

G Anhang

G 1 Kalibrierung der Calysteginbestimmung

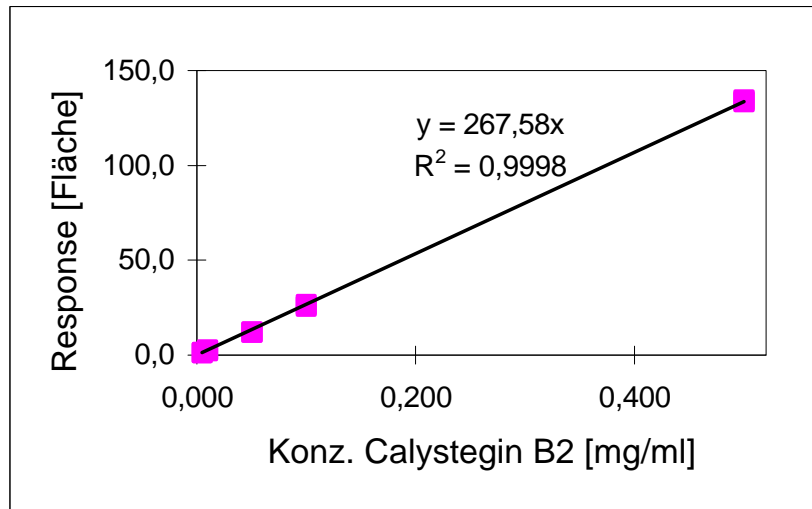


Abb. G-1: Eichgerade zur Calysteginbestimmung. Als Eichsubstanz wurde Calystegin B₂ verwendet. Innerer Standard war Azobenzol. Die Eichgerade wurde von Herrn D. Höke zur Verfügung gestellt. Es wurden 5 Meßpunkte im Bereich von 0,005 mg/ml bis 0,500 mg/ml aufgenommen, wobei jeder Meßpunkt einer Doppelbestimmung unterzogen wurde. Der Konzentrationsbereich in den zu messenden Proben lag zwischen 0 und 0,1 mg/ml Probe.

G 2 Calysteginbestimmung in Kartoffelgeweben

Sorte		Cal A ₃ [µg/g FM]	Cal B ₂ [µg/g FM]	Cal B ₄ [µg/g FM]	Summe [µg/g FM]
Liu	Keime bei Licht, 5mm	458	2299	38	2795
	Keime, 10mm	430	1835	19	2284
	Keime, 3mm	850	2323	30	3203
	Augen	1327	2973	103	4403
Arcula	Keime bei Licht, 5mm	238	1361	7	1606
	Keime, 10mm	198	1039	0	1237
	Keime, 3mm	253	1198	3	1454
	Augen	1121	2639	211	3971
Adretta	Keime bei Licht, 5mm	333	1429	0	1762
	Keime, 10mm	199	1138	0	1337
	Keime, 3mm	277	1527	0	1804
	Augen	1222	2713	63	3998

Tab. G-1: Mittelwerte der Calysteginbestimmung in verschiedenen Kartoffelsorten.

Zeitpunkt	Gewebe	Cal A ₃	Cal B ₂	Cal B ₄	SD	SD	SD	[n]
		[µg/g FM]			Cal A ₃	Cal B ₂	Cal B ₄	
nach der Ernte	Mark	38	41		3	9		4
	Schale, 2 mm	56	193		6	22		4
	Korkhaut, 0,5-1 mm	104	322		13	60		6
	Augen, 2x2x2 mm	75	274		9	47		4
5 Monate nach der Ernte	Mark	58	84		6	9		8
	Schale	226	479		26	33		5
	Korkhaut	440	906	17	56	107	3	5
	Augen, 5x5x5 mm, dormant	511	826	16	79	58	2	6
	Augen, 2x2x2 mm, dormant	793	1345	18	117	150	3	8
	Augen, 5x5x5 mm, Keimstart	611	1039	14	81	150	3	10
	Augen, 2x2x2 mm, Keimstart	1327	2973	103	193	404	17	10
	Keime 3 mm	850	2324	31	94	369	1	6
	Keimboden von 3 mm Keimen	826	1417	28	192	5	7	4
Keime 10 mm	431	1836	20	40	245	2	5	
8 Monate nach der Ernte	Korkhaut	570	553	36	46	58	3	4
	Schale	393	462	23	21	41	2	4
	Augen 2x2x2 mm, Keimstart	703	1151	39	25	126	6	4
	Keime 3 mm	400	1401	26	39	233	4	8
	Keime 10 mm	182	911	15	18	85	2	7
	Keime 20 mm	189	825	21	17	176	4	7
	Keime 30 mm	182	675		49	122		7
	Keime 130 mm	97	366	9	14	52	7	6
Keime im Boden	Keime 3 mm	707	1657	29				2
	Keime 10 mm	127	430					2
	Keime 30 mm	97	224		19	34		5
	Keime 50 mm	44	378					2

Tab. G-2: Mittelwerte und Standardabweichungen des Calystegingehaltes in Keimen und Knollen.

Gewebe	Cal A ₃	Cal B ₂	Cal B ₄	SD	SD	SD	Messungen [n]
	[µg/g FM]			Cal A ₃	Cal B ₂	Cal B ₄	
gesamter Keim	96,5	365,5	13,7	14,0	51,8	7	6
Spitze (3 mm)	227,1	1000,6	21,6	36,4	200,6	4	2
mittlerer Teil (110 mm)	79,7	219,2	0,0	11,1	30,0		4
unterer Teil und Wurzelansatz (20 mm)	111,4	497,0	15,0	7,3	50,1	1	4

Tab. G-3: Mittelwerte und Standardabweichungen des Calystegingehaltes innerhalb der Keime.

Zeitpunkt	Gewebe	Cal A ₃	Cal B ₂	SD Cal A ₃	SD Cal B ₂	[n]
		[µg/ gFM]				
	Blattansatz unter der Erdoberfläche	53,67	108,56	8,04	12,3	4
5 cm Pflanze	junge Blätter	58,70	97,71	10,99	12,3	8
	unterirdischer Stengel	25,63	49,68	10,75	5,74	8
	Wurzel	36,66	98,41	4,74	6,55	4
20 cm Pflanze	untere Blätter	0,00	27,22		2,41	4
	obere Blätter	22,76	79,77	5,52	2,41	4
	Wurzel	58,17	83,82	7,15	8,9	4
	Knolle 0,5 cm	70,28	227,49	11,73	34,78	6
	Knolle 1,0 cm	40,32	108,17	4,14	15,38	5
30 - 40 cm Pflanze	untere Blätter	0,00	13,16		0,25	3
	obere Blätter	17,88	34,23	1,74	2,09	4
	Stengel	25,56	25,45	7,31	7,81	4
	Wurzel	25,30	50,43	6,22	6	6
	Blüte	37,44	102,71	5,43	14,35	9
	Fruchtschale	14,73	19,68	0,75	5,84	5

Tab. G-4: Mittelwerte und Standardabweichungen des Calystegingehaltes in Kartoffelpflanzen.

