

# **Dimerization and DNA binding of auxin response factors**

Tim Ulmasov<sup>2</sup> Gretchen Hagen and Tom J. Guilfoyle\*

Department of Biochemistry, 117 Schweitzer Hall,  
University of Missouri, Columbia, MO 65211, USA

The Plant Journal (1999) 19(3), 309-319

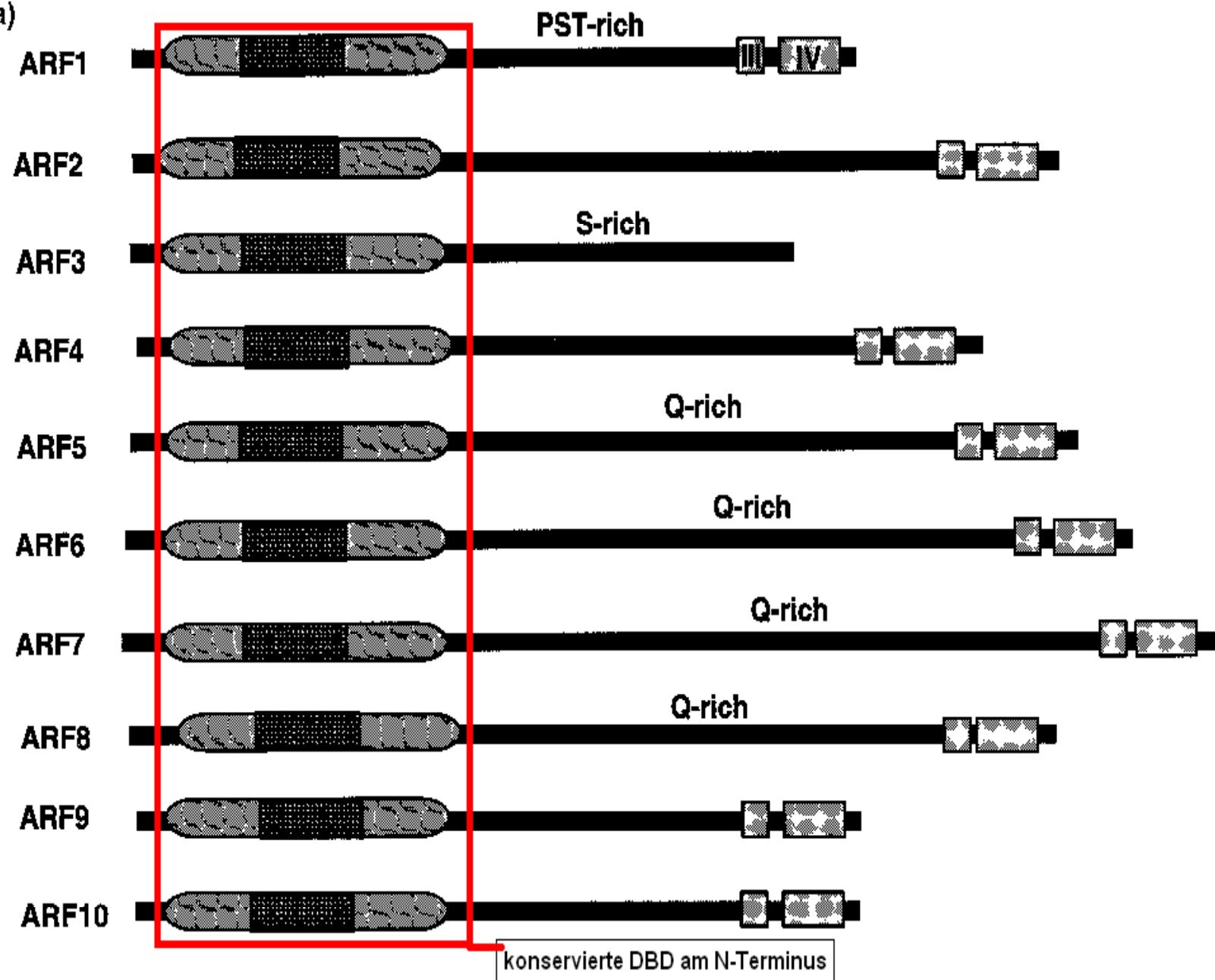
# Ziel

- Wie werden spezifische ARFs zu verschiedenen AuxREs geführt?
- Analyse der Expressionsmuster der *ARF* genes und der Protein-Protein-Interaktionen in *Arabidopsis thaliana*

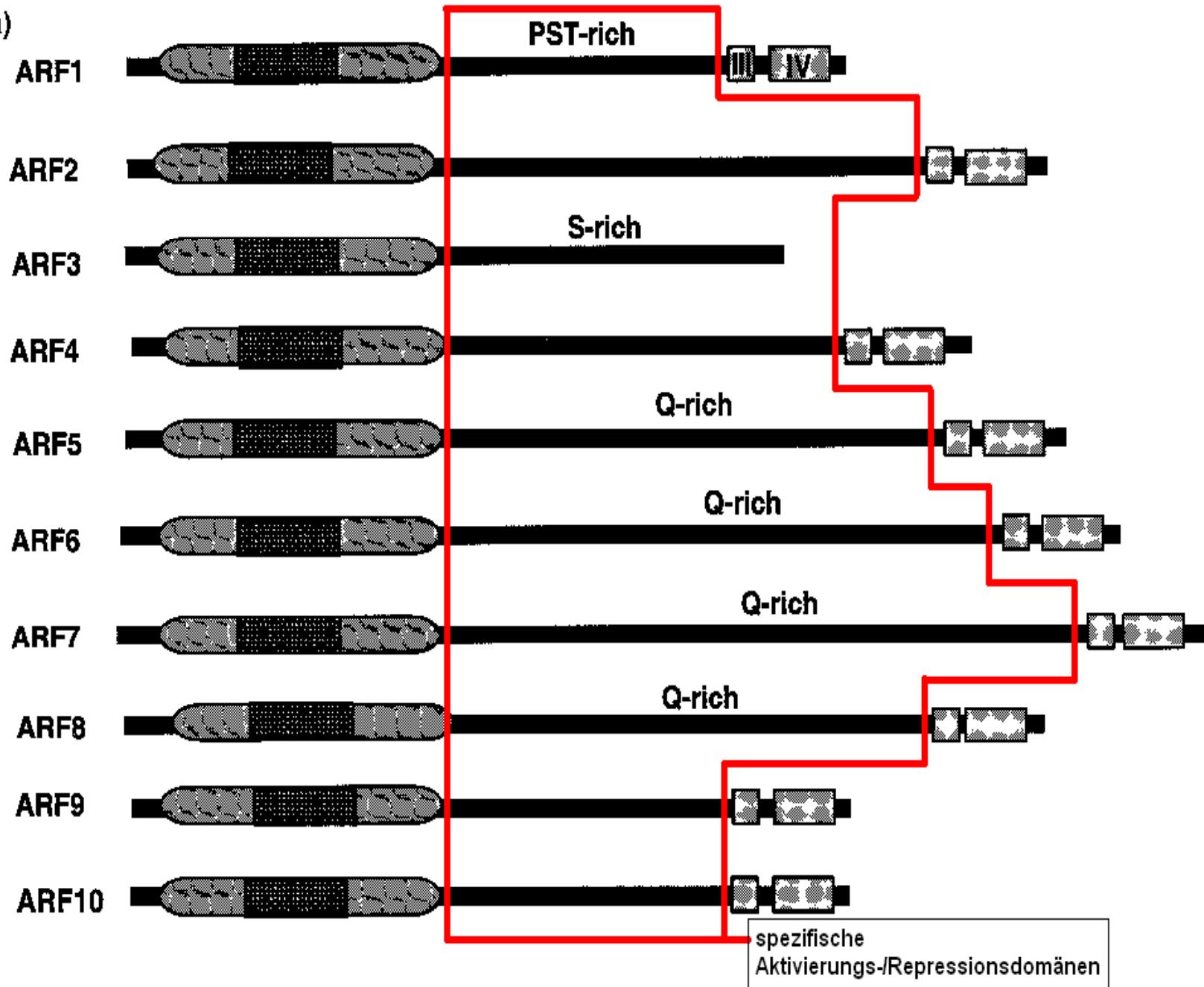
# Hintergründe:

- ARFs binden spezifisch an TGTCTC-Sequenz in AuxREs (Palindrom)
- AS-Sequenzen von ARF1-ARF10 bekannt
- Protein-Protein-Interaktionen der ARF- und Aux/IAA-Proteinfamilien

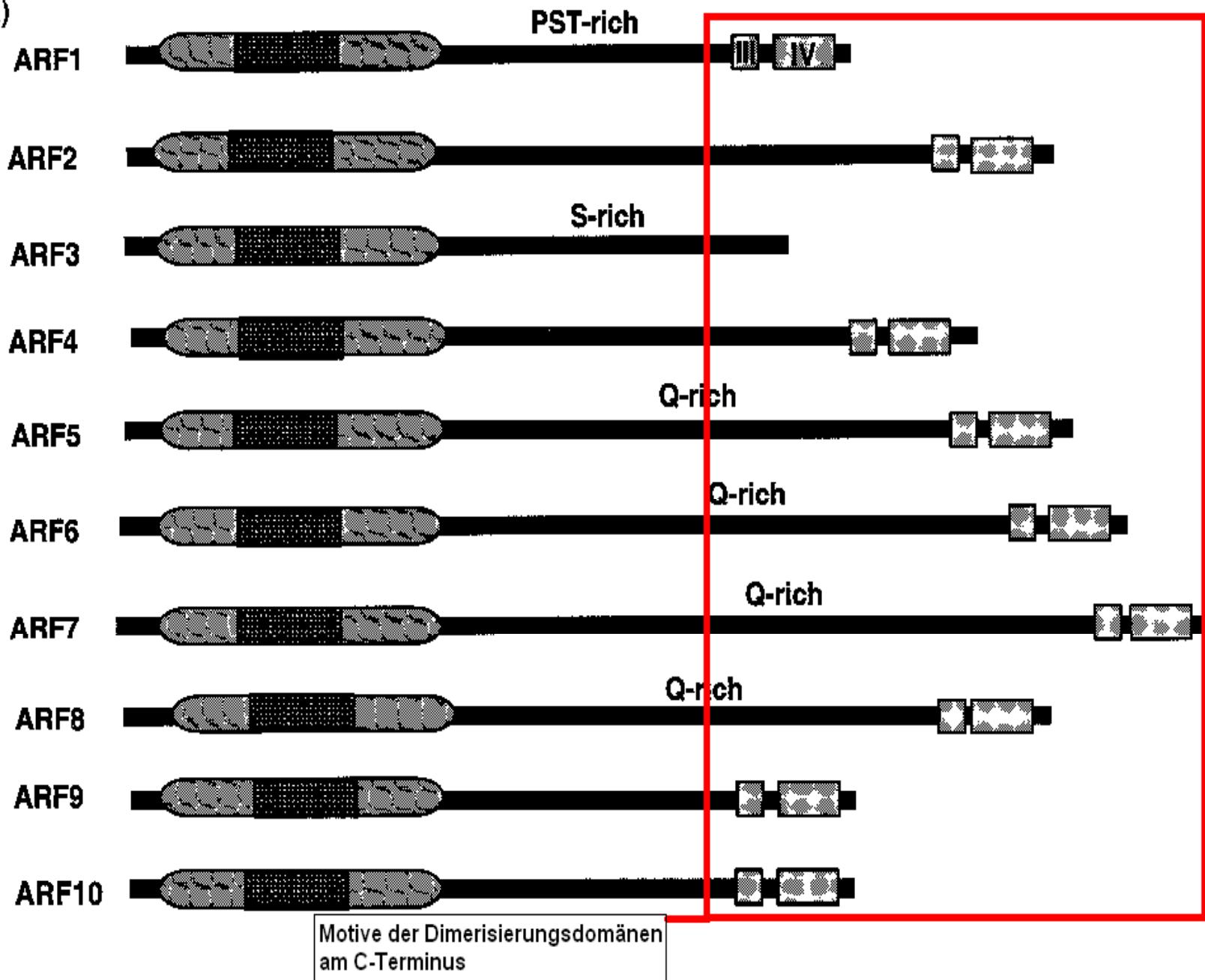
(a)



(a)



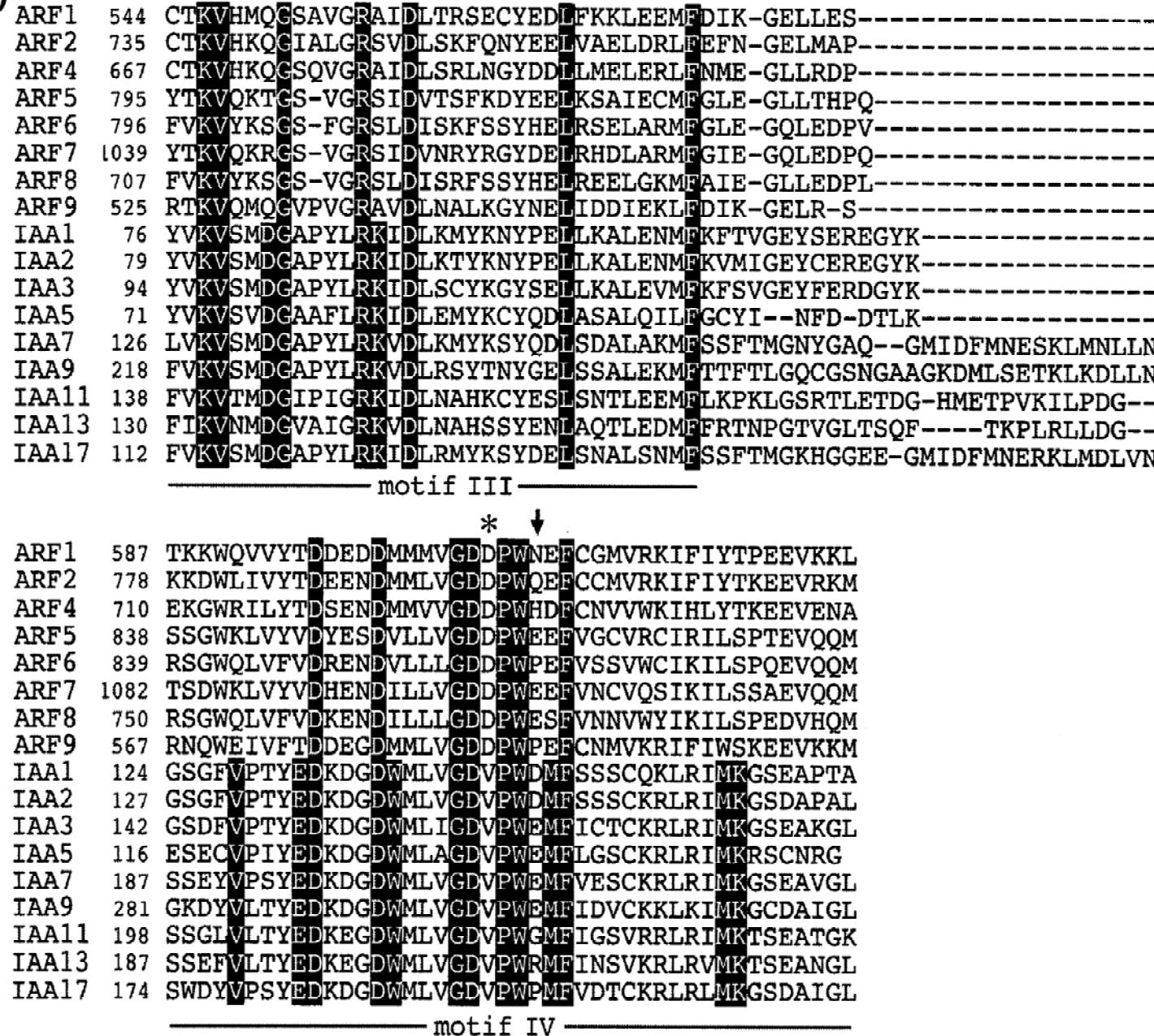
(a)



