

Gentechnische Experimente zur Beeinflussung der Lignanbiosynthese

Elisabeth Fuss

Institut für Entwicklungs- und Molekularbiologie der Pflanzen, Pflanzliche Zell- und Gewebekultur, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Im Gegensatz zum hochmolekularen Lignin sind Lignane Dimere aus 8-8'-verknüpften Phenylpropaneinheiten. Zu den wohl bekanntesten Lignanen zählt das Secoisolariciresinol, dessen Diglucosid in Leinsamen (*Linum usitatissimum*) zu finden ist. Es besitzt phytoestrogenen Eigenschaften, denen eine Schutzwirkung gegen hormonabhängige Krebsarten zugeschrieben wird. Derivate des in *Podophyllum spec.* akkumulierten Podophyllotoxins wie Etopophos[®] werden in der Chemotherapie gegen Krebs eingesetzt. Durch Übersammeln ist die natürliche Quelle für das Podophyllotoxin, Rhizome und Wurzeln von *P. hexandrum*, bedroht. Als Alternative haben wir Zellsuspensions- und "Hairy Root"-Kulturen von *L. album* etabliert, die Podophyllotoxin bzw. 6-Methoxypodophyllotoxin akkumulieren. Der Focus unserer Arbeiten liegt in der Aufklärung der Biosynthese des Podophyllotoxins und 6-Methoxypodophyllotoxins in *L. album* mit dem Ziel, die Ausbeute an Podophyllotoxin durch gentechnische Manipulation zu erhöhen.

Wir haben einige cDNAs für Enzyme des Allgemeinen Phenylpropanstoffwechsels (Phenylalanin-Ammoniak-Lyase, Zimtsäure-4-Hydroxylase, Zimt-alkohol-Dehydrogenase, Cinnamoyl-CoA-Reduktase) isoliert. Daneben klonierten wir eine cDNA für die Pinoresinol-Lariciresinol-Reduktase, welche an den frühen spezifischen Schritten der Lignanbiosynthese beteiligt ist. Ein Transformationsprotokoll zur Überexpression bzw. zu RNAi-Experimenten wurde zunächst für *L. album* entwickelt und jetzt auch auf andere Leinarten übertragen. Dabei werden für die Transformation mit *Agrobacterium tumefaciens* entwickelte Vektoren zur Übertragung der Genkonstrukte ins Pflanzengenom mittels *A. rhizogenes* verwendet. Als Selektionsagenz wird Paromomycin eingesetzt, da Hairy Roots der bisher untersuchten Leinarten auch ohne Resistenzgen in Medien mit bis zu 300 mg/l Kanamycin wachsen. Die Überexpression der Pinoresinol-Lariciresinol-Reduktase in Hairy Roots von *L. album* führte wahrscheinlich zu einem Cosuppressionseffekt. Hairy Roots mit Überexpressionskonstrukt zeigten einen geringeren Gehalt an 6-Methoxypodophyllotoxin als die Kontrolllinien. RNAi-Experimente zur Minimierung der Expression der Pinoresinol-Lariciresinol-Reduktase in *L. album*, *L. perenne* und *L. strictum ssp. corymbulosum*, die Lignane verschiedener Subtypen akkumulieren, werden gerade unternommen. Diese Experimente sollen zeigen, ob eine Pinoresinol-Lariciresinol-Reduktase an der Biosynthese der verschiedenen Lignane beteiligt ist.

Der DFG und dem BMBF wird für ihre finanzielle Unterstützung gedankt.