



Visitors

	568		3
	111		3
	15		1
	4		1
	3		1

Pageviews: 1,251

FLAG counter

Information

- [For Readers](#)
- [For Authors](#)
- [For Librarians](#)

[Home](#) / Editorial Team

Ketua Dewan Editor Yuliadi Zamroni (Scopus ID: 57190219887)
Editor Pelaksana Bambang Fajar Suryadi (Scopus ID: 54941036000)

Dewan Editor Islamul Hadi (Scopus ID: 9250821900)

Editor Teknik Achmad Karyadi Moechson



Information

- [For Readers](#)
- [For Authors](#)
- [For Librarians](#)

Analisis semikuantitatif ekspresi *auxin induced genes family* pada mutan heterosigot *Auxin Binding Protein1 (abp1/ABP1) Arabidopsis thaliana*

Yunus Effendi

Prodi Biologi/Bioteknologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Al Azhar Indonesia,
Komplek Masjid Agung Al Azhar, Jl. Sisingamangaraja Jakarta Selatan, Indonesia.
Email: effendiy@yahoo.de

Auksin merupakan fitohormon sentral yang banyak berperan dalam pengaturan fungsi dan regulasi proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Walau demikian informasi tentang mekanisme molekular sinyal auksin khususnya bagaimana sel tanaman merespon auksin pada *specific membrane bounded auxin receptor* masih sangat terbatas jumlahnya. *Auxin Binding Protein1 (ABP1)* merupakan satu-satunya kandidat *membrane bounded auxin receptor* pada tanaman yang fungsi dan mekanisme kerjanya masih belum banyak diketahui. Dalam penelitian ini, fungsi gen *ABP1* dianalisis dengan mengukur ekspresi *auxin induced genes family*, yakni IAA gene family (*IAA3*, *IAA5*, *IAA14*, *IAA19*, dan *IAA20*), GH3 genes family (*GH3-3*, dan *GH3-5*) dan gen *SAURI* pada mutan heterosigot *ABP1 (abp1/ABP1)* menggunakan metode semikuantitatif PCR. Data ekspresi gen dicatat setelah mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* dan *wild type Arabidopsis thaliana* diperlakukan dengan menambahkan asam indol asetat (IAA) ($0.03\mu\text{M}$ dan $0.1\mu\text{M}$). Gen *ACTIN* digunakan sebagai gen referensi. Hasil menunjukkan adanya reduksi dan *delay* ekspresi sebagian besar *auxin induced genes* yang dianalisis pada mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* dibandingkan dengan *wild type* 30 menit pasca penambahan IAA. Dari eksperimen ini dapat disimpulkan bahwa mutasi gen *ABP1* berimplikasi pada reduksi dan *delay* ekspresi *auxin induced genes*. Peneliti ini juga mengindikasikan potensi *ABP1* sebagai reseptor auksin pada tanaman.

Kata kunci : ABP1, Auksin, ekspresi semikuantitatif, *auxin-induced gene families*

PENDAHULUAN

Auksin merupakan hormon utama pada tanaman yang berperan dalam mengatur berbagai macam aspek perkembangan pada tanaman. Auksin mengkoordinasi berbagai proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman misalnya pada proses embriogenesis, morfogenesis, organogenesis, reproduksi, pemanjangan dan pembelahan sel, dan diferensiasi. Selain itu auksin turut menentukan kemampuan tanaman dalam merespon faktor lingkungan seperti respon terhadap gaya gravitasi dan cahaya dengan mengembangkan respon tropisme tertentu (Davies, 1995; Leyser, 2006; Benjamins and Scheres, 2008; Mockaitis and Estelle, 2008; Champman and Estelle, 2009). Namun demikian, sejauh ini tersediannya informasi yang cukup lengkap tentang fungsi dan efek auksin dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman, tidak diimbangi dengan tersediannya informasi yang memadai tentang mekanisme sinyal transduksi auksin, khususnya mekanisme molekular sinyal transduksi auksin (Scherer, 2002; Dharmasiri and

Estelle, 2004; Tromas et al., 2009; Effendi et al., 2011).

Secara umum mekanisme sinyal transduksi hormon diawali dengan pengikatan ligan spesifik pada reseptornya yang kemudian dilanjutkan dengan transduksi sinyal molekular melalui *second messenger* yang akan mengaktifkan protein-protein transduser berikutnya sampai pada pengaktifan atau penonaktifan ekspresi faktor transkripsi atau gen target. Reseptor secara umum berdasarkan lokasinya pada sel dapat dikelompokkan sebagai *membrane-bounded receptor* atau *cytosolic receptor* (Scherer, 2011).