Gewebe	TM/FM [%]	SD	Messungen [n]
ganze Frucht	11,1	1,55	8
Fruchtschale	13,5	1,01	5
Blüte	14,3	0,55	9
Knolle 0,5 cm	16,1	0,02	6
Stengel, 15 cm Pflanze	12,3	0	8
unterirdischer Stengel	7,62	0,7	9
Wurzel, 30 cm Pflanze	6,81	0,27	8
Wurzel, 5 cm Pflanze	13,8	2,71	6
gelber Blätter	9,56	0,03	4
untere Blätter, 30 cm Pflanze	15	1,65	3
untere Blätter, 5 cm Pflanze	11	1,14	6
Blattansatz unter EO	9,04	1,03	8
Korkhaut, 5 Mon. n. E.	18	0,81	6
Schale, 5 Mon. n. E.	18,3	0,01	6
Mark, 5 Mon. n. E.	17,3	0,02	12
Keime, 130 mm, 8 Mon. n. E.	13,2	0	6
Keime, 20 mm, 8 Mon. n. E.	14,7	0,12	5
Keime, 10 mm, 5 Mon. n. E.	17,4	0,58	10
Keime, 3 mm, 5 Mon. n. E.	22,9	0,88	8
Augen, 2x2x2 mm, 5 Mon. n. E.	20,7	0,27	5
Augen direkt n. E.	14,9	0,01	6

Tab. G-5: Mittelwerte und Standardabweichungen der TM/FM-Verhältnisse ausgesuchter Kartoffelgewebe.

G 3 *S. tuberosum* TR-cDNA-Sequenzen

G 3.1 TRI-cDNA-Sequenzen

```

1 - ATGGCAGAATTGAGAGAAAAATGGAGTCTTAAAGGCACCACTGCACTTGTACTGGTGGC - 60
  - M A E L R E K W S L K G T T A L V T G G
61 - TCCAAAGGCATAGGGTACGCTATAGTGAAGAATTGGCAAATTTTGGAGCAAGAGTATAT - 120
  - S K G I G Y A I V E E L A N F G A R V Y
121 - ACATGTTTACGTAATGAAAATGAACTTCAAGAAATGCCTTGATATTTGGAGAAAAAAGGGA - 180
  - T C S R N E N E L Q E C L D I W R K K G
181 - CTTAAAGTCGAAGGTTCTGTTTGTGACTTATTATCTCGTACTGAACGTGAAAACTTATG - 240
  - L K V E G S V C D L L S R T E R E K L M
241 - AAGACTGTTGAAGATGTATTTGATGGAAAGCTTAATATTCTGGTGAATAATGCAGGAGTG - 300
  - K T V E D V F D G K L N I L V N N A G V
301 - GCAATACATAAGGAAGCTAAAGATTTACAAAAGAAGATTACAATATAATTATGGGAACT - 360
  - A I H K E A K D F T K E D Y N I I M G T
361 - AATTTTGAAGCTGCTTATCATTTATCTCAAATGCTTATCCTTTATTGAAGGCTTCTCAA - 420
  - N F E A A Y H L S Q I A Y P L L K A S Q
421 - AATGGAAATGTTATTTTTGTTTCTTCTATTGCTGGATTTTCAGCATTGCCCTCTCTTTCT - 480
  - N G N V I F V S S I A G F S A L P S L S
481 - CTTTACTCTGCTTCCAAAGGTGCAATAAATCAAATGACAAAAGAACTTGGCATGTGAATGG - 540
  - L Y S A A S K G A I N Q M T K N L A C E W
541 - GCCAAGGACAATATTCGGGTCAATTCTGTTGCTCCAGCAGTCATTTTAACCCCACTCGTT - 600
  - A K D N I R V N S V A P A V I L T P L V
601 - GAAACTGCAATTAAGAAAAATCCTCAACAAAAAGAAGAAATTGATAGTTTTGTTGTTAAG - 660
  - E T A I K K N P Q Q K E E I D S F V V K
661 - ACTCCTTTGGGCCGGGCCGAAAAGCCTGAAGAAGCTTCAGCAGTAATAGCTTTTCTTTTGC - 720
  - T P L G R A G K P E E A S A V I A F L C
721 - TTCCAGCTGCTTCTTATATTACGGGCCAAATTATATGGGCCGATGGTGGATTTACAGCT - 780
  - F P A A S Y I T G Q I I W A D G G F T A
781 - AATGGTGGGTTTTTAAGTGTTATTTTCTTTGGGCTTTGTAATCTTTTTTCTATTTTTTGTAA - 840
  - N G G F *
841 - TTTGTATTTTGGGCCATTATATCGGCCATTATGCTTTGAACAATTTCTATGTCCATGTGC - 900

901 - TTGTGTTTCATCAACGACACACTTCCA - 926

```

Abb. G-2: *StTRI-SE*-cDNA und korrespondierende Aminosäuresequenz. Der codierende Bereich der Sequenz ist in der EMBL-Datenbank unter der Nummer AJ307584 eingetragen. Start-Codon und Stop-Codon sind unterstrichen.

```

1 - ATGGCAGAATTGAGAGAAAAATGGAGTCTTAAAGGCACCACTGCACTTGTACTGGTGGC - 60
  - M A E L R E K W S L K G T T A L V T G G
61 - TCCAAAGGCATAGGGTACGCTATAGTGGAAGAATTGGCAAATTTTGGAGCAAGAGTATAT - 120
  - S K G I G Y A I V E E L A N F G A R V Y
121 - ACATGTTACGTAATGAAAATGAACTTCAAGAATGCCTTGATATTTGGAGAAAAAAGGGA - 180
  - T C S R N E N E L Q E C L D I W R K K G
181 - CTTAAAGTCGAAGGTTCTGTTTGTGACTTATTATCTCGTACTGAACGTGAAAACTTATG - 240
  - L K V E G S V C D L L S R T E R E K L M
241 - AAGACTGTTGAAGATGTATTTGATGGAAAGCTTAATATTCTGGTGAATAATGCAGGAGTG - 300
  - K T V E D V F D G K L N I L V N N A G V
301 - GCAATACATAAGGAAGCTAAAGATTTCAAAAAAGAAGATTACAATATAAATTATGGGAACT - 360
  - A I H K E A K D F T K E D Y N I I M G T
361 - AATTTTGAAGCTGCTTATCATTTATCTCAAATTGCTTATCCTTTATGAAGGCTTCTCAA - 420
  - N F E A A Y H L S Q I A Y P L L K A S Q
421 - AATGGAAATGTTATTTTTGTTTCTTCTATTGCTGGATTTTCAGCATTGCTCTCTCTTTCT - 480
  - N G N V I F V S S I A G F S A L L S L S
481 - CTTTACTCTGCTTCCAAAGGTGCAATAAATCAAATGACAAAGAACTTGGCATGTGAATGG - 540
  - L Y S A S K G A I N Q M T K N L A C E W
541 - GCCAAGGGCAATATTCGGGTCAATTCTGTTGCTCCAGCAGTCATTTTAACCCCACTCGTT - 600
  - A K G N I R V N S V A P A V I L T P L V
601 - GAAACTGCAATTAAGAAAAATCCTCAACAAAAAGAAGAAATTGATAGTTTTTGTGTTAAG - 660
  - E T A I K K N P Q Q K E E I D S F V V K
661 - ACTCCTTTGGGCCGGGCCGAAAGCCTGAAGAAGTTTCAGCAGTAATAGCTTTTCTTTGC - 720
  - T P L G R A G K P E E V S A V I A F L C
721 - TTCCCAGCTGCTTCTTATATTACAGGCCAAATTATATGGGCCGATGGTGGATTTACAGCT - 780
  - F P A A S Y I T G Q I I W A D G G F T A
781 - AATGGTGCTTTTAA - 795
  - N G A F *

