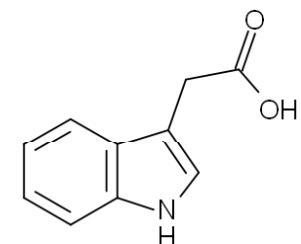


ARTICLES

The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor

Stefan Kepinski^{1,2} & Ottoline Leyser¹



GLIEDERUNG (I)

Wiederholung

Methoden

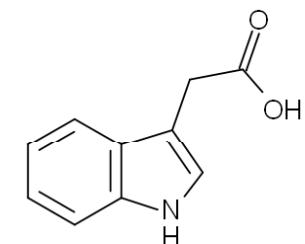
Interaktion von Auxin mit SCF^{TIR1}

SCF^{TIR1} bindet Auxin direkt

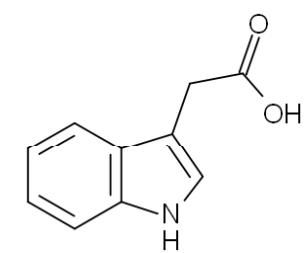
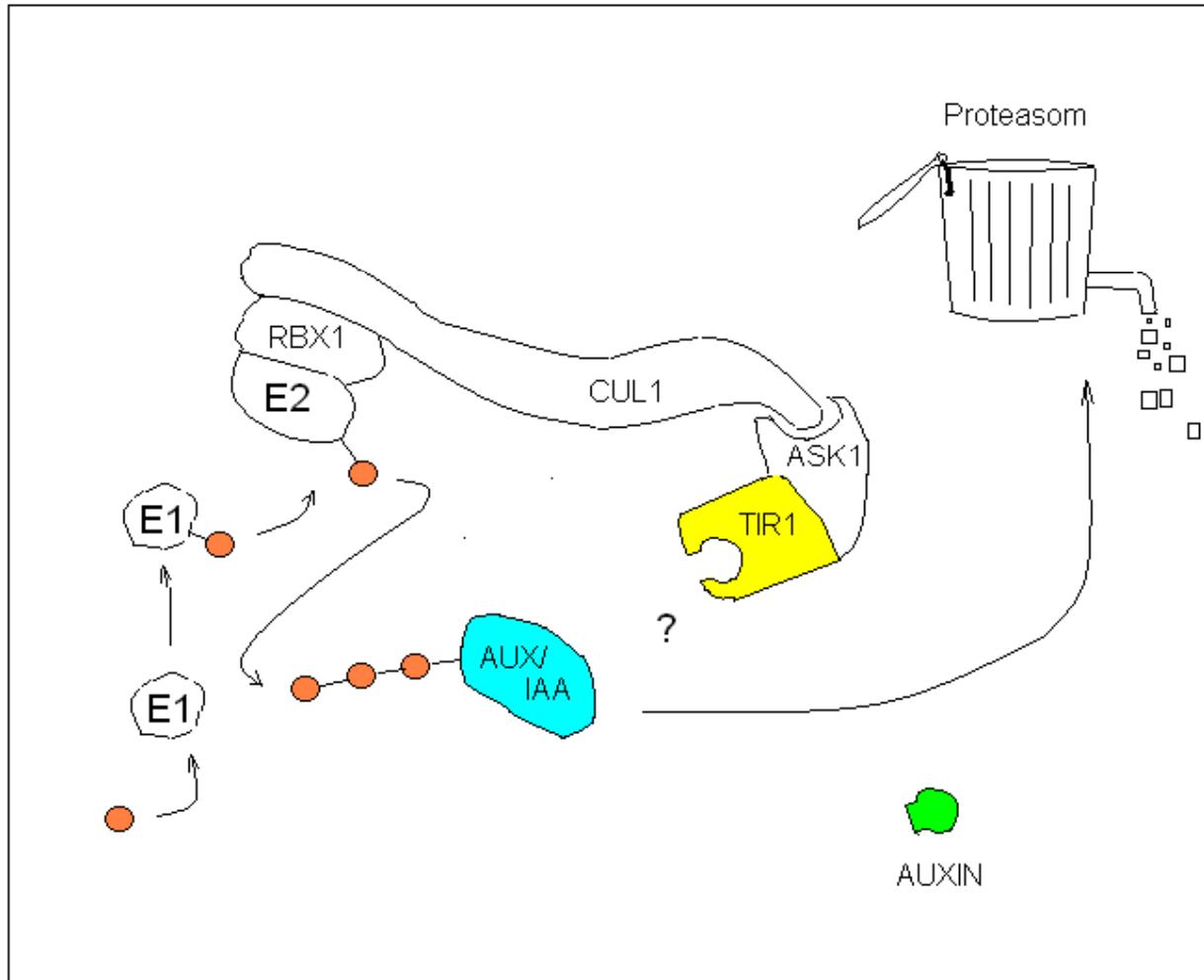
TIR1 ist ein Auxin Rezeptor

