

WEWNĄTRZKOMÓRKOWE I BŁONOWE RECEPTORY KWASU ABCYSYNOWEGO*

INTRACELLULAR AND PLASMA MEMBRANE-LOCALIZED
ABSCISIC ACID RECEPTORS

Piotr WASĄG, Stanisław KOWALCZYK

Zakład Biochemii, Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń

Streszczenie: Kwas abscysynowy (ABA) reguluje szereg różnorodnych procesów, w tym m.in. dojrzewanie i spoczynek nasion, wzrost korzeni, starzenie liści, a także przechodzenie z fazy wzrostu wegetatywnego do generatywnego. ABA jest także głównym hormonem stresu umożliwiającym przystosowanie rośliny do czynników środowiska, takich jak: susza, chłód czy zasolenie, pośredniczącym w regulacji aparatu szparkowego regulując w ten sposób przepływ wody oraz wpływającym na ekspresję genów związanych ze stresem. Spektakularnym osiągnięciem w poznawaniu szlaków sygnałowych ABA w ostatnim czasie było zidentyfikowanie trzech różnych receptorów ABA: białka FCA uczestniczącego w regulacji zakwitania, podjednostki H Mg-chelatazy i białka GCR2 z nadrodziny receptorów sprzężonych z białkami G. Pierwszym poznany receptorem było jądrowe białko FCA wiążące RNA oddziałujące z białkami FY i PCFS4 funkcjonującymi w formowaniu końca 3'RNA. Kompleks FCA-FY-PCFS4 przeciwdziała akumulacji transkryptu genu *FLC* kodującego czynnik transkrypcyjny hamujący zakwitanie. Drugim wewnątrzkomórkowym receptorem jest podjednostka CHLH magnezowej chelatazy, enzymu odpowiedzialnego za wbudowywanie Mg^{2+} do protoporfirynyIX. CHLH wiąże ABA niezależnie od protoporfirynyIX i gra kluczową rolę w tzw. szlaku retrogratycznym przekazującym informację z chloroplastów do jądra. CHLH/GUN5 jest także plastydowym receptorem ABA funkcjonującym jako pozytywny element w szlaku sygnałowym odpowiedzialnym za większość odpowiedzi na ABA. W przeciwieństwie do dwóch receptorów wewnątrzkomórkowych, wiążące ABA białko GCR2, związane z błoną komórkową, oddziałuje z heterotrimerycznymi białkami G. Wiązanie ABA do GCR2 wymusza dysocjację $G\alpha$ inicjując klasyczną kaskadę sygnałową zależną od białek G. Na razie nie wiemy, czy GCR2 jest typowym receptorem sprzężonym z białkami G czy białkiem tylko peryferycznie powiązany z błoną. Niezależnie od osiągnięć związanych z poznawaniem receptorów ABA, wyniki najnowszych badań pokazują, że w sieci sygnałowej ABA kluczowe miejsce zajmują oddziałujące swoiście pomiędzy sobą fosfatazy i kinazy białkowe. Wyniki badań genetycznych i biochemicznych potwierdziły udział kinazy typu SnRK2 i SnRK3 w regulacji ruchów aparatu szparkowego, a także w regulacji transkrypcji i metabolizmu RNA oraz w odpowiedziach na czynniki stresowe.

Słowa kluczowe: kwas abscysynowy, receptory ABA, szlaki sygnałowe ABA.

*Praca jest skróconą i nieco zmienioną wersją pracy licencjackiej P.W.

Summary: Abscisic acid (ABA) regulates a diverse array of processes including seed maturation and dormancy, root growth, leaf senescence, and the transition between vegetative and reproductive growth. ABA is also a major stress hormone that regulates the adaptation of plants to environmental stresses including drought, cold and salt. It controls the stomatal aperture to regulate water content and modulates the expression of stress-responsive genes. The most remarkable progress in recent studies of the ABA signaling pathways is the identification of three ABA receptors: the flowering-time control protein FCA, the Mg-chelatase H subunit, and the G protein-coupled receptor GCR2. The first reported ABA receptor was FCA, a nuclear localized RNA-binding protein that physically interacts with the RNA 3'-end processing factors FY and PCFS4 proteins. By a mechanism that remains to be elucidated, FCA-FY-PCFS4 complex prevents the accumulation of FLC transcripts encoding a transcription factor that inhibits flowering. Second intracellular ABA receptor is a plastid CHLH subunit of the magnesium-protoporphyrinIX chelatase that catalyses the insertion of Mg²⁺ into protoporphyrinIX. CHLH binds ABA independently of protoporphyrinIX and plays a key role in mediating plastid-to-nucleus retrograde signaling, as well functions as a plastid ABA receptor positively controlling major ABA responses. Unlike the above intracellular ABA receptors, the third ABA-binding protein GCR2, associated with plasma membrane, interacts with trimeric G proteins. Binding of ABA to GCR2 causes it to dissociate from G α and initiates of a classical G protein signaling cascade. In fact, it is currently unclear whether or not GCR2 is a canonical G protein coupled receptor or a peripheral membrane protein. Moreover, the recent studies have revealed a connection between protein phosphatases and protein kinases that are pivotal components of the ABA signaling network. Genetic and biochemical studies have demonstrated the key functions of SnRK2 and SnRK3-type kinases in stomatal movement, transcriptional regulation, RNA processing and stress responses.

Key words: Abscisic acid, ABA receptors, ABA signaling.

WPROWADZENIE

Poszukiwania receptorów kwasu abscysynowego (ABA), zapoczątkowane w latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku, początkowo zwrócone były na identyfikację „miejsce wiążących hormon”, którymi powinny być białka wiążące fitohormon w sposób wysoce specyficzny i odwracalny, a wiązaniu liganda powinno towarzyszyć przeniesienie informacji na składniki komórki pełniące funkcje efektorowe. W poszukiwaniach receptorów ABA wykorzystywano głównie komórki szparkowe, najczęściej z liści bobu (*Vicia faba*) i komeliny (*Commelina communis*) oraz komórki aleuronowe ziarniaków zbóż. Wyniki licznych badań sugerowały, że receptory ABA są zlokalizowane zarówno w błonie komórkowej, jak również wewnątrz komórki, jednakże próby identyfikacji białek receptorowych na ogół kończyły się niepowodzeniami [10]. Wyraźny przełom nastąpił dopiero w ostatnich trzech latach, po tym jak w *A. thaliana* zidentyfikowano najpierw dwa wewnątrzkomórkowe receptory ABA [72,79], a następnie białko GCR2 podobne do receptorów sprzężonych z heterotrimerycznymi białkami G [46]. Odkrycie receptorów o całkowicie odmiennym mechanizmie działania, zupełnie różnym od poznanych niedawno wewnątrzkomórkowych receptorów auksyn, giberelin, jasmonianu, a także błonowych receptorów etylenu, cytokinin i brasinosteroidów [28,35,37,81], zmobilizowało do napisania niniejszego artykułu. Pierwsze trzy rozdziały pracy poświęcone są omówieniu nowopoznanych receptorów, natomiast końcowy jej rozdział zawiera przegląd najnowszych osiągnięć w poszukiwaniach białkowych elementów sieci sygnałowej ABA.

Praca jest drugim, po opublikowanym przed kilku laty w Postęпах Biologii Komórki [27], artykułem przeglądowym poświęconym receptorom i szlakom sygnałowym ABA.

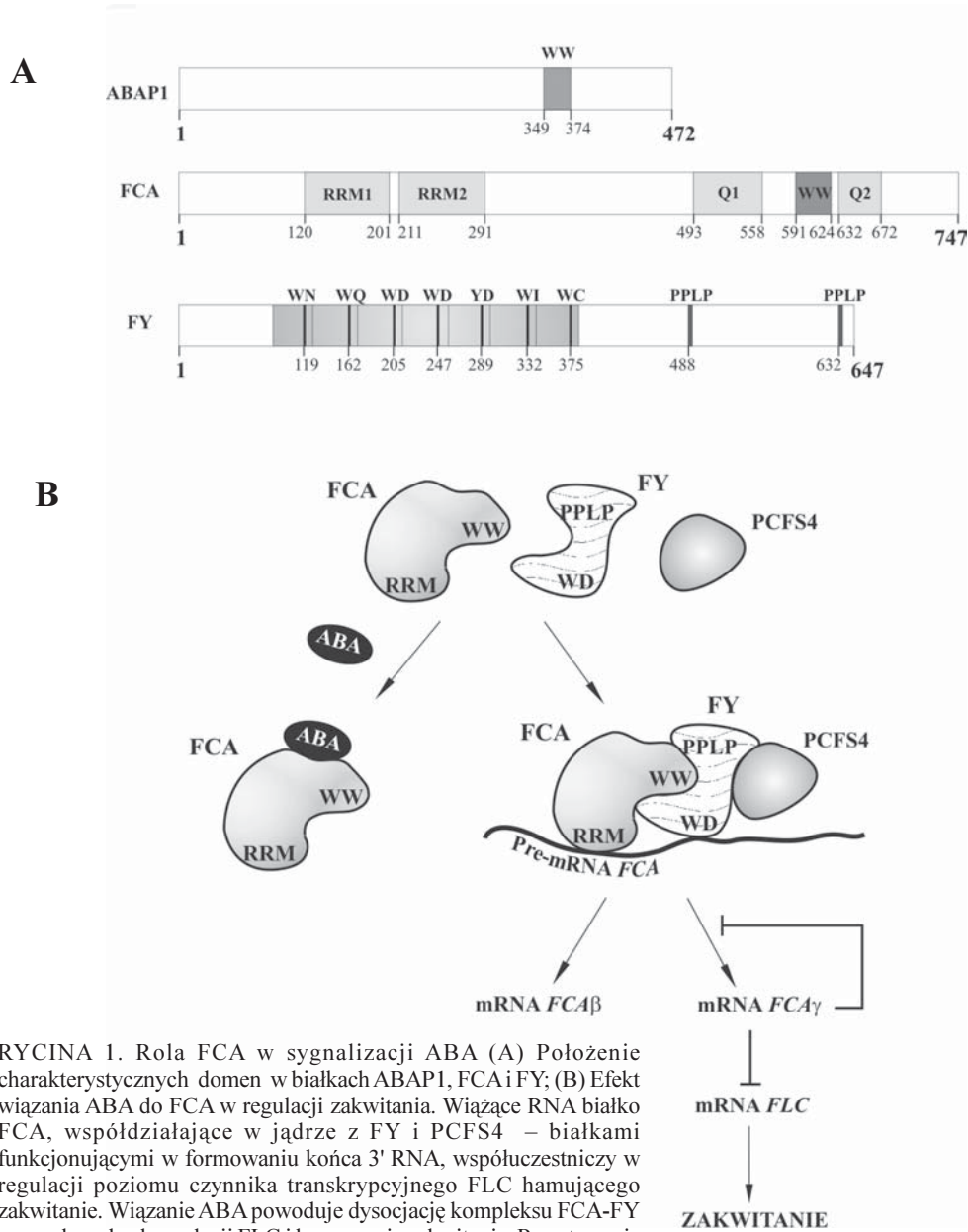
Uwadze zainteresowanego Czytelnika polecamy także prace przeglądowe opublikowane w ostatnich latach w czasopismach o zasięgu ogólnościowym [22,23,89].

