

## ZALEŻNA OD UBIKWITYNY PROTEOLIZA BIAŁEK W REGULACJI PROCESÓW WZROSTU I ROZWOJU ROŚLIN\*

UBIQUITIN-MEDIATED PROTEOLYSIS OF PROTEINS  
IN REGULATION OF PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT

Tomasz HEJKA, Stanisław KOWALCZYK

Zakład Biochemii, Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej,  
Uniwersytet M. Kopernika w Toruniu

*Streszczenie:* Genom *Arabidopsis thaliana* zawiera ponad 1300 genów (~5% proteomu) kodujących poszczególne elementy układu ubikwityna/proteasom 26S, z czego około 90% koduje mono- i oligomeryczne ligazy ubikwitynowe E3 odpowiedzialne za swoiste rozpoznanie białek kierowanych do degradacji. Roślinne ligazy E3 tworzą zróżnicowaną rodzinę białek lub kompleksów białkowych z charakterystycznymi domenami RING-finger, U-box lub HECT. Wyniki badań prowadzonych w ostatnich latach wskazują, że zależna od ubikwityny degradacja białek odgrywa kluczową rolę w sygnalizacji hormonalnej i samonie-zgodności, reguluje fotomorfogenezę oraz kontroluje reakcje obronne przeciw patogenom.

*Słowa kluczowe:* proteoliza, ubikwityna, ligazy ubikwitynowe, fitohormony, fotomorfogeneza, samonie-zgodność, patogenezę.

*Summary:* In *Arabidopsis thaliana* more than 1300 genes (~5% of the proteome) encode components of the ubiquitin/26S proteasome pathway. Approximately 90% of these genes encode subunits of the E3 ubiquitin ligases, which confer substrate specificity to the ubiquitin/26S proteasome pathway. The plant E3 ubiquitin ligases comprise a large and diverse family of proteins or protein complexes containing a RING-finger, U-box domain or a HECT domain. Within the past several years, considerable progress has been achieved in understanding the role of protein degradation via the ubiquitin-proteasome pathway in hormone responses, self-incompatibility, photomorphogenesis and pathogen defenses.

*Key words:* proteolysis, ubiquitin, ubiquitin ligases, phytohormones, photomorphogenesis, self-incompatibility, pathogenesis.

\*Artykuł jest skróconą wersją pracy licencjackiej T. H.

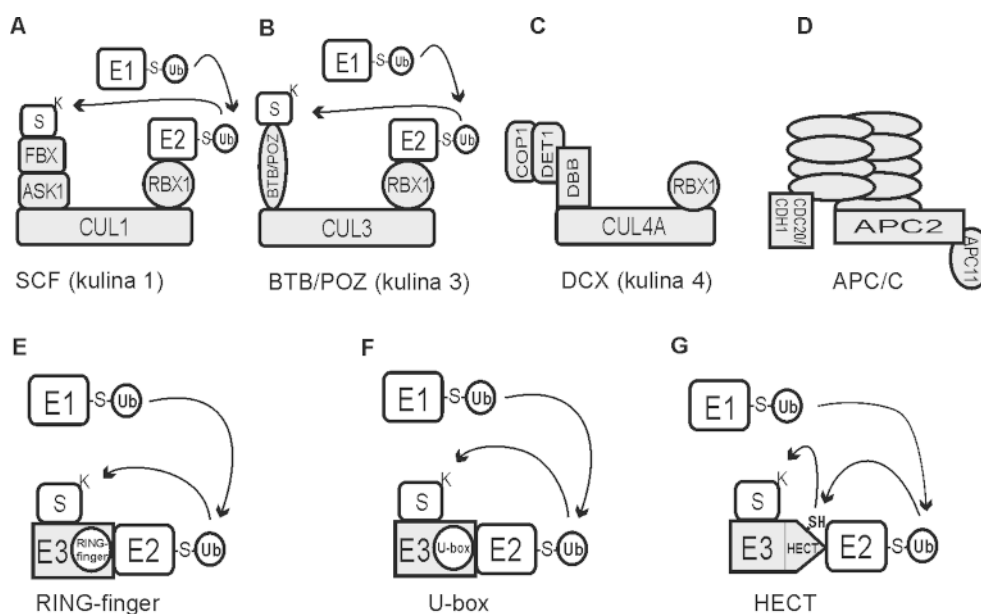
## 1. WSTĘP

Selektywna ubikwitynacja białek kontroluje degradację specyficznych białek oraz reguluje szereg procesów niezwiązanych z proteolizą, takich jak np. endocytoza i sortowanie pęcherzyków błonowych, transkrypcja, naprawa DNA czy aktywacja kinaz białkowych. O ważności tych procesów świadczy przyznanie w 2004 roku nagrody Nobla z dziedziny chemii badaczom, którzy odkryli ubikwitynację białek. Sylwetki laureatów oraz niektóre aktualne kierunki poszukiwań związanych z ubikwitynacją białek zostały ostatnio przedstawione na łamach Postępów Biologii Komórki [19]. Najnowsze badania z zakresu biologii molekularnej roślin przyniosły również szereg bardzo interesujących wyników wskazujących, że niemal wszystkie procesy związane ze wzrostem i rozwojem rośliny są regulowane za pośrednictwem układu ubikwityna/proteasom 26S [45,55]. Wyniki dotychczasowych badań pokazują, że układy selektywnej ubikwitynacji białek są kluczowymi elementami szlaków sygnałowych aktywowanych przez fitohormony, biorą udział w regulacji fotomorfogenezy i samonieżgodności, kontrolują procesy obronne przeciw patogenom oraz uczestniczą w regulacji wielu innych procesów zachodzących w roślinach.

## 2. ROŚLINNE UKŁADY UBIKWITYNACJI BIAŁEK

Genom *Arabidopsis thaliana* zawiera 14 genów poliubikwitynowych (*UBQ*) kodujących w sumie 30 jednostek ubikwityny, kilka białek podobnych do ubikwityny RUB (ang. *Related to Ubiquitin*) oraz dwa małe białka rybosomowe [34,59]. W przyłączaniu ubikwityny do białka substratowego uczestniczą trzy enzymy tworzące tzw. kaskadę enzymów ubikwitynujących. Enzym aktywujący ubikwitynę E1 kodowany jest w *A. thaliana* przez dwa geny *UBA*, enzymy koniugujące E2 przez 37 genów *UBC*, a ligazy lub podjednostki wielobiałkowych kompleksów ligaz ubikwitynowych koduje około 1300 genów [59]. Roślinne ligazy ubikwitynowe z domeną *RING-finger* (ang. *Real Interesting New Gene*) i strukturalnie podobną kasetą *U-box* oraz ligazy z domeną HECT (ang. *Homology to E6-AP C-Terminus*) przenoszą ubikwitynę z E2 na białko substratowe (ryc. 1) [55, 64].

W większości dotychczas poznanych roślinnych procesów regulowanych w drodze ubikwitynacji białek uczestniczą wielopodjednostkowe ligazy typu SCF (ang. *Skp1-Cullin-F-box Proteins*) zbudowane co najmniej z czterech różnych białek (ryc. 1A). Rusztowanie dla całego kompleksu tworzy białko nazywane kulina, które poprzez domenę C-końcową wiąże białko RBX zawierające domenę *RING-finger*, a poprzez domenę N-końcową białko SKP (w *A. thaliana* określane akronimem ASK). Domena *RING-finger* w białku RBX oddziałuje z enzymem koniugującym E2, a białko ASK/SKP wiąże jedno z wielu białek FBX z kasetą F, które pośredniczy w wiązaniu białka przeznaczonego do ubikwitynacji [35,55]. W *A. thaliana* zidentyfikowano 11 genów kodujących kuliny, dwa geny *RBX*, 21 genów *ASK* i około 700 genów *FBX* [35,59].



