2007).



**Obr. 1 – Hechtovy provazce propojující buněčnou stěnu (CW) a protoplast (P) u *Closterium acerosum* (označené šipkou) během plasmolýzy (Domozych et al. 2003)**



**Obr. 2 – pásková plasmolýza kořenových buněk kukuřice, šipkou označené plasmolyzované buňky, modře je obarvena plazmalema. a) endodermis kořene z kontrolních podmínek, b) endodermis z kořene rostoucího v 200 mM NaCl – Casparyho proužky jsou širší (Karahara et al. 2004)**

Kontakt plazmatické membrány s buněčnou stěnou je zajišťován působením turgoru, tj. pozitivního hydrostatického tlaku v buňce. Tento tlak dosahuje hodnot 0,3 - 1 MPa (Iiyama et al. 1994). Turgor ale není jediným faktorem. Řada pozorování dokládá přímou vazbu plazmatické membrány na buněčnou stěnu. Takovým pozorováním je např. existence struktur zvaných Hechtovy provazce (Obr. 1). Tyto provazce propojují protoplast plasmolyzované buňky s buněčnou stěnou (Domozych et al. 2003, Sun et al. 2004). Dalším příkladem je existence páskové plasmolýzy (Obr. 2), která je pozorovatelná u buněk, které mají Casparyho proužky (Damus et al. 1997, Karahara et al. 2004). Casparyho proužky jsou ligninové oblasti buněčné stěny endodermálních a exodermálních buněk kořene. Díky nim se tvoří

extracelulární bariéra, přes kterou nemohou ionty volně přecházet apoplastem, ale musejí projít symplastem (Schreiber et al. 1999, Geldner 2013a). V místě Casparyho proužků nenajdeme plazmodezmata (Bonnett 1968). K páskové plazmolýze dochází v hypertonickém prostředí, kdy dojde k odloučení plazmatické membrány od buněčné stěny kromě míst, kde se nachází Casparyho proužky, zde je adheze neporušená a už na první pohled tvoří určitý pásek, viz. Obr. 2 (Karahara et al. 2004). Existence páskové plazmolýzy proto dokládá specifickou adhezi plazmatické membrány k buněčné stěně v místě Casparyho proužku.

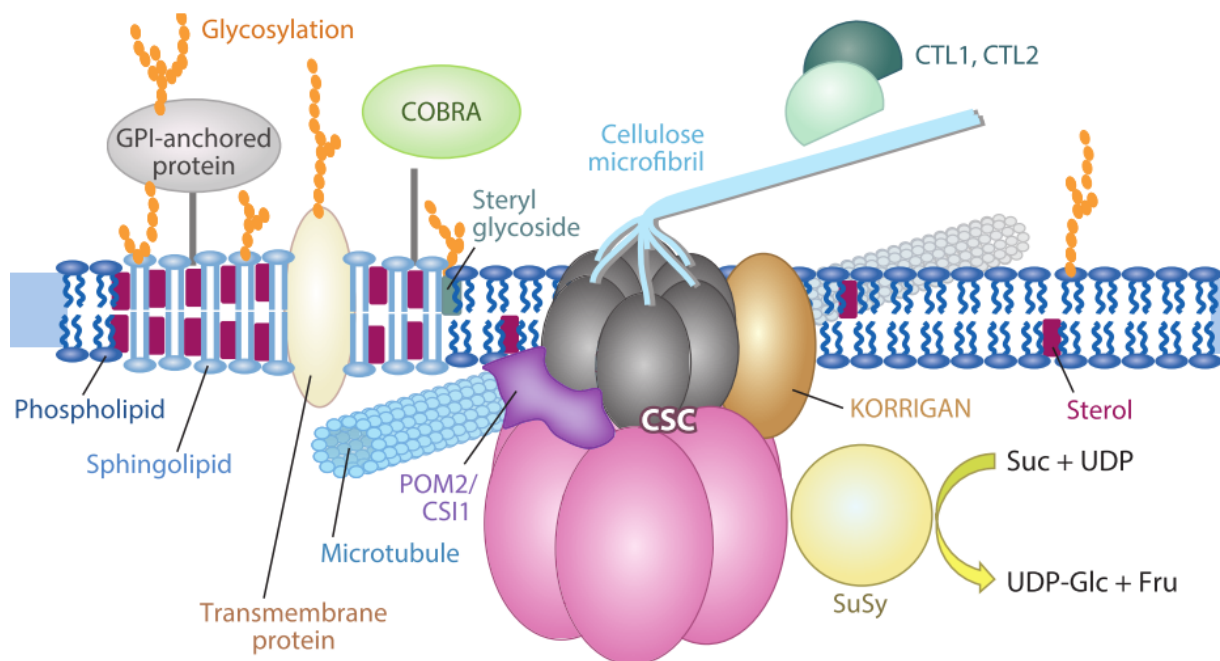
## **4. Mechanismy fyzického propojení (adheze) plazmalemy s buněčnou stěnou**

Fyzické propojení plazmatické membrány s buněčnou stěnou je nezbytné pro řadu buněčných procesů. Dnes jsou již známy některé proteiny, které určitým způsobem propojují plazmatickou membránu s komponentami buněčné stěny; u jiných se tato funkce předpokládá, ale není ještě úplně potvrzena. Známé skupiny proteinů, které fyzicky propojují tyto dva kompartmenty, jsou například velké celulózasyntázové komplexy (CSC); další známé skupiny proteinů jsou arabinogalaktanové proteiny, glykolytické enzymy s transmembránovou doménou a také hojně rozšířené WAK proteiny s kinázovou doménou (Wagner and Kohorn 2001). V následujících kapitolách proto shrnu informace o nejdůležitějších skupinách proteinů s možnou účastí v adhezi (fyzickém propojení) plazmalemy a buněčné stěny.

### **4.1 Celulózasyntázové komplexy (CSC)**

CESA komplexy jsou velké komplexy nacházející se na plazmatické membráně a jejich funkcí je syntéza celulózových mikrofibril do prostoru buněčné stěny (Song et al. 2010). Adhezi membrány k buněčné stěně zajišťuje právě syntéza celulózových mikrofibril, které k sobě poutají oba kompartmenty (k adhezi dochází především po dobu syntézy, předtím, než je CSC endocytována) (Liu et al. 2015). V plazmatické membráně se celé komplexy pohybují a syntetizují podél mikrotubulů, dosud ale nebyl tento mechanismus syntézy plně objasněn (Bringmann et al. 2012). CesA gen byl poprvé objeven podle sekvenční podobnosti s bakteriálními komplexy. Tento gen patřící do rodiny glykosyltransferáz 2 kóduje protein s osmi transmembránovými doménami a C- a N-terminálními konci směřujícími do cytosolu (Pear et al. 1996). Množství CesA genů je proměnlivé u různých rostlinných druhů, u huseníčku je známo 10 genů. Celulózasyntázové komplexy tvoří hexamerní rozety, díky kterým je možné syntetizovat až 36 molekul celulózy

najednou (Roudier et al. 2005, Gu and Somerville 2010). Bylo zjištěno, že kromě samotných rozet, komplex tvoří i další cytoplazmatické komponenty jako například TED6 (tracheary element differentiation-related 6) protein, u kterého není známá přesná funkce, ale je potřebný pro formaci sekundární buněčné stěny (Endo et al. 2009). Dalšími proteiny jsou POM2/CSI (pom pom 2/cellulose synthase-interactive protein1), které interagují s cytosolickou doménou komplexu (Endler et al. 2016). CSI1 zprostředkovává spojení s kortikálními mikrotubuly (Li et al. 2012). Chitináza-like protein (CTL) hraje roli v interakci mezi celulóзовými mikrofibrilami a hemicelulózou buněčné stěny, bylo potvrzeno, že CTL1 ovlivňuje depozici celulózy v primární buněčné stěně (Rodriguez-Sanchez et al. 2012). KORRIGAN (KOR) je další interagující protein s CSC, který je, jak se ukázalo, důležitý pro pohyb CSC (Nicol et al. 1998, Vain et al. 2014). Regulátorem anizotropního růstu je extracelulární protein COBRA (COB), který je polarizovaně distribuovaný na vnější straně plazmatické membrány, kde je také připojen přes GPI kotvu (Schindelman et al. 2001, Roudier et al. 2005). Použitím *cob* mutanta se u rostliny projevila neuspořádanost celulóзовých mikrofibril (Schindelman et al. 2001). Recentně objevenými proteiny interagujícími s CSC jsou proteiny nazvané companions of cellulose synthase (CC), které jsou důležité pro syntézu celulózy během rostlinného stresu způsobeného zasolením (Endler et al. 2016), schématické znázornění na Obr. 3.



**Obr. 3 – celulózasyntázový komplex v plazmatické membráně;** CSC – celulózasyntázový komplex, SuSy – sacharózasyntáza, CTL – chitináza-like protein, POM2/CSI1 – interagující protein (McFarlane et al. 2014)



## 4.2 Forminy

Další proteiny, které by mohly zprostředkovávat propojení plazmalemy a buněčné stěny jsou některé forminy, konkrétně forminy z třídy I (Martinie et al. 2011). Forminy patří do evolučně konzervované skupiny proteinů účastníci se organizace aktinu a mikrotubulů. Mají formin homology 2 (FH2) doménu, která je esenciální pro jejich správné fungování a je schopna nukleovat aktin (Higgs and Peterson 2005). Některé z proteinů mají také formin homology 1 (FH1) doménu, ta byla zatím nalezena u 17 genů huseníčku (*Arabidopsis*) (Deeks et al. 2002). Členíme je do tří skupin – třída I, II a III. Do první třídy se řadí zejména transmembránové proteiny, které ovlivňují dynamiku cytoskeletu a právě proteiny z této skupiny zřejmě mohou kotvit kortikální cytoskelet skrze membránu k buněčné stěně díky doméně AtFH1 s extracelulární částí (Cvrčková 2013). Tato extracelulární doména (AtFH1) obsahuje čtyři konzervované oblasti, je bohatá na prolin a má určitou homologii s extenziny (Martinie et al. 2011). Třída druhá má často specifickou doménu PTEN (homolog fosfatáz a tenzinu ležící na 10. chromozómu) příbuznou živočišné fosfoinosidfosfatáze, která může zprostředkovávat periferní asociaci s membránami (Cvrčková 2013).

## 4.3. RGD proteiny

Důležitými proteiny, které se účastní adheze plazmatické membrány s buněčnou stěnou, jsou proteiny s YGRGDSP motivem, také nazývaným RGD (sekvence aminokyselin agrinin-glycin-kyselina asparagová). Role těchto proteinů v adhezi je zatím podrobněji popsána především v živočišných buňkách, kde dochází k specifické adhezi mezi glykoproteiny s RGD sekvencí, jako jsou například fibronectin nebo vitronectin, a membránovými receptory integriny. Fibronectin je polymorfní glykoprotein nacházející se v krvi obratlovců, ve fibroblastech a astrocytech, kde se účastní adheze (Stenman and Vaheri 1978). Vitronectin je adhezivní protein syntetizovaný v játrech, plnicích jedny z hlavních regulačních funkcí v imunitním systému obratlovců (Stockmann et al. 1993).

