

AUKSYNY – WSZECHSTRONNE CZĄSTECZKI SYGNAŁOWE

AUXINS – VERSATILE SIGNALING MOLECULES

Aleksandra ECKSTEIN

Zakład Biotechnologii Roślin, Wydział Biochemii Biofizyki i Biotechnologii,
Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Streszczenie: Auksyny stanowią grupę hormonów roślinnych o bardzo szerokim spektrum działania. W szczególności główna występująca naturalnie auksyna, kwas indolilo-3-octowy (nazywany często po prostu „auksyną”), odgrywa kluczową rolę w niemal wszystkich procesach wzrostu i rozwoju, takich jak embriogeneza, organogeneza, ustalanie polarność komórek, rozwój tkanki przewodzącej, dominacja wierzchołkowa, ruchy roślin (fototropizm, grawitropizm), dojrzewanie owoców i starzenie. Tak ogromne zróżnicowanie odpowiedzi na auksynę jest możliwe dzięki regulacji aktywności tego hormonu na kilku poziomach: metabolizmu, transportu i przekazu sygnału. Istnienie kilku różnych szlaków biosyntezy auksyn oraz występowanie szeregu prekursorów i form nieaktywnych zapewnia precyzyjną, czasową i przestrzenną regulację ich stężenia w tkankach. Specyficzną cechą auksyn jest ich polarny transport w roślinie, możliwy dzięki zaangażowaniu wyspecjalizowanych białek przekaźnikowych. Spośród receptorów auksyny najlepiej poznano działanie kompleksu SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA, odpowiedzialnego za odpowiedzi transkrypcyjne na ten hormon. Dzięki oddziaływaniu z wieloma innymi szlakami sygnałowymi auksyna uczestniczy w odpowiedziach na różne czynniki środowiskowe, m. in. światło. Auksyna jest w różnym stopniu zaangażowana w regulację reakcji kontrolowanych przez receptory światła niebieskiego, fototropiny: fototropizmu, otwierania aparatów szparkowych i ruchu chloroplastów.

Słowa kluczowe: auksyna, biosynteza auksyn, polarny transport auksyn, receptory auksyn, transdukcja sygnału

Summary: Auxins are a group of plant hormones characterized by a very broad spectrum of activity. Especially the main natural auxin, indole-3-acetic acid (often called simply „auxin”), plays a key role in nearly all developmental and growth processes, such as embryogenesis, organogenesis, establishing cell polarity, vascular tissue differentiation, apical dominance, organ bending (gravitropism, phototropism), fruit ripening and senescence. Such a broad range of auxin responses is possible due to the regulation of auxin activity at different levels: metabolism, transport and signal transduction.

The existence of several biosynthetic pathways, as well as numerous precursors and inactive forms, provides the precise spatio-temporal regulation of auxin concentration in plant tissues. A unique feature of auxins is their polar transport in plants, mediated by specialized transporter proteins. Among auxin receptors, the functioning of the SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA complex, responsible for transcriptional responses, is best understood. Thanks to the cross-talk with other signaling pathways, auxin participates in responses to different environmental cues, including light. Auxin is involved, to different degrees, in the regulation of processes mediated by blue light photoreceptors, phototropins: phototropism, stomatal opening and chloroplast movement.

Keywords: auxin, auxin biosynthesis, polar auxin transport, auxin receptor, signal transduction

WIELOSTRONNE DZIAŁANIE AUKSYN W REGULACJI ROZWOJU ROŚLIN

Auksyny stanowią najwcześniej odkrytą i najlepiej poznaną grupę hormonów roślinnych, o najbardziej wszechstronnym działaniu. Początki badań nad auksynami wiążą się z odkryciem substancji wzrostowej odpowiedzialnej za fototropizm koleoptyli. Istnienie takiego czynnika zaproponowali już Charles i Francis Darwin w 1880, lecz dopiero pół wieku później wyizolowano kwas indolilo-3-octowy (IAA), główną naturalnie występującą auksynę [52]. Oprócz IAA, w roślinach występują jeszcze dwie naturalne auksyny, kwas fenylooctowy (PAA) i kwas 4-chloroindolilo-3-octowy (4-Cl-IAA), oraz szereg prekursorów i form nieaktywnych [45]. Dominującą rolę w większości procesów fizjologicznych odgrywa jednak IAA. Z tego względu IAA jest często nazywany po prostu “auksyną” i takie określenie przyjęto również w niniejszym artykule. Obecność pozostałych naturalnych auksyn stwierdzono tylko w niektórych gatunkach lub grupach taksonomicznych gdzie wydają się pełnić specyficzne role jedynie w niektórych procesach [45, 68]. Ponadto istnieje wiele syntetycznych związków o działaniu zbliżonym do naturalnych auksyn, takich jak kwas naftylo-1-octowy (NAA) lub kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) [68]. Początkowo aktywność auksynową danej substancji definiowano na podstawie zdolności do stymulacji wydłużania fragmentów koleoptyli lub pędów. Później stwierdzono, że za aktywność tę odpowiada umiejscowienie w cząsteczkach auksyn grupy karboksylowej i pierścienia aromatycznego w odległości 5,5 Å [84].

Auksyny uczestniczą w regulacji niemal wszystkich procesów wzrostowych i rozwojowych w roślinach. Na poziomie komórkowym auksyny odpowiadają za dwa podstawowe zjawiska: wzrost wydłużeniowy komórek i podziały komórkowe [68]. Dzięki temu odgrywają kluczową rolę w procesach embriogenezy, organogenezy, ustalania polarności komórek, rozwoju tkanki przewodzącej, dominacji wierzchołkowej, ruchów roślin (fototropizm, grawitropizm), dojrzewania owoców i starzenia, reakcji na stres biotyczny i abiotyczny [68]. Tak ogromne zróżnicowa-

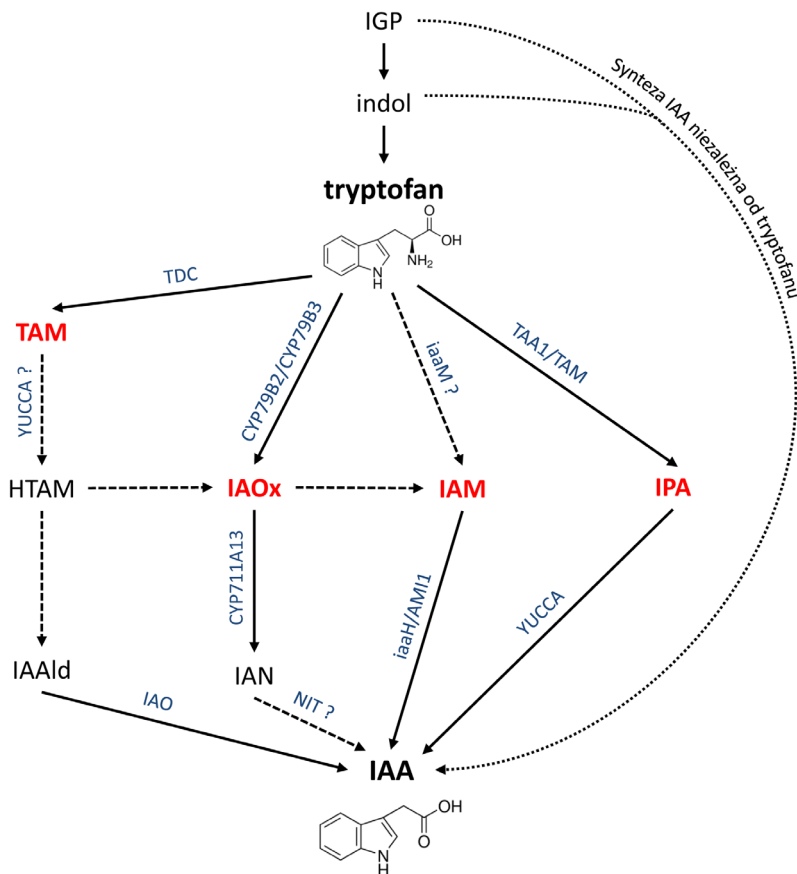
nie odpowiedzi na jeden hormon jest możliwe dzięki regulacji aktywności auksyn na kilku poziomach: metabolizmu, transportu i przekazu sygnału. Wszechstronne działanie auksyn jest też możliwe dzięki interakcjom z pozostałymi hormonami roślinnymi, a także innymi szlakami sygnałowymi, m. in. kontrolowanymi przez światło [32, 78].