**(b)**

ARF 1	MAASNHS-----	SGKPGGVILSD-----	ALCR	21																												
ARF 2	MASSEVSMKGNRGGDNFSSSGFSDPKE	TRNVSVAGEGQKSNS	RTRAAAERALDPEAALYR	60																												
ARF 3	-----MGGLIDLNVMETEEDETQTQTPSSA	SASGSPTSSSSASVSVSS	SNSAGGGVCL	53																												
4	MEFDLNTEIAEVEEEENDVGVGVGGGTR	DKRGLGISPSSSSC	SSSSSTGSASSIYS	64																												
ARF 5	-----MMASLSCVEDKMKTSCLVNGGGT	I	TTTSQS	OSTLLEEMKLLKDQSGTRKPVINS	53																											
ARF 6	-----	MR-LSSAGFN	PQPHEGEKRVLNS	22																												
ARF 7	-----	MKA	PSSNGVSPNPVEGERRNINS	23																												
ARF 8	-----	MK-LST	SGLGOQGHEGEKC-LNS	21																												
ARF 9	MA-----NRGGEY	-----	LYD	11																												
ARF 10	-----	-----	MEQEKS-LDP	9																												
ARF 1	ELWHACAGPLVTLPRE	G	ERYVY	YFPEGHMEOLEASMHQGLEQQMPSF	80																											
ARF 2	ELWHACAGPLVTVP	R	DODR	VYFPQGH	119																											
ARF 3	ELWHACAGPLISLPKRG	K	RGSILV	YFPQGH	105																											
ARF 4	ELWHACAGPLTC	L	PKKG	NVVYFPQGH	122																											
ARF 5	ELWHACAGPLVCLPQV	G	GSRLVY	YFSQGH	113																											
ARF 6	ELWHACAGPLVSLPP	V	PGCSR	VVYFPQGH	82																											
ARF 7	ELWHACAGPLISLP	P	PGASL	VVYFPQGH	82																											
ARF 8	ELWHACAGPLVSLPSS	S	CSR	VVYFPQGH	81																											
ARF 9	ELWKL	CAGPLVDV	PQAQ	ERVY	YFPQGH	71																										
ARF 10	Q	LWHACAGSMVQIP	SLN	STVFY	FAQGH	62																										
ARF 1	ORRAE	P	ETDEVY	AQOIT	TLLPELD	DOSE-----	PTSPDAPVQ	EPEPER	CTVHS	FCKTLT	129																					
ARF 2	DLKAE	A	D	TDEVY	AOQIT	TLLPEAN	ODE-----	NAIEKEA	PLPPP	PRFQVHS	FCKTLT	169																				
ARF 3	KLHAE	T	T	D	DEVY	AOVS	LLPESEDIER	KVREGI	IDV	DGGEEDYEV	VLKRSN	-TPHM	FCKTLT	164																		
ARF 4	QLLANK	K	D	T	DEVY	TAQMSL	QPLQEF	SMLN	GEGKEV	KELG	GEERNG	SSSV	KRTPHM	FCKTLT	182																	
ARF 5	TLHADK	D	S	D	E	YAOQMSL	QPVH	SERD	-----	VFPV	PDFGMLRGS	KHPT	TEF	FCKTLT	163																	
ARF 6	TMHADV	E	V	T	D	DEVY	AQMTL	QPLN	NAQE	KDPYL	PAELGVPS	RQPT	TNY	FCKTLT	132																	
ARF 7	TLNAD	P	E	T	D	DEVY	AQMTL	QPLV	VNKYDR	DALLAS	DMGLKLN	RQPNEF	FCKTLT	132																		
ARF 8	TMHADV	V	E	V	T	DEVY	AQMTL	QPLT	PTEEQ	KETFV	FVPIELGIPS	KOPS	SNY	FCKTLT	131																	
ARF 9	SLOAQE	K	D	T	DEVY	QAQIT	TLLIP	VPGTEV	D	EPMS	PDPSPP	PELQR	PKVHS	FSK	VLT	121																
ARF 10	KFLADA	A	E	T	D	EVFAK	ITLLP	PGNDL	-----	DLEND	AVLGLTPPSSDG	NGNG	KEKPAS	FAKTLT	120																	
ARF 1	ASDTSTHGGFSV	L	R	R	HADD	CLP	PLDMS	QOPFW	OELVA	T	DLHNSE	WHFRH	I	FRGQPRRHILL	189																	
ARF 2	ASDTSTHGGFSV	L	R	R	HADE	CLP	PLDMS	RQPF	QELV	A	KDLHANE	WRFRH	I	FRGQPRRHILL	229																	
ARF 3	ASDTSTHGGFSV	P	R	R	AAE	DCF	FPPLDY	SOPRE	QELL	A	ARDLH	GLEWR	F	FRGQPRRHILL	224																	
ARF 4	ASDTSTHGGFSV	P	R	R	AAE	DCF	FAPLDY	KQORP	S	QELIA	KDLH	GVEWK	F	FRGQPRRHILL	242																	
ARF 5	ASDTSTHGGFSV	P	R	R	AAE	KL	FPPLDY	SAQPF	T	QELV	VRDLH	ENTWT	F	FRH	I	YRGQPKRHILL	223															
ARF 6	ASDTSTHGGFSV	P	R	R	AAE	KL	FPPLDY	SQOPP	AQEL	MARDLH	DNEWK	FRH	I	YRGQPKRHILL	192																	
ARF 7	ASDTSTHGGFSV	P	R	R	AAE	KI	F	PALDE	SMOPPC	QELVAKD	IHDNTWT	FRH	I	YRGQPKRHILL	192																	
ARF 8	ASDTSTHGGFSV	P	R	R	AAE	KV	FPPLDY	TLOPPA	QELI	JARDLH	DVEWK	FRH	I	YRGQPKRHILL	191																	
ARF 9	ASDTSTHGGFSV	L	R	R	AAE	CLP	PLDMT	QOPT	QELVA	EDVH	GYQWK	FKH	I	FRGQPRRHILL	181																	
ARF 10	QSDA	N	GGFSV	P	R	YCAETI	FFPRLD	YSAE	FPV	QT	VIAKDIH	GETW	I	FRH	I	YRG	TPRRHILL	180														
ARF 1	TTGWS	V	FV	S	KKL	VAGDA	IFI	LRGE	NEEL	RVGVR	RHM	ROOT	NI	PPSSVI	SSHSMH	I	GVLAT	249														
ARF 2	QSGWS	V	FV	S	K	KL	VAGDA	IFI	LRGE	ENGEL	RVGVR	RAM	MRQOG	NVPSS	SSHSMH	I	GVLAT	289														
ARF 3	TTGWS	A	FV	N	K	KL	VSG	DAVL	F	LRGDDG	KLRL	GVRR	ASOIE	GTAA	LSAO	YNON	NMHN	NFSE	284													
ARF 4	TTGWS	I	FV	S	C	KNL	VSG	DAVL	F	LRDDEG	EGEL	IRRA	ARPRNG	LPDSII	EKN	SCS	N	ILSL	301													
ARF 5	TTGWS	L	FV	S	G	KL	VSG	DAVL	F	LRDDEG	EGEL	IRRA	ARPRNG	LPDSII	EKN	SCS	N	ILSL	283													
ARF 6	TTGWS	V	FV	S	A	KRL	VAGD	SVLF	I	WNDKNQ	LLLG	IRRAN	NRE	QIVMPSS	VLSS	SD	SMH	LG	LAA	252												
ARF 7	TTGWS	V	FV	S	A	KRL	VAGD	SVLF	I	RDGKAQ	LLLG	IRRAN	NRQOP	PLSS	SVI	SSD	SMH	I	GVLA	253												
ARF 8	TTGWS	V	FV	S	A	KRL	VAGD	SVLF	I	RDGKAQ	LLLG	IRRAN	NRQOP	PLSS	SVI	SSD	SMH	I	GVLA	252												
ARF 9	TTGWS	T	FV	T	S	KRL	VAGD	TEV	F	LRGE	ENGEL	RVGVR	RAN	NLQOS	SMPS	SVI	SSH	SMH	I	GVLA	241											
ARF 10	TTGWS	T	FV	N	Q	KKL	LAGD	S	I	VFLR	SE	GDLC	VG	IRR	AKRGG	LG	SNAG	SDNP	YPGF	SGFLAE	250											
ARF 1	AAHA	I	TTGT	I	F	SFV	Y	KPRTSR	SEF	IV	SVN	R	YLEAK	-TQKL	SVGMR	F	KMR	FE	GEEA	PEKRF	308											
ARF 2	AAWA	I	STGT	M	T	VVY	KPRTSP	SEF	I	VPPDQY	MESV	-KNNN	Y	IGMRF	K	MR	FE	GEEA	PEORE	348												
ARF 3	VAHA	I	STHS	V	F	SI	YNPKAS	WSNF	I	IP	PAK	F	FLKVV	-DYPFC	T	IGMRF	K	AR	VE	SEDA	SERRS	343										
ARF 4	VAN	A	NAV	V	STK	SMF	HVF	Y	SPRATHA	E	FV	I	PYEKY	ITS	I	-RSPVC	I	CF	TR	FRM	FEMDD	SPERRC	360									
ARF 5	AAHA	T	ANR	T	PFL	IFY	YNP	PRACPA	AEF	V	PLAKY	RKA	ICGSQL	SVGMR	F	EMM	E	TED	SGK	RRY	433											
ARF 6	AAHA	A	ATN	S	RF	IFY	NP	PRACPA	AEF	V	PLAKY	RKA	ICGSQL	SVGMR	F	EMM	E	TED	SGK	RRY	312											
ARF 7	AAAHAN	A	NNNSP	FT	I	FY	NP	RAA	PAE	F	VV	PLAKY	TKAMY	-AOV	SLGMR	F	FRM	I	FF	CGV	RRY	311										
ARF 8	AAHASA	A	ATNSC	FT	VVFF	H	PRAS	QSE	FV	I	QLSKY	Y	IKAVF	HTRI	SVGMR	F	FRM	LE	TE	ESS	SVR	311										
ARF 9	AAHAT	Q	TQKMF	I	VVY	Y	KPRSR	STS	QF	I	ISLN	KY	LEAM	-SNKF	SVGMR	F	KMR	FE	GED	SP	FERRY	298										
ARF 10	AAVARAACGQAF	E	FEV	VVY	Y	PRAST	PE	FCV	KA	ADV	R	SA	MRCS	SDNP	Y	PGF	SGF	LA	E	TD	SSRISW	335										
ARF 1	SGT	I	IVG	YQEN	K	SSV	WHD	SE	WR	SLK	QW	DE	PSS	SV	R	PER	V	SPW	E	PLV	AN	STPSSQ	QOPPP	368								
ARF 2	TGT	I	IVG	IEE	SD	FT	RWP	PKS	KWR	SLK	V	WRD	DE	TSS	I	PRP	DRV	SPW	K	VE	PA	APP	ALSPV	VPMP	409							
ARF 3	PGI	I	ISG	IS	DL	D	P	I	RWP	PGS	KWR	CLL	V	WRD	DI	IVANG	HOQ	RV	SPW	E	I	PSGS	I	SNSSG	FVTTG	403						
ARF 4	AGV	V	TG	V	C	D	LPY	RWP	PN	SKW	R	CLL	V	WRD	DE	SFV	SDH	OE	RV	SPW	E	I	DBS	V	SLPHL	SIQSSPR	420					
ARF 5	MGT	I	IVG	I	SD	D	P	I	RWP	PGS	KWR	NL	QV	EW	DE	PGC	ND	KPT	RV	SPW	D	I	E	T	PESL	F	IFPSL	TSG	403			
ARF 6	MGT	I	TG	I	C	D	LP	T	RW	AN	SH	WR	SV	K	GW	DE	STAGE	R	Q	P	RV	SL	WE	I	E	FL	TT	FPM	Y	PSLF	PLR	372
ARF 7	MGT	V	TG	I	SD	DL	P	R	W	K	N	Q	W	G	W	DE	STAGE	R	Q	P	RV	SL	WE	I	E	PL	TT	FPM	Y	PSLF	PLR	371
ARF 8	MGT	I	TG	I	SD	DL	SV	R	WP	N	SH	WR	SV	K	GW	DE	STAGE	R	Q	P	RV	SL	WE	I	E	PL	TT	FPM	Y	PSLF	PLR	357
ARF 9	SGT	V	IVG	V	KDC	SP	-HW	KD	DS	KW	R	C	LE	V	H	W	DE	STAGE	R	Q	P	RV	SL	WE	I	E	PL	V	SV	PKSVMLK	396	
ARF 10	FMGT	V	SAV	QAD	P	TR	WP	N	SPW	W	L	Q	V	AW	DE	PD	LL	QNV	K	RV	SPW	L	VEL	V	SNM	PTI	HLSPF	SP	366			

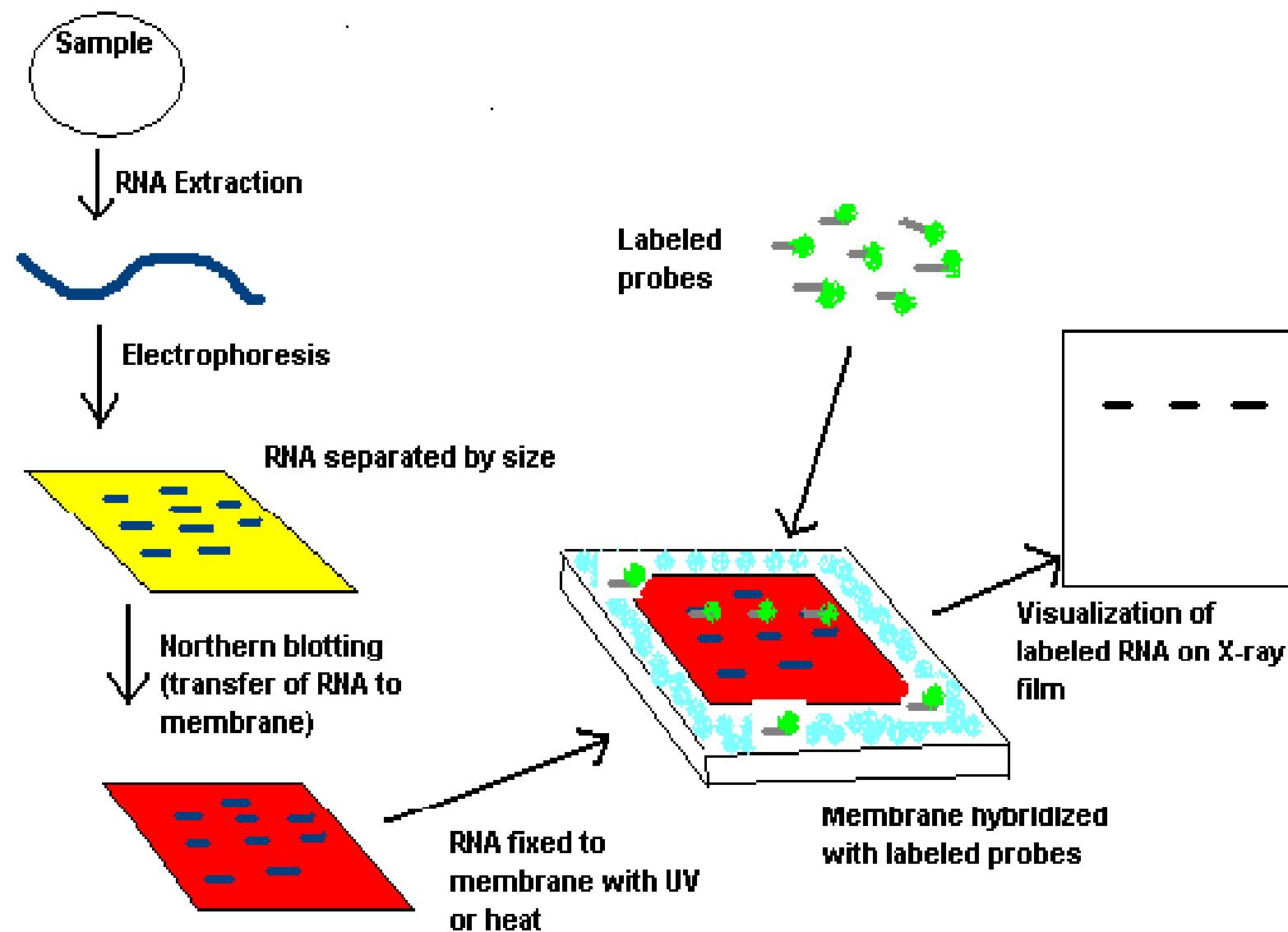
(c)



