



**Institut für Pflanzenbiochemie, Halle**  
**ein Leibniz-Institut**  
**Jahresbericht 2000**

**Weinberg 3, 06120 Halle (Saale), Deutschland**  
**Tel.: ++49 345 5582 0, Fax: ++49 345 5582 1119**  
**[www.ipb-halle.de](http://www.ipb-halle.de)**

## Inhalt

<b>Vorstellung des Instituts</b> .....	<b>4</b>
<b>Entwicklung des Instituts im Jahre 2000</b> .....	<b>4</b>
ORGANE DES INSTITUTS.....	6
DIREKTORIUM IN SEINER ZUSAMMENSETZUNG AM 31. 12. 2000:.....	6
DER STIFTUNGSRAT.....	7
DER WISSENSCHAFTLICHE BEIRAT (STAND VOM 31. 12. 2000) .....	7
DER WISSENSCHAFTLICHE INSTITUTSRAT.....	8
MITARBEITER DES IPB IN SPEZIELLEN FUNKTIONEN .....	8
MITGLIEDER DES PERSONALRATS.....	8
ABTEILUNGSSTRUKTUR DES IPB.....	9
<b>Abteilung Naturstoff-Biotechnologie</b> .....	<b>11</b>
JASMONAT-WIRKUNGSWEISE.....	12
NATURSTOFFANALYTIK .....	13
PFLANZLICHE ZELLKULTUREN .....	14
SCHLAFMOHN-BIOTECHNOLOGIE.....	15
ALKALOID-FUNCTIONAL GENOMICS .....	16
VIRUS-VERMITTELTES AUFSPÜREN UNBEKANNTER GENE .....	16
„FUNCTIONAL GENOMIC“-ANSÄTZE ZUR KLONIERUNG VON ENZYMEN DER CANNABINOID-SYNTHESE AUS <i>CANNABIS SATIVA</i> .....	16
ALKALOID-BIOSYNTHESE.....	17
PUBLIKATIONEN.....	18
BUCHBEITRÄGE.....	18
PATENT.....	19
<b>Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie</b> .....	<b>21</b>
BIOAKTIVE PFLANZLICHE NATURSTOFFE.....	22
PHYTOCHEMISCHE ARBEITEN.....	22
ANALYTISCHE ARBEITEN .....	22
BRASSINOSTEROIDSYNTHESE.....	23
GIBBERELLINBIOCHEMIE.....	24
NMR-ANALYTIK.....	25
PUBLIKATIONEN.....	26
BUCHBEITRAG .....	27
<b>Abteilungsübergreifendes Projekt: GABI</b> .....	<b>29</b>
AUF DER SUCHE NACH SIGNALEN: STRESS-INDUZIERTE VERÄNDERUNGEN IN SEKUNDÄREN METABOLIT-, PEPTID- UND PROTEINMUSTERN.....	29
<b>Abteilung Stress- und Entwicklungsbiologie</b> .....	<b>30</b>
SIGNALERKENNUNG IN PFLANZE-PATHOGEN INTERAKTIONEN .....	31
ZELLULÄRE SIGNALTRANSDUKTION.....	32
SIGNALTRANSDUKTIONSMUTANTEN.....	33
INDUZIERTER PATHOGENABWEHR.....	34
SCHWERMETALLTOLERANZ .....	35
CHROMATIN UND GENREGULATION .....	36
PUBLIKATIONEN.....	37
BUCHBEITRÄGE.....	37
PATENTE.....	37

