

Auxin v cytoplazmě! Kořenové buňky, zatočte!

31.7.2023 - Pavla Hubálková, Jan Juračka, Matyáš Fendrych | Přírodovědecká fakulta UK

Auxin v cytoplazmě! Kořenové buňky, zatočte!

Tady auxin v cytoplazmě! Kořenové buňky, hlásím okamžitě zastavit," tak lze s nadsázkou shrnout jeden z nejnovějších výsledků vědeckého týmu **Matyáše Fendrycha** z Přírodovědecké fakulty UK. Podařilo se jim objevit nový mechanismus signalizace v takzvané rychlé auxinové dráze. V další publikaci, která také vyšla před pár dny, zase popisují, k čemu všemu je to vlastně dobré.

Molekulárního biologa Matyáše Fendrycha vždy baví hledat podstatu – k čemu je to dobré.

Ačkoliv se rostliny na první pohled zdají nepohyblivé, pod zemí se odehrává kořenový sprint. „Kořenové buňky reagují na rostlinný hormon auxin v řádu sekund a již zanedlouho málo minut vidíme, jak kořenová špička zatočí," říká Matyáš Fendrych, vedoucí výzkumné skupiny na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy. Že se kořeny rostlin v půdě aktivně pohybují, je samo o sobě dobře známá věc – zajišťují ukotvení rostliny, hledají vodu a živiny. „Narozdíl od pohybu živočichů je ‚pohyb‘ rostlin umožněn růstem, tedy dělením a prodlužováním buněk. Když chce kořen zatočit, zpomalí prodlužování buněk na jedné straně, čímž dojde k ohybu kořene. Orientačním signálem, kde je nahoře a kde dole, je pro ně gravitační pole Země," popisuje biolog.

Detekce směru gravitace probíhá na úplné špičce kořene, k samotnému ohybu ale dochází o mnoho buněk dále. Kořenové buňky mezi sebou aktivně komunikují pomocí rostlinného hormonu auxinu. „Je to vlastně jednoduchá signalizace, když buňky kořene dostanou více auxinu, zpomalí své prodlužování a naopak. Kořeny rostlin detekují změnu orientace v gravitačním poli takřka okamžitě, a během několika málo minut je patrný ohyb kořene po směru gravitace. V předchozích výzkumech jsme již ukázali, že také růstová reakce kořenů na auxin je takřka okamžitá. Zůstávalo však nezodpovězeno, jak buňky kořene auxin vnímají a jak k rychlé odpovědi dochází," popisuje Fendrych výzkumné otázky, na jejichž řešení získal v roce 2018 prestižní grant Evropské výzkumné rady (ERC Starting grant: CELLONGATE) i interní podporu UK Primus (2019).

„V prvním článku Dubey, Han *et al.* popisujeme, jak to funguje, co se v kořenech děje na molekulární úrovni. V druhém Serre, Wernerová *et al.* se zabýváme tím, k čemu je to celé dobré," říká Matyáš Fendrych. K výzkumům používají unikátní vertikální mikroskop v kombinaci se spinning disk technologií, což jim umožňuje pozorovat růst rostliny v její přirozené, tedy svislé poloze, a zároveň „v přímém přenosu", protože spinning disk umožňuje velmi rychlé snímání.

Ilustrační snímek kořenové špičky rostliny huseníčku.

Hlásím zatočit

V první zmíněné publikaci, která v červenci vyšla v prestižním odborném časopise *Molecular Plant*, se soustředili na protein zvaný AFB1 (Auxin Signaling F-Box Protein 1), což je jeden z receptorů pro auxin v rostlině *Arabidopsis thaliana* – genetiky oblíbeném huseníčku. „Signální dráha těchto receptorů je známá: receptory jsou v jádře buňky a po navázání hormonu auxinu spouští signální dráhu, která změní expresi genů v buňce. AFB1 je však zvláštní tím, že se kromě buněčného jádra nachází i v cytoplazmě. A nás zajímalo proč," uvádí Matyáš Fendrych.

Proto pomocí zmíněné speciální mikroskopie měřili hladinu vápníku v cytoplazmě po přidání auxinu. „Rostlinné i živočišné buňky využívají ionty vápníku k rychlé signalizaci. Kořeny normálních rostlin reagují i na nízké koncentrace auxinu okamžitým zvýšením koncentrace vápníku v cytoplazmě. Tato vápníková „vlna“ spouští celou další signální kaskádu, která vede ke zpomalení prodlužování buněk a poté ohybu kořene podle gravitace,“ popisuje první autor studie **Shiv Mani Dubey**, který pochází z Indie a v týmu Matyáše Fendrycha dokončuje Ph. D. Dále plánuje pokračovat na postdoktorandskou stáž do zahraničí, k čemuž mu tato publikace může výrazně napomoci a „otevřít dveře“ do špičkových laboratoří.

O pořadí autorů rozhodl hod dolarem. Více štěstí měl a prvním autorem se stal Shiv Mani Dubey z týmu Matyáše Fendrycha.

