

1. Einleitung

Die genetische Information eines Organismus ist auf der DNA kodiert. Die Verpackung dieser genetischen Information erfolgt auf engstem Raum im Zellkern in mehreren Strukturebenen. Dabei ist die DNA durch die Bindung der Histonproteine H1, H2A, H2B, H3 und H4 in eine komplexe Struktur, den Nukleosomen, kompaktiert. Diese Nukleosomen wiederum können durch Interaktion mit anderen Proteinen zu einer höhergeordneten Struktureinheit, dem Chromatin, konfiguriert werden.

Die Kontrolle dieser transkriptionsaktiven und –inaktiven Bereiche wird dabei direkt durch *cis*-DNA-Elemente, aber auch durch *trans*-wirkende Faktoren, sowie durch epigenetische Prozesse, welche letztendlich auf die Chromatinstruktur der Gene wirken, durchgeführt. Dabei sind solche epigenetischen Veränderungen der Chromatinstruktur zellerblich und können zu epigenetischem Silencing führen. So wurde mittlerweile auch die Modifizierung von DNA und Histonen, bei letzteren insbesondere der N-terminale Bereich, als der Schlüssel zum Verständnis epigenetischer Prozesse, wie Gen-Silencing und –aktivierung, erkannt. Als Silencing wird dabei die Inaktivierung von künstlich oder natürlich eingebrachten Transgenen sowie deren endogene Sequenzhomologe bezeichnet. Der Mechanismus für das Silencing ist sehr komplex. Die DNA-Sequenz des Zielgens wird dabei nicht verändert, sondern das Silencing wird durch einen epigenetischen Prozess bewirkt. Dabei kann auch lokal die Chromatinstruktur verändert werden, was durch DNA- und Histonmodifizierungen, wie z. B. Methylierungen, bewirkt werden kann. Hierzu konnten in den letzten Jahren eine große Anzahl von Enzymen identifiziert werden, welche diese DNA- und Histonstrukturen modifizieren, sowie Proteine, welche solche Modifizierungen spezifisch erkennen, daran binden und Silencing-Komplexe aufbauen.

Insbesondere auch nach der Sequenzierung des Genoms verschiedener Arten, beispielsweise der Eukaryoten *Drosophila melanogaster* als Vertreter tierischer und *Arabidopsis thaliana* als pflanzlicher Modellorganismus, wuchs die Anzahl und das Wissen über solche Enzyme und Proteine stetig an. Somit kann letztendlich eine Vielzahl von entwicklungsbiologischen Prozessen über solche epigenetische Regulationsmechanismen kontrolliert werden.

1.1 Eukaryotische Histon- und DNA-Modifizierungen

Die Methylierung, Acetylierung, Phosphorylierung oder Ubiquitinierung der Lysin-, Arginin- und Serinreste von Histonen resultiert in einem bestimmten Muster, welches zur Formulierung der epigenetischen Histon-Code Hypothese führte (Stahl und Allis 2000; Jennuwein und Allis 2001). Dabei sind bei aktiven oder reprimierten Chromatin unterschiedliche Modifizierungen an den Aminosäureresten vorhanden.

Am Histon H3 definiert die Methylierung der Lysinreste 4, 36 und 79 aktives Chromatin, während die Methylierung der Lysinreste 9 und 27 bei H3 sowie 20 bei Histon H4 für reprimierte Chromatinbereiche spezifisch ist (Fischle et al., 2003; Lachner et al., 2003). Dabei wird durch die Mono-, Di- und Trimethylierung dieser Aminosäurepositionen das Spektrum des epigenetischen Histoncodes noch wesentlich erweitert. Eine Mono-, Di- und Trimethylierung von Histon H3 an der Position Lysin 9 und 27 sowie die Trimethylierung im Histon H4 an der Position Lysin 20 sind spezifische Histonmethylierungen für Heterochromatin von *Drosophila* (Ebert et al., 2004). Bei der Maus ist die Trimethylierung von Lysin 9 im Histon H3, von Lysin 20 im Histon H4 sowie die Monomethylierung von Lysin 27 im Histon H3 spezifisch für perizentrisches Heterochromatin. In dem pflanzlichen Modellorganismus *Arabidopsis thaliana* werden im Gegensatz dazu Trimethylierungen für Lysin 9 und 27 im Histon H3 und Di- sowie Trimethylierung von Lysin 20 im Histon H4 im Euchromatin gefunden, während Heterochromatin durch mono- und dimethyliertes Lysin 9 und 27 im Histon H3 sowie monomethyliertes Lysin 20 im Histon H4 charakterisiert wird (Naumann et al., 2005). Diese Unterschiede deuten darauf hin, dass der Histoncode im Gegensatz zum DNA-Code nicht universell ist, sondern artspezifische Unterschiede existieren (Loidl, 2003).