RYCINA 1. Schemat budowy roślinnych ligaz ubikwitynowych. Szczegóły opisano w tekście (na podstawie prac [45,55,64])

Aktywność wszystkich ligaz zawierających kulinę jest regulowana w drodze odwracalnej rubinylicacji/nedylacji kuliny, w której uczestniczą enzymy odpowiedzialne za przyłączenie do kuliny białka podobnego do ubikwityny RUB/NEDD8 oraz kompleks CSN (sygnałosom COP9) funkcjonujący m.in. w derubinylicacji ligaz [22,50]. Ponadto w regulacji ligaz kulinowych typu SCF biorą udział białka CANDY1 i SGT [34].

W drugim typie ligaz zawierających kulinę zamiast białek ASK/SKP i FBX występuje białko z domeną BTB/POZ (ang. *Broad Complex*, *Tramtrack*, *Bric-a-brac*, *Pox virus and Zinc finger*), które pełni funkcję białka adaptorowego wiążącego białko przeznaczone do ubikwitynacji. Białko BTB/POZ oddziałuje z kuliną 3 (w *A. thaliana* AtCUL 3a lub AtCUL 3b), do której wiąże się także białko RBX (ryc. 1B). [12,71]. Na razie nie wiemy jeszcze, czy każde z 76 białek z domeną BTP/POZ w *A. thaliana* wchodzi w skład ligaz typu AtCUL3-RBX1-BTB, tak jak to jest w przypadku ETO1, które funkcjonuje w ligazie regulującej biosyntezę etylenu (patrz rozdz. 7) [6].

Inny typ ligazy ubikwitynowej tworzy białko COP1 *A. thaliana* (ang. *Constitutively Photomorphogenic 1*) z domeną *RING-finger* uważane do niedawna za monomeryczną ligazę E3 [22]. Najnowsze doniesienia sugerują, że COP1, podobnie jak poznany niedawno ludzki homolog tego białka [13], jest podjednostką ligazy zbudowanej także z udziałem kuliny [26,55,64]. Ligazę tego typu tworzy białko z domeną DDB1 (ang. *DNA Damage Binding protein 1*) wiążące białka DET1 i COP1 oraz białko RBX oddziałujące z kuliną 4 (ryc. 1C).

Wielopodjednostkową ligazą jest także kompleks APC/C (ang. *Anaphase Promoting Complex/Cyclosome*) zbudowany co najmniej z 11 białek (ryc. 1D) [45,55,59].

Odpowiednikiem kuliny jest tu białko APC2 zawierające motyw kulinowy, natomiast białko APC11 z domeną *RING-finger* jest podobne do RBX. Rola pozostałych podjednostek kompleksu na razie nie jest znana. Ligaza APC/C odpowiedzialna jest m.in. za ubikwitynację cyklin [45].

Do grupy monomerycznych ligaz ubikwitynowych z domeną *RING-finger* w *A. thaliana* należą białka SINAT5, HOS1, CIP8 oraz PRT1 [45, 59]. Schemat budowy takiej ligazy z domeną *RING-finger* przedstawiono na rycinie 1E.

Kolejną grupę ligaz tworzą białka z domeną *U-box*, która pod względem struktury przypomina domenę *RING-finger*, mimo że nie zawiera jonów cynku (ryc. 1F). W *A. thaliana* ligazy PUB (ang. **Plant U-Box Protein**) z domeną *U-box* są kodowane przez 41 genów [34].

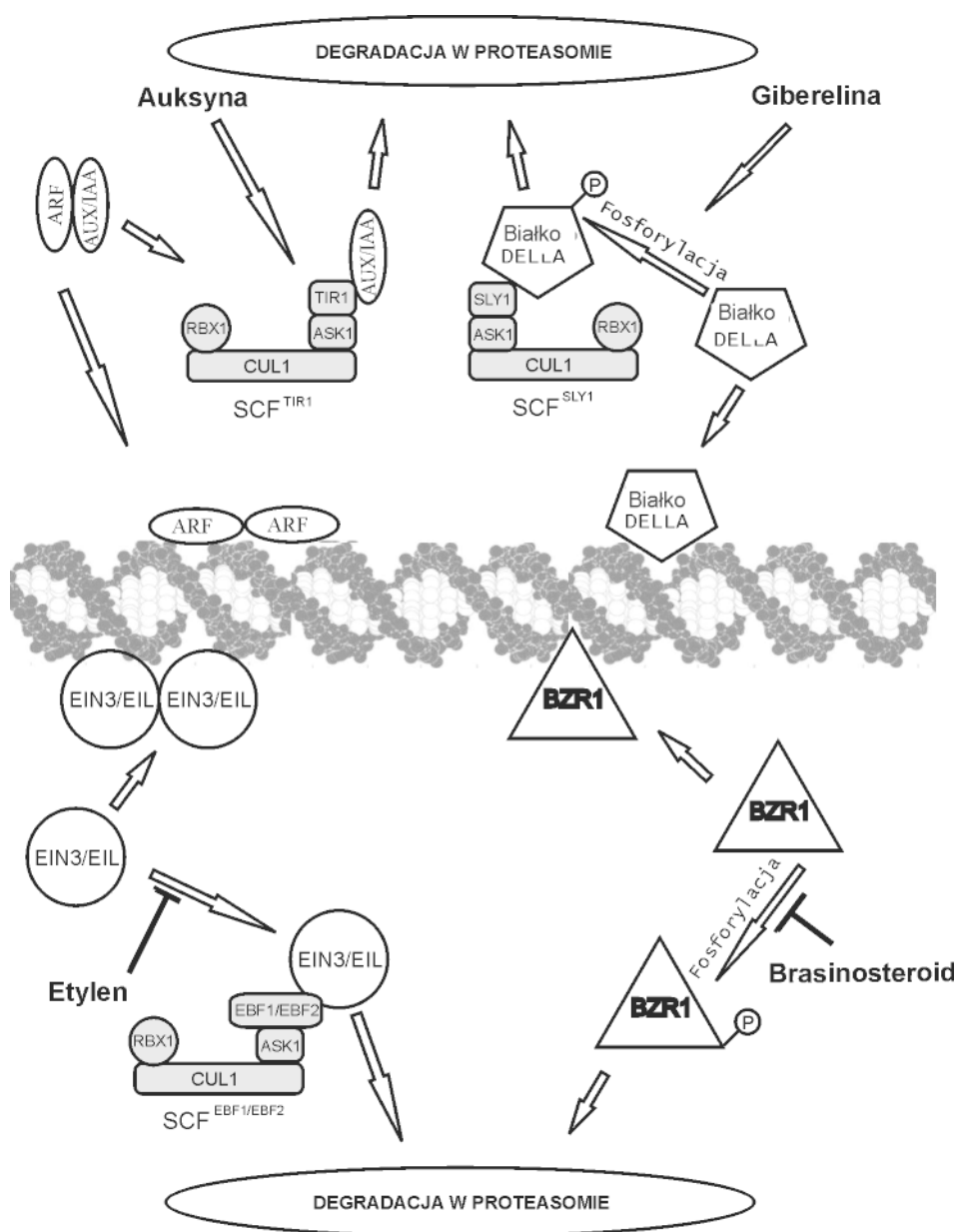
Ligazy z domeną HECT (ang. **Homology to E6-AP C-Terminus**), kodowane w *A. thaliana* przez 7 genów, zawierają w części C-końcowej charakterystyczną domenę HECT, która wiąże enzym E2 i tworzy przejściowe wiązanie tioestrowe z ubikwityną [14]. Białko substratowe ulegające ubikwitynacji jest rozpoznawane i wiązane za pośrednictwem odpowiedniej domeny położonej w N-końcowym odcinku polipeptydu (ryc. 1G).

Geny kodujące poszczególne białka układu ubikwityna/proteasom stanowią w *A. thaliana* ponad 5% całego genomu. Tak duże zróżnicowanie poszczególnych elementów układu, w tym również enzymów deubikwitynujących i białek budujących proteasom 26S, a także wielka różnorodność białek regulatorowych i białek współdziałających z ligazami świadczą o tym, że układ ubikwityna/proteasom 26S gra kluczową rolę w regulacji wielu procesów życiowych rośliny.