BIOSYNTeza I METABOLIZM AUKSYN

W roślinach funkcjonuje równolegle kilka szlaków biosyntezy IAA: cztery zależne od tryptofanu oraz jeden niezależny od tryptofanu [22, 45, 86] (ryc. 1). Nazwy czterech szlaków wykorzystujących tryptofan jako prekursor pochodzą od związków pośrednich powstających bezpośrednio z tego aminokwasu: IAOx (indolilo-3-acetaldoxym), IAM (indolilo-3-acetamid), TAM (tryptamina) i IPA (indolilo-3-pirogronian). Spośród nich tylko szlak IPA został w pełni poznany i dokładnie scharakteryzowany w *Arabidopsis thaliana*. Składa się on z dwóch etapów: konwersji tryptofanu do IPA przez aminotransferazy tryptofanu z rodziny TAA1/TAR (ang. *Tryptophan Aminotransferase of Arabidopsis 1/Tryptophan Aminotransferase Related*), a następnie przekształcenia IPA do IAA przez monooksygenazy flawinowe z rodziny YUCCA (YUC1-11) [54, 71]. Poznano też szereg czynników transkrypcyjnych regulujących ekspresję genów *TAA1* i *YUC* [22, 39]. Szlak IPA uznaje się obecnie za główną drogę produkcji IAA w roślinach, prawdopodobnie uczestniczy on także w syntezie 4-Cl-IAA i PAA [22]. Informacje na temat pozostałych szlaków biosyntezy IAA są wciąż fragmentaryczne. Ponadto niektóre enzymy i produkty pośrednie są wspólne dla różnych szlaków, co utrudnia wyodrębnienie poszczególnych etapów w każdym z nich. Wspólną cechą szlaków IAOx, IAM i TAM jest funkcjonowanie tylko w niektórych gatunkach, organach i w określonych fazach rozwoju rośliny. Szlak IAOx jest prawdopodobnie specyficzny dla rodziny *Brassicaceae*. Pierwszym jego etapem jest konwersja tryptofanu do IAOx przez cytochrom P450 (CYP79B2 i CYP79B3 w *A. thaliana*) [100]. Do dalszych produktów pośrednich tego szlaku należą IAM i indolilo-3-acetonitryl (IAN). Ponadto część puli IAOx jest wykorzystywana do syntezy glukozynolanów indolowych, pełniących funkcje obronne. IAM może też powstawać bezpośrednio z tryptofanu w roślinach, w których nie funkcjonuje szlak IAOx [49]. Uważa się, że szlak IAM jest podobny do występującego w bakteriach: tryptofan jest przekształcany do IAM przez monooksygenazę tryptofanu (*iaaM*), a IAM do IAA przez hydrolazę indolilo-3-acetamidu (*iaaH/AMI1*). Szlak ten jest konserwatywny ewolucyjnie (występuje m. in. w glonach) i prawdopodobnie rozpowszechniony w różnych grupach taksonomicznych. Niewiele wiadomo na temat fizjologicznego znaczenia i rozpowszechnienia szlaku TAM. Zaproponowano dwa etapy tego szlaku: przekształcenie tryptofanu do TAM przez dekarboksylazę tryptofanu (TDC), a następnie TAM do hydroksytryptaminy

(HTAM) przez enzymy YUC [99]. Kolejne reakcje prowadzące do syntezy IAA nie zostały jednoznacznie zidentyfikowane; proponowane produkty pośrednie to IAox i aldehyd indolilo-3-octowy (IAAld). Najwięcej kontrowersji budzi szlak syntezy IAA niezależny od tryptofanu. Uważa się, że IAA może być produkowany bezpośrednio z prekursorów tryptofanu, indolu lub fosforanu indolilo-3-glicerolu (IGP). Nie są jednak znane dalsze produkty pośrednie ani enzymy uczestniczące w tym szlaku, a jego istnienie było niejednokrotnie kwestionowane [39]. Dopiero ostatnio wykazano, że początkowym etapem tego szlaku może być konwersja IGP do indolu przez syntazę indolu (INS) [92]. Współdziałanie różnych szlaków syntezy IAA pozwala na czasoprzestrzenną regulację stężenia tego hormonu w roślinie, co umożliwia precyzyjną kontrolę procesów zależnych od auksyny. Wciąż jednak niewiele wiadomo na temat regulacji aktywności poszczególnych szlaków syntezy auksyn oraz interakcji pomiędzy nimi.

Za utrzymanie homeostazy auksynowej odpowiadają nie tylko procesy syntezy, lecz również inaktywacji auksyn [45]. Auksyny mogą być przekształcane w szereg form nieaktywnych, w części przypadków w sposób odwracalny. Główne role procesów inaktywacji to ochrona przed toksycznym działaniem auksyn w warunkach ich nadmiaru oraz szybka i precyzyjna regulacja stężenia wolnych auksyn w komórce. Uważa się, że auksyny pochodzące z różnych puli form zapasowych mogą pełnić specyficzne funkcje. Główną drogą inaktywacji auksyn jest tworzenie koniugatów estrowych lub amidowych [4, 45, 51]. Udział poszczególnych rodzajów koniugatów w puli nieaktywnych form auksyny może się znacznie różnić w zależności od gatunku rośliny, a także fazy rozwoju. Koniugaty estrowe powstają przez kowalencyjne połączenie auksyny z cukrami prostymi lub złożonymi. Najlepiej poznany jest proces powstawania IAA-glukozy i IAA-*myo*-inozytolu. Przyłączenie glukozy do IAA jest katalizowane przez UDP glukozylotransferazy, po czym reszta IAA jest przenoszona z glukozy na *myo*-inozytol przez indolilo-3-acetylotransferazę. Oba te koniugaty mogą być hydrolizowane w celu uwolnienia IAA [4, 45, 51]. Auksyny tworzą też koniugaty amidowe z aminokwasami, peptydami i białkami. Najbardziej rozpowszechnione są koniugaty aminokwasowe, zwłaszcza połączenia IAA z alaniną (Ala), leucyną (Leu), kwasem asparaginowym (Asp), kwasem glutaminowym (Glu) i tryptofanem (Trp). Są one syntetyzowane przez enzymy należące do grupy II rodziny GH3 (ang. *Gretchen Hagen3*) [93]. Koniugaty aminokwasowe różnią się właściwościami, m. in. podatnością na hydrolizę, i w związku z tym mogą pełnić specyficzne funkcje. Zidentyfikowano szereg enzymów hydrolizujących wiązanie amidowe między IAA a aminokwasami: ILR1 (ang. *IAA-Leucine Resistant1*), ILL1, 2, 3 i 5 (ang. *Ilr1-Like*) oraz IAR3 (ang. *IAA-Alanine Resistant3*) [45]. Wykazują one największe powinowactwo do IAA-Ala i IAA-Leu, co wskazuje na funkcję zapasową tych koniugatów. Koniugaty z Glu i Asp nie ulegają natomiast hydrolizie, a zatem uczestniczą prawdopodobnie w degradacji auksyn. Ostatnio wykazano,



RYCINA 1. Szlaki biosyntezy auksyn w roślinach. Na czerwono zaznaczono kluczowe związki pośrednie w poszczególnych szlakach, na niebiesko – enzymy. Linie ciągłe przedstawiają zidentyfikowane reakcje, linie przerywane – przemiany, których dokładny przebieg nie jest znany. CYP, cytochrom P450; HTAM, hydroksytryptamina; IAA, kwas indolilo-3-octowy; IAAld, aldehyd indolilo-3-octowy; IAox, indolilo-3-acetaldoksym; IAAld, aldehyd indolilo-3-octowy; iaam, monooksygenaza tryptofanu; IAM, indolilo-3-acetamid; IAN, indolilo-3-acetonitryl; IAo, oksydaza aldehydu indolilo-3-octowego; IAox, indolilo-3-acetaldoksym; IGP, indolilo-3-glicerofosforan; IPA, indolilo-3-pirogronian; NIT, nitylaza; TAA1/TAM, aminotransferaza tryptofanu; TAM, tryptamina; TDC, dekarboksylaza tryptofanu; YUCCA, monooksygenaza flawinowa. Na podstawie [22, 45, 86]

FIGURE 1. Auxin biosynthesis pathways in plants. Key intermediates are marked in red, enzymes in blue. Solid lines indicate known reactions, dashed lines – processes which are not fully understood. CYP, cytochrom P450; HTAM, hydroxytryptamine; IAA, indole-3-acetic acid; IAAld, indole-3-acetaldehyde; iaah/AMI1, indole-3-acetamide hydrolase; iaam, tryptophan monoxygenase; IAM, indole-3-acetamide; IAN, indole-3-acetonitrile; IAo, indole-3-acetaldehyde oxygenase; IAox, indole-3-acetaldoxime; IGP, indole-3-glycerol phosphate; IPA, indole-3-pyruvate; NIT, nitrilase; TAA1/TAM, tryptophan aminotransferase; TAM, tryptamine; TDC, tryptophan decarboxylase; YUCCA, flavin monoxygenase. Based on [22, 45, 86]

że IAA-Asp może również pełnić rolę sygnałową w odpowiedziach na stres [60]. Znacznie mniej wiadomo na temat występowania i funkcji koniugatów auksyn z peptydami i białkami. Przypuszcza się, że mogą one pełnić dwojaką funkcję: jako forma zapasowa auksyn i jako modyfikacja potranslacyjna białek [51]. Kolejną nieaktywną formą auksyny jest ester metylowy IAA (MeIAA). W *A. thaliana* IAA jest metylowany przez metylotransferazę karboksylową IAMT1 (ang. *IAA carboxymethyltransferase1*), a MeIAA może być hydrolizowany przez esterazy z rodziny *AtMES* [45]. Ze względu na niepolarny charakter, MeIAA może być efektywnie transportowany w roślinie na drodze dyfuzji, niezależnie od przENOŚNIKÓW auksynowych. Dzięki temu MeIAA może służyć do szybkiej modulacji lokalnych stężeń i gradientów auksynowych [50]. Ważną formą zapasową auksyny jest też kwas indolilo-3-masłowy (IBA), uważany dawniej za jedną z naturalnych auksyn [72]. IBA pełni co prawda specyficzne funkcje w niektórych procesach fizjologicznych, zwłaszcza podczas rozwoju siewek, lecz nie ma jednoznacznych dowodów, że posiada on aktywność auksynową. Uważa się, że za efekty działania IBA odpowiada w istocie powstający z tego prekursora IAA. Mechanizm syntezy IBA nie jest znany, natomiast jego konwersja do IAA zachodzi w peroksisomach na drodze β -oksydacji. Dotychczas zidentyfikowano cztery enzymy uczestniczące w przekształceniu IBA do IAA: IBR1, 3 i 10 (ang. *Indole-3-Butyric acid Response*) oraz ECH2 (ang. *Enoyl-CoA Hydratase2*) [72]. IBA jest transportowany w roślinie niezależnie od IAA, przy pomocy innych przENOŚNIKÓW. Dotychczas zidentyfikowano dwa białka odpowiedzialne za wpływ IBA z komórki, ABCG36 i ABCG37, a także białko transportujące IBA do wnętrza peroksisomów, PXA1/ABCD1 [72]. IBA tworzy koniugaty zarówno estrowe jak i amidowe, lecz niewiele wiadomo na temat ich funkcji [4].