Auxin Binding Protein 1 (ABP1) merupakan *Auxin-binding protein* yang pertama kali dikarakterisasi dan dianggap sebagai kandidat reseptor auksin pada tanaman adalah *ABP1* (Venis and Napier, 1995; Napier, 1991) oleh karena memiliki spesifisitas dan afinitas yang tinggi dalam mengikat auksin (Löbler and Klämbt, 1985). Walau demikian sebagian besar fungsi sebagai reseptor auksin masih tetap belum dapat dijelaskan (Dharmasiri and Estelle, 2004) khususnya mekanisme molekular yang terjadi pasca

pengikatan auksin oleh ABP1 pada plasma membran dan komponen seluler lainnya yang ikut terlibat dalam transduksi sinyal auksin belum teridentifikasi, sehingga posisi ABP1 sebagai kandidat reseptor pada tanaman masih diperdebatkan.

Reseptor auksin lainnya yang sudah diterima dalam dunia sains sebagai reseptor auksin adalah Transport Inhibitor Protein 1 (TIR1). TIR1 merupakan satu-satunya reseptor auksin yang telah diidentifikasi mekanisme molekuler sinyal transduksinya dan dianggap sebagai reseptor utama auksin yang berfungsi memediasi ekspresi *auxin-induced genes* pada tanaman (Dharmasiri et al., 2005). TIR1 bekerja melalui mekanisme regulasi ubiquitinasi dan proteolisis faktor-faktor transkripsi protein IAA (Indole Acetic Acid) yang pada akhirnya akan menginduksi ekspresi *auxin-induced genes* (Dharmasiri et al., 2005; Kepinsky dan Leyser, 2005). Walau demikian, terdapat proses-proses seluler yang diinduksi oleh auksin yang berlangsung dalam hitungan detik atau dibawah 30 menit pasca aplikasi auksin seperti depolarisasi membran sel dan ion fluxes, yang tidak dapat dijelaskan prosesnya sebagai fungsi proteolisis faktor-faktor transkripsi IAA dan sintesis protein baru oleh TIR1 (Badescu dan Napier, 2006). Fungsi-fungsi yang berlangsung secara cepat dan pasca auksin induksi tersebut diduga dimediasi oleh reseptor auksin lainnya, yang kemungkinan terletak di plasma membran sel. *Auxin Binding Protein 1* (ABP1) sejauh ini merupakan satu-satunya kandidat plasma membran reseptor auksin pada tanaman. Beberapa publikasi terbaru menunjukkan ABP1 merupakan pemain kunci dalam sinyal transduksi auksin khususnya persepsi auksin pada plasma membran sel (Robert et al., 2010; Tromas et al., 2010; Xu et al., 2010; Sauer and Kleine-Vehn, 2011; Schere, 2011).

Namun berkaitan dengan mekanisme kerja dan fungsi ABP1 masih banyak pertanyaan yang belum terjawab sampai saat ini. Karakter protein ABP1 yang sebagian besar terletak di dalam lumen retikulum endoplasma yang memiliki pH sangat rendah dan tidak memungkinkan pengikatan auksin oleh protein ABP1 menjadi satu pertanyaan penting tentang fungsi ABP1 dalam mengikat auksin (Tian et al., 1995). Selain itu sampai saat ini hanya terdapat sedikit publikasi yang menunjukkan bahwa ABP1 menginduksi regulasi ekspresi gen. Hal ini utamanya disebabkan belum tersedianya *ABP1* mutan yang dapat digunakan untuk menguji fungsi dari protein ABP1 sebagai reseptor auksin.

Sampai saat ini hanya terdapat sebuah T-DNA *abp1* mutan *Arabidopsis* yang sudah dilaporkan (Chen et al, 2001). Chen et al. (2001) melaporkan bahwa homisigot *abp1* T-DNA mutan pada

