

Molekulare Mechanismen der Signaltransduktion

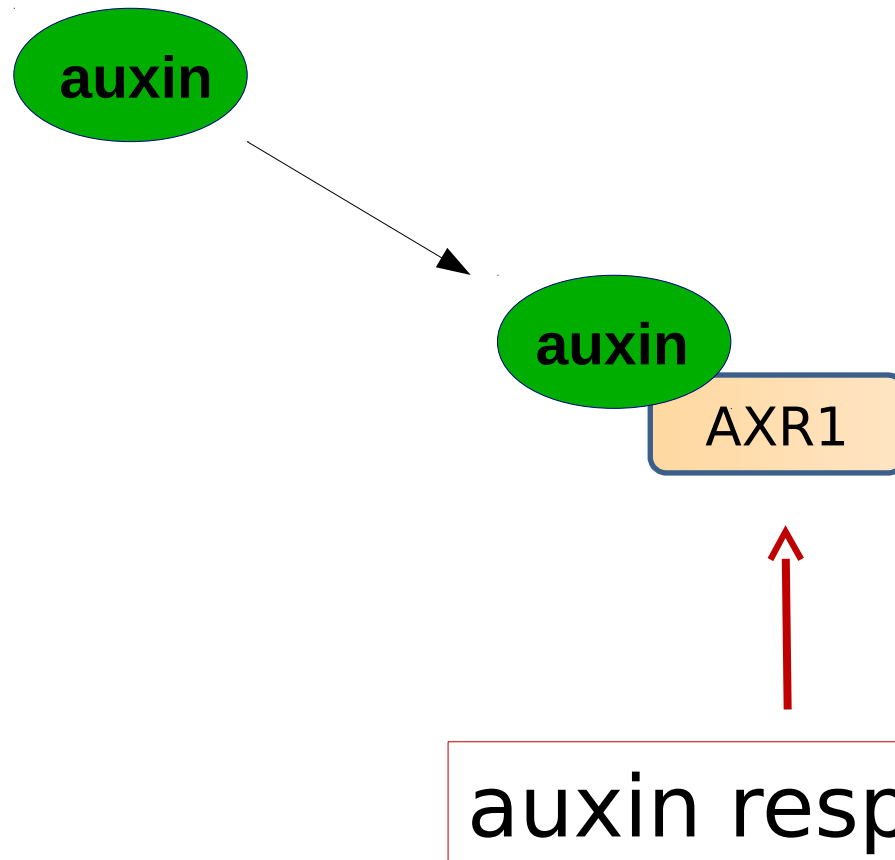


06 - Kartierung des AXR1 Gens
+ early auxin-induced genes

Folien:

<http://tinyurl.com/Modul-MMS>

bisheriges Modell



AXR1
→ potentieller
Auxinrezeptor

***Arabidopsis* auxin-resistance
gene *AXR1* encodes a protein
related to ubiquitin-activating
enzyme E1**

**H. M. Ottoline Leyser, Cynthia A. Lincoln*,
Candace Timpfe, Douglas Lammer,
Jocelyn Turner & Mark Estelle†**

Department of Biology, Indiana University, Bloomington,
Indiana 47405, USA

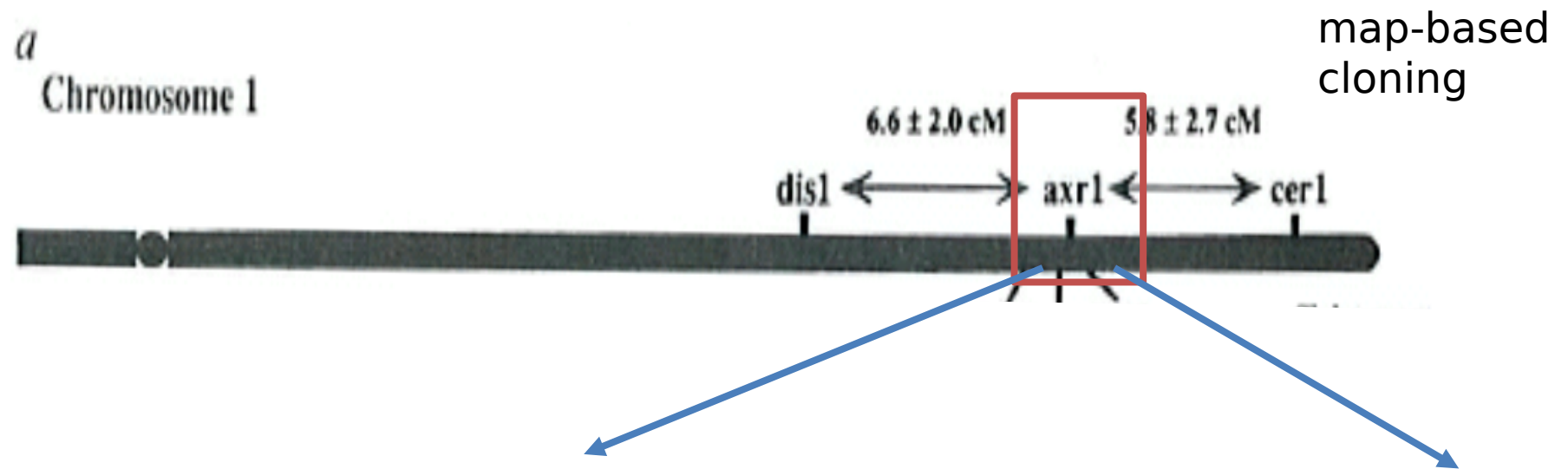
Ziel: Kartierung /Identifizierung des *AXR1* Gens

DNA libraries



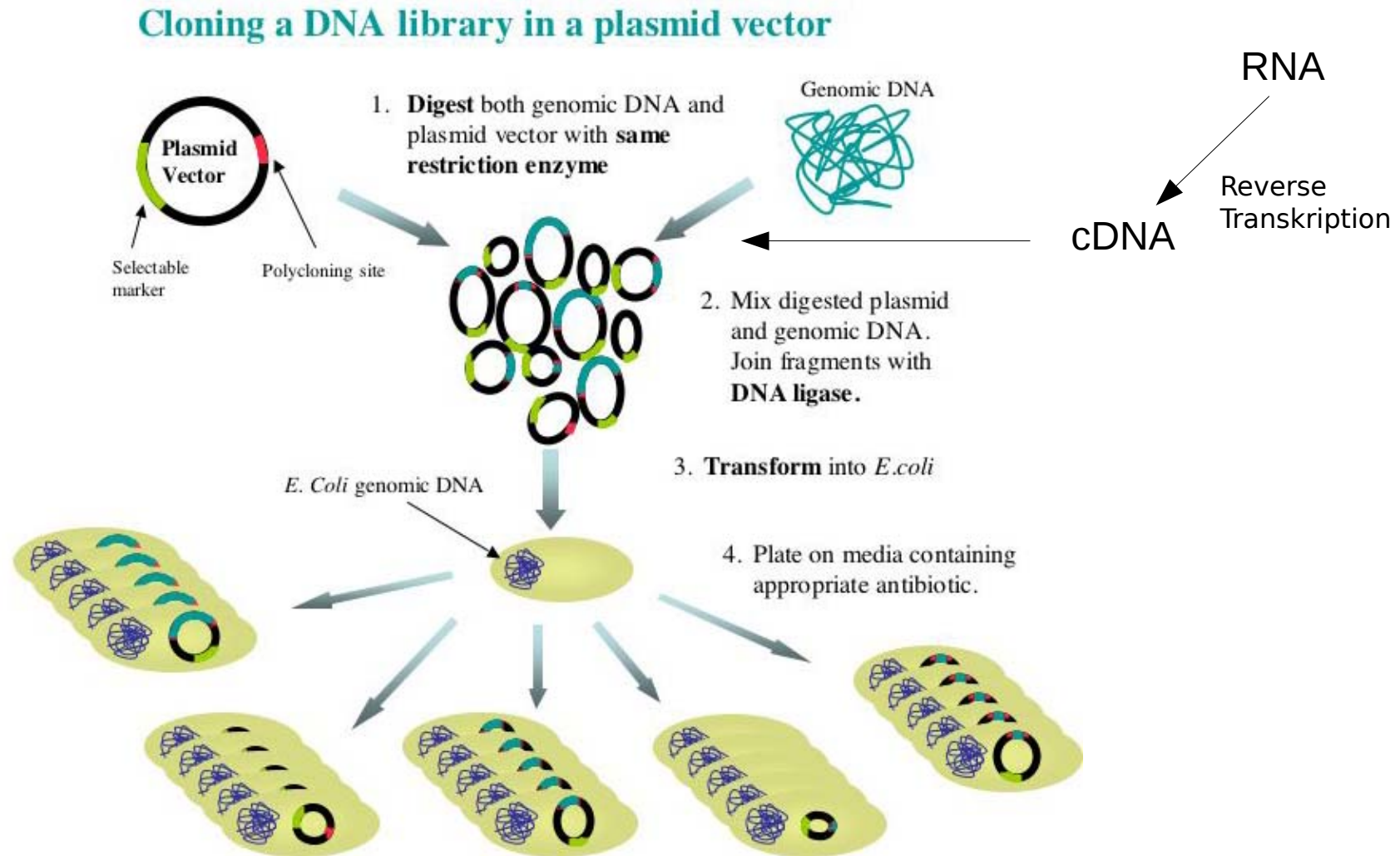
1. Intervall wurde weiter verkleinert

DNA libraries



Notwendig: kürzere DNA Fragmente dieses Bereichs
= genomic DNA Libraries

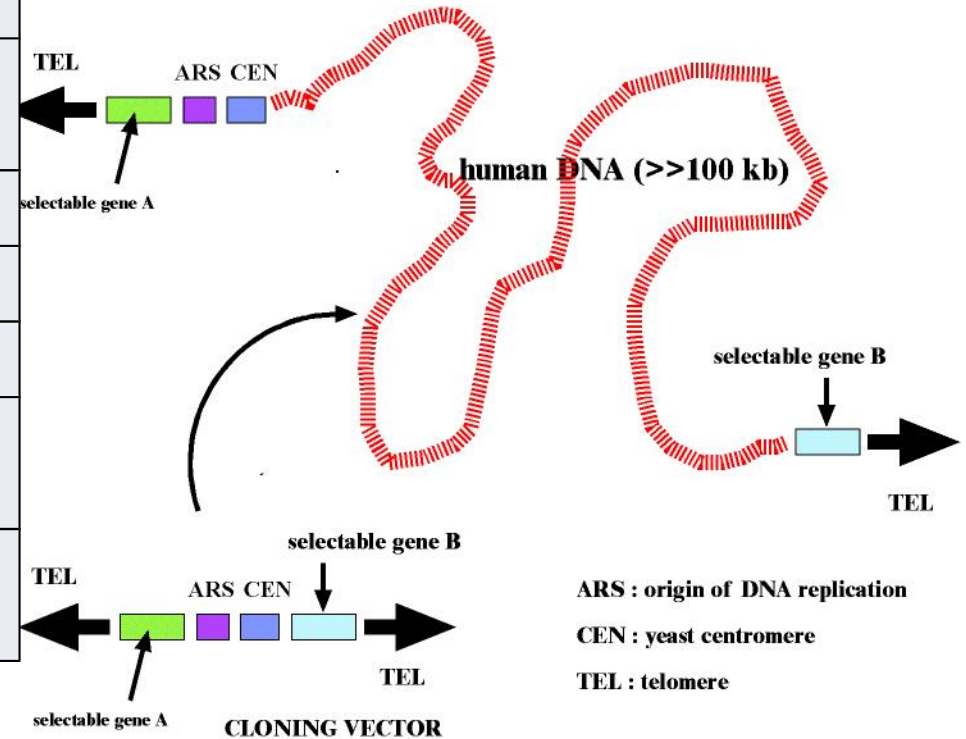
DNA libraries



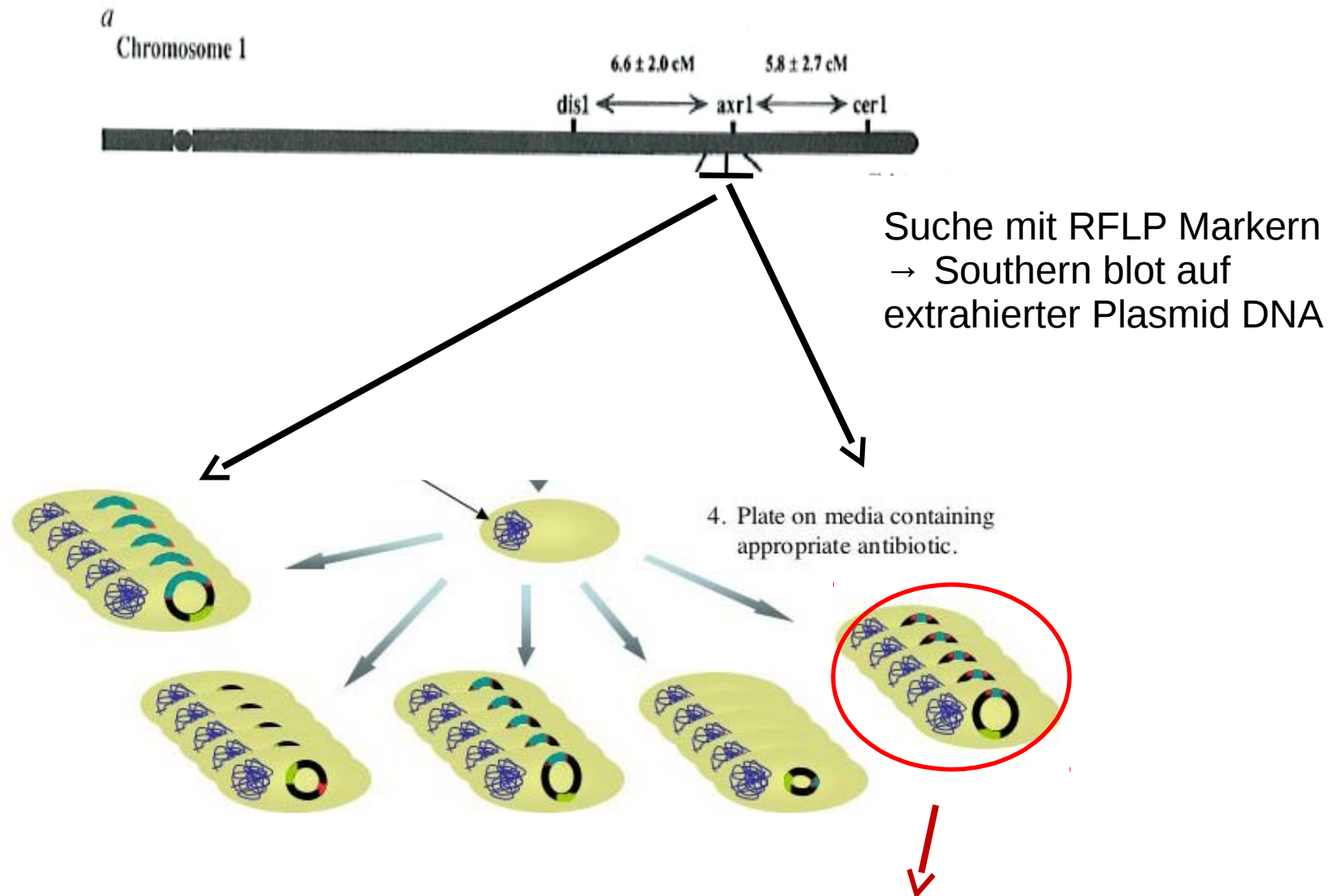
Typen von Vektoren: plasmids, cosmids, YAC