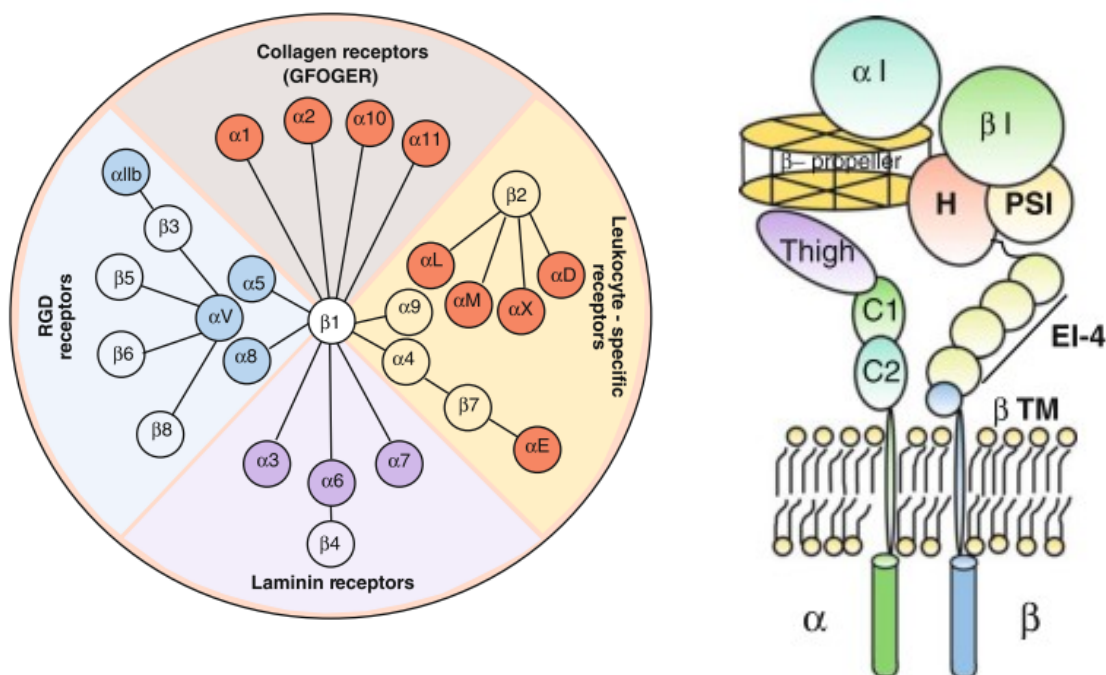
Integriny jsou rodina transmembránových glykoproteinů, které v živočišných buňkách slouží jako receptory pro mezibuněčné interakce. Jednou z jejich funkcí je také předávání signálů mezi buňkou a prostředím. Jejich základem jsou nekovalentně seskupené  $\alpha$  a  $\beta$  podjednotky, které se mohou skládat až do 24  $\alpha\beta$  heterodimerů (Nakahata et al. 2006, Barczyk and Carracedo 2010). Dělí se podle přítomnosti extracelulární A domény obsahující 180 aminokyselin, tzv.  $\alpha A$ , která je nezbytná pro napojení ligandu. Integriny, které nemají  $\alpha A$ , obsahují  $\alpha A$ -like doménu neboli  $\beta A$  (Xiong et al. 2002). Pouze několik z nich je schopno

rozeznat RGD sekvenci v ligandu; další integriny jsou děleny podle schopnosti rozeznání lamininu, kolagenu, leukocytů, kdy se uplatňuje rozpoznání jiného motivu než RGD, např. motivu GFOGER v případě kolagenu nebo motivu LDV (tripeptid leucin-kyselina asparagová-valin) v případě např. fibronektinu nebo VCAM1 (vascular cell adhesion molecule 1) (Hynes 2002, Barczyk and Carracedo 2010). Schématické znázornění klasifikace integrinů můžeme vidět na Obr. 4 vlevo.

V případě integrinů rozpoznávajících RGD sekvenci je sekvence RGD ligandu hlavním kontaktním místem s integrinem, kdy se postranní řetězec argininu spojuje se strukturou zvanou zkrut složenou z  $\beta$ -listů (anglicky označovanou  $\beta$ -propeller); navazuje se tedy do žlábků v této struktuře a kyselina asparagová se navazuje na A doménu v  $\beta$  podjednotce integrinu (Obr. 4 vpravo) (Xiong et al. 2002, Humphries and Humphries 2006). Cytoplazmatickou částí pak integriny zajišťují vazbu na aktinová filamenta, a to za pomoci proteinů talinů, které se vážou na  $\beta$  podjednotky integrinů. Taliny nejsou jedinými vázajícími proteiny; další jsou vinculin, ezrin, radixin nebo moesin fungující v komplexech (Hynes 2002, Takada et al. 2007). Většina  $\beta$  řetězců obsahuje jeden nebo dva NPxY/F motivy, kde x je libovolná aminokyselina. Fosforylace tyrosinu v tomto motivu reguluje integrinovou interakci s dalšími proteiny (Takada et al. 2007).

Adheze využívající interakci s RGD sekvencí je také relevantní u bakterií a zřejmě i u rostlin, např. během růstu buněčné stěny (Schindler et al. 1989). U rostlin nebyly nalezeny strukturně podobné proteiny integrinům, jaké známe z živočišné buňky, ale předpokládá se, že s živočišnou buňkou sdílí podobné mechanismy pro adhezi. Subdomény a motivy jsou však mezi proteiny rozloženy jinak, tedy že stejná skupina subdomén je rozložena mezi adhezivní receptory (Langhans et al. 2017). Během experimentů byly nalezeny proteiny částečně sekvenčně podobné (homologie byla v malých úsecích) nazvané integrin-like. Tyto proteiny byly objeveny tak, že byly náhodně použity protilátky pro živočišné integriny, a tím byly vytipovány proteiny nazvané integrin-like v plazmatické membráně a vibronektin-like proteiny v buněčné stěně (Zhu et al. 1993, 1994). Během těchto prvních experimentů bylo také zjištěno, že některé z těchto proteinů nacházejících se v plazmatické membráně interagují s proteiny v buněčné stěně. A toto spojení je možno přerušit aplikací RGD peptidů. Sekvence peptidů podobná, nikoliv však stejná – RGE neměla žádný vliv na rozrušení interakce buněčné stěny s plazmatickou membránou. Přestože tyto experimenty nevedly k identifikaci a charakterizaci konkrétních proteinů, naznačily význam RGD sekvence v adhezi buněčné stěny a plazmatické membrány u rostlin (Zhu et al. 1993, Ryu et al. 1997, Kiba et al. 1998). Kromě toho, že proteiny s touto sekvencí nejspíše zprostředkovávají adhezi, tak se podílejí i na růstu

pylové láčky, napomáhají adaptaci rostliny na stres způsobený salinitou (Zhu et al. 1993). Určitou roli hrají také v blokování některých procesů jako je například penetrace houbových toxinů (Manning et al. 2008).



**Obr. 4 – rozdělení integrinů podle rozeznávacích receptorů u obratlovců (vlevo) a ukázka uspořádání živočišného integrinu (vpravo), obsahujícího  $\alpha I$  a  $\beta I$  podjednotku, Thigh doménu, PSI – plexin-sephorin-integrin doménu, H -hybrid doménu, EI – epidermal growth factor like doménu a C1, C2 – calf 1,2 doménu vázající ligand (Barczyk & Carracedo 2010)**

První zmínka o rostlinných integrin-like proteinech pochází již z roku 1989 (Schindler et al. 1989), do dneška ale stále nejsou známy přesné heterodimerní integrin-like receptory rostlin, zajišťující adhezi. Našlo se už ale několik potenciálních kandidátů proteinových partnerů (receptor/koreceptor): NDR1/At14a,  $\alpha$ -ILP/At14a, AGPs/At14a,  $\alpha$ -ILP/ITGB1, ITGA8/At14a (Langhans et al. 2017). Já se zde budu věnovat především prvnímu z uvedených partnerů.

*NDR1* (At3g20600) je tzv. non-race-specific disease resistance gene, je to tedy určitý lokus DNA, který kóduje protein důležitý pro rezistenci vůči některým specifickým patogenům. Tato rezistence je zprostředkována svinutým helixem (coiled-coil) motivem proteinu, který je bohatý na leucin (Century et al. 1997). NDR1 je 48 kDa velký protein a je

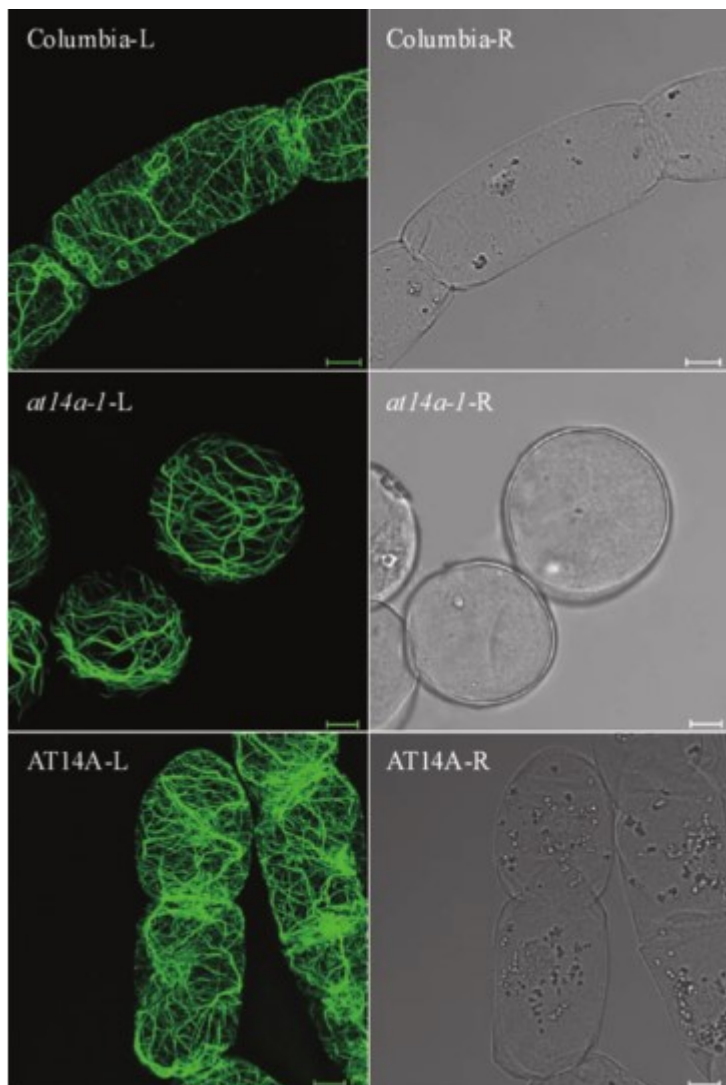
lokalizován v plazmatické membráně. Dochází u něj ke značným posttranslačním modifikacím, včetně jeho připojení k membráně přes GPI (glykofosfatidylinositolovou) kotvu, také dochází k jeho N-glykosylaci. Vzhledem k těmto modifikacím se dá předpokládat, že NDR1 bude umístěn na vnější straně membrány, což by umožňovalo, aby NDR1 fungoval jako přenašeč signálu při napadení patogenem (Coppinger et al. 2004). Je již potvrzeno, že NDR1 protein je velice důležitý pro rezistenci vůči některým druhům bakterií rodu *Pseudomonas* (Knepper et al. 2011). Signální obrana, kterou se rostlina chrání před patogeny, je složena ze dvou základních složek, z nichž jedna je specifická aktivní obrana vyvolaná efektory, tzv. ETI (effector-triggered immunity), a v konkrétním experimentu s huseníčkem (*Arabidopsis*) byla spuštěna díky NDR1 proteinu (McNeece et al. 2017). NDR1 protein může být zahrnut v signálních procesech buňky i adhezi k buněčné stěně.

Dalším kandidátem je At14a (At3g28300) protein, který má podle aminokyselinové sekvence tři domény podobné  $\beta$  doméně integrinu s identitou okolo 30 % (Nagpal and Quatrano 1999). At14a je protein obsahující 385 aminokyselin. Jeho cDNA byla izolována imunoscreeingem cDNA knihovny protilátkami proti živočišným integrinům (Nagpal and Quatrano 1999, Lü et al. 2012). Byla zjištěna exprese genů pro At14a v celé rostlině, ve větším množství ale v kořenech a listech (Nagpal and Quatrano 1999).

At14a podle výsledků Lü a spoluautorů (Lü et al. 2007, 2012) reguluje tvar buňky a adhezi mezi buňkami díky interakci mezi plazmatickou membránou, buněčnou stěnou a cytoskeletem. Dá se předpokládat, že protein At14a přímo interaguje s cytoskeletem. V rámci experimentu byl srovnáván divoký genotyp huseníčku (*Arabidopsis*) s overexprimujícími liniemi AT14A a liniemi *at14a* postrádajícími funkční kopii genu. U divokého kmenu byly v buněčné kultuře v 95 % případů pozorovány oválné tvary buněk, u *at14a* mutanta byl charakteristický kulatý tvar buněk a u buněk overexprimující linie AT14A byl tvar elipsoidní až oválný (viz. obr. 5). U mutanta *at14a* byl také pozorován větší výskyt plasmolyzovaných buněk během dalších experimentů. At14a také reguluje adhezi mezi buňkami, protože buňky *at14a* mutantního genotypu netvořily v buněčné kultuře téměř žádné řetízky na rozdíl od buněk divokého genotypu (Lü et al. 2012).

