

Auxin regulates SCF^{TIR1}-dependent degradation of AUX/IAA proteins

William M. Gray*†, Stefan Kepinski†‡, Dean Rouse‡§, Ottoline Leyser‡ & Mark Estelle*

* The Institute for Cellular and Molecular Biology, The University of Texas at Austin, Austin, Texas 78712, USA

‡ Department of Biology, University of York, Box 373, York YO10 5YW, UK

† These authors contributed equally to the work

The plant hormone auxin is central in many aspects of plant development. Previous studies have implicated the ubiquitin-ligase SCF^{TIR1} and the AUX/IAA proteins in auxin response. Dominant mutations in several *AUX/IAA* genes confer pleiotropic auxin-related phenotypes, whereas recessive mutations affecting the function of SCF^{TIR1} decrease auxin response. Here we show that SCF^{TIR1} is required for AUX/IAA degradation. We demonstrate that SCF^{TIR1} interacts with AXR2/IAA7 and AXR3/IAA17, and that domain II of these proteins is necessary and sufficient for this interaction. Further, auxin stimulates binding of SCF^{TIR1} to the AUX/IAA proteins, and their degradation. Because domain II is conserved in nearly all AUX/IAA proteins in *Arabidopsis*, we propose that auxin promotes the degradation of this large family of transcriptional regulators, leading to diverse downstream effects.

vorgestellt von Tina und Valentin

Inhalt

- 1. Was wir schon wissen (Tafel)
- 2. AUX/IAA und ARF
- 3. Methoden
- 4. Experimente und Ergebnissvorstellung
- 5. Zusammenfassung

Was wir schon wissen: Tafelbild

AUX/IAA und ARF

-->ARBEITSHYPOTHESE

Methoden

- Pulse-Chase
- Immuno Präzipitation -Wiederholung
- pull-down assay mit GST
- GUS-reporter system (GUS-promoter und translationelle Fusion)
- GFP (green flurescent protein)
- Luciferase (analog zu GUS)
- MG132 proteasome inhibitor

Kapitel 4

1. FRAGE: Mutation in domain II wirkt wie auf Stabilität?

4. INTERPRETATION

2. METHODE: GUS reporter system, 35S promoter, Aminosäuresubstitution

3. ERGEBNIS:

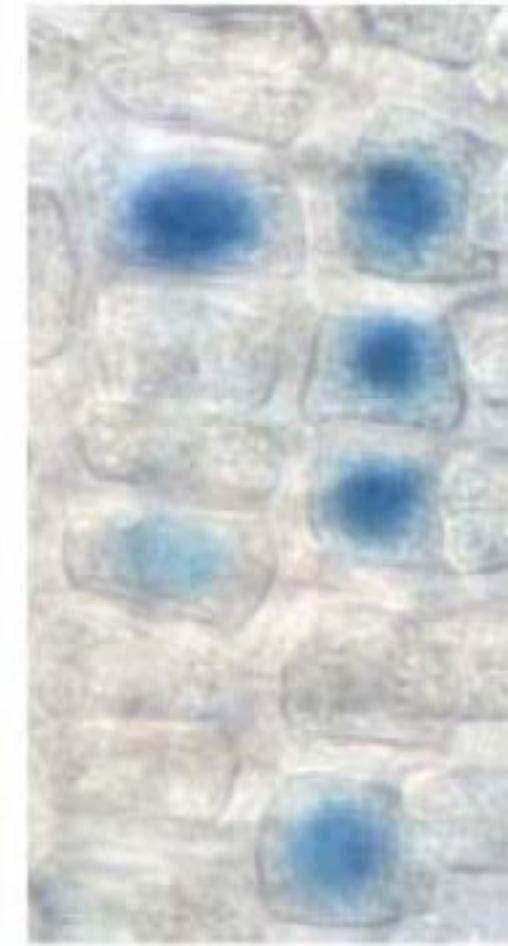
a



AXR2-GUS



axr2-1-GUS



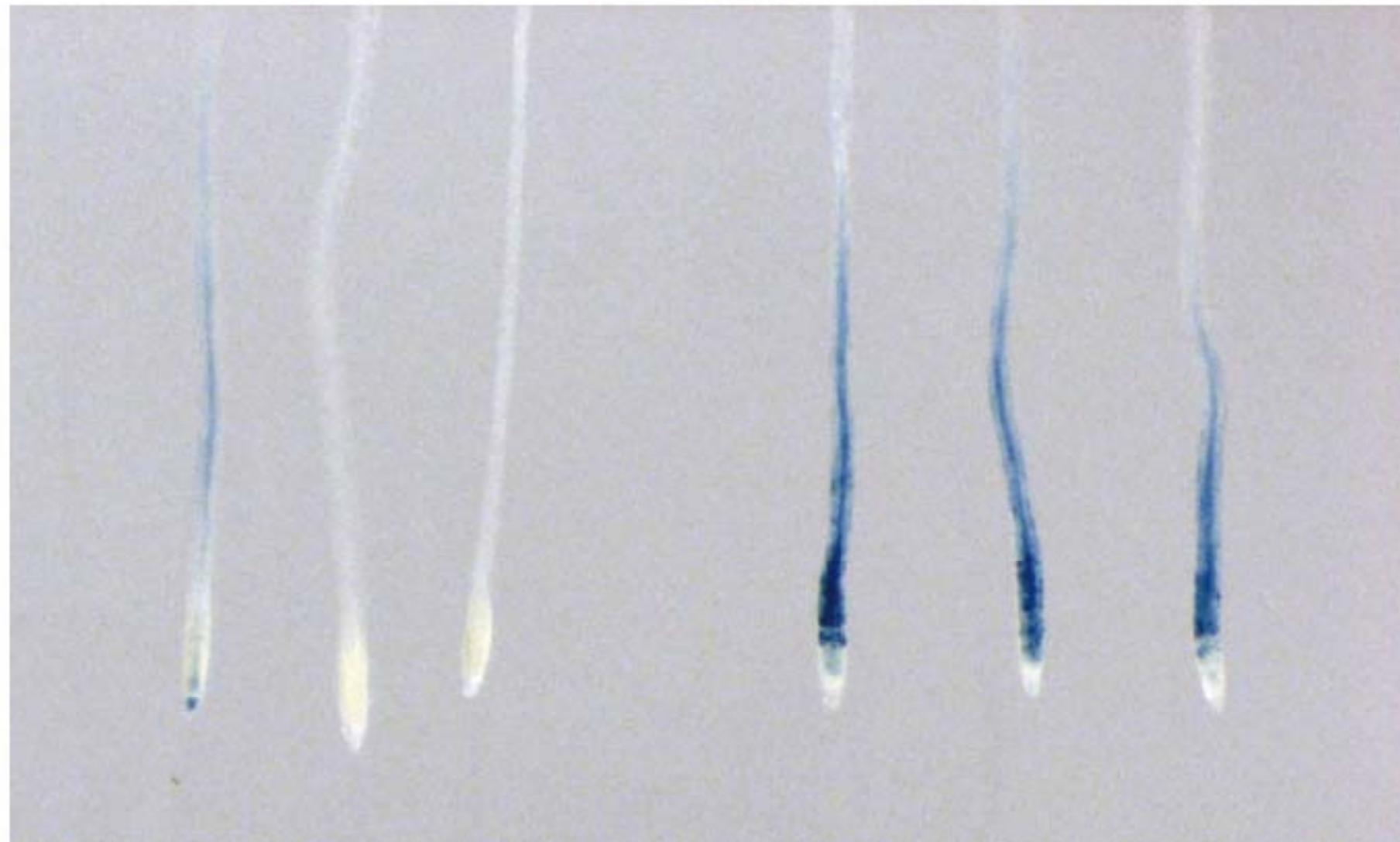
1. FRAGE: Gilt die Beobachtung auch für andere der AUX/IAA-Fam

