

STRESUJĄCE POMYŁKI I SPEKTAKULARNE SUKCESY W POSZUKIWANIACH RECEPTORÓW ABA – ROŚLINNEGO HORMONU STRESU

THE STRESSING MISTAKES AND SPECTACULAR SUCCESSES
IN THE STUDIES OF THE PLANT STRESS HORMONE RECEPTORS

Piotr WASĄG¹, Stanisław KOWALCZYK²

¹Zakład Genetyki, ²Zakład Biochemii, Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej,
Uniwersytet M. Kopernika w Toruniu

Streszczenie: Kwas abscysynowy (ABA), jeden z klasycznych hormonów roślinnych, koordynuje odpowiedzi roślin na czynniki stresogenne, takie jak: susza, ekstremalna temperatura czy wysokie zasolenie oraz reguluje odpowiedzi niezwiązane ze stresem, takie jak: zawiązywanie oraz dojrzewanie nasion i pąków, wzrost korzenia, starzenie liści czy przejście z fazy wzrostu wegetatywnego do generatywnego. Percepcja sygnału ABA przez odpowiednie białka receptorowe aktywuje, podobnie jak w przypadku innych fitohormonów, kaskady sygnałowe funkcjonujące w skomplikowanej sieci szlaków sygnałowych indukujących określone odpowiedzi fizjologiczne. W poszukiwaniach receptorów ABA, w ostatnich pięciu latach udało się zidentyfikować kilka białek, których funkcja była wiązana z percepcją tego fitohormonu. Do białek tych należą: jądrowe białko FCA regulujące zakwitanie, podjednostka H (CHLH/GUN5) plastydowej chelatazy wbudowującej jony magnezu do protoporfiryny IX, białko błonowe GCR2 oraz dwa nowe białka GTG1 i GTG2 podobne do receptorów sprzężonych z białkami G. Jednakże wyniki, publikowane w uznanych czasopismach, wywołują ostre spory i są kwestionowane przez innych badaczy, a w jednym przypadku zostały uznane za artefakty przez samych autorów. Sytuacja w ostatnim czasie uległa zmianie, zwłaszcza po opublikowaniu wyników badań wskazujących, iż receptormi ABA są małe, rozpuszczalne białka należące do rodziny Pyrabactin Resistance 1 (PYR1) i PYR-like (PYL), kodowane w *Arabidopsis thaliana* przez czternaście genów. Białka PYR1/PYL/RCAR wiążą ABA i hamują aktywność specyficznej grupy fosfataz białkowych PP2C, których udział w odpowiedziach na ABA był już wcześniej dobrze udokumentowany. W warunkach braku ABA, fosfatazy PP2C funkcjonują jako konstytutywne negatywne regulatory kinaz białkowych podrodziny SnRK2, których autofosforylacja jest konieczna do fosforylowania określonych białek substratowych. Pojawienie się lub wzrost poziomu ABA w komórce sprzyja wiązaniu fitohormonu z receptorem PYR1/PYL, a w konsekwencji umożliwia tworzenie kompleksu PYR1/PYL-ABA-PP2C, w którym aktywność fosfatazowa zostaje zablokowana. Zależne od ABA hamowanie aktywności PP2C umożliwia aktywację kinaz białkowych SnRK2.2, SnRK2.3 i SnRK2.6 fosforylujących czynniki transkrypcyjne ABF/AREB z rodziny bZIP regulujących ekspresję genów związanych z odpowiedziami na ABA. Analizy krystalograficzne trzech białek PYR1/PYL w formie wolnej, a także w formie związanej z ABA i fosfatazą białkową, dostarczyły istotnych informacji dotyczących struktury trzeciorzędowej kompleksów receptorowych.

W białku PYR1/PYL w formie niezwiązanej z ABA, wejście do kieszeni wiążącej fitohormon z dwiema okalającymi go ruchomymi pętlami jest otwarte. Zmiany allosteryczne towarzyszące wiązaniu ABA powodują zamknięcie kieszeni poprzez zagięcie pętli otaczających wejście do kieszeni, umożliwiając w ten sposób wiązanie fosfatazy PP2C z ich hydrofobowymi powierzchniami. Ścisłe oddziaływanie PYR1/PYL z centrum aktywnym fosfatazy PP2C zapobiega wiązaniu i defosforylacji białek substratowych. Oddziaływanie łańcucha bocznego konserwatywnej reszty tryptofanu w PP2C z PYR1/PYL, zmieniające powinowactwo fitohormonu do receptora, wskazuje, iż PP2C funkcjonuje jako koreceptor ABA.