TRANSPORT AUKSYN

Cechą wyróżniającą auksyny spośród innych hormonów roślinnych jest system ich polarnego transportu. W pędzie auksyny są wytwarzane w młodych, rosnących tkankach (merystem wierzchołkowy, młode liście) i transportowane bazy-petalnie, w kierunku podstawy. Transport auksyn w korzeniu zachodzi natomiast w dwóch kierunkach: akropetalnie (z pędu do wierzchołka korzenia) w tkankach walca osiowego i bazypetalnie (od wierzchołka do podstawy korzenia) w epidermie. Dzięki temu możliwe jest tworzenie w roślinie gradientów auksynowych, które odgrywają kluczową rolę w podstawowych procesach rozwojowych, takich jak ustalanie polarności komórek i tkanek, filotaksja, organogeneza czy ustalanie wzorca wiązek przewodzących w liściu [90], a także w tropizmach (fototropizm, geotropizm) [98]. Koncepcja polarnego transportu auksyny oparta jest na założeniach teorii chemiosmotycznej [64]. Tylko niezdysojowana forma IAA może

przenikać przez błonę komórkową na drodze dyfuzji. W apoplacie (pH 5,5) większość IAA występuje jednak w formie zdysocjowanej (IAA^-) i jest aktywnie transportowana do wnętrza komórki na zasadzie symportu z protonami przez białka z rodziny AUX/LAX (ang. *Auxin/Like-AUX*) [62]. W cytozolu (pH 7,2) IAA występuje niemal wyłącznie w formie anionowej i jego wypływ z komórki wymaga udziału specyficznych przenośników. Należą do nich przede wszystkim białka PIN [2], a także transportery ABCB (ang. *ATP-Binding Casette subfamily B*) [34]. Polarny transport auksyny w tkance możliwy jest dzięki asymetrycznemu rozmieszczeniu białek transportujących auksynę w błonie komórkowej. Ponadto auksyna może być szybko transportowana na duże odległości w roślinie przez tkanki przewodzące, przede wszystkim floem [5].

Podrodzina AUX/LAX należy do rodziny permeaz AAAP transportujących aminokwasy i auksyny [96]. W *A. thaliana* obejmuje ona cztery białka: AUX1, LAX1, 2 i 3, [62]. Transportery AUX/LAX wykazują zróżnicowaną ekspresję w zależności od tkanki, dzięki czemu pełnią specyficzne funkcje w różnych procesach fizjologicznych [62]. W przypadku AUX1 stwierdzono też różną lokalizację w błonie komórkowej różnych typów komórek: polarną (np. komórki protofloemu i epidermy korzenia) lub apolarną (np. komórki kolumelli i boczne komórki czapeczki korzeniowej) [77, 79]. Za polarne rozmieszczenie AUX1 odpowiada mechanizm jego aktywno-zależnej relokacji pomiędzy błoną komórkową a endosomami za pośrednictwem transportu pęcherzykowego [42]. Polarna lokalizacja AUX1 jest też zależna od białka AXR4 o nieznanym dokładnie funkcji, należącego do rodziny α/β hydrolaz [20] oraz od zawartości steroli w błonie komórkowej [42]. Ponadto poszczególne białka AUX/LAX różnią się specyficznością substratową w stosunku do syntetycznych auksyn, NAA i 2,4-D [53, 62, 76]. AUX1 jest jedynym białkiem z rodziny AUX/LAX uczestniczącym w grawitropizmie korzeni [8, 53, 62]. Białka AUX1 i PIN2 transportują auksynę z miejsca percepcji sygnału grawitropicznego (komórki kolumelli) do miejsca odpowiedzi grawitropicznej (epiderma strefy elongacyjnej), tworząc gradient auksynowy powodujący asymetryczny wzrost i wygięcie korzenia [79]. AUX1 odgrywa również ważną rolę w rozwoju włośników, aczkolwiek nie ulega ekspresji w komórkach włośnikowych [36]. Przenośniki AUX1 występujące w komórkach sąsiadujących z komórkami włośnikowymi, wraz z PIN2 zapewniają utrzymanie lokalnego wysokiego stężenia auksyny koniecznego do wzrostu włośników. AUX1 występuje też w komórkach zawiązków korzeni bocznych, lecz do ich rozwoju konieczna jest aktywność LAX3 w sąsiadujących tkankach [76]. Wykazano, że LAX3 odpowiada za przestrzenną regulację indukowanej przez auksynę ekspresji enzymów hydrolizujących ścianę komórkową, które umożliwiają przebicie się zawiązka korzenia przez komórki kory pierwotnej. AUX1 i LAX3 współdziałają także w tworzeniu wygięcia szczytowej części hipokotyla [89]. Z kolei białko LAX2 jest konieczne do prawidłowego rozwoju wiązek przewodzących w liściach [62].

Filotaksja jest natomiast przykładem procesu, w którym uczestniczą wszystkie cztery białka AUX/LAX, wykazując częściową redundancję funkcjonalną [3].

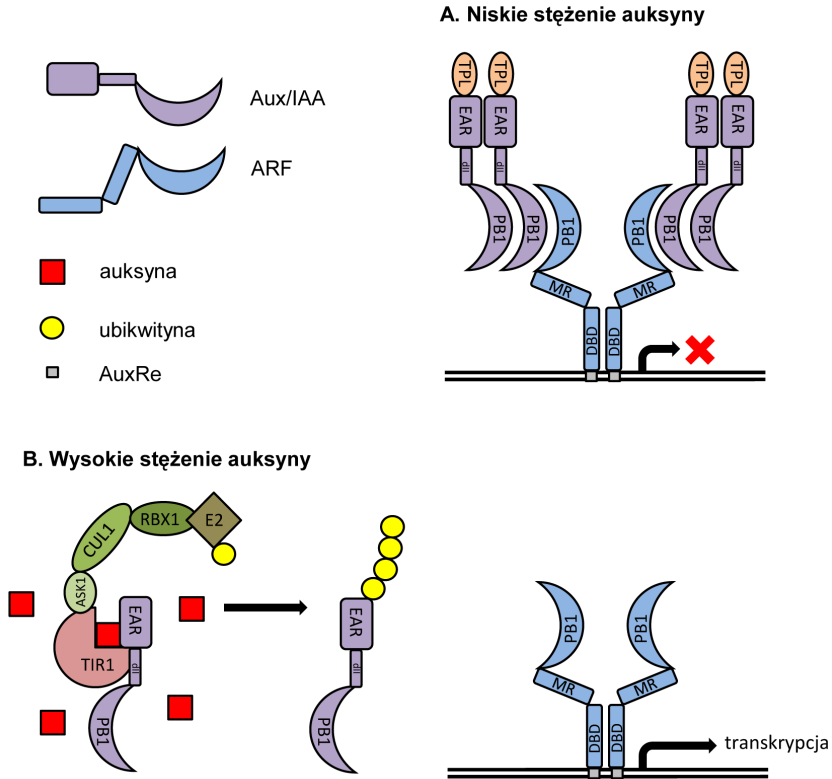
W wypływie auksyny z komórki główną rolę odgrywa rodzina przenośników PIN (ang. *PIN-formed*), składająca się z ośmiu białek (PIN1-8) w *A. thaliana* [47]. Można je podzielić na dwie grupy: „długie” (PIN1, PIN2, PIN3, PIN4, PIN7) i „krótkie” (PIN5, PIN6, PIN8). Białka należące do pierwszej grupy charakteryzuje centralna hydrofilowa pętla oddzielająca dwie domeny hydrofobowe, nieobecna w drugiej podrodzinie białek PIN. „Długie” białka PIN występują w błonie komórkowej, natomiast „krótkie” – w błonie retikulum endoplazmatycznego (ER). Ekspresja poszczególnych białek PIN jest specyficzna tkankowo, co wiąże się z ich funkcjonowaniem w różnych procesach fizjologicznych [47]. Mimo to białka PIN wykazują pewną redundancję funkcjonalną i inaktywacja jednego z nich (np. w wyniku mutacji) może być kompensowana ekspresją pozostałych [91]. Polarna lokalizacja białek PIN w błonie komórkowej odpowiada za tworzenie gradientów auksynowych, kluczowych dla prawidłowego rozwoju rośliny [7]. Już we wczesnej embriogenezie białka PIN1, 3, 4 i 7 uczestniczą w ustalaniu osi apikalno-bazalnej zarodka [28]. Te same białka biorą udział w tworzeniu wygięcia szczytowej części hipokotyli [98]. W ustalaniu gradientów auksynowych w korzeniu i kontroli jego rozwoju uczestniczą wszystkie „długie” białka PIN, występujące w różnych grupach komórek [10]. Rozwój części nadziemnych rośliny jest natomiast zależny głównie od PIN1. Białko to odgrywa główną rolę w rozwoju liścieni, liści i kwiatów, rozwoju wiązek przewodzących i ustalaniu kształtu liścia [2]. Działanie białek PIN, a tym samym transport auksyny, podlegają regulacji na trzech poziomach: polarnej lokalizacji, ilości transporterów w błonie komórkowej oraz ich aktywności [59]. Podobnie jak w przypadku AUX1, za asymetryczne rozmieszczenie przenośników PIN odpowiada ciągły recykling tych białek między błoną komórkową a endosomami, lecz mechanizm leżący u podłoża tego procesu jest inny. Internalizacja białek PIN zachodzi na drodze klatryno-zależnej endocytozy [21]. Kierunek relokacji białek PIN jest specyficznie regulowany przez różne białka ARF-GEF, wymieniające GDP na GTP na białkach ARF należących do małych białek G i uczestniczących w opłaszczaniu pęcherzyków [43]. Najlepiej poznane jest działanie białka GNOM, odpowiedzialnego za bazalną lokalizację PIN1 [70]. Dynamiczny charakter recyklingu białek PIN umożliwia szybką zmianę ich lokalizacji w błonie komórkowej, a tym samym gradientów auksynowych w tkance. Ma to istotne znaczenie w niektórych procesach rozwojowych, np. rozwoju zarodka, tworzeniu korzeni bocznych [7, 28], oraz odpowiedziach tropicznych [23, 63]. Asymetryczna lokalizacja białek PIN jest dodatkowo stabilizowana przez tworzenie przez nie agregatów w błonie komórkowej [44] i oddziaływanie ze ścianą komórkową [27]. Polarne rozmieszczenie białek PIN jest ponadto regulowane przez kinazę PID (ang. *PINOID*), która odpowiada za lokalizację apikalną, oraz przez fosfatazę PP2A, która odpowiada za lokalizację bazalną [55].

