



INSTITUT DE FRANCE  
Académie des sciences

# *Comptes Rendus*

---

## *Biologies*


Matthieu Pierre Platre

**The root response to gravity: from the macro to the nanoscale**

Volume 343, issue 3 (2020), p. 257-265

Published online: 4 February 2021

<https://doi.org/10.5802/crbio.23>

 This article is licensed under the  
CREATIVE COMMONS ATTRIBUTION 4.0 INTERNATIONAL LICENSE.  
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



*Les Comptes Rendus. Biologies* sont membres du  
Centre Mersenne pour l'édition scientifique ouverte  
[www.centre-mersenne.org](http://www.centre-mersenne.org)  
e-ISSN : 1768-3238



Articles / Reviews / *Articles / Revues*

# The root response to gravity: from the macro to the nanoscale

## *La réponse de la racine à la gravité : de l'échelle macroscopique à nanoscopique*

Matthieu Pierre Platre<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> Plant Biology Laboratory, Salk Institute for Biological Studies, 10010 N Torrey Pines Rd, La Jolla, CA 92037, USA

<sup>b</sup> Laboratoire Reproduction et Développement des Plantes, Université de Lyon, ENS de Lyon, UCB Lyon 1, CNRS, INRA, F-69342 Lyon, France

E-mail: [mplatre@salk.edu](mailto:mplatre@salk.edu)

**Matthieu Pierre Platre was the award winner of the 2020 prize for Great Advances in Biology from the Académie des sciences / Matthieu Pierre Platre a été lauréat du prix 2020 des Grandes Avancées en Biologie de l'Académie des sciences.**

**Abstract.** Plants are sessile organisms which adapt to their everchanging environment. The root is buried in the soil and continuously explores its surroundings. Indeed, while growing downwards to anchor the plants in the ground, it has to avoid obstacles and seek for nutrients and water. This seeking mechanism depends on the root perception of gravity. Through differential growth, the root is able to align according to the gravity vector. The growth is regulated at the cellular level by an increase of the plant hormone auxin, which activates the small Rho Guanine triphosphatase (Rho GTPase) of plant 6 (ROP6) at the plasma membrane to inhibit endocytosis and trigger cytoskeleton reorganization. Through a collaborative work, four French laboratories addressed the question of ROP6 membrane dynamics upon gravistimulation. Based on cellular biology, biochemistry and super resolution imaging approaches, they discovered that ROP6 is organized into nanoclusters at the plasma membrane of plant cells in response to auxin. The stabilization of ROP6 in these nanoclusters is required for signaling and thus the regulation of gravitropic bending. The formation of these nanoclusters is dependent upon the membrane lipid phosphatidylserine, which directly interact with ROP6. Using a genetic toolkit, the authors uncovered that phosphatidylserine is rate limiting for the ROP6-dependent nanocluster formation, which in turn tunes the cellular read outs. This work, not only explain the fine mechanism of the root response to gravity from the developmental level to the nanoscale but also provide a valuable insight towards the understanding of small GTPase signaling in eukaryotic system.

**Résumé.** Les plantes sont des organismes sessiles qui nécessitent de s'adapter constamment à leur environnement. La racine qui se trouve enfouie dans la terre doit explorer le sol pour remplir ses fonctions. En effet, elle doit être capable de pousser vers le bas pour donner un point d'ancrage mais aussi de capturer l'eau et les nutriments tout en évitant les obstacles. Ce jeu d'exploration est possible du fait que la racine est capable de percevoir la gravité. C'est par un mécanisme de croissance

différentielle qu'elle adapte sa croissance en fonction du vecteur de gravité. Au niveau cellulaire, la croissance est régulée par l'augmentation de l'hormone auxine qui active au niveau de la membrane plasmique la Rho Guanine triphosphatase (Rho GTPase) of plant 6 (ROP6) et déclenche l'inhibition de l'endocytose et réorganise le cytosquelette. À travers un travail collaboratif, quatre équipes françaises se sont attelées à étudier la dynamique membranaire de ROP6 lors de la réponse à la gravité. Alliant des expertises de biologie cellulaire, de biochimie et d'imagerie de super résolution, elles ont mis en lumière la nécessité de ROP6 à s'organiser en nanoclusters via des interactions électrostatiques avec un lipide, la phosphatidylsérine, pour promouvoir sa fonction. De plus, par une approche génétique, ils ont démontré que la signalisation dépendante de ROP6 était proportionnellement corrélée à la quantité de phosphatidylsérine présente à la membrane plasmique, via la modulation du nombre de nanoclusters. Ces travaux mettent non seulement en avant le mécanisme précis permettant l'adaptation de la racine à son environnement mais représentent aussi une avancée majeure à la compréhension générale de la régulation des GTPases chez les eucaryotes.