<b>Abteilung Sekundärstoffwechsel .....</b>	<b>39</b>
ZELLBIOLOGIE DER MYKORRHIZA.....	40
MOLEKULARE PHYSIOLOGIE DER MYKORRHIZA.....	41
BIOCHEMIE DER BETALAINE.....	42
MOLEKULARE PHYSIOLOGIE UND PHYLOGENIE DER BETALAINE.....	43
HYDROXYZIMTSAUREN .....	44
PUBLIKATIONEN .....	45
BUCHBEITRAG.....	46
PATENTE.....	46
<b>Kommunikation in vielen Bereichen verstärkt.....</b>	<b>49</b>
IPB PRÄSENTIERTE SICH AUF DREI FACHMESSEN.....	49
TAG DER FORSCHUNG AUF DEM MARKT IN HALLE.....	49
GRÜNE GENTECHNIK ZUM ANFASSEN .....	49
KUNST UND WISSENSCHAFT.....	50
BESUCHER AM INSTITUT .....	50
INNO-REGIO – IPB BETEILIGTE SICH AN KONZEPTENTWURF.....	50
3. KURT-MOTHES-DOKTORANDEN-WORKSHOP .....	51
TREFFEN DER HORMONFORSCHER.....	51
PUSH-PROJEKT AM IPB.....	51
IPB ALS GUTER NACHBAR.....	51
IPB IM NEUEN GEWAND.....	51
NEWSLETTER.....	52
PUBLIKATIONEN .....	52
PRESSEMITTEILUNGEN.....	52
<b>Übersicht Haushalts- und Drittmittel 2000.....</b>	<b>53</b>
HAUSHALT .....	53
DRITTMITTELFINANZIERUNG .....	53
INVESTITIONSHAUSHALT .....	53
DRITTMITTELEINSATZ (STAND 12. 12. 2000) .....	54
STELLENPLAN 2000 .....	57
SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES HAUSHALTES.....	58
BESCHÄFTIGUNGSGRUPPEN & FINANZIERUNGSGRUNDLAGE.....	58
GASTWISSENSCHAFTLER.....	59
<b>Impressum .....</b>	<b>59</b>

## Vorstellung des Instituts

Das Institut für Pflanzenbiochemie in Halle wurde am 01. 01. 1992 als außer-universitäres Forschungsinstitut der so genannten „Blauen Liste“ gegründet. Aus dem Zusammenschluss der „Blaue-Liste-Institute“ entstand 1995 die „Wissenschaftsgemeinschaft Blaue Liste (WBL)“, die sich im Oktober 1997 in „Wissenschaftsgemeinschaft Gottfried Wilhelm Leibniz (WGL)“ umbenannt und umorganisiert hat. Das IPB gehört zur Sektion Lebenswissenschaften der WGL. Das Vorläuferinstitut wurde am 01. 01. 1958 von Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Kurt Mothes im Auftrag der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin als Arbeitsstelle für Biochemie der Pflanzen gegründet.

Das IPB besteht aus vier wissenschaftlichen Abteilungen und der Abteilung Administration, Zentrale Dienste und Technik (Organigramm S. 8), in denen derzeit 108 Mitarbeiter aus Haushaltsmitteln und weitere 42 über Drittmittel-Finanzierung beschäftigt werden. Das Forschungsprofil des Instituts weist unverwechselbare Züge in der deutschen Wissenschaftslandschaft auf. Im Mittelpunkt der Forschungsaktivitäten steht die Entwicklung der Pflanze in ihren Wechselbeziehungen zu anderen Organismen (biotische Faktoren) oder physikalischen und chemischen Umwelteinflüssen (abiotischen Faktoren). Entsprechend der Satzung des IPB wird eine exzellente Grundlagenforschung als unabdingbare Basis für anwendungsorientierte Forschungsprojekte betrachtet. Die Stärke des Instituts liegt dabei in der sich ideal ergänzenden methodischen Ausrichtung und apparativen Ausstattung der interdisziplinär eng kooperierenden wissenschaftlichen Abteilungen des IPB, die die Anwendung modernster chemischer, physiologischer, zellbiologischer, biochemischer, molekularbiologischer und genetischer Methoden zur umfassenden Analyse komplexer Themen erlauben.

## Entwicklung des Instituts im Jahre 2000

Am 1. November 2000 übernahm **Prof. Ludger Wessjohann** die Leitung der Abteilung „Naturstoffchemie“. Er folgte damit einer gemeinsamen Berufung der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und des IPB auf eine C4-Professur für „Naturstoffchemie“ im Fachbereich Chemie. Sein wissenschaftliches Interesse gilt der Biogenese, Isolierung und Synthese von Natur- und Wirkstoffen. Ferner legt der Chemiker einen Schwerpunkt seiner Forschungsarbeiten auf die Entwicklung biokatalytischer (enzymatischer) und kombinatorisch-chemischer Verfahren. In diesem Sinne plant er, mit seinen Mitarbeitern am IPB neue Syntheseverfahren für Natur- und Wirkstoffe zu entwickeln. Im Dezember 2000 erhielt die Abteilung daher den neuen Namen „Natur- und Wirkstoffchemie“. 2001 nehmen die Arbeitsgruppen ihre Arbeit in den frisch sanierten Laborgebäuden D und C auf.