# Expression profiles of *ARF* genes in *Arabidopsis*

## Experiment:

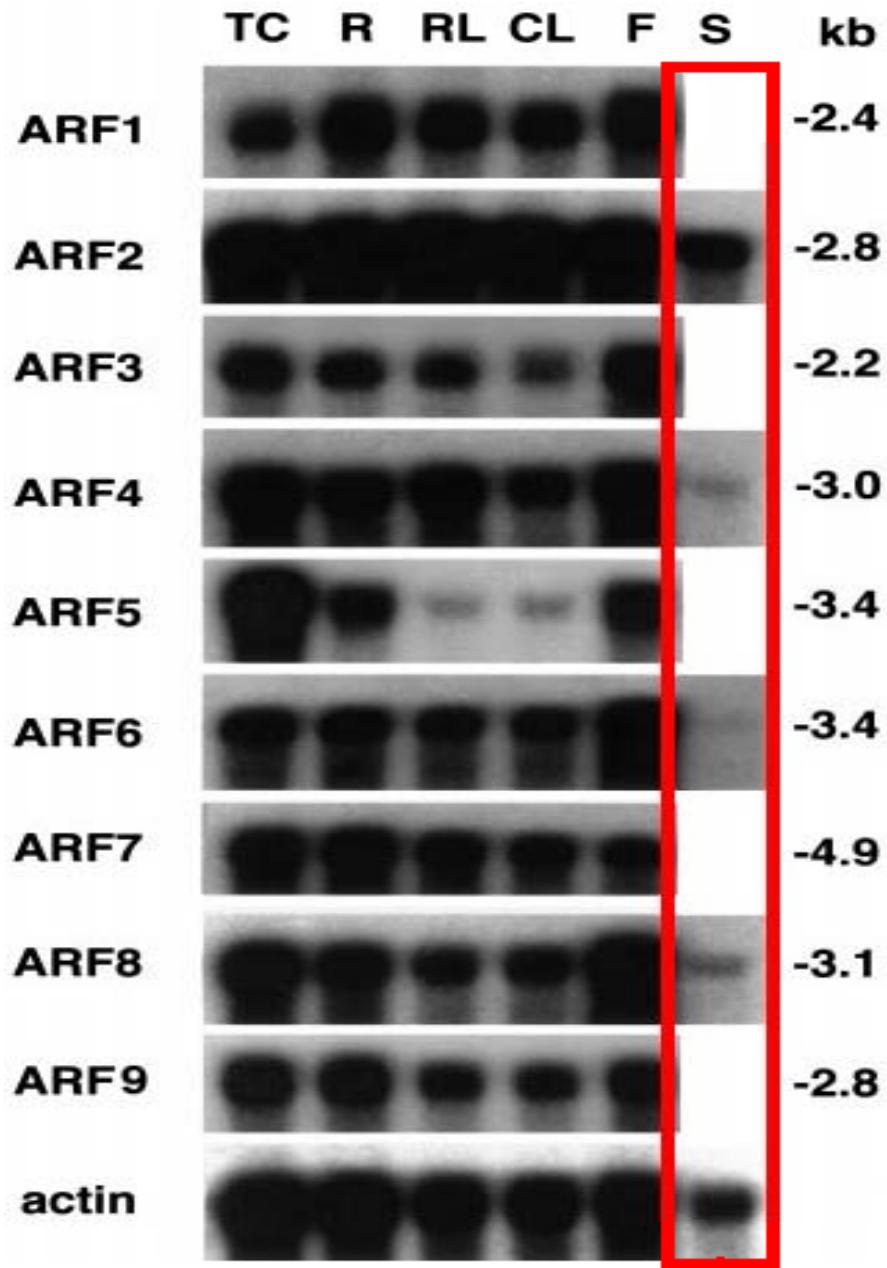
- Analyse der Expressionsmuster der ARFs mittels Northern blot
- Total-mRNA aus verschiedenen Organen
- Gen-spezifische, markierte cDNA von ARF1-ARF9 zur Hybridisierung



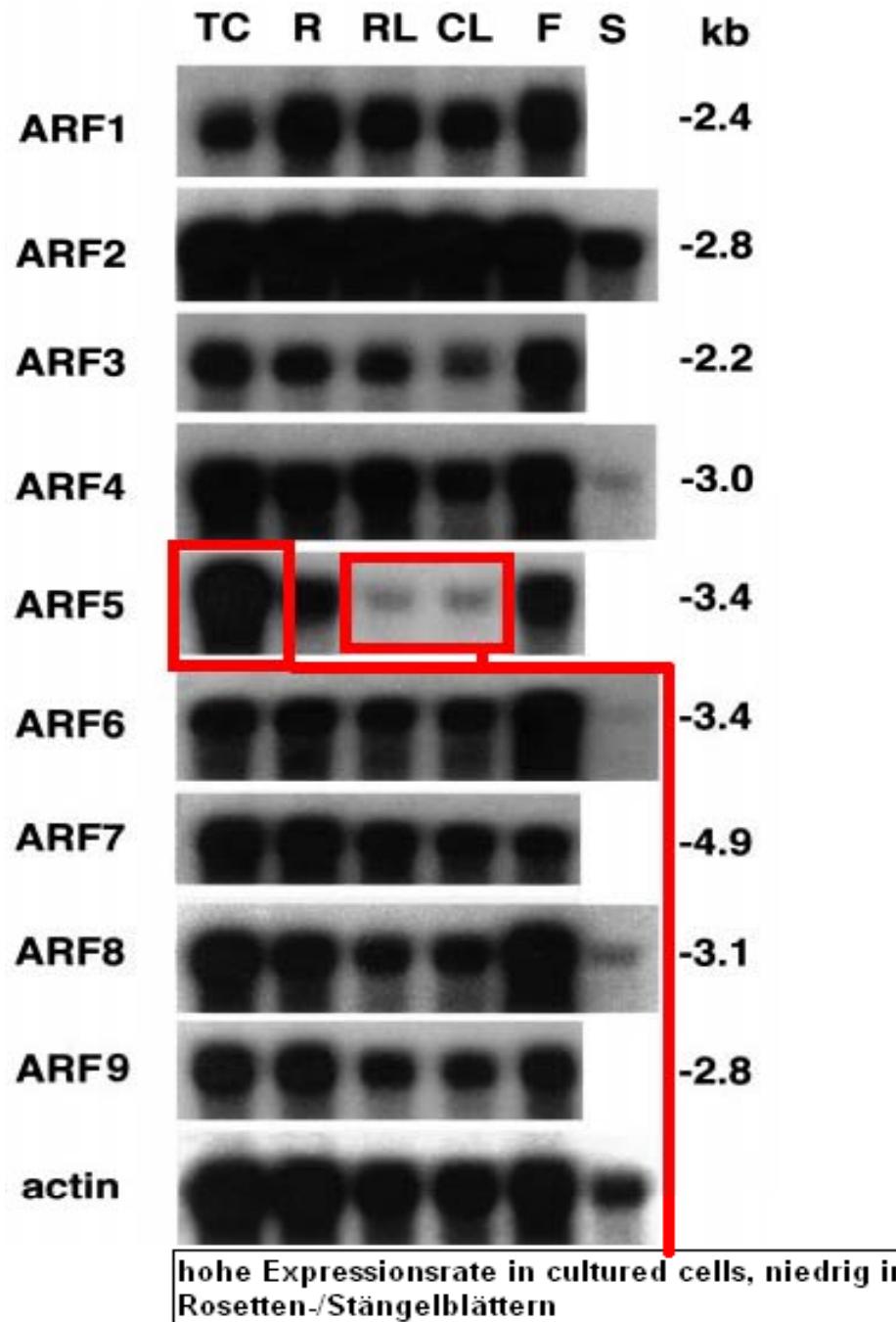
Northern blot

## Ergebnisse:

- Relativ gleich viel mRNA der einzelnen ARFs in Organen bis auf Schoten
- ARF5 hohe Expressionsrate in culture cells (undifferenzierte Zellen), niedrig in Rosetten- und Stängelblättern → evtl. Rolle bei der Entwicklung



niedrige bis gar keine Expression der ARFs  
(bis auf ARF2) in Schoten



- Experiment keine Aussage, dass verschiedene ARFs gleichermaßen in spezifischen Geweben oder Zelltypen der einzelnen Organe exprimiert werden
- Keine Änderung der mRNA-Menge bei Auxinbehandlung → *ARF* genes keine early auxine response genes

# **Delineation of the amino-terminal boundary of the ARF1 DBD**

Bekannt:

- Deletionen von N-terminalen Fragmenten bis N63 oder N154 → keine DNA-Bindung von ARF1 möglich
- → DBD von ARF2-ARF9 mit DBD von ARF1 verglichen
- → 1. konservierte Sequenz der ARFs ist ELWHACAGPL ab N22

(b)