```

Abb. G-3: *StTRI*-SS-cDNA und korrespondierende Aminosäuresequenz. Start-Codon und Stop-Codon sind unterstrichen.

```

1 - GCACGAGAAAATAATAATAAAAAACCAGAAATGGCAGAATTGAGAGAAAAATGGTGTCTTA - 60
-                               M A E L R E K W C L K
61 - AAGGCACCACCTGCACTTGTACTGGTGGCTCCAAAGGCATAGGGTACGCTATAGTGAAG - 120
-   G T T A L V T G G S K G I G Y A I V E E
121 - AATTGGCAAATTTTGGAGCAAGAGTATATACATGTTTACGTAATGAAAATGAACTTCAAG - 180
-   L A N F G A R V Y T C S R N E N E L Q E
181 - AATGCCTTGATATTTGGAGAAAAAAGGGACTTAAAGTCGAAGTTCTGTTTGTGACTTAT - 240
-   C L D I W R K K G L K V E G S V C D L L
241 - TATCTCGTACTGAACGTGAAAACTTATGAAGACTATTGAAGATGTATTTGATGGAAAGC - 300
-   S R T E R E K L M K T I E D V F D G K L
301 - TTAATATTCTGGTGAATAATGCAGGAGTGGCAATACATAAGGAAGCTAAAGATTTTCAAA - 360
-   N I L V N N A G V A I H K E A K D F T K
361 - AAGAAGATTACAATATAATTATGGGAACTAATTTTGAAGCTGCTTATCATTATCTCAAA - 420
-   E D Y N I I M G T N F E A A Y H L S Q I
421 - TTGCTTATCCTTTATTGAAGGCTTCTCAAAATGGAAATGTTATTTTTGTTTCTTCTATTG - 480
-   A Y P L L K A S Q N G N V I F V S S I A
481 - CTGGATTTTCAGCATTGCCCTCTCTTTCTTTACTCTGCTTCCAAAGGTGCAATAAATC - 540
-   G F S A L P S L S L Y S A S K G A I N Q
541 - AAATGACAAAAGAACTTGGCATGTGAATGGGCCAAGGACAATATTCGGGTCAATTCTGTTG - 600
-   M T K N L A C E W A K D N I R V N S V A
601 - CTCCAGCAGTCATTTTAAACCCACAAAATTGAAACTGCAATTAAGAAAAATCCTCAACAAA - 660
-   P A V I L T P Q I E T A I K K N P Q Q K
661 - AAGAAGAAATTGATAGTATTGTTGTTAAGACTCCTTTGGGCCGGGCCGAAAGCCCGAAG - 720
-   E E I D S I V V K T P L G R A G K P E E
721 - AGGTTTCAGCAGTAATAGCTTTTCTTTGCTTCCCAGCTGCTTCTTATATTACGGGCCAAA - 780
-   V S A V I A F L C F P A A S Y I T G Q I
781 - TCATATGGGCCGATGGTGGATTTACAGCTAATGGTGCCTTTTAAAGTGTATTTTTCTTTGG - 840
-   I W A D G G F T A N G A F *
841 - GCTTTGTAATCTTTTTTCTATTTTTTGTAAATTTGCATTTTGGGCCTATTATCGGCCATTA - 900

901 - TGCTTTGAACAATTTCTATGTCCATGTGCTTGTGTTTCATCAACGACACACTTCCATTTTA - 960

961 - AAAAAAAAAAAAAAAAAA - 976

```

Abb. G-4: *StTRI-homologe* cDNA und korrespondierende Aminosäuresequenz. Start-Codon und Stop-Codon sind unterstrichen.

G 3.2 *TRII*-cDNA-Sequenzen

G 3.2.1 *TRII*-cDNA-Sequenzen der Kartoffelsorte Désirée

```

1 - GCATTTTTCAAGTCTTGTGCACTAGGCTAGTAGTTATGGCAGCAGGAAGATGGAATCTTG - 60
  -                               M A A G R W N L E
61 - AAGGCTGCACTGCCCTTGTACCGGTGGTCTAGAGGCATAGGGTATGGGATAGTAGAGG - 120
  - G C T A L V T G G S R G I G Y G I V E E
121 - AACTAGCAAGTCTTGGTGCATCAGTTTATACATGTTTCACGTAATCAAAGGAGCTTAATG - 180
  - L A S L G A S V Y T C S R N Q K E L N E
181 - AGTGTGGATTCAATGGAGAAGTAAAGGTTTTAAAGTTGAAGCTTCTGTTTGTGATTTAT - 240
  - C L I Q W R S K G F K V E A S V C D L S
241 - CATCTAGATCTGAAAGACAGGAGTTTATCAAGACTGTTGCTAATCATTTTGATGGAAAAC - 300
  - S R S E R Q E F I K T V A N H F D G K L
301 - TCAATATTTTGGTTAATAATGCTGTATTGTCATATACAAAGAAGCTAAAGATTACACTA - 360
  - N I L V N N A G I V I Y K E A K D Y T M
361 - TGGAAAGATTACTCTCTAATTATGAGTATCAACTTTGAGGCTGCTTATCACTTATCTGTAC - 420
  - E D Y S L I M S I N F E A A Y H L S V L
421 - TAGCACACCCCTTTTTGAAAGCATCACAAAGGGGCAATGTTGTCTTTATTCCTCCTATTT - 480
  - A H P F L K A S Q R G N V V F I P P I S
481 - CTGGGGCTTCAGCATTACCATATGAAGCTGTTTATGGAGCAACCAAAGGAGCAATGGATC - 540
  - G A S A L P Y E A V Y G A T K G A M D Q
541 - AACTCACAAGATGCTTGGCGTTTGAATGGGCAAAGGACAACATTCGTGTCAATGGCGTTG - 600
  - L T R C L A F E W A K D N I R V N G V A
601 - CACCGGGGGTTATTGCATCTTCTATGGTCGAAATGACTATTCAAGATCCAGAACAAAAAG - 660
  - P G V I A S S M V E M T I Q D P E Q K E
661 - AAAATTTGGACAAGTTGATTGATAGATGTGCTCTACATAGAATGGGAGAGCCATAAGAAC - 720
  - N L D K L I D R C A L H R M G E P K E L
721 - TTGCAGCAGTTGTTGCATTTCTCTGTTTTCTGCTGCTTCATATGTCACTGGCCAAATTA - 780
  - A A V V A F L C F P A A S Y V T G Q I I
781 - TATATGTTGATGGTGGATTTATGGCTAATGGTGGCTTTTAAATCATCCTTTAATTAATTTG - 840
  - Y V D G G F M A N G G F *
841 - TCTATGGTTTTGTAAGTTTATCAAATAATTATTTAGAGTAATCTTTTTTTATAAGAATTA - 900

901 - TTATGTCAGGTGAATTGCTTAAGTCCATATAAATTCAGAAGAATTTTAAATTAATAAAAAA - 960

961 - AAAAAAA - 967