Erstmals fand die jährliche **Institutstagung „Tag der Forschung“** in Eichenzell vom 30. August bis zum 1. September in Klausur statt. Die Gruppenleiter der verschiedenen Abteilungen stellten Forschungsarbeiten des Instituts vor. Neue Mitarbeiter der Abteilung „Natur- und Wirkstoffchemie“, die zur Zeit der Tagung noch an der „Vrije Universiteit Amsterdam“ arbeiteten, berichteten ebenfalls über ihre Forschungsprojekte. Die Mitarbeiter empfanden das Treffen als nützlich und informativ. Während der anschließenden Auswertung der

Tagung einigten sich die Gruppenleiter und das wissenschaftliche Direktorium darauf, diese Tagung auch in Zukunft mit leichten Veränderungen außerhalb Halles durchzuführen. Um unnötige Zeitverluste durch lange An- und Abreisezeiten zu vermeiden, soll aber ein näher gelegener Tagungsort als Eichenzell gewählt werden. Auch in Zukunft sollen hauptsächlich die Gruppenleiter Vorträge halten, um den konzeptionellen Charakter des Treffens zu wahren. Doktoranden und Diplomanden werden aber aufgefordert, sich mehr an den wissenschaftlichen Diskussionen zu beteiligen.

Die 1999 am IPB eingeführte **leistungsbezogene Mittelvergabe**, nach der 40 Prozent der Haushaltsmittel nach einem Bonussystem vergeben werden, hat sich auch in 2000 bewährt. Anrechenbare Leistungen beziehen sich auf Publikationen, Drittmittelinwerbung, Patentierungen, Lehrtätigkeiten und andere wissenschaftliche Aktivitäten.

Die **Presse- und Öffentlichkeitsarbeit** des Institutes wurde 2000 intensiviert. Zwei Ausstellungen mit wissenschaftlichen Inhalten lockten über 1000 Besucher an das Institut. Ein Pressespiegel belegt eine stärkere positive Präsenz in den Medien. Für die Mitarbeiter und Freunde des Hauses gibt es seit September 2000 eine zweisprachige Hauszeitschrift (Newsletter), die in regelmäßigen Abständen erscheint.

Im September 2000 zog die Abteilung „Stress- und Entwicklungsbiologie“ nach Abschluss der Altbausanierung in das **Haus C** zurück. Die **Sanierung des Laborgebäudes A**, in denen bis zu diesem Zeitpunkt die Abteilung „Sekundärstoffwechsel“ untergebracht war, konnte im Dezember 2000 begonnen werden. Die dringend erforderlichen und sich über länger als ein Jahr erstreckenden Bauarbeiten beeinträchtigen zwar die wissenschaftlichen Arbeiten in der Abteilung erheblich, jedoch konnte durch Bereitstellung von Räumlichkeiten in den anderen Abteilungen und der Bibliothek eine akzeptable Lösung geschaffen werden.

Im Dezember wurde mit der **ersten Ausbaustufe des Gewächshausneubaus** begonnen. Da die Arbeiten zügig vorangehen, kann mit einer Inbetriebnahme bereits im Frühjahr 2001 gerechnet werden.

Unter Vorsitz von Prof. Axel Zeeck fand am 26. und 27. Oktober 2000 die **9. Sitzung des Wissenschaftlichen Beirats** im IPB statt. Auf Beschluss des Stiftungsrats wurden Prof. Alfons Gierl von der Technischen Universität München und Prof. Birger Lindberg Møller von der Universität Kopenhagen, Dänemark, als neue Mitglieder in den Beirat berufen. Als Nachfolger von Prof. Nikolaus Amrhein wurde Prof. Wilhelm Boland vom Max-Planck-Institut für chemische Ökologie in Jena zum stellvertretenden Vorsitzenden des Wissenschaftlichen Beirats gewählt.