Für die Bindung von TIR1/ Aux/IAA ist die F-Box notwendig

Zusammenfassung



WIDERHOLUNG (I)



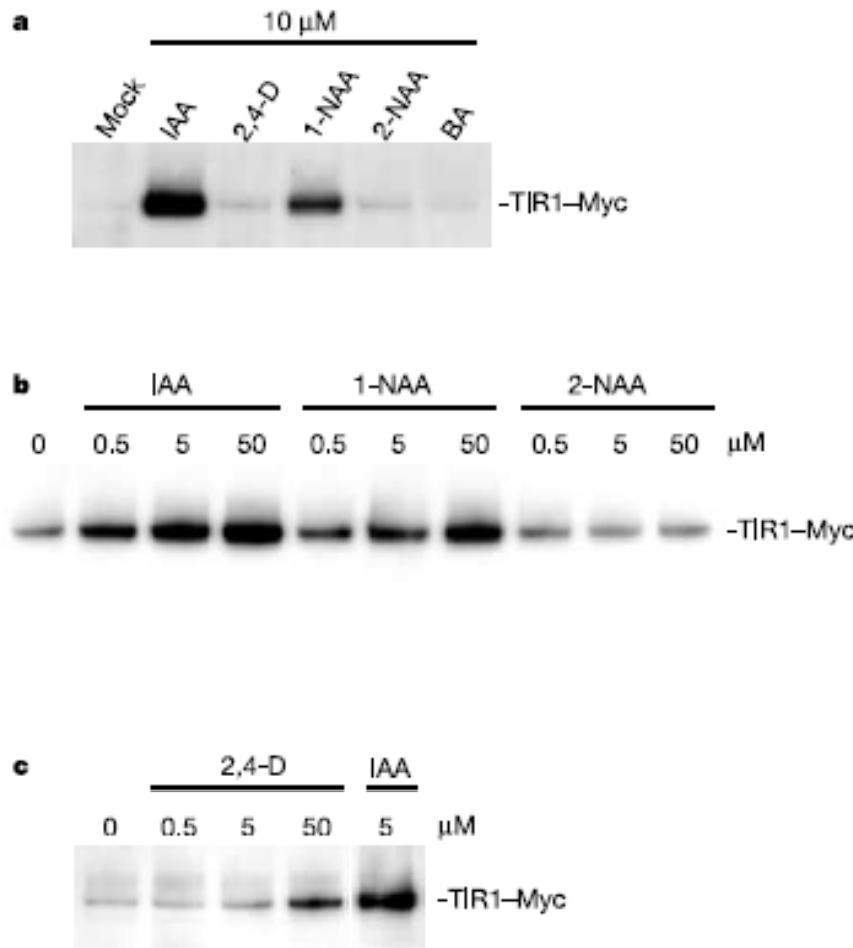
METHODEN (I)

Pull-down assays

Xenopus laevis Embryo Expressionssystem

Weizenkeim Extrakte

Interaktion von Auxin mit SCF^{TIR1} (I)

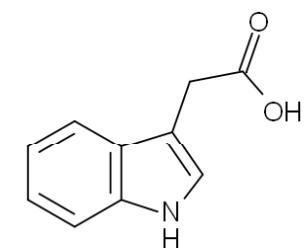


TIR1-Myc aus Extrakten der tir1-1 Mutante

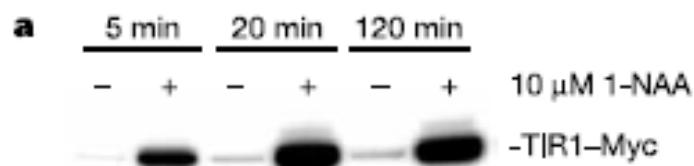
Biotinyliertes Aux/IAA Domain II Protein auf einer Säule immobilisiert.