Arabidopsis thaliana bersifat letal pada tahap embrionik. Data ini secara tidak langsung menunjukkan bahwa *ABP1* adalah gen esensial pada tanaman dan kandidat potensial reseptor auksin. Namun di saat yang dengan adanya karakter letal pada mutan homisigot *abp1* T-DNA, studi fungsi ABP1 sebagai auksin reseptor juga terhambat (Effendi et al, 2011). Untuk itu, penelitian ini dirancang untuk mempelajari fungsi ABP1 sebagai reseptor auksin dengan memanfaatkan mutan *abp1* (Chen et al, 2001) khususnya fungsi ABP1 dalam merespon induksi auksin dan meregulasi ekspresi *auxin-induced genes*.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Arabidopsis thaliana wild type dan mutan T-DNA heterisigot *abp1* ekotipe Wassilewskija (Was) digunakan sebagai obyek penelitian. Mutan T-DNA heterisigot *abp1* diperoleh dari Nottingham Arabidopsis Stock Center (NASC) England. Biji Arabidopsis ditumbuhkan pada tanah kompos mengandung campuran pasir silika. Setelah stratifikasi pada kondisi gelap selama 3-4 hari pada suhu 4°C, tanaman ditumbuhkan pada green house pada kondisi long day (16 jam sinar/8 jam gelap) sampai tanaman siap untuk dipanen. Seleksi tanaman mutan T-DNA heterisigot *abp1/ABP1* dilakukan dengan menumbuhkan biji Arabidopsis secara aseptik pada media agar 0.5X Murashige and Skoog yang ditambah dengan 1% (w/v) sukrosa dan mengandung antibiotik kanamisin 100µg/ml. Setelah stratifikasi selama 3-4 hari pada suhu 4°C, tanaman diinkubasi pada kondisi 18 jam sinar putih pada suhu 22°C dan dipindahkan pada media tanah pasca daun keempat muncul dan kemudian dipindahkan pada kondisi *long day*.

Karakterisasi Fenotip mutan T-DNA heterisigot *abp1/ABP1*

Beberapa karakter fenotip pertumbuhan seperti panjang hipokotil, panjang akar utama, dan banyaknya akar lateral setelah ditambahkan dengan beberapa konsentrasi auksin (0µM, 0.02µM, dan 0.03µM 1-NAA) pada tanaman berumur 11 hari diukur dan dibandingkan antara mutan heterisigot *abp1/ABP1* dengan wild type (WT). Eksperimen dilakukan secara in-vitro pada media 0.5X MS agar, sebanyak 4 kali ulangan dan tiap ulangan terdiri dari lebih 10 tanaman per perlakuan. Mutan T-DNA heterisigot *abp1/ABP1* diverifikasi dengan menggunakan teknik PCR. Tanaman discan dan diukur menggunakan program AxioVision LE Ver. 4.6 (Zeis – Germany).

Perlakuan auksin, Isolasi RNA, dan sintesis cDNA

Tiga konsentrasi asam indol asetat (IAA) ($0\mu\text{M}$, $0.03\mu\text{M}$ dan $0.1\mu\text{M}$) diaplikasikan pada Arabidopsis WT dan mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* berumur 7 hari yang ditumbuhkan secara in-vitro pada media 0.5X MS agar. DMSO (Dimethylsulfoxid) ditambahkan pada sampel kontrol. Perlakuan auksin diberikan selama 0 min, 30 min dan 60 min dan diulang sebanyak 3 kali ulangan secara terpisah. Sampel tanaman yang sudah diperlakukan dengan auksin kemudian diekstraksi guna mengisolasi RNA total dari masing masing sampel. RNA diisolasi menggunakan kit Nucleospin RNA Plant kit (Macherey-Nagel) dan dilakukan sesuai dengan prosedur manual Nucleospin RNA Plant kit (Macherey-Nagel).

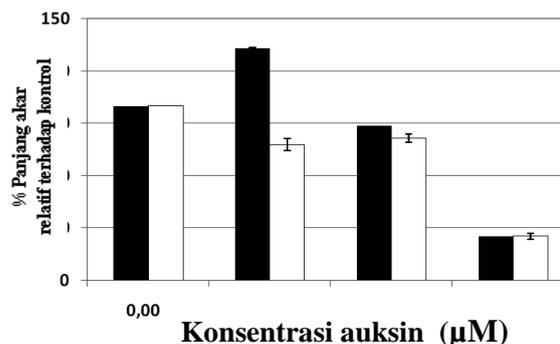
Sebanyak 4-5 gr RNA total digunakan sebagai template untuk mensintesis cDNA. Sintesis cDNA dilakukan menggunakan RevertAidtm H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas). $1\mu\text{l}$ oligo(dT) 18 primer ($0.5\mu\text{g}/\mu\text{l}$) digunakan dalam sintesis cDNA.

Semi kuantitatif Real Time PCR.