Znacznie mniej wiadomo na temat funkcjonowania “krótkich” białek PIN, występujących w błonie ER. Uważa się, że ich główną funkcją jest regulacja homeostazy auksynowej przez kierowanie auksyn do ER, gdzie mogą one być inaktywowane przez koniugację [24, 56]. Podobną funkcję pełni niedawno odkryta rodzina białek PILS (ang. *PIN-Likes*) [6].

W transporcie auksyn uczestniczy też kilka białek ABCB (ang. *ATP-Binding Cassette B*): ABCB1, 4, 14, 15, 19 i 21 [34]. W przypadku ABCB 1, 4, 19 i 21 potwierdzono ich aktywność jako nośników wypływu auksyn z komórki, a ABCB4 i 21 mogą też transportować auksyny do komórki w zależności od gradientu ich stężenia [38, 95]. Białka ABCB są konieczne do utrzymania polarnego transportu auksyn, mimo iż tylko w niektórych typach komórek wykazują polarną lokalizację. Oprócz działania jako transportery auksyn, białka te pełnią też inne funkcje np. ABCB19 stabilizuje PIN1 w błonie komórkowej [9]. Wykazano także, że ABCB19 pełni specyficzną rolę w fototropizmie, a jego aktywność jest regulowana przez fototropinę1 [15].

SZLAKI ODPOWIEDZI NA AUKSYNY

Dotychczas zidentyfikowano dwa główne typy receptorów auksyn, ABP1 i SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA [73], oraz związane z nimi ścieżki sygnałowe. Kompleks receptorowy SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA działa w jądrze komórkowym i pośredniczy w odpowiedziach transkrypcyjnych na auksyny. Składa się on z dwóch rodzajów koreceptorów: białek TIR1/AFB (ang. *Transport Inhibitor Resistant1/Auxin signaling F-Box*) wchodzących w skład kompleksu ligazy ubikwityny E3 SCF^{TIR1/AFB} (*S-phase kinase-associated protein1 – Cullin – F-Box* [TIR1/AFB]) i białek Aux/IAA (ang. *Auxin/Indole Acetic Acid*) [12]. W warunkach niskiego stężenia auksyny białka Aux/IAA wiążą czynniki transkrypcyjne ARF (ang. *Auxin Response Factors*), które regulują transkrypcję genów indukowanych przez auksyny (ryc. 2). Wśród białek ARF można wyróżnić aktywatory i inhibitory genów zależnych od auksyny, przy czym lepiej poznano działanie tych pierwszych [30]. Związanie aktywujących ARF przez białka Aux/IAA oraz korepresory TPL (ang. *Topless*) zapobiega transkrypcji genów indukowanych przez auksynę [80, 87]. Obie części kompleksu SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA łączą się dopiero po związaniu auksyny, która działa jako “molekularny klej” i umożliwia ich oddziaływanie [81] (ryc. 2). Wówczas następuje ubikwitynacja i kierowanie białek Aux/IAA do degradacji w proteasomie 26S, a tym samym uwolnienie białek ARF i transkrypcja genów aktywowanych przez auksyny [25]. Do aktywności ligazy SCF konieczna jest rubinylacja kuliny (CUL), czyli przyłączenie białka RUB1 w procesie podobnym do ubikwitynacji [19]. W *A. thaliana* występuje 6 białek TIR1/AFB, 29 białek Aux/IAA, 23 białka ARF i 5 białek TPL [94]. Uważa się, że możliwość tworzenia licznych kombinacji tych białek w szla-



RYCINA 2. Funkcjonowanie szlaku odpowiedzi na auksynę $SCF^{TIR1/AFB}$ -Aux/IAA-ARF. (A) Przy niskim stężeniu auksyny białka Aux/IAA wiążą się z czynnikami transkrypcyjnymi ARF, hamując ich aktywność. (B) Wzrost stężenia auksyny powoduje jej wiązanie, co umożliwia tworzenie kompleksu $SCF^{TIR1/AFB}$ -Aux/IAA i uwolnienie czynników transkrypcyjnych ARF. Białka Aux/IAA ulegają poliubikwitinacji i degradacji. Białka Aux/IAA (ang. *Auxin/Indoleacetic Acid*) składają się z domen: I (zawierająca motywy EAR, ang. *Ethylene response factor associated Amphiphilic Repression*), II (dII, degronowa) i III/IV (ang. *Phox and Bem1*, PBI1). Czynniki transkrypcyjne ARF (ang. *Auxin Response Factor*) składają się z domen: DBD (ang. *DNA-Binding Domain*, domena wiążąca DNA), MR (*Middle Region*, domena środkowa) i PBI1. ASK1, CUL, E2, RBX1, TIR1, podjednostki kompleksu ligazy ubikwityny E3 $SCF^{TIR1/AFB}$; AuxRe, element odpowiedzi na auksynę (ang. *Auxin Responsive element*); TPL, korepresor TOPLESS. Na podstawie [65]

FIGURE 2. Functioning of the $SCF^{TIR1/AFB}$ -Aux/IAA-ARF auxin response pathway. (A) At low auxin levels Aux/IAA proteins bind to ARF transcription factors, inhibiting their activity. (B) At higher concentrations auxin is bound, enabling the formation of the $SCF^{TIR1/AFB}$ -Aux/IAA complex and releasing ARF transcription factors. Aux/IAA proteins are polyubiquitinated and degraded. Aux/IAA (Auxin/Indoleacetic Acid) proteins comprise the following domains: I (containing the EAR motif, Ethylene response factor associated Amphiphilic Repression), II (dII, degron domain) and III/IV (PBI1, Phox and Bem1). ARF (Auxin Response Factor) transcription factors comprise the following domains: DBD (DNA-binding domain), MR (Middle Region, domena środkowa) and PBI1. ASK1, CUL, E2, RBX1, TIR1, subunits of the ubiquitin ligase E3 complex $SCF^{TIR1/AFB}$; AuxRe, Auxin Responsive Element; TPL, TOPLESS corepressor. Based on [65]

ku SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA-ARF odpowiada za różnorodność odpowiedzi na auksynę [65, 94]. Poszczególne kompleksy SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA różnią się powinowactwem do IAA, a także syntetycznych auksyn [12]. Białka TIR1/AFB wykazują co prawda znaczną redundancję, lecz funkcje poszczególnych białek Aux/IAA i ARF są znacznie bardziej specyficzne [18, 61]. W białkach Aux/IAA i ARF zidentyfikowano szereg elementów strukturalnych, odpowiedzialnych za ich specyficzne oddziaływania z innymi białkami oraz DNA (w przypadku ARF), a tym samym istotnych dla regulacji odpowiedzi na auksyny. W białkach Aux/IAA można wyróżnić trzy konserwatywne domeny [94]. N-końcowa domena i zawiera motyw EAR (ang. *Ethylene response factor associated Amphiphilic Repression*), który oddziałuje z korepresorami TPL. Domena degronowa (II) odpowiada za interakcje z auksyną i TIR1/AFB oraz degradację białka. Na C-końcu znajduje się domena PB1 (ang. *Phox and Bem1*, domena III/IV) odpowiedzialna za multimeryzację Aux/IAA i oddziaływanie z ARF. Białka ARF należą do rodziny czynników transkrypcyjnych B3 [75]. Na N-końcu zawierają silnie konserwatywną domenę DBD (ang. *DNA-Binding Domain*) wiążącą DNA, która uczestniczy też w tworzeniu homodimerów ARF. Dzięki tej domenie białka ARF rozpoznają charakterystyczną sekwencję nukleotydową TGTCTC (ang. *Auxin Responsive Element*, AuxRe) w promotorach genów bezpośrednio regulowanych przez auksynę [11]. Środkowa domena (ang. *Middle Domain*, MD lub ang. *Middle Region*, MR) ARF odpowiada za aktywację lub represję transkrypcji, natomiast na C-końcu znajduje się domena PB1, odpowiedzialna za multimeryzację ARF i ich oddziaływanie z białkami Aux/IAA [30]. Zarówno białka Aux/IAA, jak i ARF tworzą dimery [41, 88]. Dimeryzacja ARF jest istotna dla oddziaływania z DNA, gdyż umożliwia specyficzne wiązanie tych czynników transkrypcyjnych do sekwencji AuxRe [11]. Poszczególne dimery ARF mogą rozpoznawać sekwencje promotorowe z elementami AuxRe rozmieszczonymi w różnej odległości od siebie. Obecnie uważa się, że białka ARF i Aux/IAA mogą też tworzyć bardziej złożone homo- i heterokompleksy, które uczestniczą w regulacji odpowiedzi na auksyny [46, 58]. Ponadto przekaz sygnału od auksyn może być modulowany przez dodatkowe mechanizmy regulacyjne, m. in. fosforylację Aux/IAA i ARF oraz oddziaływanie z innymi czynnikami transkrypcyjnymi [65]. Geny, których ekspresja jest bezpośrednio regulowana przez ARF (geny pierwotnej odpowiedzi na auksynę) obejmują trzy główne rodziny: *Aux/IAA*, *SAUR* (ang. *Small Auxin Up RNA*) i *GH3* (ang. *Gretchen Hagen3*) [31]. Część białek kodowanych przez te geny uczestniczy w różnych reakcjach fizjologicznych, natomiast część reguluje aktywność innych genów. Ponadto regulacja ekspresji genów *Aux/IAA* przez auksynę na zasadzie sprzężenia zwrotnego stanowi kolejny mechanizm modulujący odpowiedź na auksyny.