**Mots-clés.** Racine, Gravité.

*Manuscript received 22nd October 2020, accepted 23rd October 2020.*

## 1. Introduction: Auxin as a master regulator of root growth during gravity response

Auxin is a key factor in regulating root growth upon gravistimulation. It is mainly produced in the leaves and then transported downward to the root tip through the auxin carrier PIN FORMED 1 (PIN1; [1, 2]). In the scenario where the root is aligned with the gravity vector, auxin is distributed equally on both sides of the root tip by other auxin carriers, such as PIN3, 4 and 7 [3]. During the gravity response, auxin is mainly transported and accumulated to the lower side of the root (Figure 1, Panel 1–2; [4, 5]). The higher auxin concentration promotes the activation of the “non-genomic” auxin signaling pathway in the root epidermis which in turn triggers ROP6 activation [6, 7]. This cellular signaling cascade inhibits the endocytosis of cargo proteins and reorganizes microtubules in order to restrain cellular growth (Figure 1, Panel 3; [8, 9]). This pathway creates a differential growth, which on the upper part is not affected while in the lower is decreased. Together, this local regulation of cellular growth promotes bending at the organ level in order to realign the root according to the gravity vector (Figure 1, Panel 2).

## 2. Results

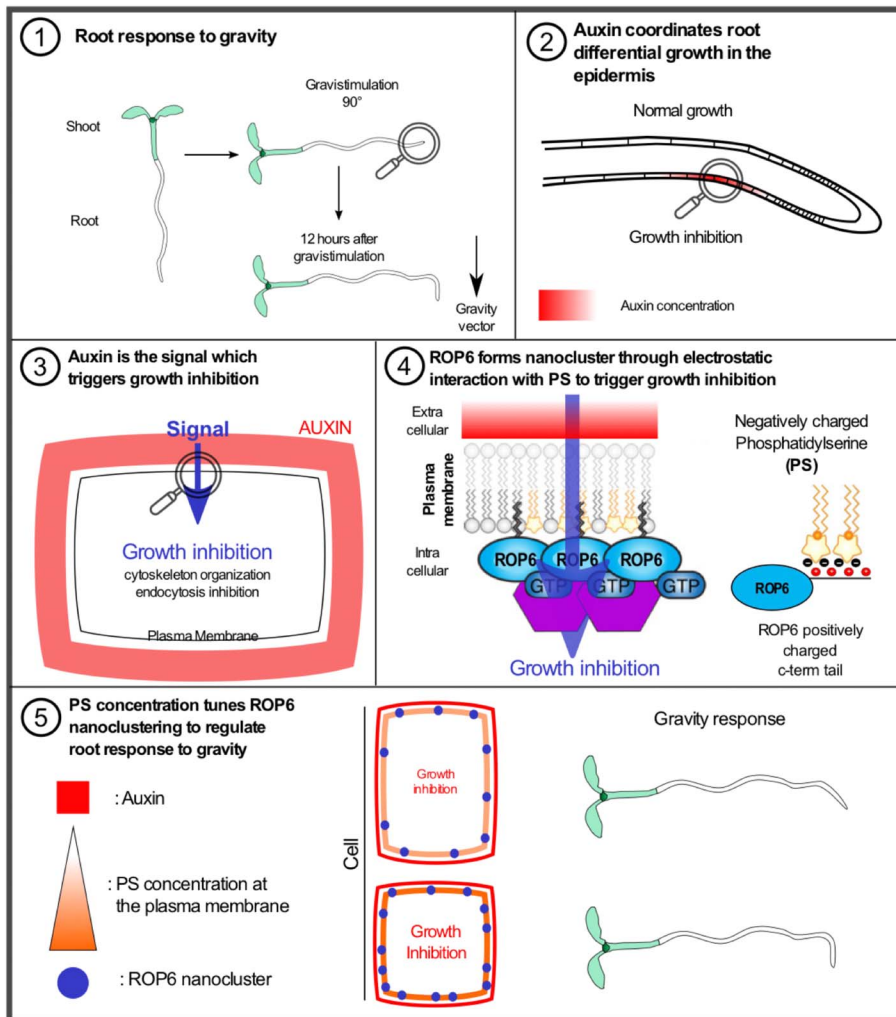
### 2.1. Phosphatidylserine levels tune the root response to gravity