```

Abb. G-5: *StTRII-D1*-cDNA und korrespondierende Aminosäuresequenz. Start-Codon und Stop-Codon sind unterstrichen.

```

1 - GGG AAG ATG GAAT CTT GAAG GCT GCA CTG CCCT TGT TACT GGT GGT TCT AGAG GCAT AGG - 60
  - G R W N L E G C T A L V T G G S R G I G
61 - GTAT GGG ATAG TAGAG GAA CTAG CAAG TCT TGG TGC ATC AGT TTT ATA CAT GTT CAC GTAA - 120
  - Y G I V E E L A S L G A S V Y T C S R N
121 - TCAAA AGG AGC TTA ATG AGT GTT TAA CTCA ATGG AGA AGTAA AGG TTT AAA AGT TGA AGC - 180
  - Q K E L N E C L T Q W R S K G L K V E A
181 - TTCT GTT TGT GAT TTT ATCAT CAAG ATCT GAA AGAG AGG AGT TTT ATCA AGACT GTT GATA A - 240
  - S V C D L S S R S E R E E F I K T V D N
241 - TCAT TTT GAT GGAAA CTCA ATAT TTT TGG TTA ATA ATG CTGG TATT GTCAT ATACA AGGA - 300
  - H F D G K L N I L V N N A G I V I Y K E
301 - AGCT AAA GAT TAC ACTAT GGAA GATT ACTCT CTA ATTAT GAG TAT CAAC TTT GAG GCT GC - 360
  - A K D Y T M E D Y S L I M S I N F E A A
361 - TTAC CACT TAT CTGT ACTT GCAC ACCCC TTT TTT GAA AGCAT CACA AAG GGG CAAT GTT GT - 420
  - Y H L S V L A H P F L K A S Q R G N V V
421 - CTTT ATTT CT TCT ATTT CTGG GGCT TCA GCATT ACCAT ATGA AGCT GTT TAT GGAG CAAC - 480
  - F I S S I S G A S A L P Y E A V Y G A T
481 - CAAAG GACA ATGG ATCA ACTCACA AGATG CTTAG CGTTT GAATGG GCAA AGGACA ACAT - 540
  - K G A M D Q L T R C L A F E W A K D N I
541 - TCGT GTCA ATGG CGTT GCAC CCGGG GTTATT GCATCT TCTAT GGT CGAA ATGACT ATTCA - 600
  - R V N G V A P G V I A S S M V E M T I Q
601 - AGAT CCAGA ACAAAAA GAAAA TTTGG ACAAG TTGATT GATAG ATGTG CTCTAC ATAGA AT - 660
  - D P E Q K E N L D K L I D R C A L H R M
661 - GGGAG AGCCT AAA GA ACTT GCAG CAGT TGTG CATT TCTTT GTTTT CCTG CTGCTTC ATA - 720
  - G E P K E L A A V V A F L C F P A A S Y
721 - TGTC ACTGG CCAA TTAT ATAT GTT GATGG TGGATT TATGG CTA ATGG TGGCT TTTT AATC - 780
  - V T G Q I I Y V D G G F M A N G G F *
781 - ATCAT TTA ATTA ATTTG TCTAT GGT TTTTGT AAGT TAA TCAA ATA ATTAT CTAGAG TAA T - 840

841 - CTTT TAA ATA ATGG TGAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA - 874

```

Abb. G-6: *StTRII-D2*-cDNA und korrespondierende Aminosäuresequenz. Das Start-Codon fehlt; das Stop-Codon ist unterstrichen.

1 - TAGTAGTTATTGGCAGCAGGAAGATGGAATCTTGAAGGCTGCACTGCCCTTGTTACC⁶⁰GTG - 60
 - M A A G R W N L E G C T A L V T G G
 61 - GTTCTAGAGGCATAGGGTATGGGATAGTAGAGGAACTAGCAAGTCTTGGTGCATCAGTTT - 120
 - S R G I G Y G I V E E L A S L G A S V Y
 121 - ATACATGTTACGTAATCAAAAGGAGCTTAATGAGTGTTTAACTCAATGGAGAAGTAAAG - 180
 - T C S R N Q K E L N E C L T Q W R S K G
 181 - GTTTTAAAGTTGAAGCTTCTGTTTGTGATTTATCATCAAGATCTGAAAGAGAGGAGTTTA - 240
 - F K V E A S V C D L S S R S E R E E F I
 241 - TCAAGAATGTTGCTAATCATTTTGATGGAAAACCTCAATATTTTGGTTAATAATGCTGGAA - 300
 - K N V A N H F D G K L N I L V N N A G I
 301 - TTGTCATATACAAAAGAGCTAAAAGATTACACTATGGAAGATTACTCTCTAATTATGAGTA - 360
 - V I Y K E A K D Y T M E D Y S L I M S I
 361 - TCAACTTTGAGGCTGCTTACCACTTATCTGTACTTGCACACCCCTTATTGAAAGCATCAC - 420
 - N F E A A Y H L S V L A H P L L K A S Q
 421 - AAAGGGGCAATGTTGTCTTTATTTCTTCTATTTCTGGGGCTTCCAGCATTACCATATGAAG - 480
 - R G N V V F I S S I S G A S A L P Y E A
 481 - CTGTTTATGGAGCAACCAAGGAGCAATGGATCAACTCACAAGATGCTTAGCGTTTGAAT - 540
 - V Y G A T K G A M D Q L T R C L A F E W
 541 - GGGCAAAGGACAATATTCGTGTCAATGGTGTGTCACCGGGGTTATTGCATCTTCTATGG - 600
 - A K D N I R V N G V A P G V I A S S M V
 601 - TCGAAATGACTATTCAAGATCCAGAACAAGAAATTTGGACAAGTTGATTGATAGAT - 660
 - E M T I Q D P E Q K E N L D K L I D R C
 661 - GTGCTTTACATAGAATGGGTGAGCCTAAAGAACTTGCAGCAGTTGTTGCATTTCTCTGTT - 720
 - A L H R M G E P K E L A A V V A F L C F
 721 - TTCCTGCTGCTTCATATGTCACTGGCCAAATTATATATGTTGATGGTGGATTTATGGCTA - 780
 - P A A S Y V T G Q I I Y V D G G F M A N
 781 - ATGGTGGCTTTTAAATCATCCTTTAATTAATTTGTCTATGGTTTTGCAAGTTTATCAAATA - 840
 - G G F *
 841 - ATTATTTAGAGTAATCTTTTTTATAAAGGATTATTATGTGCGGGTGAATTGCCTAAGTCCA - 900
 901 - TATAATTCTAGAAGAATTTTAAATTCGACTTTGTGCTAGTATATGTAAGAATTTTAAGTG - 960
 961 - TGAAAAAAAAAAAAA - 974

Abb. G-7: *StTRII-D3*-cDNA und korrespondierende Aminosäuresequenz. Start-Codon und Stop-Codon sind unterstrichen.

G 3.2.2 TRII-cDNA-Sequenzen der Kartoffelsorte Liu

```

1 - ATGGCAGCAGGAAGATGGAATCTTGAAGGCTGCACTGCCCTTGTTACTGGTGGCTCTAGA - 60
   - M A A G R W N L E G C T A L V T G G S R
61 - GGAATTGGGTATGGGATAGTAGAAGAATTAGCAAGTCTTGGTGCATCAGTTTATACATGT - 120
   - G I G Y G I V E E L A S L G A S V Y T C
121 - TCACGTAATCAAAAAGGAGCTTAATGAGTGTTTAACTCAATGGAGAAGTAAAGGTTTTTAAA - 180
   - S R N Q K E L N E C L T Q W R S K G F K
181 - GTTGAAGCTTCTGTTTGTGATTTATCATCAAGATCTGAAAGAGAGGAGTTTATCAAGACT - 240
   - V E A S V C D L S S R S E R E E F I K T
241 - GTTGCTAATCATTTTGATGGAAAACCAATATTTTGGTTAATAATGCTGGTATTGTCATA - 300
   - V A N H F D G K L N I L V N N A G I V I
301 - TACAAGGAAGCTAAAGATTACACTATGGAGGATTACTCTCTAATTATGAGTATCAACTTT - 360
   - Y K E A K D Y T M E D Y S L I M S I N F
361 - GAGGCTGCTTACCACTTATCTGTACTAGCACACCCCTTTTTTAAAAGCATCACAAAGGGGC - 420
   - E A A Y H L S V L A H P F L K A S Q R G
421 - AATGTTGCTTTTATTTCTTCTATTTCTGGGGCTTCAGCATTACCATATGAAGCTGTTTAT - 480
   - N V V F I S S I S G A S A L P Y E A V Y
481 - GGAGCAACCAAAGGAGCAATGGATCAACTCACAAAGATGCTTAGCGTTTGAATGGGCAAAG - 540
   - G A T K G A M D Q L T R C L A F E W A K
541 - GACAACATTCGTGTCAATGGCGTTGCACCAGGGGTTATTGCATCTTCTATGGTCGAAATG - 600
   - D N I R V N G V A P G V I A S S M V E M
601 - ACTATTCAAGATCAAGAACAAAAAGAAAATTTGGACAAGTTGATTGATAGATGTGCTCTA - 660
   - T I Q D Q E Q K E N L D K L I D R C A L
661 - CATAGAATGGGAGAGCCTAAAGAACTTGCAGCAGTTGTTGCATTTCTTTGTTTTCCCTGCT - 720
   - H R M G E P K E L A A V V A F L C F P A
721 - GCTTCATATGTCACTGGCCAAATTATATATGTTGATGGTGGATTTATGGCTAATGGTGGC - 780
   - A S Y V T G Q I I Y V D G G F M A N G G
781 - TTTTAA - 786
   - F *

```

Abb. G-8: *StTRII-L1*-cDNA und korrespondierende Aminosäuresequenz. Start-Codon und Stop-Codon sind unterstrichen.