Am Vortag der Sitzung besuchten jeweils zwei Beiratsmitglieder die vier wissenschaftlichen Abteilungen, um deren Leistungen zu beurteilen. Insgesamt wurde dem Institut eine **sehr positive Entwicklung bescheinigt**. Der Wissenschaftliche Beirat bezeichnete die Mitarbeiter als engagiert und motiviert. Besonders erwähnenswert befand der Beirat die **umfangreiche Einwerbung von Drittmitteln**.

Die **Sitzung des Stiftungsrats** des IPB fand am 23. und 24. November 2000 unter Vorsitz von Ministerialrat Rainer Gross vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im IPB statt. Als neuer Vertreter der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg im Stiftungsrat wurde Prof. Reinhard Neubert, Prorektor für Forschung und wissenschaftlichen Nachwuchs, benannt. Der Stiftungsrat diskutierte im besonderen die Übernahme der Leitung der Abteilung „Natur- und Wirkstoffchemie“ durch Prof. Ludger Wessjohann und die sich aus der inhaltlichen Neuorientierung ergebenden Erfordernisse im IPB. Die Gesamtentwicklung des IPB wird als sehr positiv beurteilt. Stiftungsrat und Wissenschaftlicher Beirat legen besonderen Wert auf die Vernetzung der wissenschaftlichen Abteilungen, denen nun wieder allen ein Abteilungsleiter vorsteht. Als eine positive Entwicklung in diese Richtung wird das von den Abteilungen „Stress- und „Entwicklungsbiologie“ und „Natur- und Wirkstoffchemie“ Anfang des Jahres initiierte Projekt im Rahmen der nationalen Genomforschung GABI gesehen.

## Organe des Instituts

Das **Direktorium** ist als Kollegialorgan aus den Leitern der wissenschaftlichen Abteilungen und dem Administrativen Leiter des IPB zusammengesetzt. Der Stiftungsrat bestellt einen der wissenschaftlichen Leiter in der Regel für fünf Jahre zum Geschäftsführenden Direktor, der gemeinsam mit dem Administrativen Leiter die Geschäftsführung des Instituts bildet. Sie vertritt die Stiftung gerichtlich und außergerichtlich.

### Direktorium in seiner Zusammensetzung am 31. 12. 2000:

<b>Prof. Dierk Scheel</b>	Geschäftsführender Direktor, Leiter der Abteilung „Stress- und Entwicklungsbiologie“
<b>Lothar Franzen</b>	Leiter der Abteilung Administration, Zentrale Dienste und Technik
<b>Prof. Toni M. Kutchan</b>	Leiterin der Abteilung „Naturstoff-Biotechnologie“
<b>Prof. Dieter Strack</b>	Leiter der Abteilung „Sekundärstoffwechsel“
<b>Prof. Ludger Wessjohann</b>	Leiter der Abteilung „Natur- und Wirkstoffchemie“

### Der Stiftungsrat

kontrolliert die Geschäftsführung, prüft die Wirtschaftsführung, genehmigt die Jahresrechnung und erteilt die Entlastung für das vorangegangene Geschäftsjahr.

<b>Dr. Uta Berg</b>	Kultusministerium des Landes Sachsen-Anhalt Vorsitzende
<b>Prof. Karl-Heinz Büchel</b>	Vormals Forschungsleiter Bayer AG
<b>Rainer Gross</b>	Bundesministerium für Bildung und Forschung Stellvertretender Vorsitzende
<b>Prof. Reinhard Neubert</b>	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
<b>Prof. Axel Zeek</b>	Georg-August-Universität Göttingen

### Der Wissenschaftliche Beirat (Stand vom 31. 12. 2000)

berät den Stiftungsrat und das Direktorium in wissenschaftlichen und technischen Fragen. Der Stiftungsrat ernennt die Mitglieder des Wissenschaftlichen Beirates. Mitglieder sind:

<b>Prof. Axel Zeek</b>	Institut für Organische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen Vorsitzender
<b>Prof. Wilhelm Boland</b>	MPI für Chemische Ökologie, Jena Stellvertretender Vorsitzende
<b>Prof. Thomas Hartmann</b>	Institut für Pharmazeutische Biologie, Technische Universität Braunschweig
<b>Prof. Alfons Gierl</b>	Technische Universität München
<b>Prof. Birger Lindberg Møller</b>	Universität Kopenhagen, Dänemark
<b>Prof. Wolfgang Steglich</b>	Institut für Organische Chemie, Ludwig-Maximilians-Universität München
<b>Dr. Christoph von Szczepanski</b>	BioInnovation & Beratung, Wandlitz
<b>PD Dr. habil. Günter Strittmatter</b>	Kleinwanzlebener Saatzucht AG (KWS), Einbeck
<b>Prof. Peter Welzel</b>	Institut für Organische Chemie, Universität Leipzig
<b>Prof. Ulrich Wobus</b>	Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben
<b>Dr. Werner Wolf</b>	BioTechnology Consulting, Wielenbach

### Der Wissenschaftliche Institutsrat

berät das Direktorium und den Stiftungsrat in fachlichen Angelegenheiten und vertritt zugleich die wissenschaftlichen Mitarbeiter des IPB. Er setzte sich 2000 wie folgt zusammen:

<b>Dr. Jürgen Schmidt</b>	Abteilung „Natur- und Wirkstoffchemie“ (Vorsitzender)
<b>Dr. Otto Miersch</b>	Abteilung „Naturstoff-Biotechnologie“ (Stellvertretender Vorsitzender)
<b>Dr. Bettina Hause</b>	Abteilung „Sekundärstoffwechsel“
<b>Dr. Dieter Neumann</b>	Abteilung „Stress- und Entwicklungsbiologie“
<b>Dr. Thorsten Nürnberger</b>	Abteilung „Stress- und Entwicklungsbiologie“
<b>Dr. Thomas Vogt</b>	Abteilung „Sekundärstoffwechsel“
<b>Dr. Brunhilde Voigt</b>	Abteilung „Natur- und Wirkstoffchemie“
<b>Dr. Michael H. Walter</b>	Abteilung „Sekundärstoffwechsel“

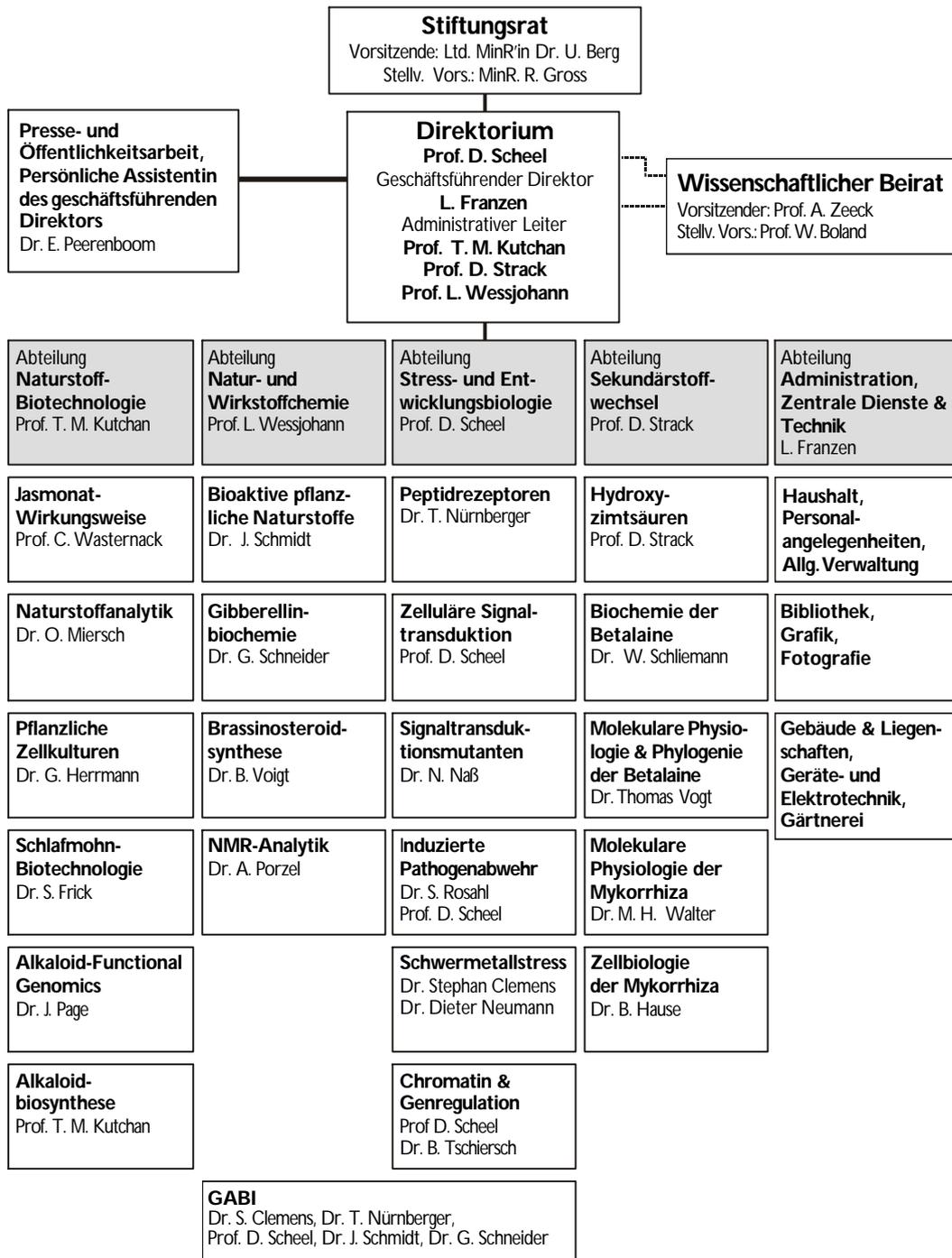
### Mitarbeiter des IPB in speziellen Funktionen