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

Summary: The phytohormone abscisic acid (ABA) coordinates plant responses to stressors such as drought, extreme temperature and high salinity, as well regulates non-stress responses including seed formation and maturation, seed and bud dormancy, root growth, leaf senescence, and transition between vegetative and reproductive growth. ABA, similarly like the others plant hormones, functions through a complex network of signaling pathway, where ABA signal perception by ABA receptors is the primary event that triggers downstream signaling cascades to induce the final physiological responses. Since 2006, several proteins have been identified as possible ABA receptors. These are the nuclear flowering-time protein FCA, the plastid-associated Mg-protoporphyrin IX chelatase H subunit (CHLH/GUN5), a membrane-bound GCR2, and two novel G-protein coupled receptors GTG1 and GTG2. However, the results obtained in these studies are contested or questioned by several researchers, and in one case lately retracted. The situation improved with the publication of the recent studies indicating that receptors for this hormone are a group of small soluble proteins referred to as Pyrabactin Resistance 1 (PYR1), or PYR-like (PYL), encoded in *Arabidopsis thaliana* by fourteen genes. Proteins of this family were found to bind ABA and inhibit the activity of specific protein phosphatase enzymes, the type 2C plant PP2Cs, which were previously implicated in the ABA responses. In the absence of ABA, the PP2Cs act as constitutive negative regulators of a family of protein kinases SnRK2s whose autophosphorylation is required for kinase activity towards downstream targets. When abscisic acid enters a plant cell, PYR1/PYL receptor forms a binary complex with hormone and then immediately binds to, and inhibits the PP2C. The inhibition of the negatively acting PP2Cs leads to the successful activation of SnRK2.2, SnRK2.3 and SnRK2.6, which phosphorylate the basic leucine zipper (bZIP) transcription factors called ABFs/AREBs inducing the expression of ABA-responsive genes. By determining the crystal structures of members of the receptor family, with and without bound abscisic acid and protein phosphatase, high-definition structural images of the receptor complex are now available. In the hormone-free form, the PYR1/PYL protein presents an open and accessible cavity with two flexible surface loops that guard the ABA-binding pocket. Binding of ABA to the receptor-protein initiates an allosteric transition of the gating loops that sequester ABA in the pocket. The protein phosphatase PP2C binds to the hydrophobic site on the gating loops, which interact closely with the active site of the phosphatase, blocking its ability to bind and dephosphorylate its substrate. A conserved tryptophan residue of the phosphatase inserts its side chain to the gating loops. In this respect, PP2C acts as a potent co-receptor to enhance the affinity of the hormone for its receptor.

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

W pierwszym zeszycie 36 tomu Postępów Biologii Komórki z ubiegłego roku opublikowano artykuł przeglądowy podsumowujący osiągnięcia w poszukiwaniach receptorów kwasu abscysynowego (ABA) [18]. Przedstawione w pracy wyniki wskazywały, iż dwa wewnątrzkomórkowe białka FCA i ABAR/CHLH/GUN5 oraz błonowe białko GCR2 pełnią w *Arabidopsis thaliana* funkcje receptorów ABA. Jednakże już po upływie kilku miesięcy okazało się, że niektóre z prezentowanych wyników zostały przez samych autorów uznane za eksperymentalne pomyłki, a inne, w części lub w całości, zakwestionowali inni badacze. Zaistniała sytuacja obliuguje do przypomnienia najważniejszych faktów oraz wskazania tych wyników, które okazały się eksperymentalnymi artefaktami, jak również do zaprezentowania