Znacznie mniej wiadomo na temat funkcjonowania drugiego receptora auksyn, ABP1 (ang. *Auxin Binding Protein1*), mimo iż został on zidentyfikowany ponad 40 lat temu jako białko wiążące auksynę [67]. Większość puli ABP1 jest zlokalizowana wewnątrz retikulum endoplazmatycznego (ER), a tylko niewielka

ilość tego białka znajduje się na powierzchni błony komórkowej. Za lokalizację w ER odpowiada peptyd sygnałowy na N-końcu ABP1 oraz sekwencja KDEL stanowiąca sygnał retencji [35]. Początkowo zaproponowano udział ABP1 w procesach zachodzących w obrębie błony komórkowej, takich jak zmiany w przepływie jonów, hiperpolaryzacja błony oraz pęcznienie chloroplastów [67]. Dalsze badania z użyciem mutantów sugerowały kluczową rolę ABP1 w wielu innych procesach fizjologicznych [73]. W szczególności uważano, że w *A. thaliana* utrata funkcji jedynej kopii genu *ABP1* jest letalna [14]. Dotychczasowe odkrycia zostały jednak niedawno podważone przy użyciu mutantów *abp1* otrzymanych za pomocą techniki CRISPR/Cas9 [29]. Mutanty te nie wykazywały bowiem żadnych zmian w morfologii, rozwoju i odpowiedziach na auksynę. Jednocześnie dokładna analiza dotychczas stosowanych mutantów *abp1* wykazała obecność licznych polimorfizmów lub mutacji w innych genach, które były prawdopodobnie odpowiedzialne za obserwowane zmiany fenotypowe [73]. Wydaje się zatem, że białko ABP1 nie pełni tak istotnej roli jak do tej pory uważano i nie jest niezbędne do prawidłowego rozwoju rośliny. Teza ta została dodatkowo poparta odkryciem, że gen *ABP1* nie występuje w genomie *Marchantia polymorpha* [40]. Po kilkudziesięciu latach badania nad rolą ABP1 wróciły więc nieomalże do punktu wyjścia.

Istnieje ponadto szereg odpowiedzi auksynowych niezależnych od opisanych wyżej receptorów. Niedawno jako kolejny receptor auksynowy zaproponowano białko SKP2A (*S-phase Kinase-associated Protein 2A*), wiążące naturalne i syntetyczne auksyny i zaangażowane w kontrolę cyklu komórkowego [37]. Zidentyfikowano też kilka innych białek aktywowanych przez auksynę w sposób niezależny od SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA i ABP1, m. in. fosfatazę IBR5 (ang. *IBA Response5*) będącą pozytywnym regulatorem odpowiedzi na auksynę [74] oraz GTPazy ROP3/RAC1 [82] i fosfolipazę A [69], zaangażowane w kontrolę ekspresji genów zależnych od auksyny, prawdopodobnie poprzez regulację poziomu białek Aux/IAA. Ostatnio zaproponowano też model szlaku sygnałowego, w którym białka PIN pełnią rolę receptorów auksyn [73]. Zgodnie z tym modelem transportery PIN wraz z białkami PID i NPY (ang. *Naked Pins in Yuc mutants*) tworzą ścieżkę sygnałową analogiczną do funkcjonującej w fototropizmie, gdzie rolę receptora pełni fototropina

INTERAKCJE MIĘDZY ŚCIEŻKAMI PRZEKAZU SYGNAŁU OD AUKSYN I ŚWIATŁA

Światło może regulować aktywność auksyn na różnych poziomach: biosyntezy, transportu i przekazu sygnału. Umożliwia to kontrolę szeregu procesów rozwojowych przez światło, w celu ich lepszego dostosowania do zmiennych warunków otoczenia. Szczególnie ważną rolę w modulacji aktywności auksyn wydają się peł-

nić fitochromy [32]. Interakcje między auksynami i światłem są szczególnie wyraźne na etapie siewki, w procesie fotomorfogenezy. Fitochromy kontrolują aktywność genów *SUR2* (ang. *Supperroot2*) i *TAA1* (ang. *Tryptophan Aminotransferase of Arabidopsis1*), których produkty działają odpowiednio jako negatywny i pozytywny regulator biosyntezy auksyny [33, 83]. Dzięki temu poziom auksyny w siewkach podlega ścisłej regulacji przez światło. W kontroli polarnego transportu auksyn bierze udział zarówno światło czerwone jak i niebieskie, za pośrednictwem fitochromów i kryptochromów [13, 66]. Fotoreceptory te uczestniczą w regulacji ekspresji niektórych transporterów auksyn, m. in. PIN3, PIN7 [17] i ABCB19 [57]. Mogą też bezpośrednio regulować rozmieszczenie transporterów auksyn, np. PIN2, w komórce [48]. Ponadto światło moduluje przekaz sygnału auksynowego, wpływając na ekspresję licznych genów wczesnej odpowiedzi na auksynę, głównie za pośrednictwem fitochromów [32]. Regulacja ta jest szczególnie dobrze widoczna w przypadku tzw. syndromu unikania cienia, czyli reakcji rośliny na światło o niskim stosunku czerwieni do dalekiej czerwieni. W warunkach tych większość puli fitochromu A i B ulega transformacji do nieaktywnej formy Pr, umożliwiając ekspresję genów indukowanych przez auksynę [17]. Zidentyfikowano też szereg genów pełniących funkcję integratorów sygnałów świetlnych i auksynowych. Należą do nich geny kodujące czynniki transkrypcyjne z rodzin bHLH (*HFR1*, *PIL1*, *PIL2*, *PAR1*, *PAR2*), HD-Zip klasy II (*ATHB2*, *ATHB4*, *HAT1*, *HAT2*, *HAT3*) i bZip (*HY5*, *HYH*) [32]. Przypuszcza się, że fitochromy mogą też bezpośrednio regulować przekaz sygnału od auksyn, poprzez oddziaływanie z elementami kompleksu receptorowego SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA. Interakcje takie wykazano *in vitro* między phyA i phyB a kilkoma białkami Aux/IAA [16, 85].

Auksyny uczestniczą też w dwóch reakcjach na światło niebieskie kontrolowanych przez fototropiny: fototropizmie i otwieraniu aparatów szparkowych. W przypadku fototropizmu lateralny gradient auksyny powoduje asymetryczny wzrost pędu i jego wygięcie w kierunku światła. Za powstanie tego gradientu odpowiada aktywność kilku różnych transporterów auksyn, bezpośrednio lub pośrednio regulowana przez światło [98]. Nośnik dokomórkowego transportu auksyn ABCB19 jest bezpośrednio fosforylowany przez fototropinę1, co prowadzi do jego inaktywacji i lokalnego wzrostu stężenia auksyny w wierzchołku hipokotyla [15]. Auksyna jest następnie redystrybuowana za pośrednictwem innych przenośników m.in. PIN3, którego asymetryczna lokalizacja w błonie jest regulowana przez kinazę PID w sposób zależny od światła [23]. W ruchu aparatów szparkowych auksyna pełni natomiast drugoplanową rolę, regulując aktywność kanałów jonowych transportujących K⁺ do wnętrza komórek szparkowych, co prowadzi do zmiany ich turgoru i otwierania szparek [1].

Szereg przesłanek wskazywał też na możliwe interakcje pomiędzy auksynami a innym procesem kontrolowanym przez fototropiny – ruchem chloroplastów [26]. Należy do nich udział wspólnych wtórnych przekaźników sygnału – jonów

wapnia i fosfatydyloinozytoli – w ścieżkach sygnałowych od auksyn i fototropin, a także oddziaływania między auksynami a cytoszkieletem aktynowym. Ponadto auksyny wydają się być istotne dla kierunkowych przemieszczeń chloroplastów jako czynnik warunkujący polarność komórek i tkanek. Ostatnio wykazano, że auksyny faktycznie biorą udział w modulacji ruchów chloroplastów indukowanych światłem niebieskim [26]. Zaburzenie homeostazy auksynowej roślin na różne sposoby (dekapitacja pędu, inhibitory transportu i działania auksyn, mutacje w genach kodujących transportery auksyn i elementy szlaku sygnałowego SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA-ARF) powodowało osłabienie reakcji ruchowych chloroplastów na słabe i silne światło niebieskie. Zmiany spowodowane dekapitacją pędu mogły być zniwelowane przez podanie egzogennych auksyn. Wyniki doświadczeń z użyciem antyauksyny PCIB oraz mutantów kompleksu receptorowego SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA wskazują, iż prawdopodobnie modulacja ruchów chloroplastów jest związana z regulacją ekspresji genów przez auksynę. Ponadto specyficzny wpływ mutacji w genach *AXR2* i *AXR3* na ruchy chloroplastów wskazuje na możliwy udział auksyny w interakcji pomiędzy szlakami przekazu sygnału od fototropin i fitochromów.