Approximate maximum length of DNA that can be cloned into vectors

Vector type	Cloned DNA (kb)
Plasmid	20
lambda phage	25
Cosmid	45
BAC (bacterial artificial chromosome)	300
YAC (yeast artificial chromosome)	1000

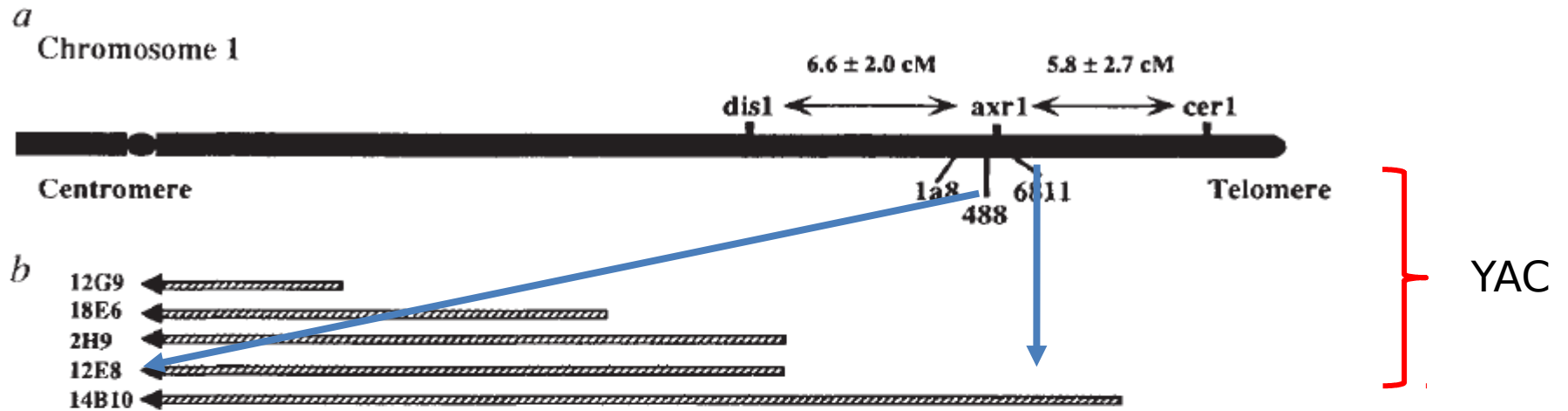


AXR1 - Chromosome Walking

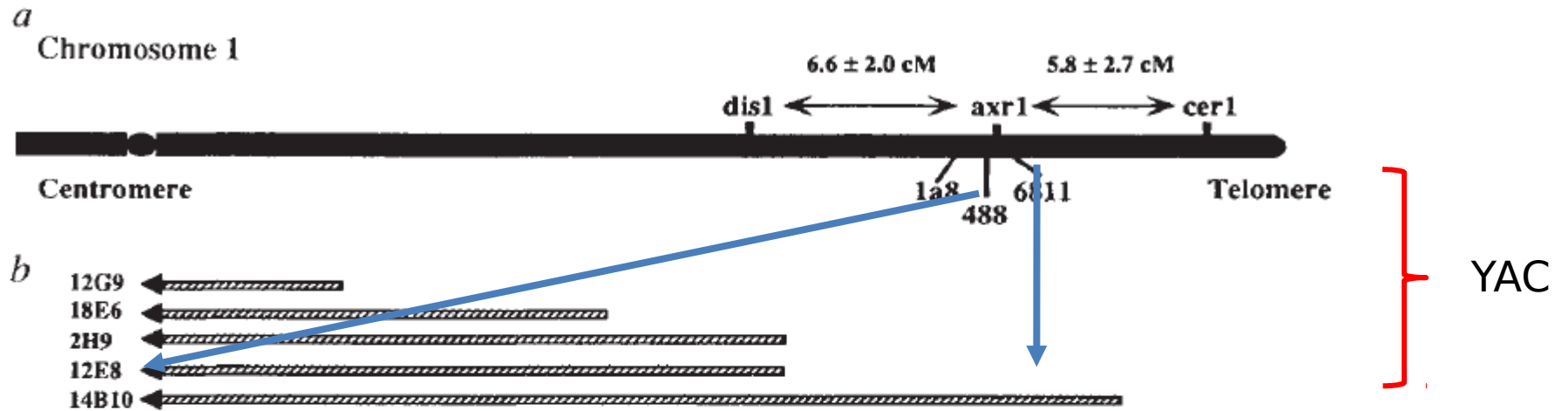


Transformation in *axr1* Mutante = WT
Phänotyp?

AXR1 - Chromosome Walking

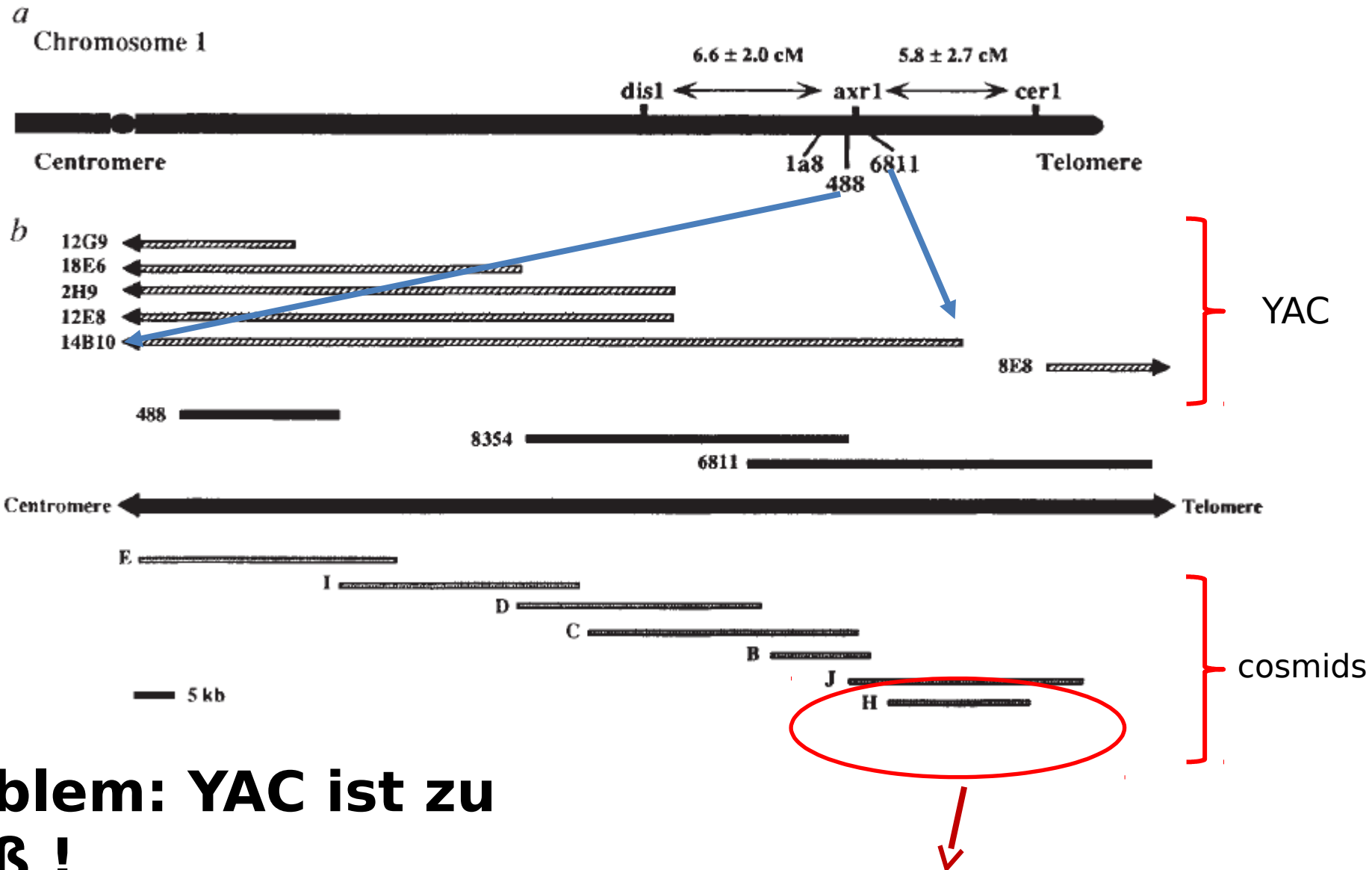


AXR1 - Chromosome Walking



Problem: YAC ist zu groß !
-> Cosmide

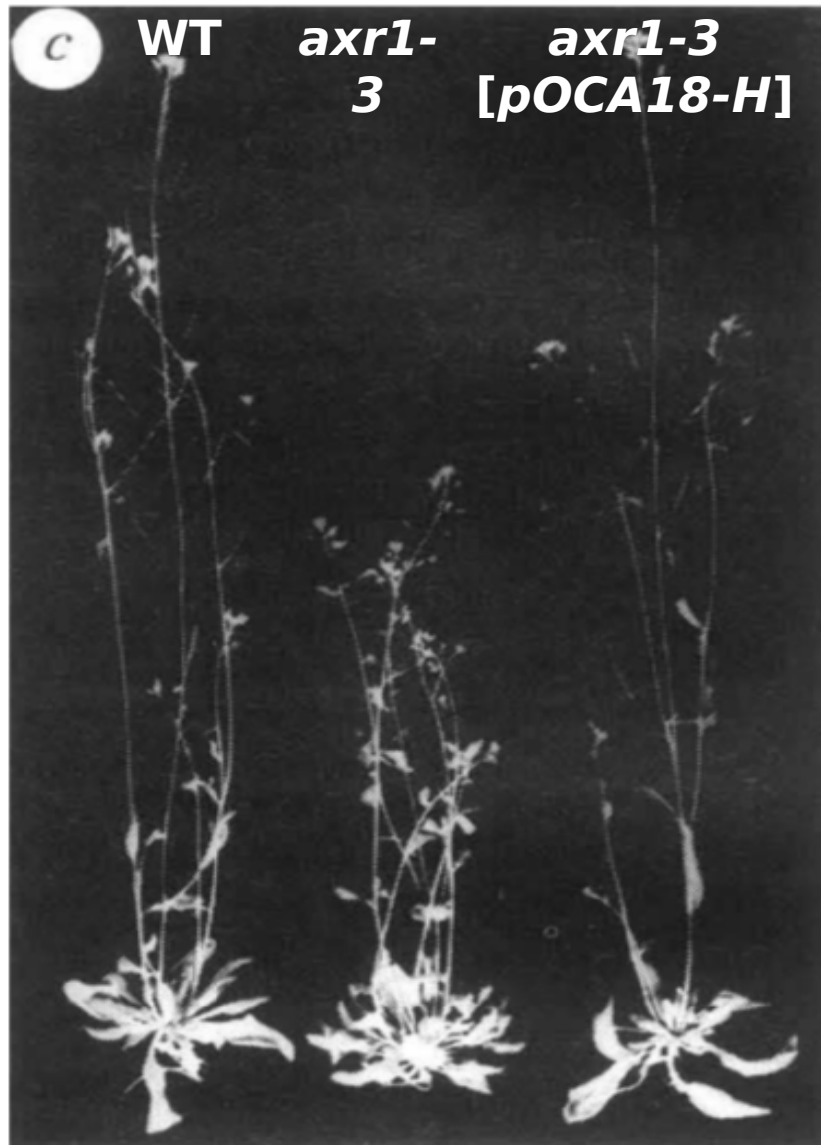
AXR1 - Chromosome Walking



Problem: YAC ist zu groß !
-> Cosmide

Transformation in *axr1* Mutante = WT Phänotyp?