### 3. UBIKWITYNACJA CZYNNIKÓW TRANSKRYPCYJNYCH KOŃCOWYM OGNIWEM SZLAKÓW SYGNAŁOWYCH AKTYWOWANYCH PRZEZ FITOHORMONY

Wyniki badań z ostatnich lat pokazały, że zależna od ubikwityny degradacja białek funkcjonujących w regulacji transkrypcji genów jest jednym z kluczowych elementów hormonalnych szlaków sygnałowych. Badaniom tym poświęcono artykuł opublikowany w *Postęпах Biochemii* [34], a także prace przeglądowe dostępne w czasopiśmie o zasięgu ogólnosięciowym [45,55].

Znaczenie ubikwitynacji białek w sygnalizacji hormonalnej najpełniej poznano w przypadku szlaku zależnego od auksyny [5,11]. W odpowiedziach rośliny na ten fitohormon układ ubikwityna/proteasom 26S jest odpowiedzialny za ubikwitynację białek represorowych AUX/IAA, które mogą tworzyć heterodimery z czynnikami transkrypcyjnymi ARF (ang. **Auxin Response Factor**) (ryc. 2) [72]. Białka ARF mają domenę wiążącą DNA oraz charakterystyczny motyw, od którego zależy, czy dane białko aktywuje, czy hamuje geny regulowane przez auksynę [34]. Ekspresja genów *ARF* nie jest zależna od obecności fitohormonu, natomiast poziom co najmniej pięciu z 23 transkryptów *ARF* mRNA w *A. thaliana* jest regulowany przez mikroRNA [15,42].



RYCINA 2. Kontrolowana przez fitohormony ubikwitynacja białek regulujących ekspresję genów. Szczegóły opisano w tekście (na podstawie prac [1,5,11,16,20,37,70])

Białka AUX/IAA są wiązane przez białko TIR1 (ang. *Transport Inhibitor Response 1*), jedno z ponad 700 białek z domeną F tworzących ligazy typu SCF [34]. Doniesienia z ostatnich miesięcy sugerują, że TIR1 nie tylko rozpoznaje i wiąże określone białko(a) AUX/IAA, ale jest także receptorem auksyny [9,10,33]. Potwierdzenie receptorowej funkcji TIR1 oraz jego homologów AFB1, 2 i 3 (ang. *Auxin Signaling F-box protein*)

[9,10] byłyby jednym z bardziej spektakularnych osiągnięć w trwających od ponad trzydziestu lat poszukiwaniach receptorów auksyn [75]. Proponowany obecnie mechanizm regulacji ekspresji genów przez auksynę zakłada, że w warunkach braku hormonu białka AUX/IAA tworzą heterodimery z czynnikami transkrypcyjnymi ARF uniemożliwiając w ten sposób ich oddziaływanie z promotorami genów regulowanych przez auksynę (ryc. 2). Wiązanie auksyny przez białko TIR1 bądź jego homologi zmienia powinowactwo ligazy SCF względem określonego białka AUX/IAA promując w ten sposób jego ubiquitytację. Proteoliza AUX/IAA umożliwia tworzenie homodimerów ARF, które są wiązane do promotorów genów pierwotnych odpowiedzi na auksynę (w tym również genów AUX/IAA), co w efekcie prowadzi do aktywacji bądź represji tych genów.

Badania poświęcone poznawaniu giberelinowych szlaków sygnałowych przyniosły szereg danych świadczących o tym, że również ta grupa fitohormonów aktywuje zależną od ubiquitytyny degradację białek represorowych [1,16,34]. Wyselekcjonowanie kilku mutantów *A. thaliana* o zmienionych odpowiedziach na obecność gibereliny umożliwiło zidentyfikowanie genów kodujących białka zawierające w regionie N-końcowym charakterystyczny motyw DELLA [34]. Wyniki badań z ostatnich lat dowodzą, że sygnał giberelinowy aktywuje kinazę białkową, która fosforyluje białko z motywem DELLA umożliwiając w ten sposób jego rozpoznanie przez ligazy SCF<sup>SLY1/SNE</sup>, ubiquitytację, a w konsekwencji degradację w proteasomach (ryc. 2). [1,16,34]. Tak więc, obecność gibereliny aktywuje proteolizę białek represorowych z motywem DELLA uwalniając ekspresję genów innych czynników transkrypcyjnych m.in. GAMYB [1].

Odmienne mechanizmy regulują ubiquitytację czynników transkrypcyjnych w szlaku sygnałowym aktywowanym przez etylen [20,34]. W tym wypadku szlaki sygnałowe przekazujące informację do jądra hamują ubiquitytację czynników transkrypcyjnych z rodziny EIN3/EIL wiązanych przez sekwencje promotorowe genu *ERF1* (ang. *Ethylene Responsive Factor 1*) oraz innych genów z rodziny *EREBP* kodujących czynniki transkrypcyjne [35]. Wyniki szczegółowych badań dowiodły, że poziom EIN3/EIL wyraźnie wzrasta w obecności etylenu, natomiast w warunkach jego braku białka te są ubiquitynowane i ulegają degradacji. Udało się poznać dwa geny *EBF1* i *EBF2* (ang. *EIN3-Binding F-box protein 1 i 2*), których produkty tworzą ligazy SCF<sup>EBF1/EBF2</sup> biorące udział w ubiquitytacji EIN3/EIL [17]. W konkluzji dotychczasowych badań przyjmuje się więc, że w warunkach braku etylenu białka EIN3/EIL ulegają konstytutywnej ubiquitytacji i degradacji w proteasomach, natomiast aktywacja szlaku sygnałowego przez etylen prowadzi do destabilizacji ligaz SCF<sup>EBF1/EBF2</sup> bądź modyfikacji EIN3/EIL, czego efektem jest zahamowanie ich ubiquitytacji (ryc. 2). Białka EIN3/EIL jako pozytywne elementy etylenowych szlaków sygnałowych aktywują gen *ERF1* oraz inne geny *EREBP*, których produkty regulują ekspresję genów tzw. wtórnych odpowiedzi na etylen [34].

Wyniki najnowszych badań sugerują, że również w przypadku brassinosteroidów sygnał hormonalny zapobiega degradacji czynników transkrypcyjnych BZR1 i BZR2/BES1 (ang. *Brassinazole Resistant 1/BRI1-Suppressor 1*) [37,70]. W tym wypadku zwiążanie brassinosteroidu przez kompleks heterodimerycznej kinazy białkowej BRI1/BAK1 prowadzi do zahamowania aktywności cytoplazmatycznej kinazy białkowej BIN2, która fosforyluje białka BZR1 i BES1, a przypuszczalnie także białka BEH1 do 4 [38].