BIĄŁKO FCA WIĄŻĄCE RNA – JĄDROWY RECEPTOR ABA

W poszukiwaniach białek wiążących fitohormon wykorzystuje się m.in. przeciwciała poliklonalne skierowane do przeciwciał monoklonalnych, dla których antygenem był badany hormon. Uzyskane w ten sposób przeciwciała rozpoznają strukturę fragmentów nadzmiennych w przeciwciałach monoklonalnych, która w założeniu powinna być podobna do struktury białka wiążącego fitohormon. Tak otrzymane przeciwciała antyidiotypowe posłużyły do analizy biblioteki cDNA uzyskanej z mRNA izolowanego z komórek warstwy aleuronowej jęczmienia [73]. Okazało się, że wyselekcjonowany w ten sposób klon kodował 472-aminokwasowe białko ABAP1 (ang. *ABA-binding Protein1*) stereospecyficznie wiążące ABA (ryc. 1A). Rekombinowane ABAP1, otrzymane w bakteryjnym układzie ekspresyjnym, wiąże odwracalnie tylko aktywny enancjomer (+)-ABA, a wartość stałej dysocjacji, zbliżona do 28 nM, wskazuje na wysokie powinowactwo względem ABA oraz sugeruje, że ABAP1 może być poszukiwanym receptorem fitohormonu. Technikami immunochemicznymi wykazano, że ABAP1 jest powiązane z frakcją błon plazmatycznych. Ponieważ białko nie ma odpowiednio długich odcinków hydrofobowych, dlatego sugeruje się, że odpowiedzialna za oddziaływanie z innymi białkami domena WW, położona w części C-końcowej ABAP1, uczestniczy w jego wiązaniu z odpowiednim białkiem zlokalizowanym w błonie [73].

Mimo że wyniki doświadczeń jednoznacznie dowodzą, że ABAP1 wiąże swoiście ABA, to jednak jego funkcja receptorowa nie została eksperymentalnie potwierdzona, a badania dotyczące ABAP1 zostały zaniechane po tym, jak się okazało, że jego sekwencja aminokwasowa jest wysoce homologiczna z sekwencją poznanej wcześniej w *A. thaliana* białka FCA (ang. *Flowering time Control protein A*) zaangażowanego w regulację kwitnienia [72]. Białko FCA, zbudowane z 747 reszt aminokwasowych, zawiera dwie około 80-aminokwasowe domeny RRM1 i RRM2 (ang. *RNA Recognition Motif*) wiążące RNA, a w części C-końcowej domenę WW, z dwiema ewolucyjnie zachowanymi resztami tryptofanu, pośredniczącą w wiązaniu białek mających specyficzny motyw bogaty w prolinę (ryc. 1A) [50]. W regionie środkowym FCA położone są dodatkowe motywy z licznie występującymi resztami proliny i glicyny (region od 290 do 490 reszty) oraz flankujące domenę WW (od 493 do 558 i od 632 do 672 aminokwasu) regiony bogate w glutaminę, charakterystyczne dla wielu białek wiążących RNA. Rekombinowane białko FCA wiąże odwracalnie i stereospecyficznie (+)-³H-ABA, a wartość stałej dysocjacji zbliżona do 19 nM sugeruje, że wiązanie to może mieć charakter oddziaływania typu ligand-receptor [72].

Wcześniejsze badania pokazały, że gen *FCA*, obejmujący 21 egzonów, może w drodze alternatywnego składania kodować cztery różne transkrypty (α , β , γ , δ).



RYCINA 1. Rola FCA w sygnalizacji ABA (A) Położenie charakterystycznych domen w białkach ABAPI, FCA i FY; (B) Efekt wiązania ABA do FCA w regulacji zakwitania. Wiążące RNA białko FCA, współdziałające w jądrze z FY i PCFS4 – białkami funkcjonującymi w formowaniu końca 3' RNA, współuczestniczy w regulacji poziomu czynnika transkrypcyjnego FLC hamującego zakwitanie. Wiązanie ABA powoduje dysocjację kompleksu FCA-FY prowadząc do akumulacji FLC i hamowania zakwitania. Powstawanie kompleksu FCA-FY-PCFS4 sprzyja, w wyniku działania swoistego mechanizmu sprzężenia zwrotnego, tworzeniu skróconego nieaktywnego transkryptu *FCA* i obniżeniu poziomu funkcjonalnego *FCA* mRNA (na podstawie [50,71,72,73,80,92])

FIGURE 1. ABA-activated FCA signaling (A) Domain structure of ABAPI, FCA and FY proteins; (B) FCA interaction with ABA and flowering regulation. The RNA-binding protein FCA acts in the nucleus together with the mRNA 3'-end processing factor FY and PCFS4 protein to control the abundance of FLC, an inhibitor of flowering. Upon binding ABA, FCA-FY complex dissociates, leading to the accumulation of FLC and inhibition of flowering. The functional FCA-FY-PCFS4 complex also causes synthesis of a truncated, non-functional *FCA* transcript in a negative feedback loop that results in fewer full-length *FCA* mRNA (based on [50,71,72,73,80,92])

Wyniki dotychczasowych badań sugerują, że tylko transkrypt γ , zawierający wszystkie egzony, koduje funkcjonalne białko FCA γ [50]. Transkrypt β obejmuje tylko trzy pierwsze egzony oraz długi, niewycięty trzeci intron, a potencjalny polipeptyd FCA β ma tylko fragment RRM1. W różnych tkankach młodej rośliny transkrypty β i γ występują w zdecydowanej przewadze, stanowiąc w całej puli mRNA FCA ok. 55% w przypadku β i ok. 35% w odniesieniu do transkryptu γ [50]. Transkrypt δ , którego udział w puli mRNA FCA nie przekracza 10%, powstaje w wyniku alternatywnego składania w obrębie 13 intronu, a potencjalny polipeptyd δ zawiera obydwie domeny RRM, lecz pozbawiony jest domeny WW oraz położonego bezpośrednio za nią 63-aminokwasowego odcinka. FCA δ przypomina skrócony 468-aminokwasowy polipeptyd występujący u późnokwitnącego mutantu *fca-1*. Pojawiający się w śladowych ilościach transkrypt α , zawiera wszystkie egzony i dodatkowo niewycięty, najdłuższy trzeci intron [50]. Ortologi FCA, zidentyfikowane w rzepaku, grochu i ryżu, są podobne do genu *A. thaliana*, wszystkie też zawierają długi trzeci intron odgrywający ważną rolę w autoregulacji alternatywnego składania [43,50,51,71].

Białko FCA, poprzez domenę WW położoną w części C-końcowej, wiąże białko FY (ang. *Flowering locus Y*) zidentyfikowane technikami pozwalającymi badać swoiste oddziaływanie między białkami. FY jest 84 kDa białkiem zawierającym w części N-końcowej siedmiokrotnie powtórzony motyw WD, a w regionie C-końcowym dwie sekwencje Pro-Pro-Leu-Pro-Pro (ryc. 1A) [20,80]. FY jest podobne do małego 20 kDa białka Pfs2 drożdży funkcjonującego jako podjednostka pomostowa łącząca białka o aktywności endonukleazy i poliadenylacji w wielobiałkowy kompleks uczestniczący w formowaniu końca 3' pre-mRNA [20,66]. Wydaje się, że także FY pełni funkcję białka pomostowego, bowiem autoregulacja alternatywnego składania pre-mRNA FCA jest uzależniona od możliwości fizycznej interakcji między FCA i FY [20], a także od wiązania przez FY nowopoznanego białka PCFS4 [92].

Poziom transkryptu FCA γ , regulowany przez aktywny kompleks FCA-FY-PCFS4, jest jednym z kluczowych czynników kontrolujących poziom transkryptu FLC (ang. *Flowering Locus C*) kodującego czynnik transkrypcyjny z domeną MADS. Białko FLC odgrywa ważną rolę w indukcji zakwitania w tzw. szlaku autonomicznym, gdyż pełni ono funkcję represyjną w stosunku do genów tzw. integratorów kwitnienia *SOC1* (ang. *Suppressor of Overexpression of Constans1*) i *FT* (ang. *Flowering locus T*), które z kolei uruchamiają kaskadę genów merystemu kwiatowego (*LEAFY* czy *APETALAI*) [3,91]. Aktywny kompleks FCA-FY-PCFS4 przyspiesza zakwitanie na skutek obniżenia, być może także w drodze alternatywnego składania, poziomu transkryptu FLC (ryc. 1B). Proponowany mechanizm regulacji potwierdzają także obserwacje zmian czasu kwitnienia mutantów *fca*, *fy* i *pcfs4*, u których mutacje uniemożliwiają tworzenie aktywnego kompleksu poliadenylacji [20,51,80,92].

W kontekście badań związanych z rolą FCA w formowaniu końca 3' pre-mRNA kluczowego znaczenia nabiera pytanie o zmiany, jakie towarzyszą wiązaniu przez FCA kwasu abscysynowego. Częściowej odpowiedzi na to pytanie dostarczyły wyniki doświadczeń, których celem było ustalenie miejsca wiązania ABA w FCA. Doświadczenia te prowadzono na surowych lizatach *E. coli* z wprowadzoną

sekwencją N-końca *FCA* (*FCA-RRM*) lub odcinkiem C-końcowym (*FCA-WW*) [72]. Uzyskane wyniki wykazały, iż w wiązaniu ABA uczestniczy region C-końcowy, jednakże miejsce wiążące fitohormon nie jest tożsame z miejscem, które oddziałuje z FY. Dowodzą tego wyniki doświadczeń, w których zachowaną ewolucyjnie resztę tryptofanu w regionie C-końcowym *FCA* zastąpiono fenyloalaniną. Zamiana jednego aminokwasu w domenie WW pozbawia *FCA* zdolności wiązania FY, natomiast nie wpływa na wiązanie ABA [72]. Mimo że sekwencje wiążące ABA i FY nie są tożsame, to jednak wiązanie fitohormonu przez *FCA* wyraźnie przeciwdziała jego interakcji z FY. Aktywny enancjomer ABA w stężeniu 1 μ M efektywnie przeciwdziała asocjacji bądź wymusza dysocjację obu białek z aktywnego kompleksu, czego efektem jest pozostawanie około 90% białek *FCA* i FY w formie wolnej [72].

Hamowanie powstawania aktywnego kompleksu *FCA-FY-PCFS4* przez ABA ma określone konsekwencje zarówno w odpowiedziach fizjologicznych związanych z autoregulacją alternatywnego składania pre-mRNA *FCA*, jak również z kontrolą czasu kwitnienia. ABA przeciwdziałając oddziaływaniom pomiędzy *FCA* a FY zmienia proporcję pomiędzy transkryptami *FCA β* i *FCA γ* na korzyść tego ostatniego oraz wpływa pozytywnie na akumulację mRNA *FLC* opóźniając tym samym zakwitanie (ryc. 1B) [72]. Podobnych efektów nie obserwuje się u późnokwitających mutantów *fca* i *fy*, co pokazuje, że obserwowane zmiany nie są efektem plejotropowego działania ABA.