Focusing on the developmental role of membrane-associated anionic lipids using genetically encoded biosensors, we observed that the endogenous levels

of auxin positively correlates with the concentration of phosphatidylserine at the plasma membrane. Moreover, plants devoided of phosphatidylserine, *phosphatidylserine synthase 1 (pss1)* mutants, present major defects in gravity response [10–12]. On this basis, we hypothesized a role of phosphatidylserine in gravitropism. To tackle this assumption, we developed a biochemical and genetic approach by creating plant, which contain different endogenous levels of phosphatidylserine. The gravitropic response of these plants showed a positive correlation between the phosphatidylserine levels and root ability to respond more or less rapidly to the gravity. To corroborate this finding, we looked at the downstream cellular gravity responses (i.e. inhibition of endocytosis, reorganization of microtubule cytoskeleton) and observed, again, a direct correlation. Taking together these results suggest that the phosphatidylserine can tune the response to gravity and that it might play a role in the “non-genomic” auxin signaling pathway.

### 2.2. Phosphatidylserine is a player in the “non-genomic” auxin signaling pathway

Rop6 is a GTPase which is able to switch from an active form when bound to guanosine diphosphate (GTP), to the inactive form, when bound to guanosine diphosphate (GDP). Importantly, the constitutive active version of ROP6 which is GTP-locked (ROP6-CA), as well as, the over-expression of ROP6 (ROP6-OX), promote a faster response to gravity [8–13]. Taking advantage of this phenotypic read out and that *pss1* does not respond to the gravity, we tested the genetic interaction between these two



**Figure 1.** Explanatory panel of the role of phosphatidylserine in tuning the root response to the gravity through ROP6-dependent nanoclustering. (1) Root response to gravity: scheme highlighting that the root aligns according to the gravity vector in 12 h. (2) Auxin coordinates root differential growth in the epidermis: under gravistimulation the auxin is transported and accumulated to the lower part in the epidermis. (3) Auxin is the signal which triggers growth inhibition: the accumulation of auxin is perceived extracellularly to organize the cytoskeleton and inhibit the endocytosis in order to trigger growth inhibition. (4) ROP6 forms nanocluster through electrostatic interaction with phosphatidylserine (PS) to trigger growth inhibition: the auxin signal is integrated at the plasma membrane by the formation of ROP6 nanocluster which is dependent on PS, ROP6 and PS interact directly through electrostatic interaction which are required for nanocluster formation. (5) PS concentration tunes ROP6 nanoclustering to regulate root response to gravity: depending on the level of plasma membrane-associated PS the number of ROP6 nanocluster varies which in turn modulate root response to gravity.

components. Expressing either ROP6-CA or ROP6-OX in *psl1* mutant plants, we observed a *psl1*-like phenotype, leading us to the conclusion that phosphatidylserine is required for the activation of ROP6. Moreover, these results challenge the dogma of GTPase activation. The canonical pathway for GTPase activation is that the active form of the GTPase is sufficient to trigger the downstream signaling. Our results, showed that the phosphatidylserine is required for ROP6 activation. We decided then to further characterize how the phosphatidylserine can regulate ROP6 activation.

### 2.3. *Phosphatidylserine regulates ROP6 activity by the formation of ROP6 nanoclusters*

As ROP6 and phosphatidylserine co-exist at the plasma membrane, we wanted to decipher ROP6 membrane dynamics in response to gravistimulation in presence or absence of ROP6. To mimic the increase of auxin in the epidermal root cells upon gravitropic response, we applied exogenous auxin in short time frames (5 min) simplifying the experimental set up. To monitor ROP6 dynamic changes, we developed a super resolution microscopy technic based on the photo-activation of ROP6-tagged fluorescent protein allowing us to study single molecule dynamics at 25 nm of resolution. This technic uncovered that ROP6 is organized in nanoclusters of about 50 to 70 nm in response to auxin treatment, while showing no cluster in the mock treatment contrôle (Figure 1, Panel 4). In plants containing no phosphatidylserine, the formation and stabilization of ROP6 in nanoclusters was prevented, which showed that this lipid is required for ROP6 nanocluster formation in response to auxin. To strengthen this result, we wondered whether the phosphatidylserine is able to directly control ROP6 nanoclustering. To assess this hypothesis, we used the constitutive active form of ROP6, which does not need auxin to be activated and expressed it in plants producing more phosphatidylserine. Recording the ROP6-CA dynamics at the nanoscale, we observed, on one hand, that ROP6-CA is already organized in nanoclusters in the absence of exogenous auxin, and on the other hand that the number of ROP6-CA nanoclusters was greatly enhanced in the presence of a heightened phosphatidylserine content at the plasma membrane contrôle (Figure 1, Panel 5). These results highlight

that the activation of ROP6 not only promotes its activation but that phosphatidylserine also directly tunes the number of ROP6 nanoclusters, and hence the strength of the output signal. Phosphatidylserine is rate-limiting in ROP6 nanocluster formation, however, the exact molecular mechanism of nanocluster formation is still unknown.