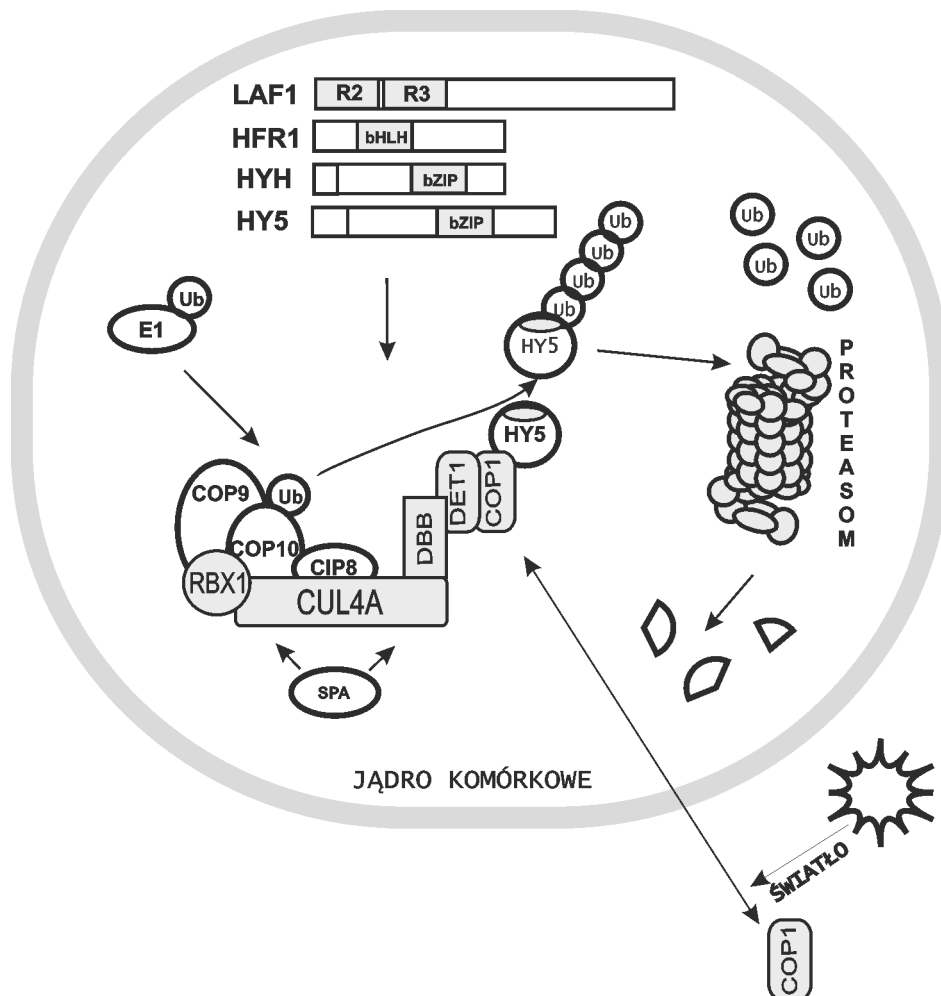
Tak więc, w warunkach braku fitohormonu fosforylowane przez kinazę BIN2 białka BZR1 i BES1 stają się substratami dla ligazy ubikwitynowej (ryc.2). Zahamowanie kinazy BIN2 w wyniku związania brassinosteroidu przez kompleks receptorowy chroni czynniki transkrypcyjne przed ubikwitynacją, co w efekcie prowadzi do aktywacji określonych genów, w tym m.in. genu *SAUR-AC1* związanego ze wzrostem wydłużeniowym lub hamowania genu *CPD* odpowiedzialnego za syntezę brassinosteroidów [37,38].

Ubikwitynacja białek pełni także jedną z kluczowych funkcji regulacyjnych w szlakach sygnałowych aktywowanych przez kwas abscysynowy (ABA), kwas jasmonowy (JA) i cytokiny. Wyniki nielicznych jeszcze badań pokazują, że ABA reguluje ubikwitynację czynnika transkrypcyjnego ABI5 w ten sposób, że obecność fitohormonu stabilizuje ufosforylowaną formę ABI5, natomiast jego brak powoduje wiązanie nieufosforylowanego ABI5 do białka AFP (ang. *ABI Five binding Protein*), które kieruje ABI5 do ubikwitynacji i degradacji w proteasomach [24,34]. W szlakach sygnałowych aktywowanych przez jasmoniany funkcjonuje białko COI1 z domeną F (ang. *Coronatine Insensitive 1*), które oddziałuje z deacetylazą histonową [40]. Pojedyncze doniesienie dotyczące badań mutantu *rpn12a-1 A. thaliana* z upośledzonymi odpowiedziami na cytokiny dowodzi, że przyczyną tych zmian jest mutacja w jednym z białek proteasomu [59].

#### 4. UBIKWITYNACJA BIAŁEK W PROCESACH REGULOWANYCH PRZEZ ŚWIATŁO

W pierwszej połowie lat dziewięćdziesiątych XX w. wyselekcjonowano rodzinę mutantów *A. thaliana* określanych wspólną nazwą *cop/det/fus*, których siewki rosnące w ciemności fenotypowo są podobne do roślin linii dzikich rosnących na świetle. Po sklonowaniu wszystkich 11 genów *COP/DET/FUS* okazało się, że osiem spośród nich koduje białka kompleksu regulatorowego COP9/CSN, a pozostałe trzy białka (COP1, DET1, COP10) bezpośrednio uczestniczą w ubikwitynacji białek [22,26,45]. Białko COP1 z domeną *RING-finger* było początkowo uważane za ligazę ubikwitynową typu monomerycznego, jednak obecnie przyjmuje się, że COP1 *A. thaliana*, podobnie jak poznane niedawno ludzkie białko COP1, jest jedną z podjednostek ligazy zbudowanej z udziałem kulin 4 [26,55,64,73]. Ligazę tego typu tworzy białko z domeną DDB1 (ang. *DNA Damage Binding protein 1*) wiążące białka DET1 i COP1 oraz wiązane przez kulinę 4 białko RBX (ryc. 3). Z kompleksem ligazy COP1 oddziałują białka CIP8, COP10, SPA i sygnałom COP9 [22]. W doświadczeniach wykorzystujących technikę mikromacierzy DNA wykazano, że w *A. thaliana* ligaza COP1 pośredniczy w regulacji ponad 20% genów [41]. Wyniki te dowodzą, że COP1 jest kluczowym elementem mechanizmu regulującego ekspresję genów kontrolowanych przez światło.

Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że ligaza zawierająca COP1 pośredniczy w ubikwitynacji czynników transkrypcyjnych HY5 i HYH z motywem bZIP [7,22], czynnika transkrypcyjnego HFR1 z motywem bHLH [30,74], białka LAF1 z rodziny czynników transkrypcyjnych MYB-R2R3 [57], a także fitochromu A – fotoreceptora



RYCINA 3. Regulowana przez światło ubikwitinacja czynników transkrypcyjnych. Szczegóły opisano w tekście (na podstawie prac [22,26,45,55])

światła czerwonego i dalekiej czerwieni [56]. Aktywność ligazy COP1 regulują cztery białka z rodziny SPA1 (ang. *Suppressor of PhyA-105*), kryptochromy, a przypuszczalnie także fitochromy [27,36]. Doświadczenia z wykorzystaniem chimery COP1 z GFP pokazały, że w komórkach rośliny rosnącej w ciemności COP1 jest zlokalizowane w jądrze, natomiast w roślinie wystawionej na światło COP1 migruje do cytoplazmy [61]. Wymuszony przez światło transport COP1 z jądra do cytoplazmy zapobiega ubikwitinacji czynników transkrypcyjnych, które aktywują geny regulowane przez światło. Tak więc, kontrolowana przez światło zmiana subkomórkowej lokalizacji COP1 jest istotnym elementem mechanizmu regulującego wewnątrzjądrowy poziom czynników transkrypcyjnych. Mechanizm kontrolowanej przez światło migracji COP1 między jądrem a cytoplazmą nie jest dokładnie poznany, chociaż wiadomo, że uczestniczą w nim fitochromy A i B, kryptochrom 1 oraz kompleks COP9 [45].



W badaniach poświęconych molekularnemu mechanizmowi zegara biologicznego poznano gen *ZTL* (ang. *Zeitlupe*) *A. thaliana* kodujący polipeptyd, który w części N-końcowej ma domenę LOV wiążącą nukleotyd flawinowy (FMN), w części środkowej motyw kasety F, a w regionie C-końcowym powtórzenia motywu odpowiedzialnego za oddziaływanie z innymi białkami. W genomie *A. thaliana* zidentyfikowano dwa inne geny (*FKF1*; ang. *Flavin-binding, Kelch repeat, F box* i *LKP2*; ang. *LOV Kelch Protein 2*) kodujące białka homologiczne z *ZTL* [23]. Obecność we wszystkich trzech białkach domeny LOV wiążącej FMN oraz kasety F sugeruje, że są one receptorami flawoproteinowymi wchodzącymi w skład różnych kompleksów ligaz ubikwitynowych typu SCF [28]. Wyniki ostatnich badań potwierdzają to przypuszczenie, bowiem wykazano, że ligaza typu SCF<sup>ZTL</sup> bierze udział w ubikwitynacji białka TOC1/APRR1, jednego z elementów zegara komórkowego [21,43], natomiast białko FKF1 funkcjonuje w zależnej od światła regulacji ekspresji genu *CO* (*CONSTANS*), którego produkt gra ważną rolę w fotoperiodycznej indukcji kwitnienia [28].