ARF 1	MAASNHS-----	SGKPGGVLS-----	ALCR
ARF 2	MASSEVSMKGNRGGDNFSSSGFSDPKETRNVSVAGEGOKSNSTRSAAAERALDPEAALYR		60
ARF 3	-----MGGLIDLNVMETEDETOQTQTPSSASGSVPSTSASSVSVVSSNSAGGGVCL		53
4	MEFDLNTEIAEVEEEENDVGVGVGGGTRIDKGRLGSIAPSSESSSSCGSSSSSTGSASSIYS		64
ARF 5	-----MMASLSCVEDKMKTSCLVNGGGTITTTSQSTLLEEMKLLKDQSGTRKPVINS		53
ARF 6	-----MR-LSSAGFNQPOQHEGEKEKRCVLNS		22
ARF 7	-----MKAPSSNGVSPNPVEGERNINS		23
ARF 8	-----MK-LSTSGLGQQGHEGEKC-LNS		21
ARF 9	MA-----NRGGEY-----		11
ARF 10	-----LYD-----		9
MEQEKS-LDP			
ARF 1	ELWHACAGPLVTLPREGERVY <sup>Y</sup> FPEGHMEOLEASMHOGLEQOMP <sup>B</sup> SF-NLPSKILCKVINI		80
ARF 2	ELWHACAGPLVTVPRODDRVE <sup>Y</sup> FPOGHTEQVEASTNQAAEQQMBLY-DLPSKLLCRVINV		119
ARF 3	ELWHACAGPLISLPLKRCGSLVLYFPOGHLEQ-----ADPFSAAIYGLPPHVFCCRILDV		105
ARF 4	ELWHACAGPLTCLPKKGNVVVYFPOGHLEQ-DAMVSYSSPLEIPKF-DLNPOIVCRVVNV		122
ARF 5	ELWHACAGPLVCLPQVGSLVY <sup>Y</sup> F <sup>B</sup> SOGHSEQAVASTRSATTQVNPYPNLPSOLMCOVHNV		113
ARF 6	ELWHACAGPLVSLPPVGSRVVYFPOGHSEQVA <sup>A</sup> STNKEVDADI <sup>B</sup> PNYPSLHPOLICQLHNV		82
ARF 7	ELWHACAGPLISLPPAGSLVVYFPOGHSEQVAASMOK-QTDFIPSYPNLPSKLICMLHNV		82
ARF 8	ELWHACAGPLVSLPSSGSRVVYFPOGHSEQVAATTNKEVDGHI <sup>B</sup> PNYPSLPPOLICQLHNV		81
ARF 9	ELW <sup>KL</sup> ACAGPLVDVPOAQERVY <sup>Y</sup> FPOGHMEOLEASTQQVDLNTMKPLFV <sup>B</sup> LPPKILCNVMV		71
ARF 10	CLWHACAGSMVCIPSLNSTIVE <sup>Y</sup> F <sup>B</sup> FAQGHTEHAHA-----PPDFHAPR--VPPLILCRVVSV		62
ARF 1	ORRAEPETDEVYAQITLLEPELDQSE-----PTSPDAPVQEPEKCTVHSFCKTLT		129
ARF 2	DLKAEADTDEVYAQITLLEPEANQDE-----NAIEKEAPLPPPFRQVHSFCKTLT		169
ARF 3	KLHAFTTDTDEVYAQVSILPESEDIERKVREGIIDVDGGEEDYEVLKRSN-TPHMFCKTLT		164
ARF 4	QLLANKDTDEVY <sup>T</sup> OTVTLLEPLQEFMSMLNGEGKEVKELGGEEERNSSSV <sup>B</sup> KRTPHMFCKTLT		182
ARF 5	TLMHADKDSDEIYAOMSLOPVHSERD-----VFPVPDFGMLRGSKHPTEFFCKTLT		163
ARF 6	TMHADVETDEVYAQMTLQPLNAQEQ-----KDPYLPAELGVPSRQPTNYFCKTLT		132
ARF 7	TLNADPETDEVYAQMTLQPVNKYDR-----DALLASDMGLKLNROQNEFCKTLT		132
ARF 8	TMHADVETDEVYAQMTLQPLTPEEQ-----KETFVEIELGIPSKQPSNSYFCKTLT		131
ARF 9	SLQAEEKDTDEVYAQITLIPVGTEVD-----EPMSPDPSPPPELQRPKVHSFSK <sup>VLT</sup>		121
ARF 10	KFLADAETDEVFAKITLLEPLPGNDL--DLENDAVLGLTPPSSDGNGNGKEKPASEFAKTLT		120
ARF 1	ASDTSTHGGFSVLRHADDCLPPLDMSQOPFWOELVA <sup>A</sup> DLHNSEWHRHIFRGQPRRHILL		189
ARF 2	ASDTSTHGGFSVLRHADECI <sup>B</sup> PPLDMSRQPPTOELVAKDLHANEWRFRHIFRGQPRRHILL		229
ARF 3	ASDTETIIGGFSVPRRAEDCF <sup>B</sup> PPLDY <sup>B</sup> SQPRFSEQLLARDLHGLEWRFRHIFYRGQPRRHILL		224
ARF 4	ASDTSTHGGFSVPRRAAE <sup>B</sup> DCFA <sup>B</sup> PLDY <sup>B</sup> KOQRPSQELIAKDLHGVEWKFRHIFYRGQPRRHILL		242
ARF 5	ASDTSTHGGFSVPRRAAEKL <sup>B</sup> FPPLDY <sup>B</sup> SAQPPTOELV <sup>B</sup> RDLHENWTFRHIFYRGQPRKRHILL		223
ARF 6	ASDTSTHGGFSVPRRAAEKF <sup>B</sup> PALDF <sup>B</sup> SMQPPQOELVAKDIDHNTWTFRHIFYRGQPRKRHILL		192
ARF 7	ASDTSTHGGFSVPRRAAEKIF <sup>B</sup> PALDF <sup>B</sup> SMQPPQOELVAKDIDHNTWTFRHIFYRGQPRKRHILL		192
ARF 8	ASDTSTHGGFSVPRRAAEKF <sup>B</sup> PALDF <sup>B</sup> SMQPPQOELVAKDIDHNTWTFRHIFYRGQPRKRHILL		191
ARF 9	ASDTSTHGGFSVPRRAAEKF <sup>B</sup> PALDF <sup>B</sup> SMQPPQOELVAKDIDHNTWTFRHIFYRGQPRKRHILL		181
ARF 10	QSDANNGGGF <sup>B</sup> SVPRYCAETIF <sup>B</sup> PRLDYSAEPPVQTVIAKDIHGETWIFRHIYRGTPRRHILL		180
ARF 1	TTGWSVVFVSSKKLVAGDAFI <sup>B</sup> FLRGENEELRVGVRRHMROOTNI <sup>B</sup> PSVISSHSMHIGVLAT		249
ARF 2	OSGWSVVFVSSKKLVAGDAFI <sup>B</sup> FLRGENGELRVGVRRAMROOGNVPSVISSHSMHIGVLAT		289
ARF 3	TTGWSA <sup>B</sup> AVVNKKLVLSGDAVLFLRGDDDGKLRFLGVRRASQTEGTAALS <sup>B</sup> SAQYNQNMNNFSE		284
ARF 4	TTGWSI <sup>B</sup> FVSC <sup>B</sup> CKNLVSGDAVLFLRDEGGELRLGIRRAARPRNGLPDSII-EKNSCSN <sup>B</sup> ILSL		301
ARF 5	TTGWSLFVGS <sup>B</sup> KRLRAGDSVLF <sup>B</sup> IRDEKSQMLMVGVRRANRQOTALPSVLSADSMHIGVLAA		283
ARF 6	TTGWSVVFVSAKRLVAGDSVLF <sup>B</sup> IWNDKNQOLL <sup>B</sup> LGIRRANRQOTVMPSSVLS <sup>B</sup> SDSMHIGLLAA		252
ARF 7	TTGWSVVFVSAKRLVAGDSVLF <sup>B</sup> IRDGKAQOLL <sup>B</sup> LGIRRANRQOTVMPSSVLS <sup>B</sup> SDSMHIGVLAA		253
ARF 8	TTGWSVVFVSAKRLVAGDSVLF <sup>B</sup> IRDGKAQOLL <sup>B</sup> LGIRRANRQOTVMPSSVLS <sup>B</sup> SDSMHIGLLAA		252
ARF 9	TTGWS <sup>B</sup> TFVTSKRLVAGDT <sup>B</sup> ENGELRVGVRRANLQQSSMPS <sup>B</sup> SVISSHSMHIGVLAA		241
ARF 10	TTGWS <sup>B</sup> TFVTSKRLVAGDT <sup>B</sup> ENGELRVGVRRANLQQSSMPS <sup>B</sup> SVISSHSMHIGVLAA		250
ARF 1	AAHAITTGT <sup>B</sup> FSVFY <sup>B</sup> KPRTSRSEFIVSVNRYLEAK-TQKL <sup>B</sup> SVGMRFKMRFE <sup>B</sup> GEEAP <sup>B</sup> EKRF		308
ARF 2	AAWAISTGT <sup>B</sup> MTVY <sup>B</sup> KPRTSP <sup>B</sup> SEFIVPFDCYME <sup>B</sup> ESV-KNNYSICMRFKMRFE <sup>B</sup> GEEAP <sup>B</sup> EKRF		348
ARF 3	VAHAISTHSVFSISY <sup>B</sup> NPKASWSNFII <sup>B</sup> IPAEKF <sup>B</sup> LKVV-DYPFCIGMRFKARVE <sup>B</sup> SEDA <sup>B</sup> ERRS		343
ARF 4	VANA <sup>B</sup> VSTKSMFHVFY <sup>B</sup> S <sup>B</sup> PRA <sup>B</sup> THAEFV <sup>B</sup> IPYEKYITSI-RSPVCI <sup>B</sup> GTFRMRFE <sup>B</sup> MDDSFERRC		360
ARF 5	AAHA <sup>B</sup> TANR <sup>B</sup> TPFLIFY <sup>B</sup> NPRACPAEF <sup>B</sup> V <sup>B</sup> PLAKY <sup>B</sup> KRAICGSOL <sup>B</sup> SVGMRFE <sup>B</sup> CMMFE <sup>B</sup> TED <sup>B</sup> SGKRRY		343
ARF 6	AAHA <sup>B</sup> ATNSRF <sup>B</sup> TIFY <sup>B</sup> NPRASP <sup>B</sup> SEF <sup>B</sup> VI <sup>B</sup> PLAKY <sup>B</sup> VKA <sup>B</sup> Y <sup>B</sup> HTRV <sup>B</sup> SVGMRFRM <sup>B</sup> LE <sup>B</sup> TEESSVR <sup>B</sup> RY		312
ARF 7	AAAHANANN <sup>B</sup> SP <sup>B</sup> TIFY <sup>B</sup> NPRAAPAEF <sup>B</sup> V <sup>B</sup> VPLAKY <sup>B</sup> T <sup>B</sup> KAMY-AQV <sup>B</sup> SLGMRFRM <sup>B</sup> LE <sup>B</sup> TEEE <sup>B</sup> CGV <sup>B</sup> RY		311
ARF 8	AAHASATNSCF <sup>B</sup> TVF <sup>B</sup> F <sup>B</sup> HPRASQSEF <sup>B</sup> VIQLSKY <sup>B</sup> IKAVF <sup>B</sup> HTRI <sup>B</sup> SVGMRFRM <sup>B</sup> LE <sup>B</sup> TEESSVR <sup>B</sup> RY		311
ARF 9	ARHATOTKTMFIVYY <sup>B</sup> KPRSR <sup>B</sup> TSOFIIISLN <sup>B</sup> KYLEAM-SNKFSVGMRFRM <sup>B</sup> LE <sup>B</sup> GEDSF <sup>B</sup> ERRY		298
ARF 10	AVARAACGQA <sup>B</sup> FEVVY <sup>B</sup> Y <sup>B</sup> PRASTPE <sup>B</sup> ECV <sup>B</sup> KAADVRSAM-RIRWC <sup>B</sup> SGMRFKM <sup>B</sup> AE <sup>B</sup> TED <sup>B</sup> SSRISW		335
362			
ARF 1	SGTIVGVQENKSSWHDSEWRSLKVOWDEPSSVFRPERVSPWELEELVANSTPSSQOPQPP		368
ARF 2	TGTIVGIEE <sup>B</sup> SDP <sup>B</sup> TRWP <sup>B</sup> KWS <sup>B</sup> SLKVRWD <sup>B</sup> ET <sup>B</sup> SSI <sup>B</sup> FRPDRVSPW <sup>B</sup> KVEPALAPP <sup>B</sup> SPVPMP		409
ARF 3	PGIISG <sup>B</sup> ISLDL <sup>B</sup> DP <sup>B</sup> PI <sup>B</sup> RP <sup>B</sup> PGSK <sup>B</sup> WRCLL <sup>B</sup> VRWDD <sup>B</sup> IVANGHQORVSP <sup>B</sup> WE <sup>B</sup> IEPSGSISNSGSFVTTG		403
ARF 4	AGV <sup>B</sup> TGVC <sup>B</sup> CDLDP <sup>B</sup> TRWANSHWR <sup>B</sup> SV <sup>B</sup> KVGWDE <sup>B</sup> STAGERQ <sup>B</sup> PRV <sup>B</sup> SLWE <sup>B</sup> IEPLTTFP <sup>B</sup> PMYPSLFPLR		420
ARF 5	MGTIVG <sup>B</sup> ISLDL <sup>B</sup> DP <sup>B</sup> TRWANSHWR <sup>B</sup> SV <sup>B</sup> KVGWDE <sup>B</sup> STAGERQ <sup>B</sup> PRV <sup>B</sup> SLWE <sup>B</sup> IEPLTTFP <sup>B</sup> PMYPSLFPLR		403
ARF 6	MGTITG <sup>B</sup> ICDLD <sup>B</sup> PT <sup>B</sup> TRWANSHWR <sup>B</sup> SV <sup>B</sup> KVGWDE <sup>B</sup> STAGERQ <sup>B</sup> PRV <sup>B</sup> SLWE <sup>B</sup> IEPLTTFP <sup>B</sup> PMYPSLFPLR		372
ARF 7	MGT <sup>B</sup> TVG <sup>B</sup> ISLDL <sup>B</sup> DP <sup>B</sup> TRWANSHWR <sup>B</sup> SV <sup>B</sup> KVGWDE <sup>B</sup> STAGERQ <sup>B</sup> PRV <sup>B</sup> SLWE <sup>B</sup> IEPLTTFP <sup>B</sup> PMYPSLFPLR		371
ARF 8	MGTITG <sup>B</sup> ISLDL <sup>B</sup> DSV <sup>B</sup> RWP <sup>B</sup> NSHWR <sup>B</sup> SV <sup>B</sup> KVGWDE <sup>B</sup> STAGERQ <sup>B</sup> PRV <sup>B</sup> SLWE <sup>B</sup> IEPLTTFP <sup>B</sup> PMYPSLFPLR		357
ARF 9	SCTVIGVKDCSP-HWKDS <sup>B</sup> KWRCL <sup>B</sup> LEVHWDE <sup>B</sup> PASIS <sup>B</sup> RPNK <sup>B</sup> VSP <sup>B</sup> WE <sup>B</sup> IEPFVNSENVPKSVMLK		357
ARF 10	FMGTVSAQVAD <sup>B</sup> PI <sup>B</sup> TRWP <sup>B</sup> NSPWR <sup>B</sup> LLQV <sup>B</sup> AWD <sup>B</sup> EPDLLQNVK <sup>B</sup> RVSPWL <sup>B</sup> VELV <sup>B</sup> SNMPTIHLSPFSP		396

Figure 1. (b)

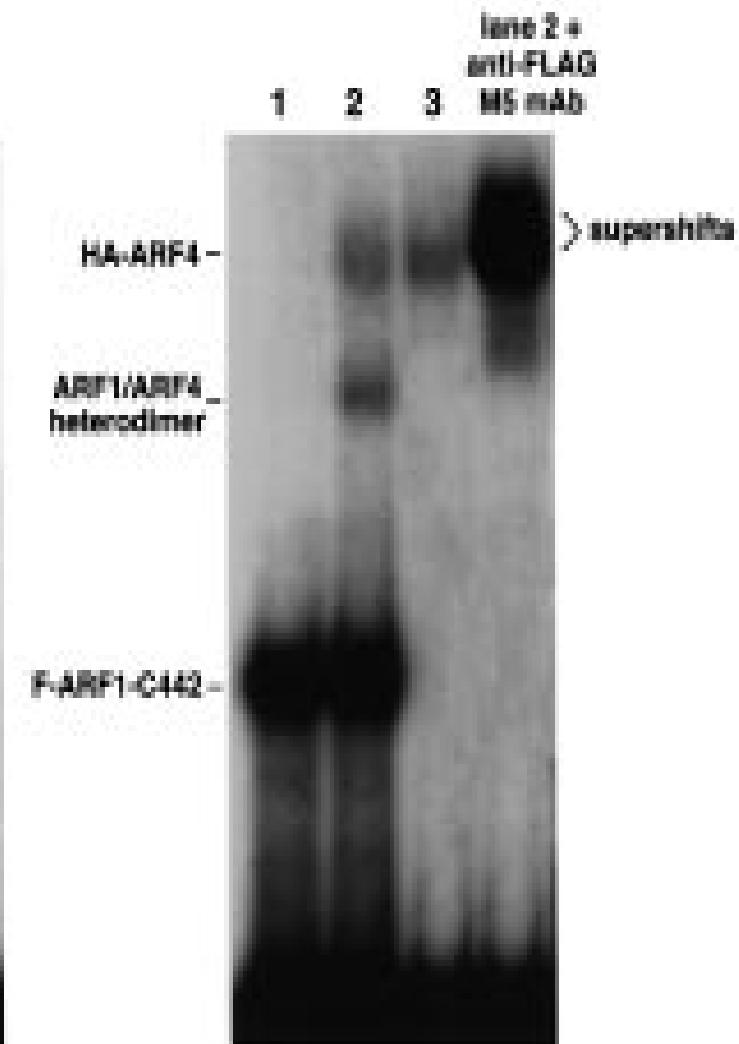
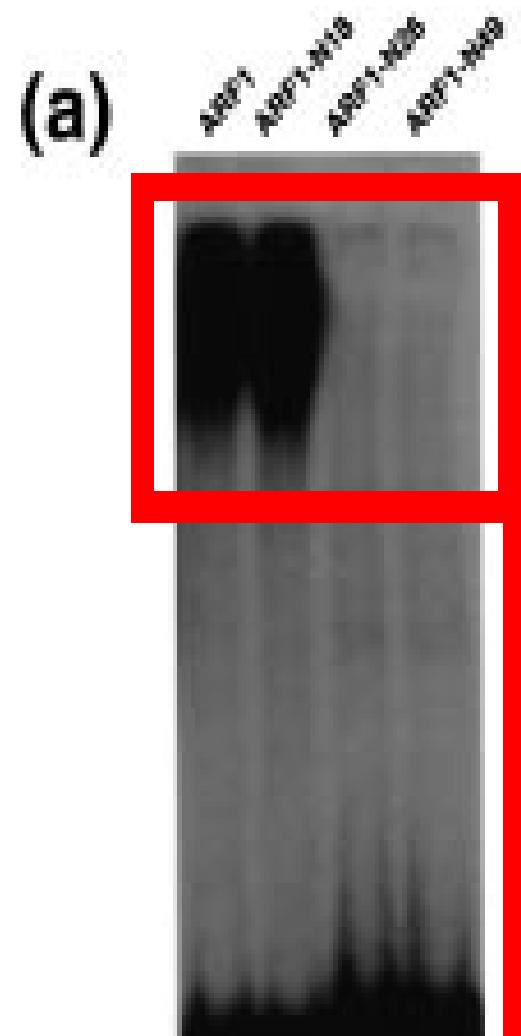
Blackwell Science Ltd, *The Plant Journal*, (1999), 19, 309-319

## Experiment:

- Deletionen von 3 N-terminalen Fragmenten von ARF1
- Gel-shift mit N18-, N26-, N49-Deletionen in ARF1

## Ergebnisse:

- Deletionen bis N26 oder N49 → keine DNA-Bindung von ARF1 möglich
- Deletion bei N18 → DNA-Bindung möglich  
→ 1. konservierte Sequenz und N-terminale Grenze der DBD der ARFs (ELWHACAGPL) ab N22