Pull-down assay in Gegenwart von Auxin-derivaten

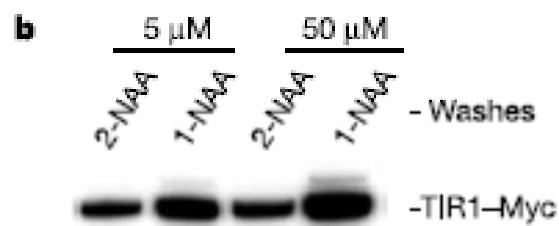
Auxin vermittelt eine verstärkte Rückgewinnung von TIR1-Myc.



Interaktion von Auxin mit SCF^{TIR1} (II)

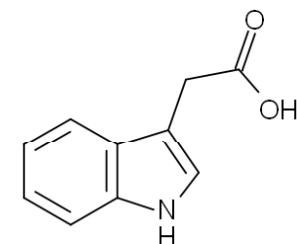


Die Bindung von Auxin an die TIR1-Myc verläuft schnell.

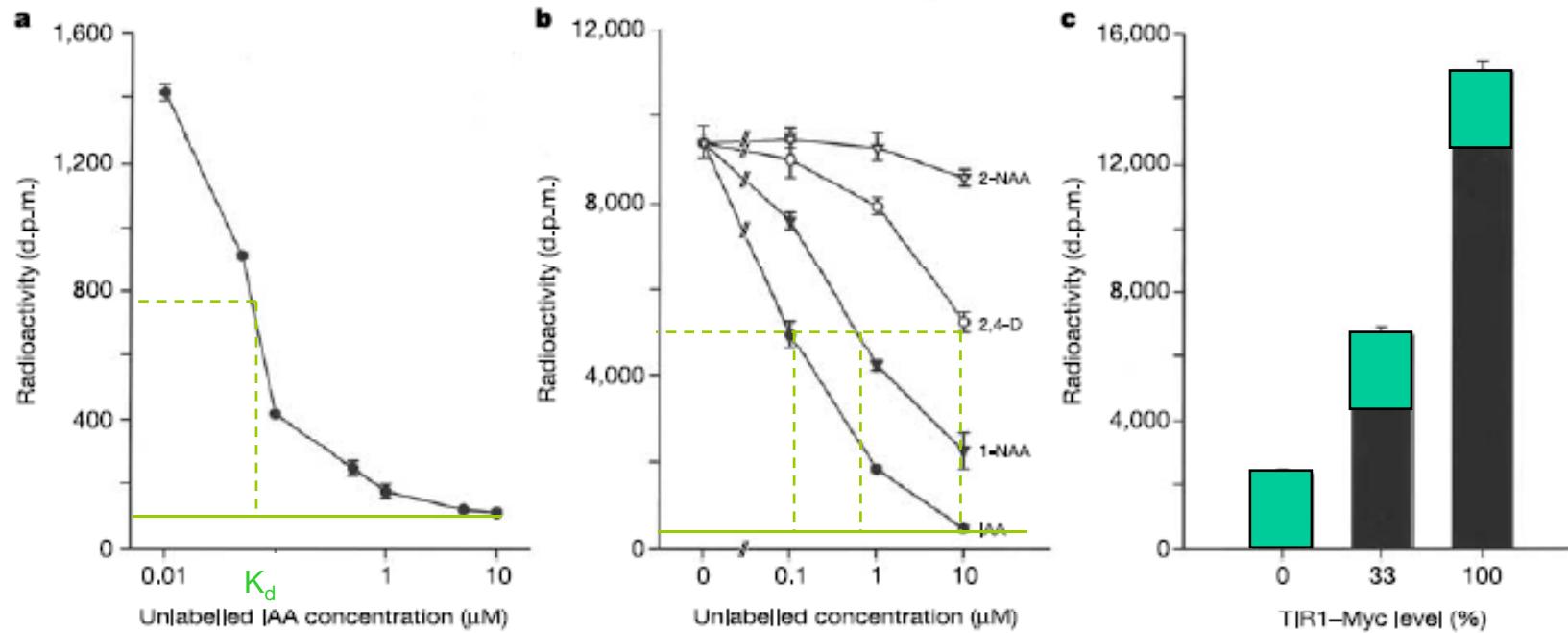


Die Bindung von gereinigten TIR1-Myc Extrakten an Aux/IAA, die in Puffer mit aktiven Auxin gewaschen wurden, ist stärker als die Bindung von Extrakten, die mit Puffer mit inaktiven Auxin gewaschen wurden.