AXR1 - Chromosome Walking



Cosmid H kann den Phänotyp der *axr1-3* Mutante aufheben

☐ Cosmid pOCA18-H enthält das **AXR1** Gen

16.5 kb groß

AXR1 - Identifizierung

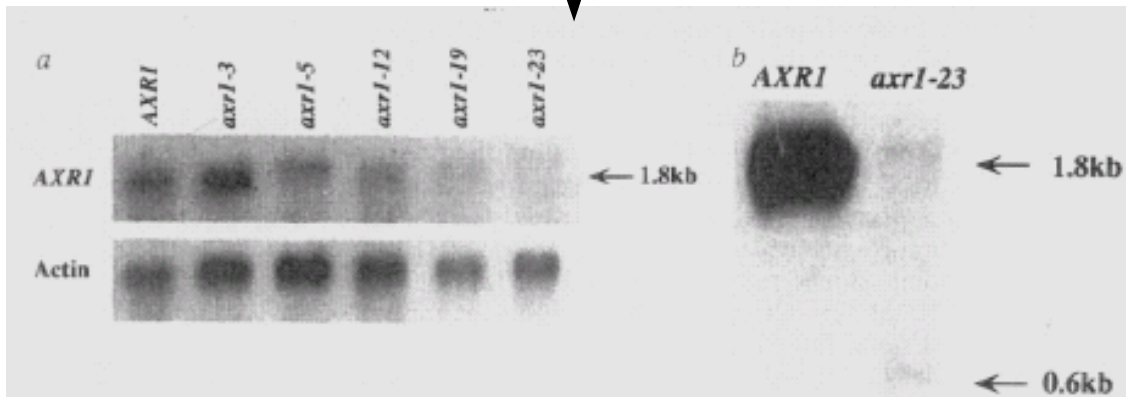
Cosmid pOCA18-H (16.5 kb) → AXR1 Gen

**cDNA Bibliothek Screen mit
pOCA18-H**

**2 cDNAs identifiziert
→ 0.8 und 1.8 kb**

welche cDNA Klone
sind homolog zu
pOCA18-H

potentielle AXR1
cDNAs



Northern Blot:
Wieviel Transkript (1,8
kb) liegt in den *axr1*
Mutanten vor?

1.8 kb cDNA abwesend in *axr1-23*!

Sequenzierung der potentiellen *AXR1* cDNA

wenn 1,8 kb cDNA AXR1 ist → Mutationen in der Sequenz der Mutanten

-24
 1 ATGCGAGCGAGTAAAGAGTCACGAGACATGTTGANGAGAGGCCAAGCAATGCTAGAACCTAAAGCAAGTACGATCGTCAGCTCAGAGATTTCGGGGGGAAG
 1 HQAPKRSRSHVSESEPTTHVVEPKTREVDRQLRINGGEV
 181 TAGGCTCAAGGCGGCTTCGAGAGAGGCGAGTAATGCTTACTCAATGCTGGGCGCTACTGCTCCGAGGCTTTGAGAGAACTCTGCTACTGCTGGTGGTGGT
 14 GQALEEASICLLNLHNGEALRLVLDGGGAG
 241 CATCAAGCGGTGTGATGCTAAAGCTTCAATTTGGGAGCTTGGGGAACATCTCATGCTGGATGCGAGAGACTGTTGGGCAATCAAAAGCCAAATCTCT
 47 ITVYVDGCSKRVQSGD L G N H P H V D A K S V G Q S E A K S V
 361 TGTGGCTTCTCTCAAGAGCTTAAATTAATCTGTTAAAGGCCAAGTETATGAGAGAGATCCAGACAGCTTGATTTACTACTAACCAAGCTTCTCTCTCACT
 107 C A F L Q R L N D S V N A K F S E E H P D E L I T T N F S F F S Q F
 481 TCAGCTCTGCTATAGCCACTCAGCTGCTGGAGAGATTCAATGTTCAAACTTGTATAGATTTGGAGAGGCAAAAGCTTAAGTTGGTTTGGTGGCTCTTA
 174 T L V I A T G L V E D S H L K L D R I K D A N V K L V L V R S Y
 601 TGGGCTTGGTGGGTTGGTTGGCATCTCTGTAAGGAGGACCCCATTAATTGACTCAAAAGCGTGCATATTTCTTGACGAGCTTGGGCTGATTAATCGATGG
 167 C L A G F V R I E V K E H P I I D S E P D H P L D D L R E N H P W
 721 CTGAGGATTCAGAGCTTTGGGAGAGCAATGATCTGAATCTGTACAGCGCGGCGGCTGCACATAGCCACATACCTTACGCTGCTATCTCTTAAGATGG
 207 P E L K S F V S T I D L R V S E P A A A H K K I P T V V I L V E H A
 841 CTGAGGATTCAGCTCAATCCATAGTGGTAACTCTGCTCAACAGGAGAGAGAGAAAGAGCTTCAAGGATTTGGTTAAGTCCAGATGGTATCTACGGA
 214 F E H A Q S H S G R L P S T R E E R E E R D L V E S E N T S T D
 961 TCAAGATAATTAAGAGAGCAATTAAGAGCGCTTCAAAAGTTTGTCTCTCGAGGATTCAGCTCAGAGGTTCAAAAGATTAATTAATGATAGTCTGTCT
 257 E D N Y E K E I E A A F K V F A P H G E S E E V Q X L I N D S C A
 1081 GAAGTGAATTTAAATCTCTCAGCTTTTGGGCTAATGCTGAGGCTCTGAGAGAGTTTGTCTTAATGAGGCTGCTGAGAGGACCCCTTGAAGGTTCTTA
 307 E V N H S S A F M V N V A A L K E F V L H E G G G G E A P L E S S I
 1201 TACTAGATATGATCTCTCAACAGAGCACTATATCAATTTGCGAGAGAACTCTATTAGCCAAAGCGAGGCTGATTTCTGTGTCATGAGGAAAGAGTTAA
 314 P D N T S S T E R F I N L Q K I V L A K A E A D F L V I E E R V K
 1321 AAACATTTTAAAGCAAAATCTGGGCGAGATCCGAGCAGCATCTCAAACTCAACATCAAGAGCTTCTGCAAGATCCAGAGAACTTAATTTGTCAGATAT
 367 N I L K E I G H D P S S I P K P T I E R S F C R N A R E L K L C S Y
 1441 CGTATGGTGAAGGAGGCTTCAGAAAGCTTTCTGAATCAAAATTTGAAGTATTTAGCGAGAGAGCATTTACACTGCTGCAATGGGATTTTATATCTCTC
 407 R H V E D E F E N P S V T E I L K I L A D E D Y S G A N G F Y I L L
 1561 TTAAAGCTCTGAGAGAGCTTTGCTGCGCACTATAACAACTTTCTGGGCACTTTGATGAGAGAAATGAGGAGGACATTTCTCGATTAAGAACTACTGCTCT
 474 R A A D E F A A N Y M K F P G Q F D G C M D E I S R L E T T A L
 1681 GAGTCTCTTACCGATTTGGGCTGTAAAGGCTCAGTACTCTAGATGACCTTATCATGAGAGAGGCTGCTGCTTTGGTGGCTCAGAGATTCATGCTGCTCTCT
 487 S L L T D L C G N C S V L P D D L E H E M C R P G A S E E I E V V S
 1801 GCTTTTGTGGAGGAAATCGCATCTCAAGAGTCATCAAGCTTGTCAAGAGAGGATTTGCTCGAGGCTTGGGCACTTACATCTTCAATGAGCATGATCACA
 507 A F V C C I A E Q E V L E L V T K Q F V P M L G T V I F R G C I D H K
 1921 AGTCTCACTTATGAGAAATGTGAGAGATCTTGTCTTAAACATATGCTTGAAGAACAGAGAGAGAGCTCTATCATATATTAATCTCTGATTAAAGATA
 534 S G L L E L
 1981 ATCTTTTCTTACTACTGAGAAACAAATTTTCAATGAGCTTCAAGCTGAGAGCA 1755

axr1-3 = G461A
Cystein → Tyrosin

axr1-12 = C1246T
Glycin → STOP

Sequenzierung der potentiellen *AXR1* cDNA

wenn 1,8 kb cDNA *AXR1* ist → Mutationen in der Sequenz der Mutanten

Sequenzierung der cDNA von *axr1-3* und
in dem Kandidatengen!

+ Komplementation des Phänotyps von

axr1-3 = G461A
Cystein → Tyrosin

Sequenzierung der potentiellen *AXR1* cDNA

AXR1 Protein: 540 AS, ca. 60 kD



Funktion?