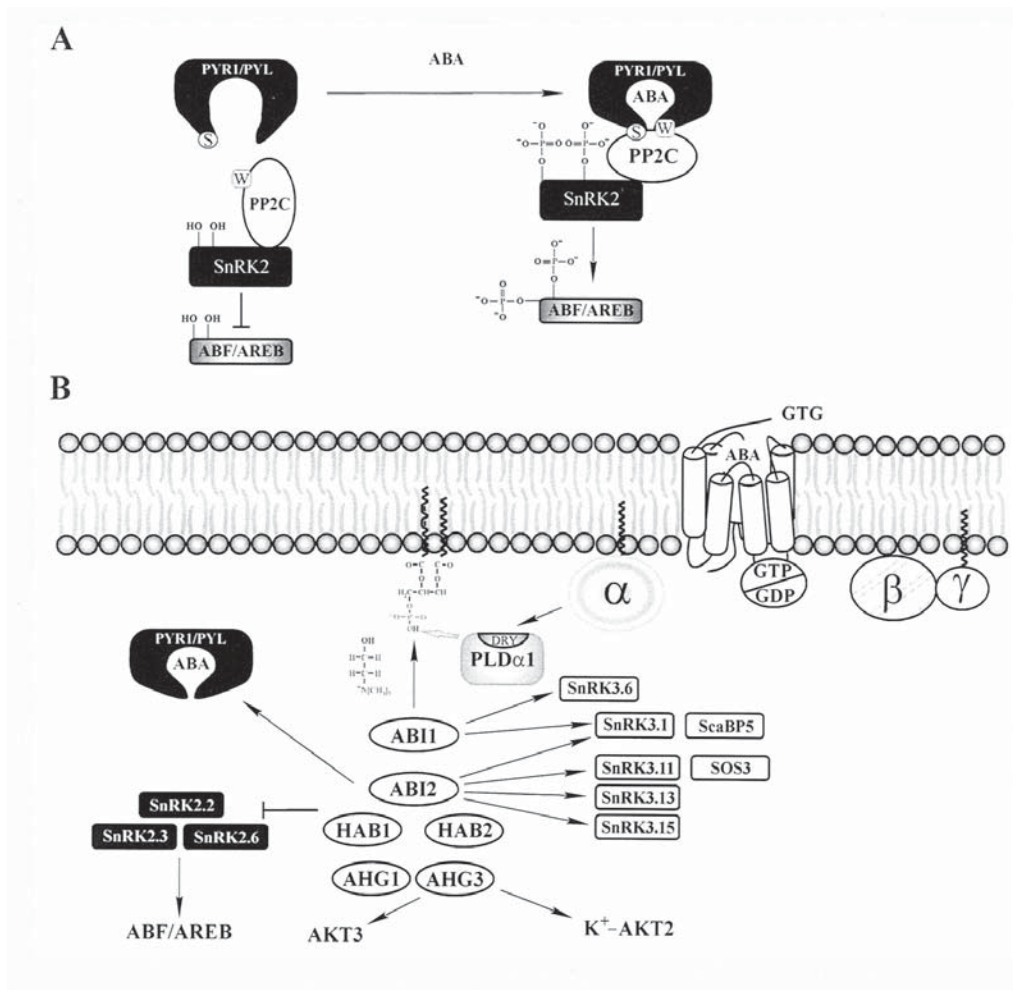
aktualnego stanu wiedzy, szczególnie do zwrócenia uwagi zainteresowanego Czytelnika na odkrytą w ostatnich miesiącach nową rodzinę wewnątrzkomórkowych receptorów ABA, których poznanie już dzisiaj należy uznać za wydarzenie przełomowe w badaniach szlaków sygnałowych aktywowanych przez ABA.

Białkiem, którego funkcja receptorowa jeszcze niedawno wydawała się nie budzić wątpliwości, jest FCA (ang. *Flowering time Control Protein A*) odgrywające w *A. thaliana* rolę regulatora kwitnienia. Jednakże proponowanej roli nie potwierdzono w doświadczeniach analizujących udział ABA w regulacji oddziaływań pomiędzy FCA i FY ryżu [2,12], a także w doświadczeniach weryfikujących swoistość wiązania ABA przez FCA [12,13]. Ostatecznie, na krótko przed ukazaniem się artykułu przeglądowego, autorzy ujawnili szereg popełnionych eksperymentalnych pomyłek i uznali opublikowane wyniki za błędne [4].