Funkcję receptorową *FCA* badano także w regulowanych przez ABA procesach kiełkowania nasion i formowania korzeni bocznych oraz ruchach aparatu szparkowego. Wyniki tych doświadczeń wykluczyły udział *FCA* w regulacji kiełkowania nasion i ruchach aparatu szparkowego, natomiast potwierdziły jego uczestnictwo w regulacji wzrostu korzeni i inicjowaniu korzeni bocznych [51,72].

Odkrycie receptorowej roli *FCA* skłania do dokładniejszej analizy wyników badań, w których już wcześniej odkrywano związki pomiędzy metabolizmem mRNA a odpowiedziami roślin na ABA. Otóż okazuje się, że wyselekcjonowano szereg mutantów *A. thaliana*, na ogół o podwyższonej wrażliwości na ABA, z defektami w genach kodujących różne białka zaangażowane w metabolizm mRNA. W ten sposób poznano m.in. małe, 88-aminokwasowe SAD1, zidentyfikowane u mutantu *sad1* (ang. *supersensitive to ABA and drought1*) tworzące wielobiałkowy kompleks Sm U6 uczestniczący w usuwaniu czapeczki, wycinaniu intronów i degradacji mRNA [93]. Dwa inne recesywne mutanty *abh1* (ang. *ABA hypersensitive1*) i *cbp20* (ang. *cap binding protein 20*), z wyraźną nadwrażliwością na ABA szczególnie w odpowiedziach komórek aparatu szparkowego, nie syntetyzują dwóch białek tworzących heterodimer wiążący czapeczkę na końcu 5' mRNA [26,69]. Kolejne białko UBA2a, oddziałujące z białkiem UBPI [74], jest homologiem białka AKIP1 bobu wiążącego mRNA. Białko AKIP1, fosforylowane przez kinazę białkową AAPK aktywowaną przez ABA, wiąże mRNA dehydryny i tworzy w jądrze specyficzne ziarnistości [61]. Mutant *ahg2* (ang. *ABA hypersensitive germination2*) ma zmienioną rybonukleazę swoistą względem poli(A) [62], a mutant *hyl1* (ang. *hyponastic leaves1*), z defektem w genie kodującym białko wiążące podwójną nić RNA, wykazuje zmiany w zależnej od miRNA regulacji genów [19,48]. Białko LOS4,

z charakterystycznym motywem DEAD-box występującym w helikazach, uczestniczy w transporcie określonych mRNA z jądra do cytoplazmy [16], natomiast SAD2 jest białkiem z rodziny importyn β zaangażowanym w transport pewnych białek z cytoplazmy do jądra [85]. Analizując rolę poszczególnych białek, zastanawiające jest, że zmiany wynikające z mutacji w białkach funkcjonujących w kluczowych miejscach metabolizmu mRNA są w dużej mierze ograniczone jedynie do odpowiedzi charakterystycznych dla ABA. Świadczyłoby to o niezwykle dużym zróżnicowaniu u roślin „maszyny” odpowiedzialnej za metabolizm mRNA.

PODJEDNOSTKA HETEROTRIMERYCZNEJ Mg-CHELATAZY – PLASTYDOWY RECEPTOR ABA

W 2002 roku z komórek warstwy epidermalnej liści bobu wyizolowano i oczyszczono 42 kDa białko swoiście wiążące ABA [97]. Wiązanie (+)-³H-ABA ma charakter wysyceniowy, jest odwracalne i wykazuje wyraźną stereospecyficzność, bowiem związany z białkiem enancjomer (+)-³H-ABA nie jest wymieniany na (-)-ABA lub *trans*-ABA. Akronim ABAR (ang. *ABA Receptor*) określający nowopoznane białko sugeruje, że wiązanie fitohormonu ma charakter oddziaływania typu ligand-receptor. Poznanie sekwencji aminokwasowej ABAR pozwoliło wyselekcjonować z biblioteki cDNA, otrzymanej na bazie mRNA izolowanego z liści bobu, klon kodujący 770-aminokwasowy polipeptyd homologiczny z C-końcowym fragmentem podjednostki H (CHLH) Mg-chelatazy – enzymu odpowiedzialnego za wprowadzanie jonów magnezu do protoporfirynyIX (ProtoIX) [79]. Mimo że uzyskane z drożdży rekombinowane białko ABAR rzeczywiście wiąże ABA, to jednak ze względu na możliwość pełniejszego wykorzystania wyników badań związanych z funkcjonowaniem Mg-chelatazy dalsze badania postanowiono kontynuować na jego homologu z *A. thaliana*. Doświadczenia rozpoczęto od powtórzenia badań dotyczących wiązania ABA, tym razem jednakże do znacznie większego, bo 1322-aminokwasowego rekombinowanego białka CHLH otrzymanego z drożdży [79]. Uzyskane wyniki potwierdziły, że największa podjednostka heterotrimerycznego enzymu, funkcjonującego w szlaku biosyntezy chlorofilu, wiąże stereospecyficznie ABA, a wartość stałej dysocjacji zbliżona do 32 nM sugeruje, że wiązanie może mieć charakter oddziaływania typu ligand-receptor. Zakładaną funkcję receptorową podjednostki H Mg-chelatazy badano na roślinach linii transgenicznych z nadekspresją *ABAR/CHLH*, a także na roślinach, u których w wyniku wprowadzenia interferencyjnego RNA obniżono poziom badanego białka. Uzyskane wyniki potwierdziły, że ilość fitohormonu wiążanego przez ekstrakty z roślin transgenicznych wyraźnie koreluje z ilością białka ABAR/CHLH obecnego w badanym ekstrakcie. Co więcej, okazało się, iż rośliny z niedoborem badanego białka (rośliny linii RNAi) wykazują obniżoną wrażliwość na ABA. Spadek wrażliwości objawia się w ograniczeniu hamowania kiełkowania nasion, wzrostu siewek, a także w wyraźnym

obniżeniu podatności na indukowane przez ABA zamykanie szparek oraz hamowanie otwierania aparatu szparkowego [79]. Z drugiej strony, rośliny z nadekspresją *ABAR/CHLH* cechował fenotyp zdradzający nadmierną wrażliwość na fitohormon. Sprawdzając profil ekspresji genów aktywowanych przez ABA wykazano, iż w przypadku roślin z obniżonym poziomem *ABAR/CHLH* następuje zahamowanie transkrypcji genów pozytywnie regulowanych przez hormon, takich jak: *RD29A* (ang. *Desiccation-Responsive 29A*), *ABI4* (ang. *ABA-Insensitive 4*), *ABI5* (ang. *ABA-Insensitive 5*), *MYC2* i *MYB2*, natomiast poziom transkryptów *ABI1* (ang. *ABA-Insensitive 1*), *ABI2* (ang. *ABA-Insensitive 2*) czy *CIPK15* (ang. *CBL-Interacting Protein Kinase 15*) kodujących negatywne elementy szlaku sygnałowego wyraźnie wzrastał u roślin z obniżonym poziomem *ABAR/CHLH* [79].

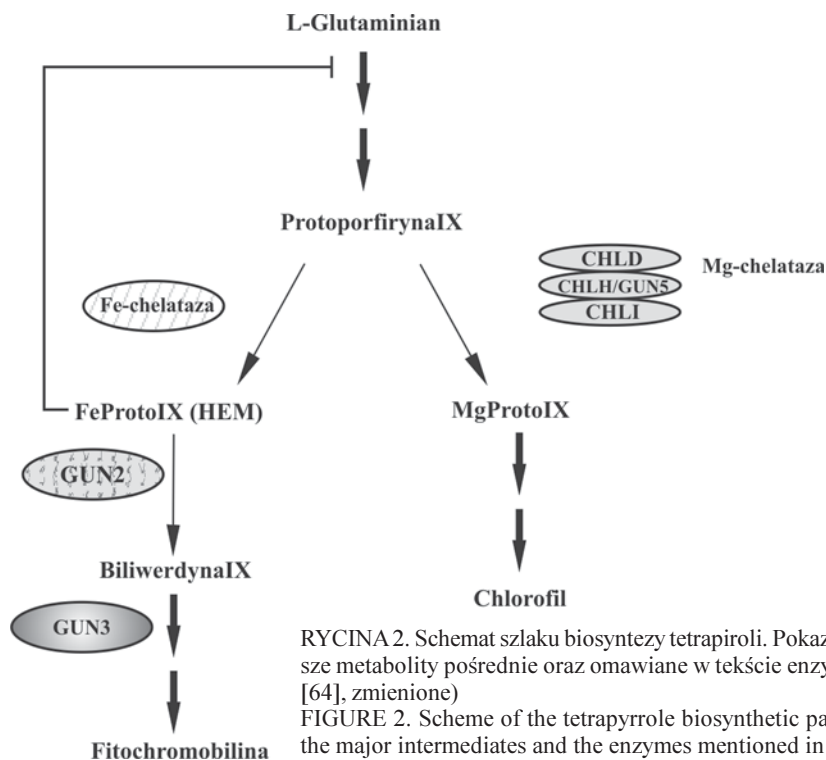
Wiązanie funkcji receptorowej z enzymem chloroplastowym uczestniczącym w biosyntezie chlorofilu może w pierwszej chwili zaskakiwać, jednakże, jak się okazuje, i tym razem nasze wyobrażenia o funkcjonowaniu enzymów w komórce są dalece niekompletne. Otóż Mg-chelataza, oprócz funkcji katalitycznej, odgrywa także kluczową rolę w tzw. retrogratycznym szlaku sygnałowym [4,44,64]. Szlaki retrogratyczne, przekazujące informacje z chloroplastów i mitochondriów do jądra, umożliwiają prawidłowy rozwój i funkcjonowanie organelli, które, jak wiadomo, wymagają jednoczesnego udziału genomów jądrowych i organellarnych. Na przykład, chloroplasty zawierają około 3000 białek, z czego ponad 95% kodowane jest przez geny jądrowe, natomiast synteza pozostałych przebiega w organellach. Tak więc, szlaki retrogratyczne umożliwiają regulację biosyntezy określonych białek kodowanych przez genom jądrowy, dzięki czemu m.in. z białek syntetyzowanych w cytoplazmie i w organellach mogą powstawać wielobiałkowe kompleksy tworzone z podjednostek w odpowiednich stosunkach stechiometrycznych.