### 2.4. *Phosphatidylserine-depend ROP6 nanoclustering relies on electrostatic interactions*

Getting inspired from the vast literature on GTPase, notably the oncogenic protein K-ras, we were able to establish the direct link between the phosphatidylserine and ROP6 [14]. K-ras is known to interact directly with anionic lipids through electrostatic interaction via its polycationic C-terminal tail and the negative charges carried by the lipids [15]. Whereas ROP6 does not belong to the Ras GTPase family, it has a polycationic tail, like all plant ROPs [11]. Biochemical assays, showed that ROP6 interacts directly with the phosphatidylserine *in vitro* contrôle (Figure 1, Panel 4). Besides, mutations of the positive charges in the polycationic tail prevent this interaction. While the over expression of ROP6 leads to a faster gravitropic response, the over expression of ROP6 with a mutated polybasic region does not. Importantly, using imaging method based on Forster Resonance Electron Transfer to monitor ROP6 biochemical activity, we showed that mutations in the polybasic region do not affect ROP6 intrinsic activity, arguing that the absence of phenotype is independent of the GTPase activity. Altogether, these experiments suggest that ROP6 and the phosphatidylserine are able to interact directly via electrostatic interactions, which are required for ROP6 activity independently of the GTPase activity (Figure 1, Panel 4). Using the super resolution microscopy technic, we further characterized the importance of the electrostatic interaction in regulating ROP6 nanoclustering. The mutated version of ROP6 in the polycationic tail was still localized at the plasma membrane but was unable to form efficient nanoclusters in response to auxin, showing that electrostatic interactions are required to form ROP6 nanocluster. Finally, using dual-color imaging at the plasma membrane, we showed that ROP6 and phosphatidylserine co-exist in the same nanocluster upon auxin treatment. Consistently, we observed that they colocalized in presence of auxin but not in its absence. Altogether,

we demonstrated that the ROP6 polycationic region interact with phosphatidylserine in presence of auxin to form nanoclusters and trigger downstream signaling (Figure 1).

### 3. Conclusion

To conclude, we combined different approaches to uncover, from the macroscopic to the nanoscopic scales, how an environmental cue, such as gravity, impacts plant architecture. Studying the involvement of the GTPase in the response to gravity, we uncovered an unexpected mechanism regulating GTPase activity. Notably, we found that the activation of the

GTPase into its active form is not sufficient to trigger downstream signaling. Besides, phosphatidylserine, which is thought to be a membrane structural lipid, is a key component in membrane protein organization and dynamics. Finally, the regulation of endogenous cellular phosphatidylserine level tunes directly the signaling by acting on nanocluster formation, which we envision as signaling platforms that allow to control signal specificity, strength and duration.

### Acknowledgments

I would like to thank all the author who has participated in the original research article as well as Dr. Yvon Jaillais and Dr. Thierry Gaude for their help writing this manuscript.