Badania wiążące rolę białka GCR2 (ang. *G protein-Coupled Receptor 2*) z percepcją ABA w błonie komórkowej początkowo budziły także duże zainteresowanie, ponieważ GCR2 było uważane za pierwszy roślinny receptor typu GPCR (ang. *G-Protein-Coupled Receptor*), w przypadku którego, jak wówczas sądzono, udało się zidentyfikować ligand, ale również dlatego, że prezentowane wyniki potwierdzały, postulowany na podstawie wcześniejszych doświadczeń, udział heterotrimerycznych białek G w transdukcji sygnału ABA [18]. Jednakże wątpliwości, podnoszone już w pracy przeglądowej [18], okazały się w pełni uzasadnione, bowiem wyniki opublikowane w ubiegłym roku ostatecznie wykluczyły udział GCR2 w percepcji ABA [13]. W doświadczeniach weryfikujących wiązanie ABA do GCR2 oraz jego homologów GCL1 i GCL2 – białek tylko powierzchniowo związanych z błoną plazmatyczną – nie potwierdzono swoistości wiązania fitohormonu z białkami [13].

Wykluczenie funkcji receptorowej GCR2 zbiegło się w czasie z odkryciem w *A. thaliana* błonowych białek GTG1 i GTG2 (ang. *GPCR-Type G protein 1 i 2*) wiążących stereospecyficznie ABA, homologicznych z białkami receptorowymi typu GPCR, szczególnie ludzkim białkiem GPR89/GPHR (ang. *G Protein-coupled Receptor 89/Golgi pH Receptor*) [10]. GTG są białkami integralnie powiązаныmi z błoną plazmatyczną, z charakterystycznym 30-aminokwasowym motywem, w jednej z kilku cytoplazmatycznych pętli wiążącym GTP/GDP (ryc. 1B). Obydwa GTG wykazują aktywność GTPazową hamowaną przez oddziałującą z nimi podjednostkę $G\alpha$ (GPA1) heterotrimerycznych białek G. Podwójny mutant *gtg1/gtg2* charakteryzuje się obniżoną wrażliwością na ABA, która przejawia się ograniczeniem wywołwanego przez fitohormon hamowania kiełkowania nasion, wzrostu siewek oraz ruchów aparatu szparkowego. Tak więc, wyniki pojedynczej pracy sugerują, że GTG są białkami fuzyjnymi łączącymi funkcję receptorową z funkcją białka $G\alpha$ lub, czego nie można również wykluczyć, regulowanymi przez ABA kanałami anionowymi podobnymi do GPR89/GPHR [10].

Oprócz kontrowersji związanych z FCA i GCR2, równie dyskusyjne okazały się wyniki wiążące funkcję podjednostki H (ABAR/CHLH/GUN5) chloroplastowej chelatazy wbudowującej jony magnezu do protoporfiryny IX z percepcją sygnału ABA [18]. Funkcja receptorowa CHLH/GUN5 nie była bezpośrednio wiązana z



RYCINA 1. Schematy szlaków sygnałowych aktywowanych przez ABA. (A) Zależne od ABA hamowanie aktywności PP2C przez receptor PYR1/PYL. W warunkach braku ABA, PP2C hydrolyzuje wiązania fosfoserynowe/fosfotreoninowe w SnRK2 hamując jej aktywność katalityczną. W obecności ABA, receptor PYR1/PYL wiąże i inaktywuje PP2C aktywując w ten sposób SnRK2 fosforylującą czynniki transkrypcyjne ABF/AREB. (B) Ogólny zarys sieci sygnałowej ABA pokazujący wzajemne oddziaływania pomiędzy niektórymi białkowymi elementami szlaków (na podstawie [1,3,5,6,9,10,11,17,18])

FIGURE 1. Schemes depicting the ABA signaling pathways. (A) ABA-dependent inhibition of PP2C activity by PYR1/PYL receptor. In the absence of ABA, PP2C dephosphorylates and inactivates SnRK2. In the presence of ABA, PYR1/PYL interacts with PP2C resulting in activation of SnRK2 that phosphorylates ABF/AREB transcription factors. (B) Overview of cross-talk between different protein components of the ABA signaling network (based on [1,3,5,6,9,10,11,17,18])

syntezą MgProto IX – hipotetycznej cząsteczki sygnałowej szlaku retrogratywnego – natomiast wiązanie ABA do podjednostki H oraz obserwowane zmiany fenotypowe towarzyszące mutacji *cch* wskazywały na receptorową rolę CHLH/GUN5 [18]. Jednakże opublikowane w ubiegłym roku wyniki doświadczeń prowadzonych na jęczmieniu nie potwierdzają proponowanej roli w odniesieniu do podjednostki