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy przyjmuje się, że chloroplasty przekazują do jądra co najmniej trzy rodzaje informacji. Są to sygnały informujące o przebiegu metabolizmu tetrapiroli – związków pośrednich w szlaku syntezy hemu i chlorofilu, sygnały związane z bilansem reakcji oksydacyjno-redukcyjnych wewnątrz chloroplastów oraz sygnały powiązane z ekspresją genów plastydowych [4,44,64]. Dzięki badaniom prowadzonym pierwotnie na mutantach jęczmienia i kukurydzy z zakłóconym metabolizmem karotenoidów, a także na glonie *Chlamydomonas reinhardtii*, najlepiej z tych trzech szlaków poznano szlak sygnalizacyjny powiązany z metabolizmem tetrapiroli [38,65]. Obecnie większość doświadczeń prowadzona jest na mutantach *A. thaliana* wyselekcjonowanych dzięki wprowadzeniu do badań norflurazonu (NR) – związku hamującego biosyntezę karotenoidów [83]. Rośliny traktowane tym herbicydem są nadwrażliwe na światło o dużej intensywności powodujące wewnątrz chloroplastów wiele zmian zapoczątkowanych reakcjami fotoutleniania. Ich efektem jest także zahamowanie ekspresji wielu genów jądrowych, w tym również genu *LHCB* (ang. *Light-Harvesting Chlorophyll b-Binding protein*) kodującego jedno z białek „zbierających światło”. Hamowanie ekspresji *LHCB* w roślinach traktowanych NR umożliwiło wyselekcjonowanie pięciu mutantów (*gun1* do *gun5*; ang. *genome uncoupled*), u których ekspresja *LHCB* nie jest wyciszana

[82,83]. Dzisiaj już wiemy, że w hamowaniu ekspresji *LHCB* w roślinach traktowanych NR pośredniczy MgProtoporfirynaIX (MgProtoIX), której poziom po aplikacji herbicydu rośnie nawet 15-krotnie [82]. MgProtoIX oraz jej ester metylowy hamują ekspresję około 70 genów jądrowych kodujących białka funkcjonujące w chloroplastach [82] oraz aktywują m.in. ekspresję genów kodujących białka szoku cieplnego HSP70A i HSP70B [38].

Szczegółowe analizy poszczególnych mutantów dowiodły, że brak hamowania *LHCB* u trzech z pięciu mutantów, a mianowicie *gun2*, *gun3* i *gun5*, pozostaje w ścisłym związku z zaburzeniami w biosyntezie MgProtoIX. *GUN2* koduje enzym odpowiedzialny za przekształcanie hemu w biliwerdynę, natomiast produkt *GUN3* odpowiada za przemianę biliwerdyny w fitochromobilinę (ryc. 2). Mutacje w obu genach prowadzą do wzrostu poziomu hemu, który w drodze sprzężenia zwrotnego hamuje jedną z pierwszych reakcji szlaku biosyntezy ProtoIX [64].

Mutacja w locus *GUN5* okazała się być mutacją w genie *CHLH* kodującym największą podjednostkę Mg-chelatazy wbudowującej jony magnezu do ProtoIX, a także, jak już wspomniano wyżej, wiążącą swoiście ABA [56,79]. Mg-chelataza jest heterotrimerycznym enzymem zbudowanym z podjednostek CHLH, CHLD i CHLI [87]. Podjednostka H, z trzema ewolucyjnie zachowanymi resztami histydyny (ryc. 3A), odpowiada za wiązanie jonów magnezu i ProtoIX, a ponadto, jak uważają niektórzy autorzy, pełni funkcję sensora rejestrującego przepływ tetrapiroli na

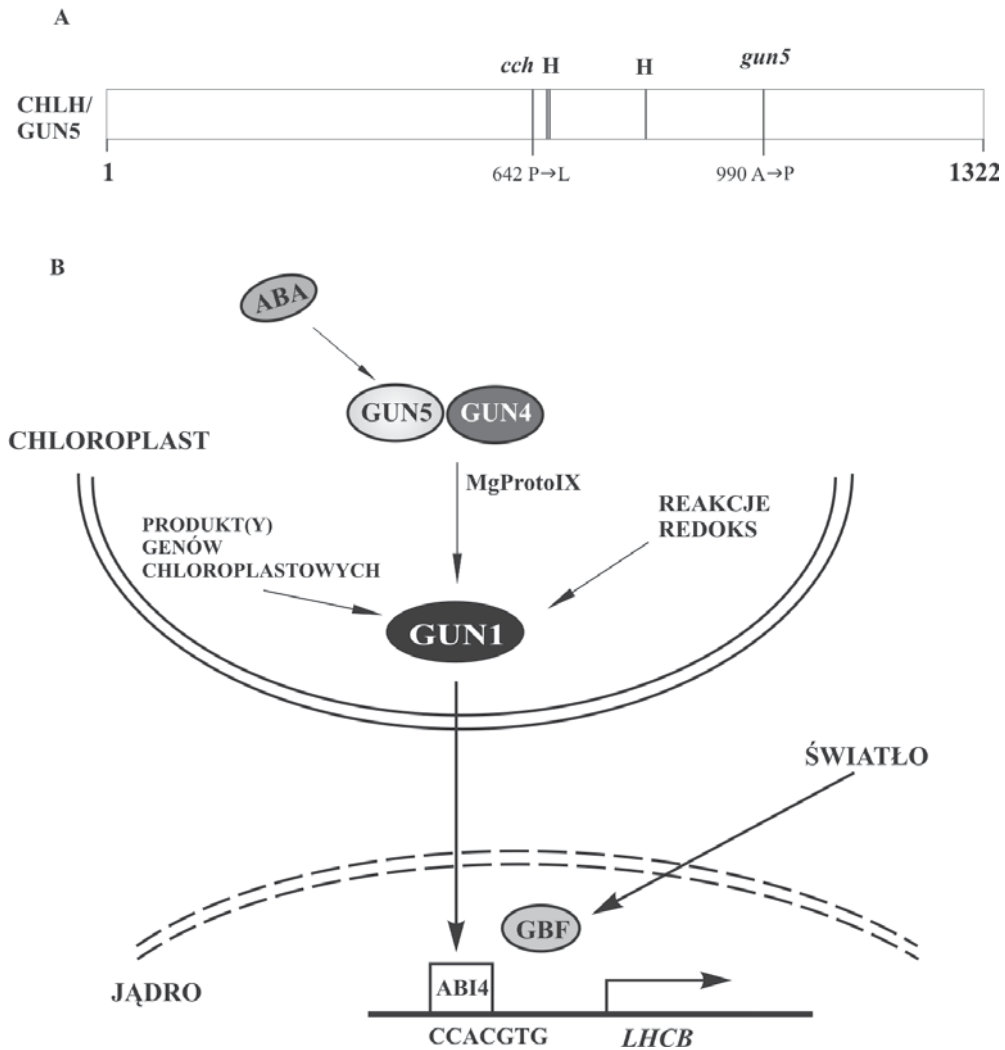


początku szlaku biosyntezy chlorofilu [56,64]. Podjednostka D zawiera centralnie położony region bogaty w prolinę, który przypuszczalnie pośredniczy w oddziaływaniach z pozostałymi podjednostkami, natomiast CHLI ma trzy motywy Mg-ATPazy.

GUN4, małe 22 kDa białko zidentyfikowane u mutantu *gun4*, oddziałuje z CHLH/GUN5, a także z ProtoIX i MgProtoIX stymulując aktywność katalityczną enzymu oraz, jak sugerują niektórzy badacze, ochrania lub pośredniczy w transporcie MgProtoIX z chloroplastów do cytoplazmy [42,84]. Tak więc, cztery z pięciu białek GUN są bezpośrednio lub pośrednio powiązane ze zmianami poziomu MgProtoIX – metabolitu pośredniego w szlaku biosyntezy chlorofilu, a zarazem cząsteczki sygnałowej migrującej z plastydów do cytoplazmy [2].

Nieco inną rolę przypisuje się genowi *GUN1*, kodującemu 918-aminokwasowe białko zawierające powtórzenia 35-aminokwasowego motywu PPR (ang. *Pentatricopeptide Repeat*), a w części C-końcowej domenę SMR (ang. *Small MutS-Related*) charakterystyczną dla białek uczestniczących w rekombinacji i naprawie DNA [34]. Motyw PPR szczególnie często występuje w białkach roślin, zwłaszcza w białkach organellarnych oddziałujących z kwasami nukleinowymi. Szczegółowa rola GUN1 jeszcze nie jest znana, chociaż najnowsze wyniki sugerują, że pełni ono funkcję elementu integrującego wszystkie trzy chloroplastowe sygnały retrogratywne [34,52]. Wyniki szczegółowych badań pokazują, że miejsce GUN1 w szlaku sygnałowym znajduje się poniżej GUN5/CHLH [34], a elementem docelowym sygnału pochodzącego od obu białek jest czynnik transkrypcyjny ABI4 (ang. *ABA Insensitive4*) wiązany przez motyw CCAC położony w promotorach wielu genów regulowanych retrogratywnie m.in. w *LHCB*. Związanie ABI4 uniemożliwia wiązanie innego czynnika transkrypcyjnego GBF (ang. *G-box-Binding Factor*) aktywującego geny regulowane przez światło [1,29,34]. Analizy sekwencji promotorowych genów regulowanych retrogratywnie wykazały, że w występującym tu motywie CCACGTG zachodzą na siebie dwa elementy – element CCAC odpowiedzi na kwas abscysynowy (ABRE) wiążący ABI4 oraz element G-box (ACGT) (CUF1; ang. *CAB Upstream Factor1*) wiążący czynnik transkrypcyjny GBF (ryc. 3B). Tak więc, cząsteczka sygnałowa MgProtoIX pośredniczy pomiędzy GUN5/CHLH-GUN4 oraz GUN1 sprzyjając wiązaniu białka ABI4 do motywu CCAC, hamując tym samym ekspresję *LHCB* aktywowaną przez GBF. Na razie nie wiemy, w jaki sposób MgProtoIX migruje z chloroplastów do cytoplazmy, a co ważniejsze nie znamy elementu(ów) sprzęgającego zmiany w poziomie MgProtoIX ze zmianami powinowactwa ABI4 do motywu ABRE.