nur N18-Deletion führt noch zur Bindung  
der DNA

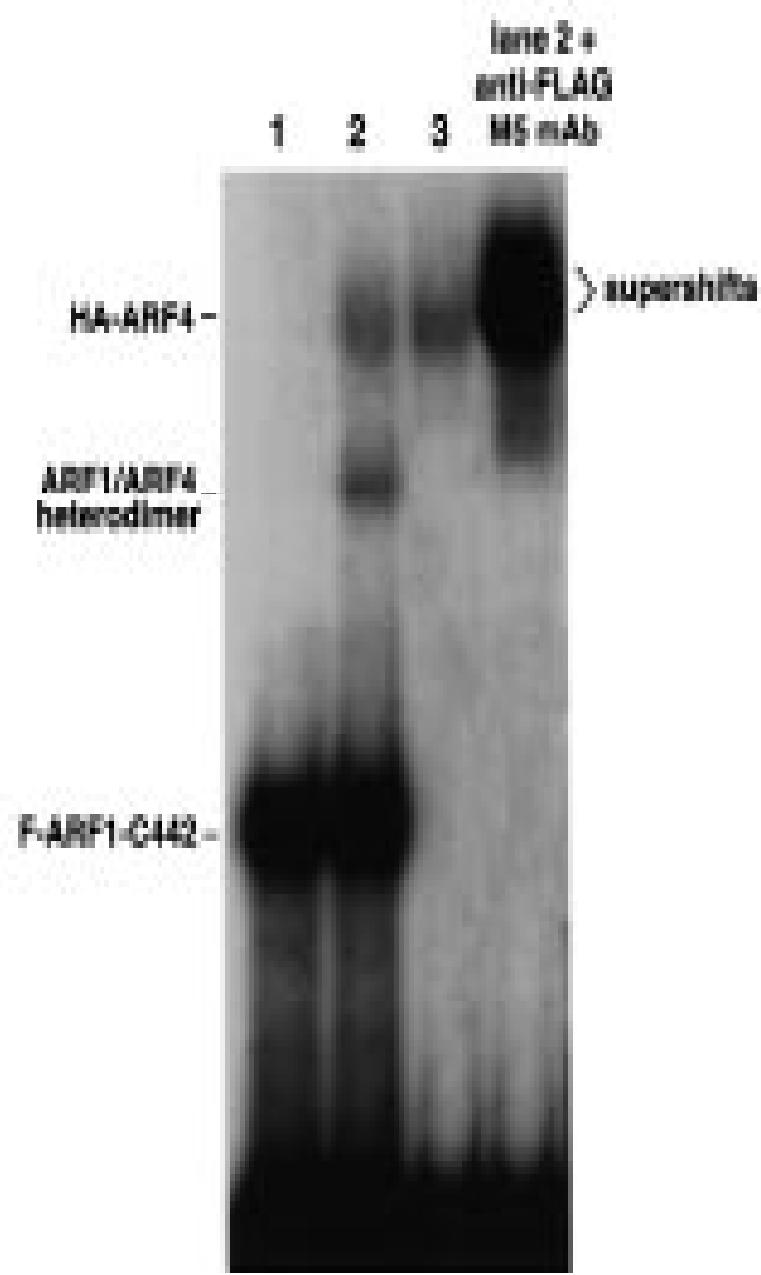
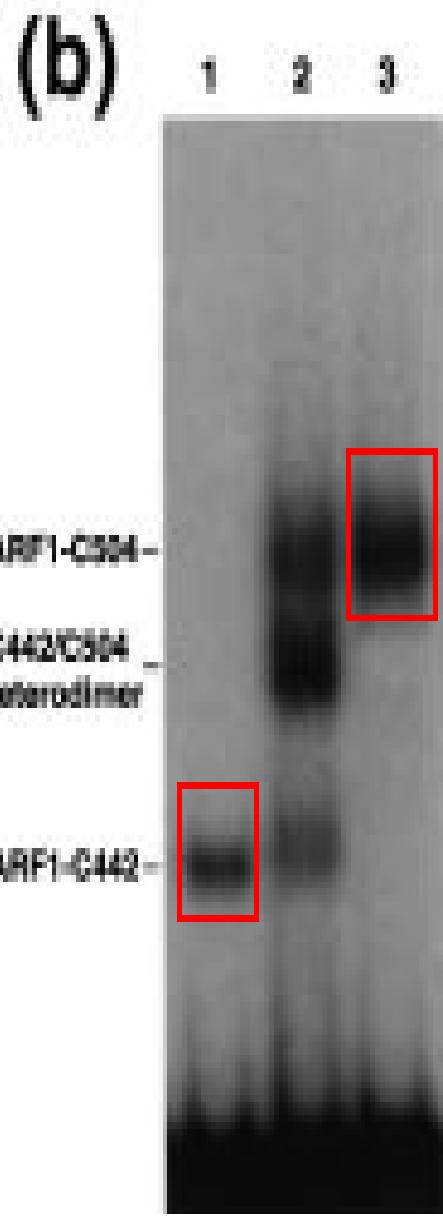
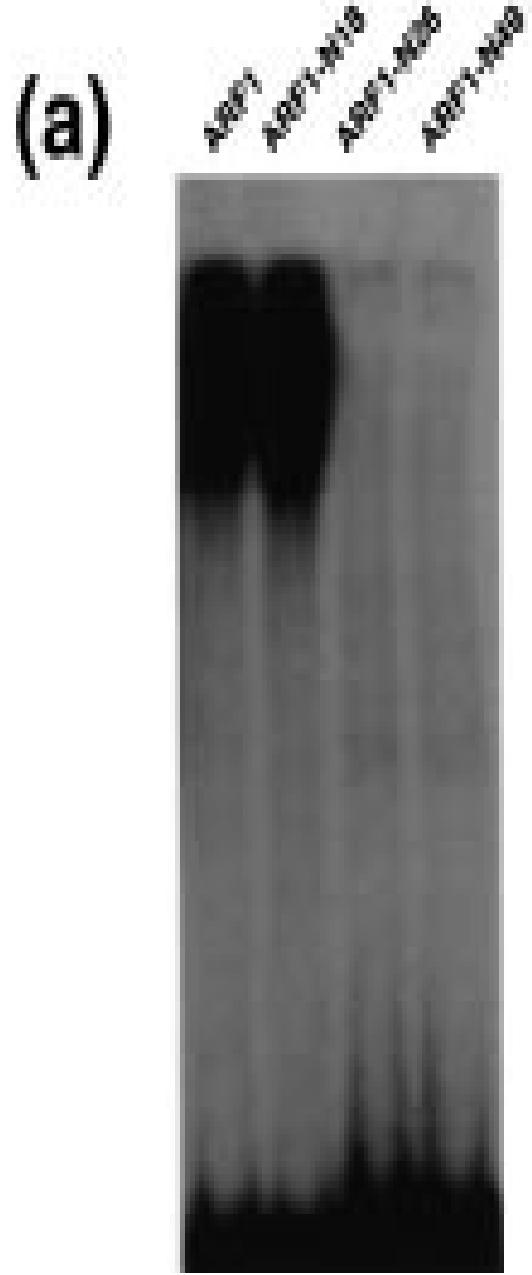
# **ARF1 binds as a dimer to palindromic TGTCTC AuxREs**

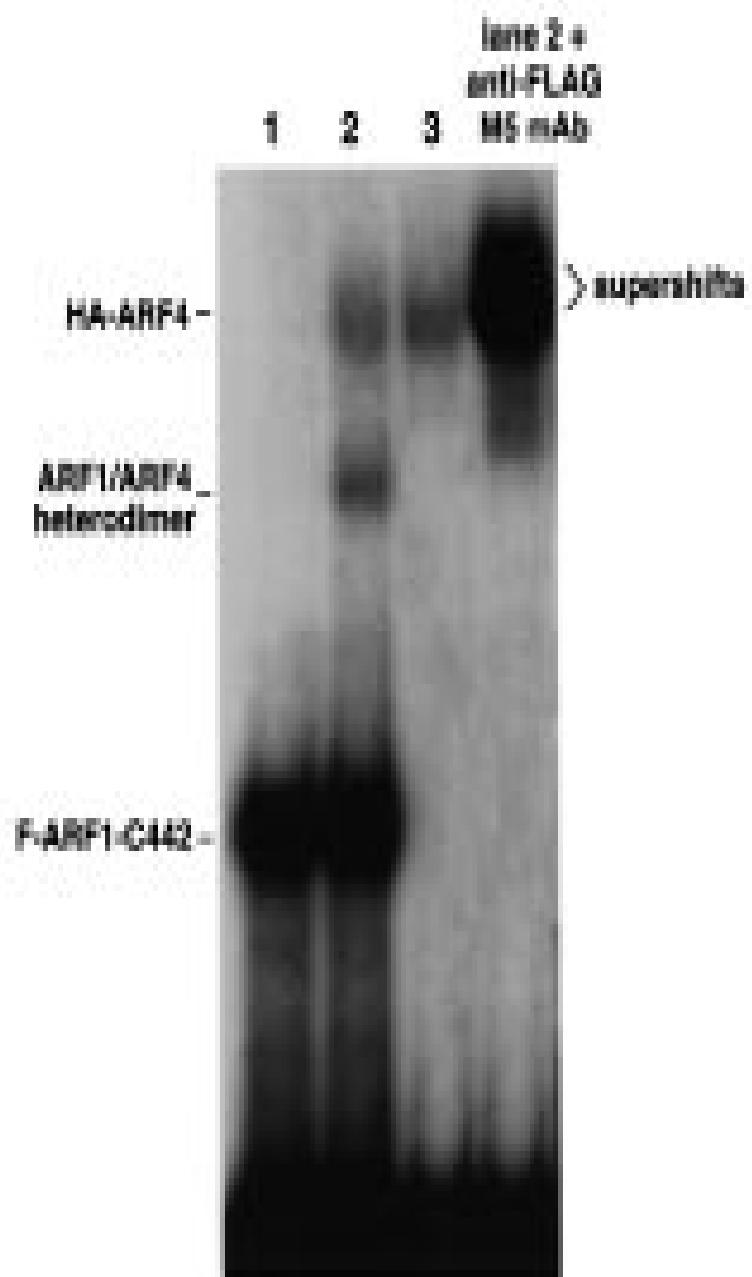
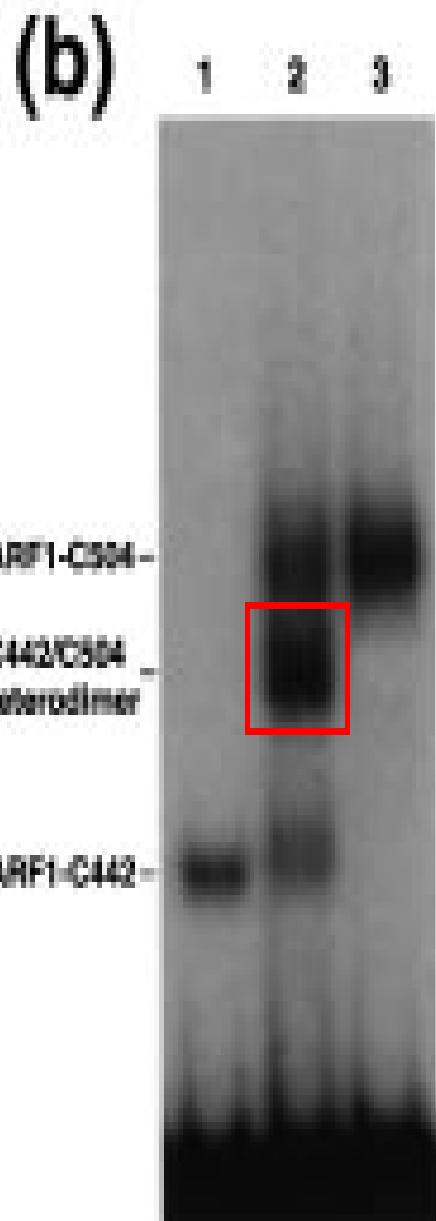
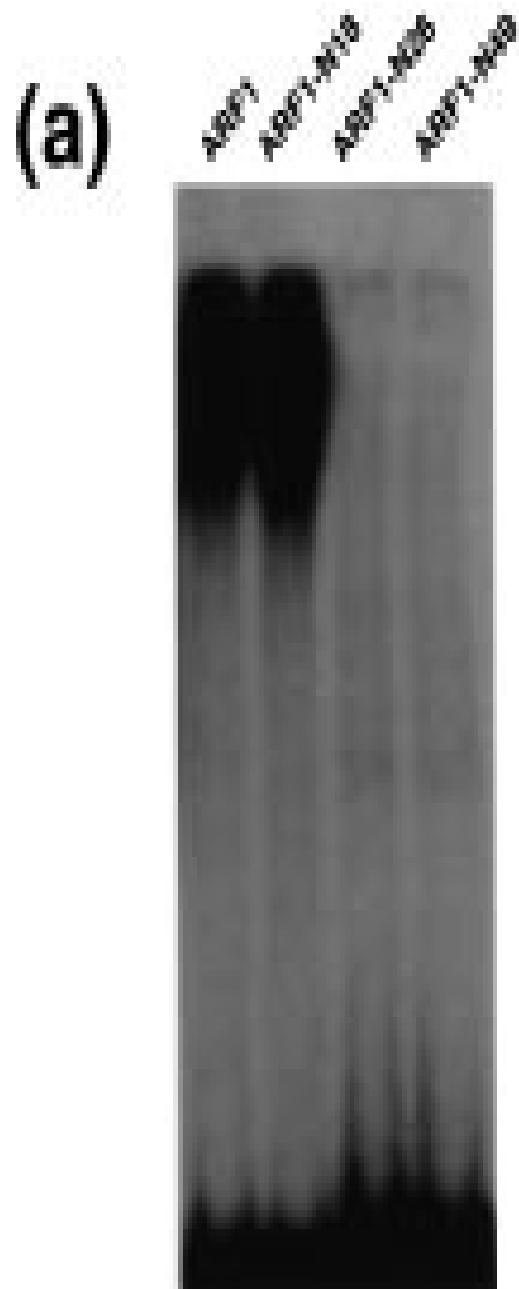
## Experiment:

- Gel mobility shift assay mit ER7 und ARF1-C504, ER7 und ARF1-C442; einzeln und zusammen
- Gel mobility shift assay mit ER7 und ARF1-C442, ER7 und ARF4; einzeln und zusammen
- Supershift mit FLAG- und HA-Epitope Tagging

## Ergebnisse:

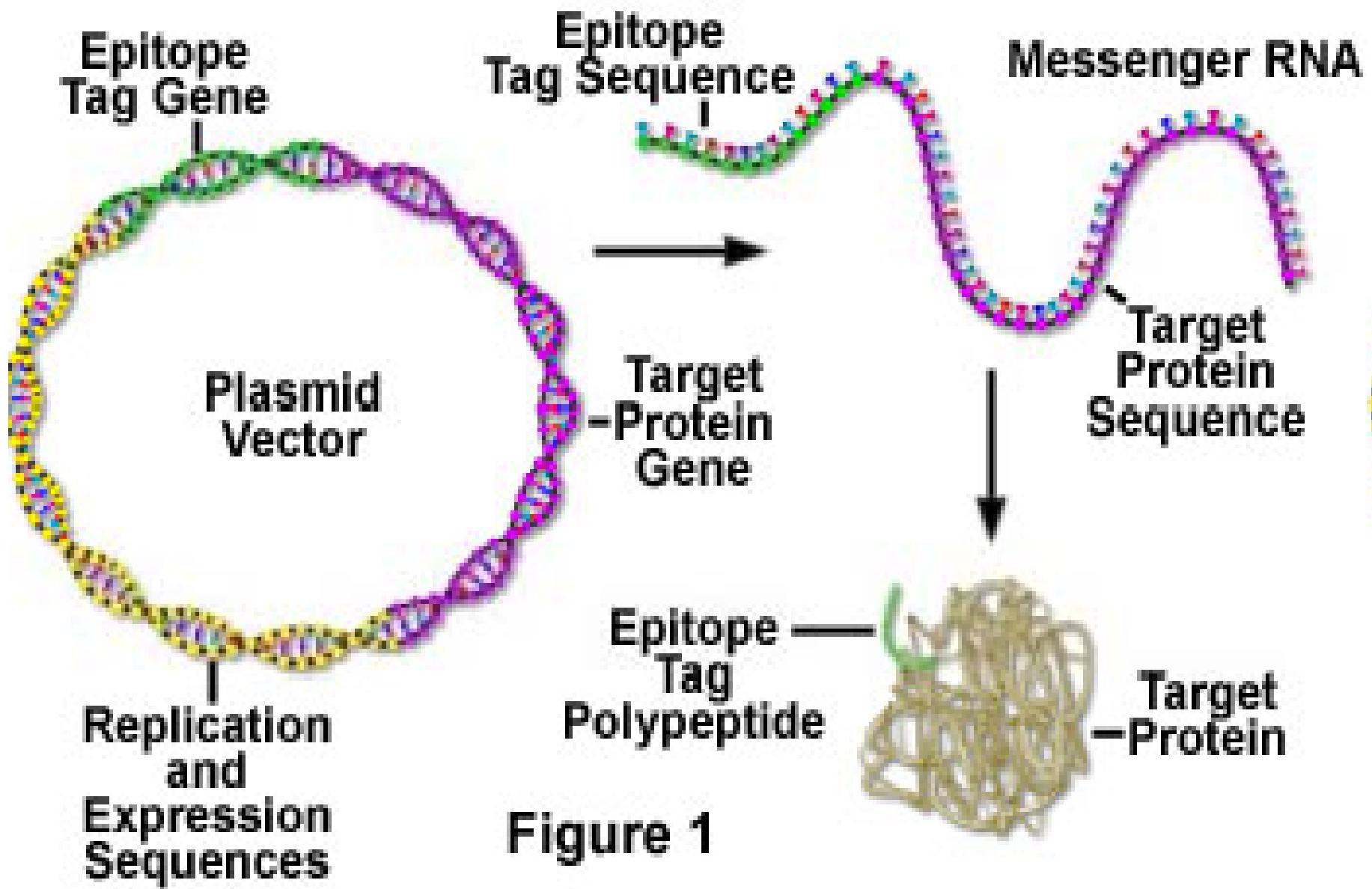
- ARF1-C504 und ARF1-C442 bilden jeweils unterschiedlich große Komplexe mit ER7
- Beide zusammen mit ER7 ergeben Komplex von mittlerer Größe → Komplex aus ER7 und ARF1-C504/ARF1-C442 als Heterodimer





- Gel mobility shift assay mit ER7, ARF1-C442 und ARF4 → ebenfalls mittlerer Komplex zu erkennen → Homo-/Heterodimer-Bildung an ER7 einheitlich bei untersuchten ARFs