XanF Mg-chelatazy [7]. Homologiczne z CHLH/GUN5 *A. thaliana* białko XanF nie wiąże ABA, a mutanty pozbawione podjednostek Mg-chelatazy, w tym także XanF, nie wykazują obniżonej wrażliwości w odpowiedziach wzrostowych korzenia i pędu oraz ruchach aparatu szparkowego na egzogennie aplikowany ABA. W odpowiedzi na podnoszone wątpliwości, zespół pracujący na CHLH/GUN5 *A. thaliana* przedstawił wyniki, w których autorzy dowodzą, iż rekombinowane białko CHLH/GUN5, jak również podjednostka H Mg-chelatazy z ekstraktu tkankowego, wiążą się swoiście z nośnikiem chromatograficznym zawierającym kowalencyjnie związany ABA [19]. Ponadto, ekspresja w *E.coli* N- i C-końcowego fragmentu CHLH/GUN5 pokazała, iż ABA wiązany jest przez część C-końcową polipeptydu obejmującą 369 reszt aminokwasowych. Część N-końcowa CHLH/GUN5 miałaby pełnić funkcję regulatorową, gdyż zlokalizowane w tym regionie dwie mutacje substytucyjne *abar-2* i *abar-3* objawiają się podobnymi zmianami w hamowanym przez ABA kiełkowaniu nasion i wzroście siewek lecz brakiem zmian w ruchach aparatu szparkowego [19].

Dotychczasowe kontrowersje towarzyszące poszukiwaniom receptorów ABA odeszły na dalszy plan po tym, jak w majowym zeszycie *Science* z ubiegłego roku opublikowano wyniki badań dwóch niezależnych zespołów dowodzące, iż nowopoznane białka RCAR1 i PYR1 pełnią funkcję wewnątrzkomórkowych receptorów ABA [3,11]. Białko RCAR1 (ang. *Regulatory Component ABA Receptor 1*) zidentyfikowano techniką drożdżowego systemu dwuhybrydowego jako białko oddziałujące z fosfatazami białkowymi ABI2 i ABI1. RCAR1 wiąże ABA i w takiej formie oddziałuje z fosfatazami białkowymi hamując ich aktywność katalityczną [3]. W zespole kierowanym przez Cutlera (*Riverside, CA*) sklonowano gen *PYR1* (ang. *Pyrabactin Resistance 1*) wykorzystując w tym celu wyselekcjonowane wcześniej mutanty *A. thaliana* niewrażliwe na pyrabaktynę – syntetyczny związek wywołujący u roślin niektóre odpowiedzi przypominające efekty działania ABA [11]. Zidentyfikowany w ten sposób PYR1 okazał się być jednym z czternastu genów kodujących białka z domeną START mające charakterystyczną hydrofobową kieszeń wiążącą ligand. Zgodnie z zaproponowaną przez autorów nomenklaturą, wszystkie, oprócz PYR1, nowopoznane białka nazwano PYL (ang. *PYR1-Like*) dodając odpowiednią numerację od 1 do 13. Poznane w pracowni kierowanej przez Grilla (*Monachium*) białko RCAR1, zgodnie z przyjętym nazewnictwem, okazało się być białkiem PYL9. Wyniki badań prezentowane w obu pracach sugerują, że białka RCAR1/PYR1/PYL pełnią funkcję receptorów bądź koreceptorów ABA, jednakże bezspornych dowodów dostarczyły dopiero, opublikowane w ostatnich tygodniach ubiegłego roku, wyniki analiz krystalograficznych poparte doświadczeniami wykorzystującymi techniki biologii molekularnej. Wykonane w pięciu niezależnych pracowniach analizy krystalograficzne PYR1 [8,14], PYL1 [6] i PYL2 [5,20] pokazały, że badane białka łączy podobieństwo struktury trzeciorzędowej, utworzonej przez siedem wachlarzykowato ułożonych wstęg β , jednej wydłużonej helisy α na C-końcu i krótkich odcinków helikalnych w części N-końcowej i środkowej polipeptydu. Wejście do położonej pomiędzy wstęgami β kieszeni wiążącej fitohormon ograniczają dwie ruchome pętle zlokalizowane pomiędzy wstęgami $\beta 3$ i $\beta 4$ oraz $\beta 5$ i $\beta 6$. W białku niezwiązanym z ABA, obie pętle są „odgięte” na zewnątrz pozostawiając wejście do kieszeni otwarte. Wiązaniu ABA towarzyszą