### French version

#### 1. Introduction : Modulation de la croissance racinaire via l'auxine en réponse à la gravité

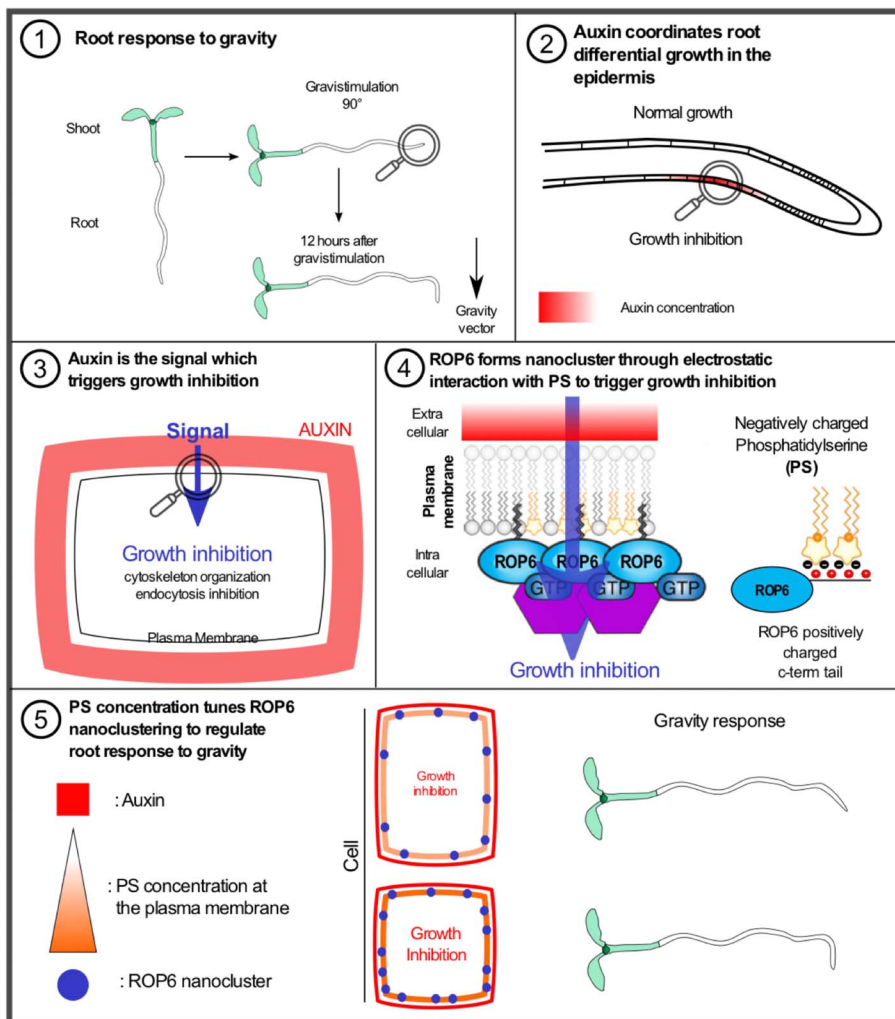
Une hormone spécifique des plantes, l'auxine est l'un des facteurs clef de l'adaptation de la croissance en fonction de la gravité. L'auxine est principalement produite par les feuilles. Elle est ensuite acheminée jusqu'à la pointe racinaire par le transporteur d'auxine PIN FORMED 1 (PIN1 ; [1, 2]). Lorsque la racine est alignée avec le vecteur de gravité, l'auxine, via d'autres transporteurs de la famille PIN (PIN3, 4 et 7), est distribuée également de part et d'autre de la racine permettant une croissance équilibrée des deux côtés de la racine [3]. Lorsque la racine perçoit un changement d'alignement, l'auxine est alors principalement transportée et accumulée du côté inférieur de la racine (Figure 1, Panel 1–2; [4, 5]). Cette forte concentration d'auxine va ensuite promouvoir l'activation de la voie « non-génomique » de l'auxine dans l'épiderme racinaire. Elle va déclencher, au niveau de la membrane plasmique, l'activation de ROP6 [6, 7]. Cette cascade d'événements agit au niveau cellulaire en inhibant l'endocytose de protéines cargos et en régulant l'organisation des microtubules pour freiner la croissance cellulaire (Figure 1, Panel 3; [8, 9]). Cette voie de signalisation a pour effet de créer une croissance différentielle; la face supérieure de la racine maintient une croissance normale alors qu'elle

est réduite au niveau de la face inférieure, assurant ainsi la torsion de la racine en vue de s'aligner à nouveau avec le vecteur de gravité (Figure 1, Panel 2).

### 2. Résultats

#### 2.1. L'importance de la phosphatidylsérine pour la réponse à la gravité

En utilisant des biosenseurs génétiques, nous nous sommes aperçus que les niveaux endogènes d'auxine corrèlent positivement avec la quantité de phosphatidylsérine à la membrane plasmique. En parallèle, une plante mutante, *phosphatidylsérine synthase 1 (pss1)*, ne contenant plus de phosphatidylsérine, présente des défauts majeurs de réponse à la gravité [10–12]. Ces observations sont le point d'ancrage de l'hypothèse du rôle de la phosphatidylsérine dans la régulation de la réponse à la gravité. Pour établir un lien entre ces deux composants, nous avons utilisé une approche génétique et biochimique. Nous avons généré une batterie de plantes contenant plus ou moins de phosphatidylsérine pour déterminer son rôle lors de la réponse à la gravité. Cette expérience a démontré que selon le niveau de phosphatidylsérine, les racines répondent plus ou moins à la gravistimulation. Pour appuyer cette corrélation, nous avons étudié les réponses cellulaires