Sebanyak $\pm 320\text{ng}$ cDNA digunakan sebagai template semi kuantitatif RT-PCR. Kondisi amplifikasi adalah 94°C selama 4 min, 30 siklus (94°C selama 30 dtk; 53°C - 63°C selama 20 dtk; 72°C selama 25 dtk). 10 pmol forward dan reverse primer (*IAA3*, *IAA5*, *IAA14*, *IAA19*, *IAA20*, *GH3-3*, *GH3-5* dan *SAUR1*), dicampurkan pada reaksi PCR. Gen *ACTIN* digunakan sebagai *endogenous reference gene* untuk reaksi amplifikasi. $10\mu\text{l}$ produk amplifikasi dielektroforesis pada gel agarose 2% dan didokumentasikan serta dianalisis menggunakan program ImageJ (www.imagej.nih.gov/ij/)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data fenotipik menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara WT dan mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* dalam hal respon terhadap penambahan auksin baik pada konsentrasi $0.02\mu\text{M}$, $0.03\mu\text{M}$, dan $1\mu\text{M}$. Respon yang berupa panjang akar dan jumlah akar lateral menunjukkan bahwa mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* lebih insensitif terhadap perlakuan auksin khususnya pada konsentrasi $0.02\mu\text{M}$ dan $0.03\mu\text{M}$ dalam hal panjang akar (Gambar 1). Sedangkan pada penambahan auksin konsentrasi yang sama, panjang hipokotil pada mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* lebih panjang dari pada WT meskipun tidak signifikan (Gambar 2).

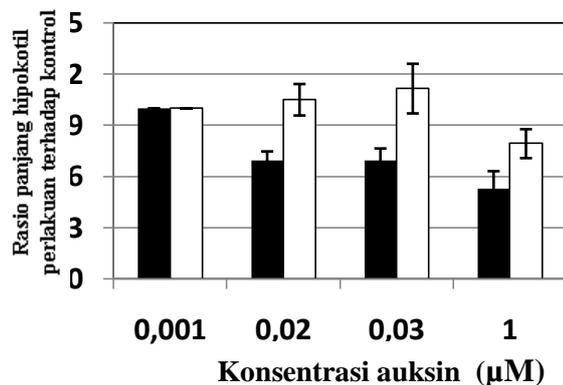


Gambar 1. Sensitifitas akar terhadap induksi auksin (0, 0.02, 0.03 dan $1\mu\text{M}$) pada mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* dan pada WT. Balok hitam = WT, diagram balok putih = mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1*. Panjang akar dihitung relatif terhadap kontrol ($0\mu\text{M}$). Sampel tiap perlakuan sebanyak 10 tanaman dan diulang sebanyak 3 kali secara terpisah.

Sebagai fitohormon yang berperan sentral dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan, sebgain besar efek fisiologi auksin telah diidentifikasi. Diantaranya perkembangan buah, organogenesis, diferensiasi jaringan vaskular, pementukan akar, elongasi dan tropisme, dominansi apikal dan ekspansi *guard cell* (Bauly et al., 2000; Berleth and Sachs, 2001; Leyser, 2002; Delker et al., 2008). Sehingga ketidakakuratan pada sinyal transduksi misalnya pada tahap persepsi auksin, tentunya akan mengakibatkan kegagalan fungsi dari fitohomron tersebut. Hal ini yang nampaknya terlihat pada kasus mutan heterosigot *abp1/ABP1* pada penelitian ini, dimana heterosigot *abp1/ABP1* merespon lebih lemah terhadap induksi auksin yang dibandingkan dengan WT ABP1.

Data gel eletroforesis menunjukkan bahwa sebagian besar gen-gen yang diteliti ekspresinya dalam penelitian ini menunjukkan ekspresi yang tinggi setelah diaplikasi dengan $0.1\mu\text{M}$ IAA, terkecuali ekspresi gen *IAA19* dan *GH3-5*. Untuk penambahan auksin pada konsentrasi $0.03\mu\text{M}$ terlihat perbedaan ekspresi pada mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* dan WT kurang dapat dilihat (Gambar 3). Semi kuantitatif PCR secara umum menunjukkan bahwa auksin menginduksi secara kuat beberapa gen dalam penelitian ini seperti *IAA1*, *IAA5*, *IAA14*, *GH3-3*, *SAUR1* dan terlihat mempunyai efek lemah pada ekspresi gen *IAA20*. Walau demikian, dapat diamati pada data penelitian ini bahwa tidak semua gen yang dianalisis, misalnya *IAA3*, *IAA19*, dan *GH3-5* menunjukkan perbedaan yang jelas dalam level ekspresinya ketika diinduksi dengan auksin selama 30 menit dan 60 menit. Oono et al (2002) melaporkan bahwa level ekspresi dari beberapa gen famili *Aux/IAA* pada WT Arabidopsis akan selalu

bervariasi. Lebih lanjut diterangkan bahwa gen *IAA1* dan *IAA5* terespres secara kuat, sedangkan *IAA3* dan *IAA4* relatif terespres lemah.