zmiany konformacyjne polegające na „przygięciu” obu pętli do wewnątrz, zamknięciu wejścia i unieruchomieniu ABA wewnątrz kieszeni (ryc. 1A) [5,6,8,9,14,20]. Zmiany położenia obu pętli umożliwiają białkom PYR1/PYL-ABA swoiste wiązanie fosfataz białkowych grupy A podrodziny PP2C (ryc. 1A) [1,5,6]. W utworzonym w ten sposób heterodimerze, pętla $\beta 3/\beta 4$, z konserwatywną resztą seryny, sięga do centrum katalicznego fosfatazy białkowej, gdzie oddziałuje z resztą glutaminianu blokując aktywność hydrolityczną PP2C. Zlokalizowana na powierzchni fosfatazy reszta tryptofanu oddziałuje z zamkniętym wewnątrz kieszeni ABA, współuczestnicząc w ten sposób z receptorem PYR1/PYL w wiązaniu fitohormonu [6]. Obserwowany przez niektórych autorów znaczący wzrost powinowactwa PYR1/PYL względem ABA w obecności PP2C, traktowany jest jako dowód potwierdzający koreceptorową funkcję fosfataz PP2C [3,15]. Już wyniki uzyskane w pracowni Cutlera [11] pokazały, że wszystkie badane białka PYR1/PYL wiążą enancjomer (+)-ABA, lecz trzy (PYL2, PYL3, PYL4) wiążą także (-)-ABA. Jednakże wyniki innych doświadczeń sugerują, że wszystkie PYR1/PYL wiążą (-)-ABA, chociaż ich powinowactwo do tego enancjomeru jest zdecydowanie mniejsze [5,15].

Kluczowa pozycja fosfataz białkowych PP2C w szlakach sygnałowych ABA była już znana z wcześniejszych badań [18], chociaż ich funkcja represorowa nie była do końca jasna. Źródłem pewnych nieporozumień były błędne interpretacje zmian towarzyszących niektórym mutacjom w ABI1 i ABI2, które, jak się obecnie okazało, uniemożliwiają wiązanie zmutowanych PP2C do PYR1/PYL [17]. Wcześniejsze badania pokazały, że co najmniej niektóre spośród dziesięciu PP2C fizycznie oddziałują z tzw. domeną II serynowo/treoninowych kinaz białkowych podrodziny SnRK2, których aktywność katalityczna jest stymulowana w wyniku autofosforylacji kilku reszt serynowych i treoninowych położonych w tzw. pętli aktywacyjnej [18]. Poznane dotychczas trzy kinazy SnRK2 (SnRK2.2, SnRK2.3 i SnRK2.6) fosforylują czynniki transkrypcyjne AREB/ABF z rodziny bZIP, które w formie ufosforylowanej tworzą homo- bądź heterodimery wiązane przez sekwencję ABRE (ang. *ABA-Responsive Elements*) genów regulowanych przez ABA [1,5,17].