## 5. UBIKWITYNACJA BIAŁEK W SAMONIEZGODNOŚCI HOMOMORFICZNEJ

Samoniezgodność homomorficzna jest mechanizmem kontrolowanym genetycznie umożliwiającym selekcję pyłków padających na znamię słupka w celu niedopuszczenia do zapłodnienia przez własny pyłek. W pracy opublikowanej niedawno w *Kosmosie* przedstawiono podstawowe założenia mechanizmów samoniezgodności sporofitowej i gametofitowej [4]. Kluczowymi elementami obu mechanizmów są układy pośredniczące w ubikwitynacji białek, które w samoniezgodności sporofitowej biorą udział w reakcji odrzucenia pyłku o niewłaściwym haplocyocie [25,32,63], a w samoniezgodności gametofitowej uczestniczą zarówno w reakcji rozpoznania, jak również w reakcji odpowiedzi przeciwdziałającej zapłodnieniu wsobnemu [31,44].

W przypadku samoniezgodności sporofitowej, badanej głównie w roślinach z rodziny *Brassicaceae*, w reakcji rozpoznania pyłku pośredniczą białka SRK i SLG, produkty genów tzw. locus S. W błonie komórek wyrostkowych znamienia tworzą one kompleks receptorowy rozpoznający specyficzny oligopeptyd SCR/SP11 pochodzący z pyłku osiadłego na znamieniu, który został wbudowany na jego powierzchnię w zależności przez komórki tapetum. Białko SRK jest receptorową transbłonową serynowo/treoninową kinazą białkową, natomiast SLG jest sekrecyjną glikoproteiną, której rola w reakcji rozpoznania męskiej determinanty samoniezgodności nie jest do końca poznana [25,32,63]. Aktywność kinazy białkowej SRK jest blokowana przez tioredoksynę (THL1 i THL2) wiążącą się z resztą cysteiny położoną w regionie transbłonowym SRK [63]. Dodatkowym elementem układu receptorowego współdziałającym z kompleksem SRK jest kinaza serynowo/treoninowa MLPK (ang. *M Locus Protein Kinase*) zakotwiczona w błonie komórkowej po stronie cytoplazmatycznej [46]. Wewnątrzkomórkowa domena receptora SRK oddziałuje z ligazą ubikwitynową ARC1 (ang. *Arm Repeat-Containing*

*Protein 1*) zawierającą domenę *U-box* [60]. Fosforylacja ARC1 przez kompleks receptorowy SRK/MLPK aktywuje mechanizm odpowiedzialny za odrzucenie pyłku o niewłaściwym haplocyocie. W warunkach, gdy kompleks receptorowy nie ulega aktywacji, a więc również w sytuacji, gdy na znamieniu osiadzie obcy pyłek, tioredoksyna zapobiega autofosforylacji kompleksu receptorowego. Tak więc ligaza ARC1 w samoniezgodności sporofitowej gra rolę pozytywnego elementu w szlaku aktywowanym w warunkach samozapylenia, a jej fosforylacja przez aktywny kompleks SRK(SLG)-MLPK uruchamia mechanizm zapobiegający kiełkowaniu łagiewki pyłkowej. Znalezienie białka substratowego ubikwitynowanego przez ARC1 powinno w przyszłości pomóc w rozszyfrowaniu mechanizmu zaangażowanego w eliminowanie pyłku o niewłaściwym haplocyocie.

W samoniezgodności gametofitowej, badanej u przedstawicieli *Solanaceae*, *Rosaceae* i *Scrophulariaceae*, reakcja rozpoznania zachodzi pomiędzy rybonukleazą (S-RNazą) kodowaną przez gen locus S, którego ekspresja zachodzi w komórkach szyjki słupka, a zidentyfikowanym ostatnio białkiem SLF/SFB, produktem genu locus S w pyłku [31,44]. Białko SLF/SFB (ang. *S-Locus F-box/S-haplotype-specific F-box*) zawiera kasetę F i jak wykazały ostatnie badania, oddziałuje z białkami współtworzącymi ligazę ubikwitynową typu SCF [52]. Wiadomo też, że białko SLF/SFP oddziałuje z S-RNazą, niezależnie od kodujących je haplocyotów genu, kierując ją do ubikwitynacji. O zaangażowaniu proteasomów w proteolizę S-RNazy świadczy m.in. hamowanie jej degradacji przez inhibitory proteasomów [53]. W świetle wyników ostatnich badań wydaje się więc, że S-RNaza (u heterozygot produkty obu alleli genu S w diploidalnej tkance sporofitu) przenika niespecyficycznie z apoplastu do rosnącej łagiewki zarówno pyłku zgodnego, jak i niezgodnego. W łagiewce obcego pyłku (zgodnego) obie S-RNazy są rozpoznawane przez SLF/SFP i ulegają proteolitycznej degradacji, co zapobiega trawieniu rRNA i umożliwia kontynuowanie wzrostu łagiewki w kierunku zalążni. W łagiewce pyłku niezgodnego białko SLF/SFP jest produktem genu S haploidalnego genomu pyłku o haplocyocie odpowiadającym jednemu z dwóch allelicznych genów kodujących S-RNazę [31,44]. W wyniku swoistej interakcji obu tych białek pyłek zostaje rozpoznany jako niezgodny, a w efekcie jedna z S-RNaz pozostaje nienaruszona. Obecność aktywnej S-RNazy w łagiewce prowadzi do strawienia rRNA i zahamowania jej dalszego wzrostu [52,53,58,67]. Proponowany obecnie mechanizm samoniezgodności gametofitowej wydaje się bardzo prawdopodobny, chociaż szereg jego elementów wymaga jeszcze eksperymentalnej weryfikacji [31,44].

## 6. UKŁAD UBIKWITYNA/PROTEASOM W AKTYWACJI REAKCJI OBRONNYCH PRZECIW PATOGENOM

Mechanizmy obronne uruchamiane w wyniku swoistych oddziaływań między patogenem a rośliną polegają najogólniej na interakcji pomiędzy roślinnymi białkami kodowanymi przez geny odporności (R) a produktami tzw. genów awirulencji (*Avr*) patogena lub czynnikami, które powstają w wyniku działania tych produktów w roślinie. Spośród licznych białek R (szacuje się, że w *A. thaliana* jest ich około 250) co najmniej

niektóre funkcjonują jako swoiste białka sensorowe rozpoznające zmiany powstałe w wyniku wniknięcia do rośliny określonego białka patogena. W wyniku rozpoznania określonych zmian następuje aktywacja odpowiednich szlaków sygnałowych indukujących różnorodne reakcje obronne [29,54].