**FIGURE 1.** Schéma explicatif du rôle de la phosphatidylsérine dans la formation de nanoclusters de ROP6 pour réguler la réponse de la racine à la gravité. (1) Réponse de la racine à la gravité : schéma mettant en lumière la réorientation de la racine selon le vecteur de gravité. (2) L’auxine coordonne la croissance différentielle dans l’épiderme : durant la gravistimulation l’auxine est transportée et accumulée dans la zone inférieure de l’épiderme racinaire. (3) L’auxine est le signal qui déclenche l’arrêt de la croissance : l’accumulation d’auxine est perçue au niveau extracellulaire pour réorganiser le cytosquelette ainsi que promouvoir l’inhibition de l’endocytose dans le but d’inhiber la croissance racinaire. (4) ROP6 forme des nanoclusters via des interactions électrostatiques avec la phosphatidylsérine (PS) pour déclencher la régulation de la croissance racinaire : le signal provenant de l’auxine est intégré au niveau de la membrane plasmique par la formation de nanoclusters de ROP6 qui dépendent de la PS, ROP6 et PS interagissent directement par l’action d’interactions électrostatiques requises pour la formation de nanoclusters. (5) La réponse à la gravité dépend de la concentration de PS à la membrane plasmique, qui régule proportionnellement le nombre de nanoclusters de ROP6 formés.

induites par l'auxine et régulées par ROP6. Une corrélation positive entre l'inhibition de l'endocytose et l'organisation des microtubules avec le niveau de phosphatidylsérine a une nouvelle fois été trouvée. Ces résultats suggéraient un lien entre la fonction de ROP6 en réponse à l'auxine et la concentration de phosphatidylsérine. Nous nous sommes alors attelés à établir le lien génétique entre la fonction de ROP6 et la phosphatidylsérine.

## 2.2. *La phosphatidylsérine est un acteur de la voie « non-génomique » de l'auxine*

ROP6 est une GTPase qui peut être soit sous sa forme active guanosine triphosphate (GTP) ou sous sa forme inactive guanosine diphosphate (GDP). De manière importante, la version constitutive active, ROP6-CA, qui est constamment liée au GTP, ainsi que la surexpression de ROP6 entraînent une réponse plus rapide à la gravité et permettent d'étudier le lien génétique existant entre cette voie et la phosphatidylsérine [8, 13]. La surexpression de ROP6 ou de ROP6-CA dans le mutant *pss1* dépourvu de phosphatidylsérine phénocopie le mutant *pss1* montrant que la phosphatidylsérine est requise pour l'activation de ROP6. Ces résultats remettent en question le dogme selon lequel une GTPase, sous sa forme GTP, est activée et suffisante pour déclencher la voie de signalisation en aval. Par la suite, nous avons alors cherché à comprendre comment la phosphatidylsérine peut réguler l'activité de ROP6 au niveau moléculaire.

## 2.3. *La phosphatidylsérine régule l'activation de ROP6 par la formation de nanoclusters de ROP6*

Assumant que l'interaction entre ROP6 et la phosphatidylsérine se fait au niveau de la membrane plasmique due à leur co-localisation dans ce compartiment, nous avons voulu décortiquer la dynamique de ROP6 lors de la gravistimulation en présence et absence de phosphatidylsérine. Pour se faire, une application exogène d'auxine a été réalisée à des temps très courts (5 min) pour mimer son augmentation dans le tissu épidermique lors de la réponse à la gravité. Pour analyser les changements de dynamique

de ROP6 lors de traitement à l'auxine, nous avons développé une technique de microscopie à super résolution. Cette technique, basée sur la photo-activation de molécules étiquetées de ROP6 permet d'étudier la dynamique protéique à une résolution de 25 nm. Celle-ci a notamment montré que lors d'un traitement exogène à l'auxine, ROP6 est organisée en clusters allant de 50 à 70 nm, appelé nanoclusters, alors qu'ils sont absents en condition contrôle (Figure 1, Panel 4). Dans les plantes ne contenant pas de phosphatidylsérine, la formation et stabilisation de nanoclusters n'est pas promue lors de l'ajout d'auxine. Cette expérience nous renseigne non seulement sur le fait que la GTPase doit être activée mais aussi organisée et stabilisée en nanocluster pour permettre la signalisation. Les expériences précédentes ayant démontré que le niveau de phosphatidylsérine corréle positivement avec l'activation de la voie de signalisation dépendante de ROP6, nous avons alors voulu savoir si la quantité de phosphatidylsérine est capable d'influencer la dynamique de ROP6. Pour se faire, nous avons utilisé ROP6-CA qui est activée à l'état basal en absence d'auxine. En utilisant la technique de super résolution, nous avons observé, d'une part, que ROP6-CA est déjà organisée en nanocluster en absence d'auxine, confirmant que son activation promeut la formation de nanocluster. D'autre part, que le nombre de nanoclusters dans une plante accumulant plus de phosphatidylsérine est beaucoup plus important (Figure 1, Panel 5). Cela montre qu'il y a une corrélation directe entre le niveau de phosphatidylsérine, le nombre de nanoclusters et la signalisation. Cependant, le mécanisme induisant la formation des nanoclusters de ROP6 par la phosphatidylsérine reste inconnu.