PODZIĘKOWANIA

Praca naukowa finansowana ze środków finansowych na naukę w latach 2013-2017 przyznanych na realizację projektu międzynarodowego współfinansowanego ("Wapniowe i świetlne sygnały w organizmach fotosyntetycznych", akronim: CALIPSO, FP7, Marie Curie ITN nr kontraktu 607607)

LITERATURA

- [1] ACHARYA BR, ASSMANN SM. Hormone interactions in stomatal function. *Plant Mol Biol* 2009; **69**: 451-462.
- [2] ADAMOWSKI M, FRIML J. PIN-dependent auxin transport: action, regulation, and evolution. *Plant Cell* 2015; **27**: 20-32.
- [3] BAINBRIDGE K, GUYOMARC'H S, BAYER E, SWARUP R, BENNETT M, MANDEL T, KUHLEMEIER C. Auxin influx carriers stabilize phyllotactic patterning. *Gene Dev* 2008; **22**: 810-823.
- [4] BAJGUZ A, PIOTROWSKA A. Conjugates of auxin and cytokinin. *Phytochemistry* 2009; **70**: 957-969.
- [5] BAKER DA. Long-distance vascular transport of endogenous hormones in plants and their role in source: sink regulation. *Isr J Plant Sci* 2000; **48**: 199-203.
- [6] BARBEZ E, KUBEŠ M, ROLČÍK J, BÉZIAT C, PĚNČÍK A, WANG B, ROSQUETE MR, ZHU J DOBREV PI, LEE Y, ZAŽÍMALOVÁ E, PETRÁŠEK J, GEISLER M, FRIML J, KLEINE-VEHN J. A novel putative auxin carrier family regulates intracellular auxin homeostasis in plants. *Nature* 2012; **485**: 119-122.
- [7] BENKOVÁ E, MICHNIEWICZ M, SAUER M, TEICHMANN T, SEIFERTOVÁ D, JÜRGENS G, FRIML J. Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell* 2003; **115**: 591-602.

- [8] BENNETT MJ, MARCHANT A, GREEN HG, MAY ST, WARD SP, MILLNER PA, WALKER AR, SCHULZ B, FELDMANN KA. *Arabidopsis AUX1* gene: a permease-like regulator of root gravitropism. *Science* 1996; **273**: 948-950.
- [9] BLAKESLEE JJ, BANDYOPADHYAY A, LEE OR, MRAVEC J, TITAPIWATANAKUN B, SAUER M, MAKAM SN, CHENG Y, BOUCHARD R, ADAMEC J, GEISLER M, NAGASHIMA A, SAKAI T, MARTINOIA E, FRIML J, PEER WA, MURPHY AS. Interactions among PIN-FORMED and P-glycoprotein auxin transporters in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2007; **19**: 131-147.
- [10] BLILOU I, XU J, WILDWATER M, WILLEMSSEN V, PAPONOV I, FRIML J, HEIDSTRA R, AIDA M, PALME K, SCHERES B. The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots. *Nature* 2005; **433**: 39-44.
- [11] BOER DR, FREIRE-RIOS A, VAN DEN BERG WAM, SAAKI T, MANFIELD IW, KEPINSKI S, LÓPEZ-VIDRIEO I, FRANCO-ZORRILLA JM, DE VRIES SC, SOLANO R, WEIJERS D, COLL M. Structural basis for DNA binding specificity by the auxin-dependent ARF transcription factors. *Cell* 2014; **156**: 577-589.
- [12] CALDERÓN VILLALOBOS LIA, LEE S, DE OLIVEIRA C, IVETAC A, BRANDT W, ARMITAGE L, SHEARD LB, TAN X, PARRY G, MAO H, ZHENG N, NAPIER R, KEPINSKI S, ESTELLE M. A combinatorial TIR1/AFB–Aux/IAA co-receptor system for differential sensing of auxin. *Nat Chem Biol* 2012; **8**: 477-485.
- [13] CANAMERO RC, BAKRIM N, BOULY JP, GARAY A, DUDKIN EE, HABRICOT Y, AHMAD M. Cryptochrome photoreceptors cry1 and cry2 antagonistically regulate primary root elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 2006; **224**: 995-1003.
- [14] CHEN JG, ULLAH H, YOUNG JC, SUSSMAN MR, JONES AM. ABP1 is required for organized cell elongation and division in *Arabidopsis* embryogenesis. *Gene Dev* 2001; **15**: 902-911.
- [15] CHRISTIE JM, YANG H, RICHTER GL, SULLIVAN S, THOMSON CE, LIN J, TITAPIWATANAKUN B, ENNIS M, KAISERLI E, LEE OR, ADAMEC J, PEER WA, MURPHY AS (2011) phot1 inhibition of ABCB19 primes lateral auxin fluxes in the shoot apex required for phototropism. *PLOS Biol* 2011; **9**: e1001076.
- [16] COLÓN-CARMONA A, CHEN DL, YEH KC, ABEL S. Aux/IAA proteins are phosphorylated by phytochrome in vitro. *Plant Physiol* 2000; **124**: 1728-1738.
- [17] DEVLIN PF, YANOVSKY MJ, KAY SA. A genomic analysis of the shade avoidance response in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2003; **133**: 1617-1629.
- [18] DHARMASIRI N, DHARMASIRI S, WEIJERS D, LECHNER E, YAMADA M, HOBIE L, EHRISMANN JS, JÜRGENS G, ESTELLE M. Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins. *Dev Cell* 2005; **9**: 109-119.
- [19] DHARMASIRI S, DHARMASIRI N, HELLMANN H, ESTELLE M. The RUB/Nedd8 conjugation pathway is required for early development in *Arabidopsis*. *EMBO J* 2003; **22**: 1762-1770.
- [20] DHARMASIRI S, SWARUP R, MOCKAITIS K, DHARMASIRI N, SINGH SK, KOWALCHYK M, MARCHANT A, MILLS S, SANDBERG G, BENNETT MJ, ESTELLE M. AXR4 is required for localization of the auxin influx facilitator AUX1. *Science* 2006; **312**: 1218-1220.
- [21] DHONUKSHE P, ANIENTO F, HWANG I, ROBINSON DG, MRAVEC J, STIERHOF YD, FRIML J. Clathrin-mediated constitutive endocytosis of PIN auxin efflux carriers in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2007; **17**: 520-527.
- [22] DI DW, ZHANG C, LUO P, AN CW, GUO GQ. The biosynthesis of auxin: how many paths truly lead to IAA? *Plant Growth Regul* 2016; **78**: 275-285.
- [23] DING Z, GALVÁN-AMPUDIA CS, DEMARSY E, ŁANGOWSKI Ł, KLEINE-VEHN J, FAN Y, MORITA MT, TASAKA M, FANKHAUSER C, OFFRINGA R, FRIML J. Light-mediated polarization of the PIN3 auxin transporter for the phototropic response in *Arabidopsis*. *Nat Cell Biol* 2011; **13**: 447-452.
- [24] DING Z, WANG B, MORENO I, DUPLÁKOVÁ N, SIMON S, CARRARO N, REEMMER J, PĚNČÍK A, CHEN X, TEJOS R, SKŮPA P, POLLMANN S, MRAVEC J, PETRÁŠEK J, ZAŽÍMALOVÁ E, HONYNS D, ROLČÍK D, MURPHYA, ORELLANA A, GEISLER M, FRIML J. ER-localized auxin transporter PIN8 regulates auxin homeostasis and male gametophyte development in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 2012; **3**: 941.
- [25] DOS SANTOS MARASCHIN F, MEMELINK J, OFFRINGA R. Auxin-induced SCF^{TIR1}-mediated poly-ubiquitination marks AUX/IAA proteins for degradation. *Plant J* 2009; **59**: 100-109.