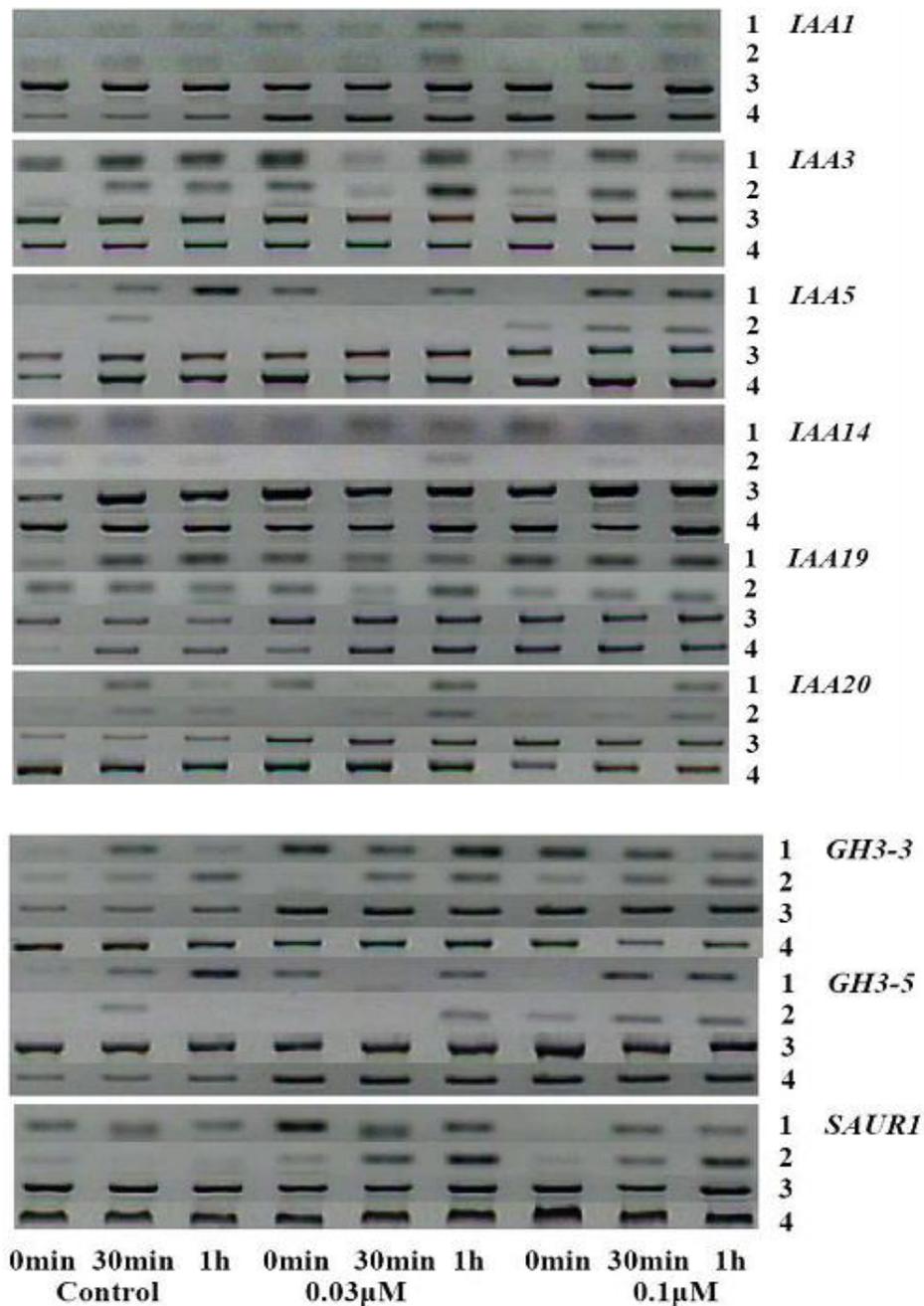
Gambar 2. Sensitifitas akar terhadap induksi auksin (0, 0.02, 0.03 dan 1 μM) pada mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* dan pada WT. Balok hitam = WT, diagram balok putih = mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1*. Panjang hipokotil dihitung relatif terhadap kontrol (0 μM). Sampel tiap perlakuan sebanyak 10 tanaman dan diulang sebanyak 3 kali secara terpisah.