## 2.4. *Les interactions électrostatiques permettent la formation de nanoclusters de ROP6 par la phosphatidylsérine*

En prenant appui sur la littérature animale de la régulation des GTPases, notamment la protéine oncogène K-ras, nous avons pu tester le lien direct entre la phosphatidylsérine et ROP6 [14]. K-ras est démontré pour interagir avec des lipides anioniques via des interactions électrostatiques entre la région polycationique localisée au niveau C-terminal et la charge négative portée par les lipides [15]. Bien que ROP6 ne fasse pas partie de la famille des Ras GTPases,



celle-ci, comme l'ensemble des ROPs, arbore une queue polycationique [11]. Par une approche biochimique nous avons montré, d'une part que ROP6 peut interagir directement avec la phosphatidylsérine, et d'autre part, que la région polycationique est requise pour cette interaction (Figure 1, Panel 4). En effet, la version mutée abrogeant les charges positives n'interagit plus avec la phosphatidylsérine. Nous avons noté que la surexpression de la version mutée de ROP6 ne présente aucun phénotype au niveau de la réponse de la racine à la gravité ni au niveau cellulaire. De manière importante, une expérience d'imagerie basée sur du Forster Resonance Electron Transfer montre que les mutations n'affectent pas l'activité intrinsèque de ROP6 confirmant que l'absence de phénotypes est indépendante de l'activité GTPase. Ces expérimentations suggèrent, d'une part que ROP6 peut interagir de manière directe avec la phosphatidylsérine via des interactions électrostatiques et d'autre part qu'elles sont requises pour la voie de signalisation de l'auxine (Figure 1, Panel 4). Pour étudier si les interactions électrostatiques sont importantes pour la formation de nanoclusters, nous avons suivi la dynamique de la version de ROP6 mutée lors de l'ajout d'auxine en utilisant la microscopie de super résolution. Nous avons alors observé que la version mutée de ROP6, bien que présente à la membrane plasmique, n'est pas capable de former des nanoclusters en réponse à l'auxine. Finalement, nous avons réalisé de l'imagerie *in vivo* en deux couleurs au niveau de la membrane plasmique pour tester la présence de ROP6 et de la phosphatidylsérine au niveau des nanoclusters. De manière consistante, nous avons observé que des biosenseurs de phosphatidylsérine co-localisent avec ROP6 à l'intérieur des nanoclusters membranaires en réponse à l'auxine, mais pas en absence de cette hormone. L'ensemble de ces expérimentations montre que la région polycationique de ROP6 interagit directement avec la phosphatidylsérine, ce qui est requis pour la localisation de ROP6 dans les nanoclusters et permet ainsi de promouvoir la signalisation en aval de cette GTPase (Figure 1).

### 3. Conclusion

Pour conclure, nous avons décrit un mécanisme qui permet l'intégration d'une variable environnementale de l'échelle macroscopique à nanosco-

pique en combinant des approches diverses. Au long de cette étude, plusieurs résultats clefs ont été mis en lumière. Notamment que la forme active de la GTPase n'est pas suffisante pour déclencher la voie de signalisation en aval. Mais encore que la phosphatidylsérine, restreint jusqu'alors à un rôle structural dans la membrane plasmique, est un lipide clef dans l'organisation protéique de la membrane plasmique. Mais aussi que la régulation de la quantité cellulaire de phosphatidylsérine endogène est capable de réguler directement des voies de signalisation via la formation de nanoclusters, décrits comme des plateformes de signalisation.

