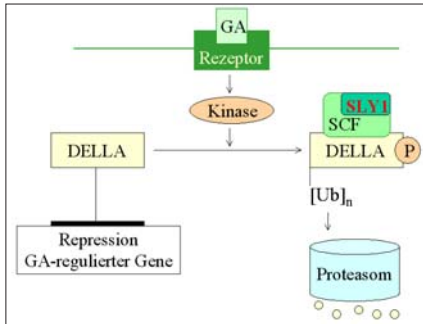


# Struktur und Funktion von SLY1 bei der Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.)

G. KRENTZ, S. HAMRIT und R. HORN



Das Phytohormon Gibberellin (GA) spielt im Anbau und in der Züchtung eine wichtige Rolle bei der Wachstumsregulation von Pflanzen. Bezüglich seiner Wirkungsweise in der Pflanze existiert eine Modellvorstellung für eine Signalkaskade, abgeleitet aus Ergebnissen von Untersuchungen an *Arabidopsis thaliana* (THOMAS et al. 2004). Darin bildet das F-Box-Protein SLY1 eine Untereinheit einer SCF-Ubiquitinligase, welche an der Regelung des Abbaus der Repressoren GA-regulierter Gene beteiligt ist. Nach dem Abbau der Repressoren können die GA-regulierten Gene exprimiert werden. Somit wirkt SLY1 positiv regulatorisch und stellt deshalb einen viel versprechenden Angriffspunkt dar, die Gibberellin-Signalkaskade genauer zu untersuchen und darüber möglicherweise gezielter das Wachstum von Pflanzen beeinflussen zu können.

Für SLY1 wurden bisher bei *Arabidopsis thaliana* (DILL et al. 2004) und bei *Oryza sativa* für das SLY1-Homologon SLENDER RICE1 (ITOH et al. 2002) jeweils ein Gen beschrieben, welches in *Arabidopsis* ein durchgängiges Exon

aufweist. Bei der Sonnenblume ist bisher bezüglich der GA-Regulation wenig bekannt. Dabei besteht gerade hier ein großes Interesse an der Regulierung des Sprosswachstums, vor allem im Zierpflanzenbau.

Zur Charakterisierung der Genstruktur von SLY1 in *Helianthus annuus* (L.) wurde als erstes damit begonnen, eine SLY1-Sequenz aus SonnenblumendNA zu amplifizieren. Dies konnte durch degenerierte Primer, abgeleitet von der bekannten SLY1 - *A. thaliana* Sequenz realisiert werden. Mit diesen Primern wurde ein 195 bp großes Amplifikat erzielt, welches auf Proteinebene 60% Identität zum SLY1-Protein aus *Arabidopsis* aufweist. Die Sequenz des erhaltenen PCR-Produktes stellte den Ausgangspunkt zur Konstruktion einer Overgo-Sonde dar. Mit dieser wurden High Density-Filter zweier BAC-Bibliotheken der Sonnenblume gescreent:

Die BAC-Bibliothek der Linie RHA325 (ÖZDEMIR et al. 2002, 2004) mit einer etwa 2 fachen Genomabdeckung und die BAC-Bibliothek der Linie HA383 (CUGI [www.genome.clemson.edu/](http://www.genome.clemson.edu/)) mit einer 8-fachen Genomabdeckung.

Im Ergebnis dieses Screenings konnten aus der Bibliothek der Linie RHA325 zwei und aus der Bibliothek der Linie HA383 vier BAC-Klone identifiziert werden. Dies deutete darauf hin, dass in der Sonnenblume nur ein Gen für SLY1 vorzuliegen scheint.

Zur Charakterisierung der erhaltenen BAC-Klone wurden diese mit HindIII

verdaut und die entstandenen Fragmente hybridisiert. Dabei wurden für die vier Klone der Linie HA383 ein Fragment mit einer Größe von 6,7 kb und für die Klone der Linie RHA325 zwei unterschiedlich große Fragmente von 12 kb und 8,5 kb identifiziert. Dies deutet an dieser Stelle darauf hin, dass in der Sonnenblume wahrscheinlich doch zwei Kopien des SLY1-Gens vorliegen.

Die erhaltenen Fragmente wurden subkloniert und sequenziert. Die Übersetzung in die Proteinsequenz ergab im 3'5'-Frame zu Beginn des 6,7- kb-Klons einen offenen Leserahmen, der bisher 159 Aminosäuren umfasst. Das SLY1-Protein in *A. thaliana* umfasst 151 aa. Das Stop-Codon des orfs liegt allerdings weiter in 3'-Richtung außerhalb des klonierten Fragments.

Zur Klonierung des fehlenden 3'-Bereiches wurde eine Restriktionskarte erstellt und die darin schneidenden Enzyme für ein Fingerprinting der BAC-Klone genutzt, um darüber Fragmente zu identifizieren, die den außerhalb liegenden 3'-Bereich mit abdecken.

Im Weiteren gilt es zunächst, die Gensequenz inklusive der im 5'- bzw. 3'-Bereich gelegenen regulatorischen Bereiche zu vervollständigen. Als zweiter großer Punkt soll anschließend die Funktion des SLY1-Gens in der Sonnenblume genauer charakterisiert werden. Dazu sind Transkriptionsanalysen aus verschiedenen Geweben und unterschiedlichen Anzuchtbedingungen sowie das Ausschalten des Genprodukts mittels RNA-Silencing geplant.

**Autoren:** Dipl.-Biol. Gesine KRENTZ, Sonia HAMRIT MSc, Prof. Dr. Renate HORN, Institut für Biowissenschaften, Abteilung Pflanzengenetik, Universität Rostock, Albert-Einstein-Straße 3, D-18051 ROSTOCK

