

5 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war die Isolation und Charakterisierung neuer Suppressormutanten für *Transcriptional Gene Silencing* (TGS). Aufgrund des Mangels an einfach handhabbaren und sensitiven Testsystemen für TGS in Pflanzen wurde in *Arabidopsis thaliana* zunächst ein neues *Silencing*-Testsystem auf der Basis transkriptionell inaktivierter transgener Reportergene (GUS, Luciferase) etabliert. Dazu wurden *Arabidopsis*-T-DNA-Linien hergestellt, die auf einer T-DNA ein bis vier Kopien eines der verwendeten Reportergene unter der Kontrolle des 35S-Promotors tragen. Im Ergebnis der Charakterisierung der erhaltenen Linien wurden fünf Luciferaselinien und eine GUS-Linie mit nahezu vollständiger Transgeninaktivierung sowie eine Luciferaselinie und eine GUS-Linie mit stark reduzierter Transgenexpression für weiterführende Experimente ausgewählt. Mit Hilfe der vollständig inaktivierten Luciferaselinien wurde in einem EMS-Mutageneseexperiment nach TGS-Suppressormutationen gesucht. Durch die Verwendung von Luciferase als transgenen Reporter mit einer sehr niedrigen Nachweisgrenze und guter Quantifizierbarkeit war auch die Isolierung von Mutanten mit relativ schwacher oder organspezifischer Transgenreaktivierung möglich. Insgesamt wurden aus ca. 50000 M2-Nachkommen mutagenisierter Linien 159 putative Mutanten mit erhöhter Transgenaktivität selektiert. Im Ergebnis der Analysen zur Transgenreaktivierung an den M3-Nachkommen von 54 putativen Mutanten wurden 19 Linien zur weiteren Charakterisierung ausgewählt. Bei 9 der 19 näher untersuchten Mutanten wurde eine im Vergleich zur Ausgangslinie eindeutig verringerte DNA-Methylierung der Reportergene gefunden. Im Ergebnis der Kartierung der Mutationsorte von 15 Mutanten konnten 8 verschiedene Loci als wahrscheinliche Mutationsorte identifiziert werden. Bei den 9 Mutanten mit charakteristischen Veränderungen der DNA-Methylierung weisen morphologische Gemeinsamkeiten und die ermittelten Mutationsorte auf Allelien mit den bereits bekannten *Silencing*-Modifikatoren *DDMI*, *MET1* bzw. *CMT3* hin. Für weitere 6 Mutanten, die an 5 verschiedenen Loci kartieren, kann aufgrund der genomischen Lokalisation eine Allelie zu bereits bekannten Modifikatoren für *Gene Silencing* ausgeschlossen werden. Bei zwei dieser Mutanten wurden Punktmutationen im *TTG2-* (*transparent testa glabra 2*) Locus als Ursache für eine gewebespezifische TGS-Suppression identifiziert. Die Ergebnisse legen die Vermutung nahe, daß das

TTG2-Genprodukt in *Arabidopsis* gewebespezifisch an der Kontrolle von TGS in Zellen beteiligt ist, die sich aus der meristematischen L1-Schicht entwickelt haben.

Die molekulare Charakterisierung von *bru1-2*, einer weiteren im Rahmen dieser Arbeit neu isolierten TGS-Suppressormutante, erfolgte in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von J. Paskowski (Friedrich Miescher Institut Basel). *Bru1* ist nach *mom* und der im Rahmen dieser Arbeit als TGS-Suppressoren identifizierten *ttg2*-Allele eine weitere *Silencing*-supprimierende Mutante, bei der keine Veränderung der DNA-Methylierung beobachtet wird. Das vom *BRU1*-Gen abgeleitete Protein zeigt keine Ähnlichkeit zu anderen Proteinen mit bekannter Funktion.

Im Rahmen einer Kooperation wurde das in der Arbeitsgruppe von Prof. G. Reuter (Martin-Luther-Universität, Institut für Genetik) bearbeitete *Arabidopsis*-SET-Domänen-Protein SUVH2 hinsichtlich seiner Wirkung auf das TGS-System getestet. Dazu wurden Kreuzungen zwischen den partiell inaktivierten *Silencing*-Linien und Pflanzen mit transgener Überexpression von SUVH2 hinsichtlich möglicher Veränderungen der Reportergenexpression untersucht. Im Ergebnis dieser Versuche konnte gezeigt werden, daß die transgene Überexpression von SUVH2 verstärkend auf TGS wirkt.