<b>Arbeitssicherheit</b> (Sicherheitsingenieur)	Dr. Hans-Jürgen Steudte
<b>Biologische Sicherheit</b>	Dr. Sabine Rosahl
<b>Datenschutz</b>	Dr. Willibald Schliemann
<b>Energie</b>	Hans-Günter König
<b>Gleichstellungsbeauftragte</b>	Christel Rülke
<b>Presse- und Öffentlichkeitsarbeit</b>	Dr. Ellen Peerenboom
<b>Projektleiter GenTG</b>	Prof. Dierk Scheel, Prof. Claus Wasternack
<b>Schwerbehindertenbeauftragte</b>	Dr. Gabriele Herrmann
<b>Strahlenschutz</b>	Dr. Robert Kramell, Dr. Thorsten Nürnberger
<b>Sicherheitsbeauftragte</b>	Dr. Brunhilde Voigt Eberhard Warkus

### Mitglieder des Personalrats

<b>Vorsitzende</b>	Dr. Andrea Porzel
<b>Stellvertretender Vorsitzende</b>	Detlef Dieckmeyer
<b>Weitere Mitglieder</b>	Dr. Alfred Baumert, Silvia Wegner, Barbara Wolf

## Abteilungsstruktur des IPB





## Abteilung Naturstoff-Biotechnologie

Das Forschungsthema der Abteilung Naturstoff-Biotechnologie ist die Molekulargenetik von Naturstoff-Biosynthesen in Arzneipflanzen. Dazu besitzt das IPB eine Zellkultur-Sammlung (ca. 300 Arten) und eine Arzneipflanzensammlung. Im Mittelpunkt der Arbeiten stehen Alkaloide und ihr Stoffwechsel. Diese stickstoffhaltigen, zumeist heterozyklischen Verbindungen haben nicht nur als Arzneimittel pharmazeutische Bedeutung erlangt. Auch aus toxikologischer Sicht sind sie überaus interessant, gehören doch die stärksten natürlichen Giftstoffe gerade zu dieser Substanzklasse. In den meisten Fällen werden auch heute noch pflanzliche Alkaloide aus Arzneipflanzen isoliert und nicht synthetisiert. Das liegt an ihren teilweise überaus komplizierten Strukturen, die nicht chemisch herstellbar oder wirtschaftlich nur unrentabel zu erhalten sind.

Eine etablierte analytisch/synthetische Chemie und Enzymologie der Aufklärung dieser Biosynthesewege vervollständigt das breite Spektrum an molekulargenetischen Methoden in unserer Alkaloidforschung. Zusätzlich sollen ausgewählte Arzneipflanzen genetisch modifiziert werden, um gentechnisch veränderte Varietäten mit maßgeschneiderten Alkaloidprofilen für die Anwendung in Industrie und Forschung herzustellen. Forschungsschwerpunkte auf diesem Gebiet sind:

- Die Entwicklung eines Transformationssystems für Schlafmohn;
- Erarbeitung von „Gene-Silencing“-Methoden zur Untersuchung des Alkaloid-Stoffwechsels mittels viraler Vektoren.

