

Abbildungen und Tabellen

Abb. 1.1: <i>Papaver somniferum</i>	1
Abb. 1.2: Alkaloidbiosynthese vom L-Tyrosin zum (S)-Norcocclaurin.....	3
Abb. 1.3: Alkaloidbiosynthese vom (S)-Norcocclaurin zum (S)-Retikulin	4
Abb. 1.4: Alkaloidbiosynthese vom (S)-Retikulin zu den Endprodukten Morphin, Papaverin, Noscapin und Sanguinarin.....	5
Abb. 1.5: Reaktionen der 6OMT, 7OMT, CNMT und SMMT.....	12
Abb. 2.1: pPLEX X002-Vektorkarte.....	18
Abb. 3.1: schematische Darstellung der RACE-PCR.	22
Abb. 4.1: Erstellung der RNAi-Konstrukte im Vektor pHannibal.....	33
Abb. 4.2: Agarosegelelektrophoresen zur Erstellung der RNAi-Konstrukte	33
Abb. 4.3: Verdau des RNAi-Konstruktes aus pHannibal.....	34
Abb. 4.4: Kalluskulturen	36
Abb. 4.5: Alkaloidgehalt der Wildtyppflanzen der T0-Generation.....	38
Abb. 4.6: Gesamtalkaloidgehalte der T0-Pflanzen.....	38
Abb. 4.7: Alkaloidzusammensetzung in der T0-Generation.....	39
Abb. 4.8: T0: Anteile an Retikulin, Laudanin und Laudanosin.	40
Abb. 4.9: T0: Box and Whisker-Plots der Kruskal-Wallis-Analyse	40
Abb. 4.10: T0: Northern Blot-Analysen <i>7omt</i>	41
Abb. 4.11: PCR zum Nachweis transgener T1-Pflanzen	42
Abb. 4.12: Alkaloidgehalt der Wildtyppflanzen der T1-Generation.....	42
Abb. 4.13: T1-Alkaloidprofile.....	43
Abb. 4.14: Northern-Blot-Analysen der T1- <i>7omt-sense</i> -Pflanzen.....	45
Abb. 4.15: T1: Verhalten der Expressionsdaten der <i>7omt</i> und <i>cor</i> zueinander.....	46
Abb. 4.16: Southern Blot Analyse der Nachkommen von T0:24-25	47
Abb. 4.17: Alkaloidgehalte der Wildtyppflanzen zur T2-Generation	49
Abb. 4.18: T2-Alkaloidprofile der Nachkommen ausgewählter T1-Pflanzen	50
Abb. 4.19: T2-Generation: Abweichungen der Alkaloidgehalte.....	51
Abb. 4.20: Northern Blot Analysen der Pflanzen der T2-Generation.....	53
Abb. 4.21: Bindungsstellen der RACE-Primer	55
Abb. 4.22: Ergebnisse der RACE-PCR.....	55
Abb. 4.23: Aminosäuresequenzvergleiche der CNMTs.	56
Abb. 4.24: SDS-PAGE zur Expression der putativen N-Methyltransferase-Klone	57
Abb. 4.25: LC-MS (TOF)-Analyse der Reaktion der SNMT4 mit (S)-Stylopin.....	58
Abb. 4.26: LC-MS (TOF)-Analyse der Reaktion der SNMT5 mit (S)-Stylopin.....	59
Abb. 4.27: LC-MS (TOF)-Analyse der Reaktion der Vektorkontrolle pHis8 (S)-Stylopin	60
Abb. 4.28: Aminosäurevergleich der <i>Papaver</i> CNMTs.	62
Abb. 4.29: heterologe Expression und Reinigung der CNMT aus <i>P. somniferum</i>	63

Abb. 4.30: Abhängigkeit der CNMT-Reaktion von Temperatur und pH-Wert	64
Abb. 4.31: Einfluss divalenter Kationen auf die Enzymaktivität der CNMT.....	64
Abb. 4.32: Strukturen und relative Umsetzung der als Substrate getesteten Substanzen.....	65
Abb. 4.33: (LC-MS (TOF)-Analyse der Umsetzung von (<i>S</i>)-Coclaurin durch die CNMT.....	66
Abb. 4.34: Enzymkinetiken der (<i>S</i>)-Coclaurin- <i>N</i> -Methyltransferase aus <i>P. somniferum</i>	68
Abb. 5.1: phylogenetischer Stammbaum.....	82
Abb. 8.1: Southern Blot-Analyse der Nachkommen der T0-Pflanze 26-2.....	VI
Abb. 8.2: T2-Alkaloidprofile.....	X
Abb. 8.3: T2-Alkaloidprofile.....	XI
Abb. 8.4: Nukleotidsequenzvergleich der Klone der putativen SNMT.....	XII
Abb. 8.5: Vergleich der Aminosäuresequenzen der CNMTs mit den SNMTs.....	XIII
Abb. 8.6: LC-MS (TOF)-Analyse der Umsetzung von (<i>R</i>)-Coclaurin durch die CNMT.....	XIV
Abb. 8.7: LC-MS (TOF)-Analyse der Umsetzung von (<i>S</i>)-Norretikulin durch die CNMT	XV
Abb. 8.8: (LC-MS (TOF)-Analyse der Umsetzung von (<i>S</i>)-Nororientalin durch die CNMT	XVI
Abb. 8.9: (LC-MS (TOF)-Analyse der Umsetzung von (<i>R,S</i>)-Norlaudanolin (CNMT).....	XVII
Tabelle 2.1: verwendete PCR-Primer.....	15
Tabelle 4.1: Transformationslinien und daraus generierte (transgene) Pflanzen	37
Tabelle 4.2: Mindestanzahl der Transgenkopien in der T0- und der T1-Generation.	48
Tabelle 4.3: kinetische Parameter der Substrate der CNMT	67
Tabelle 5.1: Strukturgleichungen der durch die CNMT katalysierten Reaktionen	80
Tabelle 8.1: prozentuale Zusammensetzung des Latex der Wildtyppflanzen.....	V
Tabelle 8.2: T0-Generation: prozentuale Zusammensetzung des Latex.	V
Tabelle 8.3: T1-Generation: prozentuale Zusammensetzung des Latex.	VI
Tabelle 8.4: T2-Generation: prozentuale Zusammensetzung des Latex	VIII