

# Hitzeinduzierte Transgeninaktivierung in Pflanzen: Untersuchung des Einflusses von der Kodierregion umgebenden Sequenzen auf die Transgenexpression unter Hitzestress

Tobias Latzkow<sup>1</sup>, Jana Huckauf<sup>1</sup>, Nadine Knöchel<sup>1</sup>, Stephanie Walter<sup>1</sup>, Sandra Kerbach<sup>2</sup>, Inge Broer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>AG Agrobiotechnologie; Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät; Universität Rostock; Justus-von-Liebig Weg 8; D-18059 Rostock

<sup>2</sup>Institut für Allgemeine Botanik; Universität Hamburg; Ohnhorststr. 18; D-22609 Hamburg

Die Änderung von Umweltbedingungen kann in Pflanzen die Aktivität eines eingebrachten Fremdgens beeinflussen. So kann die Stabilität eines Transgens direkt von der Umgebungstemperatur abhängen sein. Köhne (1998) konnte in transgenen *Nicotiana tabacum* SRI Pflanzen, nach einer 10 tägigen subletalen Hitzebehandlung (37 °C), einen kompletten Verlust der Enzymaktivität des eingebrachten Herbizidresistenzgens (*pat41*) aus *Streptomyces viridochromogenes* beobachten. Der Methylierungsstatus, die Kopienzahl oder der homo bzw. heterozygote Status des Transgens konnten als mögliche Ursache hierfür ausgeschlossen werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Kodierregion für die Stabilität auf RNA-Ebene verantwortlich ist, während die untranslatierten Regionen, die die kodierende Region umgeben, zu der Inaktivierung des eingebrachten Transgens auf Proteinebene führen können (Köhne *et al.* 1998). Inaktivierend wirken der 5' UTR und der 3' UTR des *pat41*-Gens (Wohlleben *et al.* 1989) sowie der Terminator des Nopalinsynthetasegens (*tnos*) aus *Agrobacterium tumefaciens* (Dhaese *et al.* 1983).

Durch die Analyse verschiedener Kombinationen der UTR's und des Terminators konnten wir zeigen, dass zwei Elemente unter Hitze einen negativen Einfluss auf die Transgenexpression haben. Jedes dieser Elemente alleine kann zu einer schwachen aber signifikanten Abnahme der Proteinmenge und zum Verlust der Resistenz in einigen Linien führen. Dagegen führt die Kombination beider Sequenzen zu einem kompletten Verlust der Pt-Resistenz unter Hitze.

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass sich in den jeweiligen Elementen potentielle Bindestellen für regulatorische Proteine befinden könnten.

Zudem konnten wir beobachten, dass die verschiedenen Konstrukte unterschiedliche Grundexpressionen des Transgen-kodierten Proteins aufwiesen.

**Dhaese, P.; de Greve, H.; Gielen, J. ; Guernich, J.; van Montague, M.; Schell, J. (1983)** Identification of sequences involved in polyadenylation of higher plant nuclear transcripts using *Agrobacterium* T-DNA genes as models. *EMBO J.* 2: 419-429

**Köhne, S. (1998)** Molekularbiologische Analyse der Ursachen für die temperaturinduzierte Instabilität der Transgenexpression in *Nicotiana tabacum*. Dissertation, Universität Bielefeld  
**Wohlleben, W.; Arnold, W.; Broer, I.; Hillemann, D.; Strauch, E.; Pühler, A., (1988)** Nucleotide sequence of the phosphinothricin-*N*-acetyl-transferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene* 70: 25-37