1 - ATGGCAGCAGGAAGATGGAATCTTGAAGGCTGCACTGCCCTTGTTACTGGTGGCTCTAGA - 60
 - M A A G R W N L E G C T A L V T G G S R
 61 - GGAATTGGGTATGGGATAGTAGAAGAATTAGCAAGTCTTGGTGCATCAGTTTATACATGT - 120
 - G I G Y G I V E E L A S L G A S V Y T C
 121 - TCACGTAATCAAAAAGGAGCTTAATGAGTGTTTAACTCAATGGAGAAGTAAAGGTTTTAAA - 180
 - S R N Q K E L N E C L T Q W R S K G F K
 181 - GTTGAAGCTTCTGTTTGTGATTTATCATCAAGATCTGAAAGAGAGGAGTTTATCAAGACT - 240
 - V E A S V C D L S S R S E R E E F I K T
 241 - GTTGCTAATCATTTTGATGGAAAACCAATATTTTGGTTAATAATGCTGGTATTGTCATA - 300
 - V A N H F D G K L N I L V N N A G I V I
 301 - TACAAGGAAGCTAAAAGATTACACTATGGAGGATTACTCTCTAATTATGAGTATCAACTTT - 360
 - Y K E A K D Y T M E D Y S L I M S I N F
 361 - GAGGCTGCTTACCACTTATCTGTACTAGCACACCCCTTTTTAAAAGCATCACAAAGGGGC - 420
 - E A A Y H L S V L A H P F L K A S Q R G
 421 - AATGTTGTCTTTATTTCTTCTATTTCTGGGGCTTCAGCATTACCATATGAAGCTGTTTAT - 480
 - N V V F I S S I S G A S A L P Y E A V Y
 481 - GGAGCAACCAAAGGAGCAATGGATCAACTCACAAGATGCTTAGCGTTTGAATGGGCAAAG - 540
 - G A T K G A M D Q L T R C L A F E W A K
 541 - GACAATATTCGTGTCAATGGTGTGCACCGGGGTTATTGCATCTTCTATGGTCGAAATG - 600
 - D N I R V N G V A P G V I A S S M V E M
 601 - ACTATTCAAGATCCAGAACAAAAAGAAAATTTGGACAAGTTGATTGATAGATGTGCTTTA - 660
 - T I Q D P E Q K E N L D K L I D R C A L
 661 - CATAGAATGGGTGAGCCTAAAGAACTTGCAGCAGTTGTTGCATTTCTCTGTTTTCTGCT - 720
 - H R M G E P K E L A A V V A F L C F P A
 721 - GCTTCATATGTCACTGGCCAAATTATATATGTTGATGGTGGATTTATGGCTAATGGTGGC - 780
 - A S Y V T G Q I I Y V D G G F M A N G G
 781 - TTTTAA - 786
 - F *

Abb. G-9: *StTRII-L2*-cDNA und korrespondierende Aminosäuresequenz. Start-Codon und Stop-Codon sind unterstrichen.

```

1 - ATGGCAGCAGGAAGATGGAATCTTGAAGGCTGCACTGCCCTTGTTACCGGTGGTTCTAGA - 60
  - M A A G R W N L E G C T A L V T G G S R
61 - GGCATAGGGTATGGGATAGTAGAGGAACTAGCAAGTCTTGGTGCATCAGTTTATACATGT - 120
  - G I G Y G I V E E L A S L G A S V Y T C
121 - TCACGTAATCAAAAAGGAGCTTAATGAGTGTTTAACTCAATGGAGAAGTAAAGGTTTTAAA - 180
  - S R N Q K E L N E C L T Q W R S K G F K
181 - GTTGAAGCTTCTGTTTGTGATTTATCATCAAGATCTGAAAGAGAGGAGTTTATCAAGAAT - 240
  - V E A S V C D L S S R S E R E E F I K N
241 - GTTGCTAATCATTTTGATGGAAAACCAATATTTTGGTTAATAATGCTGGAATTGTCATA - 300
  - V A N H F D G K L N I L V N N A G I V I
301 - TACAAAGAAGCTAAAAGATTACACTATGGAAGATTACTCTCTAATTATGAGTATCAACTTT - 360
  - Y K E A K D Y T M E D Y S L I M S I N F
361 - GAGGCTGCTTACCACTTATCTGTACTTGCACACCCCTTATTGAAAGCATCACAAAGGGGC - 420
  - E A A Y H L S V L A H P L L K A S Q R G
421 - AATGTTGTCTTTATTTCTTCTATTTCTGGGGCTTCAGCATTACCATATGAAGCTGTTTAT - 480
  - N V V F I S S I S G A S A L P Y E A V Y
481 - GGAGCAACCAAAGGAGCAATGGATCAACTCACAAGATGCTTAGCGTTTGAATGGGCAAAG - 540
  - G A T K G A M D Q L T R C L A F E W A K
541 - GACAATATTCGTGTCAATGGTGTGACCCGGGGTTATTGCATCTTCTATGGTCGAAATG - 600
  - D N I R V N G V A P G V I A S S M V E M
601 - ACTATTCAAGATCCAGAACAAAAAGAAAATTTGGACAAGTTGATTGATAGATGTGCTTTA - 660
  - T I Q D P E Q K E N L D K L I D R C A L
661 - CATAGAATGGGTGAGCCTAAAGAACTTGCAGCAGTTGTTGCATTTCTCTGTTTTCTGCT - 720
  - H R M G E P K E L A A V V A F L C F P A
721 - GCTTCATATGTCACTGGCCAAATTATATATGTTGATGGTGGATTTATGGCTAATGGTGGC - 780
  - A S Y V T G Q I I Y V D G G F M A N G G
781 - TTTTAA - 786
  - F *

```

Abb. G-10: *StTRII-L3*-cDNA und korrespondierende Aminosäuresequenz. Start-Codon und Stop-Codon sind unterstrichen.