- [26] ECKSTEIN A, KRZESZOWIEC W, WALIGÓRSKI P, GABRYŚ H. Auxin and chloroplast movements. *Physiol Plantarum* 2016; **156**: 351-366.
- [27] FERARU E, FERARU MI, KLEINE-VEHN J, MARTINIÈRE A, MOUILLE G, VANNESTE S, VERNHETTES S, RUNIONS J, FRIML J. PIN polarity maintenance by the cell wall in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2011; **21**: 338-343.
- [28] FRIML J, VIETEN A, SAUER M, WEIJERS D, SCHWARZ H, HAMANN T, OFFRINGA R, JÜRGENS G. Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature* 2003; **426**: 147-153.
- [29] GAO Y, ZHANG Y, ZHANG D, DAI X, ESTELLE M, ZHAO Y. Auxin binding protein 1 (ABP1) is not required for either auxin signaling or *Arabidopsis* development. *P Natl Acad Sci USA* 2015; **112**: 2275-2280.
- [30] GUILFOYLE TJ, HAGEN G. Getting a grasp on domain III/IV responsible for Auxin Response Factor-IAA protein interactions. *Plant Sci* 2012; **190**: 82-88.
- [31] HAGEN G, GUILFOYLE T. Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors. *Plant Mol Biol* 2002; **49**: 373-385.
- [32] HALLIDAY KJ, MARTÍNEZ-GARCÍA JF, JOSSE EM. Integration of light and auxin signaling. *CSH Perspect Biol* 2009; **1**: a001586.
- [33] HOECKER U, TOLEDO-ORTIZ G, BENDER J, QUAIL PH. The photomorphogenesis-related mutant *red1* is defective in *CYP83B1*, a red light-induced gene encoding a cytochrome P450 required for normal auxin homeostasis. *Planta* 2004; **219**: 195-200.
- [34] HWANG JU, SONG WY, HONG D, KO D, YAMAOKA Y, JANG S, YIM S, LEE E, KHARE D, KIM K, PALMGREN M, YOON HS, MARTINOIA E, LEE Y. Plant ABC Transporters Enable Many Unique Aspects of a Terrestrial Plant's Lifestyle. *Mol Plant* 2016; **9**: 338-355.
- [35] JONES AM, HERMAN EM. KDEL-containing auxin-binding protein is secreted to the plasma membrane and cell wall. *Plant Physiol* 1993; **101**: 595-606.
- [36] JONES AR, KRAMER EM, KNOX K, SWARUP R, BENNETT MJ, LAZARUS CM, LEYSER HMO, GRIERSON CS. Auxin transport through non-hair cells sustains root-hair development. *Nat Cell Biol* 2009; **11**: 78-84.
- [37] JURADO S, ABRAHAM Z, MANZANO C, LÓPEZ-TORREJÓN G, PACIOS LF, DEL POZO JC. The *Arabidopsis* cell cycle F-box protein SKP2A binds to auxin. *Plant Cell* 2010; **22**: 3891-3904.
- [38] KAMIMOTO Y, TERASAKA K, HAMAMOTO M, TAKANASHI K, FUKUDA S, SHITAN N, SUGIYAMA A, SUZUKI H, SHIBATA D, WANG B, POLLMANN, S, GEISLER M, YAZAKI K. *Arabidopsis* ABCB21 is a facultative auxin importer/exporter regulated by cytoplasmic auxin concentration. *Plant Cell Physiol* 2012; **53**: 2090-2100.
- [39] KASAHARA H. Current aspects of auxin biosynthesis in plants. *Biosci Biotech Bioch* 2016; **80**: 34-42.
- [40] KATO H, ISHIZAKI K, KOUNO M, SHIRAKAWA M, BOWMAN JL, NISHIHAMA R, KOHCHI T. Auxin-mediated transcriptional system with a minimal set of components is critical for morphogenesis through the life cycle in *Marchantia polymorpha*. *PLOS Genet* 2015; **11**: e1005084.
- [41] KIM J, HARTER K, THEOLOGIS A. Protein-protein interactions among the Aux/IAA proteins. *P Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 11786-11791.
- [42] KLEINE-VEHN J, DHONUKSHE P, SWARUP R, BENNETT M, FRIML J. Subcellular trafficking of the *Arabidopsis* auxin influx carrier AUX1 uses a novel pathway distinct from PIN1. *Plant Cell* 2006; **18**: 3171-3181.
- [43] KLEINE-VEHN J, DHONUKSHE P, SAUER M, BREWER PB, WIŚNIEWSKA J, PACIOREK T, BENKOVÁ E, FRIML J. ARF GEF-dependent transcytosis and polar delivery of PIN auxin carriers in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2008; **18**: 526-531.
- [44] KLEINE-VEHN J, WABNIK K, MARTINIÈRE A, ŁANGOWSKI Ł, WILLIG K, NARAMOTO S, LEITNER J, TANAKA H, JAKOBS S, ROBERT S, LUSCHING C, GOVAERTS W, HELL SW, RUNIONS J, FRIML J. Recycling, clustering, and endocytosis jointly maintain PIN auxin carrier polarity at the plasma membrane. *Mol Syst Biol* 2011; **7**: 540.

- [45] KORASICK DA, ENDERS TA, STRADER LC. Auxin biosynthesis and storage forms. *J Exp Bot* 2013; **64**: 2541-2555.
- [46] KORASICK DA, WESTFALL CS, LEE SG, NANA O MH, DUMAS R, HAGEN G, GUILFOYLE TJ, JEZ JM, STRADER LC (2014) Molecular basis for AUXIN RESPONSE FACTOR protein interaction and the control of auxin response repression. *P Natl Acad Sci USA* 2014; **111**: 5427-5432.
- [47] KŘEČEK P, SKŮPA P, LIBUS J, NARAMOTO S, TEJOS R, FRIML J, ZAŽÍMALOVÁ E. The PIN-FORMED (PIN) protein family of auxin transporters. *Genome Biol* 2009; **10**: 249.
- [48] LAXMI A, PAN J, MORSY M, CHEN R. Light plays an essential role in intracellular distribution of auxin efflux carrier PIN2 in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS One* 2008; **3**: e1510.
- [49] LEHMANN T, HOFFMANN M, HENTRICH M, POLLMANN S. Indole-3-acetamide-dependent auxin biosynthesis: a widely distributed way of indole-3-acetic acid production? *Eur J Cell Biol* 2010; **89**: 895-905.
- [50] LI L, HOU X, TSUGE T, DING M, AOYAMA T, OKA A, GU H, ZHAO Y, QU LJ. The possible action mechanisms of indole-3-acetic acid methyl ester in *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep* 2008; **27**: 575-584.
- [51] LUDWIG-MÜLLER J. Auxin conjugates: their role for plant development and in the evolution of land plants. *J Exp Bot* 2011; **62**: 1757-1773.
- [52] LÜTHEN H. (2015). What we can learn from old auxinology. *J Plant Growth Regul* 2015; **34**: 702-707.
- [53] MARCHANT A, KARGUL J, MAY ST, MULLER P, DELBARRE A, PERROT-RECHENMANN C, BENNETT MJ. AUX1 regulates root gravitropism in *Arabidopsis* by facilitating auxin uptake within root apical tissues. *EMBO J* 1999; **18**: 2066-2073.
- [54] MASHIGUCHI K, TANAKA K, SAKAI T, SUGAWARA S, KAWAIDE H, NATSUME M, HANADA A, YAENO T, SHIRASU K, YAO H, MCSTEEN P, ZHAO Y, HAYASHI KI, KAMIYA Y, KASAHARA H. The main auxin biosynthesis pathway in *Arabidopsis*. *P Natl Acad Sci USA* 2011; **108**: 18512-18517.
- [55] MICHNIEWICZ M, ZAGO MK, ABAS L, WEIJERS D, SCHWEIGHOFER A, MESKIENE I, HEISLER MG, OHNO C, ZHANG J, HUANG F, SCHWAB R, WEIGEL D, MEYEROWITZ EM, LUSCHING C, OFFRINGA R, FRIML J. Antagonistic regulation of PIN phosphorylation by PP2A and PINOID directs auxin flux. *Cell* 2007; **130**: 1044-1056.
- [56] MRAVEC J, SKŮPA P, BAILLY A, HOYEROVÁ K, KŘEČEK P, BIELACH A, PETRÁŠEK J, ZHANG J, GAYKOVA V, STIERHOF YD, DOBREV PI, SCHWARZEROVÁ K, ROLČÍK J, SEIFERTOVÁ D, LUSCHNIG C, BENKOVÁ E, ZAŽÍMALOVÁ E, GEISLER M, FRIML J. Subcellular homeostasis of phytohormone auxin is mediated by the ER-localized PIN5 transporter. *Nature* 2009; **459**: 1136-1140.
- [57] NAGASHIMA A, SUZUKI G, UEHARA Y, SAJI K, FURUKAWA T, KOSHIBA T, SEKIMOTO M, FUJIOKA S, KUROHA T, KOJIMA M, SAKAKIBARA H, FUJISAWA N, OKADA K, SAKAI T. Phytochromes and cryptochromes regulate the differential growth of *Arabidopsis* hypocotyls in both a PGP19-dependent and a PGP19-independent manner. *Plant J* 2008; **53**:516-529.
- [58] NANA O MH, VINOS-POYO T, BRUNOUD G, THÉVENON E, MAZZOLENI M, MAST D, LAINÉ S, WANG S, HAGEN G, LI H, GUILFOYLE TJ, PARCY F, VERNOUX T, DUMAS R. Structural basis for oligomerization of auxin transcriptional regulators. *Nat Commun* 2014; **5**: 3617.
- [59] NARAMOTO S. Polar transport in plants mediated by membrane transporters: focus on mechanisms of polar auxin transport. *Curr Opin Plant Biol* 2017; **40**: 8-14.
- [60] OSTROWSKI M, CIARKOWSKA A, JAKUBOWSKA A. The auxin conjugate indole-3-acetyl-aspartate affects responses to cadmium and salt stress in *Pisum sativum* L. *J Plant Physiol* 2016; **191**: 63-72.
- [61] PARRY G, CALDERON-VILLALOBOS LI, PRIGGE M, PERET B, DHARMASIRI S, ITOH H, LECHNER E, GRAY WM, BENNETT M, ESTELLE M. Complex regulation of the TIR1/AFB family of auxin receptors. *P Natl Acad Sci USA* 2009; **106**: 22540-22545.
- [62] PÉRET B, SWARUP K, FERGUSON A, SETH M, YANG Y, DHONDT S, JAMES N, CASIMIRO I, PERRY P, SYED A, YANG H, REEMMER J, VENISON E, HOWELLS C, PEREZ-AMADOR MA, YUN J, ALONSO J, BEEMSTER GTS, LAPLAZE L, MURPHY A, BENNETT MJ, NIELSEN E, SWARUP R. AUX/LAX genes encode a family of auxin influx transporters that perform distinct functions during *Arabidopsis* development. *Plant Cell* 2012; **24**: 2874-2885