Poszukiwania molekularnych mechanizmów reakcji obronnych skierowanych przeciw różnym patogenom przyniosły w ostatnich latach szereg nowych danych, które jednoznacznie wskazują na udział w tych reakcjach układów ubikwitynacji i degradacji białek [8]. W badaniach odporności jęczmienia na zakażenie grzybem *Blumeria graminis f. p. hordei* zidentyfikowano gen *RAR1* (ang. *Required for Mla-dependent Resistance 1*) kodujący cytoplazmatyczne białko z dwiema domenami wiążącymi cynk określanymi akronimem CHORD [8]. Białko RAR1 oddziałuje z różnymi białkami R roślin jedno- i dwuliściennych [47], a także z produktami genów *SGT* (ang. *Suppressor of the G2 allele of skp1-4*) [3]. Białko SGT (w *A. thaliana* SGT1a i SGT1b) oddziałujące poprzez białko SKP1 z ligazami ubikwitynowymi typu SCF jest wspólnym elementem łączącym reakcje obronne przeciw różnym patogenom [2,51,65]. Znaczenie SGT1b w funkcjonowaniu ligazy ubikwitynowej typu SCF potwierdzono także w badaniach ubikwitynacji białek AUX/IAA aktywowanej przez auksynę [18]. Obecnie wiadomo, że kompleks RAR1-SGT1 oddziałuje poprzez podjednostki CSN4 i CSN5 z sygnałosomem COP9 [3,39] oraz z białkiem szoku termicznego HSP90 [27,62]. W proponowanym obecnie modelu zakłada się, że białko R tworzy kompleks z białkami RAR1 i HSP90, a związanie liganda (produktu genu *Avr*) przez białko R bądź wykrycie określonej zmiany powstałej w wyniku zakażenia rośliny, prowadzi do ubikwitynacji i degradacji białek hamujących określone reakcje obronne.

## 7. INNE PROCESY REGULOWANE W DRODZE SELEKTYWNEJ UBIKWITYNACJI BIAŁEK

Oprócz procesów omówionych w poprzednich rozdziałach, w których rola ubikwitynacji białek została już częściowo poznana, selektywna ubikwitynacja białek reguluje szereg innych reakcji zachodzących w roślinach, których badania dopiero się rozpoczęły. Dobrym przykładem jest tutaj badana obecnie regulacja biosyntezy etylenu, która zachodzi na etapie przemiany S-adenozylu-L-metioniny (AdoMet) do kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksyowego (ACC) katalizowanej przez syntazę ACC (ACS). Genom *A. thaliana* zawiera dziewięć genów *ACS* kodujących osiem funkcjonalnych izoform syntazy, których długość życia reguluje ligaza zawierająca białko ETO1 z domeną BTB oddziałująca z kuliną 3 (AtCUL3) [6,69]. Podatność poszczególnych izoform ACS na ubikwitynację regulowana jest w drodze fosforylacji, a aktywność ligazy AtCUL3-ETO1-RBX1, podobnie jak innych ligaz kulinowych, kontrolowana jest poprzez rubinylację/nedylację kuliny [6].

W szlaku sygnałowym aktywowanym przez auksynę oprócz ligazy kulinowej SCF funkcjonują także monomeryczne ligazy SINAT5 i XBAT32 z domeną *RING-finger*,

które regulują powstawanie i rozwój korzeni bocznych [45,49]. Ligaza SINAT5 ubikwitynuje czynnik transkrypcyjny NAC1, który reguluje ekspresję genów odpowiedzialnych za tworzenie korzeni bocznych. W giberelinowych szlakach sygnałowych oprócz ligaz SCF<sup>S<sub>LY</sub>/S<sub>NE</sub></sup> funkcjonuje także ligaza PHOR1 z domeną *U-box* [45], a w kontrolowanym przez gibereliny tworzeniu włosków bierze udział ligaza UPL3 z domeną HECT [14].

W fotoperiodycznej indukcji kwitnienia kluczową rolę gra białko CONSTANS (CO) funkcjonujące jako czynnik transkrypcyjny aktywujący geny konieczne do inicjacji kwitnienia, m.in. gen *FLOWER LOCUS T (FT)*. W komórkach rośliny przechowywanej w ciemności białko CO jest ubikwitynowane i ulega proteolizie, natomiast na świetle jego poziom wyraźnie rośnie, chociaż światło o różnej długości fali w różny sposób wpływa na jego stabilizację [68]. Światło dalekiej czerwieni i światło niebieskie stabilizuje poziom CO, podczas gdy światło czerwone sprzyja jego degradacji. W konkluzji można więc stwierdzić, że światło niebieskie i dalekiej czerwieni poprzez układ kryptochromów (Cry1/Cry2) i fitochromu A hamuje ubikwitynację CO, natomiast światło czerwone poprzez fitochrom B promuje ubikwitynację i degradację CO [68].

Ligaza typu SCF z białkiem UFO (ang. *Unusual Floral Organ*) zawierającym kasetę F jest pozytywnym elementem szlaku regulującego ekspresję genów *APETALA3*, które kodują czynniki transkrypcyjne aktywujące geny typu B odpowiedzialne za rozwój pręcików i płatków korony [45], a jak pokazują wyniki najnowszych badań, także za powstawanie innych elementów kwiatu [48].

U mutantów *A. thaliana* o zmienionej liczbie bocznych rozgałęzień pędu oraz u mutantu z opóźnionym starzeniem zidentyfikowano gen *ORE9/MAX2* kodujący białko z kasetą F. Analizując zmiany fenotypowe tych mutantów sugeruje się, że ligaza SCF<sup>ORE9/MAX2</sup> uczestniczy w ubikwitynacji białek, które regulują powstawanie bocznych rozgałęzień pędu oraz hamują proces starzenia liści [45]. W odpowiedziach rośliny na zmieniające się warunki temperatury uczestniczą ligazy AtCHIP i HOS1 [45]. AtCHIP jest ligazą z domeną *U-box*, natomiast białko HOS1 zawiera domenę *RING-finger*. Mutacji w genie *HLR* (ang. *Halted Root*) kodującym podjednostkę RPT2a proteasomu towarzyszą zaburzenia w rozwoju merystemów wierzchołkowych pędu i korzenia polegające na zmianie kierunku oraz czasu podziałów komórek merystematycznych [66].

Przedstawiony w pracy przegląd aktualnie prowadzonych badań potwierdza, że zależna od ubikwityny degradacja białek jest kluczowym mechanizmem regulującym różnorodne procesy zachodzące w ciągu całego cyklu życiowego rośliny. W tym miejscu należy także podkreślić, że w dotychczasowych badaniach prowadzonych na roślinach brakuje jak na razie danych na temat mono- i diubikwitynacji, która jak wiadomo nie kieruje białek do proteolizy, lecz gra odmienne role w procesach komórkowych. Można zatem przypuszczać, że w miarę postępu badań liczba poznanych procesów regulowanych w drodze ubikwitynacji białek będzie ciągle wzrastać.