► Suche nach homologen Sequenzen in Datenbank



Für *AXR1*: Homologe in Mensch, Hefe Weizen

Sequenzierung der potentiellen AXR1 cDNA

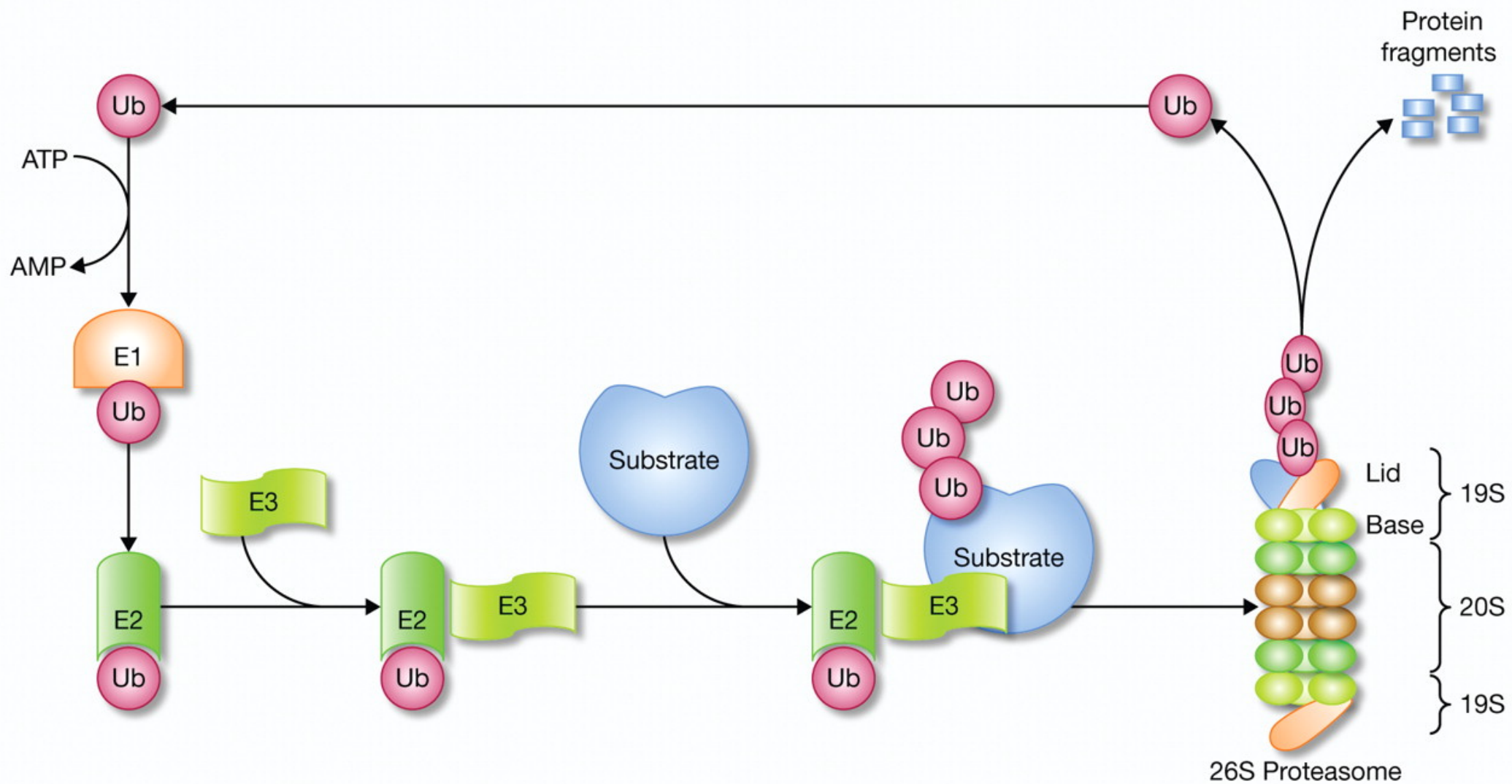
axr1-3
C → Y

human	M S S S P L S K K R	R V S G P D P K P G	S N C S P A Q S V L	S E V P S V P T N G	MAKNGSEADI	DEGLYSRQLY	60	
yeast			M S S N N S G L	S	A A G E I	DESLYSRQLY	24	
wheat		M L P R K R	E I V A G E V E D L	Q K K T R A G E G		DEDLHSRQLA	53	
AXR1			M	Q A V K R S R R H V	E E E P T M V E	P K T K Y D R O L R	29	
human	V L G H E A M K R L	Q T S S V L V S G L	R G L G V E I A K N	I I L G G V K A V T	L H D Q G T A Q W A	D L S S Q F Y L R E	120	
yeast	V L G K E A M L K M	Q T S N V L I L G L	K G L G V E I A K N	V V L A G V K S M T	V F D O P E P V Q L A	D L S T O F F L T E	84	
wheat	V Y G R E T M K R L	F G S N V L V S G L	Q G L G A E I A K N	L V L A G V K S V T	L H D D G N V E L W	D L S S N F F L S E	113	
AXR1	I W G E V G Q A A L	E E A S I C L L N C	G P T G S E A L K N	L V L G G V G S I T	V V D G S K V Q F G	D L G N N F M V D A	89	
human	E D I G K N R A E V	S Q P R L A E L N S	Y V P V T A Y T G P	L V E	D F L S G F Q V V V L	T N T P L E D Q L	173	
yeast	K D I G Q K R G D V	T R A K L A E L N A	Y V P V N V L D S L	D D V	Q L S Q F Q V V V A	T D T V S L E D K V	138	
wheat	N D V G Q N R A Q A	C V Q K L Q E L N N	A V L V S A L T G D	L T K	E H L S K F Q A V V F	T D I S L D K A I	166	
AXR1	K S V G Q S K A K S	V C A F L Q E L N D	S V N A K F I E E N	P D T L I T T N P S	P F S Q F T L V I A	T Q L V E D S M L	148	
human	R V G E F C H N	R G I K L V V A D T	R G L F G Q L		F C D F G E E	M I L T D S N G E Q	P L S A M V S M V T	225
yeast	K I N E F C H S	S G I R F I S S E T	R G L F G N T		F V D L G D E	F T V L D P T G E E	P R T G M V S D I E	190
wheat	E F D D Y H S Q Q	P P I A F I K S E V	R G L F G S V		F C D F G P E	F T V L D V D G E E	P H T G I V A S I S	220
AXR1	K L D R I C D A N	V K L V L V R S Y G	L A G F V R I S V K	E H P I I D S K P D	H F L D D L R L N N	P W P E L K S F V E	208	
human	K D N P G V		V T C L D E A R H	G F E S G D F V S			249	
yeast	P D		V T M L D D N R H	G L E D G N F V R			212	
wheat	N D N P A L		V S C V D D L V V	E F Q D G D L V V			244	
AXR1	T I D L N V S E P A	A A H K H I P Y V V	I L V K M A E E W A	Q S H S G N L P S T	R E E K K E F K D L	V K S K M V S T D E	268	
human			F S E V Q G M V E			L N G N Q P M E I K V L G	271	
yeast			F S E V E G L D K			L N D G T L F K V E V L G	244	
wheat			F S E V H G M T E			L N D G K P R K V K N A R	266	
AXR1	D N Y K E A I E A A	F K V F A P R G I S	S E V Q K L I N D S	C A E V N S N S S A	F W V M V A A L K E	F V L N E G G G E A	328	
human	P Y T F S I C D T	S N F S D Y I				R G G I V S Q	294	
yeast	P F A F R I I G S V	K E Y G E Y K				K G G I F T E	267	
wheat	P Y S F F L E E D T	S S F G A Y V				R G G I V T Q	290	
AXR1	P L E G S I P D M T	S S T E H Y I N L Q	K I Y L A K A E A D	F L V I E E R V K N	I L K K I G R D P S	S I P K P T I K S F	388	
human	V K V P K K I S	F K S L V A S L A	E P D F V V T D F		A K F S R P A	Q L H I G F O A L H	Q F C A Q H G R P	346
yeast	V K V P R K I S	F K S L K Q Q L S	N P E F V F S D F		A K F D R A A	Q L H L G F O A L H	O F A V R H N G E L	320
wheat	V K P P K V I K	F K P L K E A M S	E P G E F L M S D F		S K F E R P P	L L H L A F O A L D	K F R T E L S R F	343
AXR1	C K N A R K L K L C	R Y R M V E D E F R	N P S V T E I Q K Y	L A D E D Y S G A M	G F Y I L L R A A D	R F A A N Y N K F	447	
human	P R P R N E E D A A	E L V A L A Q A V N	A R A L P A V Q Q N	N L O E D L I R K	L A Y V A A G D L A	P I N A F I G G L A	405	
yeast	P R T M N D E D A N	E L I K L V T D L S	V Q Q P E V L G E G	V D V N E D L I K E	L S Y Q A R G D I P	G V V A F F G G L V	380	
wheat	P V A G S T D D V Q	R V I E Y A I S	I N D T L G D R K L	E E I D K K L L H H	F A S G S R A V L N	P M A A M F G G I V	401	
AXR1	P G G F D G G M D E	D I S R L K T T A L	S L L T D L G C N G	S V L P D D L I H E	M C R F G A S E I H	V V S A F V G G I A	507	
human	A Q E V M K A C S G	K F M P I M Q W L Y	F D A L E C L P E D	K E V L T E D K T L	Q R Q N R		450	
yeast	A Q E V L K A C S G	K F T P L K Q F M Y	F D S L E S L P D P	K N F P R N E K T T	Q P V N S R Y D N Q	I A V F G L D F O K	440	
wheat	G Q E V V K A C S G	K F H P L Y Q F F Y	F D S V E S L P V D		P L E P G D L	K P K N S R Y D A Q	450	
AXR1	S Q E V I K L V T K	Q F V P M L G T Y I	F N G I D H K S Q L	L K L			540	

- similarity to ubiquitin-activating enzyme E1
- ubiquitin-proteasome pathway

- *axr1-3* mutation alters conserved C-residue into tyrosine

ubiquitin -proteasom system



© 2012 American Association for Cancer Research

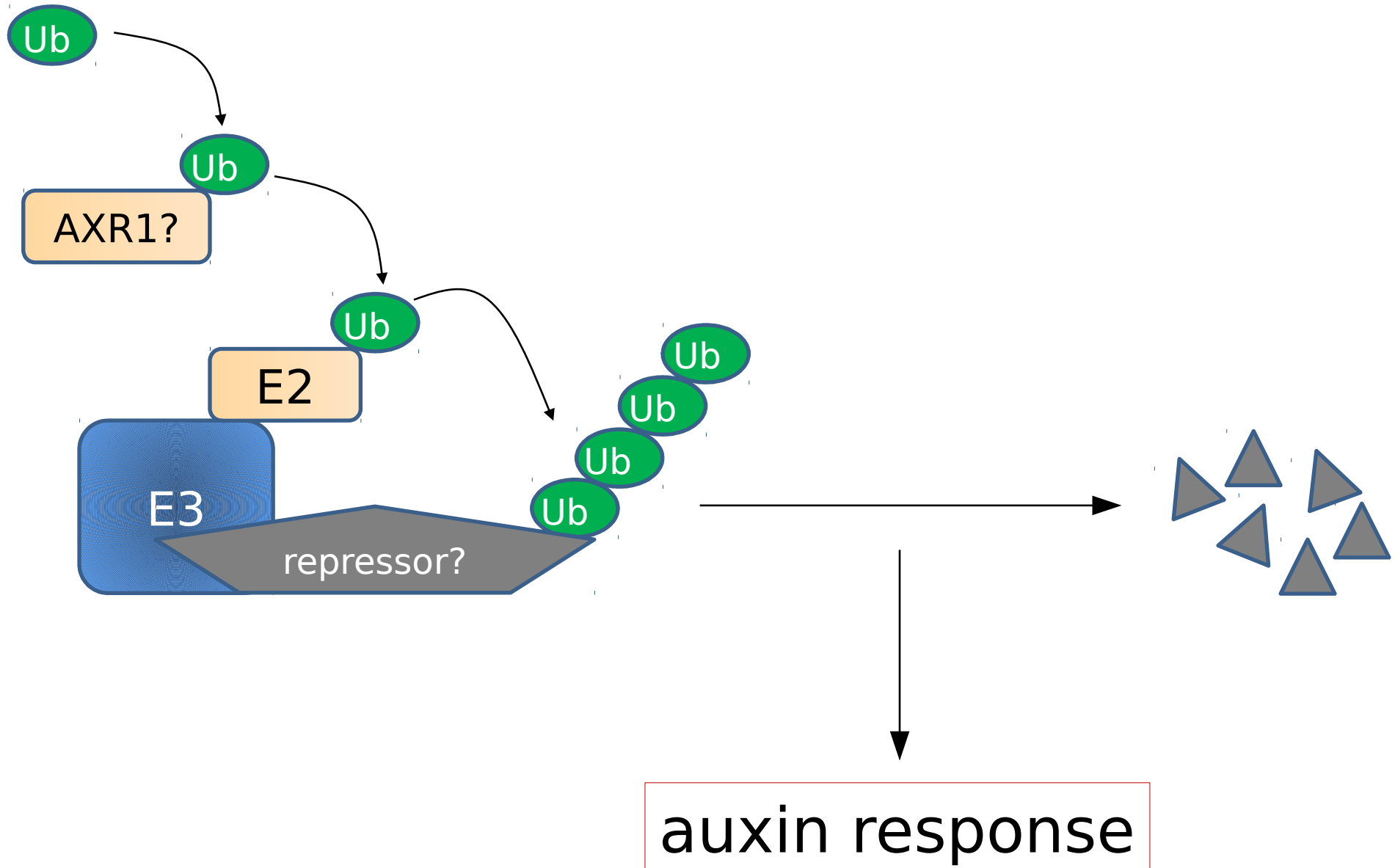
***Arabidopsis* auxin-resistance gene *AXR1* encodes a protein related to ubiquitin-activating enzyme E1**

**H. M. Ottoline Leyser, Cynthia A. Lincoln*,
Candace Timpfe, Douglas Lammer,
Jocelyn Turner & Mark Estelle†**

Department of Biology, Indiana University, Bloomington,
Indiana 47405, USA

- Feinkartierung und chromosomal walk → Kandidatengen
 - Transformation der Mutante mit Cosmid (+Kandidatengen) → WT Phänotyp
 - Expression und/oder cDNA des Kandidatengens ist in *axr1* Mutanten verändert
 - Sequenzierung der cDNA → *AXR1* Gen
- teilweise Homologie zu E1 Ubiquitin-aktivierendem Enzym

neues Modell



Early auxin-induced genes encode short-lived nuclear proteins

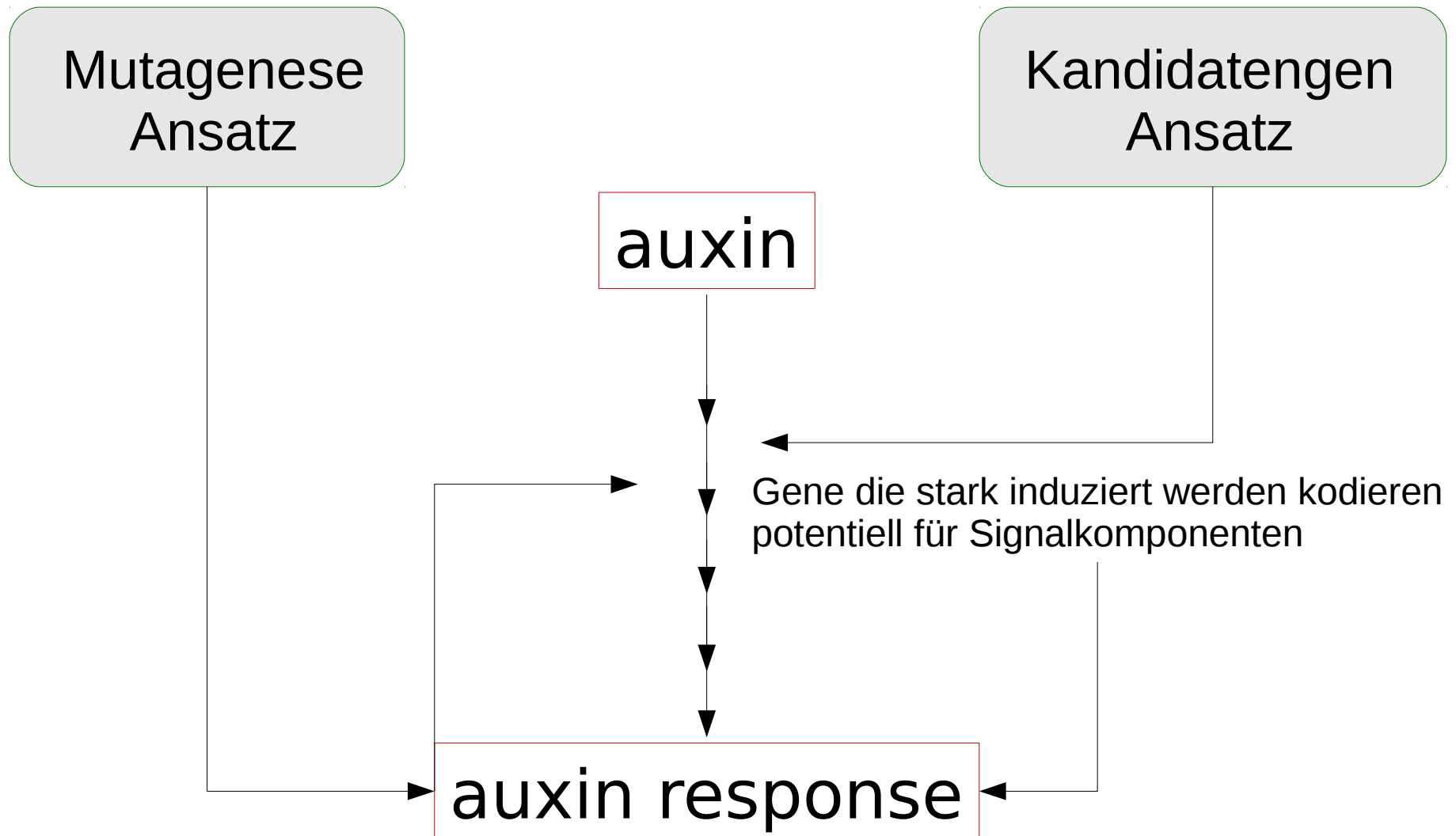
(plant hormone action/plant cell growth/protein stability/ $\beta\alpha\alpha$ DNA binding motif/nuclear localization)

STEFFEN ABEL, PAUL W. OELLER*, AND ATHANASIOS THEOLOGIS[†]

Plant Gene Expression Center, 800 Buchanan Street, Albany, CA 94710

- Ziel: Identifizierung und Charakterisierung von Elementen der Auxinsignaltransduktion