Die Anzahl der histonmodifizierenden Enzyme in Pflanzen ist ungleich höher als in anderen Eukaryoten. Ihre Funktion bei der Methylierung der verschiedenen Aminosäureresten in den Histonen sowie das Zusammenspiel mit anderen Chromatinregulatoren ist bisher nur teilweise aufgeklärt. Die Existenz für diese weitaus höhere Vielfalt von Histon- und DNA-modifizierenden Enzymen bei Pflanzen im Vergleich zu anderen Eukaryoten könnte verschiedene Ursachen haben. Die ontogenetische Entwicklung der Pflanzen ist, im Gegensatz zu den meisten Tieren, durch eine hohe Umweltabhängigkeit und Plastizität gekennzeichnet. Dies wird vor allem durch die fast

ausschließlich sessile Lebensform bedingt. Die Vielzahl äußerer Einflüsse wird wahrscheinlich durch ein breites Spektrum an Genexpressionsmustern, gesteuert durch eine große Zahl dafür verantwortlicher Enzyme und interagierender Proteine, widergespiegelt. Die Möglichkeit der Dedifferenzierung und Totipotenz pflanzlicher Zellen kann ebenfalls für eine flexible Antwort auf verschiedene Umwelteinflüsse notwendig sein. Die komplexe Steuerung dieser entwicklungsbiologischen Prozesse wird vor allem durch DNA- und Histonmodifizierungssysteme bewirkt, welche als Multigenfamilien in Pflanzen vorhanden sind. So wurden 12 putative methylcytosin-bindende Proteine (Zemach und Grafi, 2003), 29 SET-Domänenproteine (Baumbusch et al., 2001), 18 putative Histondeacetylasen und 12 putative Histonacetylasen (*Arabidopsis* Genome Initiative 2000; Pandey et al., 2002) identifiziert, ungleich mehr als in tierischen Organismen.

Eine zentrale Rolle bei diesen Regulationsprozessen kommt der Etablierung epigenetisch stabiler Chromatinzustände zu. Hierbei ist die Lysinmethylierung der Histone H3 und H4 durch die enzymatische Aktivität der SET-Domänenproteine von entscheidender Bedeutung.

1.2 In *Arabidopsis thaliana* kodieren Genfamilien für E(Z), TRX, ASH1 und SU(VAR)3-9 homologe SET-Domänenproteine

Die Identifikation von SET-Domänenproteinen fand zuerst in *Drosophila melanogaster* statt. Hierbei wurde eine im carboxyterminalen Ende befindliche konservierte Domäne identifiziert, die außer in SU(VAR)3-9 auch in ENHANCER OF ZESTE (EZH) sowie TRITHORAX (TRX) gefunden wurde (Tschiersch et al., 1994; Jenuwein et al., 1998).

In *Arabidopsis* erfolgt die Einteilung der SET-Domänenproteine, in Anlehnung an die homologen Proteinfamilien in *Drosophila*, in vier Klassen. Dabei wurden bislang 29 Gene, welche für SET-Domänenproteine kodieren, identifiziert (Baumbusch et al., 2001). Die Gruppe der zuerst identifizierten *Enhancer of zeste E(z)* homologen SET-Domänengene in *Arabidopsis* umfasst 3 Mitglieder, *CURLY LEAF (CLF)*, *MEDEA (MEA)* und *SWINGER (SWN)*, ursprünglich *EZAI*). Die Funktion von E(Z) Proteinen wurde bereits in anderen Eukaryoten, vor allem in *Drosophila melanogaster* und *Mus musculus* (Jones und Gelbart, 1993; Laible et al., 1997; Laible et al., 1999) analysiert. Hierbei sind E(Z) Proteine in die chromatinabhängige Genregulation einbezogen. E(Z) wirkt in *Drosophila* sowohl als Polycomb-Gruppen Gen *Pc(G)*, als auch als Trithorax-