Poznanie mechanizmu hamowania PP2C przez PYR1/PYL-ABA zasadniczo zmieniło nasze dotychczasowe wyobrażenia dotyczące aktywacji szlaku transdukcji sygnału ABA, który, jak się okazało, jest zaskakująco prosty. Otóż, w warunkach braku ABA, związana z SnRK2 fosfataza białkowa PP2C konstytutywnie hydrolizuje wiązania fosfoserynowe i fosfotreoninowe w pętli aktywacyjnej, hamując w ten sposób aktywność SnRK2 i uniemożliwiając fosforylowanie AREB/ABF (ryc. 1A). Pojawienie się lub wzrost stężenia ABA w komórce sprzyja powstawaniu heterodimerów PYR1/PYL-ABA-PP2C i blokowaniu aktywności fosfatazowej, co w efekcie umożliwia autofosforylację SnRK2, fosforylowanie AREB/ABF i aktywację genów regulowanych przez ABA [1]. Eksperymentalna weryfikacja powyższego ciągu zdarzeń sprawiła, że uwaga badaczy obecnie koncentruje się na szukaniu odpowiedzi na pytania o funkcjonalną redundancję pomiędzy czternastoma białkami PYR1/PYL *A. thaliana*, dziesięcioma fosfatazami grupy A PP2C i dziesięcioma kinazami SnRK2 [1,9,15]. Niektóre uzyskane już wyniki zwracają uwagę na zależności pomiędzy odpowiednimi receptorami PYR1/PYL wchodzącymi w skład

tworzonych kompleksów a plastycznością i wrażliwością odpowiedzi na czynniki stresowe [16].

W kontekście prowadzonych obecnie badań warto przypomnieć, iż hamowanie aktywności fosfatazy ABI1 przez ABA było już znane wcześniej, chociaż jego mechanizm opiera się na zależnej od $G\alpha$ -GTP regulacji fosfolipazy PLD α [18]. Aktywacja PLD α przez ABA prowadzi do uwalniania z fosfatydyloinozytolu kwasu fosfatydowego unieruchamiającego ABI1 przy powierzchni błony i hamującego jej aktywność katalityczną (ryc. 1B). Tak więc, wiązanie ABA przez receptor typu GPCR oraz aktywacja PLD α wydaje się być alternatywnym sposobem znoszenia hamowania szlaku sygnałowego poniżej kinaz białkowych SnRK2. Niestety, nadal bez odpowiedzi pozostają pytania o regulację innych białek oddziałujących z PP2C, w tym kanałów potasowych AKT3 i K⁺-AKT2 oraz co najmniej niektórych z dwudziestu pięciu kinaz białkowych podrodziny SnRK3 *A. thaliana* oddziałujących z białkami wiążącymi jony wapnia podobnymi do kalcyneuryny B i dlatego nazywanych też kinazami CIPK (ang. *CBL-Interacting Protein Kinase*) [18].

LITERATURA

- [1] FUJII H, CHINNUSAMY V, RODRIGUES A, RUBIO S, ANTONI R, PARK S-Y, CUTLER SR, SHENN J, RODRIGUEZ PL, ZHU J-K. *In vitro* reconstitution of an abscisic acid signalling pathway. *Nature* 2009; **462**: 660–664.
- [2] JANG YH, LEE JH, KIM J-K. Abscisic acid does not disrupt either the *Arabidopsis* FCA-FY interaction or its rice counterpart *in vitro*. *Plant Cell Physiol* 2008; **49**: 1898–1901.
- [3] MA Y, SZOSTKIEWICZ I, KORTE A, MOES D, YANG Y, CHRISTMANN A, GRILL E. Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. *Science* 2009; **324**: 1064–1068.
- [4] MARRIS E. Plant hormone study pulled. *Nature* 2008; **456**: 683.
- [5] MELCHER K, NG L-M, ZHOU XE, SOON F-F, XU Y, SUINO-POWELL KM, PARK S-Y, WEINER JJ, FUJII H, CHINNUSAMY V, KOVACHA, LI J, WANG Y, LI J, PETERSON FC, JENSEN DR, YONG E-L, VOLKMAN BF, CUTLER SR, ZHU J-K, XU HE. A gate-latch-lock mechanism for hormone signalling by abscisic acid receptors. *Nature* 2009; **462**: 602–608.
- [6] MIYAZANO K-I, MIYAKAWA T, SAWANO Y, KUBOTA K, KANG H-J, ASANO A, MIYAUCHI Y, TAKAHASHI M, ZHI Y, FUJITA Y, YOSHIDA T, KODAIRA K-S, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, TANOKURA M. Structural basis of abscisic acid signalling. *Nature* 2009; **462**: 609–614.
- [7] MÜLLER AH, HANSSON M. The barley magnesium chelatase 150-kD subunit is not an abscisic acid receptor. *Plant Physiol* 2009; **150**: 157–166.
- [8] NISHIMURA N, HITOMI K, ARVAI AS, RAMBO RP, HITOMI C, CUTLER SR, SCHROEDER JI, GETZOFF ED. Structural mechanism of abscisic acid binding and signaling by dimeric PYR1. *Science* 2009; **326**: 1337–1379.
- [9] NISHIMURA N, SARKESHKA, NITO K, PARK S-Y, WANG A, CARVALHO PC, LEE S, CADDELL DE, CUTLER SR, CHORY J, YATES JR, SCHROEDER JI. PYR/PYL/RCAR family members are major *in-vivo* ABI1 protein phosphatase 2C-interacting proteins in *Arabidopsis*. *Plant J* 2010; **61**: 290–299.
- [10] PANDEY S, NELSON DC, ASSMANN SM. Two novel GPCR-type G proteins are abscisic acid receptors in *Arabidopsis*. *Cell* 2009; **136**: 136–148.
- [11] PARK S-Y, FUNG P, NISHIMURA N, JENSEN DR, FUJII H, ZHAO Y, LUMBA S, SANTIAGO J, RODRIGUES A, CHOW T-FF, ALFRED SE, BONETTA D, FINKELSTEIN R, PROVART NJ, DESVEAUX D, RODRIGUEZ PL, MCCOURT P, ZHU J-K, SCHROEDER JI, VOLKMAN BF, CUTLER SR. Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science* 2009; **324**: 1068–1071.
- [12] RISK JM, MACKNIGHT RC, DAY CL. FCA does not bind abscisic acid. *Nature* 2008; **456**: E5–E6.