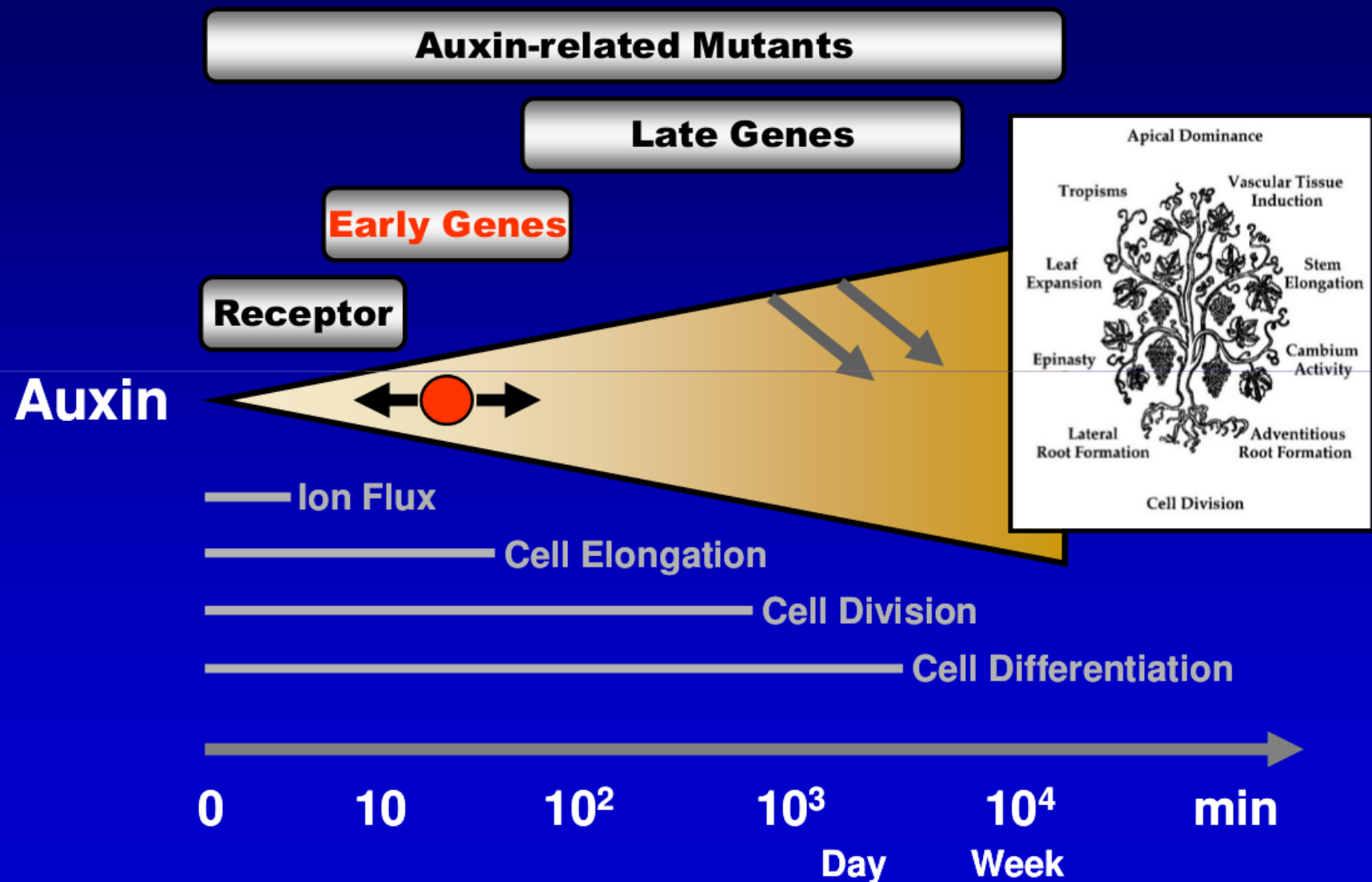
Hintergrund:



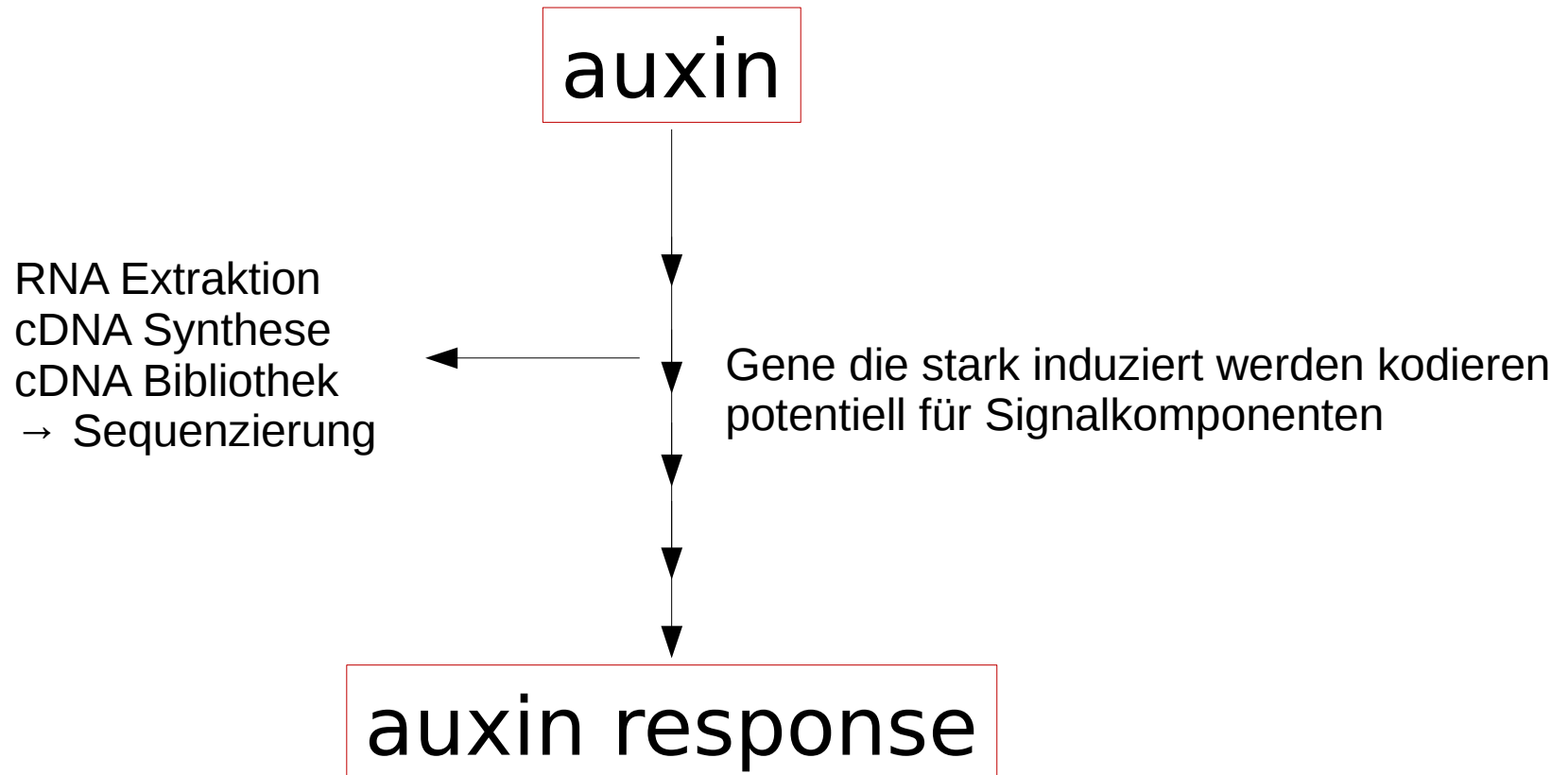
Identifikation von Signalkomponenten durch
Isolierung von Mutanten mit “Verlust” der Reaktion in Mutanten

Hintergrund:

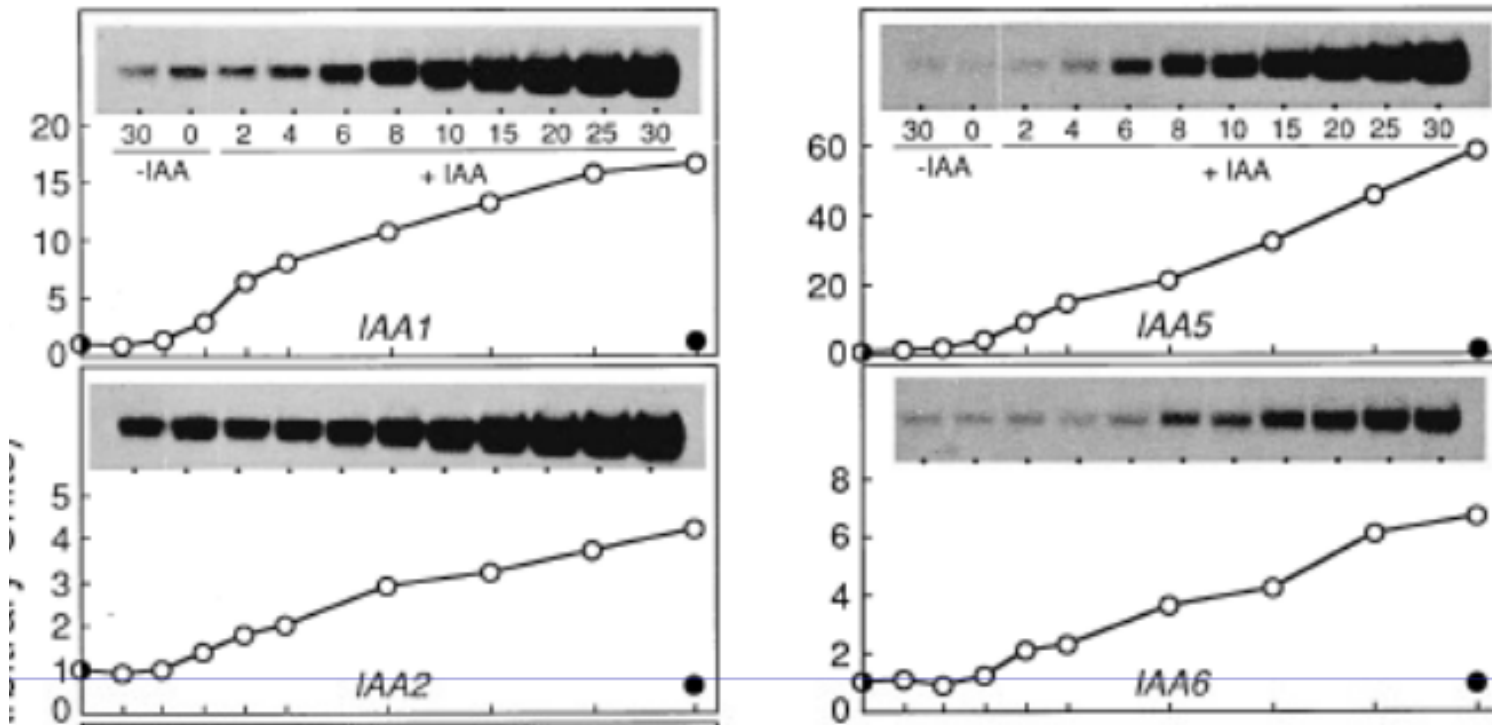
Approaches to Dissect Auxin Signaling



Hintergrund:



AUX/IAA Gene - Auxin-induktion



- Eine Gruppe von Genen, die schnell von Auxin induziert werden *AUX/IAA* Gene
- Funktion unbekannt → Ziel des papers

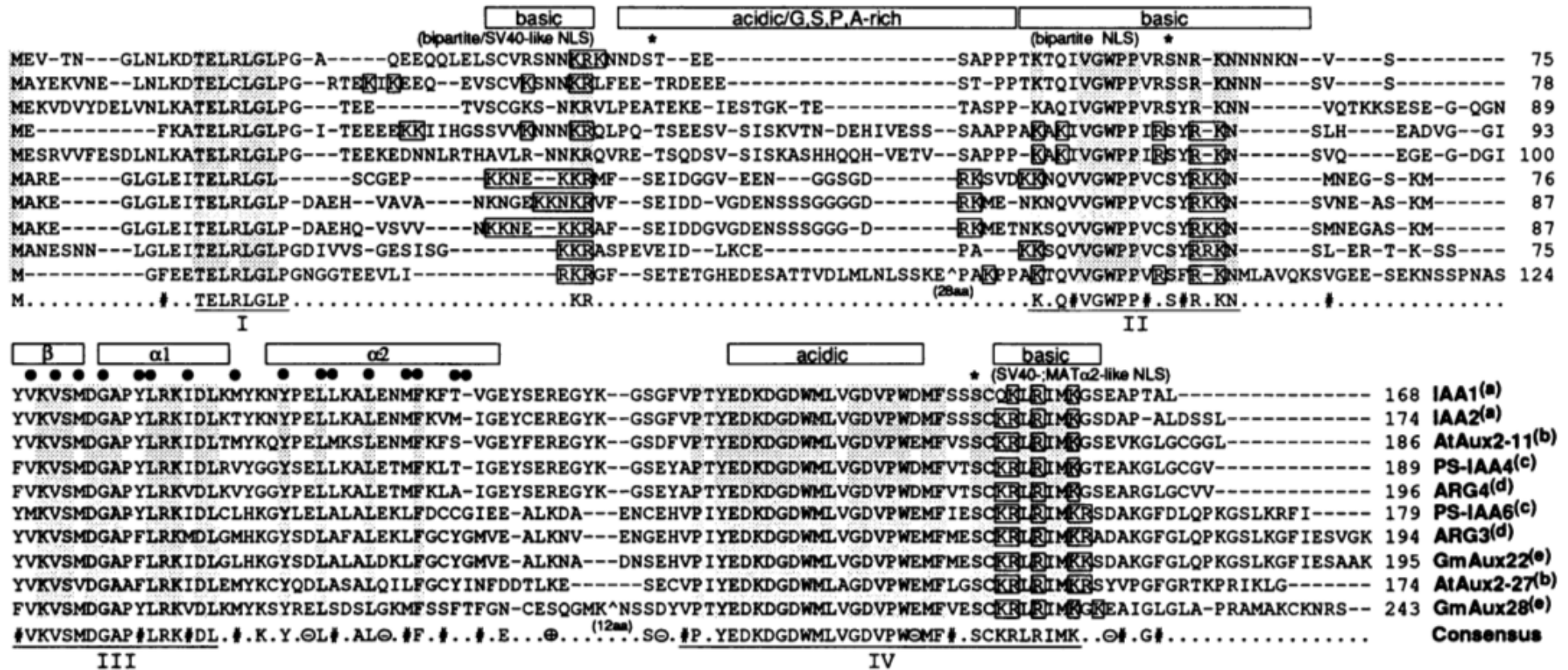
Strukturelle Eigenschaften d. Aux/IAA Proteine

—► Frage: Kann die Sequenz Aufschluss über Funktion geben?