Gruppen Gen. Das Genprodukt der *Pc(G)* Gene ist dabei in die Repression der homeotischen *Antennapedia* und *Bithorax Complex* Gene, Genprodukte der Trithorax-Gruppengene in die Aufrechterhaltung der aktiven Expression dieser homeotischen Selektorgene involviert (LaJeunesse und Shearn, 1996). Mutationen für *E(z)* führen zu einem Suppressorphänotyp, bewirken also eine Dekondensierung von Chromatinstrukturen. Die tierischen Polycomb-Gruppen Proteine (Pc-G) interagieren zu einem *Polycomb Repressive Complex 1* und *2* (PRC1 und PRC2). PRC2 hat eine Histon-Methyltransferaseaktivität für die Lysinreste 9 und 27 von Histon H3. Die Methylierung von H3K9 und H3K27 bildet die Voraussetzung für die Bindung von Pc-G an Histon H3. Isoliertes Enhancer of Zeste E(Z) zeigt jedoch keine HMTase Aktivität (Cao et al., 2002; Czermin et al., 2002; Ebert et al., 2004).

Während die Mitglieder von PRC2 in *Drosophila* Einzelkopie-Gene darstellen, so sind diese in *Arabidopsis* meist kleine Genfamilien. Zu dieser Pc-G Genfamilie gehören die *FERTILISATION INDEPEND SEED (FIS)* Gene, welche durch Mutantanalysen isoliert wurden. Diese Mutanten zeigen verschiedene Stadien der Samenentwicklung bei fehlender Fertilisation. (Chaudhury et al., 1997; Grossniklaus et al., 1998; Guitton et al., 2004; Ohad et al., 1996). Zu den bislang identifizierten *FIS*-Genen gehört *MEDEA (MEA)*, *FERTILISATION INDEPEND SEED 2 (FIS2)*, *FERTILISATION INDEPEND ENDOSPERM (FIE)* und *MULTICOPY SUPPRESSOR OF IRA1(MSII)*. Die von diesen Genen kodierten Proteine sind jeweils homolog zu den *Drosophila* PRC2-Proteinen E(Z), Suppressor of zeste 12 [Su(z)12], Extra sex combs (Esc) und P55 (Grossniklaus et al., 1998; Kiyosue et al., 1999; Kohler et al., 2003; Luo et al., 1999 ; Ohad et al., 1999). Eine zweite Klasse von Pc-G Proteinen wurde in *Arabidopsis* anhand von Mutanten identifiziert, welche durch frühzeitigen Blühbeginn und homeotische Transformationen gekennzeichnet sind. Dazu gehören *CURLEY LEAF (CLF)* und *EMBRYONIC FLOWER 2 (EMF2)* welche für Proteinen kodieren, die jeweils homolog zu den *Drosophila*-Proteinen E(Z) und Su(z)12 sind. (Goodrich et al., 1997; Yoshida et al., 2001). Eine dritte Klasse von Pc-G Proteinen wurde anhand ihrer Funktion bei der epigenetischen Reaktion auf die Vernalisation identifiziert. Dazu gehört *VERNALISATION2 (VRN2)* welches als Repressor für *FLOWERING LOCUS C (FLC)* fungiert. *VRN2* kodiert für ein Protein, welches homolog zu dem Su(z)12 aus *Drosophila* ist (Gendall et al., 2001). Auch gibt es Hinweise für die Interaktion der Mitglieder des PRC2-Komplexes in Pflanzen. So kann FIE mit den E(Z)-Homologen MEA, CLF und SWN, aber auch mit MSII interagieren (Katz et al., 2004; Kohler et al.,

2003; Luo et al., 2000; Spillane et al., 2000; Yadegari et al., 2000). Die Involvierung der E(Z) Proteine CLF und SWN von *Arabidopsis* in die Methylierung von Histon H3 Lysin27 ist anhand von *clf swn*-Doppelmutanten immunocytoologisch gezeigt worden (Lindroth et al., 2004).