Důležitým experimentem bylo zjišťování lokalizace At14a proteinu, kdy byly vytvořeny mikrofrakce z divokého typu a z transgenní rostliny a došlo se k závěru, že protein je přítomen nejen v membránové ale v menší míře i v cytoplazmatické frakci. Cytoplazmatická lokalizace, která nekorespondovala s předpokládanou membránovou lokalizací proteinu, byla odůvodňována jako důsledek overexprese nebo kontaminace cytoplazmatické frakce frakcí membránovou, což se ale nepotvrdilo (Nagpal and Quatrano

1999). Podobný vzorec lokalizace byl později pozorován i u fúze At14a s GFP (pod 35S promotorem), kdy proteiny byly jak v plazmatické membráně, tak po celé cytoplasmě (Lü et al. 2012). Dle recentních výsledků se ukázalo, že protein At14a by mohl být zodpovědný také za odpověď na stres vyvolaný suchem (Wang et al. 2015).



**Obr. 5 – Lokalizace aktinových filament u buněk s různou expresí At14a**, aktin je fluorescenčně značen pomocí protilátky pro F-aktin (levý sloupec; vpravo je identický objekt dokumentovaný ve světlém poli) u tří genotypů: Columbia (divoký genotyp), *at14a-1* (nulová mutace), AT14A (overexprese) (Lü et al. 2012).

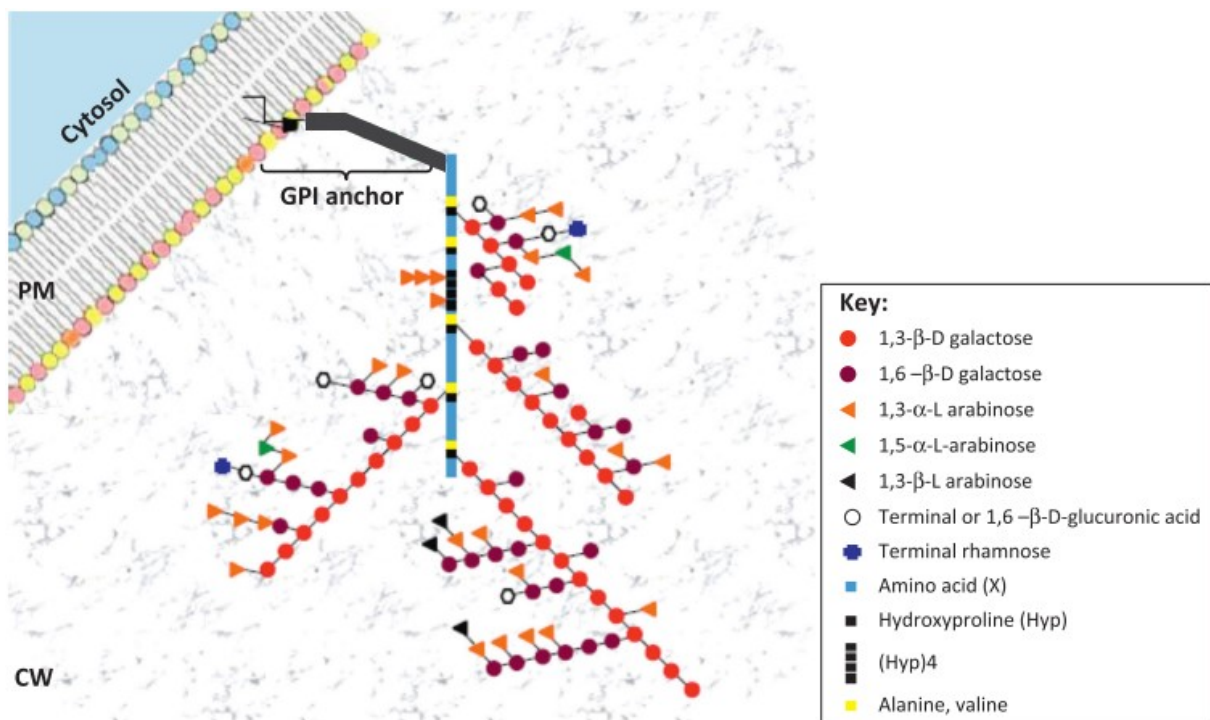
Z dosavadních experimentů je tedy možno shrnout, že interakce prostřednictvím RGD sekvence může u rostlin hrát roli v adhezi plazmalemy s buněčnou stěnou a ovlivňovat tak

U *Arabidopsis thaliana* byla kromě *AT14a* nalezena skupina genů, které jsou mu podobné, jedná se o geny kódující At14a-like proteiny. Patří sem i s membránou asociovaný protein At14a-like1 (AFL1), u kterého byla nalezena malá doména podobná At14a, i živočišným  $\beta 1$  integrinům. AFL1 je důležitý pro růst rostliny během sucha (Kumar et al. 2015). Pohled na lokalizaci podél plazmatické membrány těchto proteinů přinesl experiment doktora Kumara a jeho týmu. Podle výsledků těchto autorů se zdá, že AFL1 interaguje s endomembránovými proteiny a také s formacemi klatrinových váčků a nemusí se jednat o transmembránový protein (Kumar et al. 2015).

různé procesy včetně růstu buňky nebo odolnosti vůči osmotickému stresu. Charakterizace zapojených proteinů je však teprve na začátku.

#### 4.4. Arabinogalaktanové proteiny (AGP)

Arabinogalaktanové proteiny (AGP) jsou dalšími kandidáty na možnou roli v adhezi plazmalemy a buněčné stěny. AGP jsou proteiny patřící do skupiny arabinogalaktanů II. typu (Hinz et al. 2005). Tato skupina glykoproteinů patří také spolu s extensiny do rodiny glykoproteinů bohatých na hydroxyprolin, které sestávají z O-glykosylovaného jádra proteinu, typicky glykosylovaného arabinózou a galaktanem, což je také odlišuje od jiných proteinů bohatých na hydroxyprolin (Gaspar et al. 2001b). Kromě hydroxyprolinu mohou mít také velké množství alaninu, threoninu a serinu. Ze sacharidů nemají jen arabinózu a galaktózu, mohou obsahovat v proměnlivém množství i rhamnózu, fukózu, dále kyselinu glukuronovou (Obr. 6). Sacharidy tvoří 90% makromolekuly AGP a pouze 10% je proteinová část (Sardar et al. 2006, Renard et al. 2014).

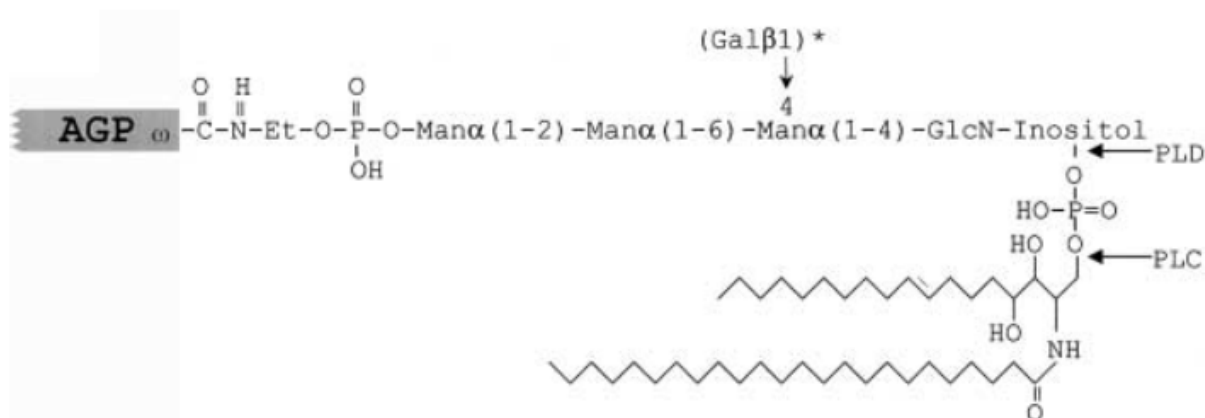


Obr. 6 – Arabinogalaktanový protein navázaný přes GPI kotvu v plazmatické membráně (PM) do prostoru buněčné stěny (CW) (Nguema-ona et al. 2013)

Polysacharidový řetězec AGP je v základu složen z  $\beta$ -(1,3)-galaktanového řetězce, který je přerušován  $\beta$ -(1,6)-galaktopyranózovým řetězcem zakončeným nejčastěji arabinofuranózovými zbytky (Tan et al. 2010, 2013, Tryfona et al. 2012, Renard et al. 2014). Arabinogalaktanové (AG) řetězce vznikají za pomoci enzymů glykosyltransferáz (GT). O-glykosylaci AGP iniciují hydroxyprolin-galaktosyltransferázy (Hyp-GALT), které připojují galaktózu k hydroxyprolinu v proteinové části AGP. U dvojitého mutantu hydroxyprolin-galaktosyltransferáz (*galt2galt5*), který vykazuje 31% snížení hydroxyprolin-galaktosylázové aktivity, dochází k mnoha fenotypovým změnám zahrnujícím urychlenou senescenci listů, bobtnání kořenové čepičky v reakci na salinitu nebo nižší citlivost k inhibici růstu kořene za použití činidla  $\beta$ -Yariv (barvivo, které se specificky váže na AGP, viz dále), což dokládá význam AGP a především jeho sacharidové části v růstu a vývoji rostliny (Basu et al. 2016, Showalter and Basu 2016).

Arabinogalaktanové proteiny jsou často rozdělovány na takzvané klasické a neklasické. Klasické AGP jsou složeny ze tří částí: N-terminální části, která slouží jako sekreční signál a u zralého proteinu chybí, střední hydrofobní domény bohaté na hydroxyprolin, alanin, serin a threonin a C-terminální transmembránové domény. C-terminální doména může u zralých proteinů chybět a bývá nahrazována ethanolaminem, dále také inositolem, glukosaminem a manózou, což jsou známé složky u GPI (glykofosfatidylinositolové) kotvy (Hooper 1997, Youl et al. 1998). GPI je tzv. membránová kotva, kotvící proteiny prostřednictvím ethanolaminfosfátu, syntetizovaná enzymovými komplexy asociovanými s endoplazmatickým retikulem. Proteiny, které by měly být modifikovány přidáním GPI, jsou kotranslačně vkládány do endoplazmatického retikula, kde mají volnou C-terminální doménu, která je během navázání GPI rozštěpna (Gillmor et al. 2005). U určitých proteinů dochází po navázání na GPI kotvu ke zvýšení rychlosti laterálního pohybu v membráně, někdy se účastní signálních procesů. U živočichů směřuje proteiny k apikální straně membrány polarizovaných epiteliálních buněk (Hooper 1997, Schultz et al. 1998, Oxley and Bacic 1999).

Je tedy zřejmé, že AGP jsou zpracovávány skrze sekretorickou dráhu a dochází u nich k posttranslační modifikaci na C-terminální doméně, k navázání GPI kotvy (Obr. 7) (Seifert and Roberts 2007). Po navázání přechází AGP proteiny spolu již s GPI kotvou z membrány endoplazmatického retikula do membrány Golgiho aparátu a odsud jsou sekretovány na plazmatickou membránu, kde může docházet k jejich dalším úpravám. Mohou být například substrátem pro fosfolipázy C a D, které je mohou odštěpit a uvolnit do prostoru buněčné stěny (Showalter 2001).



**Obr. 7 – Struktura glykosilfosfatidylinositolové kotvy (Showalter 2001)**

Kromě klasických AGP rozlišujeme ještě skupinu takzvaně ne-klasických, kam řadíme strukturně podobné proteiny, ale jsou zde odlišnosti v doméně polypeptidového jádra. Patří sem tři skupiny: AGP bohaté na lysin, fasciclin-like (FLA) AGP proteiny a AGP proteiny s velmi krátkými peptidy, zhruba s 10-13 aminokyselinami (Showalter 2001, Schultz et al. 2002). Právě fasciclin-like AGP proteiny by mohly mít roli v adhezi plazmalemy k buněčné stěně. Tyto proteiny mají jednu nebo dvě specifické domény označované jako H1 a H2 (MacMillan et al. 2010, Jun and Xiaoming 2012). U těchto domén se předpokládá, že by mohly napomáhat adhezi. Tento předpoklad vychází z toho, že u octomilky (*Drosophila*) a také u člověka se tato doména podílí na buněčné adhezi (Johnson et al. 2003).