Secara umum, dari data dapat diamati bahwa ekspresi *auxin-induced genes* pada mutan T-DNA heterosigot *abp1/ABP1* menunjukkan level ekspresi yang rendah dari pada WT. Data skala waktu yang digunakan pada penelitian ini yakni 0, 30, dan 60 menit menunjukkan bahwa penambahan waktu akan meningkatkan level ekspresi dari hampir semua *auxin-induced genes* yang diteliti. Yang menarik adalah, setelah 30 menit aplikasi IAA, khususnya pada konsentrasi 0.1 μM , ekspresi sebagian gen sudah terlihat muncul khususnya pada sampel WT. Hal ini menunjukkan bahwa regulasi ekspresi gen juga menjadi domain fungsi dari ABP1. Pada sebagian besar publikasi tentang ABP1, dijelaskan bahwa fungsi dari gen *ABP1* adalah lebih pada regulasi proses-proses seluler yang berlangsung pada plasma membran sel (MacDonald, 1997; Hager, 2003; Badescu and Napier, 2006). Penelitian awal yang mengidentifikasi fungsi regulasi ekspresi gen melalui fungsi reseptor ABP1 telah dilakukan sebelumnya oleh Braun et al. (2008). Braun et al. (2008) menguji transkripsi dari *early auxin-regulated genes* setelah 8 jam menambahkan antibodi anti-ABP1. Tiga belas dari 14 gen *IAA* yang diteliti menunjukkan *downregulation* atau *up-regulation* secara transien setelah lebih dari 48 jam pasca perlakuan bila dibandingkan dengan sampel tanpa perlakuan. Penemuan ini konsisten dengan data yang diperoleh dalam penelitian ini.

Dapat ditambahkan pula dari penelitian ini bahwa regulasi ekspresi *auxin-induced genes* dapat terjadi 30 menit setelah aplikasi auksin, hal yang belum dapat dijelaskan apabila regulasi dilakukan via fungsi reseptor TIR1. Mekanisme regulatori via TIR1 memerlukan paling tidak tiga kelompok protein yakni transkripsi faktor ARFs, protein repressor Aux/IAA, dan protein komponen *ubiquitination-proteasome pathway*, yang bertindak dalam degradasi protein (Woodward and Bartel, 2005). Dalam merespon peningkatan level auksin seluler, protein-protein Aux/IAA akan dimodifikasi oleh protein komponen ubiquitin dan akan didegradasi melalui jalur proteasome, yang mengakibatkan terlepasnya protein ARFs dari elemen regulator pada promoter *auxin-induced genes* sehingga transkripsi gen dapat dimulai. (Hobbie, 2005; Woodward and Bartel, 2005). Calderon-Villalobos et al (2006) melaporkan bahwa terdapat jeda waktu antara 30-45 menit setelah penambahan auksin sampai terdeteksi munculnya protein baru, sehingga dapat diduga bahwa regulasi ekspresi gen melalui reseptor TIR1 membutuhkan waktu lebih dari 30 menit. Secara umum dapat disimpulkan bahwa regulasi ekspresi gen via reseptor TIR1 adalah regulasi yang *time-dependent* dan membutuhkan waktu lebih dari 30 menit pasca induksi auksin.

Ekspresi *auxin-induced genes* selalu dihubungkan dengan fungsi regulasi dari TIR1 (Parry and Estelle, 2006). Namun dari hasil penelitian ini dapat dibuktikan bahwa regulasi ekspresi gen, khususnya *auxin-induced genes* dapat diregulasi melalui fungsi ABP1 bersama-sama dengan reseptor TIR1.

Walau demikian tercatat pula adanya fluktuasi ekspresi dari *endogenous reference gene ACTIN* pada sampel yang berbeda. Hal ini dimungkinkan dapat disebabkan oleh ekspresi gen *ACTIN* yang tidak sesuai untuk penelitian induksi auksin, atau dapat juga disebabkan oleh adanya kekurangakuratan teknik semi kuantitatif PCR untuk menganalisis ekspresi gen. Sehingga ketika data gel semi kuantitatif dikuantifikasi menggunakan program ImageJ (data tidak ditunjukkan), tidak didapatkan hasil yang maksimal yang menunjukkan kuantitas level ekspresi gen-gen yang diteliti. Oleh karena itu analisis menggunakan teknik yang lebih baik, seperti kuantitatif Real Time PCR (qRT-PCR) sangat dianjurkan untuk digunakan dalam eksperimen kuantifikasi ekspresi gen baik kuantifikasi absolut ataupun relatif kuantifikasi.