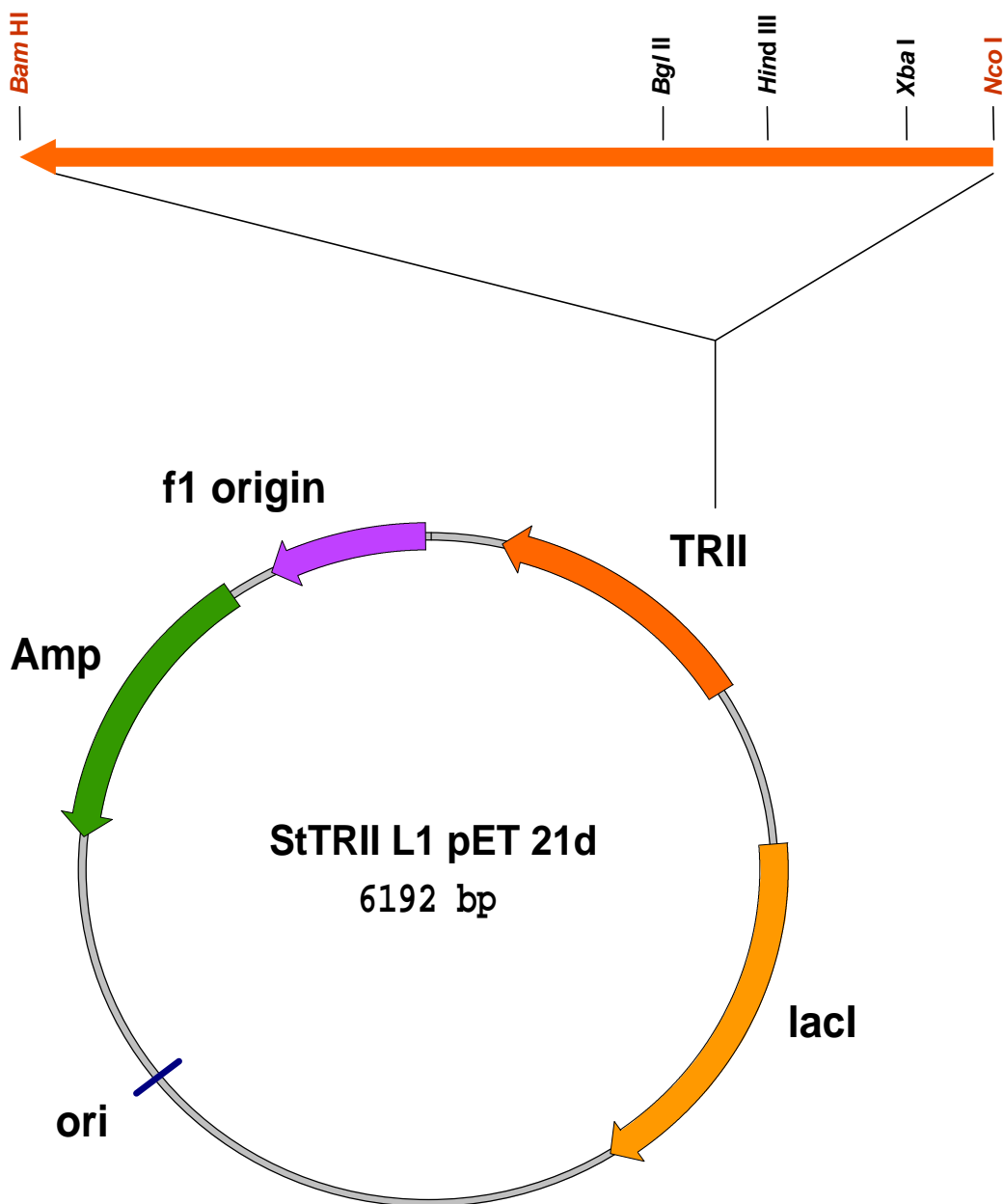
G 4 Vektorkarte *StTRII*-pET 21d

Abb. G-11: Die *Solanum tuberosum* *TRII*-cDNA (*StTRII*-L1, 786 bp des codierenden Bereiches) ist eingefügt zwischen der *Nco*I und der *Bam*HI Restriktionsschnittstelle des pET21d Vektors (Novagen). Die Möglichkeit einer C-terminalen 6xHis-Fusion wurde hier nicht genutzt.

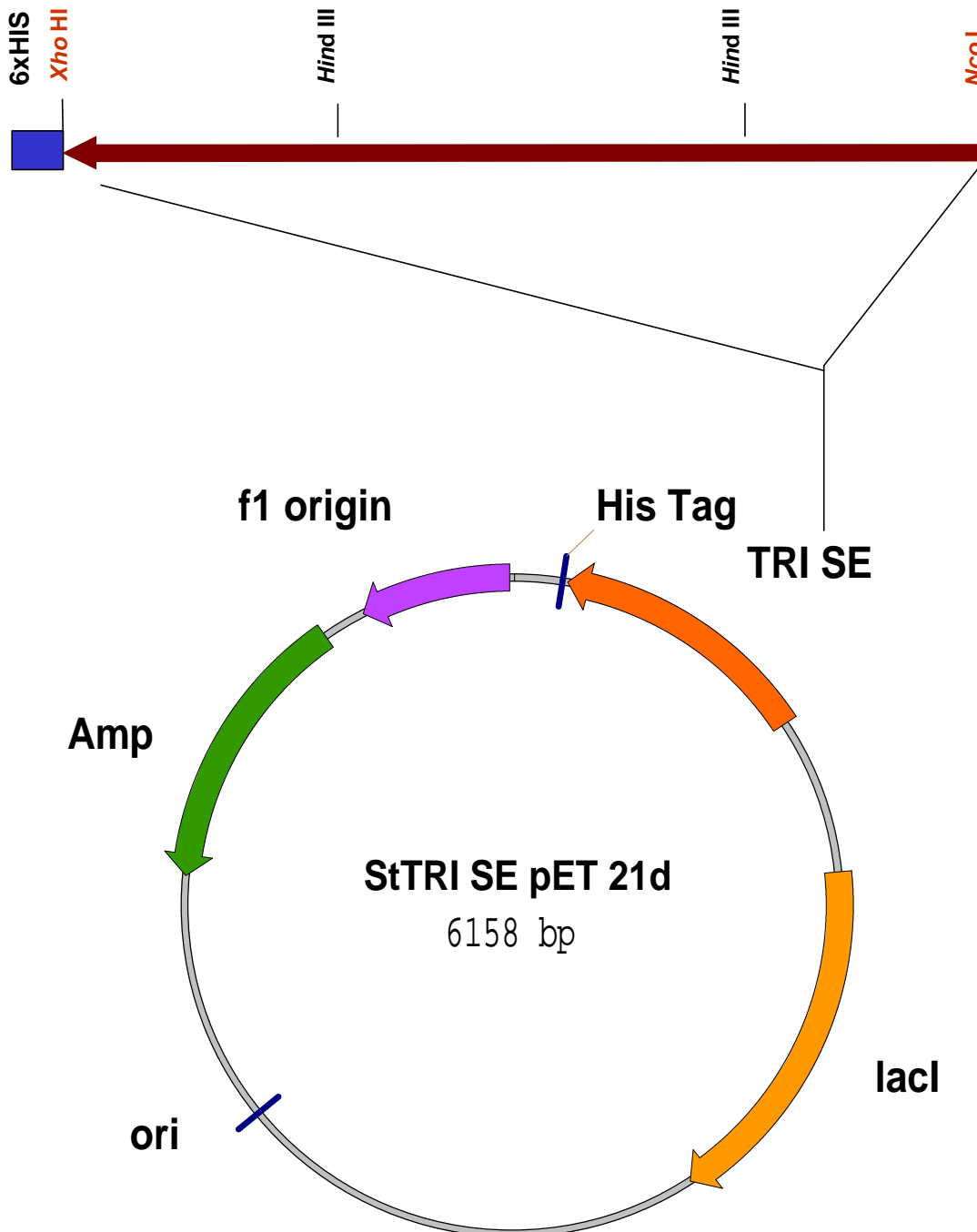
G 5 Vektorkarte *StTRI*-His-pET 21d

Abb. G-12: Die *Solanum tuberosum*-*TRI*-cDNA (*StTRI*-SE, 795 bp des codierenden Bereiches) ist eingefügt zwischen der *Nco*I und der *Xho*I Restriktionsschnittstelle des pET21d Vektors (Novagen). Die Möglichkeit einer C-terminalen 6xHis-Fusion wurde genutzt.