Die Gruppe der TRITHORAX Proteine in *Arabidopsis* (ATX) umfasst die 5 Mitglieder ATX1-ATX5 (Alvarez-Venegas et al., 2001; Baumbusch et al., 2001), welche Homologie zum TRX Protein von *Drosophila* (Mazo et al., 1990; Stassen et al., 1995) und dessen Homologe aus *Homo sapiens* und *Mus musculus*, ALL-1 und HRX (Ma et al., 1993) sowie SET1 aus *Saccaromyces cerevisiae* (Nislow et al., 1997) aufweisen. Die Funktion von ATX1 ist bereits bekannt. ATX1 ist eine Histon-Methyltransferase, die spezifisch Histon H3 an der Position Lysin 4 methyliert. ATX1 ist ein Regulator für die Blütenentwicklung (Alvarez-Venegas et al., 2001). Die Familie der *ARABIDOPSIS* TRITHORAX-RELATED Proteine ATXR zählt mit zur Gruppe der TRITHORAX homologen Proteine, weist aber eine geringere Homologie zum tierischen TRX auf (Baumbusch et al., 2001). Die Funktionen dieser Proteine sind bislang nicht bekannt.

Die Gruppe der ASHH Proteine sind homolog zum *Drosophila* ASH1-Protein (*Absent, Small or Homeotic Discs1*, Tripoulas et al., 1996). ASH1 besitzt in *Drosophila* eine „Maintenance“- Funktion auf homeotische Gene während der Segmentbildung.

Die Gruppe der ASH1-related Proteine (ASHR) mit ihren 4 Mitgliedern wurde von ASHH aufgrund des Fehlens von Cystein-reichen Regionen im C-terminalen Bereich abgetrennt.

Die größte Gruppe der SET-Domänenproteine in *Arabidopsis* wird von den SU(VAR)3-9 Homologen (SUVH) und SU(VAR)3-9 related (SUVR) Proteine gebildet. SU(VAR)3-9 wurde zuerst bei *Drosophila* als dosisabhängiger Suppressor für PEV gefunden (Tschiersch et al., 1994). Das Gen kodiert für eine Histon-Methyltransferase, welche spezifisch Histon H3 an der Position Lysin 9 methyliert (Schotta et al., 2002). Aufgrund der Homologie von Aminosäuremotiven in der SET-Domäne, welche das katalytische Zentrum für eine Histon-Methyltransferase darstellen (Rea et al, 1999), wurde eine solche Funktion auch für die Proteine der SUVH- bzw. SUVR-Gruppe in *Arabidopsis* vermutet und konnte auch teilweise gezeigt werden.