TIR1-Myc, die mit Auxin versetzt, gewaschen und mit Aux/IAA domain II Proteinen zusammen gebracht wurden, zeigten eine starke Assoziation.

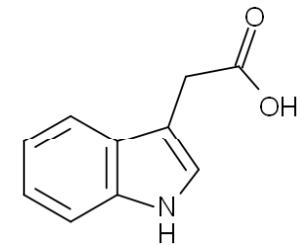


SCF^{TIR1} bindet Auxin direkt (I)

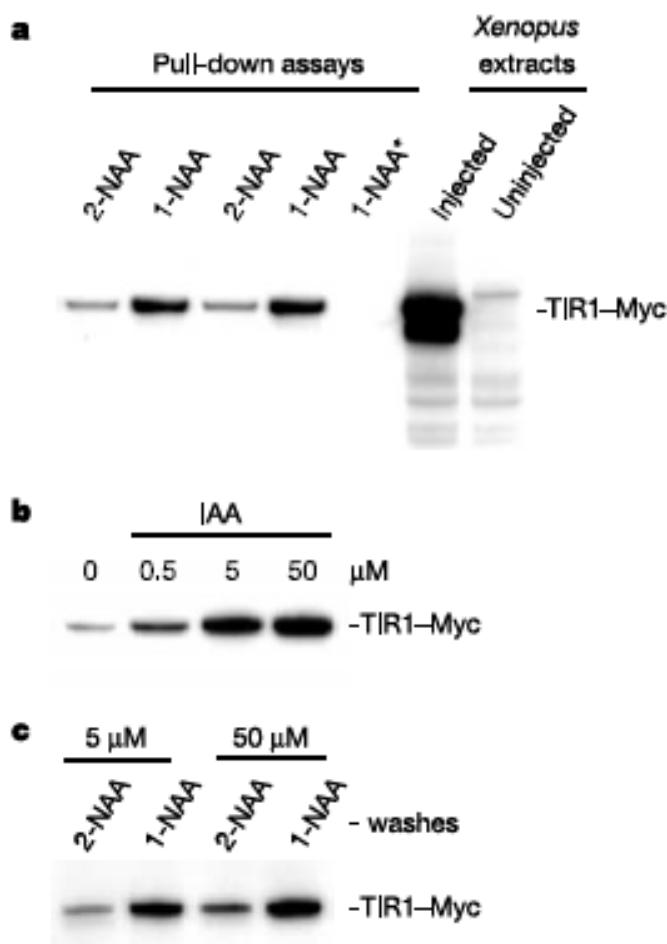


Nachweis der direkten Bindung von Auxin an TIR1-Myc über eine Verdrängungsreaktion. Radioaktiv markiertes IAA ($[H^3]IAA$) wurde von ungelabelten IAA ersetzt.

$$K_d = 25\text{nM}$$

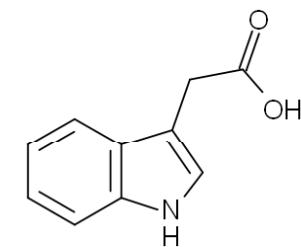


TIR1 – ein Auxin Rezeptor (I)