O ile udział MgProtoIX w szlaku retrogratywnym został już stosunkowo dobrze udokumentowany, o tyle jej uczestnictwo w szlaku aktywowanym przez ABA w roli cząsteczki sygnałowej budzi duże wątpliwości. Po pierwsze, poziom MgProtoIX nie koreluje z aktywowanymi przez ABA ruchami aparatu szparkowego, a ponadto MgProtoIX nie zakłóca wiązania (+)-³H-ABA do CHLH/GUN5 [79]. Jeszcze ważniejsze są wyniki badań prowadzonych na dwóch allelicznych mutantach *gun5* i *cch* CHLH/GUN5. Dowodzą one, iż tylko mutant *cch*, u którego prolina w pozycji 642 została zastąpiona leucyną (ryc. 3A), wykazuje wyraźne upośledzenie w wiązaniu ABA oraz w odpowiedziach na fitohormon, podczas gdy mutant *gun5*, z resztą waliny zamiast



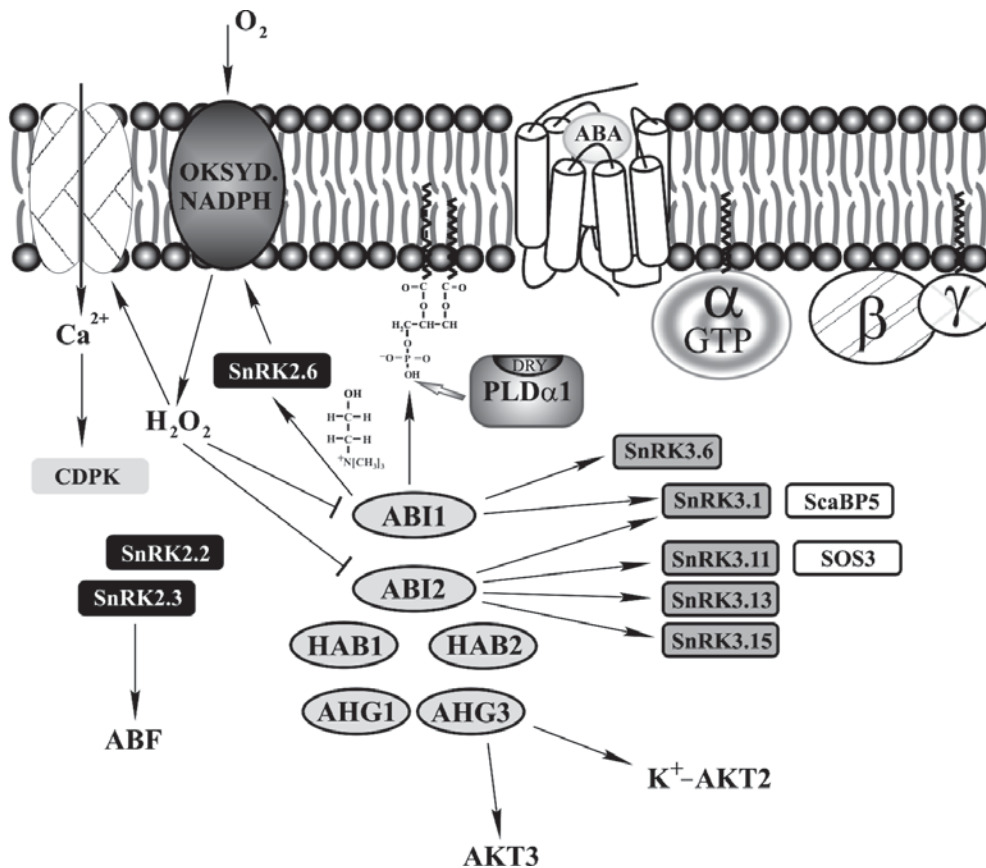
RYCINA 3. Schemat szlaku sygnałowego pośredniczącego w regulacji ekspresji genów jądrowych przez sygnały pochodzące z plastydów (A) Miejsca mutacji *cch* i *gun5* w CHLH/GUN5; (B) Kompleks CHLH/GUN5-GUN4 katalizuje syntezę MgProtoIX wprowadzając Mg^{2+} do ProtoIX, a także wiąże ABA. Trzy różne sygnały chloroplastowe: MgProtoIX, sygnał pochodzący z genomu chloroplastowego oraz produkt(y) reakcji redoks generują wspólny sygnał. Białko GUN1 pośredniczy w odbiorze tego sygnału lub samo jest źródłem wspólnego sygnału. W odpowiedzi na sygnał pochodzący od GUN1 czynnik transkrypcyjny ABI4 wiąże się z promotorem genu *LHCB*, przeciwdziałając wiązaniu GBF, czynnika transkrypcyjnego zaangażowanego w aktywowaną przez światło ekspresję *LHCB* (na podstawie [4,34,44,64,79,87], zmienione)

FIGURE 3. Scheme depicting the signaling pathways by which the plastid controls nuclear gene expression. (A) Position of *cch* and *gun5* mutation in CHLH/GUN5; (B) CHLH/GUN5-GUN4 complex catalyzes the insertion of Mg^{2+} into ProtoIX, as well binds ABA. Three chloroplast signals: MgProtoIX, signal derived from the chloroplast genome and redox status generate a common signal. GUN1 protein may be required to perceive or to generate this common signal. In response to the GUN1 signal, ABI4 binds the *LHCB* promoter, preventing the binding of GBF required for light-induced expression of *LHCB* (based on [4,34,44,64,79,87], modified)

alaniny w pozycji 990, mimo że nie syntetyzuje MgProtoIX, to funkcję receptorową zachowuje nienaruszoną [79]. Wydaje się więc, że mutacja *cch* występuje w miejscu, które uczestniczy w wiązaniu ABA, podczas gdy mutacja *gun5* narusza centrum katalityczne CHLH/GUN5. Wyniki powyższych doświadczeń sugerują, że sygnalizacja ABA i zależna od metabolizmu chlorofilu sygnalizacja retrogratyczna, mimo że wykorzystują CHLH/GUN5 i ABI4, są odrębnymi szlakami sygnałowymi [79].

CZY BIAŁKO GCR2 WIĄŻĄCE ABA JEST BŁONOWYM RECEPTOREM SPRZĘŻONYM Z HETEROTRIMERYCZNYMI BIAŁKAMI G?

Wyniki wielu wcześniejszych badań, omawiane szerzej w pracach przeglądowych [10,27], wskazują, że oprócz receptorów wewnątrzkomórkowych, są także receptory ABA zlokalizowane w błonie komórkowej. W badaniach prowadzonych na kulturach komórkowych *A. thaliana* oraz protoplastach komórek szparkowych bobu wykazano, że receptory ABA występują po zewnętrznej stronie błony komórkowej [30,94]. W obu przypadkach obserwowano swoiste odpowiedzi na ABA w warunkach, gdy zamiast wolnego hormonu używano nieprzenikających przez błonę koniugatów ABA z albuminą surowicy wołowej bądź z biotyną. Pewnych sugestii odnośnie natury poszukiwanego receptora dostarczyły wyniki doświadczeń prowadzonych na komórkach warstwy aleuronowej jęczmienia oraz liściach *A. thaliana* pokazujące, że w aktywacji fosfolipazy $D\alpha 1$ (PLD $\alpha 1$) przez ABA, pośredniczy podjednostka $G\alpha$ heterotrimerycznych białek G [75,99]. PLD $\alpha 1$ zawiera motyw DRY, niemal identyczny z sekwencją występującą w trzeciej pętli cytoplazmatycznej wielu receptorów sprzężonych z białkami G, w którym reszta lizyny odgrywa kluczową rolę w oddziaływaniach z $G\alpha$ [99]. Fosfolipaza $D\alpha 1$ wiązana jest tylko przez $G\alpha$ -GDP, a efektem takiej interakcji jest wyraźne hamowanie aktywności katalitycznej enzymu. Obserwowany wzrost aktywności PLD $\alpha 1$ w obecności $G\alpha$ -GTP można zatem interpretować jako efekt rozluźnienia wiązania między obu białkami (ryc. 4). W protoplastach liści *A. thaliana* traktowanych ABA rośnie poziom kwasu fosfatydowego (PA) pochodzącego z hydrolizowanej przez PLD $\alpha 1$ fosfatydylocholiny [98]. Co ciekawe, powstający w błonie kwas fosfatydowy wiąże, poprzez resztę argininy (R_{73}), fosfatazę białkową ABI1 – jeden z kluczowych elementów szlaków sygnałowych ABA (ryc. 4). Wiązaniu ABI1 do PA towarzyszy spadek aktywności katalitycznej ABI1 prowadzący do zamykania aparatu szparkowego [55,98]. Przypuszczalnie, nie bez znaczenia jest również fakt, iż ABI1 zakotwiczona poprzez PA w błonie komórkowej nie migruje do jądra, gdzie może oddziaływać z czynnikiem transkrypcyjnym ATHB6 zawierającym homeodomenę, a przypuszczalnie także z innymi białkami substratowymi [21,57]. Wyniki doświadczeń prowadzonych na mutancie *gpa1* *A. thaliana* są zgodne z pokazanym na rycinie 4 szlakiem sygnałowym, w którym ABA indukuje zamykanie szparek. Otóż, rośliny pozbawione funkcjonalnej



RYCINA 4. Ogólny zarys sieci sygnałowej ABA pokazujący wzajemne oddziaływania pomiędzy ważniejszymi białkowymi elementami szlaków sygnałowych ABA (na podstawie [23,36,41,45,58, 88,95])
 FIGURE 4. Overview of cross-talk between different protein components of the ABA signalling network (based on [23,36,41,45,58,88,95])

podjednostki $G\alpha$ wykazują pewne upośledzenie w odpowiedziach komórek szparkowych na ABA [36,68]. Udziału białek G w regulacji otwierania aparatu szparkowego dowodzą także najnowsze badania prowadzone na mutantach pozbawionych $G\alpha$ lub $G\beta$ [9]. Okazało się, że obydwie podjednostki są zaangażowane w hamowanie przez ABA kanałów K^+ transportujących jony potasu do wnętrza komórki funkcjonujących w otwieraniu aparatu szparkowego [9,90].

Przytoczone wyniki wyraźnie sugerują, że błonowym receptorem ABA powinien być receptor współdziałający z heterotrimerycznymi białkami G typu GPCR (ang. *G-Protein-Coupled Receptor*). Trafność tych przewidywań wydają się potwierdzać wyniki opublikowane w ubiegłym roku w *Science* dowodzące, iż nowopoznany gen *GCR2* *A. thaliana* koduje receptor ABA z nadrodziny GPCR [46]. Co prawda, późniejsze doniesienia poddają w wątpliwość poprawność metodyczną tych badań sugerując, że *GCR2* nie jest białkiem z nadrodziny GPCR [13,31].

Białko GCR2, zbudowane z 401 reszt aminokwasowych, jest zlokalizowane w błonie komórkowej i wiąże $G\alpha$. Fizyczne oddziaływanie między obu białkami potwierdzono różnymi technikami, a ponadto wykazano, że w wiązaniu $G\alpha$ uczestniczy odcinek C-końcowy GCR2, powyżej 290 aminokwasu [46,47]. Rekombinowane białko uzyskane w *E. coli* wiąże tylko aktywne stereoizomery ABA, a zmiany towarzyszące wiązaniu liganda osłabiają oddziaływanie GCR2 z $G\alpha$. Trzy alleliczne mutanty *gcr2*, zawierające skrócony transkrypt, objawiają wyraźne zaburzenia w indukowanym przez ABA zamykaniu aparatów szparkowych i hamowaniu otwierania szparek, a także są wyraźnie mniej wrażliwe na ABA w reakcji hamowania kiełkowania nasion i wzrostu siewek. Ponadto u mutantów *gcr2* stwierdzono brak hamującego wpływu ABA na kanały K^+ odpowiedzialne za otwieranie szparek oraz obserwowano wyraźne obniżenie ekspresji kilku genów indukowanych przez ABA. Zmiany fenotypowe występujące u roślin z nadekspresją *GCR2* są także zgodne z oczekiwaniami i świadczą o zwiększonej wrażliwości na ABA [46,47]. We wszystkich doświadczeniach wykorzystujących mutanty *gcr2* obserwowano wyraźne hamowanie odpowiedzi na ABA, jednakże nie ich całkowity zanik, co jest interpretowane jako efekt komplementacji zmutowanego *GCR2* przez obecne w genomie *A. thaliana* dwa jego homologi *GCL* (ang. *GCR-Like*) [46,47].