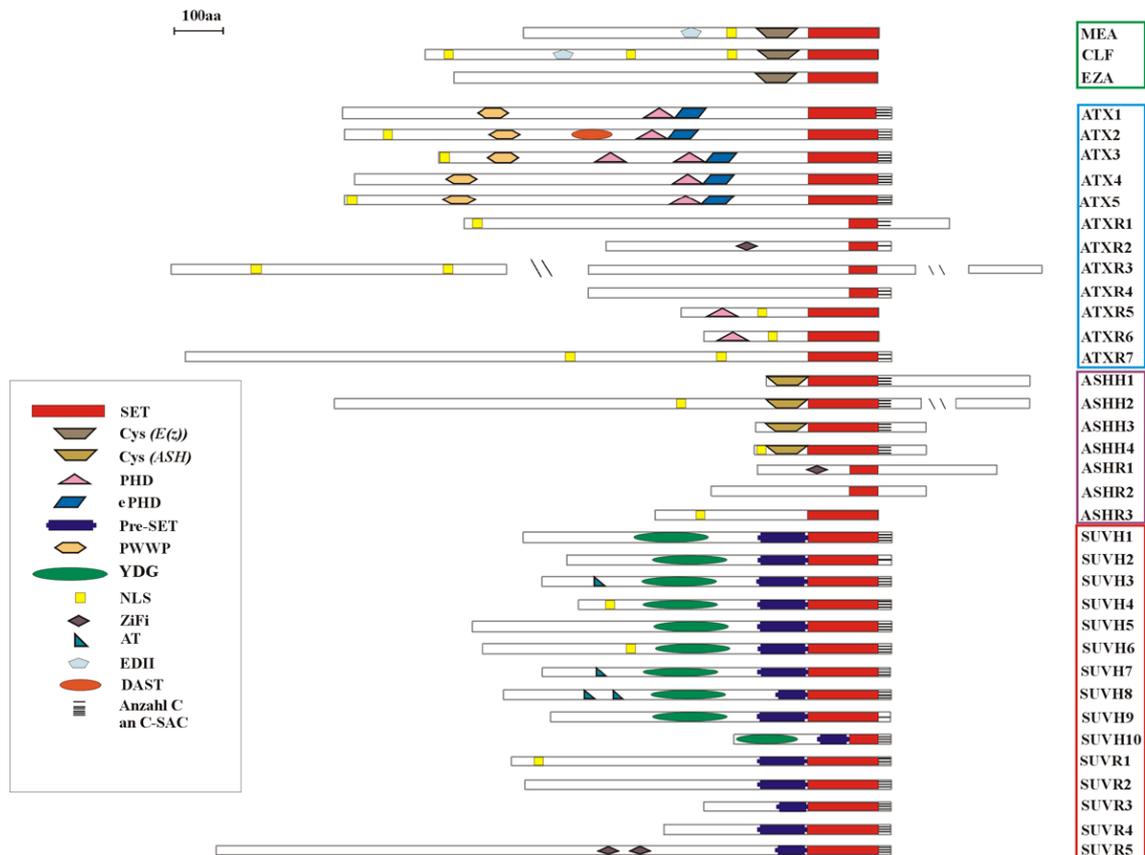


Abb. 1: Schematische Darstellung aller bisher in *Arabidopsis* identifizierten SET-Domänenproteine. Die SU(VAR)3-9 homologen und –*related* Proteine sind rot markiert (nach Baumbusch et al., 2001).

1.3 Zusammenspiel von DNA- und Histonmethylierung

Das Zusammenspiel von Histonmethylierung durch Methyltransferasen an H3 Lysin 9 und anderen Positionen sowie der DNA-Methylierung durch DNA-Methylasen und Nukleosomen-Remodeling Enzyme, wie CMT3, DRM1, DRM2, MET1 und DDM1, ist eine der Hauptvoraussetzungen für Gensilencing in Pflanzen (Jackson et al., 2002; Gendrel et al., 2002; Cao and Jacobson 2002 ; Tariq et al., 2003).

Dabei ist die Methylierung der DNA eine bei vielen Organismen beobachtete Modifizierung, welche eine wichtige Rolle bei der Etablierung von Heterochromatin und bei Gen-Silencing im Zusammenwirken mit Histonmodifikationen spielt. Bei der DNA-Methylierung werden die Basen Adenin oder Cytosin durch spezifische Enzyme, den DNA-Methyltransferasen, enzymatisch durch Zufügen einer Methylgruppe modifiziert. Über die Modifizierung von Adenin ist bisher kaum etwas bekannt. Im Bezug auf das Silencing von Genen und die damit verbundenen Veränderungen der DNA-Methylierung wurden daher bislang vorrangig Cytosinmodifizierungen untersucht, wobei hier

gut etablierte Analysemethoden, wie Restriktionsbehandlung mit methylierungs-sensitiven Restriktionsendonukleasen, massenspektrometrische Messungen oder die Sequenzanalyse von Natriumbisulfid-behandelter DNA zur Anwendung kommen. Die Methylierung des Cytosins in Position 5 des Pyrimidinringes kann auch immunocytologisch durch spezifische Antikörper gegen diese Modifizierung beobachtet werden. Unter-(hypo) sowie über (hyper)-methylierte DNA-Sequenzen, insbesondere im Heterochromatin, werden durch Mutanten oder nach Überexpression von DNA-Methylasen nachgewiesen.