# Epitope Tagging with Recombinant DNA

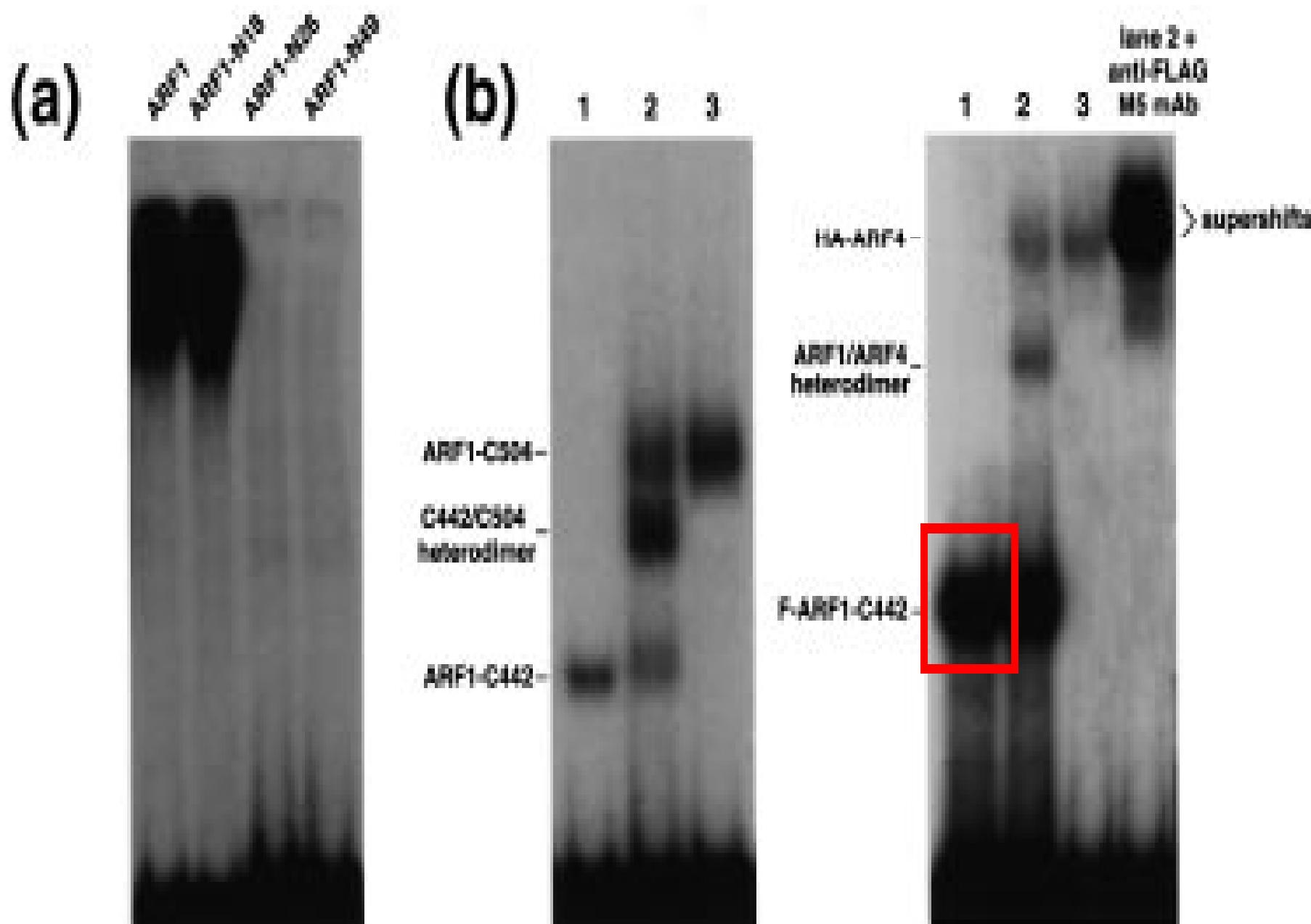


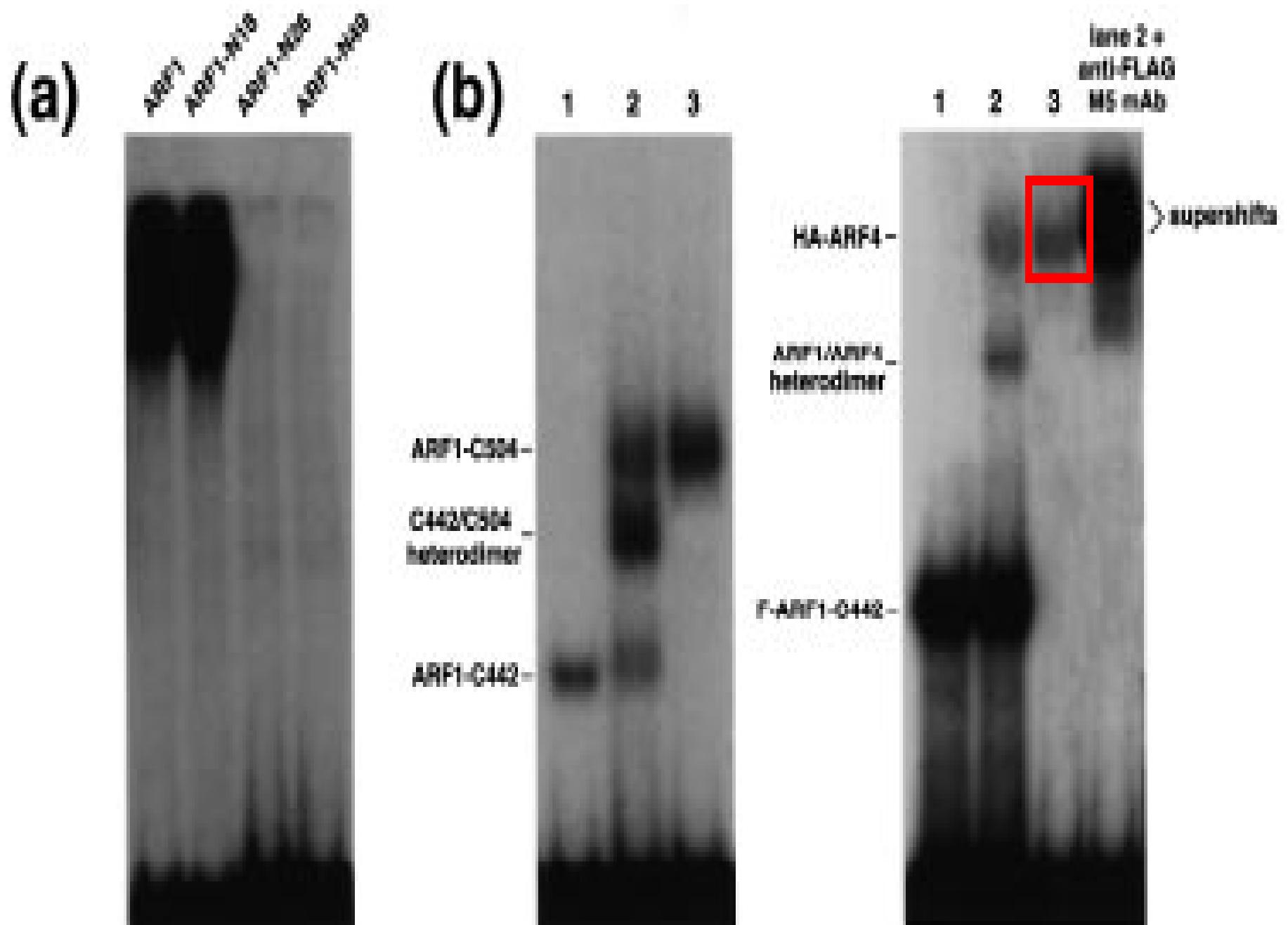
Name	Sequence	Detection	Purification	Reference
FLAG	DYKDDDDK	M1,M2, M5	Immunoaffinity	1
6 x His	HHHHHH	Anti-His	Metal affinity	2
HA	YPYDVPDYA	12CA5	Immunoaffinity	4
c-myc	EQKLISEEDL	9E10	Immunoaffinity	5
GST	220 aa GST	Anti-GST	Glutathione	3
Protein A	IgG-binding domain	IgG	IgG	10
CD	18 aa exon	12CA5	Immunoaffinity	19
Strep-tag	WSAPQFEK	Strep-Tactin	Strep-Tactin	11
MBP	Maltose-binding protein	Anti-MBP	Maltose	13
CBD	Chitin-binding domain	Anti-CBD	Chitin	14
S-tag	S-peptide	Anti-S peptide	S-peptide	16
Avitag	GLNDIFEAQKIEWHE	Avidin	Avidin	12
CBP	CBP peptide	Anti-CBP	Calmodulin	15
TAP	Calmodulin- and IgG-binding domains	Anti-CBP	Calmodulin and IgG	15
SF-TAP	Strep Tag II and FLAG	Anti-FLAG	Strep-Tactin	28

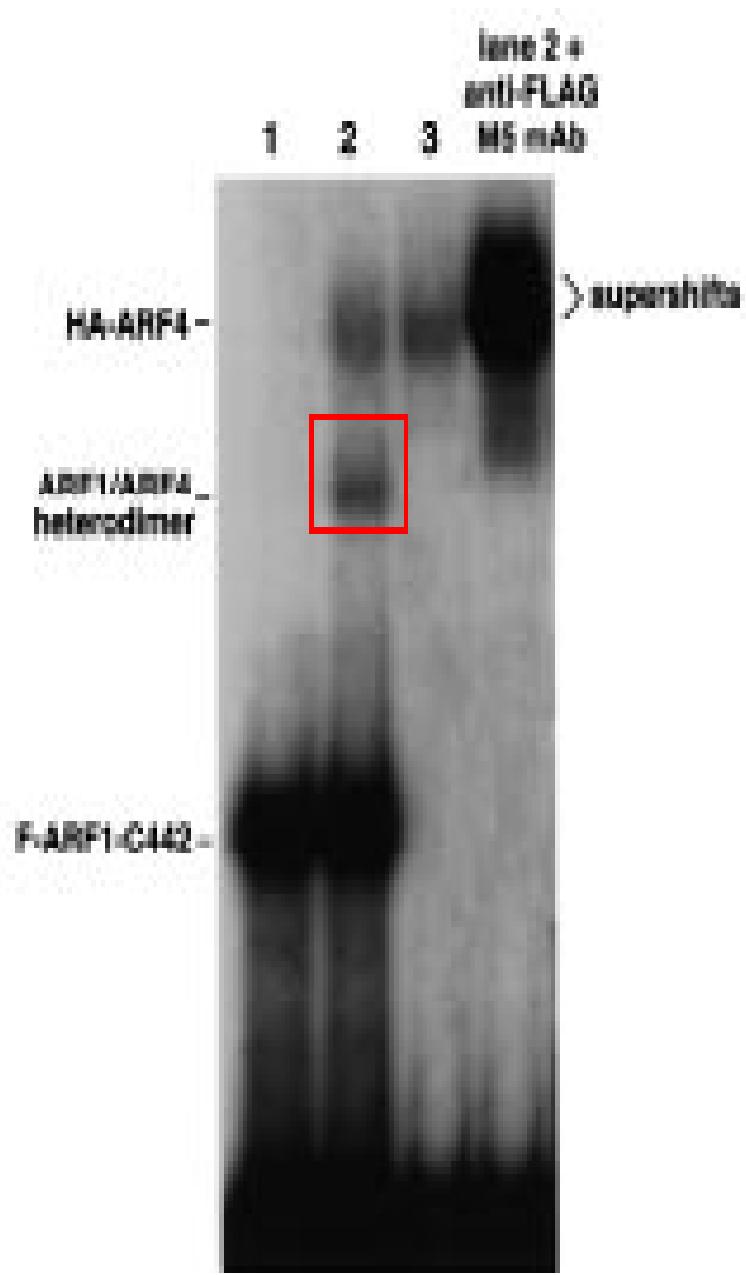
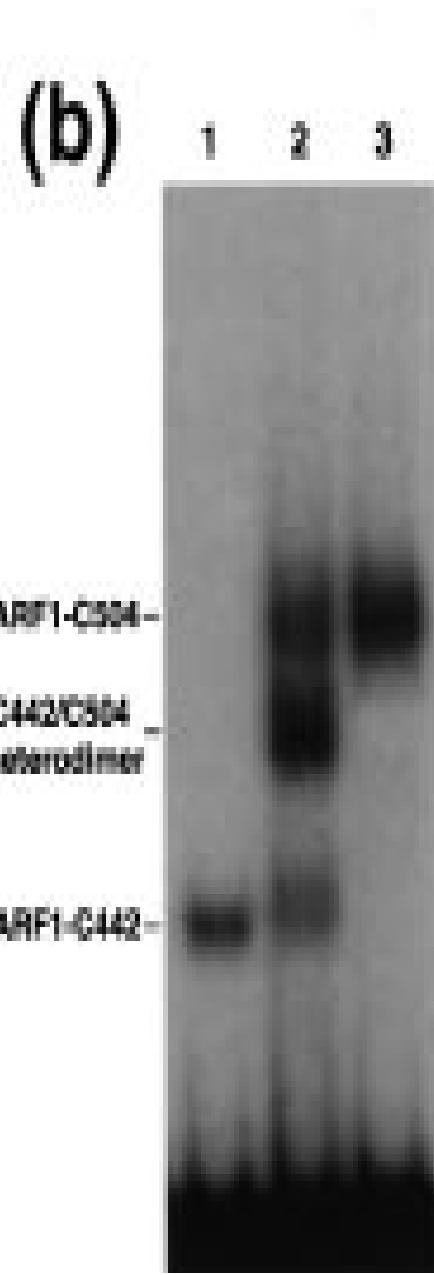
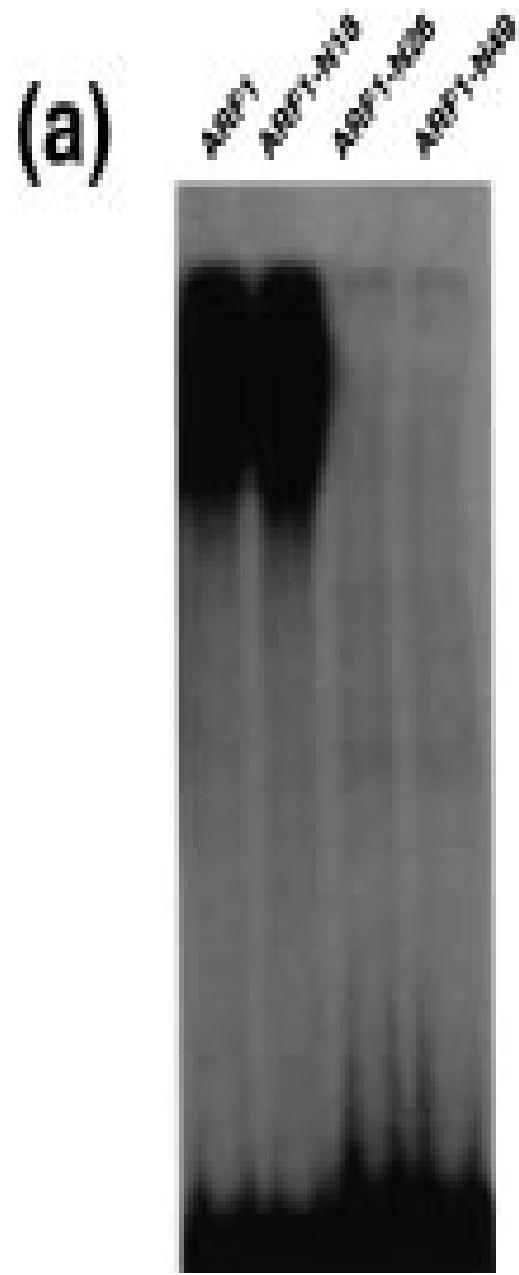
GST, glutathione-S-transferase; CBP, calmodulin-binding peptide.