## LITERATURA

- [1] ALVEY L, HARBERD NP. DELLA proteins: integrators of multiple plant growth regulatory inputs? *Physiol Plant* 2005; **123**: 153–160.
- [2] AUSTIN MJ, MUSKETT P, KAHN K, FEYS BJ, JONES JDG, PARKER JE. Regulatory role of *SGT1* in early *R* gene-mediated plant defenses. *Science* 2002; **295**: 2077–2080.
- [3] AZEVEDO C, SADANANDOM A, KITAGAWA K, FREIALDENHOVEN A, SHIRASU K, SCHULZE-LEFERT P. The RAR1 interactor SGT1, an essential component of *R* gene-triggered disease resistance. *Science* 2002; **295**: 2073–2076.
- [4] BEDNARSKA E, LENARTOWSKA M. Mechanizmy samoniezgodności u roślin kwiatowych. *Kosmos* 2003; **52**: 425–443.
- [5] BERLETH T, KROGAN NT, SCARPELLA E. Auxin signals – turning genes on and turning cells around. *Curr Opin Plant Biol* 2004; **7**: 553–563.
- [6] CHAE HS, KIEBER JJ. *Eto Brute?* Role of ACS turnover in regulating ethylene biosynthesis. *Trends Plant Sci* 2005; **10**: 291–296.
- [7] CLUIS CP, MOUCHEL CF, HARDTKE CS. The *Arabidopsis* transcription factor HY5 integrates light and hormone signaling pathways. *Plant J* 2004; **38**: 332–347.
- [8] DEVOTO A, MUSKETT PR, SHIRASU K. Role of ubiquitination in the regulation of plant defence against pathogens. *Curr Opin Plant Biol* 2003; **6**: 307–311.
- [9] DHARMASIRI N, DHARMASIRI S, ESTELLE M. The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 2005; **435**: 441–445.
- [10] DHARMASIRI N, DHARMASIRI S, WEIJERS D, LECHNER E, YAMADA M, HOBBI L, EHRSMANN JS, JÜRGENS G, ESTELLE M. Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins. *Dev Cell* 2005; **9**: 109–119.
- [11] DHARMASIRI N, ESTELLE M. Auxin signaling and regulated protein degradation. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 302–308.
- [12] DIETERLE M, THOMANN A, RENOU J-P, PARMENTIER Y, COGNAT V, LEMONNIER G, MÜLLER R, SHEN W-H, KRETSCH T, GENSHIK P. Molecular and functional characterization of *Arabidopsis* Cullin 3A. *Plant J* 2005; **41**: 386–399.
- [13] DORNAN D, WERTZ I, SHIMIZU H, ARNOTT D, FRANTZ GD, DOWD P, ROURKE KO, KOEPPEN H, DIXIT VM. The ubiquitin ligase COP1 is a critical negative regulator of p53. *Nature* 2004; **429**: 86–92.
- [14] DOWNES BP, STUPAR RM, GINGERICH DJ, VIERSTRA RD. The HECT ubiquitin-protein ligase (UPL) family in *Arabidopsis*: UPL3 has a specific role in trichome development. *Plant J* 2003; **35**: 729–742.
- [15] ECKARDT NA. MicroRNAs regulate auxin homeostasis and plant development. *Plant Cell* 2005; **17**: 1335–1338.
- [16] FLEET CM, SUN T-P. A DELLAcate balance: the role of gibberellin in plant morphogenesis. *Curr Opin Plant Biol* 2005; **8**: 77–85.
- [17] GAGNE JM, SMALLE J, GINGERICH DJ, WALKER JM, YOO S-D, YANAGISAWA S, VIERSTRA RD. *Arabidopsis* EIN-binding F-box 1 and 2 form ubiquitin-protein ligases that repress ethylene action and promote growth by directing EIN3 degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 6803–6808.
- [18] GRAY WM, MUSKETT PR, CHUANG HW, PARKER JE. *Arabidopsis* SGT1b is required for SCF<sup>TIR1</sup>-mediated auxin response. *Plant Cell* 2003; **15**: 1310–1319.
- [19] GRZELAKOWSKA-SZTABERT B. Nagroda Nobla z chemii za 2004 rok – docenienie konrolowanej, zaleznej od ubikwityny, proteolitycznej degradacji bialek. *Post Biol Kom* 2005; **32**: 3–12.
- [20] GUO H, ECKER JR. The ethylene signaling pathway: new insights. *Curr Opin Plant Biol* 2004; **7**: 40–49.
- [21] HAN L, MASON M, RISSEUW EP, CROSBY WL, SOMERS DE. Formation of an SCF<sup>ZTL</sup> complex is required for proper regulation of circadian timing. *Plant J* 2004; **40**: 291–301.
- [22] HETMANN A, KOWALCZYK S. Szlaki sygnałowe aktywowane przez fitochromy, roślinne receptory światła czerwonego i dalekiej czerwieni. *Post Biol Kom* 2004; **31**: 155–176.
- [23] HETMANN A, KOWALCZYK S. Roślinne receptory światła niebieskiego i UV-A pośredniczące w reakcjach fototropicznych, fotomorfogenezie i nastawianiu zegara biologicznego. *Post Biol Kom* 2004; **31**: 441–463.
- [24] HIMMELBACH A, YANG Y, GRILL E. Relay and control of abscisic acid signaling. *Curr Opin Plant Biol* 2003; **6**: 470–479.



- [25] HISCOCK SJ, MCINNIS SM. Pollen recognition and rejection during the sporophytic self – incompatibility response: *Brassica* and beyond. *Trends Plant Sci* 2003; **8**: 606–613.
- [26] HOECKER U. Regulated proteolysis in light signaling. *Curr Opin Plant Biol* 2005; **8**: 469–476.
- [27] HUBERT DA, TORNERO P, BELKHADIR Y, KRISHNA P, TAKAHASHI A, SHIRASU K, DANGL JL. Cytosolic HSP90 associated with and nodulates the *Arabidopsis* RPM1 disease resistance protein. *EMBO J* 2003; **22**: 5679–5689.
- [28] IMAIZUMI T, TRAN HG, SWARTZ TE, BRIGGS WR, KAY SA. FKF1 is essential for photoperiodic-specific light signaling in *Arabidopsis*. *Nature* 2003; **426**: 302–306.
- [29] INNES RW. Guarding the goods. New insights into the central alarm system of plants. *Plant Physiol* 2004; **135**: 695–701.
- [30] JANG I-C, YANG J-Y, SEO HS, CHUA N-H. HFR1 is targeted by COP1 E3 ligase for post-translational proteolysis during phytochrome A signaling. *Genes Dev* 2005; **19**: 593–602.
- [31] KAO T-H, TSUKAMOTO T. The molecular and genetic bases of S-RNase-based self-incompatibility. *Plant Cell* 2004; **16**: S72–S83.
- [32] KEMP BP, DOUGHTY J. Just how complex is the *Brassica* S-receptor complex? *J Exp Bot* 2003; **54**: 157–168.
- [33] KEPINSKI S, LEYSER O. The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 2005; **17**: 446–451.
- [34] KOWALCZYK S, HADOWSKA E, PIEKARSKA A. Roślinne układy ubikwitynacji i degradacji białek w proteasomach – kluczowe elementy hormonalnych szlaków sygnałowych. *Post Biochem* 2005; **51**: 171–187.
- [35] KOWALCZYK S, HETMANN A. Roślinne receptorowe kinazy histydynowe i wielostopniowy przepływ fosforanu do regulatorów odpowiedzi. *Post Biochem* 2003; **49**: 298–318.
- [36] LAUBINGER S, FITTINGHOFF K, HOECKER U. The SPA quartet: a family of WD-repeat proteins with a central role in suppression of photomorphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2004; **16**: 2293–2306.
- [37] LI J. Brassinosteroid signaling: from receptor kinases to transcription factors. *Curr Opin Plant Biol* 2005; **8**: 526–531.
- [38] LI L, DENG XW. It runs in the family: regulation of brassinosteroid signaling by the BZR1-BES1 class of transcription factor. *Trends Plant Sci* 2005; **10**: 266–268.
- [39] LIU Y, SCHIFF M, SERINO G, DENG X-W, DINESH-KUMAR SP. Role of SCF ubiquitin-ligase and the COP9 signalosome in the *N* gene-mediated resistance response to *Tobacco mosaic virus*. *Plant Cell* 2002; **14**: 1483–1496.
- [40] LORENZO O, SOLANO R. Molecular players regulating the jasmonate signalling network. *Curr Opin Plant Biol* 2005; **8**: 532–540.
- [41] MA L, GAO Y, QU L, CHEN Z, LI J, ZHAO H, DENG XW. Genomic evidence for COP1 as a repressor of light-regulated gene expression and development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2002; **14**: 2383–2398.
- [42] MALLORY AC, BARTEL DP, BARTEL B. MicroRNA-directed regulation of *Arabidopsis* *AUXIN RESPONSE FACTOR17* is essential for proper development and modulates expression of early auxin response genes. *Plant Cell* 2005; **17**: 1360–1375.
- [43] MÁŠ P, KIM W-Y, SOMERS DE, KAY SA. Targeted degradation of TOC1 by ZTL modulates circadian function in *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 2003; **426**: 567–570.
- [44] MCCLURE B. S-RNase and SLF determine S-haplotype – specific pollen recognition and rejection. *Plant Cell* 2004; **16**: 2840–2847.
- [45] MOON J, PARRY G, ESTELLE M. The ubiquitin-proteasome pathway and plant development. *Plant Cell* 2004; **16**: 3181–3195.
- [46] MURASE K, SHIBA H, IWANO M, CHE F-S, WATANABE M, ISOGAI A, TAKAYAMA S. A membrane-anchored protein kinase involved in *Brassica* self-incompatibility signaling. *Science* 2004; **303**: 1516–1519.
- [47] MUSKETT PR, KAHN K, AUSTIN MJ, MOISAN LJ, SADANANDOM A, SHIRASU K, JONES JDG, PARKER JE. *Arabidopsis* *RAR1* exerts rate-limiting control of *R* gene-mediated defenses against multiple pathogens. *Plant Cell* 2002; **14**: 979–992.
- [48] NI W, XIE D, HOBBIE L, FENG B, ZHAO D, AKKARA J, MA H. Regulation of flower development in *Arabidopsis* by SCF complexes. *Plant Physiol* 2004; **134**: 1574–1585.
- [49] NODZON LA, XU W-H, WANG Y, PI L-Y, CHAKRABARTY PK, SONG W-Y. The ubiquitin ligase XBAT32 regulates lateral root development in *Arabidopsis*. *Plant J* 2004; **40**: 996–1006.
- [50] PARRY G, ESTELLE M. Regulation of cullin-based ubiquitin ligases by the Nedd8/RUB ubiquitin-like proteins. *Sem Cell Dev Biol* 2004; **15**: 221–229.