Niedługo po opublikowaniu wyników powyższych badań, zostały one niemalże w całości zakwestionowane, najpierw wynikami szczegółowych analiz sekwencji aminokwasowej *GCR2* [31], a później także wynikami badań eksperymentalnych [13]. Autorzy, analizując sekwencję aminokwasową zwrócili uwagę na wyraźne podobieństwo *GCR2* do syntetazy lantioninowej (*LanC*) prokariotów – enzymu uczestniczącego w biosyntezie cyklicznego peptydu antybakteryjnego. Ponadto, okazało się, że podobne do *GCR2* białko *LANCL1* (ang. *LanC-Like1*) ssaków, o nieznannej funkcji, jest tylko peryferycznie związane z błoną. Jeszcze więcej wątpliwości wniosły doświadczenia, w których badano trzy alleliczne mutanty *gcr2* oraz podwójnego mutantu *gcr2/gcl1* [13]. W obu przypadkach nie stwierdzono żadnych znaczących zmian w hamującym wpływie ABA na kiełkowanie nasion i rozwój siewek. Nie obserwowano także żadnych zmian w ekspresji genów markerowych (*RD29A*, *KIN5*, *ABI5*, *RAD29B*, *RAB18*) aktywowanych przez ABA [13].

BIAŁKOWE ELEMENTY SZLAKÓW SYGNAŁOWYCH ABA

W poprzednim rozdziale zwrócono uwagę na hamowaną przez kwas fosfatydowy fosfatazę białkową *ABI1*, która w szlakach sygnałowych ABA pełni funkcję elementu negatywnego [17,98,99]. Wyniki badań wykorzystujących techniki mikromacierzy DNA pokazują, że *ABI1* odgrywa kluczową rolę w szlakach sygnałowych ABA, bowiem pojedyncza mutacja *abi1-1* zmienia ekspresję aż 84,5% z 1354 genów regulowanych przez ABA [24]. Na razie nie wiemy, czy w podobny sposób regulowana jest także aktywność pozostałych ośmiu fosfataz z grupy A, należącej do rodziny PP2C [78], natomiast wiadomo, że co najmniej pięć z nich funkcjonuje także

jako elementy represorowe w szlakach sygnałowych ABA. Wyraźną funkcjonalną redundancję wykazują najbliższe spokrewnione z ABI1 fosfatazy ABI2, HAB1 i HAB2 (ryc. 4) [53,76,77]. Pozostałe dwa enzymy AHG1 i AHG3, tworzące oddzielną gałąź filogenetyczną, uczestniczą w szlaku ABA regulującym kiełkowanie nasion [39,63,96]. Ponadto AHG3/AtPP2CA oddziałuje z kanałami K^+ -AKT2 z rodziny *shaker* oraz z AKT3 transportującymi do komórki jony potasu [6,86].

Aktywność co najmniej ABI1 i ABI2 hamuje H_2O_2 pełniący w komórkach szparkowych funkcję przekaźnika drugiego rzędu [41,54,88]. Aktywowaną przez ABA produkcję nadtlenu wodoru przez błonową oksydazę NADPH reguluje kinaza białkowa SnRK2.6/OST1/SRK2E (ryc. 4) [60]. Jest to jedna z dziesięciu kinaz białkowych podgrupy SnRK2 zawierających w części C-końcowej przedłużenie oddziałujące z innymi białkami [5,25]. Kinaza SnRK2.6, poprzez jedną z dwóch charakterystycznych domen położonych w tej części, wiąże aktywną ABI1 [95]. Produkowane w komórkach szparkowych aktywne formy tlenu aktywują kanały Ca^{2+} sprzyjając napływowi jonów wapnia do cytoplazmy i prowadząc w ten sposób do zamykania aparatu szparkowego [41,59,88]. Inne dwie kinazy białkowe (SnRK2.2 i SnRK2.3) należące do tej samej grupy SnRK2 fosforylują w nasionach czynniki transkrypcyjne ABF (ang. *ABA response element Binding Factor*) aktywujące ekspresję genów mających w promotorach motyw ABRE [7,11,12,33].

Z ABI1 i ABI2 oddziałują także kinazy białkowe z podrodziny SnRK3 liczącej w *A. thaliana* 25 genów [15,25,67]. Kinazy tej grupy współdziałają z białkami sensorowymi CBL podobnymi do kalcineuryny (ang. *Calcineurin B-Like*) wiążącymi jony wapnia (ryc. 4). Z ABI1 oddziałuje SnRK3.6 i SnRK3.1, a z ABI2 – kinazy SnRK3.1, SnRK3.11, SnRK3.13 i SnRK3.15. Co najmniej dwie kinazy z tej grupy (SnRK3.1/PSK3 i SnRK3.11/SOS2), współdziałające z białkami sensorowymi ScaBP5 i SOS3, pełnią w szlakach sygnałowych funkcję elementów negatywnych [18,32,67].

Ważną rolę jonów wapnia w sygnalizacji ABA potwierdza także udział w niej kinaz białkowych CDPK. Kinazy z tej grupy mają w części C-końcowej domenę podobną do kalmoduliny, która, w wyniku zmian konformacyjnych indukowanych przez jony wapnia, odblokowuje pozostającą w stanie autoinhibicji domenę o aktywności kinazowej. Dotychczas wykazano, że co najmniej pięć kinaz CDPK (CPK3, CPK4, CPK6, CPK11 i CPK32) fosforyluje czynniki transkrypcyjne ABF [8,100] bądź reguluje kanały anionowe typu S oraz kanały wapniowe [58].

Pojedyncze doniesienia pokazują, że w sieci sygnałowej ABA uczestniczą także co najmniej niektóre heterotrimeryczne fosfatazy PP2A, które w komórkach szparkowych pośredniczą w aktywowanej przez ABA produkcji tlenu azotu [14,40,45,49,70]. Wydaje się, że w tym odgałęzieniu szlaku sygnałowego wykorzystywane są cząsteczki sygnałowe drugiego rzędu (cADPR, $InsP_3$, $InsP_6$, DAG), których udział w sygnalizacji ABA badany jest od szeregu lat [10].

Przegląd białkowych elementów szlaków sygnałowych ABA pokazuje, że nie tworzą one liniowej kaskady, lecz działają w kompleksowej sieci wzajemnych powiązań, w której można wyodrębnić szlaki biegnące równolegle oraz pozytywne i negatywne pętle sprzężenia zwrotnego [23,41,45]. Ponadto wiemy już, że co najmniej niektóre z tych elementów łączą sygnalizację ABA ze szlakami aktywo-

wanymi przez czynniki stresowe, takie jak: susza, zasolenie czy niska temperatura, a także szlaki aktywowane przez cukry, gibereliny czy etylen.

PIŚMIENNICTWO

- [1] ACEVEDO-HERNÁNDEZ GJ, LEÓN P, HERRERA-ESTRELLA LR. Sugar and ABA responsiveness of a minimal *RBCS* light-responsive unit is mediated by direct binding of ABI4. *Plant J* 2005; **43**: 506–519.
- [2] ANKELE E, KINDGREN P, PESQUET E, STRAND A. *In vivo* visualization of Mg-ProtoporphyrinIX, a coordinator of photosynthetic gene expression in the nucleus and the chloroplast. *Plant Cell* 2007; **19**: 1964–1979.
- [3] BÄURLE I, DEAN C. The timing of developmental transitions in plants. *Cell* 2006; **125**: 655–664.
- [4] BECK CF. Signaling pathways from the chloroplast to the nucleus. *Planta* 2005; **222**: 743–756.
- [5] BOUDSOCQ M, BARBIER-BRYGOO H, LAURIÈRE C. Identification of nine sucrose nonfermenting 1-related protein kinases 2 activated by hyperosmotic and saline stresses in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* 2004; **279**: 41758–41766.
- [6] CHÉREL I, MICHARD E, PLATET N, MOULINE K, ALCON C, SENTENAC H, THIBAUD J-B. Physical and functional interaction of the *Arabidopsis* K⁺ channel AKT2 and phosphatase AtPP2CA. *Plant Cell* 2002; **14**: 1133–1146.
- [7] CHOI H-I, HONG J-H, HA J-O, KANG J-Y, KIM SY. ABFs, a family of ABA-responsive element binding factors. *J Biol Chem* 2000; **275**: 1723–1730.
- [8] CHOI H-I, PARK H-J, PARK JH, KIM S, IM M-Y, SEO H-H, KIM Y-W, HWANG I, KIM SY. *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase AtCPK32 interacts with ABF4, a transcriptional regulator of abscisic acid-responsive gene expression, and modulates its activity. *Plant Physiol* 2005; **139**: 1750–1761.
- [9] FAN L-M, ZHANG W, CHEN J-G, TAYLOR JP, JONES AM, ASSMANN SM. Abscisic acid regulation of guard-cell K⁺ and anion channels in G β - and RGS-deficient *Arabidopsis* lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 8476–8481.
- [10] FINKELSTEIN RR, GAMPALA SSL, ROCK CD. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell* 2002; Supplement S15–S45.
- [11] FUJII H, VERSLUES PE, ZHU J-K. Identification of two protein kinases required for abscisic acid regulation of seed germination, root growth and gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2007; **19**: 485–494.
- [12] FURIHATA T, MARUYAMA K, FUJITA Y, UMEZAWA T, YOSHIDA R, SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Abscisic acid-dependent multisite phosphorylation regulates the activity of a transcription activator AREB1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103**: 1988–1993.
- [13] GAO Y, ZENG Q, GUO J, CHENG J, ELLIS BE, CHEN J-G. Genetic characterization reveals no role for the reported ABA receptor, GCR2, in ABA control of seed germination and early seedling development in *Arabidopsis*. *Plant J* 2007; **52**: 1001–1013.
- [14] GARCIA-MATA C, LAMATTINA L. Abscisic acid, nitric oxide and stomatal closure – is nitrate reductase one of the missing links? *Trends Plant Sci* 2003; **8**: 20–26.
- [15] GONG D, ZHANG C, CHEN X, GONG Z, ZHU J-K. Constitutive activation and transgenic evaluation of the function of an *Arabidopsis* PKS protein kinase. *J Biol Chem* 2002; **277**: 42088–42096.
- [16] GONG Z, DONG C-H, LEE H, ZHU J, XIONG L, GONG D, STEVENSON B, ZHU J-K. A DEAD Box RNA helicase is essential for mRNA export and important for development and stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2005; **17**: 256–267.
- [17] GOSTI F, BEAUDOIN N, SERIZET C, WEBB AAR, VARTANIAN N, GIRAUDAT J. ABI1 protein phosphatase 2C is a negative regulator of abscisic acid signaling. *Plant Cell* 1999; **11**: 1897–1909.
- [18] GUO Y, XIONG L, SONG C-P, GONG D, HALFTER U, ZHU J-K. A calcium sensor and its interacting protein kinase are global regulators of abscisic acid signaling in *Arabidopsis*. *Dev Cell* 2002; **3**: 233–244.
- [19] HAN M-H, GOUD S, SONG L, FEDOROFF N. The *Arabidopsis* double-stranded RNA-binding protein HYL1 plays a role in microRNA-mediated gene regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 1093–1098.
- [20] HENDERSON IR, LIU F, DREA S, SIMPSON GG, DEAN C. An allelic series reveals essential roles for FY in plant development in addition to flowering-time control. *Development* 2005; **132**: 3597–3607.