### References

- [1] L. Galweiler, C. Guan, A. Muller, E. Wisman, K. Mendgen, A. Yephremov, K. Palme, "Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in Arabidopsis vascular tissue", *Science* **282** (1998), p. 2226-2230.
- [2] J. Petrasek, J. Mravec, R. Bouchard, J. J. Blakeslee, M. Abas, D. Seifertova, J. Wisniewska, Z. Tadele, M. Kubes, M. Covanova, P. Dhonukshe *et al.*, "PIN proteins perform a rate-limiting function in cellular auxin efflux", *Science* **312** (2006), p. 914-918.
- [3] I. Blilou, J. Xu, M. Wildwater, V. Willemsen, I. Paponov, J. Friml, R. Heidstra, M. Aida, K. Palme, B. Scheres, "The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in Arabidopsis roots", *Nature* **433** (2005), p. 39-44.
- [4] L. R. Band, D. M. Wells, A. Larrieu, J. Sun, A. M. Middleton, A. P. French, G. Brunoud, E. M. Sato, M. H. Wilson, B. Peret, M. Oliva *et al.*, "Root gravitropism is regulated by a transient lateral auxin gradient controlled by a tipping-point mechanism", *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **109** (2012), p. 4668-4673.
- [5] J. Friml, J. Wisniewska, E. Benkova, K. Mendgen, K. Palme, "Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in Arabidopsis", *Nature* **415** (2002), p. 806-809.
- [6] T. Xu, M. Wen, S. Nagawa, Y. Fu, J. G. Chen, M. J. Wu, C. Perrot-Rechenmann, J. Friml, A. M. Jones, Z. Yang, "Cell surface- and rho GTPase-based auxin signaling controls cellular interdigitation in Arabidopsis", *Cell* **143** (2010), p. 99-110.
- [7] T. Xu, N. Dai, J. Chen, S. Nagawa, M. Cao, H. Li, Z. Zhou, X. Chen, R. De Rycke, H. Rakusova, W. Wang *et al.*, "Cell surface ABP1-TMK auxin-sensing complex activates ROP GTPase signaling", *Science* **343** (2014), p. 1025-1028.
- [8] D. Lin, S. Nagawa, J. Chen, L. Cao, X. Chen, T. Xu, H. Li, P. Dhonukshe, C. Yamamuro, J. Friml, B. Scheres *et al.*, "A ROP GTPase-dependent auxin signaling pathway regulates the subcellular distribution of PIN2 in Arabidopsis roots", *Curr. Biol.* **22** (2012), p. 1319-1325.
- [9] D. Lin, L. Cao, Z. Zhou, L. Zhu, D. Ehrhardt, Z. Yang, Y. Fu, "Rho GTPase signaling activates microtubule severing to promote microtubule ordering in Arabidopsis", *Curr. Biol.* **23** (2013), p. 290-297.

- [10] M. P. Platre, L. C. Noack, M. Doumane, V. Bayle, M. L. A. Simon, L. Maneta-Peyret, L. Fouillen, T. Stanislas, L. Armengot, P. Pejchar *et al.*, “A combinatorial lipid code shapes the electrostatic landscape of plant endomembranes”, *Dev. Cell* **45** (2018), p. 465-480, e11.
- [11] M. P. Platre, V. Bayle, L. Armengot, C. Miège, M. L. A. Simon, M. M. Marquès-Bueno, L. Maneta-Peyret, J. Fiche, L. Fouillen, M. Nollman, P. Moreau, A. Martinière, Y. Jaillais, “Developmental control of plant Rho GTPase nano-organization by the lipid phosphatidylserine”, *Science* **364** (2019), no. 6435, p. 57-62.
- [12] Y. Yamaoka, Y. Yu, J. Mizoi, Y. Fujiki, K. Saito, M. Nishijima, Y. Lee, I. Nishida, “PHOSPHATIDYLSERINE SYNTHASE1 is required for micro- spore development in *Arabidopsis thaliana*”, *Plant J.* **67** (2011), p. 648-661.
- [13] X. Chen, S. Naramoto, S. Robert, R. Tejos, C. Lofke, D. Lin, Z. Yang, J. Friml, “ABP1 and ROP6 GTPase signaling regulate clathrin-mediated endocytosis in *Arabidopsis* roots”, *Curr. Biol.* **22** (2012), p. 1326-1332.
- [14] Y. Zhou, C. O. Wong, K. J. Cho, D. van der Hoeven, H. Liang, D. P. Thakur, J. Luo, M. Babic, K. E. Zinsmaier, M. X. Zhu *et al.*, “SIGNAL TRANSDUCTION. Membrane potential modulates plasma membrane phospholipid dynamics and K-Ras signaling”, *Science* **349** (2015), p. 873-876.
- [15] Y. Zhou, P. Prakash, H. Liang, K. J. Cho, A. A. Gorfe, J. F. Hancock, “Lipid-sorting specificity encoded in K-Ras membrane anchor regulates signal output”, *Cell* **168** (2017), p. 239-251, e16.