- [51] PEART JR, LU R, SADANANDOM A, MOLCUIT I, MOFFETT P, BRICE DC, SCHAUSER L, JAGGARD DAW, XIAO S, COLEMAN MJ, DOW M, JONES JDG, SHIRASU K, BAULCOMBE DC. Ubiquitin ligase-associated protein SGT1 is required for host and nonhost disease resistance in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**:10865–10869.
- [52] QIAO H, WANG H, ZHAO L, ZHOU J, HUANG J, AHANG Y, XUE Y. The F-box protein AhSLF-S<sub>2</sub> physically interacts with S-RNases that may be inhibited by the ubiquitin/26S proteasome pathway of protein degradation during compatible pollination in *Antirrhinum*. *Plant Cell* 2004; **16**: 582–595.
- [53] QIAO H, WANG F, ZHAO L, ZHOU J, LAI Z, ZHANG Y, ROBBINS TP, XUE Y. The F-box protein AhSLF-S<sub>2</sub> controls the pollen function of S-RNase-based self-incompatibility. *Plant Cell* 2004; **16**: 2307–2322.
- [54] SCHULZE-LEFERT P. Plant immunity: The origami of receptor activation. *Curr Biol* 2004; **14**: R22–R24.
- [55] SCHWECHHEIMER C, CALDERÓN VILLALOBOS LIA. Cullin-containing E3 ubiquitin ligases in plant development. *Curr Opin Plant Biol* 2004; **7**: 677–686.
- [56] SEO HS, WATANABE E, TOKUTOMI S, NAGATAMI A, CHUA N-H. Photoreceptor ubiquitination by COP1 E3 ligase desensitizes phytochrome A signaling. *Genes Dev* 2004; **18**: 617–622.
- [57] SEO HS, YANG J-Y, ISHIKAWA M, BOLLE C, BALLESTEROS ML, CHUA N-H. LAF1 ubiquitination by COP1 controls photomorphogenesis and is stimulated by SPA1. *Nature* 2003; **423**: 995–999.
- [58] SIJACIC P, WANG X, SKIRPAN AL, WANG Y, DOWD PE, MCCUBBIN AG, HUANG S, KAO TH. Identification of the pollen determinant of S-RNase-mediated self-incompatibility. *Nature* 2004; **429**: 302–305.
- [59] SMALLE J, VIERSTRA RD. The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway. *Annu Rev Plant Biol* 2004; **55**: 555–590.
- [60] STONE SL, ANDERSON EM, MULLEN RT, GORING DR. ARC1 is an E3 ubiquitin ligase and promotes the ubiquitination of proteins during the rejection of self-incompatible *Brassica* pollen. *Plant Cell* 2003; **15**: 885–898.
- [61] SUBRAMANIAN C, KIM B-H, LYSENKO NN, XU X, JOHNSON CH, VON ARNIM AG. The *Arabidopsis* repressor of light signaling, COP1, is regulated by nuclear exclusion: mutational analysis by bioluminescence resonance energy transfer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 6798–6802.
- [62] TAKAHASHI A, CASAIS C, ICHIMURA K, SHIRASU K. HSP90 interacts with RAR1 and SGT1 and is essential for RPS2-mediated disease resistance in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 11777–11782.
- [63] TAKAYAMA S, ISOGAI A. Molecular mechanism of self-recognition in *Brassica* self-incompatibility. *J Exp Botany* 2003; **54**: 149–156.
- [64] THOMANN A, DIETERLE M, GENSHIK P. Plant CULLIN-based E3s: Phytohormones come first. *FEBS Lett* 2005; **579**: 3239–3245.
- [65] TÖR M, GORDON P, CUZICK A, EULGEM T, SINAPIDOU E, MERK-TÖRK F, CAN C, DANGL JL, HOLUB EB. *Arabidopsis* SGT1b is required for defense signaling conferred by several downy mildew resistance genes. *Plant Cell* 2002; **14**: 993–1003.
- [66] UEDA M, MATSUI K, ISHIGURO S, SANO R, WADA T, PAPONOV I, PALME K, OKADA K. The *HALTED ROOT* gene encoding the 26S proteasome subunit RPT2a is essential for the maintenance of *Arabidopsis* meristems. *Development* 2004; **131**: 2101–2111.
- [67] USHIJIMA K, YAMANE H, WATARI A, KAKEHI E, IKEDA K, HAUCK NR, IEZZONI AF, TAO R. The S haplotype-specific F-box protein gene, SFB, is defective in self-compatible haplotypes of *Prunus avium* and *P. mume*. *Plant J* 2005; **39**: 573–587.
- [68] VALVERDE F, MOURADOV A, SOPPE W, RAVENSCROFT D, SAMACH A, COUPLAND G. Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science* 2004; **303**: 1003–1006.
- [69] WANG KL-C, YOSHIDA H, LURIN C, ECKER JR. Regulation of ethylene gas biosynthesis by the *Arabidopsis* ETO1 protein. *Nature* 2004; **428**: 945–950.
- [70] WANG Z-Y, HE J-X. Brassinosteroid signal transduction – choices of signals and receptors. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 91–96.
- [71] WEBER H, BERNHARDT A, DIETERLE M, HANO P, MUTLU A, ESTELLE M, GENSHIK P, HELLMANN H. *Arabidopsis* AtCUL3a and AtCUL3b form complexes with members of the BTB/POZ-MATH protein family. *Plant Physiol* 2005; **137**: 83–93.
- [72] WEIJERS D, BENKOVA E, JÄGER KE, SCHLERETH A, HAMANN T, KLIENTZ M, WILMOTH JC, REED JW, JÜRGENS G. Developmental specificity of auxin response by pairs of ARF and Aux/IAA transcriptional regulators. *EMBO J* 2005; **24**: 1874–1885.

- [73] YANAGAWA Y, SULLIVAN JA, KOMATSU S, GUSMAROLI G, SUZUKI G, YIN J, ISHIBASHI T, SAIJO Y, RUBIO V, KIMURA S, WANG J, DENG XW. *Arabidopsis* COP10 forms a complex with DDB1 and DET1 *in vivo* and enhances the activity of ubiquitin conjugating enzymes. *Gen Develop* 2004; **18**: 2172–2181.
- [74] YANG J, LIN R, SULLIVAN J, HOECKER U, LIU B, XU L, DENG XW, WANG H. Light regulates COP1-mediated degradation of HFR1, a transcription factor essential for light signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2005; **17**: 804–821.
- [75] ZIELIŃSKA E, KOWALCZYK S. Percepcja i transdukcja sygnału auksynowego. *Post Biol Kom* 2000; **27**: 155–183.

*Redaktor prowadzący – Maria Olszewska*

*Otrzymano: 02.11.2005 r.*

*Przyjęto: 02.02.2006 r.*

*ul. Konstytucji 3-go Maja 29a/13, 87-100 Toruń*

*tomasz.hejka@gmail.com*