- [21] HIMMELBACHA, HOFFMANN T, LEUBE M, HÖHENER B, GRILL E. Homeodomain protein ATHB6 is a target of the protein phosphatase ABII and regulates hormone responses in *Arabidopsis*. *EMBO J* 2002; **21**: 3029–3038.
- [22] HIMMELBACHA, YANG Y, GRILL E. Relay and control of abscisic acid signaling. *Curr Opin Plant Biol* 2003; **6**: 470–479.
- [23] HIRAYAMA T, SHINOZAKI K. Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA. *Trends Plant Sci* 2007; **12**: 343–351.
- [24] HOTH S, MORGANTE M, SANCHEZ J-P, HANAFEY MK, TINGEY SV, CHUA N-H. Genome-wide gene expression profiling in *Arabidopsis thaliana* reveals new targets of abscisic acid and largely impaired gene regulation in the *abi1-1* mutant. *J Cell Sci* 2002; **115**: 4891–4900.
- [25] HRABAK EM, CHAN CWM, GRIBSKOV M, HARPER JF, CHOI JH, HALFORD N, KUDLA J, LUAN S, NIMMO HG, SUSSMAN MR, THOMAS M, WALKER-SIMMONS K, ZHU J-K, HARMON AC. The *Arabidopsis* CDPK-SnRK superfamily of protein kinases. *Plant Physiol* 2003; **132**: 666–680.
- [26] HUGOUVIEUX V, MURATA Y, YOUNG JJ, KWAK JM, MACKESY DZ, SCHROEDER JI. Localization, ion channel regulation, and genetic interactions during abscisic acid signaling of the nuclear mRNA cap-binding protein, ABH1. *Plant Physiol* 2002; **130**: 1276–1287.
- [27] JAKUBOWSKA A, KOWALCZYK S. Kwas abscysynowy – percepcja i transdukcja sygnału. *Post Biol Kom* 2000; **27**: 633–656.
- [28] JAKUBOWSKA A, OSTROWSKI M, KOWALCZYK S. Kinazy receptorowe roślin. *Post Biochem* 2007; **53**: 133–142.
- [29] JARVIS P. Intracellular signalling: chloroplast backchat. *Curr Biol* 2007; **17**: R552–R555.
- [30] JEANNETTE E, RONA J-P, BARDAT F, CORNEL D, SOTTA B, MIGINIAC E. Induction of *RAB18* gene expression and activation of K^+ outward rectifying channels depend on an extracellular perception of ABA in *Arabidopsis thaliana* suspension cells. *Plant J* 1999; **18**: 13–22.
- [31] JOHNSTON CA, TEMPLE BR, CHEN J-G, GAO Y, MORIYAMA EN, JONES AM, SIDEROVSKI DP, WILLARD FS. Comment on „A G protein-coupled receptor is a plasma membrane receptor for the plant hormone abscisic acid”. *Science* 2007; **318**: 914c.
- [32] KIM K-N, CHEONG YH, GRANT JJ, PANDEY GK, LUAN S. CIPK3, a calcium sensor-associated protein kinase that regulates abscisic acid and cold signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2003; **15**: 411–423.
- [33] KOBAYASHI Y, MURATA M, MINAMI H, YAMAMOTO S, KAGAYA Y, HOBOT T, YAMAMOTO A, HATTORI T. Abscisic acid-activated SNRK2 protein kinases function in the gene-regulation pathway of ABA signal transduction by phosphorylating ABA response element-binding factors. *Plant J* 2005; **44**: 939–949.
- [34] KOUSSEVITZKY S, NOTTA A, MOCKLER TC, HONG F, SACHETTO-MARTINS G, SURPIN M, LIM J, MITTLER R, CHORY J. Signals from chloroplasts converge to regulate nuclear gene expression. *Science* 2007; **316**: 715–719.
- [35] KOWALCZYK S, HADOWSKA E, PIEKARSKA A. Roślinne układy ubikwitylacji i degradacji białek w proteasomach – kluczowe elementy hormonalnych szlaków sygnałowych. *Post Biochem* 2005; **51**: 171–187.
- [36] KOWALCZYK S, HETMANN A. Receptory sprzężone z białkami G, heterotrimeryczne białka G i białka efektorowe roślin. *Post Biochem* 2008; **54**: 412–422.
- [37] KOWALCZYK S, HETMANN A. Roślinne receptorowe kinazy histydynowe i wielostopniowy przepływ fosforanu do regulatorów odpowiedzi. *Post Biochem* 2003; **49**: 298–318.
- [38] KROPAT J, OSTER U, RÜDIGER W, BECK CF. Chloroplast signalling in the light induction of nuclear HSP70 genes requires the accumulation of chlorophyll precursors and their accessibility to cytoplasm/nucleus. *Plant J* 2000; **24**: 523–531.
- [39] KUHN JM, BOISSON-DERNIER A, DIZON MB, MAKTABI MH, SCHROEDER JI. The protein phosphatase *AtPP2CA* negatively regulates abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*, and effects of *abh1* on *AtPP2CA* mRNA. *Plant Physiol* 2006; **140**: 127–139.
- [40] KWAK JM, MOON J-H, MURATA Y, KUCHITSU K, LEONHARDT N, DELONGA, SCHROEDER JI. Disruption of a guard cell-expressed protein phosphatase 2A regulatory subunit, *RCN1*, confers abscisic acid insensitivity in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2002; **14**: 2849–2861.
- [41] KWAK JM, NGUYEN V, SCHROEDER JI. The role of reactive oxygen species in hormonal responses. *Plant Physiol* 2006; **141**: 323–329.
- [42] LARKIN RM, ALONSO JM, ECKER JR, CHORY J. GUN4, a regulator of chlorophyll synthesis and intracellular signaling. *Science* 2003; **299**: 902–906.

- [43] LEE J-H, CHO Y-S, YOON H-S, SUH MC, MOON J, LEE I, WEIGEL D, YUN C-H, KIM J-K. Conservation and divergence of FCA function between *Arabidopsis* and rice. *Plant Mol Biol* 2005; **58**: 823–838.
- [44] LEISTER D. Genomics-based dissection of the cross-talk of chloroplasts with the nucleus and mitochondria in *Arabidopsis*. *Gene* 2005; **354**: 110–116.
- [45] LI S, ASSMANN SM, ALBERT R. Predicting essential components of signal transduction networks: a dynamic model of guard cell abscisic acid signaling. *PLoS Biology* 2006; **4**: 1732–1748.
- [46] LIU X, YUE Y, LI B, NIE Y, LI W, WU W-H, MA L. A G protein-coupled receptor is a plasma membrane receptor for the plant hormone abscisic acid. *Science* 2007; **315**: 1712–1716.
- [47] LIU X, YUE Y, LI W, MA L. Response to comment on „A G protein-coupled receptor is a plasma membrane receptor for the plant hormone abscisic acid”. *Science* 2007; **318**: 914d.
- [48] LU C, FEDOROFF N. A mutation in the *Arabidopsis* *HYL1* gene encoding a dsRNA binding protein affects responses to abscisic acid, auxin, and cytokinin. *Plant Cell* 2000; **12**: 2351–2365.
- [49] LUO J, SHEN G, YAN J, HE C, ZHANG H. AtCHIP functions as an E3 ubiquitin ligase of protein phosphatase 2A subunits and alters plant response to abscisic acid treatment. *Plant J* 2006; **46**: 649–657.
- [50] MACKNIGHT R, BANCROFT I, PAGE T, LISTER C, SCHMIDT R, LOVE K, WESTPHAL L, MURPHY G, SHERSON S, COBBETT C, DEAN C. *FCA*, a gene controlling flowering time in *Arabidopsis*, encodes a protein containing RNA-binding domains. *Cell* 1997; **89**: 737–745.
- [51] MACKNIGHT R, DUROUX M, LAURIE R, DIJKWEL P, SIMPSON G, DEAN C. Functional significance of the alternative transcript processing of the *Arabidopsis* floral promoter *FCA*. *Plant Cell* 2002; **14**: 877–888.
- [52] MCCORMAC AC, TERRY MJ. The nuclear genes *Lhcb* and *HEMA1* are differentially sensitive to plastid signals and suggest distinct roles for the GUN1 and GUN5 plastid-signalling pathways during deetiolation. *Plant J* 2004; **40**: 672–685.
- [53] MERLOT S, GOSTI F, GUERRIER D, VAVASSEUR A, GIRAUDAT J. The ABI1 and ABI2 protein phosphatases 2C act in a negative feedback regulatory loop of the abscisic acid signalling pathway. *Plant J* 2001; **25**: 295–303.
- [54] MIAO Y, LV D, WANG P, WANG X-C, CHEN J, MIAO C, SONG C-P. An *Arabidopsis* glutathione peroxidase functions as both a redox transducer and a scavenger in abscisic acid and drought stress responses. *Plant Cell* 2006; **18**: 2749–2766.
- [55] MISHRA G, ZHANG W, DENG F, ZHAO J, WANG X. A bifurcating pathway directs abscisic acid effects on stomatal closure and opening in *Arabidopsis*. *Science* 2006; **312**: 264–266.
- [56] MOCHIZUKI N, BRUSSLAN JA, LARKIN R, NAGATANI A, CHORY J. *Arabidopsis* genomes uncoupled 5 (*GUN5*) mutant reveals the involvement of Mg-chelatase H subunit in plastid-to-nucleus signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 2053–2058.
- [57] MOES D, HIMMELBACH A, KORTE A, HABERER G, GRILL E. Nuclear localization of the mutant protein phosphatase *abi1* is required for insensitivity towards ABA responses in *Arabidopsis*. *Plant J* 2008; **54**: 806–819.
- [58] MORI IC, MURATA Y, YANG Y, MUNEMASA S, WANG Y-F, ANDREOLI S, TIRIAC H, ALONSO JM, HARPER JF, ECKER JR, KWAK JM, SCHROEDER JI. CDPKs CPK6 and CPK3 function in ABA regulation of guard cell S-type anion- and Ca²⁺-permeable channels and stomatal closure. *PLoS Biology* 2006; **4**: 1749–1762.
- [59] MURATA Y, PEI Z-M, MORI IC, SCHROEDER JI. Abscisic acid activation of plasma membrane Ca²⁺ channels in guard cells requires cytosolic NAD(P)H and is differentially disrupted upstream and downstream of reactive oxygen species production in *abi1-1* and *abi2-1* protein phosphatase 2C mutants. *Plant Cell* 2001; **13**: 2513–2523.
- [60] MUSTILLI A-C, MERLOT S, VAVASSEUR A, FENZI F, GIRAUDAT J. *Arabidopsis* OST1 protein kinase mediates the regulation of stomatal aperture by abscisic acid and acts upstream of reactive oxygen species production. *Plant Cell* 2002; **14**: 3089–3099.
- [61] NG C K-Y, KINOSHITA T, PANDEY S, SHIMAZAKI K-I, ASSMANN SM. Abscisic acid induces rapid sub-nuclear reorganization in guard cells. *Plant Physiol* 2004; **134**: 1327–1331.
- [62] NISHIMURA N, KITAHATA N, SEKI M, NARUSAKA Y, NARUSAKA M, KUROMORI T, ASAMI T, SHINOZAKI K, HIRAYAMA T. Analysis of *ABA Hypersensitive Germination2* revealed the pivotal functions of PARN in stress response in *Arabidopsis*. *Plant J* 2005; **44**: 972–984.
- [63] NISHIMURA N, YOSHIDA T, KITAHATA N, ASAMI T, SHINOZAKI K, HIRAYAMA T. *ABA-Hypersensitive Germination1* encodes a protein phosphatase 2C, an essential component of abscisic acid signaling in *Arabidopsis* seed. *Plant J* 2007; **50**: 935–949.