G 6 Umsetzungsprodukte des Enzymassay

G 6.1 Umsetzungsprodukte des StTRII-Enzyms

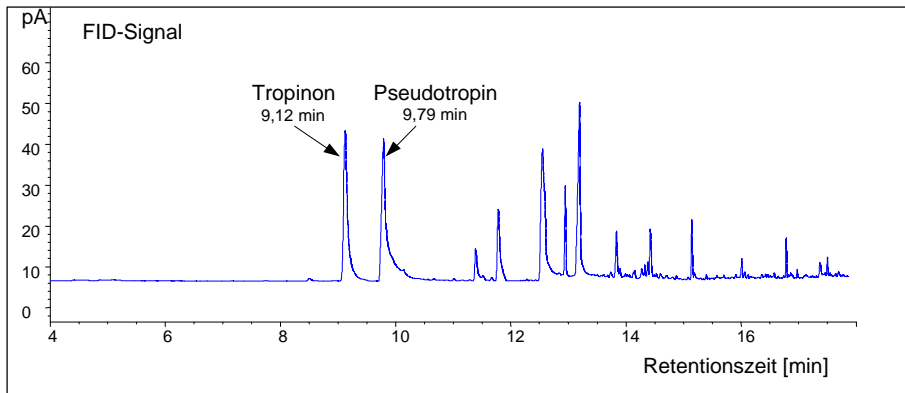


Abb. G-13: Gaschromatogramm (FID-Signal) der Tropinonumsetzung durch StTRII-L1 (rekombinantes Enzym).

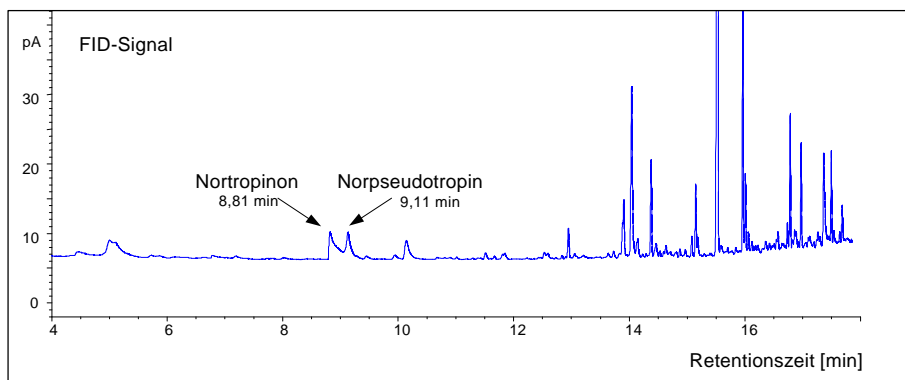


Abb. G-14: Gaschromatogramm (FID-Signal) der Nortropinonumsetzung durch StTRII-L1 (rekombinantes Enzym).

G 6.2 Umsetzungsprodukte des StTRI und des StTRI-homologen Enzyms

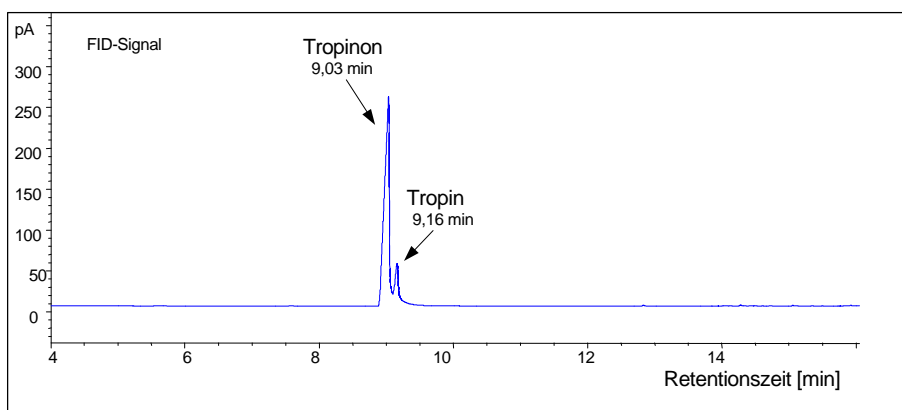


Abb. G-15: Gaschromatogramm (FID-Signal) der Tropinonumsetzung durch StTRI-SE rekombinantes Enzym.

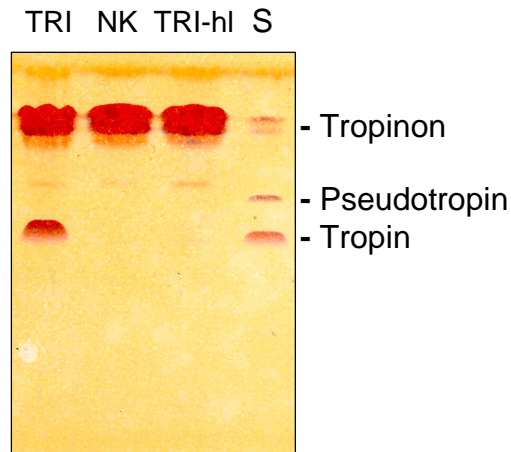


Abb. G-16: Dünnschichtchromatogramm der Tropinonumsetzung durch rekombinate TRI Enzyme. TRI: StTRI-SE; NK: Negativkontrolle, TRI-hl: StTRI-homologes Protein; S: Standardsubstanzen (Tropinon [R_f : 0,84], Pseudotropin [R_f : 0,63] und Tropin [R_f : 0,53]).

G 7 Charakterisierung des TRII-Enzyms

G 7.1 pH-Abhängigkeit der TRII-Aktivität

pH-Wert	MW Aktivität [pkat]	relative Aktivität [%]	SD	relative SD [%]	Messungen n
3,5	138,3	38			1
4,0	168,4	46			1
4,5	310,0	84			1
5,0	368,4	100	26,4	7,2	5
5,5	319,1	87	36,5	11,4	5
6,0	331,4	90	29,6	8,9	5
6,5	313,5	85	22,7	7,2	5
7,0	297,9	81	14,4	4,8	5
7,5	281,5	76	27,4	9,7	5
8,0	286,0	78	40,4	15,2	4
8,5	258,4	70	35,7	13,8	5

Tab: G-6: pH-Abhängigkeit der Tropinonumsetzung durch rekombinante TRII.

pH-Wert	MW Aktivität [pkat]	relative Aktivität [%]	SD	relative SD [%]	Messungen n
3,5	0	0			1
4,0	0	0			1
4,5	0,7	1,8			1
5,0	23,5	59,4	2,1	9,0	3
5,5	22,8	57,8	2,8	12,4	3
6,0	34,5	87,4	3,4	10,0	3
6,5	39,5	100,0	2,0	5,1	3
7,0	25,6	64,8	6,7	26,1	3
7,5	28,1	71,2	3,3	11,6	3
8,0	25,4	64,4	4,2	16,4	3
8,5	31,9	80,9	5,6	17,5	3

Tab. G-7: pH-Abhängigkeit der Nortropinonumsetzung durch rekombinantes TRII.