Vergleich der Sequenz homologer Gene aus
Erbse, Arabidopsis, Soja, etc.

Alignment

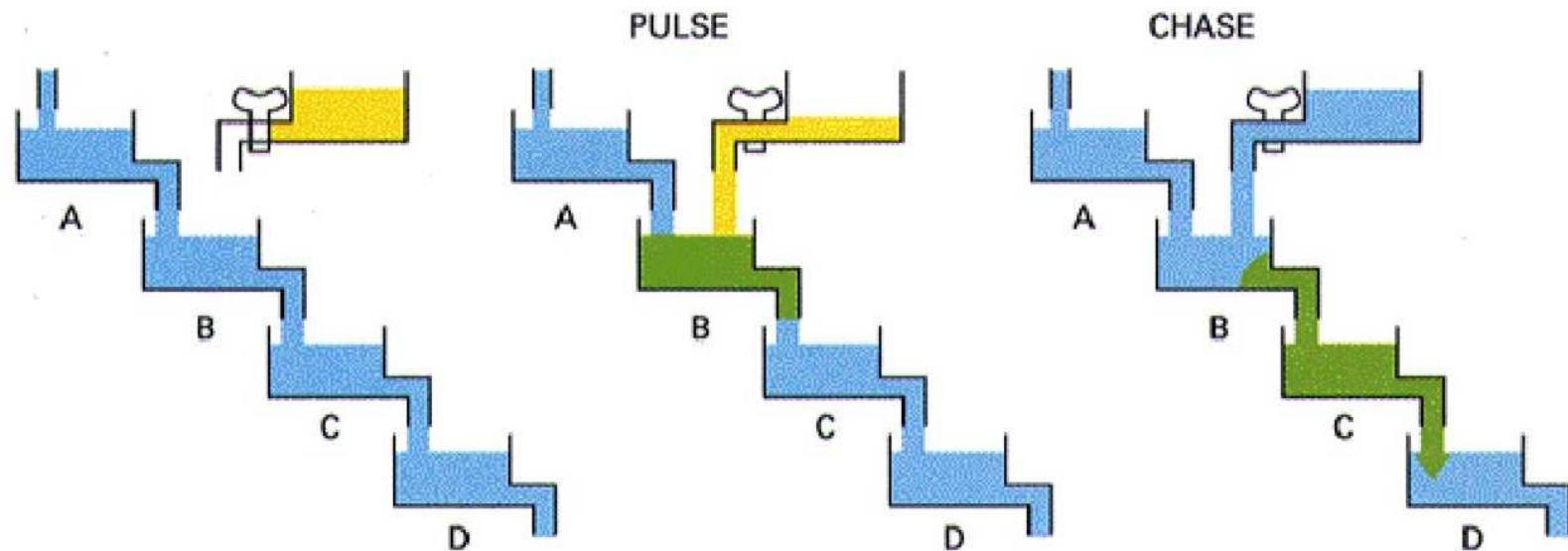


Keine Sequenzhomologie zu bekannten Proteinen
 → aber strukturelle Homologien!

Kann die Lokalisation der Proteine Aufschluss geben? → WB und immunostaining erfolglos

Pulse chase Experimente

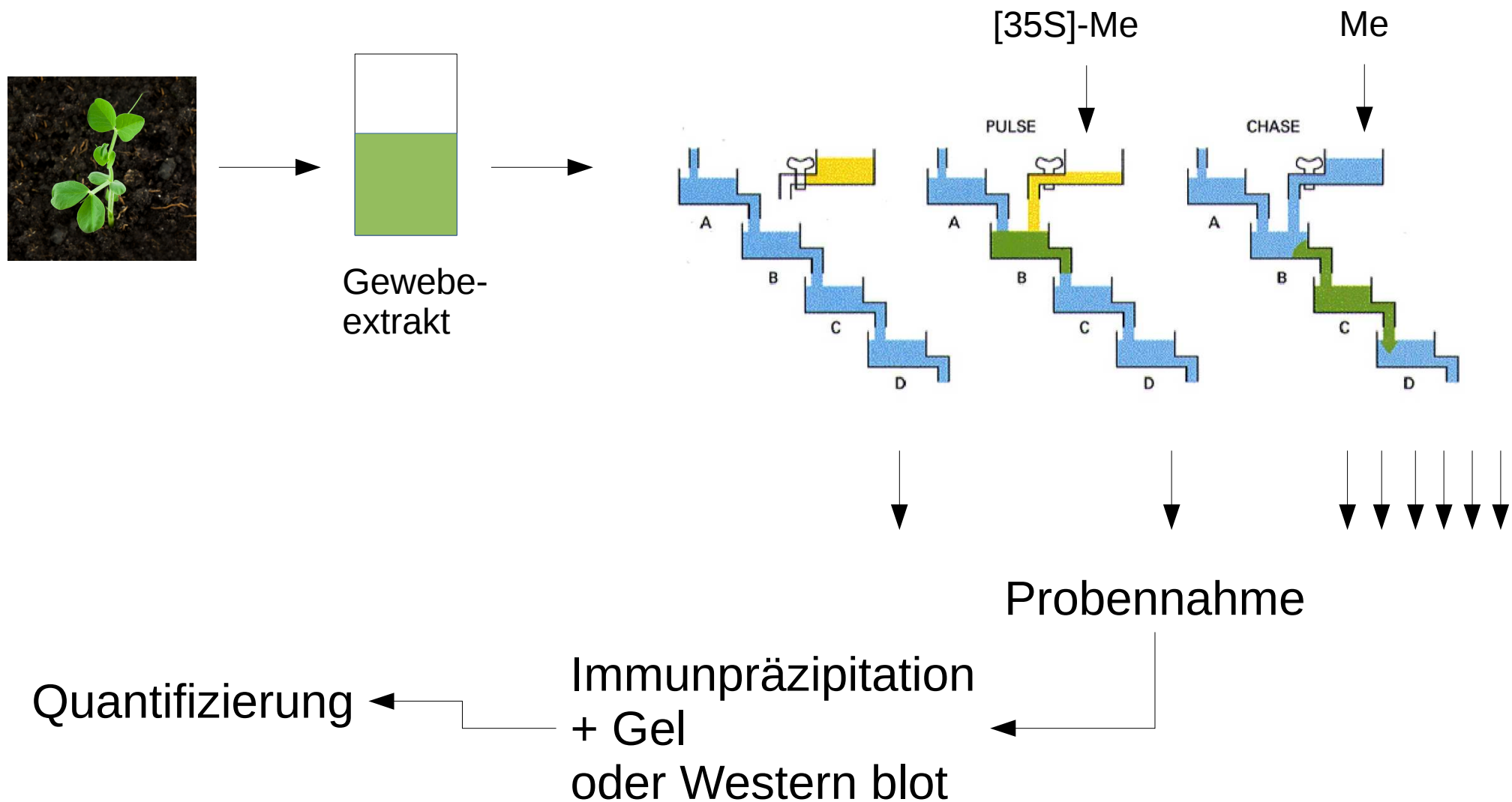
➔ Nachweis von Proteinstabilität / Proteinkinetik



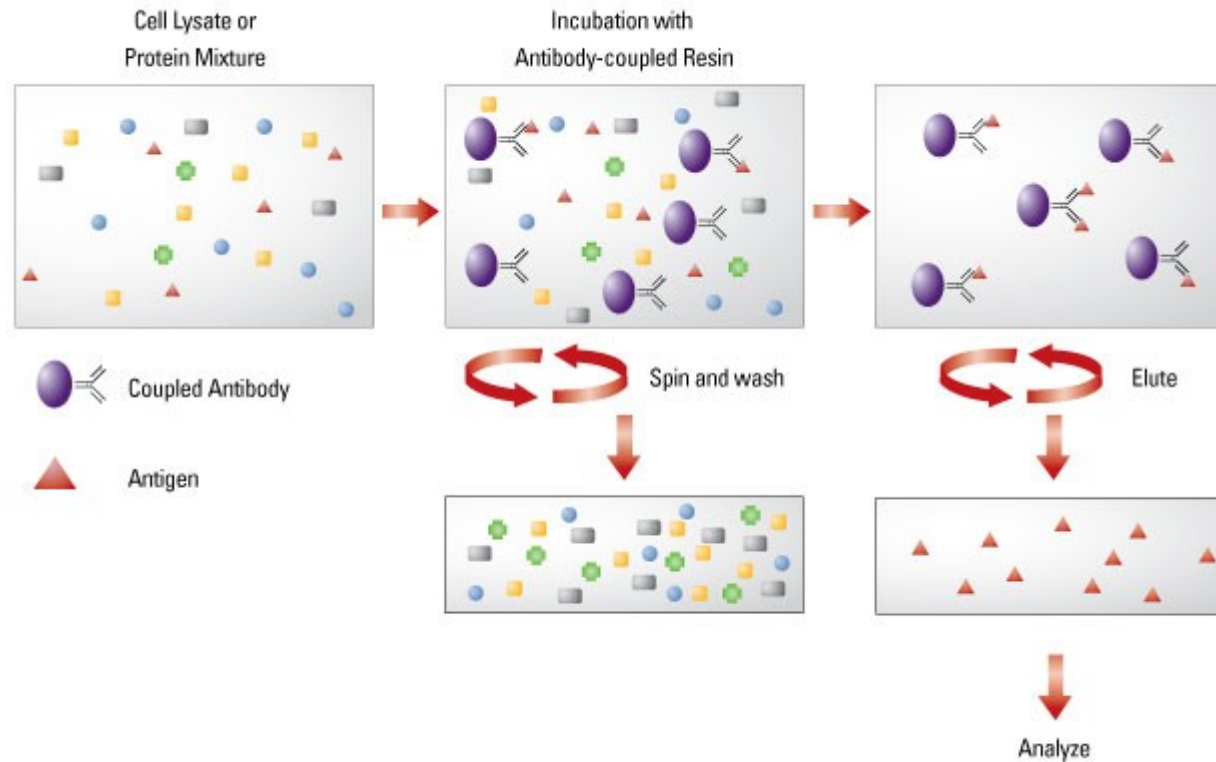
- startet mit Equilibrierung
- “Pulse” period: Protein-Labeling durch $[^{35}\text{S}]$ -Methionin → alle Proteine in dieser Zeit werden markiert
- “Chase” period: Überschuss von “kaltem” Methionin → alle neuen Proteine unmarkiert

Pulse chase Experimente

- ➔ Nachweis von Proteinstabilität (Halbwertszeit)

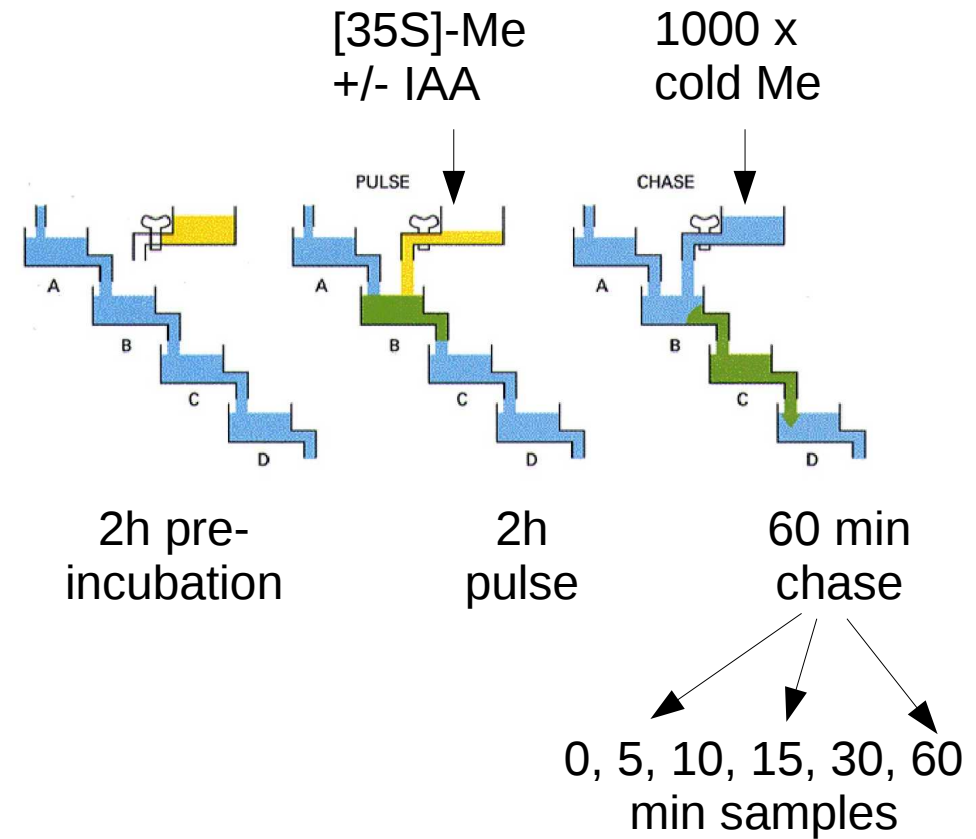
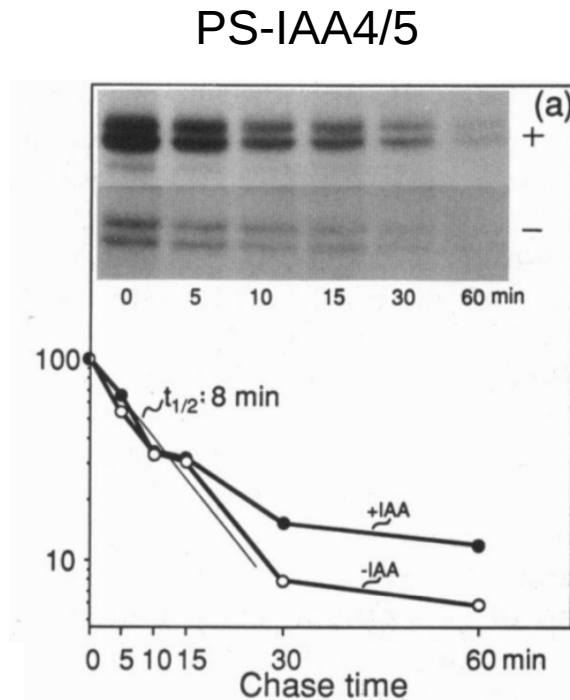


Immunoprecipitation



—————▶ Vorteil: Eluat (= protein of interest) Kann aufkonzentriert werden!

