

ABSTRACT

The *ANGUSTIFOLIA* (*AN*) gene was isolated by the pleiotropic defects of its mutant, such as narrow leaves, less branched trichomes, long petals and twisted siliques. *AN* encoded a plant member of the *C-terminal Binding Protein* (*CtBP*) family. However, the molecular mechanism of how *AN* controlled leaf and trichome development was still not known. In this thesis, different approaches were taken to elucidate *AN*'s function. 1) The mutant of *AN* was used as a tool to study in which tissue layer *AN* regulated the shape of organs. 2) To integrate *AN* in a molecular network a yeast two hybrid screen was carried out, and a putative protein kinase involved in leaf and trichome development was identified. 3) *AN*'s domain structure was analyzed by genetic and cell biological methods.

In the first part, to study the role of *AN* on organ shape determination in different tissue layers, *AN* was expressed in the *an* mutant under the control of tissue specific promoters (*pAtML1* for epidermal cells, *pPCAL* for subepidermal cells). It was shown that while subepidermal expression of *AN* was sufficient to rescue the leaf shape, epidermal expression of *AN* rescued the petal and silique defects. Especially the regulation of leaf length and width by *AN* was different in the epidermal and subepidermal tissues. This work revealed that *AN* controlled the shape of different organs through different tissues, supporting the hypothesis that the shape determining layer was organ dependent.

In the second part, *ANGUSTIFOLIA INTERACTING KINASE 1* (*AIK1*), a putative protein kinase, was identified in a yeast two hybrid screen. The interaction of *AIK1* and *AN* was confirmed by yeast two hybrid tests and Bimolecular Fluorescence Complementation (BiFC). *AIK1* amiRNA transgenic lines with down-regulated *AIK1* mRNA level showed narrow rosette leaves and less branched trichomes similar to the *an* mutant. Therefore, it was concluded that *AIK1* was a novel gene involved in leaf

and trichome development.

In the third part, AN was analyzed in the molecular level. Dimerization of AN was shown by yeast two hybrid tests and BiFC. The N-terminal part of AN, which was highly conserved in plant and animal CtBPs, was sufficient to rescue the *an-2* mutant; in addition, the C-terminal part of AN might play a regulatory role. Truncations of AN led to a change in its cellular localization, indicating that AN⁴⁰⁰⁻⁴⁴⁰ contained functional motifs for AN nuclear localization.

ZUSAMMENFASSUNG

Das *ANGUSTIFOLIA (AN)* Gen wurde aufgrund seiner Mutante isoliert, die einen pleiotropen Phänotyp mit schmalen Blättern, unterverzweigten Trichomen, langen Petalen und gewundenen Schoten hat. *AN* codiert ein pflanzliches Mitglied der Familie der C-terminalen Binde Proteine (CtBP). Der molekulare Mechanismus, durch den *AN* die Blatt- und Trichomentwicklung kontrolliert, war noch nicht verstanden. In dieser Dissertation wurden drei Wege beschritten, um die Funktionsweise von *AN* aufzuklären. 1) Die *an* Mutante wurde als Werkzeug benutzt, um zu untersuchen in welcher Gewebeschicht *AN* die Organentwicklung reguliert. 2) Um *AN* in ein molekulares Netzwerk zu integrieren, wurde ein Hefe-Zwei-Hybrid Screen durchgeführt, bei dem eine mutmaßliche Proteinkinase isoliert wurde, die an der Blatt- und Trichomentwicklung beteiligt ist. 3) Die Domänenstruktur von *AN* wurde mit genetischen und zellbiologischen Methoden analysiert.

Um die Rolle von *AN* bei der Bestimmung der Form von Organen zu untersuchen, wurde im ersten Teil der Arbeit *AN* unter der Kontrolle gewebespezifischer Promotoren in der *an* Mutante exprimiert (*pAtMLI* für die epidermale, *pPCAL* für die subepidermale Expression). Es wurde gezeigt, dass die subepidermale Expression von *AN* die Blattform retten konnte, während die epidermale Expression von *AN* den Petalen- und den Schotenphänotyp rettete. Besonders die Regulation der Blattlänge und -breite durch *AN* unterschied sich bei der epidermalen und subepidermalen Expression. In dieser Arbeit wurde aufgedeckt, dass *AN* die Formgebung unterschiedlicher Organe über verschiedene Gewebeschichten kontrolliert. Dies unterstützt die Hypothese, dass die formbestimmende Gewebeschicht organabhängig ist.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde in einem Hefe-Zwei-Hybrid Screen die *ANGUSTIFOLIA INTERAGIERENDE KINASE 1 (AIK1)*, eine mutmaßliche

Proteinkinase, identifiziert. Die Interaktion von AIK1 mit AN wurde im Hefe-Zwei-Hybrid Test und durch bimolekulare Fluoreszenzkomplementation bestätigt. Transgene amiRNA Linien von *AIK1*, in denen die *AIK1* mRNA Menge reduziert war, zeigten schmale Blätter und weniger verzweigte Trichome, vergleichbar mit der *an* Mutante. Daher wurde geschlossen, dass *AIK1* ein neues an der Blatt- und Trichomentwicklung beteiligtes Gen ist.

Im dritten Teil der Arbeit wurde AN auf molekularer Ebene untersucht. Die Dimerisierung von AN wurde im Hefe-Zwei-Hybrid Test und durch bimolekulare Fluoreszenzkomplementation gezeigt. Der N-terminale Teil, der in pflanzlichen und tierischen CtBPs stark konserviert ist, war ausreichend um die *an-2* Mutante zu retten; zusätzlich scheint der C-terminale Teil eine regulatorische Funktion zu besitzen. Verkürzte Varianten von AN zeigten eine veränderte zelluläre Lokalisation, die darauf hinweist, dass AN⁴⁰⁰⁻⁴⁴⁰ funktionelle Motive für die Kernlokalisierung beinhaltet.