

## Untersuchungen zur SBP-Box-Gen vermittelten Blühverfrühung in Raps

Bianca Kopp, Michael Höfer, Gabi Krczal, Michael Wallbraun,  
RLP Agrosience GmbH, AlPlanta - Institut für Pflanzenforschung,  
D-67435 Neustadt/Weinstrasse

Die pflanzenspezifischen SBP-Box-Gene kodieren für putative Transkriptionsfaktoren die ubiquitär im Pflanzenreich vorkommen. Charakteristisch für alle Mitglieder dieser Genfamilie ist die hochkonservierte SBP-Domäne, die für die DNA-bindende Eigenschaft verantwortlich ist. Außerhalb dieser Domäne besitzen SBP-Box-Gene nur geringe Sequenzähnlichkeiten. Dennoch weisen einige Mitglieder dieser Genfamilie eine höhere Sequenzähnlichkeit sowie eine konservierte Anzahl und Position der Introns auf. Aus *Arabidopsis thaliana* konnten bisher 16 SBP-Box-Gene isoliert werden. Die Funktion der meisten SBP-Box-Gene konnte bisher noch nicht aufgeklärt werden. Bei einer konstitutiven Überexpression zeigte lediglich SPL3 mit deletiertem 3'UTR einen frühblühenden Phänotyp. Am 3'UTR befindet sich das so genannte miRNA responsive element (MRE), an welches die miRNA 156 an die mRNA bindet. Bei den miRNAs handelt es sich um 20-24 nt kleine RNAs die komplementär zu ihren Targetsequenzen in der mRNA sind. Die Genregulation über miRNAs verläuft entweder über „Cleavage“ der mRNA oder über Inhibierung der Translation.

*Brassica napus* wurde mit dem *Arabidopsis* SPL3 Gen mit deletiertem 3'UTR unter Kontrolle des 35S Promotors transformiert. Transgene Regenerate wurden mit Hilfe einer Multiplex PCR identifiziert. In Southern Blot Analysen wurde die Kopienzahl des Transgens bestimmt. 3 Linien, in denen jeweils nur eine Transgenkopie und die Transgenaktivität in Northern Blot Analysen nachgewiesen wurden, wurden im Gewächshaus auf Blühbeginn, Anzahl der vegetativen Seitentriebe, Anzahl der Seitentriebe der Infloreszenz sowie Anzahl der Rosettenblätter bonitiert. 2 der 3 untersuchten Linien zeigten eine Blühverfrühung von ca. 4 Tagen sowie eine um 2 reduzierte Anzahl der Rosettenblätter. Lediglich die transgenen Pflanzen zeigten vegetative Seitentriebe und besaßen im Schnitt 2 Infloreszenz-Seitentriebe mehr als die Kontrollpflanzen. Als Kontrollpflanzen wurden Pflanzen der untersuchten 3 Linien ausgewählt, bei denen das Transgen herausgekreuzt wurde.

Zur Untersuchung der Struktur der SBP-Box Genfamilie in der amphidiploiden Spezies *Brassica napus* wurden gewebespezifische cDNA Bibliotheken aus Blatt und Blüte angelegt. Mit RACE-PCR Reaktionen und einer anschließenden BLAST Analyse konnten 13 SBP-Box-Gene identifiziert werden. Für SPL3 wurden 2 Gene mit unterschiedlichen UTRs gefunden. Ebenso konnte ein SBP-Box-Gen mit bisher unbekannter Sequenz identifiziert werden.