Hintergrund:



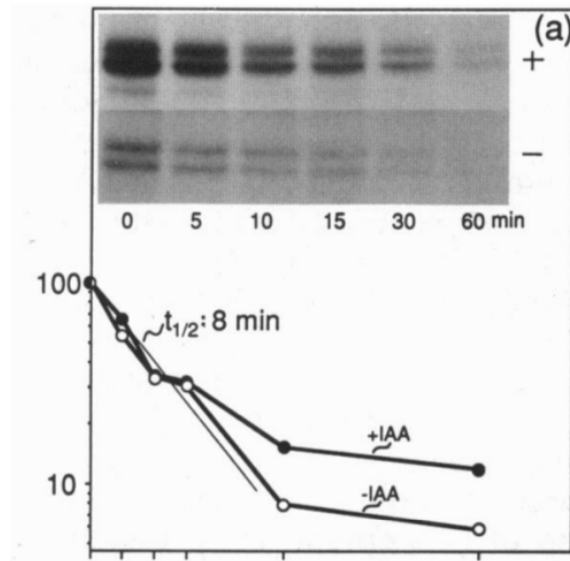
Ps-IAA4/5 wird schnell abgebaut

→ $t_{1/2}$ ca. 8 min

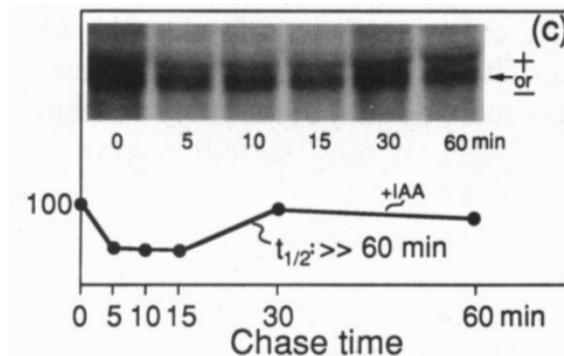
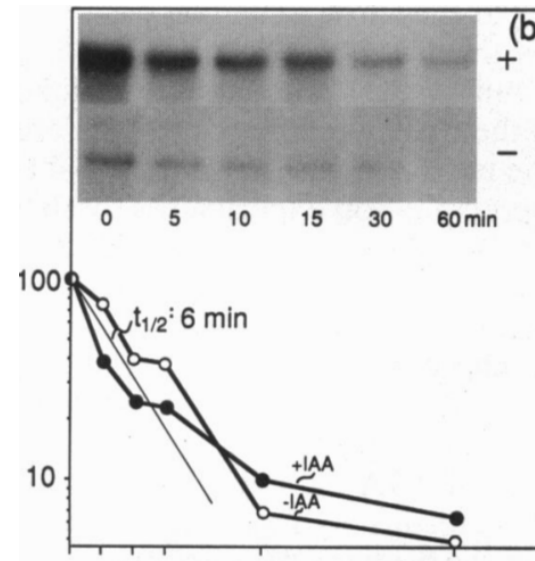
→ weitg. IAA-unabhängig

Hintergrund:

PS-IAA4/5



PS-IAA6



tubulin
(control)

Ps-IAAs werden schnell abgebaut
 → $t_{1/2}$ ca. 6-8 min
 → weitg. IAA-unabhängig
 → aber: Ausgangsmengen!
 → ungenaue Quantifizierung
 → Ladekontrollen (Rohextrakt)
 fehlen

- IAA Gene werden schnell induziert
- AUX/IAA Proteine werden schnell abgebaut

Funktion der AUX/IAAs?



→ Teile der Sequenz weisen Homologie zu prokaryotischen TFs auf

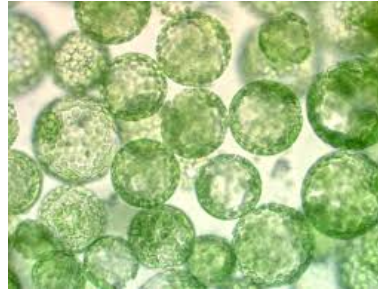
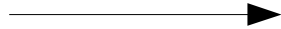
→

transiente Transfektion von Protoplasten

- > Einbringen von Fremd-DNA in Pflanzentellen (vorübergehend = nicht-stabil)



Protoplastierung



Transfektion



Nachweis und
Lokalisation der
Proteine *in vivo*

Translationale Fusionen

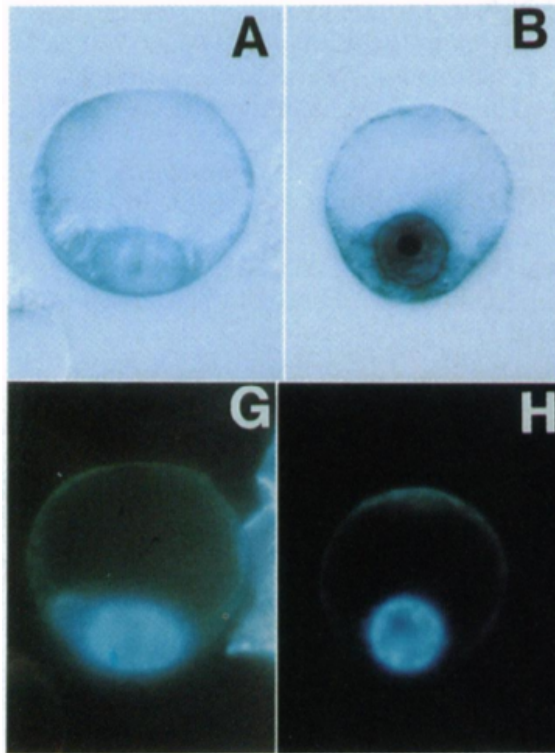
- PsIAA4 cDNA
- PsIAA6 cDNA
- AtIAA1 cDNA
- AtIAA2 cDNA

histochemischer
Nachweis von GUS

histochemischer GUS Nachweis

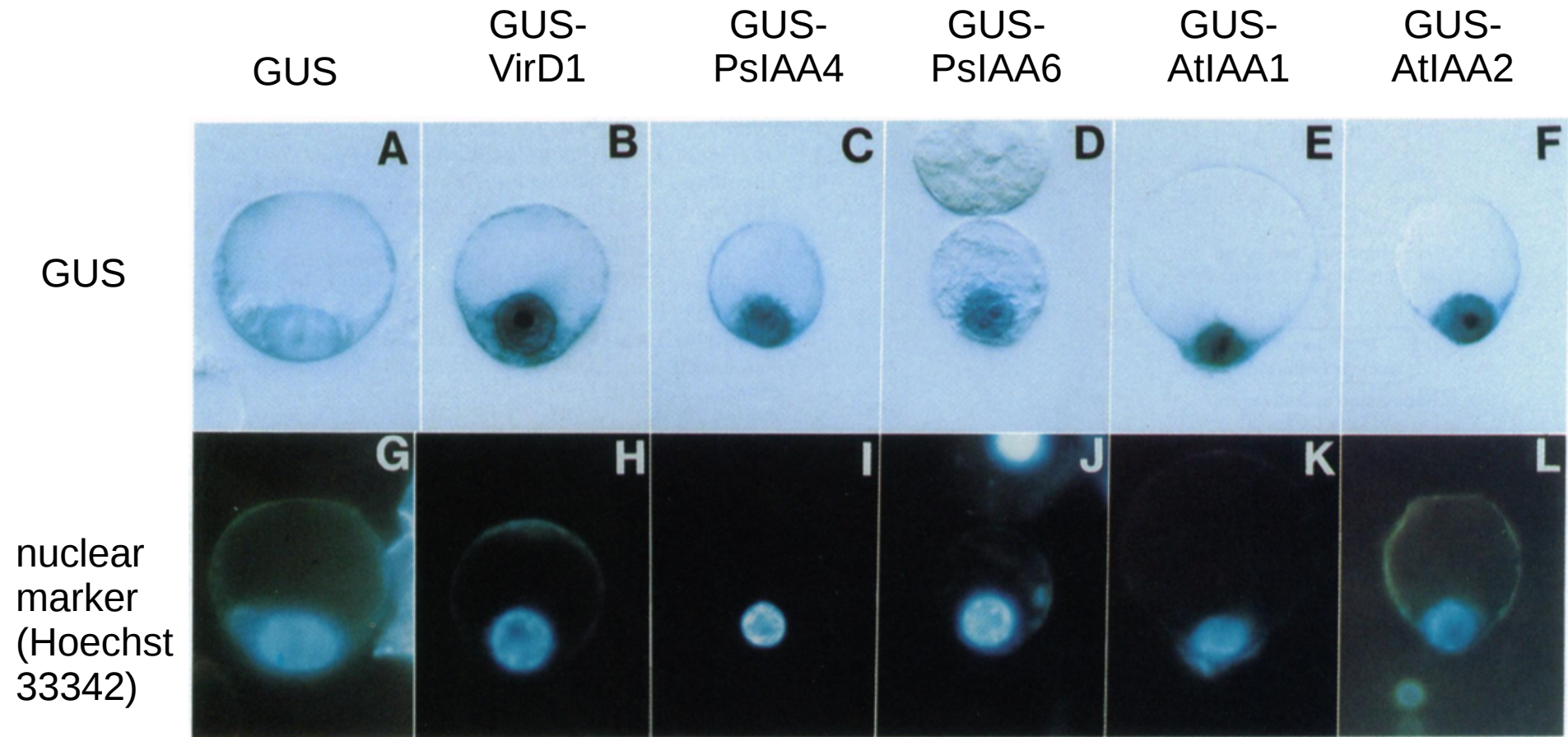
1. Kontrollen:
- A: GUS (ohne Fusionsprotein) - gleichmäßig verteilt im Cytoplasma
 - B: GUS-VirD2 (viral nuclear protein - pos. control)

GUS



nuclear
marker
(Hoechst
33342)

histochemischer GUS Nachweis



—▶ Aux/IAA Proteine sind im Nukleus lokalisiert (funkt. NLS!)

Kritik: Kontrollen + keine Info über Promotoren im Text!

heute: eher GFP als GUS + WB/ Immunoprecipitation mit Zellfraktionen

weitere Indizien für IAA = Kernproteine/TFs

	β	$\alpha 1$	$\alpha 2$	
10	ISRTVSVYL	D-EDTNNRLIKAKDR	-----SGRS-KTIEVQIRLRDHLKR	TraY (ColB4) ^(a)
10	PGNKVLLVL	D-DATNHKLLGARER	-----SGRT-KTNEVLVTLRDHLNR	TraY (R100) ^(a)
10	TGKMVKLKL	P-VDVESLLIEASNR	-----SGRS-RSFEAVIRLKDHLHR	TraY (F') ^(a)
3	DDPHFNFRM	P-MEVREKLKFRAEA	-----NGRS-MNSELLQIVQDALSK	Mnt ^(b)
6	KMPQFNLRW	P-REVLDLVRKVAEE	-----NGRS-VNSEIYQVRVMESEFKK	Arc ^(b)
20	QVKKIIVSI	P-LKVLKILTDERTRRQVNNLRHA	-TNSELLCEAF LHAFT	MetJ ^(c)
72	NVSYVKVSM	D---GAPYLRKIDLKM	-----YK-NYPELLKALENMFKFTVG-	IAA1
76	SVSYVKVSM	D---GAPYLRKIDLKT	-----YK-NYPELLKALENMFKVMIG-	IAA2
87	QGNYVKVSM	D---GAPYLRKIDLT	-----YK-QYPELMKSLENMFKFSVG-	AtAux2-11
91	GGIFVKVSM	D---GAPYLRKIDLRV	-----YG-GYPELLKALETMFKLTIG-	PS-IAA4
98	DGIFVKVSM	D---GAPYLRKVDLKV	-----YG-GYPELLKALETMFKLAIG-	ARG4
74	SKMYMKVSM	D---GAPYLRKIDLCL	-----HK-GYLELALALEKLEFDCCG--	PS-IAA6
84	SKMYVKVSM	D---GAPFLRKMDLGM	-----HK-GYSDLAFALEKLEFGCYG--	ARG3
85	SKMYVKVSM	D---GAPFLRKIDLGL	-----HK-GYSDLALALDKLEFGCYG--	GmAux22
73	KSSYVKVSV	D---GAAFLRKIDLEM	-----YK-CYQDLASALQLLEFG----	AtAux2-27
122	NASFVKVSM	D---GAPYLRKVDLKM	-----YK-SYRELSDSLGMFSSFTFG	GmAux28
	β	$\alpha 1$	$\alpha 2$	
	eeeeeeett-t	---thhhhhhhhhhh	-----tt-hhhhhhhhhhhhhhhhhhh	[1]
	eeeeeeeeee-e	---hhhhhhhhheee	-----et-chhhhhhhhhhhhhhhhhhc	[2]
	llleeeeeee-l	---lllllhhhhhhh	-----hh-lhhhhhhhhhhhhhhhh111	[3]