Biologická funkce FLA proteinů u rostlin ještě nebyla úplně objasněna, známe zatím pouze několik fenotypů mutantních rostlin. Například mutant *sos5* (salt overly sensitive 5) má bodovou mutaci ve druhé doméně, což se projevuje tenčí buněčnou stěnou, bobtnáním buněk kořenové čepičky, a také zvýšenou citlivostí na salinitu (Jun and Xiaoming 2012). Gen *SOS5* kóduje adhezivní protein potřebný pro správnou buněčnou expanzi. Tento protein obsahuje N-terminální signální sekvenci, dvě AGP-like domény, dvě fasciclin-like domény a C-terminální doménu, kterou je kotven skrze GPI k extracelulární straně plazmatické membrány (Shi et al. 2003).

FLA proteiny se také zřejmě podílejí na regulaci biosyntézy sekundární buněčné stěny ve stonku huseničku (*Arabidopsis*). Konkrétně u *AtFLA11* a *AtFLA12* byla nalezena vysoká míra exprese ve stonku a dvojitý mutant *atfla11atfla12* vykazoval menší mechanickou pevnost stonku a snížený obsah celulózy v buněčných stěnách kompenzovaný mírně zvýšeným obsahem ligninu (MacMillan et al. 2010). Je tedy patrné, že *AtFLA11* a *12*



ovlivňují depozici celulózy a vlastnosti buněčné stěny, ale přesný mechanismus zatím není znám.

Existuje několik modelů vyvozujících funkci AGP v signálních drahách (viz shrnutí Pereira 2015). První model je takový, že specifické sacharidy mohou být štěpeny a poté se dostávají do extracelulárního prostoru, kde působí. Ve druhém modelu se spekuluje o štěpení GPI kotvy, která je poté také účastníkem signálních drah (Schultz et al. 1998; Showalter 2001). Třetí model se zabývá možností, že by AGP fungují jako chelátory a navazují vápenaté ionty, čímž dochází ke kontrole vylévání vápníku a jeho zapojení v signálních kaskádách (Lamport and Várnai 2012).

Řada recentních prací ukazuje význam AGP proteinů a jejich funkce. Zapojení AGP v regulaci polarizovaného růstu a orientování kortikálních mikrotubulů naznačuje např. fenotyp *rebl-1* (root epidermal bulger 1) mutanta. Tento mutant je u různých autorů také označován jako *uge4* (UDP-glukóza 4 – epimeráza 4) nebo *rhd1* (root hair defective 1) a má nabobtnalé některé, mnohdy všechny rhizodermální buňky a má zhruba o 30 % menší množství AGP oproti divokému typu (Ding and Zhu 1997, Andème-Onzighi et al. 2002). *REBL* gen patří do skupiny genů, které kódují UDP-glukóza-epimerázy a je zřejmě aktivní při syntéze D-galaktózy. Bylo zjištěno, že zatímco protilátky na pektin poskytují stejný výsledek u mutanta i u divokého genotypu, protilátky na AGP barví u divokého genotypu všechny rhizodermální buňky včetně trichoblastů, a jeden z experimentů ukazuje, že u mutanta pouze atrichoblasty (Andème-Onzighi et al. 2002). V rámci tohoto experimentu bylo vyzorováno, že buňky mutanta mají tenčí rhizodermální buněčné stěny a také neorganizované případně úplně chybějící mikrotubuly u trichoblastů. Jiná práce s tímto výsledkem nesouhlasí a ukazuje ve svých výsledcích, že u mutanta dochází k chybám jak v trichoblastech, tak v atrichoblastech (Uehara et al. 2014).

Účast AGP v interakci mezi kořenem a mikrobiálními organismy v půdě prokazují experimenty s mutantem *rat1* (resistant to *Agrobacterium* transformation). Tento mutant má zasažený gen *AtAGP17* kódující lysinem bohatý AGP protein a je rezistentní vůči transformaci pomocí *agrobakteria*. AGP nejspíše ovlivňují kolonizaci kořene mikrobiálními organismy, protože ošetření kořenů divokého genotypu huseníčku (*Arabidopsis*)  $\beta$ -Yarivem ( $\beta$ -galaktosyl-Yariv – činidlo, vázající se na  $\beta$ -1-3-galaktan arabinogalaktanových proteinů) vedlo také ke snížení frekvence transformací kořene. Z toho byl vyvozen závěr, že AGP jsou zahrnuty v prvotním rozpoznávání a uchycování *agrobakteria* ke kořeni nebo v přenosu signálu dále směrem k potlačení obranných mechanismů rostliny bránících infekčnímu procesu (Gaspar et al. 2004). Druhý zmiňovaný mechanismus se opírá o zjištění, že u *rat1*

mutanta dochází k menšímu poklesu hladiny kyseliny salicylové v odpovědi na přítomnost agrobakteria a tedy k menšímu potlačení systémové reakce na patogena (citace Gaspar2004).

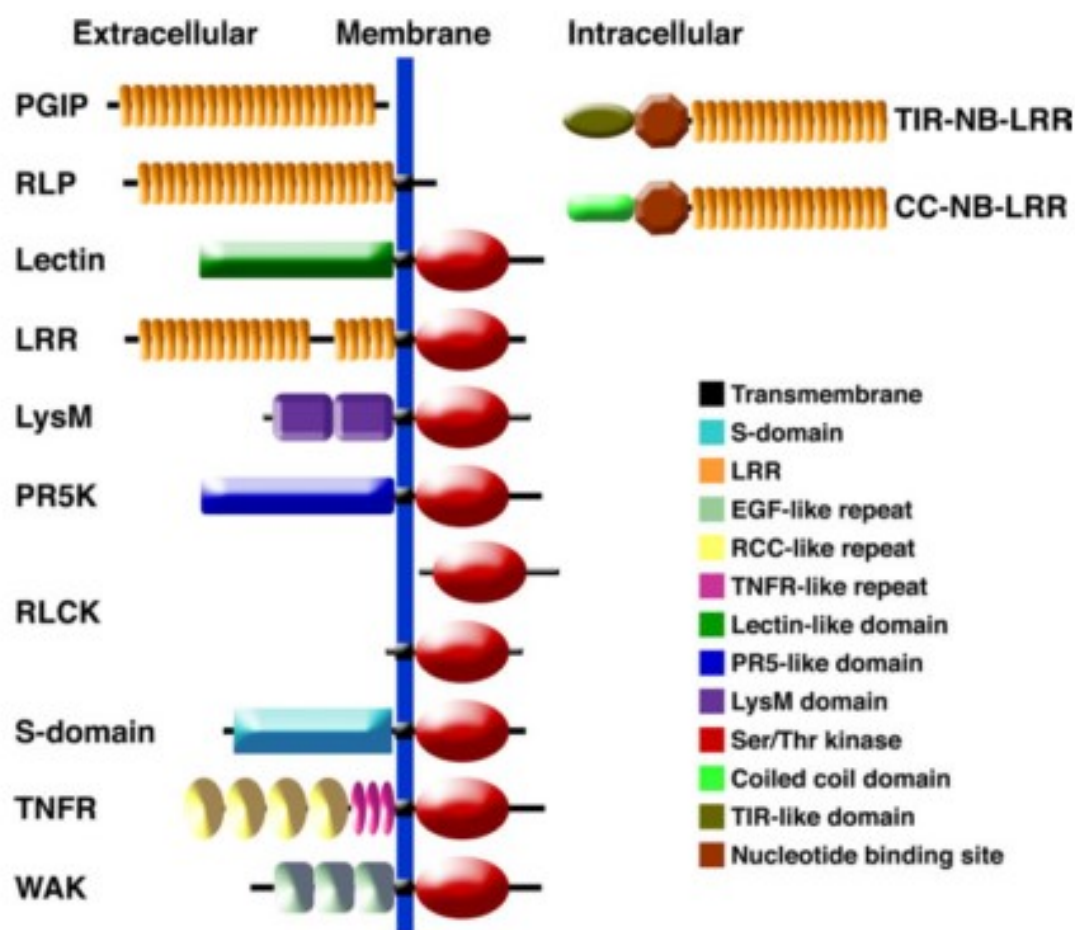
Všechny tyto experimenty naznačují, že by se AGP mohly mimo dalších funkcí účastnit také přímé adheze plazmatické membrány k buněčné stěně, ale zatím žádný z experimentů nebyl schopný popsat úplný mechanismus funkce těchto proteinů.

#### **4.5. Transmembránové kinázy**

Velkou skupinou proteinů plazmatické membrány s předpokladem účasti na adhezi plazmalemy s buněčnou stěnou jsou tzv. receptor-like kinázy (RLK) s extracelulární doménou, která interaguje s komponentami buněčné stěny. Jedná se o velkou hojně rozšířenou rodinu genů, která u huseníčku (*Arabidopsis*) čítá více než 600 členů nebo u rýže (*Oryza*) 1000 členů (Shiu and Bleecker 2001, Shiu et al. 2003). Konkrétním příkladem RLK jsou například WAK (Wall associated kinase) kinázy vázající se na pektiny a tudíž u nich předpokládáme určitou účast na adhezi (Kohorn and Kohorn 2012). RLK jsou strukturně podobné receptor-tyrozinovým kinázám, které nacházíme u některých druhů živočichů. U rostlin byly nalezeny dva typy transmembránových kináz a to velmi rozšířený typ Serin/Threonin kinázy (STK) a méně rozšířený typ receptorové histidinové kinázy (Shiu and Bleecker 2001, Shiu et al. 2003). Histidinové kinázy zprostředkovávají odpovědi na ethylen (Bleecker and Kende 2000), cytokinin (Inoue et al. 2001).

RLK jsou transmembránové proteiny s N-terminální extracelulární doménou, C-terminální intracelulární kinázovou doménou a transmembránovou částí. Extracelulární doména slouží nejspíše k vnímání signálu a intracelulární doména šíří signál dál. Příbuznými RLK jsou pak receptor-like cytoplazmatické kinázy (RLCK) které postrádají extracelulární doménu (Baluška et al. 2003, Shiu et al. 2004, Morillo and Tax 2006).

RLK se rozdělují podle své extracelulární domény na řadu podskupin, např. RLK s repetitivy bohatými na leucin (LRR), lektinem, lysinovým motivem (LysM) nebo také kinázy asociovanými s buněčnou stěnou (WAK). Rozdělení je viditelné na obr. 8.

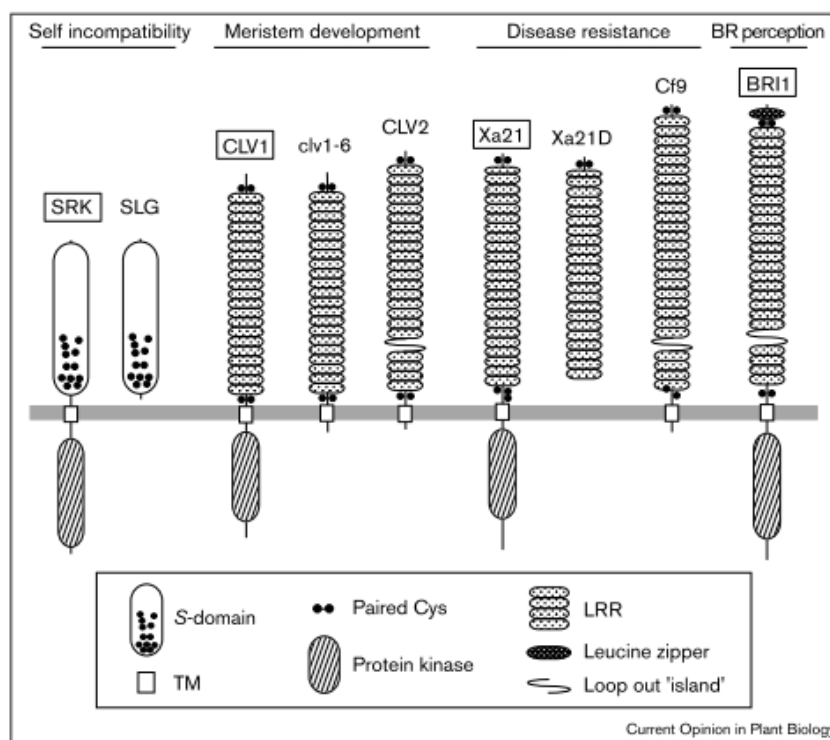


**Obr. 8 – Schématické rozdělení transmembránových kináz (Tor et al. 2009)**

Pokud bychom RLK rozdělili dle jejich funkce, tak bychom je členili do několika kategorií (Obr. 9) – první zahrnuje takové kinázy, které kontrolují rostlinný růst a vývoj, příkladem jsou ERECTA, CLAVATA, BRI1 (brassinosteroid insensitive 1) nebo CRINKLY4. Druhou kategorií by byly takové RLK, které se účastní obrany před patogeny (Bohm et al. 2014). Příkladem je Xa21 u rýže (*Oryza sativa*), což je protein zapojený v rezistenci k bakteriálním patogenům. U *Arabidopsis* je to například FLS2 (flagellin sensitive 2) pro vnímání bakteriálního proteinu flagellinu (Shiu et al. 2004). FLS2 kóduje protein s extracelulární doménou bohatou na leucin – leucin rich repeat (LRR), transmembránovou doménu a intracelulární kinázovou doménu (Gómez-Gómez and Boller 2000). Další skupinou jsou takové, které se účastní interakce s mikrobiálním partnerem při ustanovování symbiózy (Kelly et al. 2017).