Die Cytosinbasen können sowohl spezifisch in den palindromen Sequenzmotiven CpG und CpNpG (N=A, C oder T), als auch in nicht-palindromen Motiven CpN (N=A, C oder T) methyliert werden. Diese werden dementsprechend als symmetrische bzw. asymmetrische DNA-Methylierung bezeichnet, wobei für beide Methylierungsarten unterschiedliche DNA-Methylasen verantwortlich sind. Während anfangs vor allem die symmetrische DNA-Methylierung im Zusammenhang mit Silencing gebracht wurde, ist die asymmetrische Methylierung in letzter Zeit immer mehr als gleichwertig für diesen Prozess betrachtet worden. Gerade in Pflanzen ist diese Form der DNA-Methylierung sehr häufig analysiert worden (Jacobsen und Meyerowitz, 1997), während sie in anderen Organismen seltener beobachtet wurde. Hier konnte die asymmetrische DNA-Methylierung vor allem in humanen Zellkulturen (Ramsahoye et al., 2000) sowie in *Neurospora crassa* und *Ascobolus immersus* (Selker et al., 1993; Goyon et al., 1994) beobachtet werden. Asymmetrische Methylierung wird vorrangig von einer *de novo* Methylase, DNMT, katalysiert. DNMT-Homologe wurden auch in anderen Organismen, wie z.B. in *Drosophila* (Lyco et al., 2000), gefunden. Während die DNA-Methylierung in *Drosophila* vor allem in den embryonalen Stadien beobachtet wird, ist sie in *Arabidopsis* in allen Entwicklungsstadien vorhanden. Schon im Wildtyp wurden DNA-Methylierungshöhen von 50%, an einigen Loci bis über 80% beobachtet (Malagnac et al., 2002). Dabei ist dementsprechend auch die Zahl der pflanzlichen DNA-Methylasen größer. Sie werden in *Arabidopsis* in drei Familien, MET1, CMT und DRM, unterteilt (Finnegan und Kovac, 2000). MET1 (METHYLTRANSFERASE1) ist eine Familie, welche funktionell homolog zu DNMT1 aus *Mus musculus* ist. Sie besitzt eine konservierte Methyltransferasedomäne im C-terminalen Bereich. Die Funktion von MET1 ist die Wiederherstellung des Methylierungsmusters des paternalen DNA-Stranges auf dem DNA-Tochterstrang, die „Maintenance“-Methylation. In MET1-Mutanten fehlt weitestgehend die symmetrische CpG-Methylierung. MET1 ist primär

für dieses Motiv aktiv, aber auch die anderen Sequenzmotive werden, wahrscheinlich indirekt, von MET1 beeinflusst.

CMT (CHROMOMETHYLASE) stellt die zweite Familie der pflanzlichen Methylasen mit dem wichtigsten Vertreter CMT3 dar. Diese Klasse besitzt eine Chromodomäne, welche zuerst in den *Drosophila* Proteinen Polycomb (Pc) und HP1 identifiziert wurde. Die Aufgabe dieser Domäne in *Drosophila* ist wahrscheinlich der Transport und die Bindung von Pc und HP1 an das Heterochromatin und andere Chromatinkomponenten. Dabei bindet die Chromodomäne von Pc an methyliertes H3K27, die HP1 Chromodomäne an di- und trimethyliertes H3K9 (Paro und Harte, 1996; Jackson et al., 2002). Es wird aber auch eine Funktion bei der Involvierung in RNA-Protein-Interaktionen diskutiert (Akhtar et al., 2000). CMT3 ist vor allem für die Methylierung des Motivs CpNpG spezifisch, es wurden jedoch auch Veränderungen in der asymmetrischen Methylierung in *CMT3*-Mutantenlinien beobachtet (Bartee et al., 2001). Die dritte Familie der Methylasen, DRM (*domains rearranged methylase*), ist homolog zu den menschlichen DNMT3-Enzymen, welche als *de novo* Methylasen fungieren (Okano et al., 1998). Die beiden untersuchten Vertreter dieser Familie in *Arabidopsis*, DRM1 und DRM2, sind für die Aufrechterhaltung der asymmetrischen DNA-Methylierung, aber auch für die Etablierung aller anderen Sequenzmotive verantwortlich (Cao und Jacobsen, 2002).

Ein mögliches Modell für das Zusammenspiel dieser DNA-Methylasen mit Histonmethyltransferasen ist bereits für CMT3 diskutiert worden (Lindroth et al., 2004). Hierbei bindet CMT3 an zuvor von SUVH4 und einer weiteren HMTase methyliertes Histon H3K9 und H3K27 und kann nachfolgend an den Targetsequenzen für die CpNpG-Methylierung enzymatisch aktiv werden.