Gambar 3. Data semi-kuantitatif profil gel electrophoresis. Tiga skala waktu (0, 30 min, 60 min) untuk dua konsentrasi auksin ($0.03\mu\text{M}$ and $0.1\mu\text{M}$) digunakan. *ACTIN* digunakan sebagai *endogenous reference gene*. (1) WT, (2) Mutan, (3) *ACTIN*-WT, and (D) *ACTIN*-Mutan.

Dari penelitian ini dapat dibuktikan bahwa protein ABP1 adalah reseptor auksin yang tidak hanya terlibat dalam determinasi perkembangan *auxin-regulated morphological characters*, seperti pemanjangan akar dan hipokotil tetapi juga dalam regulasi ekspresi gen. Fungsi regulasi ekspresi gen via ABP1 merupakan informasi baru, karena sejauh ini informasi tentang regulasi ekspresi gen yang melibatkan aplikasi auksin selalu dilaporkan berada di bawah kontrol reseptor auksin seluler TIR1. Adanya *delay* dan reduksi dalam level ekspresi *auxin-induced genes* pada heterosigot

abp1/ABP1 menunjukkan bahwa adanya kerusakan pada protein ABP1 akan berdampak pada kemampuan tanaman untuk merespon induksi auksin.

SIMPULAN

Data fenotip dan semi-kuantitatif real time PCR ekspresi *auxin-induced genes* pada penelitian ini menunjukkan bahwa ABP1 merupakan kandidat reseptor auksin yang mempunyai fungsi dalam regulasi ekspresi gen. *Delay* dan rendahnya ekspresi

level dari *auxin-induced genes* pada mutan heterosigot T-DNA *abp1/ABP1* dibandingkan dengan WT menunjukkan bahwa kerusakan pada gen ABP1 akan berimplikasi pada regulasi proses fisiologi auksin pada tanaman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dana berupa *Domestic Seminar Grant* dari Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LP2M) Universitas Al Azhar Indonesia – Jakarta, untuk pelaksanaan Seminar Nasional Biologi Wallacea 2014 di Universitas Mataram – Lombok.

DAFTAR PUSTAKA

- Badescu, G.O., dan Napier, R.M. 2006. Receptors for auxin: will it all end in TIRs?. *Trends Plant Sci.* 11: 217-223.
- Bauly, JM, Sealy, IM, Macdonald, H, Brearley, J, Droge, S, Hillmer, S, Robinson, DG, Venis, MA, Blatt, MR, Lazarus, CM & Napier, RM. 2000. Overexpression of auxin binding protein enhances the sensitivity of guard cells to auxin. *Plant Physiol.* 124:1229 - 1238.
- Benjamins R and Scheres B. 2008. Auxin: The looping star in plant development. *Annu Rev Plant Biol* 59: 443–465.
- Berleth, T and Sachs, T. 2001. Plant morphogenesis: Long-distance coordination and local patterning. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 57–62.
- Braun, N., Wyrzykowska, J., Muller, P., David, K., Couch, D., Perrot Rechenmann, C., and Fleming, A. J. 2008. Conditional repression of AUXIN BINDING PROTEIN1 reveals that it coordinates cell division and cell expansion during postembryonic development in Arabidopsis and tobacco. *Plant Cell* 20, 2746–2762.
- Calderon-Villalobos, L.I.A., Kuhnle, C., Li, H., Rosso, M., Weisshaar, B., and Schwechheimer, C. 2006. LucTrap vectors are tools to generate luciferase fusions for the quantification of transcript and protein abundance in vivo. *Plant Physiol.* 141: 3–14.
- Chapman E.J., dan Estelle M. 2009. Mechanism of auxin-regulated gene expression in plants. *Annu. Rev. Genet.* 43: 265-85.
- Chen, J.G., Ullah, H., Young, J.C., Sussman, M.R. and Jones, A.M. 2001. ABP1 is required for organized cell elongation and division in Arabidopsis embryogenesis. *Genes Dev.* 15: 902–911
- Claussen, M., Lüthen, H., Blatt, M., and Böttger, M. 1997. Auxin-induced growth and its linkage to potassium channels. *Planta* 201:227–234.
- David, K., Carnero-Diaz, E., Leblanc, N., Monestiez, M., Grosclaude, J. and PerrotRechenmann, C. 2001. Conformational dynamics underlie the activity of the auxin binding protein, Ntabp1. *J. Biol. Chem.* 276: 34517-34523.
- Delker, C., Raschke, A., Quint, M. 2008. Auxin dynamics: the dazzling complexity of a small molecule's Message. *Planta.* 227:929–941
- Dharmasiri, N. and Estelle, M. 2004. Auxin signaling and regulated protein degradation. *Trends Plant Sci.* 9: 302–308
- Dharmasiri, N., Dharmasiri, S. and Estelle, M. 2005. The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 435: 441-445.
- Effendi Y., Rietz S., Fischer U., Scherer G.F.E. 2011. The heterozygous *abp1/ABP1* insertional mutant has defects in functions requiring polar auxin transport and in regulation of early auxin-regulated genes. *Plant J.* 65: 282-294.
- Hager, A. 2003. Role of the plasma membrane H⁺-ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects. *J. Plant Res.* 116: 483-505.
- Henderson, J., Bauly, J.M., Ashford, D.A., Oliver, S.C., Hawes, C.R., Lazarus, C.M. and Venis, M.A. 1997. Retention of maize auxin-binding protein in the endoplasmic reticulum: quantifying escape and the role of auxin. *Planta* 202: 313–323.
- Hobbie, L. 2005. Seek and Ye shall [eventually] find: The end of the search for auxin receptor. *J. Integr. Plant Biol.* 47: 1412-1417.
- Kepinski, S. and Leyser, O. 2005. The Arabidopsis TIR1 protein is an auxin receptor. *Nature* 435: 446–451.
- Leyser, O. 2002. Molecular genetic of auxin signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53: 377-398.
- Löbber, M. and Klämbt, D. 1985. Auxin-binding protein from coleoptile membranes of corn (*Zea mays L.*). I. Purification by immunological methods and characterization. *J. Biol. Chem.* 260: 9848–9853.
- Napier RM. 2001. Models of auxin binding. *J. Plant Growth Regul.* 20: 244–254.
- Macdonald H. 1997. Auxin perception and signal transduction. *Physiol. Plant* 100: 423-430.
- Mockaitis K dan Estelle M. 2008. Auxin receptors and plant development: a new signaling