Na příkladu proteinu CLAVATA můžeme demonstrovat mechanismus funkce receptor-like kináz, kde je ligandem protein. Gen *CLAVATA* (*CLV*) je důležitý pro udržení

rovnováhy mezi buněčnou proliferací a formací listového a květního meristému u *Arabidopsis*. *CLV1* (*CLAVATA1*) zachovává rovnováhu inhibicí proliferace, kóduje LRR-RLK (Clark et al. 1995, Trotochaud 1999, Torii 2000). Inhibici proliferace naznačuje mutant *clv1*, který má abnormálně velký meristéum (Clark et al. 1993). Pro funkci *CLAVATA1* je nutné navázání proteinového ligandu k její extracelulární receptorové doméně, čímž se zaktivuje intracelulární kinázová aktivita. Ligandem je mobilní peptid *CLV3* (Clark et al. 1993, Trotochaud 1999, Lenhard et al. 2003) patřící mezi CLE (*clavata3/endosperm surrounding region*) (Gao and Guo 2012). Proteinem strukturně podobným *CLV1* je *CLV2*. *CLV2* kóduje LRR-RLK s transmembránovou doménou a krátkým cytoplazmatickým koncem. Protein *CLV2* je důležitý pro akumulaci *CLV1* a předpokládá se, že může tvořit heterodimerního partnera proteinu *CLV1*. Novější práce charakterizující *clv1-3* mutantní rostliny však naznačují jejich alespoň částečně se nepřekrývající role (Kayes and Clark 1998, Jeong et al. 1999, Somssich et al. 2016). Strukturně podobným genem *CLV1* je mimo jiné také gen *ERECTA*, kde extracelulární doména obsahuje 21 tandemů LRR a intracelulární protein kinázovou doménu. Tento protein je důležitý pro správnou elongaci rostlinných orgánů (Trotochaud 1999).



**Obr. 9 – Strukturní topologie receptor-like kináz a jejich receptor-like proteinů (Torii 2000)**  
 SKR – S-receptor-like kináza , CLV - CLAVATA , Xa21 - protein zapojený v rezistenci k bakteriálním patogenům, BRI1 - brassinosteroid insensitive 1

Z výše uvedeného mechanismu funkce komplexu CLAVATA 1-3 je patrné, že se nebude účastnit přímého fyzického propojení plazmalemy s buněčnou stěnou, což platí i pro celou řadu dalších kináz s podobným mechanismem funkce (např. ERECTA). Vzhledem k velkému počtu receptorových kináz je proto v následujícím textu věnována pozornost jen dvěma vybraným skupinám, u kterých dochází k vazbě extracelulární domény s komponentami buněčné stěny a mají proto předpoklad účasti v adhezi plazmatické membrány k buněčné stěně.

#### 4.5.1. WAK kinázy

Wall associated kinase (WAK) jsou kinázy patřící do skupiny receptor-like kináz, ve většině případů jejich extracelulární doména váže pektin, a to pektin tvořící síť s mikrofibrilami i pektinové fragmenty vznikající působením patogenu nebo poškozením (Kohorn et al. 2011). WAK geny kódují transmembránový protein se serin-threoninovou kinázovou doménou v cytoplazmě a extracelulární doménou s podobností tzv. EGF-like (epidermal growth faktor obratlovců) doménou (Verica and He 2002). Extracelulární doména má pět izoform, které jsou exprimovány v různých rostlinných buňkách, všechny tyto izoformy obsahují EGF-like doménu. Těchto pět genů se u *Arabidopsis thaliana* nachází na jednom chromozomu. Nejvíce zastoupeny jsou WAK1 a WAK2, nacházíme je ve vegetativních meristémeh, v místech buněčného růstu, bývají indukovány patogenní nákazou a také mechanickým poraněním (Lally et al. 2001, Wagner and Kohorn 2001, Rosli et al. 2013), někdy je také můžeme najít v květech. U WAK1 kinázy bylo zjištěno, že se dokáže vázat na pektin, polygalakturonovou kyselinu a oligogalaturonidy, především ale na takové látky, které jsou ve své konformaci udržované vápenatými ionty ve složitějších strukturách – u pektinů nazývané ‚egg box‘ a také jsou demetylované (Decreux and Messiaen 2005). Kromě WAK4 jsou všechny WAK exprimovány ve vegetativních částech rostlin. WAK4 bývá exprimována v šesulích (Decreux and Messiaen 2005). U zkoumaného mutantu *wak1*, u kterého došlo ke ztrátě funkce, byla zjištěna menší senzitivita k oligogalakturonidům a větší náchylnost k patogenní nákaze (Wolf 2017).

Mimo WAK kináz byl objeveno také 26 genů kódující WAK-like (WAKL) kinázy. Jedná se o větší skupinu genů, u které ještě není úplně známá přesná lokalizace (Kohorn et al. 2006). WAK-like kinázy mají mnoho strukturních podobností s WAK kinázami, na svém N-konci obsahují hydrofobní část, která může cílit proteiny do endoplazmatického retikula (Verica et al. 2003). Ukazuje se, že by také mohly mít určitou funkci v adhezi (Verica et al.

2002). Příkladem je WAKL6, který byl zkoumán v jednom z experimentů za použití protilátek, kde byl nalezen v překrývající se oblasti plazmaplazmatické membrány a buněčné stěny u zkoumaných pokožkových buněk (v těchto buňkách především z toho důvodu, že zde nedochází k autofluorescenci) (Verica et al. 2003).

Podobnost s WAK kinázami sdílejí i kinázy PERK (prolin-rich extensin-like receptor kinase), které jsou také považovány za jedny z kandidátů na proteiny zprostředkovávající adhezi plazmalemy s buněčnou stěnou (Kanneganti and Gupta 2008). U *Arabidopsis* má tato rodina 15 členů, kteří sdílejí prolinem bohatou extracelulární doménu (Nakhamchik et al. 2004). PERK4 kóduje receptorovou kinázu, která je důležitá jako odpověď na kyselinu abscisovou (ABA). Tato kináza je aktivní v brzké fázi signalizace kyseliny abscicové a její funkcí je inhibice elongace primárního kořene změnou koncentrace  $Ca^{2+}$  - je tedy pozitivním regulátorem odpovědi na ABA (Bai et al. 2009).

#### 4.5.2. CrRLK

CrRLK jsou receptor-like kinázy objevené u barvínkovce růžového (*Catharanthus roseus*). Členové této genové rodiny obsahují v extracelulární části jednu až dvě lectin-like domény (ML) s velkou sekvenční podobností k lectinu z drápatky vodní (*Xenopus laevis*) (Nibau and Cheung 2011). U této domény se předpokládá, že je schopna interagovat s polysacharidy buněčné stěny (Boisson-Dernier et al. 2011, Wolf 2017).

U huseníčku jich najdeme celkem 17 a z toho jen u některých byla objasněna jejich funkce (Cheung and Wu 2011). THESEUS1 (THE1), FERONIA (FER) a HERCULES1 (HERK1) jsou mimo jiné důležité pro elongaci buňky vyvolanou brassinosteroidy (Wolf et al. 2012). THE1 je jeden z kandidátů možných senzorů signalizace v buněčné stěně. Bylo pozorované, že ztrátou funkce tohoto genu dochází u *cesa6* mutanta (mutant postrádající funkční gen kódující CESA6 podjednotku celulózasyntázy) k potlačení fenotypu mutantních rostlin. *Cesa6* mutant má typický trpasličí vzrůst, menší obsah celulózy v buněčných stěnách a výraznější lignifikaci. Pokud je však *cesa6* mutace kombinována se ztrátou funkce genu *THE1*, tyto fenotypové projevy mizí (Hématy et al. 2007, Denness et al. 2011). To naznačuje, že by se THE1 mohla účastnit vnímání mechanických vlastností buněčné stěny nebo signalizace zprostředkovávající reakci buňky na sníženou pevnost buněčné stěny (Wolf 2017).

FER se účastní mnoha signalizačních drah zahrnujících fytohormony jako ABA, auxin nebo ethylen (Wolf 2017). FER také obsahuje lectin-like doménu, ale zatím není

objasněno, zda vůbec a jakým mechanismem dochází k navazování sacharidů, jestli je to přes tuto doménu. Nicméně bylo zjištěno, že extracelulární doména FER váže peptid RALF1 (rapid alkalization factor 1) a tato vazba vede k inhibici transportu protonů na plazmatické membráně a zastavení růstu buňky (Haruta et al. 2014). Bylo pozorováno, že *fer* mají defekty v růstu kořenových vlásků a řadu dalších defektů (Cheung and Wu 2011).

Dalšími zástupci jsou ANXUR1/2 (ANX1/2), paralogy FER exprimované v pylu. Jsou důležité pro růst pylové láčky, protože ovlivňují vlastnosti její buněčné stěny (Nibau and Cheung 2011, Wolf et al. 2012, Wolf 2017).

## 5. Adheze membrány v místě Casparyho proužku

V rostlinných buňkách endodermis a také exodermis nacházíme modifikace zvané Casparyho proužky, které vznikají ukládáním ligninu, případně suberinu do buněčné stěny, a tím tvoří apoplastickou bariéru, přes kterou není schopna procházet voda a v ní rozpuštěné látky (Enstone et al. 2003, Naseer et al. 2012, Geldner 2013b). Tyto proužky se ukládají v místě specifické membránové domény, která vzniká hromaděním specifických proteinů, z nichž nejdůležitější jsou CASP (Casparian strip membrane domain protein) (Roppolo et al. 2011).

V místě této membránové domény dochází také ke specifické adhezi mezi plazmatickou membránou a buněčnou stěnou, která je zřetelná při navození plazmolýzy buněk endodermis či exodermis. Ty vytvoří již výše zmíněnou páskovou plazmolýzu a nedojde k odloučení plazmalemy v místě domény Casparyho proužků (CSD) (Karahara et al. 2004). Vzhledem k tomu, že je tato adheze důležitá pro funkci endodermis či exodermis jako apoplastické bariéry, tak je zajímavou otázkou, jaké makromolekuly ji zajišťují. Některé recentní práce předpokládají, že za tuto adhezi jsou zodpovědné CASP (Alassimone et al. 2010, Roppolo et al. 2011, Roppolo and Geldner 2012), ale přímé experimentální důkazy chybí

Casparian strip membrane domain proteiny (CASP) jsou proteiny se čtyřmi transmembránovými doménami, které se kumulují v membránové doméně Casparyho proužku a napomáhají lokalizaci proteinů nezbytných pro depozici ligninu (Roppolo et al. 2014). Např. určují pozici specifických peroxidáz, které jsou podstatné pro tvorbu proužku (Lee et al. 2013).

Dalším možným kandidátem zapojeným v adhezi by mohla být SCHENGEN3 (SGN3), receptorová kináza bohatá na leucin. Přestože je SGN3 lokalizována v blízkosti CSD, tak se její přímá role v adhezi nepotvrdila (Pfister et al. 2014). Recentní práce zjistily

její roli v signální kaskádě zapojené do tvorby Casparyho proužku. Jedná se konkrétně o CIF-SGN3-SGN1 signální modul, kde CIF je tzv. Casparian strip integrity factor, SCHENGEN3 je LRR-RLK a SCHENGEN1 (SGN1) je cytoplazmatická receptor-like kináza (Doblas et al. 2017). Ve stéle je syntetizován CIF peptid a poté je transportován k SGN3 kináze, která se nachází v místě budoucí apoplastické bariéry. CIF peptid aktivuje tuto kinázu a tento signál následně aktivuje SCHENGEN1 (SGN1) (Doblas et al. 2017). Tento signál by mohl ovlivňovat tloušťku endodermální bariéry.