Nachdem die Methylierung der DNA und der Histone als einer der wichtigsten Prozesse für die epigenetische Regulation der Genexpression erkannt wurde, stellte sich natürlich auch die Frage, ob dieser Mechanismus irreversibel oder umkehrbar, also eine Demethylierung bereits modifizierter DNA und Histone möglich ist.

Eine spezifische Demethylierung der DNA in Pflanzen wurde bereits analysiert. Dabei wurden bisher zwei DNA-Demethylasen, DEMETER und ROS1, charakterisiert, welche eine DNA-Glycosylasedomäne aufweisen. Mutanten dieser Gene zeigen eine erhöhte DNA-Methylierung (Choi et al., 2002; Gong et al., 2002). Nachdem lange Zeit vermutet wurde, dass die Methylierung der Histone ein unumkehrbarer Prozess sei, ist seit neuem auch die Demethylierung von Histonen gezeigt worden. Der katalytische

Weg wurde zuerst für die humane Histondemethylase LSD1 beschrieben, welche spezifisch für die H3K4-Demethylierung wirkt (Shi et al., 2004). Dabei wird in einer oxydativen Reaktion unter Freisetzung von Formaldehyd die Methylgruppe entfernt. LSD1 homologe Proteine in *Arabidopsis* lassen auf einen evolutionär konservierten Mechanismus der Histondemethylierung durch diese Aminoxydasen schließen. Wahrscheinlich ist dabei auch die Demethylierung anderer Histonpositionen durch solche katalytischen Wege denkbar und erweitert so das Spektrum der posttranslationalen Modifizierung der Histone.

1.4 Gegenstand der Arbeit

Das Ziel der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Analysen bestand in der molekularen und funktionellen Charakterisierung neuer SET-Domänenproteine aus *Arabidopsis thaliana*. Dabei sollte die Funktion dieser Proteine bei der Modifizierung von Histonen sowie die Auswirkungen dieser Veränderungen auf die komplexen Regulationsmechanismen der Chromatinstruktur analysiert werden. Für die Charakterisierung der SET-Domänenproteine wurden transiente Assaysysteme in heterologen pflanzlichen Organismen etabliert, wodurch sowohl eine Lokalisierung der entsprechenden Fusionsproteine in den Zellorganellen, als auch eine cytologische Beobachtung der Chromatin-Assoziation dieser Proteine möglich war. Dies wurde, auch im Hinblick auf konservierte Funktionen, für die Heterochromatinproteine HP1 und SU(VAR)3-9 aus *Drosophila* durchgeführt. Zur Analyse von Proteinverteilungen, phänotypischen Effekten und Veränderung in der Histon- und DNA-Modifizierung wurden transgene *Arabidopsis*-Linien hergestellt. Dabei wurden myc- und GFP-fusionierte Proteine der SET-Domänengene *SUVH1* und *SUVH2* verwendet, welche eine cytologische Lokalisierung dieser Proteine im Zellkern von *Arabidopsis* erlaubten. Somit konnte erstmals eine Heterochromatin-Assoziation von SET-Domänenproteinen in *Arabidopsis* gezeigt werden. Durch weitere umfangreiche cytologische und molekularbiologische Analysen konnte ein Beitrag zur Aufklärung der Funktion der SET-Domänenproteine *SUVH1* und *SUVH2* bei der Modifizierung von Histonen und der Regulation der DNA-Methylierung im Zusammenspiel mit anderen Proteinen, wie DNA-Methylasen, geleistet werden. Gezeigt wurde auch die dosisabhängige Wirkung dieser Modifizierungen von der *SUVH2* Proteinmenge. Für *SUVH1* wurde eine spezifische Expression in der Wurzel gefunden, welche generell auf eine Spezifität in der Funktion der großen Anzahl von SET-Domänenproteine auf bestimmte Organe oder auch Entwicklungsabschnitten schließen lässt. Für die Chromatinproteine HP1 und SU(VAR)3-9 aus *Drosophila* konnte ebenfalls eine heterochromatische Assoziation gezeigt werden. Die Wirkung des *Drosophila* HP1 Proteins auf die Expression von Blütenentwicklungsgenen analog dem homologen TFL2 aus *Arabidopsis* lässt auf eine konservierte homologe Funktion von *DmHP1* in *Arabidopsis* schließen.