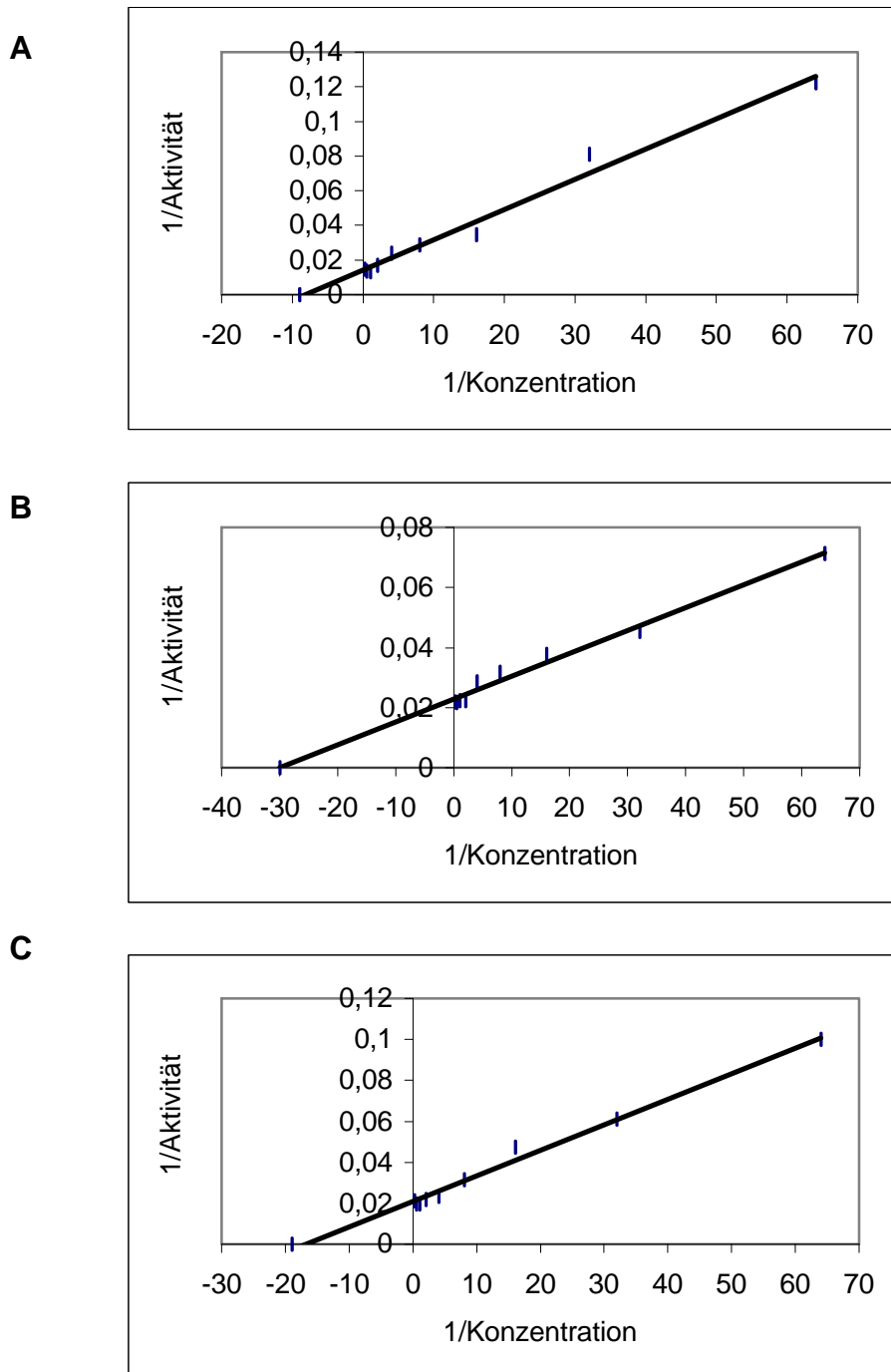
G 7.2 K_m und V_{max} Bestimmung

Abb. G-17: K_m und V_{max} Bestimmung der TRII bei der Umsetzung von Tropinon. Lineweaver-Burk Darstellung. A: pH 5,5; B: pH 6,4 und C: pH 7,6.

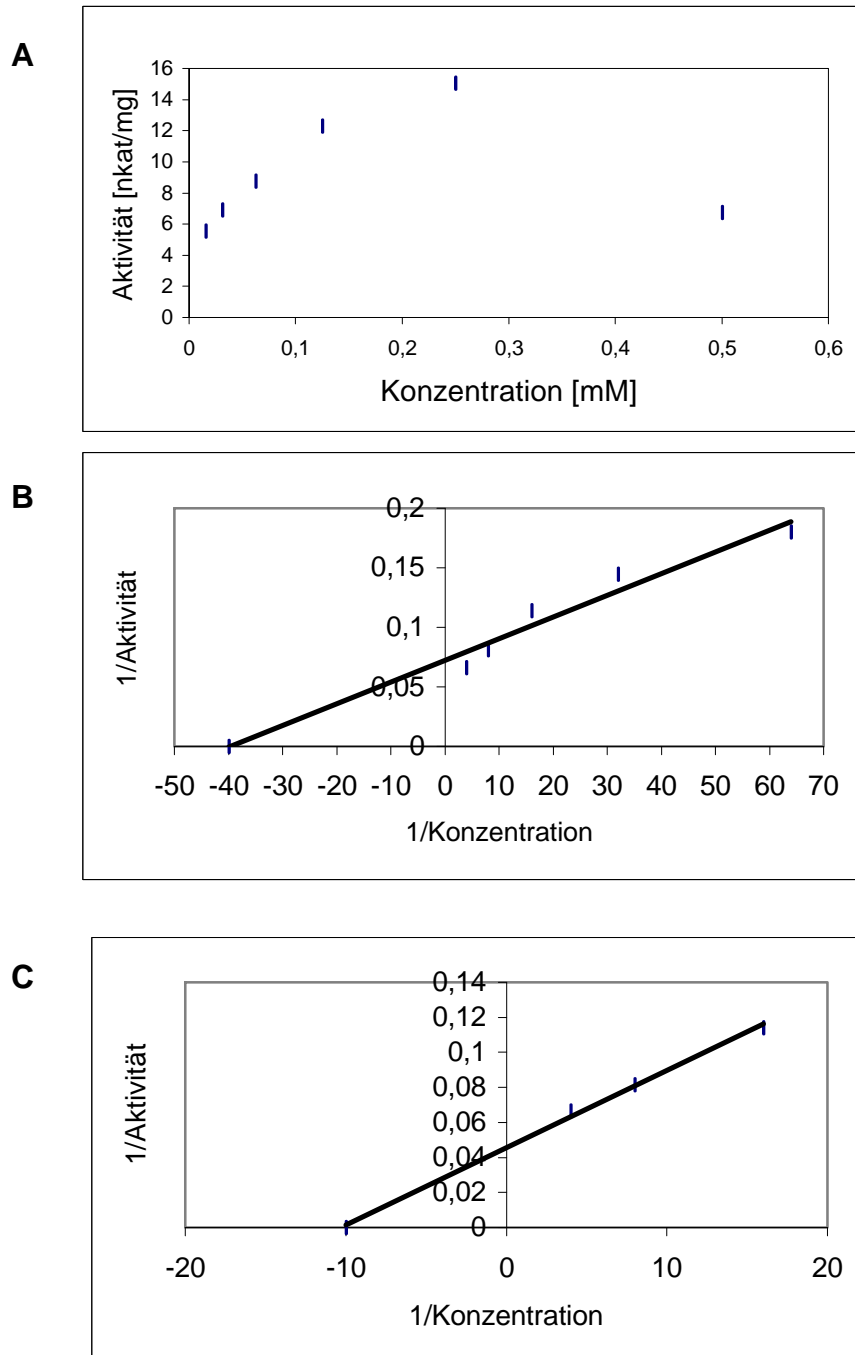


Abb. G-18: Kinetische Parameter der TR11 bei der Umsetzung von Nortropinon bei pH 6.4. A: Michaelis-Menten Kinetik; B: Lineweaver-Burk Darstellung im Konzentrationsbereich von 0,01562 bis 0,25 mM; C: Lineweaver-Burk Darstellung im Konzentrationsbereich von 0,01562 bis 0,0625 mM

G 7.3 Umsetzung von Substratanaloga

Substrat	relative Aktivität [%]	SD
Tropinon	100,0	5,4
Nortropinon	20,2	4,6
Chinuclidin-3-on	0,0	0,0
<i>N</i> -Methylpiperidin-4-on	141,6	41,4
<i>N</i> -Propylpiperidin-4-on	82,6	15,9
3-Methylcyclohexanon	13,4	2,7
4-Methylcyclohexanon	17,2	3,0

Tab. G-8: Mittelwerte und Standardabweichungen der StTRII-Umsetzung verschiedener Substratanaloga.