## 6. Závěr

Na základě veškeré přečtené literatury se nedá jednoznačně určit, který jeden konkrétní z proteinů nebo mechanismů stojí za přímým propojením mezi buněčnou stěnou a plazmatickou membránou. Některé z experimentálních prací ukazovaly jasné kandidáty, zato jiné práce měly odlišné výsledky u stejného zkoumaného proteinu a docházelo k rozporupným výsledkům. Reálnými kandidáty by mohly být proteiny s RGD sekvencí. Ukázalo se, že po aplikaci syntetických RDG peptidů dochází k viditelným změnám adheze, pozorovatelným během plazmolýzy buňky. U dalších kandidátů (např. WAK, AGP), které by mohly zprostředkovávat vazbu mezi plazmatickou membránou a buněčnou stěnou, jsou jejich funkce charakterizovány jen částečně a jejich přímá role v adhezi není zcela vyjasněná.

Lze tedy říci, že přestože je přímé propojení plazmatické membrány s buněčnou stěnou známo už dlouhou dobu z mikroskopických pozorování, tak je až překvapivé, že se ví pouze málo o jeho molekulárních mechanismech a zapojených proteinech. V souvislosti s Casparyho proužkem bych se tomuto tématu chtěla nadále věnovat i ve své diplomové práci.



## 7. Seznam použité literatury

- Alassimone, J., S. Naseer, and N. Geldner. 2010. A developmental framework for endodermal differentiation and polarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:5214–5219.
- Andème-Onzighi, C., M. Sivaguru, J. Judy-March, T. I. Baskin, and A. Driouich. 2002. The *reb1-1* mutation of *Arabidopsis* alters the morphology of trichoblasts, the expression of arabinogalactan-proteins and the organization of cortical microtubules. *Planta* 215:949–958.
- Anderson, C. M., T. A. Wagner, M. Perret, Z. He, D. He, and B. D. Kohorn. 2001. WAKs : cell wall-associated kinases linking the cytoplasm to the extracellular matrix. *Plant Molecular Biology* 47:197–206.
- Atmodjo, M. a., Z. Hao, and D. Mohnen. 2013. Evolving Views of Pectin Biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology* 64:747–779.
- Bai, L., G. Zhang, Y. Zhou, Z. Zhang, W. Wang, Y. Du, Z. Wu, and C. Song. 2009. Plasma membrane-associated proline-rich extensin-like receptor kinase 4 , a novel regulator of Ca<sup>2+</sup> signalling , is required for abscisic acid responses in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 1:314–327.
- Baluška, F., J. Šamaj, P. Wojtaszek, D. Volkmann, and D. Menzel. 2003. Cytoskeleton-Plasma Membrane-Cell Wall Continuum in Plants . Emerging Links Revisited. *Plant Physiology* 133:482–491.
- Barczyk, M., and S. Carracedo. 2010. Integrins. *Cell Tissue Research* 339:269–280.
- Basu, D., L. Tian, T. Debrosse, E. Poirier, K. Emch, H. Herock, A. Travers, and A. M. Showalter. 2016. Glycosylation of a Fasciclin-Like Root Growth and Seed Mucilage Adherence via a Cell Wall Receptor-Like Kinase ( FEI1 / FEI2 ) Pathway in *Arabidopsis*. *PLOS ONE*:1–27.
- Bleecker, A. B., and H. Kende. 2000. Ethylene: A Gaseous Signal Molecule in Plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 16:1–18.
- Bohm, H., I. Albert, and L. Fan. 2014. Immune receptor complexes at the plant cell surface. *Current Opinion in Plant Biology* 2:47–54.
- Boisson-Dernier, A., S. A. Kessler, and U. Grossniklaus. 2011. The walls have ears : the role of plant CrRLK1Ls in sensing and transducing extracellular signals. *Journal of Experimental Botany* 62:1581–1591.
- Bonnett, H. T. 1968. the Root Endodermis: Fine Structure and Function. *The Journal of Cell Biology* 37:199–205.
- Bringmann, M., E. Li, A. Sampathkumar, T. Kocabek, M. Hauser, and S. Persson. 2012. POM-POM2 / CELLULOSE SYNTHASE INTERACTING1 Is Essential for the Functional Association of Cellulose Synthase and Microtubules in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 24:163–177.
- Century, K. S., A. D. Shapiro, P. P. Repetti, D. Dahlbeck, E. Holub, and B. J. Staskawicz. 1997. *NDR1*, a Pathogen-Induced Component Required for *Arabidopsis* Disease Resistance. *Science* 278:1963–1965.

- Clark, S. E., M. P. Running, and E. M. Meyerowitz. 1993. *CLAVATA1*, a regulator of meristem and flower development in *Arabidopsis*. *Development* 119:397–418.
- Clark, S., M. Running, and E. Meyerowitz. 1995. *CLAVATA3* is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same processes as *CLAVATA1*. *Development* 121:2057–2067.
- Coppinger, P., P. P. Repetti, B. Day, D. Dahlbeck, A. Mehlert, and B. J. Staskawicz. 2004. Overexpression of the plasma membrane-localized NDR1 protein results in enhanced bacterial disease resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal* 40:225–237.
- Cvrčková, F. 2013. Formins and membranes: anchoring cortical actin to the cell wall and beyond. *Frontiers in Plant Science* 4:1–7.
- Damus, M., R. L. Peterson, D. E. Enstone, and C. A. Peterson. 1997. Modifications of cortical cell walls in roots of seedless vascular plants. *Botanica Acta* 110:190–195.
- Debolt, S., W.-R. Schreiber, K. Schrick, M. Auer, F. Beisson, V. Bischoff, A. Carroll, K. Hematy, Y. Li, J. Milne, M. Nair, P. Bouvier-nave, H. Schaller, M. Zemla, and C. Somerville. 2009. Mutations in UDP-Glucose : Sterol Glucosyltransferase in *Arabidopsis* Cause Transparent Testa Phenotype and Suberization Defect in Seeds. *Plant Physiology* 151:78–87.
- Decreux, A., and J. Messiaen. 2005. Wall-associated Kinase WAK1 Interacts with Cell Wall Pectins in a Calcium-induced Conformation. *Plant Cell Physiology* 46:268–278.
- Deeks, M. J., P. J. Hussey, B. Davies, and P. J. Hussey. 2002. Formins : intermediates in signal-transduction cascades that affect cytoskeletal reorganization. *Trends in Plant Science* 7:492–498.
- Denness, L., J. F. Mckenna, C. Segonzac, A. Wormit, P. Madhou, M. Bennett, J. Mansfield, C. Zipfel, and T. Hamann. 2011. Cell Wall Damage-Induced Lignin Biosynthesis Is Regulated by a Reactive Oxygen Species- and Jasmonic Acid-Dependent Process in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 156:1364–1374.
- Desprez, T., M. Juraniec, E. F. Crowell, H. Jouy, Z. Pochylova, F. Parcy, H. Höfte, M. Gonneau, and S. Vernhettes. 2007. Organization of cellulose synthase complexes involved in primary cell wall synthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:15572–7.
- Ding, L., and J. Zhu. 1997. A role for arabinogalactan-proteins in root epidermal cell expansion. *Planta* 203:289–294.
- Doblas, V. G., E. Smakowska-luzan, S. Fujita, J. Alassimone, M. Barberon, M. Madalinski, Y. Belkhadir, and N. Geldner. 2017. Root diffusion barrier control by a vasculature-derived peptide binding to the SGN3 receptor. *Science* 284:280–284.
- Domozych, D. S., R. Roberts, C. Danyow, R. Flitter, B. Smith, and K. Providence. 2003. Plasmolysis, hechtian strand formation, and localized membrane-wall adhesions in the desmid, *Closterium acerosum* (Chlorophyta). *Journal of Phycology* 39:1194–1206.
- Driouich, A., M.-L. Follet-Gueye, S. Bernard, S. Kousar, L. Chevalier, M. Vicré-Gibouin, and O. Lerouxel. 2012. Golgi-mediated synthesis and secretion of matrix polysaccharides of the primary cell wall of higher plants. *Frontiers in Plant Science* 3:79.
- Endler, A., and S. Persson. 2011. Cellulose synthases and synthesis in *Arabidopsis*. *Molecular*

Plant 4:199–211.

- Endler, A., R. Schneider, C. Kesten, E. R. Lampugnani, and S. Persson. 2016. The cellulose synthase companion proteins act non-redundantly with CELLULOSE SYNTHASE INTERACTING1 / POM2 and CELLULOSE SYNTHASE 6. *Plant Signaling & Behavior* 11:1–4.
- Endo, S., E. Pesquet, M. Yamaguchi, G. Tashiro, M. Sato, K. Toyooka, N. Nishikubo, M. Udagawa-motose, M. Kubo, H. Fukuda, and T. Demura. 2009. Identifying New Components Participating in the Secondary Cell Wall Formation of Vessel Elements in *Zinnia* and *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 21:1155–1165.
- Enstone, D. E., and C. A. Peterson. 1997. Suberin deposition and band plasmolysis in the corn. *Canadian Journal of Botany* 75:1188–1199.
- Enstone, D. E., C. A. Peterson, and F. Ma. 2003. Root Endodermis and Exodermis: Structure, Function, and Responses to the Environment. *Journal of Plant Growth Regulation* 21:335–351.
- Espino, J., G. Gutie, and C. Gonza. 2010. The *Botrytis cinerea* early secretome. *Proteomics* 10:3020–3034.
- Gao, X., and Y. Guo. 2012. CLE Peptides in Plants : Proteolytic Processing , Structure-Activity Relationship , and Ligand-Receptor Keywords : *Journal of Integrative Plant Biology* 54:738–745.
- Gaspar, Y., K. L. Johnson, J. A. McKenna, A. Bacic, and C. J. Schultz. 2001a. The complex structures of arabinogalactan-proteins and the journey towards understanding function. *Plant Molecular Biology* 47:161–176.
- Gaspar, Y., K. L. Johnson, J. A. McKenna, A. Bacic, and C. J. Schultz. 2001b. The complex structures of arabinogalactan-proteins and the journey towards understanding function. *Plant Molecular Biology* 47:2–5.
- Gaspar, Y. M., J. Nam, C. J. Schultz, L. Lee, P. R. Gilson, S. B. Gelvin, and A. Bacic. 2004. Characterization of the *Arabidopsis* Lysine-Rich That Results in a Decreased Efficiency of *Agrobacterium* Transformation. *Plant Physiology* 135:2162–2171.
- Geldner, N. 2013a. Casparian strips. *Current Biology* 23:R1025–R1026.
- Geldner, N. 2013b. The Endodermis. *Advance* 64:1–28.
- Gillmor, C. S., W. Lukowitz, G. Brininstool, J. C. Sedbrook, T. Hamann, P. Poindexter, and C. R. Somerville. 2005. Glycosylphosphatidylinositol-Anchored Proteins Are Required for Cell Wall Synthesis and Morphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 17:1128–1140.
- Gómez-Gómez, L., and T. Boller. 2000. FLS2: An LRR Receptor-like Kinase Involved in the Perception of the Bacterial Elicitor Flagellin in *Arabidopsis*. *Molecular Cell* 5:1003–1011.
- Gu, Y., and C. R. Somerville. 2010. Cellulose synthase interacting protein: a new factor in cellulose synthesis. *Plant Signaling & Behavior* 5:1571–1574.
- Haruta, M., G. Sabat, K. Stecker, B. B. Minkoff, and M. R. Sussman. 2014. A Peptide Hormone and Its Receptor. *Science* 343:408–412.
- Hématy, K., P.-E. Sado, A. Van Tuinen, S. Rochange, T. Desnos, S. Balzergue, S. Pelletier,