## *Epitope-Tagging*

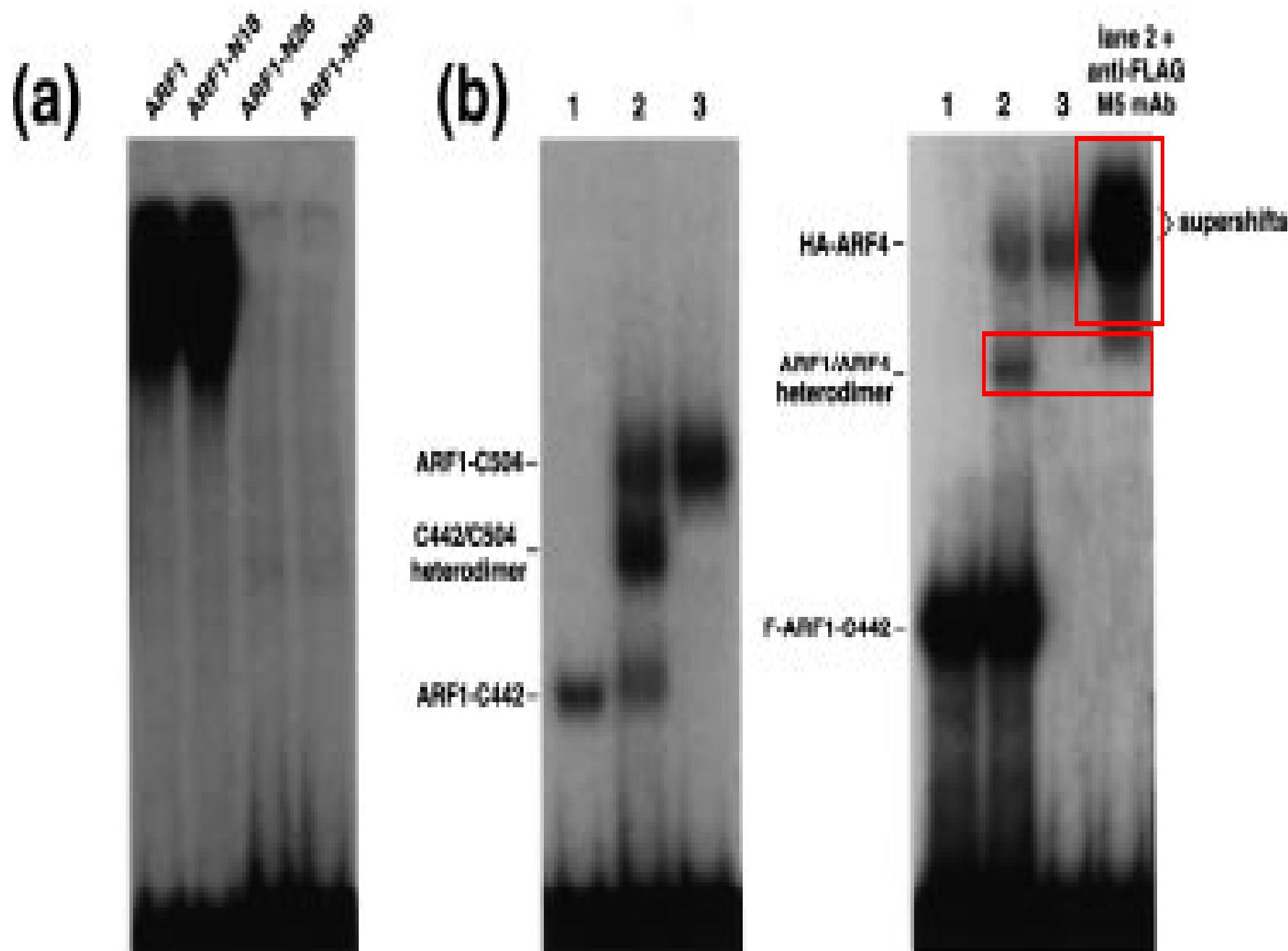
- Gel shift mit FLAG-tagged ARF1-C442, ER7
- Gel shift mit HA-tagged ARF4, ER7
- Beide tagged ARFs zusammen mit ER7, alles ohne Antikörper (Ab)







- Supershift mit F-ARF1-C442, anti-FLAG Ab, HA-ARF4, ER7 → nur noch 1 Bande weit oben; F-ARF1-C442/HA-ARF4-Bande weg → F-ARF1-C442 Teil des Dimer-Komplexes an ER7



- Supershift mit HA-ARF4, anti-HA Ab, F-ARF1-C442, ER7 → HA-ARF4 Teil des Dimer-Komplexes
- →Schluss, beide Teil des Dimer-Komplexes

- Andere Studie → ARF1 größere Affinität zu palindromischem AuxRE als zu einzelner TGTCTC-Sequenz
- → ARF1 und ARF4 binden an palindromisches ER7 AuxRE als Heterodimer

# Nächstes Mal:

**The TIR1 protein of *Arabidopsis* functions in auxin response and is related to human SKP2 and yeast?Grr1p**

Max Ruegger, Elizabeth Dewey, William M. Gray, et al.  
*Genes Dev.* 1998 12: 198-207

Tobias und Christian

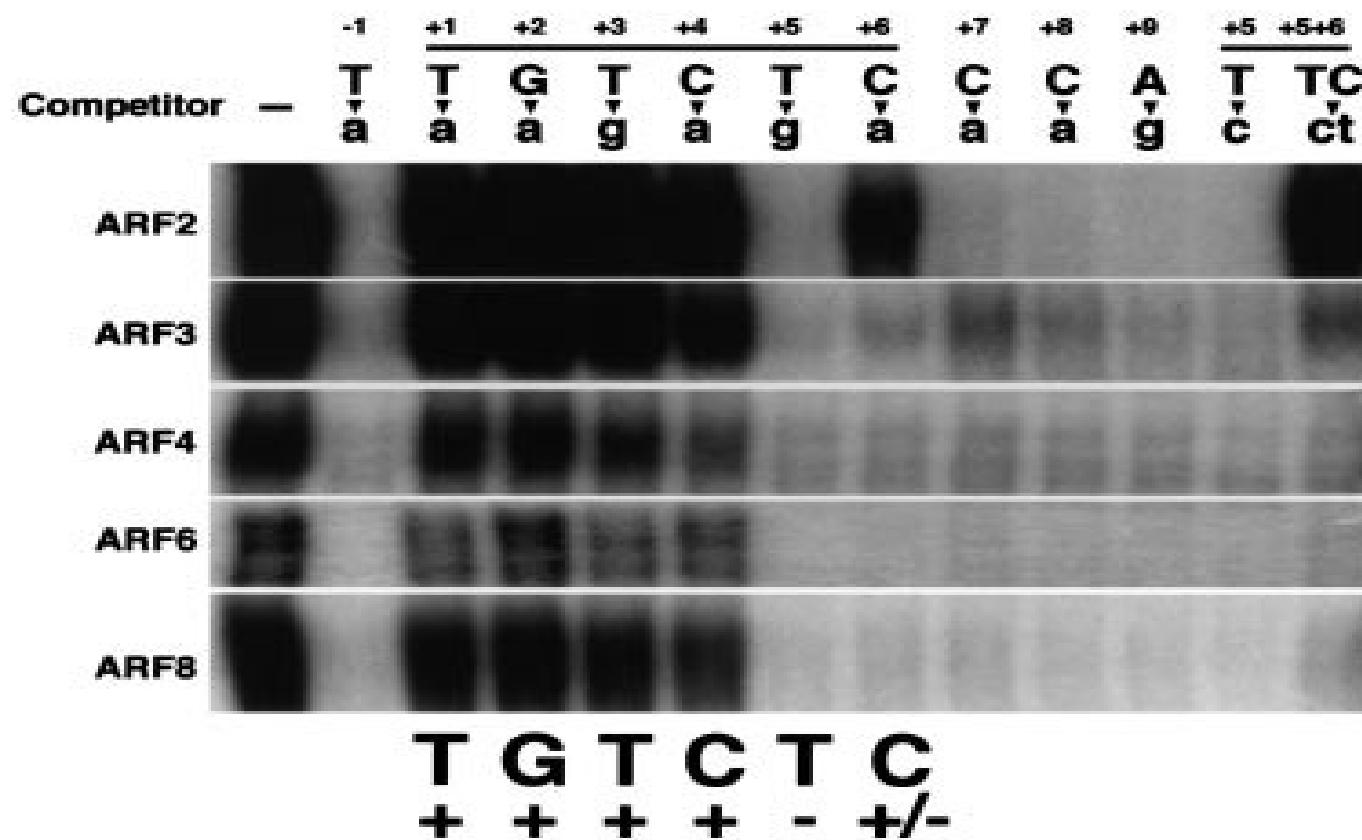
# Spezifische Bindung des ARF Proteins

- ARF 1 und ARF5/IAA24 bindet spezifisch an TGTCTC AuxRE
- Untersuchung, ob auch andere ARF Familien Mitglieder an die selbe DNA-Bindestelle binden (ARF2,ARF3, ARF4, ARF6 und ARF 8), m.H. von mobility shift assay
- dabei wurde das Palindrom P3(4X) verwendet

# Palindrom P3 (4X)

- 3 Kopien vom ER7 AuxRe
- nur 2 von 3 Palindromen können von ARF1 besetzt werden
- durch den Verdeckungseffekt

# Spezifische Bindung des ARFs an das Palindrom TGTCTC AuxRE



- Position **Spezifische Bindungsstelle** sind erforderlich für die Bindung von ARF2, ARF3, ARF4, ARF6 und ARF8
- Für ARF3 zeigt sich eine supershifted Bande
- Der Austausch einer Base an Position +5 wurde toleriert von 6 ARFs, ähnlich den Ergebnissen von ARF1 und ARF5/IAA24
- Position +6 zeigt einige Variationen zwischen

- ARF2 und ARF3 verhielten sich wie ARF1 und ARF5/IAA24
- Daraus folgt, dass Position +6 sehr wichtig für die Bindung ist
- Bindung von ARF2 und ARF3 ist viel mehr beeinträchtigt, wenn eine doppelte Mutation in Position +5 und +6 vorliegt
- Ähnlich wie bei ARF1 und ARF5/IAA24

- Im Kontrast zu den anderen ARFs hat ARF8 einen kleineren Effekt auf den Verlust der Base an Position +6 oder der Position +5 und +6
- Sowie haben Verluste außerhalb des Palindroms TGTCTC nur kleine Effekte auf die Bindung von ARF2, ARF3, ARF4, ARF6 und ARF8
- Mit der möglichen Ausnahme bei ARF3 an  
- ... -

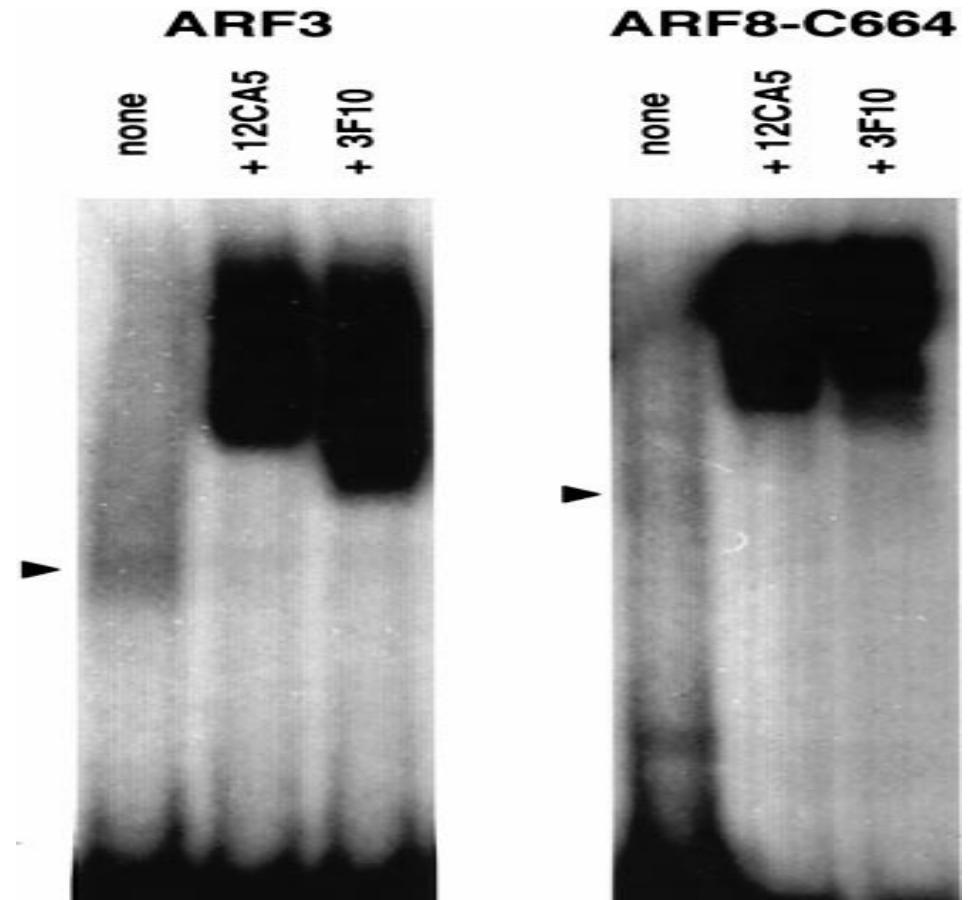
- Alles weist **spezifische Bindung** auf & das ARN brauchen eine Bindung an TGTC (Position +1 bis +4) um stabil zu binden, aber das TC an Position +5 und +6 ist besonders wichtig, mehr als alle anderen Positionen



- ARF3 fehlt es an einer Carboxyl-terminalen Domäne
- Diese Domäne beinhaltet konserviert Motive 3 und 4 (Abbildung 1a)
- ARF3 produzierte in einem Gel shift nur diffuse Schlieren mit P3(4X)

Die Bindung einiger ARFs wird gestört durch einen Carboxyl-terminalen Abbruch

- CTD oder eine artificiale Dimerisations Domäne die erforderlich ist für die stabile Bindung von ARF3 und ARF8 an das Palindrom TGTCTC AuxRE



Bindung von ARF3 und ARF8 an das Palindrom TGTCTC AuxRE

- Wenn man, aber HA epitope-tagged mit anti HA-epitope monoklonalem Antikörper mischt entsteht im Gel shift ein intensiver supershifted Komplex
- Kein supershifted Komplex ist zu beobachten wenn man nur die Antikörper mit der Probe mischt
- Das gleiche gilt, wenn man nur Antikörper mit den Proteinen und ARFs mischt

Bindung einiger ARFs

- ARF1 bindet an das Palindrom AuxRE und war unbeeinträchtigt vom Abbruch des CTD
  - ARF1 DBD ist definiert durch einen Carboxyl-terminalen Abbruch, der sequentiell vom Motiv 3 und 4 entfernt liegt und die nicht konservierte Mittelregion des ARF1 besitzt
  - CTD könnte eine Dimerisations Domäne sein, dies könnte die Bindung einiger ARFs am
- .. . . .. .. .

