

5 Zusammenfassungen

5.1 Zusammenfassung

Cullin-abhängige E3-Ligasen bilden eine Klasse von Enzymkomplexen, die viele regulatorische Prozesse in der eukaryotischen Zelle kontrollieren. Sie markieren Zielproteine für einen ubiquitinabhängigen Abbau durch das 26S Proteasom. CUL3-BTB-Ligasen gehören zu dieser Klasse von Enzymen. In *Arabidopsis thaliana* gibt es mit *AtCUL3a* und *AtCUL3b* zwei Gene die für CUL3 codieren und mindestens 80 BTB-Proteine, die als Substratadaptoren in Frage kommen. Eine der bekanntesten Funktionen von Cullin-abhängigen E3-Ligasen ist ihre Rolle bei der Phytohormonsignaltransduktion. Sowohl für Auxin (SCF^{TIR1}-Komplex) als auch für Ethylen (BRC^{ETO1}- und SCF^{EBF1/2}-Komplex), Gibberelline (SCF^{SLY1/SNE}-Komplex) und Jasmonsäure (SCF^{COI1}-Komplex) wurde ihre Bedeutung bereits dokumentiert.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass *AtCUL3a* und *AtCUL3b* die Keimung beeinflussen. Unter Stressbedingungen, wie erhöhten Sulfatkonzentrationen, war die Keimung der Nullmutanten *cul3ako* und *cul3bko* weniger stark beeinträchtigt, als die der Wildtypen. Die Sulfatassimilation ist bis zur Synthese von Cystein nicht verändert. Die Toleranz der Nullmutanten gegenüber hohen Temperaturen und der Vergleich mit ebenfalls hitzetoleranten Abscisinsäure-insensitiven Mutanten aus dem ABA-Signaltransduktionsweg liefern wichtige Hinweise auf eine Funktion von *AtCUL3* in diesem Mechanismus.

Als weiteres Ergebnis konnte festgestellt werden, dass die Stressantwort in älteren *cul3bko*- und *cul3ako*-Pflanzen generell geschwächt ist, was sich durch eine Sensitivität gegen Hitzeschock bei einem gleichzeitig beeinträchtigten Hitzeschockprotein-Schutzsystem bemerkbar machte. Die HS-Antwort wird nicht über den Abbau von Hitzeschockfaktoren durch einen BRC-Komplex reguliert. Aus der Literatur sind jedoch mehrere Hinweise für die Modifikation von Proteinen durch den UBQ-Weg bekannt. Eine Steuerung über diesen Weg ist somit möglich. Entscheidend für die HS-Antwort ist die Modifikation mit RUB, da die *axr1-12* Mutante eine geringere Expression von *HSP*-Genen aufwies. Der zusätzliche Verlust von *AtCUL3b* konnte diesen Effekt nicht verstärken.

Bei der Untersuchung der Wirkung von Phytohormonen wurde eine erhöhte Sensitivität der Null- und Doppelmutanten unter dem Einfluss des Brassinosteroids epi-Brassinolid

beobachtet. Eine Funktion von AtCUL3b liegt nahe, da aktuelle Forschungsberichte eine Rolle des UBIQUITIN-PROTEASOM-WEGS bei der Regulierung der BR-Biosynthese beschreiben.

Weiterhin ist es gelungen, eine Interaktion von AtCUL3b mit NPR1 *in vitro* nachzuweisen. Bei einer gleichzeitigen Hypersensitivität gegenüber Salicylsäure und einer veränderten *PR1*-Expression in *cul3bko* kann AtCUL3b eine Funktion im SA-Signaltransduktionsweg zugeordnet werden.

cul3ako reagierte weder hypersensitiv auf Salicylsäure, noch war die *PR1*-Expression verändert. Obwohl eine Interaktion von NPR1 mit AtCUL3a nicht ausgeschlossen werden kann, liegt die Vermutung nahe, dass die Redundanz zwischen AtCUL3b und AtCUL3a im SA-Weg nicht zum Tragen kommt.

5.2 Summary

Cullin dependent E3 ligases form a class of enzyme complexes, which control many regulatory processes in the eukaryotic cell. They target proteins for ubiquitindependent degradation by the 26S proteasome. The CUL3-BTB ligases belong to this class of enzymes. *Arabidopsis thaliana* encodes two related CUL3 genes, called AtCUL3a and AtCUL3b. There are at least 80 BTB proteins, which are applicable as substrate adaptors. One of the most well-known functions of Cullin dependent E3 ligases is their role in the phytohormone signal transduction. Both for auxin (SCF^{TIR1}-complex), ethylene (BRC^{ETO1}- and SCF^{EBF1/2}-complex), gibberellin (SCF^{SLY1/SNE}-complex) and jasmonic acid (SCF^{COI1}-complex) their relevance was already documented.

In this work it could be shown that AtCUL3a and AtCUL3b play a role with germinating under stress conditions. Increased sulfate concentrations impair germinating of the null mutants *cul3ako* and *cul3bko* less strong than the wildtype, while the sulfate assimilation is not defective up to the synthesis of cysteine. The tolerance of the null mutants to high temperatures during germination and the comparison with heat-resistant abscisic acid insensitive mutants provides important notes for a function of AtCUL3 in the ABA signal transduction pathway.

It could be demonstrated that the stress response in *cul3bko* and *cul3ako* is generally weakened, which became apparent with older plants in sensitivity against heat shock. The heat shock protein protection system is impaired at the same time. A direct regulation of the HS response by the degradation of heat shock factors through a BRC complex can be excluded. However, from the literature several references are well-known for the modification of proteins by the UBIQUITIN pathway. A control in this way is thus

possible. The modification with RUB is crucial for the HS response. It could be shown that already the *axr1-12* mutant exhibited a lower expression of HSP genes. The additional loss of AtCUL3b could not strengthen this effect.

During the investigation of the phytohormones, null and double mutant showed an increased sensitivity under the influence of the brassinosteroid epi-brassinolide. Current research reports demonstrate the role of the UBQ proteasome way with the regulation of the BR biosynthesis.

An interaction of AtCUL3b with NPR1 is shown *in vitro*. With a simultaneous hypersensitivity to salicylic acid and a changed *PR1* expression in *cul3bko*, AtCUL3b can be assigned to a function in the SA signal transduction way.

cul3ako reacted neither hypersensitiv to salicylic acid nor was the *PR1* expression changed. Although an interaction of NPR1 with AtCUL3a cannot be excluded, it is likely that there is no redundancy between AtCUL3b and AtCUL3a in the SA way.