- J.-P. Renou, and H. Höfte. 2007. A receptor-like kinase mediates the response of Arabidopsis cells to the inhibition of cellulose synthesis. *Current biology* 17:922–931.
- Higgs, H. N., and K. J. Peterson. 2005. Phylogenetic Analysis of the Formin Homology 2 Domain. *Molecular Biology of the Cell* 16:1–13.
- Hinz, S. W. A., R. Verhoef, H. A. Schols, J. P. Vincken, and A. G. J. Voragen. 2005. Type I arabinogalactan contains  $\beta$ -D-Galp-(1→3)- $\beta$ -D-Galp structural elements. *Carbohydrate Research* 340:2135–2143.
- Hooper, N. M. 1997. Glycosyl-phosphatidylinositol anchored membrane enzymes. *Elsevier* 266:3–12.
- Humphries, J. D., and M. J. Humphries. 2006. Integrin ligands at a glance. *Journal of Cell Science* 1:3901–3903.
- Hynes, R. O. 2002. Integrins: Bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 110:673–687.
- Cheung, A. Y., and H. Wu. 2011. THESEUS 1, FERONIA and relatives: a family of cell wall-sensing receptor kinases? *Current Opinion in Plant Biology* 14:632–641.
- Iiyama, K., T. Lam, and B. a. Stone. 1994. Covalent Cross-Links in the Cell Wall. *Plant physiology* 104:315–320.
- Inoue, T., M. Higuchi, Y. Hashimoto, and M. Seki. 2001. Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from Arabidopsis. *Microscopy Society of America* 409:875–876.
- Jeong, S., A. E. Trotochaud, and S. E. Clark. 1999. The Arabidopsis CLAVATA2 gene encodes a receptor-like protein required for the stability of the CLAVATA1 receptor-like kinase. *Plant Cell* 11:1925–34.
- Johnson, K. L., B. J. Jones, A. Bacic, and C. J. Schultz. 2003. The Fasciclin-Like Arabinogalactan Proteins of Arabidopsis . A Multigene Family of Putative Cell Adhesion Molecules 1. *Plant Physiology* 133:1911–1925.
- Jun, L., and W. Xiaoming. 2012. Genome-wide identification , classification and expression analysis of genes encoding putative fasciclin-like arabinogalactan proteins in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.). *Molecular Biology Reports* 39:10541–10555.
- Kanneganti, V., and A. K. Gupta. 2008. Wall associated kinases from plants – an overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 14:109–118.
- Karahara, I., A. Ikeda, T. Kondo, and Y. Uetake. 2004. Development of the Casparian strip in primary roots of maize under salt stress. *Planta* 219:41–47.
- Kayes, J. M., and S. E. Clark. 1998. CLAVATA2 , a regulator of meristem and organ development in Arabidopsis. *Development* 125:3843–3851.
- Kelly, S., S. Radutoiu, and J. Stougaard. 2017. Legume LysM receptors mediate symbiotic and pathogenic signalling. *Current Opinion in Plant Biology* 39:152–158.
- Kiba, a., M. Sugimoto, K. Toyoda, Y. Ichinose, T. Yamada, and T. Shiraishi. 1998. Interaction between Cell Wall and Plasma Membrane via RGD Motif is Implicated in Plant Defense Responses. *Plant and Cell Physiology* 39:1245–1249.
- Knepper, C., E. A. Savory, and B. Day. 2011. Arabidopsis NDR1 Is an Integrin-Like Protein with a Role in Fluid Loss and Plasma Membrane-Cell Wall Adhesion. *Plant Physiology*

156:286–300.

- Kohorn, B. D. 2000. Plasma Membrane-Cell Wall Contacts. *Cell* 124:31–38.
- Kohorn, B. D. 2016. Cell wall-associated kinases and pectin perception. *Journal of Experimental Botany* 67:489–494.
- Kohorn, B. D., M. Kobayashi, S. Johansen, J. Riese, L. Huang, K. Koch, S. Fu, A. Dotson, and N. Byers. 2006. An Arabidopsis cell wall-associated kinase required for invertase activity and cell growth. *The Plant Journal* 46:307–316.
- Kohorn, B. D., and S. L. Kohorn. 2012. The cell wall-associated kinases , WAKs , as pectin receptors. *Frontiers in Plant Science* 3:1–5.
- Kohorn, B. D., S. L. Kohorn, T. Todorova, G. Baptiste, K. Stansky, and M. McCullough. 2011. A Dominant Allele of Arabidopsis Pectin-Binding Wall-Associated Kinase Induces a Stress Response Suppressed by MPK6 but Not MPK3 Mutations. *Molecular Plant* 5:841–851.
- Kumar, M. N., Y.-F. Hsieh, and P. E. Verslues. 2015. At14a-Like1 participates in membrane-associated mechanisms promoting growth during drought in Arabidopsis thaliana. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112:10545–10550.
- Lally, D., P. Ingmire, H. Tong, and Z. He. 2001. Antisense Expression of a Cell Wall – Associated Protein Kinase , WAK4 , Inhibits Cell Elongation and Alters Morphology. *The Plant Cell* 13:1317–1331.
- Lampert, D. T. A., and P. Várnai. 2012. Periplasmic arabinogalactan glycoproteins act as a calcium capacitor that regulates plant growth and development. *New Phytologist* 197:58–64.
- Langhans, M., W. Weber, L. Babel, M. Grunewald, and T. Meckel. 2017. The right motifs for plant cell adhesion : what makes an adhesive site? *Protoplasma* 254:95–108.
- Lee, Y., M. C. Rubio, J. Alassimone, and N. Geldner. 2013. A Mechanism for Localized Lignin Deposition in the Endodermis. *Cell* 153:402–412.
- Lenhard, M., T. Laux, B. Iii, U. Freiburg, and D.- Freiburg. 2003. Stem cell homeostasis in the Arabidopsis shoot meristem is regulated by intercellular movement of CLAVATA3 and its sequestration by CLAVATA1. *Development* 130:3163–3173.
- Lerouxel, O., D. M. Cavalier, A. H. Liepman, and K. Keegstra. 2006. Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides - a complex process. *Current Opinion in Plant Biology* 9:621–630.
- Li, S., L. Lei, C. R. Somerville, and Y. Gu. 2012. Cellulose synthase interactive protein 1 ( CSI1 ) links microtubules and cellulose synthase complexes. *PNAS* 109:185–190.
- Liu, Z., S. Persson, and C. Sánchez-Rodríguez. 2015. At the border: the plasma membrane-cell wall continuum. *Journal of Experimental Botany* 66:1553–1563.
- Lü, B., F. Chen, Z. H. Gong, H. Xie, J. H. Zhang, and J. S. Liang. 2007. Intracellular localization of integrin-like protein and its roles in osmotic stress-induced abscisic acid biosynthesis in Zea mays. *Protoplasma* 232:35–43.
- Lü, B., J. Wang, and Y. Zhang. 2012. AT14A mediates the cell wall–plasma membrane–cytoskeleton continuum in Arabidopsis thaliana cells. *Journal of Experimental Botany*

63:695–709.

- MacMillan, C. P., S. D. Mansfield, Z. H. Stachurski, R. Evans, S. G. Southerton, C. Science, and C. South. 2010. Fasciclin-like arabinogalactan proteins : specialization for stem biomechanics and cell wall architecture in *Arabidopsis* and *Eucalyptus*. *The Plant Journal* 62:689–703.
- Manning, V. A., S. M. Hamilton, P. A. Karplus, and L. M. Ciuffetti. 2008. The Arg-Gly-Asp – Containing , Solvent-Exposed Loop of Ptr ToxA Is Required for Internalization. *MPMI* 21:315–325.
- Martinie, A., P. Gayral, C. Hawes, J. Runions, L. Sciences, G. Lane, and O. Ox. 2011. Building bridges : formin1 of *Arabidopsis* forms a connection between the cell wall and the actin cytoskeleton. *The Plant Journal* 66:354–365.
- McFarlane, H. E., A. Doring, and S. Persson. 2014. The Cell Biology of Cellulose Synthesis. *Annual Reviews* 65:69–94.
- McNeece, B. T., S. R. Pant, K. Sharma, P. Niruala, G. W. Lawrence, and V. P. Klink. 2017. A Glycine max homolog of NON-RACE SPECIFIC DISEASE RESISTANCE 1 (NDR1) alters defense gene expression while functioning during a resistance response to different root pathogens in different genetic backgrounds. *Plant Physiology and Biochemistry* 114:60–71.
- Mohnen, D. 2008. Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology* 11:266–277.
- Morillo, S. A., and F. E. Tax. 2006. Functional analysis of receptor-like kinases in monocots and dicots. *Current Opinion in Plant Biology* 9:460–469.
- Nagpal, P., and R. S. Quatrano. 1999. Isolation and characterization of a cDNA clone from *Arabidopsis thaliana* with partial sequence similarity to integrins. *Gene* 230:33–40.
- Nakagawa, Y., T. Katagiri, K. Shinozaki, Z. Qi, H. Tatsumi, and T. Furuichi. 2007. *Arabidopsis* plasma membrane protein crucial for Ca<sup>2+</sup> influx and touch sensing in roots. *PNAS* 104:3639–3644.
- Nakahata, A. M., N. R. Bueno, H. A. O. Rocha, C. R. C. Franco, R. Chammas, C. R. Nakaie, M. G. Jasiulionis, H. B. Nader, L. A. Santana, M. U. Sampaio, and M. L. V. Oliva. 2006. Structural and inhibitory properties of a plant proteinase inhibitor containing the RGD motif. *International Journal of Biological Macromolecules* 40:22–29.
- Nakhamchik, A., Z. Zhao, N. J. Provart, S. Shiu, S. K. Keatley, R. K. Cameron, and D. R. Goring. 2004. A Comprehensive Expression Analysis of the *Arabidopsis* Proline-rich Extensin-like Receptor Kinase Gene Family using Bioinformatic and Experimental Approaches. *Plant Cell Physiology* 45:1875–1881.
- Naseer, S., Y. Lee, C. Lapierre, R. Franke, C. Nawrath, and N. Geldner. 2012. Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignin polymer without suberin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:10101–6.
- Nguema-ona, E., M. Vicré-Gibouin, M. Cannesan, and A. Driouich. 2013. Arabinogalactan proteins in root – microbe interactions. *Trends in Plant Science* 18:440–449.
- Nibau, C., and A. Y. Cheung. 2011. New insights into the functional roles of CrRLKs in the

- control of plant cell growth and development. *Plant Signaling & Behavior* 6:5:655–659.
- Nicol, F., I. His, A. Jauneau, S. Vernhettes, H. Canut, and H. Höfte. 1998. A plasma membrane-bound putative endo-1, 4- $\beta$ -D-glucanase is required for normal wall assembly and cell elongation in Arabidopsis. *The EMBO Journal* 17:5563–5576.
- Nishikubo, N., T. Awano, A. Banasiak, V. Bourquin, F. Ibatullin, R. Funada, H. Brumer, T. T. Teeri, T. Hayashi, B. Sundberg, and E. J. Mellerowicz. 2007. Xyloglucan endotransglycosylase (XET) functions in gelatinous layers of tension wood fibers in poplar - A glimpse into the mechanism of the balancing act of trees. *Plant and Cell Physiology* 48:843–855.
- Oparka, K. J. 1994. Plasmolysis: New insights into an old process. *New Phytologist* 126:571–591.
- Oxley, D., and A. Bacic. 1999. Structure of the glycosylphosphatidylinositol anchor of an arabinogalactan protein from *Pyrus communis* suspension-cultured cells. *PNAS* 96:14246–14251.
- Pear, J. R., Y. Kawagoet, W. E. Schreckengost, D. P. Delmert, and D. M. Stalker. 1996. Higher plants contain homologs of the bacterial *celA* genes encoding the catalytic subunit of cellulose synthase. *PNAS* 93:12637–12642.
- Peng, L., Y. Kawagoe, P. Hogan, and D. Delmer. 2002. Siotsterol-beta-glucosidase as Primer for cellulose Synthesis in Plants. *Science* 295:147–150.
- Pereira, A. M. 2015. Arabinogalactan proteins : rising attention from plant biologists. *Plant Reproduction* 28:1–15.
- Persson, S., A. Paredez, A. Carroll, H. Palsdottir, M. Doblin, P. Poindexter, N. Khitrov, M. Auer, and C. R. Somerville. 2007. Genetic evidence for three unique components in primary cell-wall cellulose synthase complexes in Arabidopsis. *PNAS* 104:15566–15571.
- Pfister, A., M. Barberon, J. Alassimone, L. Kalmbach, Y. Lee, J. E. M. Vermeer, M. Yamazaki, G. Li, C. Maurel, J. Takano, T. Kamiya, D. E. Salt, D. Roppolo, and N. Geldner. 2014. A receptor-like kinase mutant with absent endodermal diffusion barrier displays selective nutrient homeostasis defects. *eLife* 3:1–20.
- Renard, D., L. Lavenant-Gourgeon, A. Lapp, M. Nigen, and C. Sanchez. 2014. Enzymatic hydrolysis studies of arabinogalactan-protein structure from Acacia gum: The self-similarity hypothesis of assembly from a common building block. *Carbohydrate Polymers* 112:648–661.
- Ridley, B. L., M. A. O’Neill, and D. Mohnen. 2001. Pectins: Structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Page Phytochemistry*.
- Rodriguez-Sanchez, C., S. Bauer, K. He, C. Sa, C. Konlechner, A. Sampathkumar, and M. Ru. 2012. CHITINASE-LIKE1 / POM-POM1 and Its Homolog CTL2 Are Glucan-Interacting Proteins Important for Cellulose Biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Cell* 24:589–607.
- Roppolo, D., B. Boeckmann, P. Alexandre, E. Boutet, M. C. Rubio, V. Déneraud-tendon, J. E. M. Vermeer, J. Gheyselinck, I. Xenarios, and N. Geldner. 2014. Functional and Evolutionary Analysis of the CASPARIAN STRIP MEMBRANE DOMAIN PROTEIN Family 1. *Plant Physiology* 165:1709–1722.