2. METHODE: HS promoter, GUS

4. INTERPRETATION:
mutante ist stabiler.

3. ERGEBNISS:

b



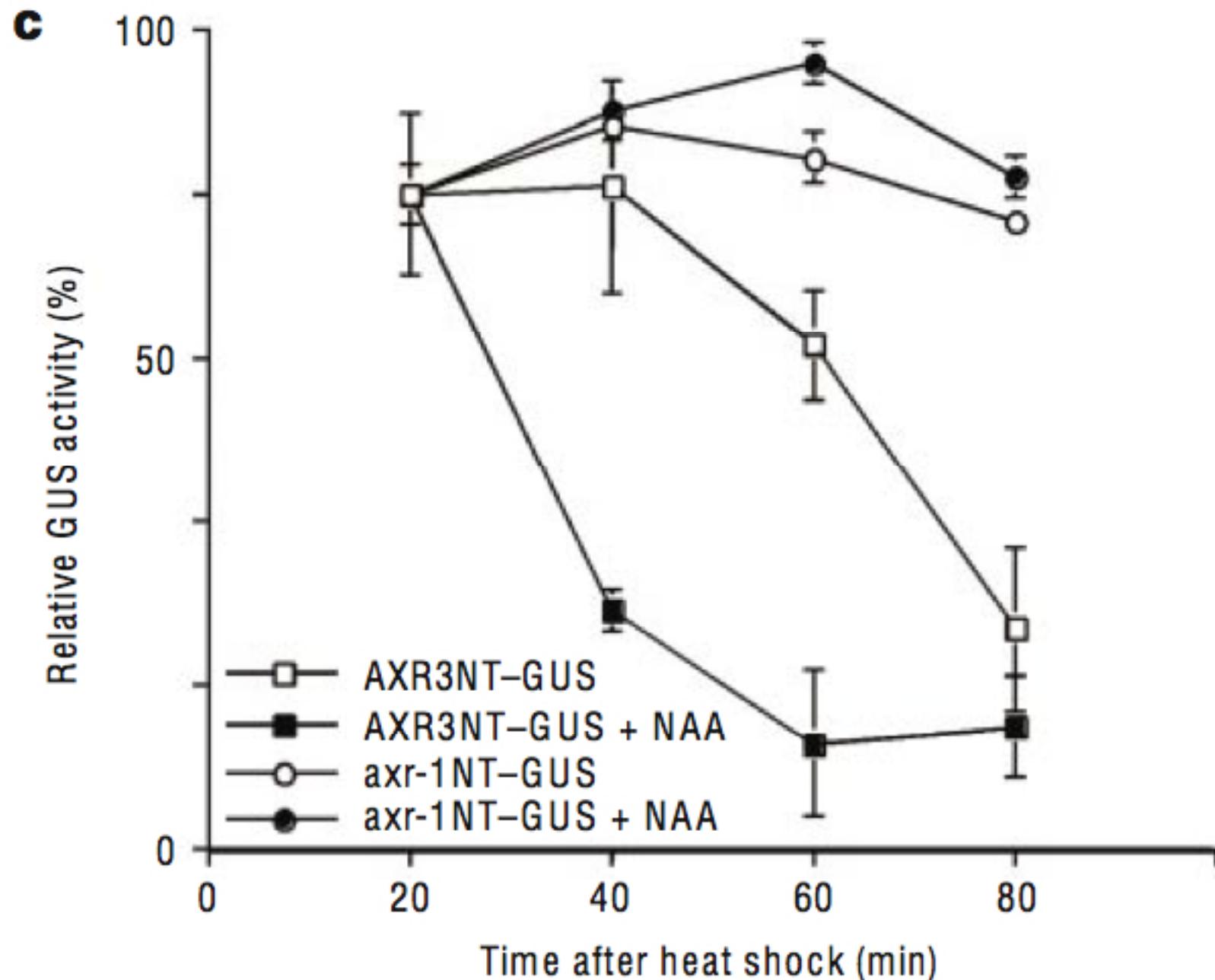
AXR3NT-GUS

axr3-1NT-GUS

1. FRAGE: Was passiert im WT in wie viel Minuten? INTERPRETATION

2. METHODE: HS, NT-GUS, transgener WT, +/- Auxin

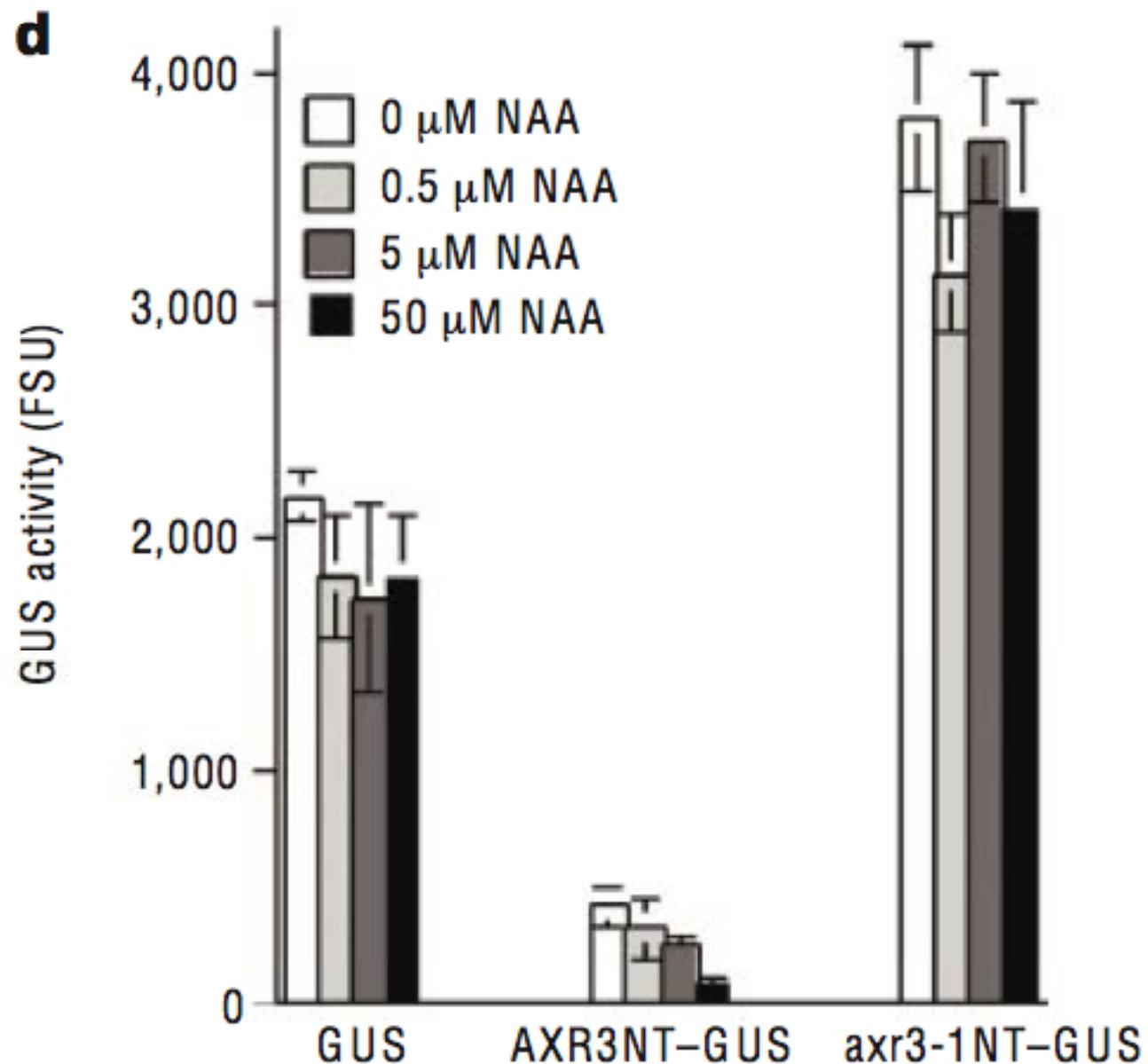
3. ERGEBNISSE:



1. FRAGE: Wie reagiert das GUS-Konstrukt auf NAA? **INTERPRETATION**

2. METHODE: 20min nach HS

3. ERGEBNIS:



1. FRAGE: Wird AXR2 nach Ausschaltung des Proteasoms

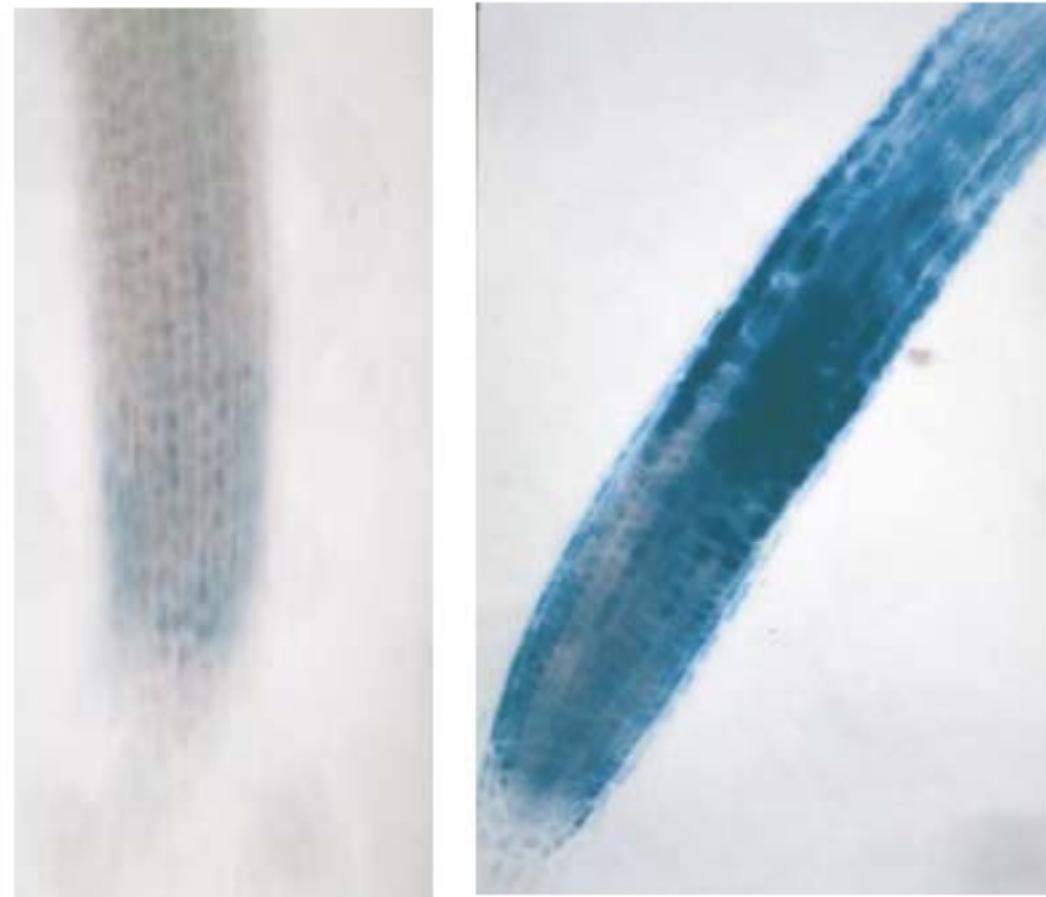
2. METHODE: 35s, MG132, GUS

4. INTERPRETATION

a

35s::AXR2-GUS

3. ERGEBNIS:



Untreated

+ MG132

1. FRAGE: Hat Auxin auf diesen Abbau eine Wirkung?

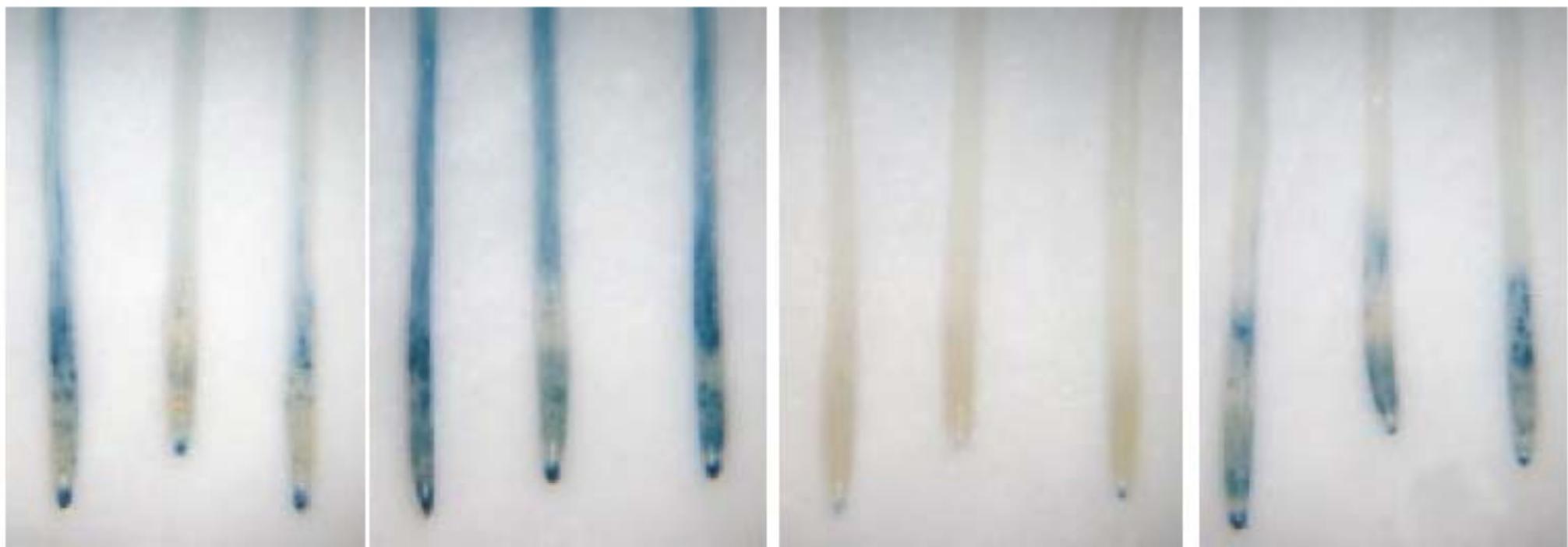
2. METHODE: HS, MG132, +/- Auxin, GUS

4. INTERPRETATION

3. ERGEBNIS:

b

HS::AXR3NT-GUS



Untreated

+ MG132

+ auxin

+ MG132, auxin

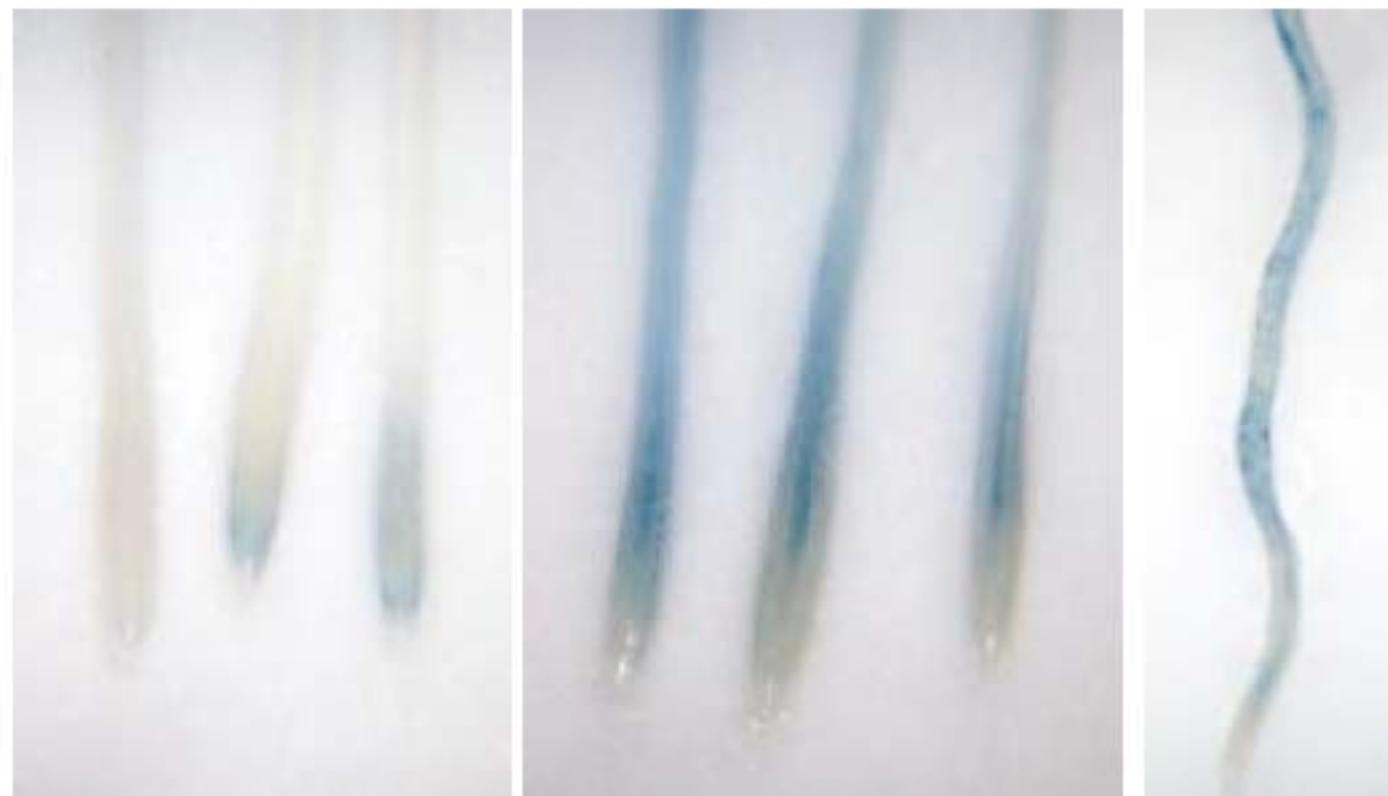
1. FRAGE: Wie wirken sich andere Mutanten auf den AXR2-re

2. METHODE: AXR2 in *tir1* und *axr1*.Pflanzen, 4.GNTS, 35S

3. ERGEBNIS:

a

35S::AXR2-GUS



Col

tir1-1

axr1-3

1. FRAGE: Wie lassen sich die Phenotypen vergleichen?

2. METHODE: transgene Pflanzen, (GUS)

4. INTERPRETATION

3. ERGEBNIS:

b

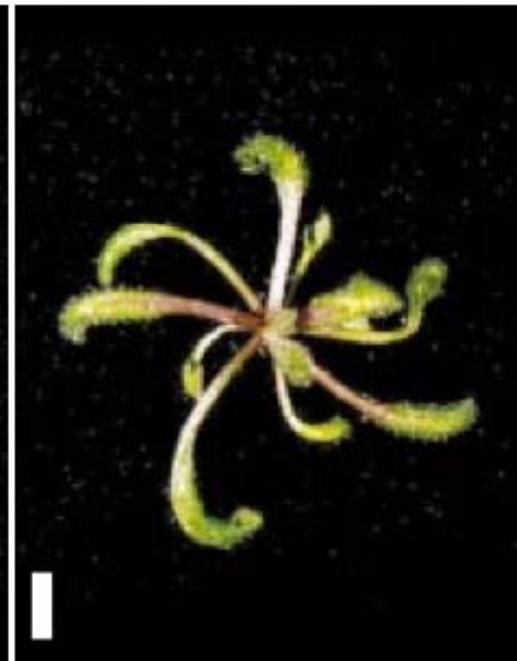
Col[AXR2-GUS]



tir1-1[AXR2-GUS]



Col[axr2-1-GUS]



axr1-3[AXR2-GUS]



