

## Zusammenfassung

Im Zuge des Übergangs vom vegetativen zum reproduktiven Wachstum kommt es am apikalen Meristem der Pflanzen zu gravierenden Veränderungen. Das nicht determinierte, vegetative Meristem geht in das determinierte Blütenmeristem über und es erfolgt die wirtelige Anlage der Primordien der einzelnen Blütenorgane, an die sich die Organogenese anschließt. Damit wird die Blütenentwicklung abgeschlossen. Auf molekularer Ebene geht diese Umwandlung einher mit der zeitlichen und räumlichen Expression von spezifischen Genen. Eine Vielzahl der an diesen Prozessen beteiligten Genen konnte in den letzten 20 Jahren durch die Analyse von Mutanten identifiziert und untersucht werden. Das erste Blütenorganidentitätsgen, das isoliert werden konnte, war *DEFICIENS* (*DEF*) aus der Modellpflanze *A. majus* (Sommer et al., 1990).

*DEF* bestimmt zusammen mit *GLOBOSA* (*GLO*), das Schicksal des zweiten und dritten Wirtels der *Antirrhinum*-Blüte. Mutationen im *DEF*-Gen führen zu gravierenden Veränderungen im Blütenphänotyp. In homöotischen Mutanten sind die Petalen des zweiten Wirtels durch sepaloide Organe und die Stamen des dritten Wirtels durch karpeloide Organe ersetzt. Sowohl *DEF* als auch *GLO* werden unabhängig voneinander angeschaltet und werden danach organ- und gewebespezifisch streng reguliert (Tröbner et al., 1992). Über die molekularen Mechanismen, die dieser Regulation zu Grunde liegen, ist wenig bekannt.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Regulation des *DEF*-Gens zu untersuchen. Ein Hefe "One-Hybrid-Screen" (Y1H) wurde mit dem *DEF*-Promotor als Köder durchgeführt. Auf diese Weise gelang es *AmTCP1* zu isolieren. *AmTCP1* ist ein DNA-bindendes Protein, das zur TCP-Familie der Transkriptionsfaktoren gehört (Cubas et al., 1999). *AmTCP1* bindet in Y1H-Experimenten und in EMS-Assays (electrophoresis mobility shift) an das *DEF*-TCP-Motiv, das an Position -1337 im *DEF*-Promotor lokalisiert ist. Weitere EMS-Assays mit mutagenisierten *DEF*-TCP-Motiven und TCP-Motiven aus anderen Pflanzenpromotoren haben gezeigt, dass *AmTCP1* sehr spezifisch und mit hoher Affinität an Promotoren bindet, die Motive mit der Kernsequenz GGNCCC enthalten.

Um die biologische Relevanz der Interaktion zu überprüfen, wurden Pflanzen isoliert, die Mutationen im *AmTCP1*-Gen aufwiesen. Eine Transposon-mutagenisierte Löwenmäulchen-Population wurde zu diesem Zweck durchmustert. Dabei konnte eine Pflanzenlinie identifiziert werden, bei der das Tam3-Transposon in den Promotor des *AmTCP1*-Gens inseriert war. Die Analyse dieser Pflanze konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr abgeschlossen werden.

Die heterologe Überexpression von *AmTCP1* in *A. thaliana* und die transiente Überexpression in *Arabidopsis*-Blättern (bei gleichzeitiger Präsenz eines *DEF::GFP*-Reporterkonstruktes) konnte die biologische Relevanz der *AmTCP1/DEF*-Promotor Interaktion ebenfalls nicht belegen. Die Vermutung lag nahe, dass *AmTCP1* unter biologischen Bedingungen andere Partner zur Ausübung seiner Rolle als Transkriptionsfaktor benötigt. Um diese zu identifizieren, wurde ein Hefe "Two-Hybrid"-Screen durchgeführt, bei dem eine Reihe von Interaktoren identifiziert werden konnten die im Moment noch untersucht werden.

Parallel zu den Interaktionsstudien wurden die biochemischen Eigenschaften von *AmTCP1* untersucht. Da *AmTCP1* in *E. coli* nicht löslich ist und hauptsächlich in den "inclusion bodies" abgelegt wird, musste eine Strategien entwickelt werden um *AmTCP1* in großen Mengen als rekombinantes Protein zu gewinnen. Mit dem rekombinanten Protein und dessen Deletionsvarianten konnte die Domänenstruktur von *AmTCP1* analysiert werden.

**Cubas, P., Lauter, N., Doebley, J., and Coen, E. (1999).** The TCP domain: a motif found in proteins regulating plant growth and development. *Plant J* **18**, 215-222.

**Sommer, H., Beltran, J.P., Huijser, P., Pape, H., Lonig, W.E., Saedler, H., and Schwarz-Sommer, Z. (1990).** Deficiens, a homeotic gene involved in the control of flower morphogenesis in *Antirrhinum majus*: the protein shows homology to transcription factors. *Embo J* **9**, 605-613.

**Tröbner, W., Ramirez, L., Motte, P., Hue, I., Huijser, P., Lonig, W.E., Saedler, H., Sommer, H., and Schwarz-Sommer, Z. (1992).** *GLOBOSA*: a homeotic gene which interacts with *DEFICIENS* in the control of *Antirrhinum* floral organogenesis. *Embo J* **11**, 4693-4704.