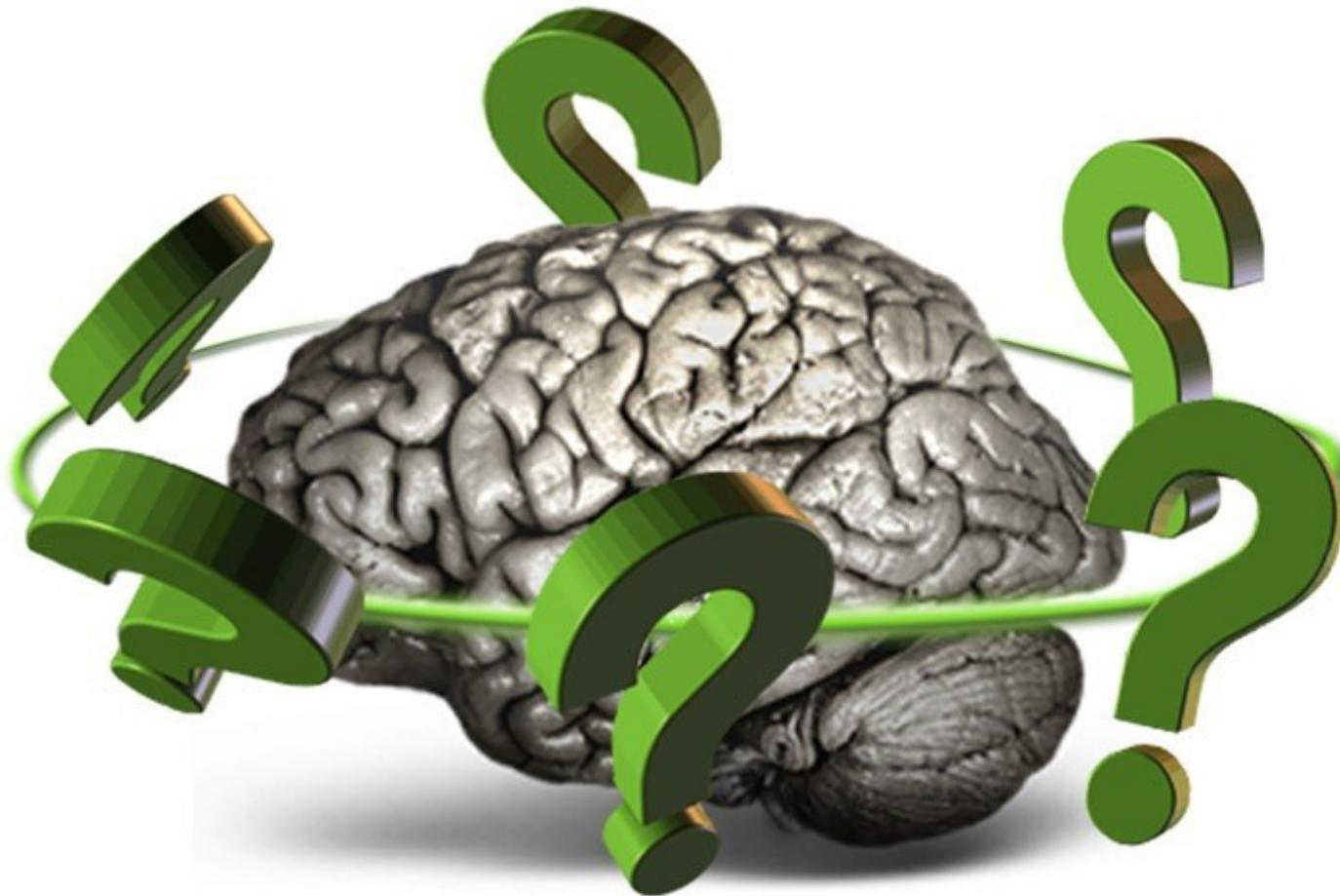
Bindung einiger ARFs

- ARF8 erzeugt eine diffuse Schmiererei, wenn man die Motive 3 und 4 entfernt, so wie bei ARF3
- Im Gegensatz zu dem distinkten Komplex
- Die Kombination der Antikörper (12CA5 oder 3F10) führt zu einem supershifted Komplex, wie bei ARF3 auch
- Gekürzte Formen der Motive 3 und 4 von ARF2, ARF5 und ARF6 zeigten verschmierte Banden im Gegensatz zu distinkten Komplexen in

Bindung einiger ARFs

- ARF3 und gekürzte Carboxyl Formen von ARF2, ARF5, ARF6 und ARF8 weisen daraufhin, dass diese Komplexe nicht sehr stabil sind
- Carboxyl-terminale Motive 3 und 4 sind sehr wichtig für die stabile Verbindung
- Anti HA Epitope Antikörper, auf Grund ihrer zweideutigen, kompensierten Natur, können den Verlust der Motive 3 und 4 kompensieren und den ARFs erlauben zu dimerisieren und stabil an das Palindrom TGTCTC AuxRE zu . . .

Bindung einiger ARFs



# Diskussion

- Neue Mitglieder der ARF-Familie in *Arabidopsis* identifiziert
- ARF1 bis ARF10 enthalten konservierte amino-terminale Domänen, die sich über 350 AS ausdehnen
- Diese Domäne ist ausreichend für ARF1 an TGTCTC zu binden
- DBD ist einmalig in Pflanzen und umfasst mehr als 120 AS, als zusätzliche

## Die ARF Multigen Familie

- In Mais, ähnliche Proteine identifiziert
- Deren Abscisinsäure als Hormonantwort bei der Embryonalentwicklung wirkt
- In VP1, einer carboxyl-terminalen B3 Domäne
- Hoch konserviert in VP1 ähnlichen Proteinen
- Verwandt mit ARF1 DBD
- Das die Sequenz der DNA spezifisch bindet

# Die ARF Multigen Famile

- Zusätzliche Proteine in Arabidopsis gefunden
- Enthalten Sequenz verwandten Teil von DBD in ARF1 und B3 Domäne in VP1
- Spezifische Bindung hat bewiesen das sie mit DBD verwandt sind

- ARFs, die der Ausnahme ARF5 enthalten ein CDT mit Motiv verwandten Motive 3 und 4, in dem Aux/IAA Protein
- Die Aux/IAA Protein Familie hat mehr als 15 Mitglieder in Arabidopsis und viele sind codiert durch das primary/early Auxin response Gene
- CTD in ARFs und Aux/IAA Proteinen sind wichtig für die Assoziation zwischen den beiden

# Die ARF Multigen Familie

- ARF Mittelregion zwischen dem Amino-terminalen DBD und CTD Motiv 3 und 4 ist nicht sehr konserviert
- Aktivierungsdomäne bei ARF5 und ARF6
- Hemmungsdomäne bei ARF7, ARF8 und ARF1
- ARFs kommen im gleichen Maße in Wurzeln, oberirdisches Gewebe und in Zellkulturen vor

- ARF ~~Genes sind in fast allen Hauptzellen der adulten Pflanze zu finden~~
- Genauso wie in kultivierten und undifferenzierten Zellen
- ARFs mit der ähnlichen DNA-target-sites sind in einigen Zellen zur selben Zeit vorhanden
- Andererseits ist es möglich, dass es nur wenige Zell- oder Gewebespezifische Unterschiede im Expressionsmuster für verschiedene ARFs gibt

# Die ARF Multigen Familie

- Innerhalb bestimmter Pflanzenorgane ist die Genexpression auf einige Zellen oder Entwicklungsabschnitte begrenzt
- Dies wurde bei ARF3/ETTIN und bei ARF5/IAA24/MONOPTEROS gezeigt
- Daraus folgt das dies bei ARF3 und ARF5/IAA24 identisch sind

# ETTIN Gene

- Werden nur im inflorescence Meristem exprimiert und bestimmt durch das florale Meristem
- Entwickelt sich als florales Gewebe und leitet zudem auch noch florale und vasculäre Gewebe ein und wird dann auch dort exprimiert

# Monopteros

- Exprimiert werden sie in subepidermalen Zellen von jungen globulären Embryos
- Aber die Expression ist begrenzt durch differenzierte vaskuläre Stränge in der späteren stufenweise Embryonalentwicklung

# Die ARF Multigen Familie

- Dies deutet darauf hin das ARF3 und ARF5 nicht in allen Zellen und Gewebetypen exprimiert werden
- Dies kann darauf hindeuten das sie eine wesentliche Rolle in der Entstehung und Entwicklung von vaskulären Strängen spielen
-

# ARF Multigen Familie

- ARFs könnten Aktivitätsgene sein, die bei der Antwort zur Lokalisation eine Rolle spielen
- Die Aktivität nimmt mit zunehmender Auxin Konzentration in den vasküären Geweben zu
- Mutationen in den MONOPTERES Genen behindern die Entstehung der vaskulären Stränge in der Embryonalentwicklung

# ARF Multigen Familie

- Experimente haben suggeriert das Auxin eine Schlüsselrolle in der vaskulären Gewebeentwicklung und Differentzierung spielt
- Es kann sein das eine minimale Funktion der ARFs für die vaskuläre Entwicklung bei den targeting primary/early Auxin response Genen bei der vaskulären Strukturierung und Entwicklung

# ARF Multigen Familie

- Auxin Gene unterstützen nicht selbst die primary/early response Gene, da sie die mRNA Synthese nicht steigern können, egal wieviel Auxin zugeben wird

- ARF1 bis ARF6 und ARF8 binden spezifisch an das TGTCTC Element im Palindrom AuxRE
- Ähnlich zu ARF1 und ARF5
- Wegen den feinen Unterschieden können Identifizierungen an den Positionen +5 und +6 im TGTCTC Element bei verschiedenen ARF Familien Mitgliedern vorgenommen werden

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- Es können viele verschiedene Typen von ARFs in ein und der selben Zelle vorliegen
- Es ist aber noch nicht klar, welche Parameter (ausser die ARF Konzentration) erforderlich sind um AuxRE zu binden

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- Natürliche TGTCTC AuxREs können aus zusammengesetzten Elementen bestehen
  - Bestehend aus einer einzelnen TGTCTC half site, diese liegt angrenzend oder überlappend mit einen konsitutiven oder gekoppelten Element
  - Es ist möglich, dass diese konstituiven/gekoppelten Elemente die Bindung des ARF an das AuxRE beeinflussen
- ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften**

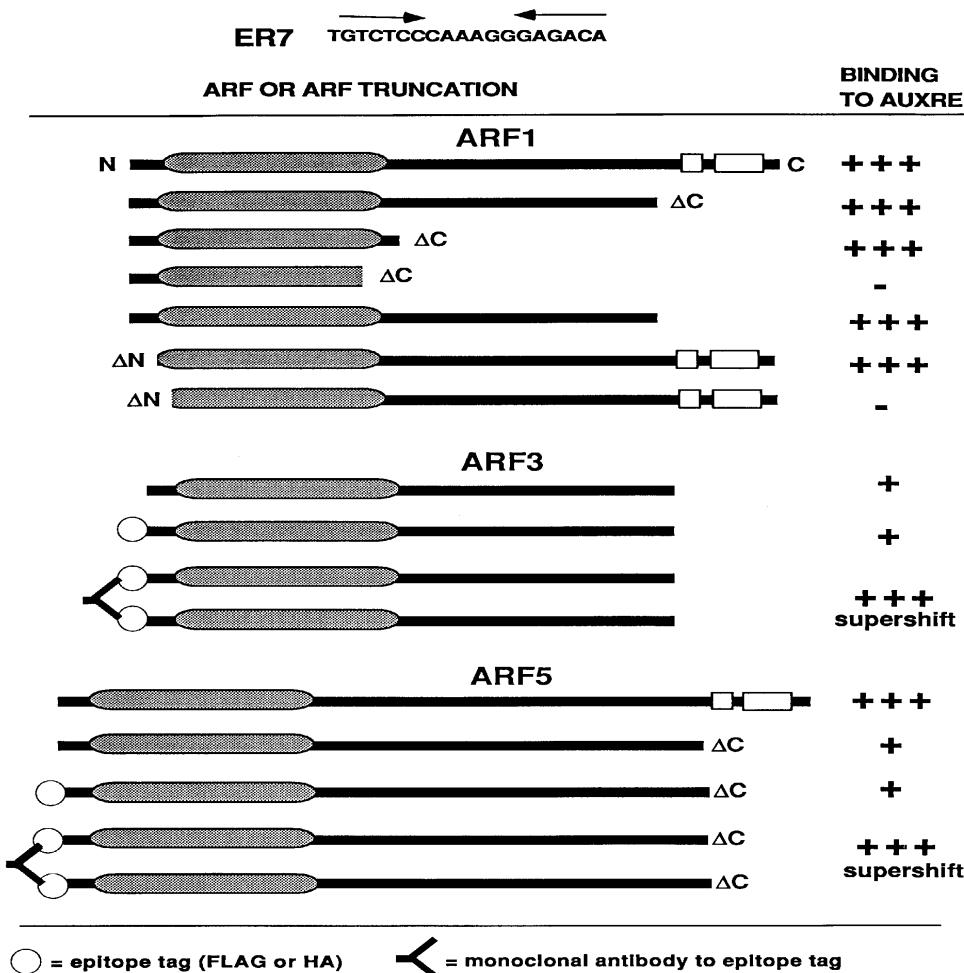
- Einfache Palindrom AuxRe wurden auch in natürlichen Elementen des primary/early Auxin response Genen gefunden
- In diesen Fällen muss noch etwas anderes die konstitutiven/gekoppelten Faktoren beeinflussen
- Wenn mehr als ein Typ von ARF in der Zelle vorliegt

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- ARF3 fehlt es an der CTD Dimerisierungs Domäne und es kann keine effektive Bindung an einfache AuxREs mehr statt finden, dies erfordert einen gekoppelten Faktor für die spezielle Zusammensetzung des AuxREs
- Die Bindung von ARFs an das Palindrom TGTCTC AuxRE wird stabilisiert, wenn ein ARF mit einem anderen dimerisiert

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

# ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften



- Voraussetzung für die effektive Bindung von ARF1, ARF3 und ARF5 an das Palindrom AuxRE

# ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- Die Abbildung fast die Bindungen für ARF1, ARF3 und ARF5 an das ER7 Palindrom AuxRE
- Es scheint die Bindung an das Palindrom zu erleichtern, wenn eine Protein-Protein-Interaktions-Domäne existiert, bestehend aus einem Carboxyl-terminalen Motiv 3 und 4
- ARF3 fehlt es an diesen Motiven und somit auch an der stabilen Bindung am Palindrom AuxRE

- Experimente aus Hefe-2-Systemen haben gezeigt das ARFs mit anderen ARFs und mit AUX/IAA Proteinen assozieren und diese Interaktion wird erleichtert durch die Motive 3 und 4
- Diese Motive wurden in CDTs der beiden ARFs und AUX/IAA Proteinen gefunden
- Diese Interaktion deutet an, dass eine stabile

Hefe Experiment (in vivo)

- Das Palindrom AuxRE ist nicht nur bei hoher Syntheseaktivität vertreten (z.B. ER7)
- Sie wurden auch in natürlichen Promotoren gefunden, als PS-IIA4/5

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- ARF1 bindet auch ohne die Motive 3 und 4 stabil an das Palindrom TGTCTC
- Und es bindet stärker an das Palindrom AuxRE als an die half site von TGTCTC
- Da es ähnlich dem AFR1 DBD ist und damit die Dimerisierung erleichtert
- Solche Dimerisierungs-Domänen könnte mehrere effiziente Funktionen haben, als andere ARF DBDs

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- In einigen Fällen binden ARF Dimere besser als ARF Monomere
- Trotzdem erleichtert die Dimerisierung von Motiv 3 und 4 im CTD die Bindung oder bei Epitop-tag die Kombination mit einem Anti-Epitop-Antikörper
- Es zeigt sich ein ARF Gen Expressions Muster, die eine Sequenz spezifische Bindung an das TGTCTC AuxRE aufweist

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- Homo- und Heterodimerisierung am Palindrom, deutet darauf hin das die Regulation der Auxin induzierbaren Genexpression sehr Komplex ist
- Da ARF mRNAs immer exprimiert werden, in adulten Pflanzenorganen und Zellkulturen, ist es möglich, dass es mehrere Typen von ARF Funktionen gibt
- An ein und dem selben Auxin response Genen oder an verschiedenen, in ein und der selben
  - "

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- Auxin induzierte Promotoren beinhalten ein zusammengesetztes AuxRE, was sehr häufig als Palindrom AuxRE wirkt
- Diese Kombinationen sind aber begrenzt
- ARF Monomere binden nicht so effizient an TGTCTC AuxREs so wie ARF Dimere
- 

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- Die Dimerisierung von Motiv 3 und 4 führt bei ARFs und AUX/IAA Proteinen zu einer verschieden förmigen Beeinflussung der Transkriptionsfaktoren vom primary/early Auxin response Genen
- Motiv 3 und 4 können in ARF spezifische Interaktionen zwischen den Transkriptionsfaktoren unterschützen
- Diese entscheiden welche ARFs binden an der

ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- Carboxyl-terminale Motive von beiden ARFs und AUX/IAA Proteine können auch an der Interaktion der potenziellen Aktivierung oder Hemmung bei TGTCTC AuxRE
- Es ist möglich das diese Motive Interaktionen fördern können
- Dies wird benötigt für den Kern-Import von einigen ARFs und/oder AUX/IAA Proteinen
- Auf Lebenszeit modulieren diese die noch instabilen AUX/IAA Proteine oder ARF/AUX/IAA Komplexe welche das DNA targeting von ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

- Auf Lebenszeit modulieren diese die noch instabilen AUX/IAA Proteine oder ARF/AUX/IAA Komplexe welche das DNA targeting von ARFs
- 

## ARF DBD und DNA Bindungs-Eigenschaften

# Fazit

- Wir haben Erfahren das ARF Proteine dimerisieren können und so besser an das Palindrom AuxRE binden
- Welche ARFs mit einander dimerisieren ist noch nicht klar

# Aktuelles Modell 1999