- paradigm. *Annu.Rev. Cell Dev. Biol.* 24:55-80
- Oono, Y., Ooura,C., and Uchimiya, H. 2002. Expression pattern of Aux/IAAgenes in the *iaa3/shy2-1D* mutant of *Arabidopsis thaliana(L.)*. *Ann. Bot.* 89: 77-82.
- Parry, G. and Estelle, M. 2006. Auxin receptors: a new role for F-box proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* 18: 152-156.
- Robert S., Kleine-Vehn J., Barbez E., Sauer M., Paciorek T., Baster P., Vanneste S., Zhang J., Simon S., Čovanová M., Hayashi K., Dhonukshe P., Yang Z., Bednarek S.Y., Jones A.M., Luschnig C., Aniento F., Zažímalová E., Friml J. 2010. ABP1 mediates auxin inhibition of clathrin-dependent endocytosis in *Arabidopsis*. *Cell* 143:111-121.
- Sauer M., Kleine-Vehn J. 2011. AUXIN BINDING PROTEIN1: The Outsider. *Plant Cell* 23: 2033-2043.
- Scherer G.F.E. 2011. AUXIN-BINDING-PROTEIN1, the second auxin receptor: what is the significance of a two-receptor concept in plant signal transduction? *J. Exp Bot.* 62: 3339-3357.
- Tian, H., Klämbt, D., and Jones, A.M. 1995. Auxin binding protein 1 does not bind auxin within the endoplasmic reticulum despite this being the predominant sub-cellular location for this hormone receptor. *J. Biol.Chem.* 270: 26962–26969.
- Tromas A., Braun N., Muller P., Khodus T., Paponov I.A., Palme K., Ljung K., Lee J.Y., Benfey P., Murray J.A.H., Scheres B., Perrot-Rechenmann C. 2009. The AUXIN BINDING PROTEIN 1 is required for differential auxin responses mediating root growth. *PLoS ONE* 4: e6648.
- Venis, M.A. and Napier, R.M. 1995. Auxin receptors and auxin binding proteins. *Crit. Rev. Plant Sci.* 14: 27–47.
- Woodward, A.W. and Bartel, B. 2005. A Receptor for auxin. *Plant Cell* 17: 2425-2429.
- Xu T., Wen M., Nagawa S., Fu Y., Chen J.G., Wu M.J., et al. 2010. Cell surface- and Rho GTPase-based auxin signaling controls cellular interdigitation in *Arabidopsis*. *Cell* 143: 99-110.