→ Teil der AS- Sequenz hat (strukturelle) Homologie zu prokaryotischen TFs



AS müssen nicht identisch sein aber ähnliche Eigenschaften haben

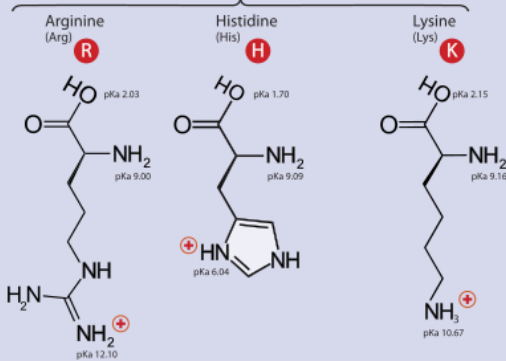
Zusammenfassung:

Twenty-One Amino Acids

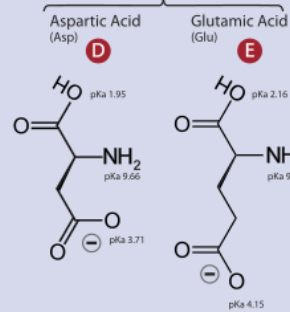
⊕ Positive
⊖ Negative
• Side chain charge at physiological pH 7.4

A. Amino Acids with Electrically Charged Side Chains

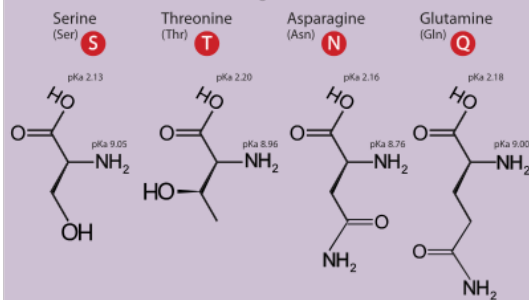
Positive



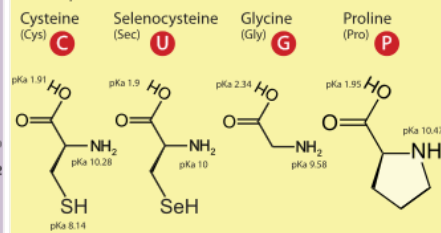
Negative



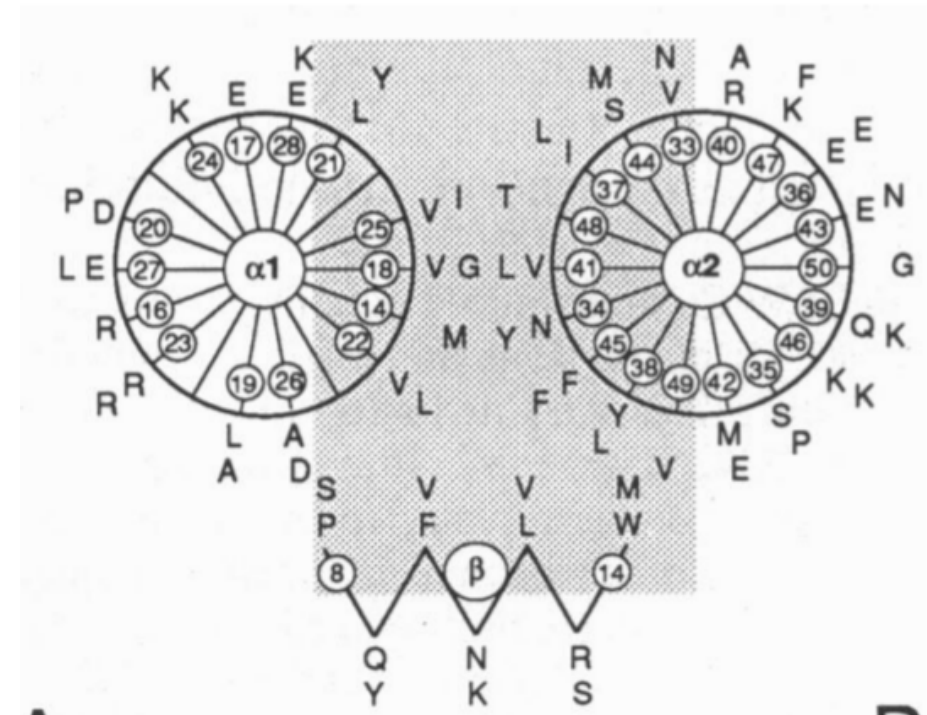
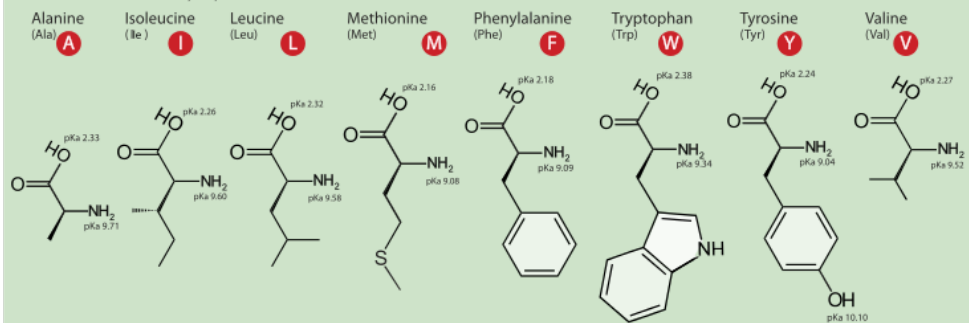
B. Amino Acids with Polar Uncharged Side Chains



C. Special Cases



D. Amino Acids with Hydrophobic Side Chain



Abwechslung von hydrophoben u. hydrophilen AS → amphipathic nature (in procaryoten TF und IAA)

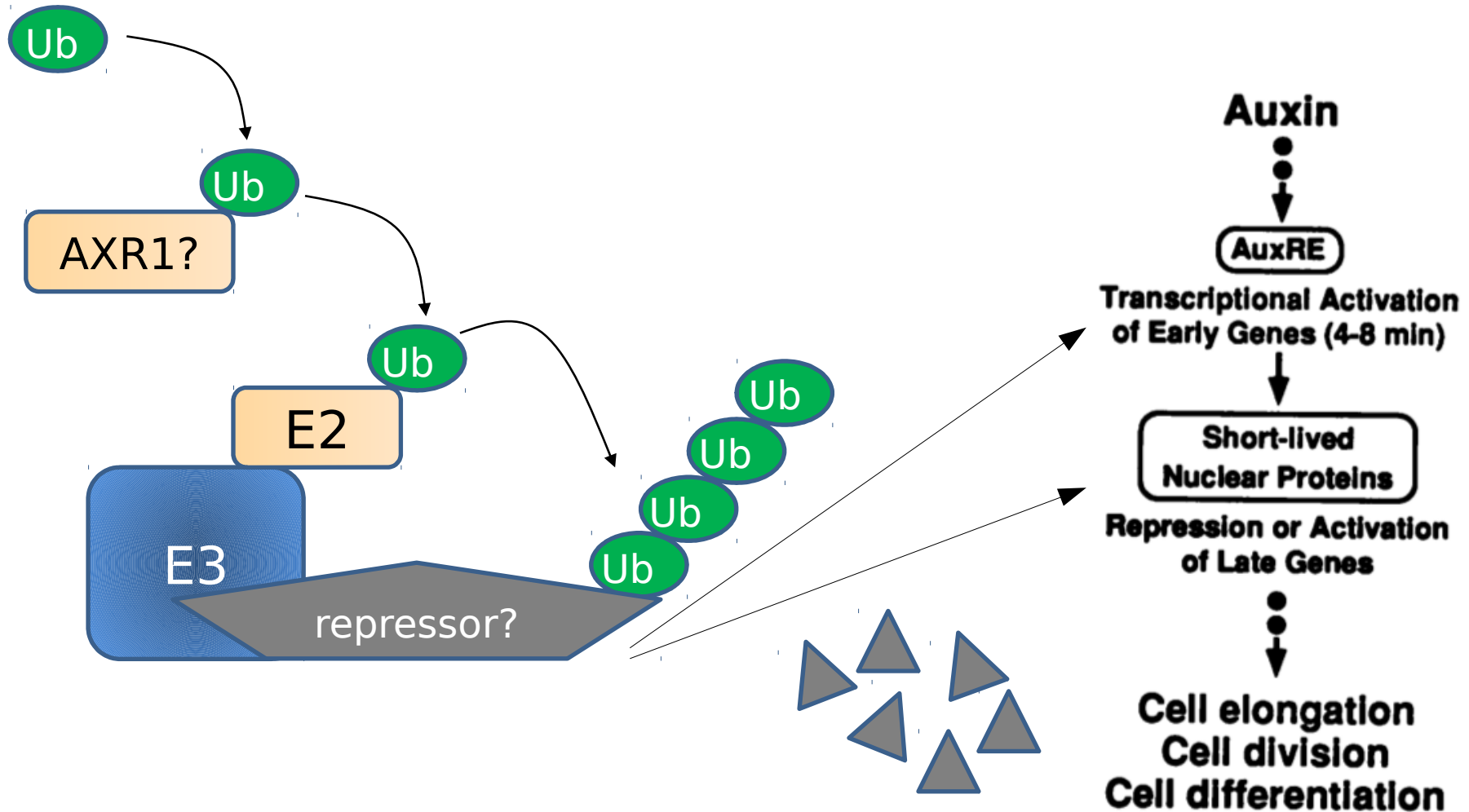
?????????

Zusammenfassung:

AUX/IAAs sind “early auxin response” Gene, die

- für kurzlebige +
- nukleär-lokalisierte Proteine kodieren +
- Homologie zu prokaryotischen Transkriptionsfaktoren aufweisen

neues Modell



auxin response

next:

Bitte an Termine zur Vorbereitung
Ihrer paper denken!

→ IPB
Weinberg 3
06120 Halle

Datum	VL/author	Inhalt/title	link	Sprecher + pdf
19.10.	VL	Signaltransduktionsmechanismen	pdf	C. Delker
22.10.	VL	Nachweismethoden	pdf	C. Delker
26.10.	VL	Lesen, Schreiben, Präsentieren	pdf	C. Delker
29.10.	VL	Auxin + axr1 papers	pdf	C. Delker
02.11.	Abel et al. (1994)	Early auxin-induced genes encode short-lived nuclear proteins	PNAS 91:326-330 🔗]]	C. Delker
05.11.	Ulmasov et al. (1997)	ARF1, a transcription factor that binds to auxin response elements.	Science 276:1865 🔗 + glossar	C. Delker
09.11.	Vorbereitung	The TIR1 protein of Arabidopsis functions in auxin response and is related to human SKP2 and yeast Grr1p		alle
12.11.	Ruegger et al. (1998)	The TIR1 protein of Arabidopsis functions in auxin response and is related to human SKP2 and yeast Grr1p	Genes & Development 12:198 full text pdf 🔗 + glossar	Christina Staudigl
16.11.	Vorbereitung	Identification of an SCF ubiquitin-ligase complex required for auxin response in Arabidopsis thaliana		alle
19.11.	Gray et al. (1999)	Identification of an SCF ubiquitin-ligase complex required for auxin response in Arabidopsis thaliana	Genes & Development 13:1678 full text pdf 🔗 + glossar	Maximilian Vogt
23.11.	Vorbereitung	Auxin regulates SCFTIR1-dependent degradation of AUX/IAA proteins		alle
26.11.	Gray et al. (2001)	Auxin regulates SCFTIR1-dependent degradation of AUX/IAA proteins	Nature 414:271 abstract 🔗 + glossar	Johannes Pawlik
30.11.	Vorbereitung	The Arabidopsis F-box protein TIR1 is an auxin receptor		alle
03.12.	Kepinski and Leyser (2005)	The Arabidopsis F-box protein TIR1 is an auxin receptor	Nature 435:446 abstract 🔗 + glossar	Ken Uhlig
	Callis (2005)	news and views zu den beiden papers (= kommentar)	news and views 🔗	
07.12.	Vorbereitung	Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase		alle
10.12.	Tan et al. (2007)	Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase	Nature 446:640 abstract 🔗 + glossar	n.n.

Molekulare Mechanismen der Signaltransduktion

ARF1, a Transcription Factor That Binds to Auxin Response Elements

Tim Ulmasov, Gretchen Hagen, Tom J. Guilfoyle*

The plant hormone auxin regulates plant physiology by modulating the interaction of transcription factors with auxin response elements (AuxREs) of the affected genes. A transcription factor, Auxin Response Factor 1 (ARF1), that binds to the sequence TGTCTC in AuxREs was cloned from *Arabidopsis* by using a yeast one-hybrid system. ARF1 has an amino-terminal DNA-binding domain related to the carboxyl terminus of the maize transactivator Viviparous-1. Sequence requirements for ARF1 binding in vitro are identical to those that confer auxin responsiveness in vivo. The carboxyl terminus of ARF1 contains two motifs found in the Aux/IAA class of proteins and appears to mediate protein-protein interactions.

www.sciencemag.org • SCIENCE • VOL. 276 • 20 JUNE 1997

+ Hinweise bezüglich der Vorträge