- Roppolo, D., and N. Geldner. 2012. Membrane and walls: Who is master, who is servant? *Current Opinion in Plant Biology* 15:608–617.
- Roppolo, D., B. De Rybel, V. Dénervaud Tendon, A. Pfister, J. Alassimone, J. E. M. Vermeer, M. Yamazaki, Y.-D. Stierhof, T. Beeckman, and N. Geldner. 2011. A novel protein family mediates Casparian strip formation in the endodermis. *Nature* 473:380–3.
- Rosli, H. G., Y. Zheng, M. A. Pombo, S. Zhong, A. Bombarely, Z. Fei, A. Collmer, and G. B. Martin. 2013. Transcriptomics-based screen for genes induced by flagellin and repressed by pathogen effectors identifies a cell wall-associated kinase involved in plant immunity. *Genome Biology* 14:1–15.
- Roudier, F., A. G. Fernandez, M. Fujita, R. Himmelspach, G. H. H. Borner, G. Schindelman, S. Song, T. I. Baskin, P. Dupree, G. O. Wasteneys, and P. N. Benfey. 2005. COBRA, an Arabidopsis Extracellular Glycosyl-Phosphatidyl Inositol-Anchored Protein, Specifically Controls Highly Anisotropic Expansion through Its Involvement in Cellulose Microfibril Orientation. *The Plant Cell* 17:1749–1763.
- Ryu, J., K. Mizuno, S. Takagi, and R. Nagai. 1997. Extracellular Components Implicated in the Stationary Organization of the Actin Cytoskeleton in Mesophyll Cells of Vallisneria. *Plant Cell Physiology* 38:420–432.
- Sardar, H. S., J. Yang, and A. M. Showalter. 2006. Molecular interactions of arabinogalactan proteins with cortical microtubules and F-actin in Bright Yellow-2 tobacco cultured cells. *Plant Physiology* 142:1469–79.
- Seifert, G. J., and C. Blaukopf. 2010. Irritable Walls : The Plant Extracellular Matrix. *Plant Physiology* 153:467–478.
- Seifert, G. J., and K. Roberts. 2007. The Biology of Arabinogalactan Proteins. *Annual Review of Plant Biology* 58:137–61.
- Shi, H., Y. Kim, Y. Guo, B. Stevenson, and J. Zhu. 2003. The Arabidopsis SOS5 Locus Encodes a Putative Cell Surface Adhesion Protein and Is Required for Normal Cell Expansion. *The Plant Cell* 15:19–32.
- Shiu, A. S., A. B. Bleecker, S. Shiu, and A. B. Bleecker. 2003. Expansion of the Receptor-like Kinase / Pelle Gene Family and Receptor-like Proteins in Arabidopsis. *Plant Physiology* 132:530–543.
- Shiu, S. H., and A. B. Bleecker. 2001. Plant receptor-like kinase gene family: diversity, function, and signaling. *Science's Signal Transduction Knowledge Environment*:1–13.
- Shiu, S., W. Karlowski, and R. Pan. 2004. Comparative analysis of the receptor-like kinase family in Arabidopsis and rice. *The Plant Cell* 16:1220–1234.
- Showalter, A. M. 2001. Arabinogalactan-proteins : structure , expression and function. *CMLS Cellular and Molecular Life Sciences* 58:1399–1417.
- Showalter, A. M., and D. Basu. 2016. Glycosylation of arabinogalactan-proteins essential for development in Arabidopsis. *Communicative & Integrative Biology* 0:1–6.
- Schindelman, G., A. Morikami, J. Jung, T. I. Baskin, N. C. Carpita, P. Derbyshire, M. C. Mccann, and P. N. Benfey. 2001. COBRA encodes a putative GPI-anchored protein , which is polarly localized and necessary for oriented cell expansion in Arabidopsis. *Genes and Development* 15:1115–1127.



- Schindler, M., S. Meiners, and D. A. Cheresch. 1989. RGD-dependent linkage between plant cell wall and plasma membrane: consequences for growth. *Journal of Cell Biology* 108:1955–1965.
- Schreiber, L., K. Hartmann, M. Skrabs, and J. Zeier. 1999. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. *Journal of Experimental Botany* 50:1267–1280.
- Schultz, C., P. Gilson, D. Oxley, J. Youl, and A. Bacic. 1998. GPI-anchors on arabinogalactan- proteins: implications for signalling in plants. *Trends in Plant Science* 3:426–430.
- Schultz, C. J., M. P. Rumsewicz, K. L. Johnson, B. J. Jones, and Y. M. Gaspar. 2002. Using Genomic Resources to Guide Research Directions . The Arabinogalactan Protein Gene Family as a Test Case 1. *Plant Physiology* 129:1448–1463.
- Somssich, M., B. Il Je, S. Rudiger, and D. Jackson. 2016. CLAVATA-WUSCHEL signaling in the shoot meristem. *The Company of Biologists* 143:3238–3248.
- Song, D., J. Shen, and L. Li. 2010. Characterization of cellulose synthase complexes in *Populus* xylem differentiation. *New Phytologist* 187:777–790.
- Steinwand, B. J., and J. J. Kieber. 2010. The Role of Receptor-Like Kinases in Regulating Cell. *Plant Physiology* 153:479–484.
- Stenman, S., and A. Vaheri. 1978. Distribution of a major connective tissue protein, fibronectin, in normal human tissues. *The Journal of Experimental Medicine* 22:1054–1064.
- Stockmann, A., S. Hess, P. Declerck, R. Timpl, and K. T. Preissner. 1993. Multimeric Vitronectin. *The Journal of Biological Chemistry* 268:22874–22882.
- Sun, W., Z. D. Zhao, M. C. Hare, M. J. Kieliszewski, and A. M. Showalter. 2004. Tomato LeAGP-1 is a plasma membrane-bound, glycosylphosphatidylinositol-anchored arabinogalactan-protein. *Physiologia Plantarum* 120:319–327.
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2010. *Plant Physiology, Fifth Edition*. Cell 1:782.
- Takada, Y., X. Ye, and S. Simon. 2007. The Integrins. *Genome Biology* 8:215.1-215.9.
- Tan, L., S. Eberhard, S. Pattathil, C. Warder, J. Glushka, C. Yuan, Z. Hao, X. Zhu, U. Avci, J. S. Miller, D. Baldwin, C. Pham, R. Orlando, A. Darvill, M. G. Hahn, M. J. Kieliszewski, and D. Mohnen. 2013. An Arabidopsis cell wall proteoglycan consists of pectin and arabinoxylan covalently linked to an arabinogalactan protein. *The Plant Cell* 25:270–87.
- Tan, L., P. Varnai, D. T. A. Lamport, C. Yuan, J. Xu, F. Qiu, and M. J. Kieliszewski. 2010. Plant O-hydroxyproline arabinogalactans are composed of repeating trigalactosyl subunits with short bifurcated side chains. *Journal of Biological Chemistry* 285:24575–24583.
- Tor, M., M. T. Lotze, and N. Holton. 2009. Receptor-mediated signalling in plants : molecular patterns and programmes. *Journal of Experimental Botany* 60:3645–3654.
- Torii, K. U. 2000. Receptor kinase activation and signal transduction in plants: An emerging picture. *Current Opinion in Plant Biology* 3:361–367.
- Trotochaud, A. E. 1999. The CLAVATA1 Receptor-like Kinase Requires CLAVATA3 for Its

- Assembly into a Signaling Complex That Includes KAPP and a Rho-Related Protein. *The Plant Cell* 11:393–406.
- Tryfona, T., H.-C. Liang, T. Kotake, Y. Tsumuraya, E. Stephens, and P. Dupree. 2012. Structural Characterization of Arabidopsis Leaf Arabinogalactan Polysaccharides. *Plant Physiology* 160:653–666.
- Uehara, M., S. Wang, T. Kamiya, S. Shigenobu, K. Yamaguchi, T. Fujiwara, S. Naito, and J. Takano. 2014. Identification and Characterization of an Arabidopsis Mutant with Altered Localization of NIP5 ; 1 , a Plasma Membrane Boric Acid Channel , Reveals the Requirement for D -Galactose in Endomembrane Organization Special Focus Issue – Regular Paper. *Plant and Cell Physiology* 55:704–714.
- Vain, T., E. F. Crowell, H. Timpano, E. Biot, T. Desprez, N. Mansoori, L. M. Trindade, S. Pagant, S. Robert, H. Höfte, M. Gonneau, and S. Vernhettes. 2014. The Cellulase KORRIGAN Is Part of the Cellulose. *Plant Physiology* 165:1521–1532.
- Verica, J. A., Z. He, S. P. Physiology, A. Functional, G. Jun, and K. G. Family. 2002. The Cell Wall-Associated Kinase ( WAK ) and WAK-like Kinase Gene Family. *Plant Physiology* 129:455–459.
- Verica, J. A., L. Chae, H. Tong, P. Ingmire, and Z. He. 2003. Tissue-Specific and Developmentally Regulated Expression of a Cluster of Tandemly Arrayed Cell Wall-Associated Kinase-Like Kinase Genes in Arabidopsis 1. *Plant Physiology* 133:1732–1746.
- Verica, J., and Z. He. 2002. The Cell Wall-Associated Kinase (WAK) andWAK-Like Kinase Gene Family. *Plant Physiology* 129:455–459.
- Wagner, T. A., and B. D. Kohorn. 2001. Wall-Associated Kinases Are Expressed throughout Plant Development and Are Required for Cell Expansion. *The Plant Cell* 13:303–318.
- Wang, L., J. He, H. Ding, H. Liu, B. Lü, J. Liang, L. Wang, J. He, H. D. Ding, H. Liu, B. Lü, and J. S. Liang. 2015. Overexpression of AT14A confers tolerance to drought stress-induced oxidative damage in suspension cultured cells of Arabidopsis thaliana. *Protoplasma* 252:1111–1120.
- Wolf, S. 2017. Plant cell wall signalling and receptor-like kinases. *Biochemical Journal* 474:471–492.
- Wolf, S., K. Hematy, and H. Hofte. 2012. Growth control and cell wall signaling in plants. *Annual Reviews Plant Biology* 63:381–407.
- Xiong, J.-P., T. Stehle, R. Zhang, A. Joachimiak, M. Frech, S. L. Goodman, and M. A. Arnaout. 2002. Crystal structure of the extracellular segment of integrin alpha Vbeta3 in complex with an Arg-Gly-Asp ligand. *Science* 296:151–155.
- Youl, J. J., a Bacic, and D. Oxley. 1998. Arabinogalactan-proteins from Nicotiana glauca and Pyrus communis contain glycosylphosphatidylinositol membrane anchors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:7921–7926.
- Zhu, J., B. Damsz, A. K. Kononowicz, R. A. Bressan, and P. M. Hasegawa. 1994. A Higher Plant Extracellular Vitronectin-like Adhesion s Related to the Translational Elongation Factor-I a Protein 1. *The Plant Cell* 6:393–404.
- Zhu, J. K., J. Shi, U. Singh, S. E. Wyatt, R. a Bressan, P. M. Hasegawa, and N. C. Carpita.

1993. Enrichment of Vitronectin-Like and Fibronectin-Like Proteins in NaCl-Adapted Plant-Cells and Evidence for Their Involvement in Plasma-Membrane Cell-Wall Adhesion. *Plant Journal* 3:637–646.