„Kořeny rostlin, které jsme geneticky upravili, aby neměly receptor AFB1, byly v prvních minutách k auxinu „slepé“ – pokud koncentrace vápníku v cytoplazmě zůstane nezměněná, kořen nereaguje. To dokazuje, že AFB1 receptor je potřebný pro spuštění vápníkového signálu. Zároveň normální rostliny jsou schopny velmi rychle odpovídat na změnu gravitace (otočení o 90 stupňů) změnou směru růstu. Kořeny bez AFB1 receptoru odpovídají výrazně později, protože neproběhne vápníková vlna, která by spustila rychlou růstovou odezvu. I tyto mutované kořeny nakonec zahnou, ale s viditelným zpožděním,“ uvádí doktorand, který se na výzkumech rovným dílem podílel s americkou kolegyní. O pořadí autorů rozhodla náhoda. „Hodili jsme si dolarem při online hovoru mezi Koreou, USA a Prahou,“ sdílí Matyáš Fendrych, který tak jak druhý vedoucí skončil na předposlední pozici.

A dodává, jak celá spolupráce mezi profesorem Markem Estelle z University of California San Diego, jedním z nejznámějších odborníků na auxinovou dráhu, který objevil mechanismus rozpoznání auxinu a stal se tak ikonou vývojové genetiky rostlin, a jeho korejskou kolegyní postdokou Soeun Han vznikla. „Zjistili jsme, že pracujeme na podobném tématu. Místo soutěžení jsme spojili síly, což se ukázalo jako šťastný a velmi plodný nápad.“

Jen s tímto výsledkem se ale mezinárodní tým nespokojil a dále pátral po roli AFB1 receptoru v buněčném jádře a cytoplazmě. „Zajímalo nás, zda se jejich role v utrýchlé auxinové odpovědi nějak liší. Pomocí molekulárních triků jsme poslali všechny AFB1 protein buď do jádra buňky, nebo všechny do cytoplazmy. Poté jsme měřili jeho schopnost spouštět rychlou reakci na auxin. K našemu překvapení jen AFB1 nacházející se v cytoplazmě byl schopen opravit rychlou auxinovou odpověď v rostlinách bez AFB1. Vnímání auxinu pro rychlé odpovědi tak probíhá v cytoplazmě kořenových buněk,“ popisuje překvapivý výsledek Fendrych. Ultrarychlá odpověď na auxin zprostředkovaná AFB1 receptorem a vápníkovou vlnou je zásadní pro to, aby kořen mohl rychle měnit směr a proplétat se částčkami půdy v honbě za vodou a živinami. „Kromě toho jsme zjistili, že signální dráha řízená AFB1 proteinem negativně ovlivňuje větvení kořenového systému. Přitom větvení kořenů zajišťuje kolonizaci půdy a je nezbytné pro přežití rostliny. Význam toho, proč a jak přesně se AFB1 se účastní větvení kořenů je zatím neznámý,“ nastiňuje Fendrych další směr výzkumů.

Zvýšila se kyselost, rosteme

V druhé publikaci, která týmu z Přírodovědy před několika dny vyšla v odborném časopise eLife, našli způsob, jak lze v reálném čase pozorovat koncentraci protonů neboli kyselost na povrchu kořenů. „Když kořeny rostou, jejich směr určuje zmíněné gravitační pole. Samotný růst probíhá prodlužováním buněk, které je řízeno lokálním poklesem pH – okyselením. Naopak auxin růst kořenových buněk brzdí zvyšováním pH, přesný mechanismus této auxinové regulace ale zůstával neznámý,“ uvádí Fendrych. Pohyb kořenů je určován zvětšováním a prodlužováním buněk. Rostlinné buňky si lze představit jako balóanky, které v daném tvaru drží velmi pevná buněčná stěna. Ta zároveň musí být velmi flexibilní a rychle zareagovat, pokud dostane signál „zvyšuje se kyselost – rosteme“.

„Díky nové metodě zobrazování a kvantifikace pH na povrchu kořene jsme objevili, že kořen huseníčku vykazuje odlišné kyselé a zásadité zóny, které jsou překvapivě řízené právě rychlou auxinovou odpovědí a nejen dříve předpokládanou membránovou protonovou ATPásou,“ říká vedoucí týmu, který popsal, že na povrchu kořenu je zásaditá zóna, kterou udržuje hladina auxinu. „Pokud tento auxinový signál klesne, dojde k rychlému okyselení, což je pro buňky jasný signál k růstu. Celé je to velmi dynamické – když kořen potřebuje zatočit, tak se na jedné straně okyselí, na druhé zůstane zásaditý,“ vysvětluje Matyáš Fendrych a zdůrazňuje, že to dále potvrzuje význam rychlé auxinové dráhy pro interakci rostliny s bezprostředním okolím. “

Ilustrační snímek gradientu pH v okolí kořenové špičky.

Co dál? „Stále zůstává mnoho neznámého. Z auxinu je v posledních desetiletích hvězda výzkumů, ale to je trochu zkreslení – kdokoli zkoumá nějaký nový mechanismus, tak se zaměřuje i na roli auxinu, protože o tom již mnohé víme, lze porovnávat a většinou tam nějaká souvislost existuje, protože auxin má opravdu důležité role v růstu a diferenciaci rostlin. Ale jsem v tom vždy opatrný a ptám se, zda role auxinu není jen vedlejší a to hlavní nám neuniká,“ říká Matyáš Fendrych, kterého baví hledat podstatu – k čemu je to dobré. „Tím, že jsme objevili zcela nečekanou roli AFB1 receptoru v cytoplasmě, chceme tuto signální dráhu detailně popsat, protože musí fungovat úplně jinak, musí tam být nějaká dosud neznámá kaskáda odpovědí. Zajímá nás i vliv této signalizace na větvení kořenů... Toho neznámého a fascinujícího je mnoho,“ uzavírá molekulární biolog.

<https://www.natur.cuni.cz/fakulta/aktuality/auxin-v-cytoplazme-korenove-bunky-zatocte>