- [13] RISK JM, DAY CL, MACKNIGHT RC. Reevaluation of abscisic acid-binding assays shows that G-Protein-Coupled Receptor2 does not bind abscisic acid. *Plant Physiol* 2009; **150**: 6–11.
- [14] SANTIAGO J, DUPEUX F, ROUND A, ANTONI R, PARK S-Y, JAMIN M, CUTLER SR, RODRIGUEZ PL, MÁRQUEZ JA. The abscisic acid receptor PYR1 in complex with abscisic acid. *Nature* 2009; **462**: 665–668.
- [15] SANTIAGO J, RODRIGUES A, SAEZA, RUBIO S, ANTONI R, DUPEUX F, PARK S-Y, MARQUEZ JA, CUTLER SR, RODRIGUEZ PL. Modulation of drought resistance by the abscisic acid receptor PYL5 through inhibition of clade A PP2Cs. *Plant J* 2009; **60**: 575–588.
- [16] SZOSTKIEWICZ I, RICHTER K, KEPKA M, DEMMEL S, MA Y, KORTE A, ASSAAD FF, CHRISTMANN A, GRILL E. Closely related receptor complexes differ in their ABA selectivity and sensitivity. *Plant J* 2010; **61**: 25–35.
- [17] UMEZAWA T, SUGIYAMA N, MIZOGUCHI M, HAYASHI S, MYOUGA F, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, ISHIHAMA Y, HIRAYAMA T, SHINOZAKI K. Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; **106**: 17588–17593.
- [18] WASĄG P, KOWALCZYK S. Wewnątrzkomórkowe i błonowe receptory kwasu abscysynowego. *Post Biol Kom* 2009; **36**: 3–22.
- [19] WU F-Q, XIN Q, CAO Z, LIU Z-Q, DU S-Y, MEI C, ZHAO C-X, WANG X-F, SHANG Y, JIANG T, ZHANG X-F, YAN L, ZHAO R, CUI Z-N, LIU R, SUN H-L, YANG X-L, SU Z, ZHANG D-P. The magnesium-chelatase H subunit binds abscisic acid and functions in abscisic acid signaling: new evidence in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2009; **150**: 1940–1954.
- [20] YIN P, FAN H, HAO Q, YUAN X, WU D, PANG Y, YAN C, LI W, WANG J, YAN N. Structural insights into the mechanism of abscisic acid signaling by PYL proteins. *Nature Struct Mol Biol* 2009; **16**: 1230–1236.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 17.03.2010 r.

Przyjęto: 14.07. 2010 r.

Piotr Wasąg,

Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej,

Uniwersytet M. Kopernika w Toruniu

E-mail: piwas@doktorant.umk.pl