- [63] RAKUSOVÁ H, GALLEGU-BARTOLOMÉ J, VANSTRAELEN M, ROBERT HS, ALABADÍ D, BLÁZQUEZ MA, BENKOVÁ E, FRIML J. Polarization of PIN3-dependent auxin transport for hypocotyl gravitropic response in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 2011; **67**:817-826.
- [64] RUBERY PH, SHELDRAKE AR. Carrier-mediated auxin transport. *Planta* 1974; **118**: 101-121.
- [65] SALEHIN M, BAGCHI R, ESTELLE M. SCF^{TIR1/AFB}-based auxin perception: mechanism and role in plant growth and development. *Plant Cell* 2015; **27**: 9-19.
- [66] SALISBURY FJ, HALL A, GRIERSON CS, HALLIDAY KJ. Phytochrome coordinates Arabidopsis shoot and root development. *Plant J* 2007; **50**: 429-438.
- [67] SAUER M, KLEINE-VEHN J. Auxin binding protein1: the outsider. *Plant Cell* 2011; **23**: 2033-2043.
- [68] SAUER M, ROBERT S, KLEINE-VEHN J. Auxin: simply complicated. *J Exp Bot* 2013; **64**: 2565-2577.
- [69] SCHERER GF, ZAHN M, CALLIS J, JONES AM. A role for phospholipase A in auxin-regulated gene expression. *FEBS Lett* 2007; **581**: 4205-4211.
- [70] STEINMANN T, GELDNER N, GREBE M, MANGOLD S, JACKSON CL, PARIS S, GÄLWEILER L, PALME K, JÜRGENS G. Coordinated polar localization of auxin efflux carrier PIN1 by GNOM ARF GEF. *Science* 1999; **286**: 316-318.
- [71] STEPANOVA AN, YUN J, ROBLES LM, NOVAK O, HE W, GUO H, LJUNG K, ALONSO JM. The *Arabidopsis* YUCCA1 flavin monooxygenase functions in the indole-3-pyruvic acid branch of auxin biosynthesis. *Plant Cell* 2011; **23**: 3961-3973.
- [72] STRADER LC, BARTEL B. Transport and metabolism of the endogenous auxin precursor indole-3-butyric acid. *Mol Plant* 2011; **4**: 477-486.
- [73] STRADER LC, ZHAO Y. Auxin perception and downstream events. *Curr Opin Plant Biol* 2016; **33**: 8-14.
- [74] STRADER LC, MONROE-AUGUSTUS M, BARTEL B. The IBR5 phosphatase promotes Arabidopsis auxin responses through a novel mechanism distinct from TIR1-mediated repressor degradation. *BMC Plant Biol* 2008; **8**: 41.
- [75] SWAMINATHAN K, PETERSON K, JACK T. The plant B3 superfamily. *Trends Plant Sci* 2008; **13**: 647-655.
- [76] SWARUP K, BENKOVÁ E, SWARUP R, CASIMIRO I, PÉRET B, YANG Y, PARRY G, NIELSEN E, DE SMET I, VANNESTE S, LEVESQUE MP, CARRIER D, JAMES N, CALVO V, LJUNG K, KRAMER E, ROBERTS R, GRAHAM N, MARILLONNET S, PATEL K, JONES JDG, TAYLOR CG, SCHACHTMAN DP, MAY S, SANDBERG G, BENEFY P, FRIML J, KERR I, BEECKMAN T, LAPLAZE L, BENNETT MJ. The auxin influx carrier LAX3 promotes lateral root emergence. *Nat Cell Biol* 2008; **10**: 946-954.
- [77] SWARUP R, FRIML J, MARCHANT A, LJUNG K, SANDBERG G, PALME K, BENNETT M. Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the *Arabidopsis* root apex. *Gene Dev* 2001; **15**: 2648-2653.
- [78] SWARUP R, PARRY G, GRAHAM N, ALLEN T, BENNETT M. Auxin cross-talk: integration of signalling pathways to control plant development. *Plant Mol Biol* 2002; **49**: 411-426.
- [79] SWARUP R, KRAMER EM, PERRY P, KNOX K, LEYSER HMO, HASELOFF J, BEEMSTER GTS, BHALERAO R, BENNETT MJ. Root gravitropism requires lateral root cap and epidermal cells for transport and response to a mobile auxin signal. *Nat Cell Biol* 2005; **7**: 1057-1065.
- [80] SZEMENYEI H, HANNON M, LONG JA. TOPLESS mediates auxin-dependent transcriptional repression during *Arabidopsis* embryogenesis. *Science* 2008; **319**: 1384-1386.
- [81] TAN X, CALDERON-VILLALOBOS LIA, SHARON M, ZHENG C, ROBINSON CV, ESTELLE M, ZHENG N. Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase. *Nature* 2007; **446**: 640-645.
- [82] TAO LZ, CHEUNG AY, NIBAU C, WU HM. RAC GTPases in tobacco and Arabidopsis mediate auxin-induced formation of proteolytically active nuclear protein bodies that contain AUX/IAA proteins. *Plant Cell* 2005; **17**: 2369-2383.
- [83] TAO Y, FERRER JL, LJUNG K, POJER F, HONG F, LONG JA, LI L, MORENO JE, BOWMAN ME, IVANS LJ, CHENG Y, LIM J, ZHAO Y, BALLARÉ CL, SANDBERG G, NOEL JP, CHORY J. Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell* 2008; **133**: 164-176.

- [84] THIMANN KV. Plant growth substances; past, present and future. *Ann Rev Plant Physio* 1963; **14**: 1-19.
- [85] TIAN Q, NAGPAL P, REED JW. Regulation of Arabidopsis SHY2/IAA3 protein turnover. *Plant J* 2003; **36**: 643-651.
- [86] TIVENDALE ND, ROSS JJ, COHEN JD. The shifting paradigms of auxin biosynthesis. *Trends Plant Sci* 2014; **19**: 44-51.
- [87] TIWARI SB, WANG XJ, HAGEN G, GUILFOYLE TJ. AUX/IAA proteins are active repressors, and their stability and activity are modulated by auxin. *Plant Cell* 2001; **13**: 2809-2822.
- [88] ULMASOV T, HAGEN G, GUILFOYLE TJ. Dimerization and DNA binding of auxin response factors. *Plant J* 1999; **19**: 309-319.
- [89] VANDENBUSSCHE F, PETRÁŠEK J, ŽÁDNÍKOVÁ P, HOYEROVÁ K, PEŠEK B, RAZ V, SWARUP R, BENNETT M, ZAŽÍMALOVÁ E, BENKOVÁ E, VAN DER STRAETEN D. The auxin influx carriers AUX1 and LAX3 are involved in auxin-ethylene interactions during apical hook development in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Development* 2010; **137**: 597-606.
- [90] VANNESTE S, FRIML J. Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell* 2009; **136**: 1005-1016.
- [91] VIETEN A, VANNESTE S, WIŚNIEWSKA J, BENKOVÁ E, BENJAMINS R, BECKMAN T, LUSCHNIG C, FRIML J. Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent cross-regulation of PIN expression. *Development* 2005; **132**: 4521-4531
- [92] WANG B, CHU J, YU T, XU Q, SUN X, YUAN J, XIONG G, WANG G, WANG Y, LI J. Tryptophan-independent auxin biosynthesis contributes to early embryogenesis in *Arabidopsis*. *P Natl Acad Sci USA* 2015; **112**: 4821-4826
- [93] WESTFALL CS, HERRMANN J, CHEN Q, WANG S, JEZ JM. Modulating plant hormones by enzyme action: the GH3 family of acyl acid amido synthetases. *Plant Signaling and Behavior* 2010; **5**: 1607-1612.
- [94] WRIGHT RC, NEMHAUSER JL. New tangles in the auxin signaling web. *F1000Prime Reports* 2015; **7**:19.
- [95] YANG H, MURPHY AS. Functional expression and characterization of Arabidopsis ABCB, AUX 1 and PIN auxin transporters in *Schizosaccharomyces pombe*. *Plant J* 2009; **59**: 179-191.
- [96] YOUNG G, JACK D, SMITH D, SAIER M. The amino acid/auxin: proton symport permease family. *BBA-Biomembranes* 1999; **1415**: 306-322.
- [97] ŽÁDNÍKOVÁ P, PETRÁŠEK J, MARHAVÝ P, RAZ V, VANDENBUSSCHE F, DING Z, SCHWARZEROVÁ K, MORITA MT, TASAKA M, HEJÁTKO J, VAN DER STRAETEN D, FRIML J, BENKOVÁ E. Role of PIN-mediated auxin efflux in apical hook development of *Arabidopsis thaliana*. *Development* 2010; **137**: 607-617.
- [98] ŽÁDNÍKOVÁ P, SMET D, ZHU Q, VAN DER STRAETEN D, BENKOVÁ E. Strategies of seedlings to overcome their sessile nature: auxin in mobility control. *Front Plant Sci* 2015; **6**: 218.
- [99] ZHAO Y, CHRISTENSEN SK, FANKHAUSER C, CASHMAN JR, COHEN JD, WEIGEL D, CHORY J. (2001). A role for flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science* 2001; **291**: 306-309.
- [100] ZHAO Y, HULL AK, GUPTA NR, GOSS KA, ALONSO J, ECKER JR, NORMANLY J, CHORY J, CELENZA JL. Trp-dependent auxin biosynthesis in *Arabidopsis*: involvement of cytochrome P450s CYP79B2 and CYP79B3. *Gene Dev* 2002; **16**: 3100-3112.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 29.09.2017

Przyjęto: 20.10.2017

Aleksandra Eckstein

Zakład Biotechnologii Roślin, Wydział Biochemii Biofizyki i Biotechnologii UJ

ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

e-mail: aleksandra.eckstein@yahoo.com

tel. +48 12 664 63 40

fax +48 12 664 69 02