1. FRAGE: Wie lange ist der GUS-reporter stabil?

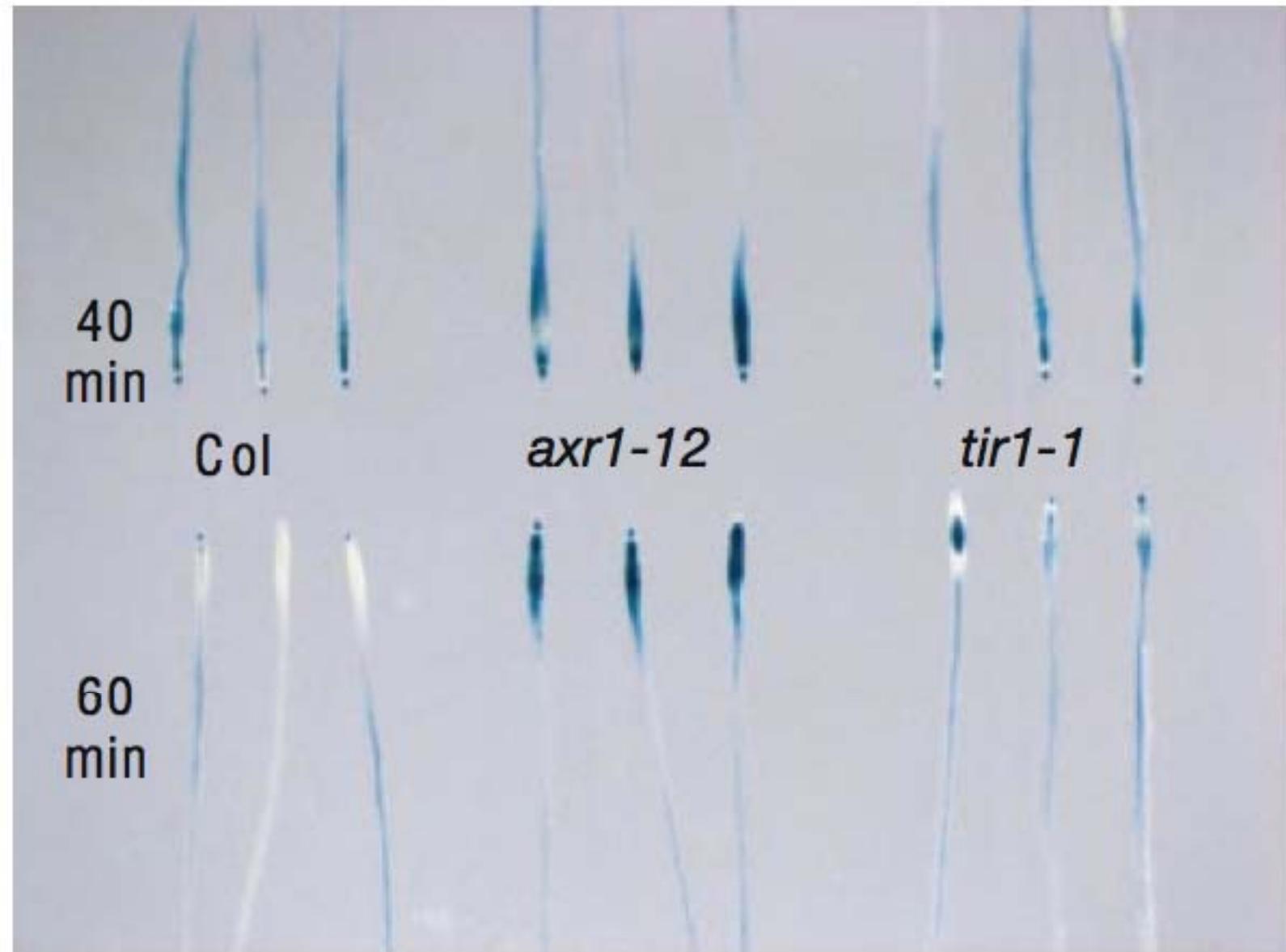
4. INTERPRETATION

2. METHODE: HS, GUS, transgene Pflanzen mit reporter AXR3-^{GUS}

C

HS::AXR3NT-GUS

3. ERGEBNIS:

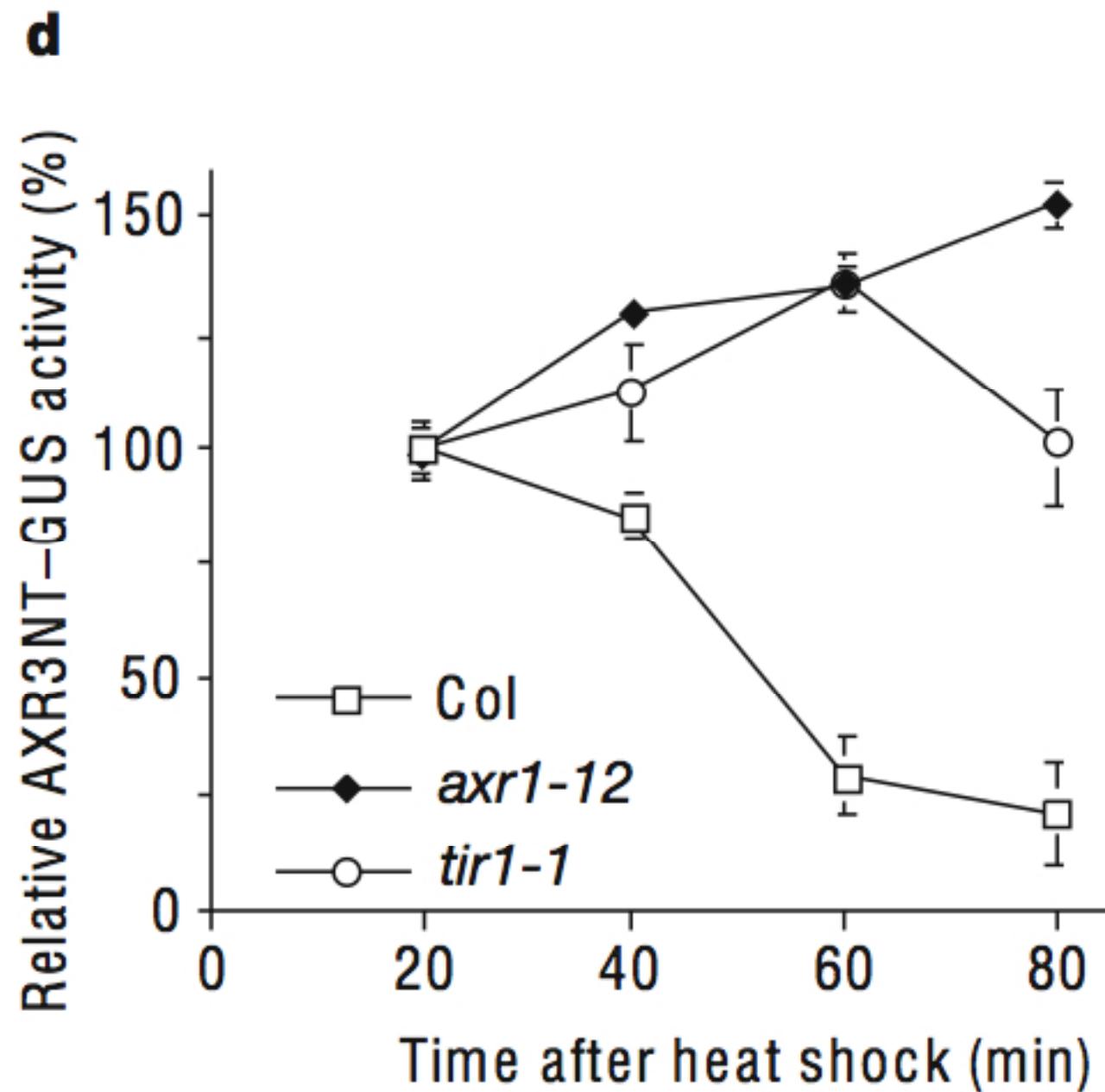


1. FRAGE: Wie viel AXR3NT-GUS wird nach welcher Zeit abgebaut?