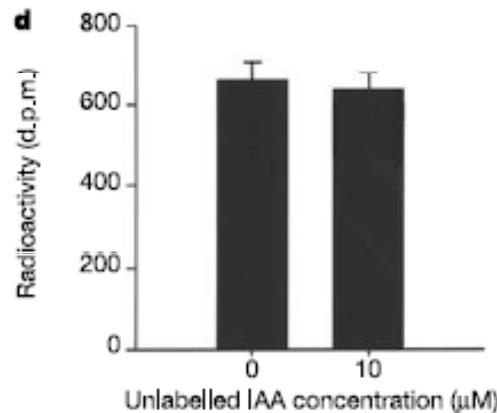


Expression von TIR1-Myc in *Xenopus laevis*.

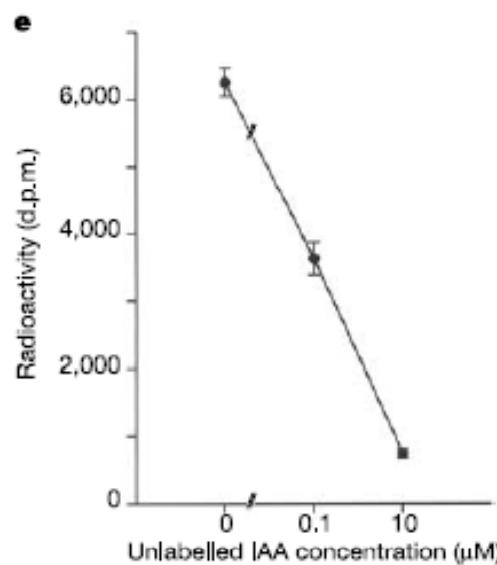
Aux/IAA domain II Peptide binden an TIR1-Myc in Anwesenheit unterschiedlicher Auxinkonzentrationen.



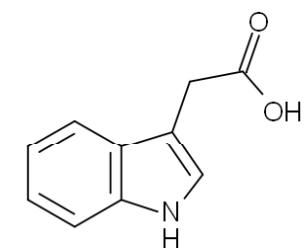
TIR1 – ein Auxin Rezeptor (II)



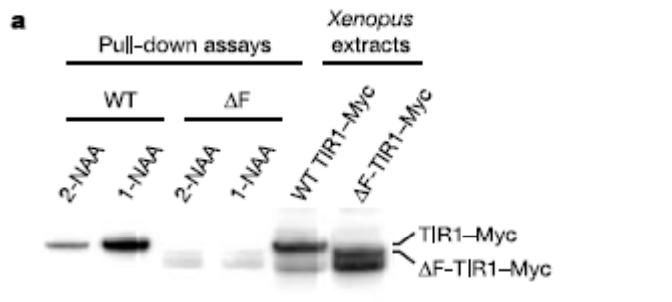
In *Xenopus laevis* Embryo Extrakten
(nicht mit TIR1-Myc mRNA injiziert)
existiert keine spezifische Auxin Aktivität.



Xenopus laevis Embryo Extrakte mit
transgenem TIR1-Myc zeigen bei
Versuchen mit radioaktiv markiertem
Auxin das selbe Ergebnis wie die
Versuche die mit Arabidopsisextrakten
durchgeführt wurden.



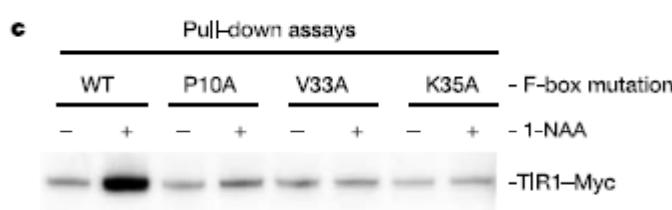
Für die Bindung von TIR1 an Aux/IAA ist die F-Box notwendig (I)



F-Box-Motiv ist essentiell für den Auxin response.



TIR1-Myc bindet nicht an Skp1.



Punktmutationen im F-Box-Motiv führen zu einer geminderten Bindung von TIR1-Myc an Aux/IAA domain II Proteine.