- [64] NOTTA, JUNG H-S, KOUSSEVITZKY S, CHORY J. Plastid-to-nucleus retrograde signaling. *Annu Rev Plant Biol* 2006; **57**: 739–759.
- [65] OELMÜLLER R. Photooxidative destruction of chloroplasts and its effect on nuclear gene expression and extraplastidic enzyme levels. *Photochem Photobiol* 1989; **49**: 229–239.
- [66] OHNACKER M, BARABINO SML, PREKER PJ, KELLER W. The WD-repeat protein Pfs2p bridges two essential factors within the yeast pre-mRNA 3'-end-processing complex. *EMBO J* 2000; **19**: 37–47.
- [67] OHTA M, GUO Y, HALFTER U, ZHU J-K. A novel domain in the protein kinase SOS2 mediates interaction with the protein phosphatase 2C ABI2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 11771–11776.
- [68] PANDEY S, ASSMANN SM. The *Arabidopsis* putative G protein-coupled receptor GCR1 interacts with the G protein α subunit GPA1 and regulates abscisic acid signaling. *Plant Cell* 2004; **16**: 1616–1632.
- [69] PAPP I, MUR LA, DALMADI A, DULAI S, KONCZ C. A mutation in the Cap Binding Protein 20 gene confers drought tolerance to *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* 2004; **55**: 679–686.
- [70] PERNAS M, GARCIA-CASADO G, ROJO E, SOLANO R, SÁNCHEZ-SERRANO JJ. A protein phosphatase 2A catalytic subunit is a negative regulator of abscisic acid signalling. *Plant J* 2007; **51**: 763–778.
- [71] QUESADA V, MACKNIGHT R, DEAN C, SIMPSON GG. Autoregulation of *FCA* pre-mRNA processing controls *Arabidopsis* flowering time. *EMBO J* 2003; **22**: 3142–3152.
- [72] RAZEM FA, EL-KEREAMY A, ABRAMS SR, HILL RD. The RNA-binding protein FCA is an abscisic acid receptor. *Nature* 2006; **439**: 290–294.
- [73] RAZEM FA, LUO M, LIU J-H, ABRAMS SR, HILL RD. Purification and characterization of a barley aleurone abscisic acid-binding protein. *J Biol Chem* 2004; **279**: 9922–9929.
- [74] RIERA M, REDKO Y, LEUNG J. *Arabidopsis* RNA-binding protein UBA2a relocates into nuclear speckles in response to abscisic acid. *FEBS Lett* 2006; **580**: 4160–4165.
- [75] RITCHIE S, GILROY S. Abscisic acid stimulation of phospholipase D in the barley aleurone is G-protein-mediated and localized to the plasma membrane. *Plant Physiol* 2000; **124**: 693–702.
- [76] SAEZ A, APOSTOLOVA N, GONZALEZ-GUZMAN M, GONZALEZ-GARCIA MP, NICOLAS C, LORENZO O, RODRIGUEZ PL. Gain-of-function and loss-of function phenotypes of the protein phosphatase 2C *HAB1* reveal its role as a negative regulator of abscisic acid signalling. *Plant J* 2004; **37**: 354–369.
- [77] SAEZA, ROBERT N, MAKTABI MH, SCHROEDER JI, SERRANO R, RODRIGUEZ PL. Enhancement of abscisic acid sensitivity and reduction of water consumption in *Arabidopsis* by combined inactivation of the protein phosphatases type 2C ABI1 and HAB1. *Plant Physiol* 2006; **141**: 1389–1399.
- [78] SCHWEIGHOFER A, HIRT H, MESKIENE I. Plant PP2C phosphatases: emerging functions in stress signaling. *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 236–242.
- [79] SHEN Y-Y, WANG X-F, WU F-Q, DU S-Y, CAO Z, SHANG Y, WANG X-L, PENG C-C, YU X-C, ZHU S-Y, FAN R-C, XU Y-H, ZHANG D-P. The Mg-chelatase H subunit is an abscisic acid receptor. *Nature* 2006; **443**: 823–826.
- [80] SIMPSON GG, DIJKWEL PP, QUESADA V, HENDERSON I, DEAN C. FY is an RNA 3'-end-processing factor that interacts with FCA to control the *Arabidopsis* floral transition. *Cell* 2003; **113**: 777–787.
- [81] SPARTZ AK, GRAY WM. Plant hormone receptors: new perceptions. *Genes Dev* 2008; **22**: 2139–2148.
- [82] STRAND A, ASAMI T, ALONSO J, ECKER JR, CHORY J. Chloroplast to nucleus communication triggered by accumulation of Mg-protoporphyrinIX. *Nature* 2003; **421**: 79–83.
- [83] SUSEK RE, AUSUBEL FM, CHORY J. Signal transduction mutants of *Arabidopsis* uncouple nuclear *CAB* and *RBCS* gene expression from chloroplast development. *Cell* 1993; **74**: 787–799.
- [84] VERDECIA MA, LARKIN RM, FERRER J-L, RIEK R, CHORY J, NOEL JP. Structure of the Mg-chelatase cofactor GUN4 reveals a novel hand-shaped fold for porphyrin binding. *PLoS Biol* 2005; **3**: 0777–0789.
- [85] VERSLUES PE, GUO Y, DONG C-H, MA W, ZHU J-K. Mutation of SAD2, an importin β -domain protein in *Arabidopsis*, alters abscisic acid sensitivity. *Plant J* 2006; **47**: 776–787.
- [86] VRANOVÁ E, TÄHTIHARJU S, SRIPRANG R, WILLEKENS H, HEINO P, PALVA ET, INZÉ D, VAN CAMP W. The AKT3 potassium channel protein interacts with the AtPP2CA protein phosphatase 2C. *J Exp Bot* 2001; **52**: 181–182.
- [87] WALKER CJ, WILLOWS RD. Mechanism and regulation of Mg-chelatase. *Biochem J* 1997; **327**: 321–333.
- [88] WANG P, SONG C-P. Guard-cell signalling for hydrogen peroxide and abscisic acid. *New Phytol* 2008; **178**: 703–718.
- [89] WANG X-F, ZHANG D-P. Abscisic acid receptors: multiple signal-perception sites. *Ann Bot* 2008; **101**: 311–317.
- [90] WANG X-Q, ULLAH H, JONES AM, ASSMANN SM. G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in *Arabidopsis* guard cells. *Science* 2001; **292**: 2070–2072.

- [91] WOJCIECHOWSKI W, KĘSY J, KOPCEWICZ J. Florigen – legenda czy rzeczywistość? *Post Biol Kom* 2007; **34**: 31–47.
- [92] XING D, ZHAO H, XU R, LI QQ. *Arabidopsis* PCFS4, a homologue of yeast polyadenylation factor Pef11p, regulates *FCA* alternative processing and promotes flowering time. *Plant J* 2008; **54**: 899–910.
- [93] XIONG L, GONG Z, ROCK CD, SUBRAMANIAN S, GUO Y, XU W, GALBRAITH D, ZHU J-K. Modulation of abscisic acid signal transduction and biosynthesis by an Sm-like protein in *Arabidopsis*. *Dev Cell* 2001; **1**: 771–781.
- [94] YAMAZAKI D, YOSHIDA S, ASAMI T, KUCHITSU K. Visualization of abscisic acid-perception sites on the plasma membrane of stomatal guard cells. *Plant J* 2003; **35**: 129–139.
- [95] YOSHIDA R, UMEZAWA T, MIZOGUCHI T, TAKAHASHI S, TAKAHASHI F, SHINOZAKI K. The regulatory domain of SRK2E/OST1/SnRK2.6 interacts with ABI1 and integrates abscisic acid (ABA) and osmotic stress signals controlling stomatal closure in *Arabidopsis*. *J Biol Chem* 2006; **281**: 5310–5318.
- [96] YOSHIDA T, NISHIMURA N, KITAHATA N, KUROMORI T, ITO T, ASAMI T, SHINOZAKI K, HIRAYAMA T. *ABA-Hypersensitive Germination3* encodes a protein phosphatase 2C (AtPP2CA) that strongly regulates abscisic acid signaling during germination among *Arabidopsis* protein phosphatase 2Cs. *Plant Physiol* 2006; **140**: 115–126.
- [97] ZHANG D-P, WU Z-Y, LI X-Y, ZHAO Z-X. Purification and identification of a 42-kilodalton abscisic acid-specific-binding protein from epidermis of broad bean leaves. *Plant Physiol* 2002; **128**: 714–725.
- [98] ZHANG W, QIN C, ZHAO J, WANG X. Phospholipase D α 1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1 phosphatase 2C and regulates abscisic acid signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 9508–9513.
- [99] ZHAO J, WANG X. *Arabidopsis* phospholipase D α 1 interacts with the heterotrimeric G-protein α -subunit through a motif analogous to the DRY motif in G-protein-coupled receptors. *J Biol Chem* 2004; **279**: 1794–1800.
- [100] ZHU S-Y, YU X-C, WANG X-J, ZHAO R, LI Y, FAN R-C, SHANG Y, DU S-Y, WANG X-F, WU F-Q, XU Y-H, ZHANG X-Y, ZHANG D-P. Two calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2007; **19**: 3019–3036.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 04.10. 2008 r.

Przyjęto: 03.12. 2008 r.

87-100 Toruń, ul. Gagarina 7

e-mail: piotrwasag@op.pl