2. METHODE: HS, GUS, WT und transgene Pflanzen

INTERPRETATION

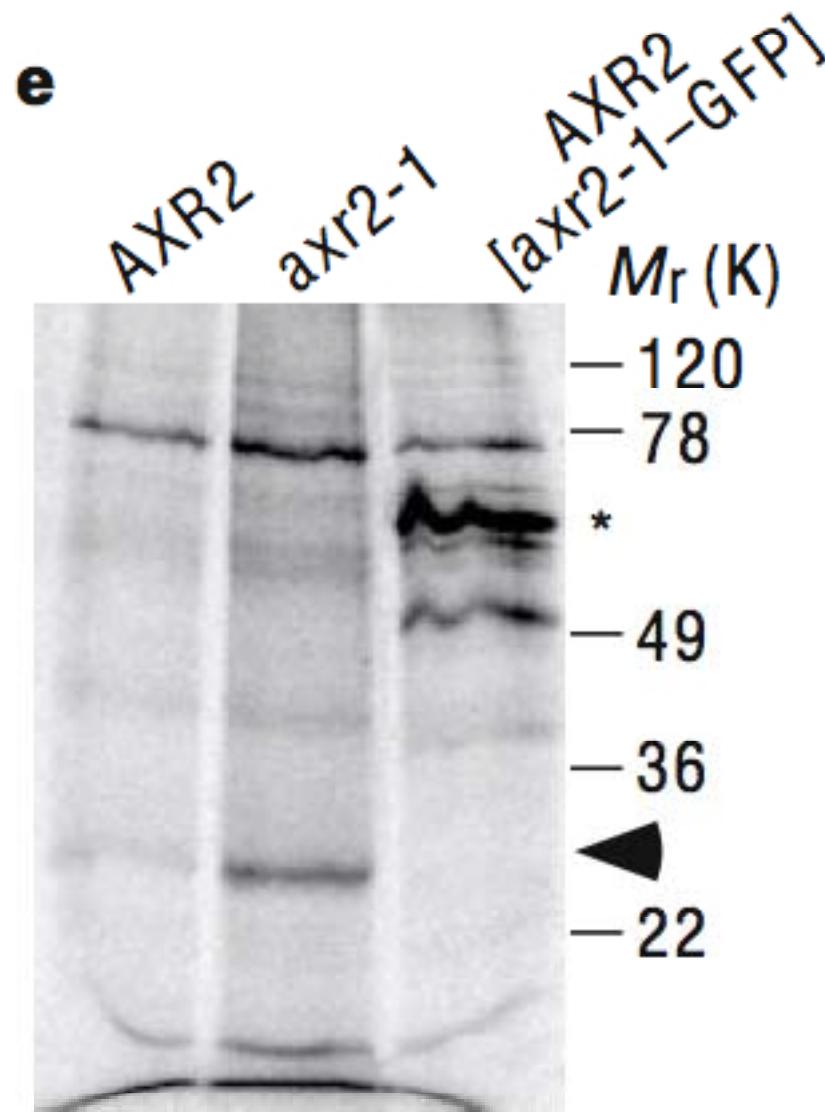
3. ERGEBNIS:



1. FRAGE: Wie groß ist das AXR2-Protein?

4. INTERPRETATION

2. METHODE: radioaktives Methionin und Cystein, IP, GFP



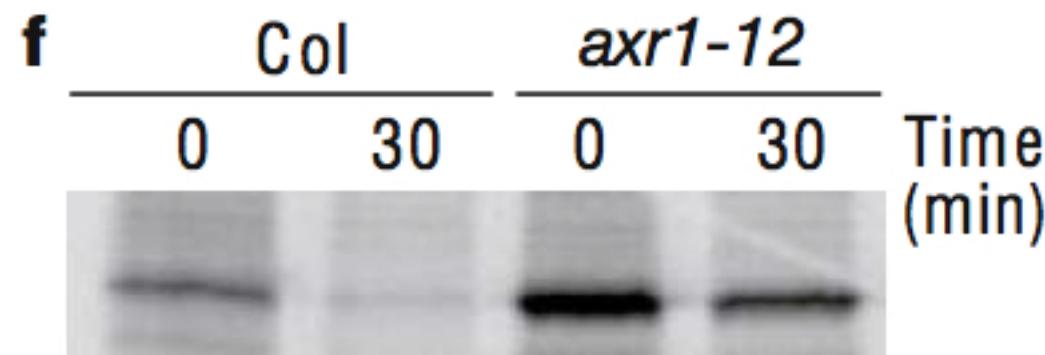
3. ERGEBNISSE:

1. FRAGE: Ist *axr1-12* stabiler als der WT

4. INTERPRETATION

2. METHODE: pulse-chase, IP

3. ERGEBNIS:

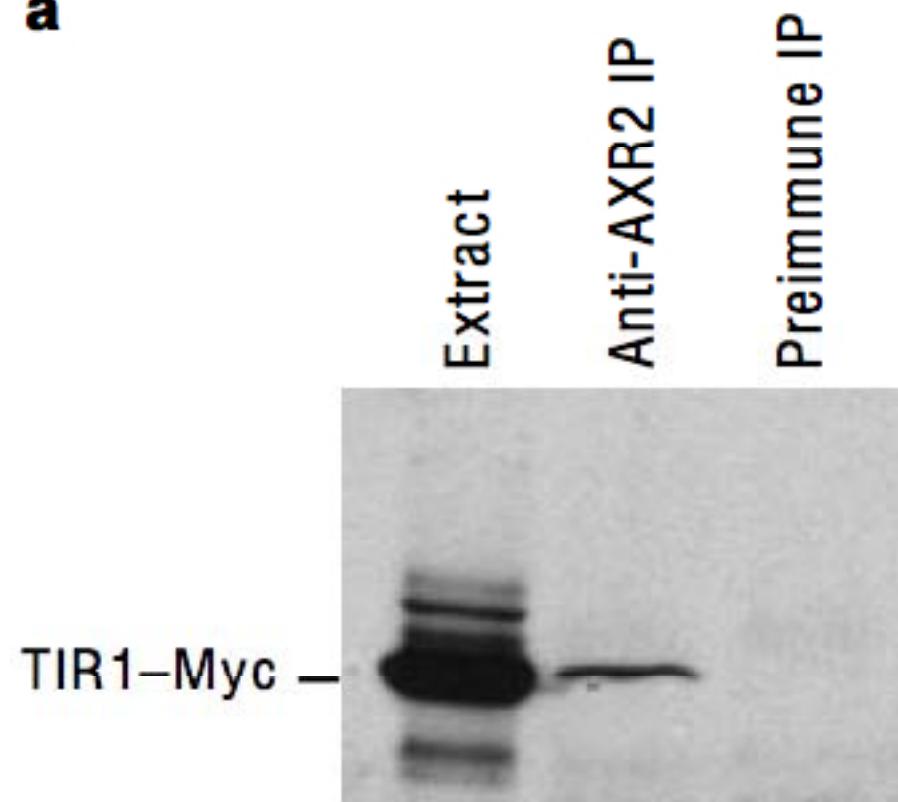


1. FRAGE: Gibt es eine Interaktion mit der **ADDITIVE INTERPRETATION**

2. METHODE: crude lysate, IP, Myc-TAG

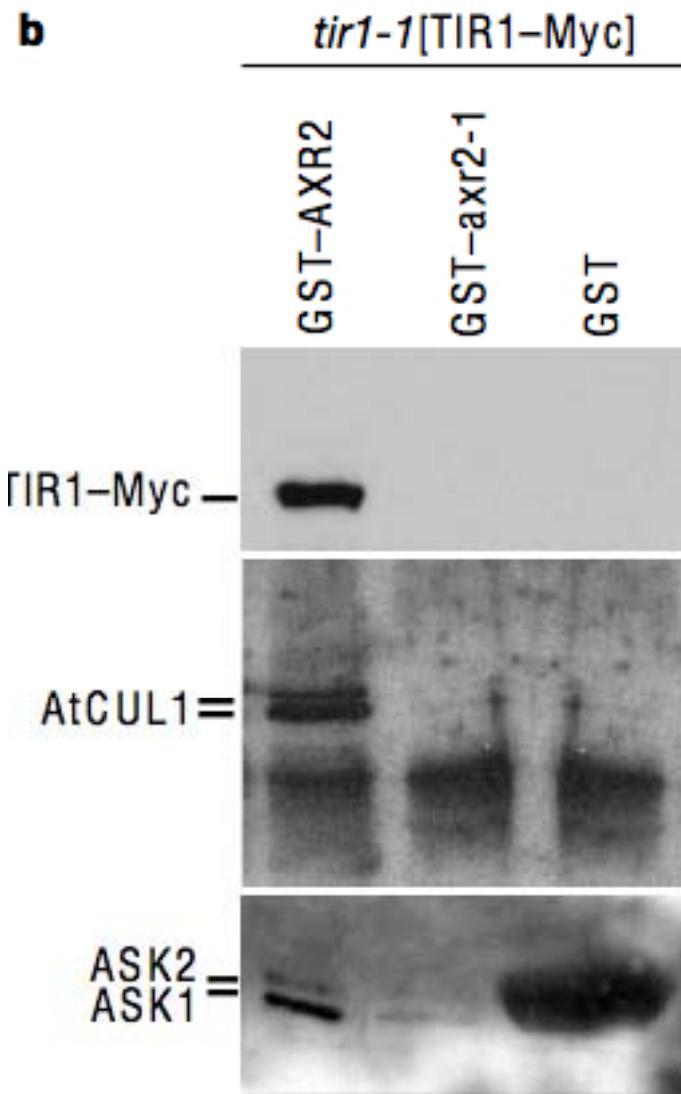
3. ERGEBNIS:

a



1. FRAGE: Womit reagiert die Mutante und ~~4. WONTODE~~ ~~INTERPRETATION~~

2. METHODE: GST-TAG, Myc-TAG



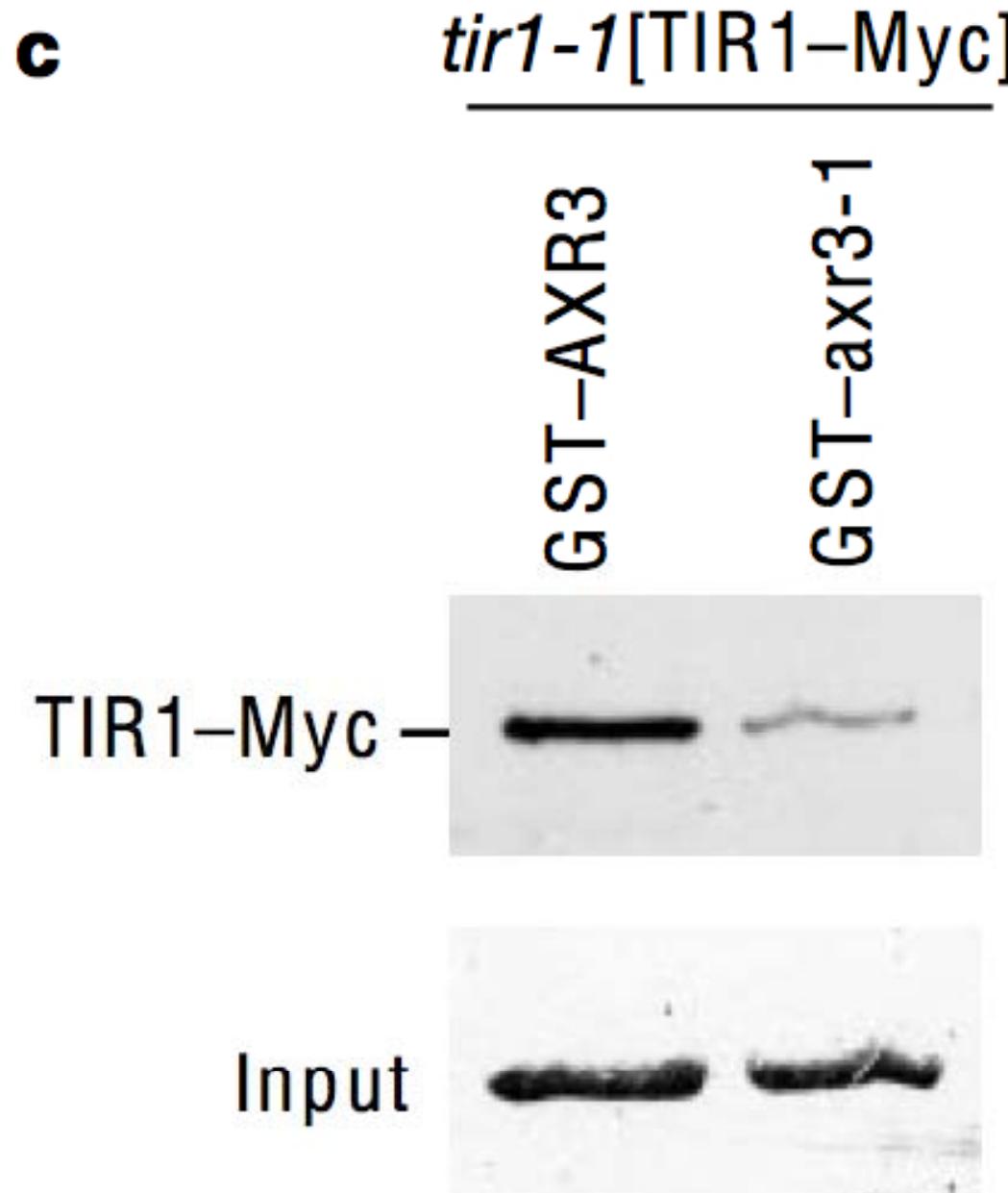
3. ERGEBNIS:

1. FRAGE: Wie unterscheiden sich die Interaktion der Mutante

2. METHODE: GST,Myc

4. INTERPRETATION

3. ERGEBNIS:

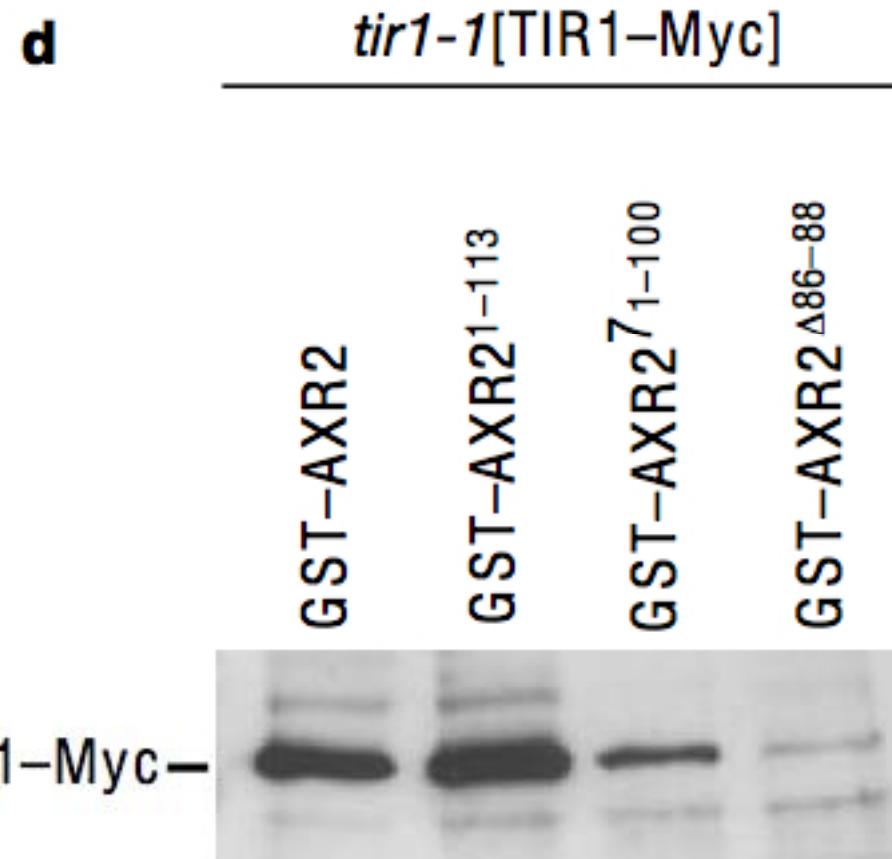


1. FRAGE: Welcher Bereich von AXR2 ist wichtig für die Bindung?

2. METHODE: Myc, GST, Zerschneiden des Gens

4. INTERPRETATION

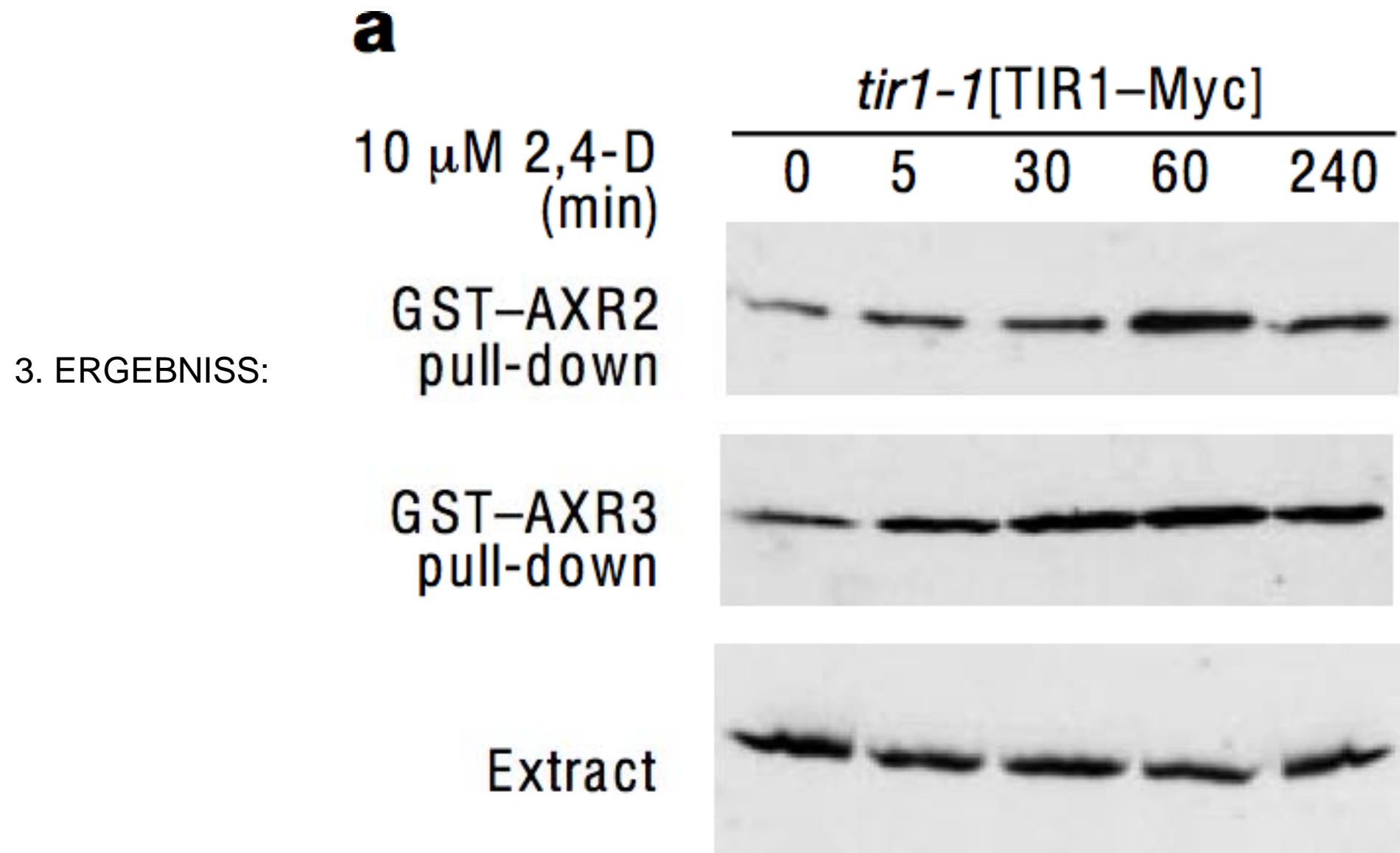
3. ERGEBNIS:



1. FRAGE: Wie beeinflusst Auxin nach der Zeit die Bindung?

2. METHODE: pull-down assay

4. INTERPRETATION

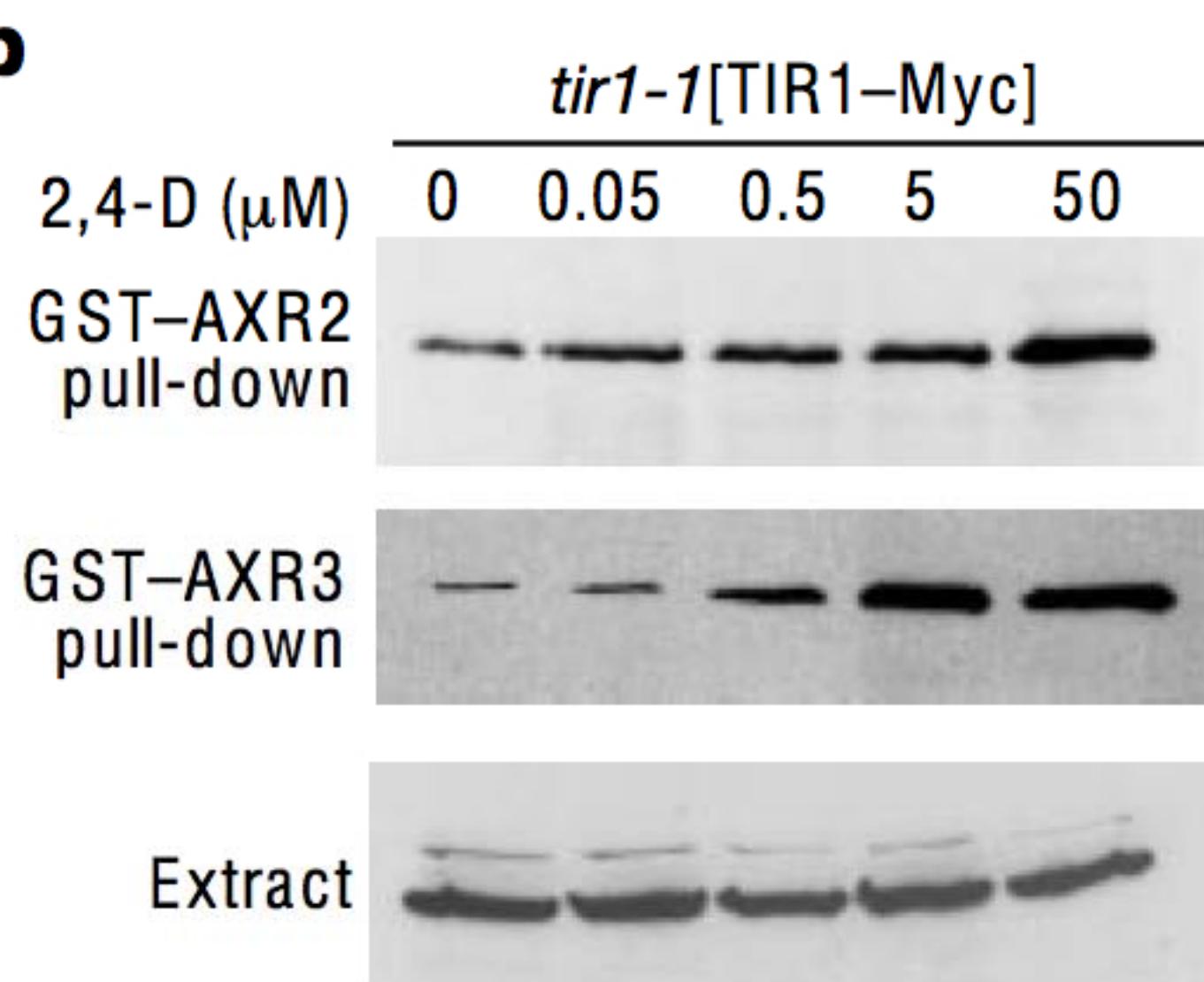


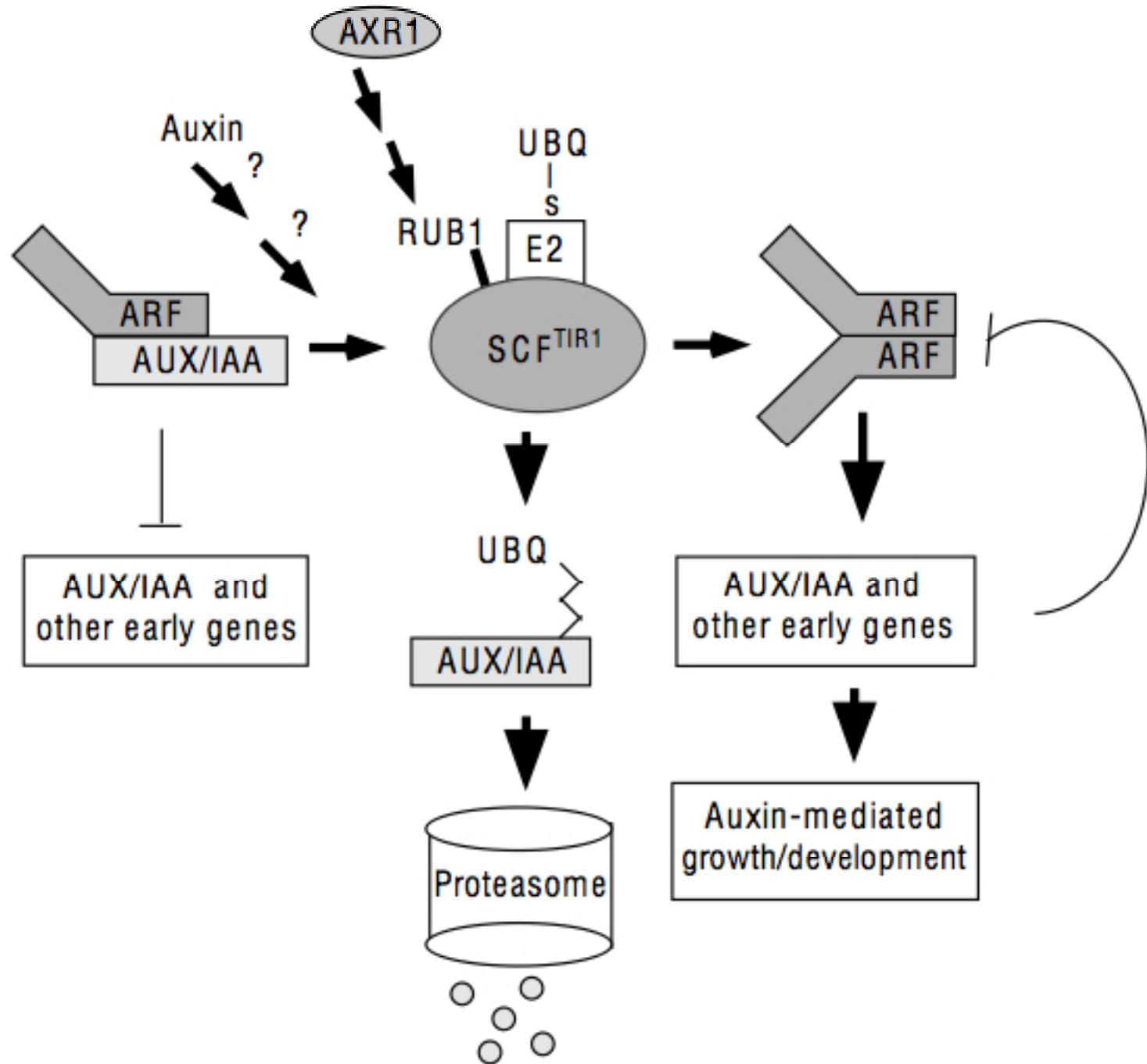
1. FRAGE: Wie beeinflusst die Auxinkonzentration nach 60n

2. METHODE: pull down assay

4. INTERPRETATION

b
3. ERGEBNIS:





Zusammenfassung

- AUX/IAA sind Targets für SCFTIR1 sie binden mit domain II
- Negative Rückkopplung zwischen ARFs und den AUX/IAAs
- Auxin wirkt hier in noch unbekannter Weise

Dies ist das aktuelle Modell, hier
geht es nächste Woche weiter.
Danke für eure Aufmerksamkeit!