Ferner analysieren wir die Funktion von Jasmonaten und Octadecanoiden in pflanzlichen Zellkulturen und ganzen Pflanzen. Diese Stoffe sind als Signale der Abwehrreaktionen auf Stress und pflanzlicher Entwicklungsprozesse erkannt worden. Nach erfolgreicher Klonierung wichtiger Enzyme der Jasmonat-Biosynthese wird nun durch molekulargenetische Methoden die Fähigkeit der Pflanze zur Jasmonatbildung erhöht oder blockiert. Dies geschieht konstitutiv, induzierbar und gewebsspezifisch und erlaubt Aussagen zur Funktion dieser Signale in der Stressabwehr und Entwicklung (Blütenentwicklung, Keimung) der Pflanze. Dies eröffnet neue biotechnologische Nutzungen.

## Jasmonat-Wirkungsweise

*Gruppenleiter: Claus Wasternack*

*Postdoktorand/in: Helmut Maucher, Irene Stenzel*

*Doktorand: Tobias Kurz (seit 01.06.)*

*Diplomandinnen: Ulrike Schubert, Diana Schmidt, Claudia Kutter*

*Technische Assistentin: Birgit Ortel*

Jasmonate und ihre Vorstufen, die Octadecanoide, sind als Signale von Abwehrreaktionen und von Entwicklungsprozessen der Pflanzen erkannt worden. Die funktionelle Analyse der Wirkungsweise dieser Stoffgruppe steht im Mittelpunkt der Arbeiten unserer Arbeitsgruppe. Hierzu stehen molekular-genetische Methoden im Vordergrund, während die Fragen der Jasmonatanalytik mit der Arbeitsgruppe „Naturstoffanalytik“ (Otto Miersch) und der zellbiologischen Analysen mit der Arbeitsgruppe Zellbiologie der Mykorrhizza“ (Bettina Hause) der Abteilung „Sekundärstoffwechsel“ bearbeitet werden.

Im vergangenen Jahr konnten die Arbeiten zur Klonierung und Charakterisierung von zwei essenziellen Enzymen der Jasmonat-Biosynthese, der Allenoxidsynthase (AOS) und Allenoxidcyclase (AOC) abgeschlossen und zur biotechnologischen Nutzung (Patent 10004468-9, Lizenzvertrag mit der Fa. Firmenich, Genf) überführt werden. Die Daten zur chloroplastidär lokalisierten AOS lieferten neue Erklärungen zur Vielfalt der Lipidperoxidations-Produkte aus Blättern. Die Analyse der ebenfalls in den Chloroplasten lokalisierten AOC ergab neue Erkenntnisse zur Regulation der Jasmonat-Biosynthese und zur Verstärkung von Abwehrreaktionen der Pflanze. Hier wurde der Nachweis der spezifischen Expression, Akkumulation und Funktion der AOC in den Leitbündeln ein Schlüssel zum Verständnis der Wundreaktion und anderen Stressreaktionen der Pflanze (Tomate, Tabak). Ansätze mit gentechnisch veränderten Pflanzen, die die AOC konstitutiv überexpressieren bzw. deren AOC blockiert ist, lieferten eine funktionale Beweisführung für den Mechanismus der Wundreaktion in Pflanzen.

Einen völlig neuen Ansatz zur Rolle von Jasmonaten in der Entwicklung ergab die Beobachtungen, dass in den Blütenorganen spezifische Mengenverhältnisse der Jasmonate und Octadecanoide existieren und die AOC besonders in den Samenanlagen junger Blüten vorkommt und aktiv ist. Deshalb stehen im kommenden Jahr Fragen zur Rolle von Jasmonaten in Sink-Source-Beziehungen und in der Blütenentwicklung im Vordergrund. Beides wird durch transgene „Gain of function“- und „Loss of function“-Experimente einschliesslich Mutantensuche in *Arabidopsis thaliana* bearbeitet.

Alle Untersuchungen der Arbeitsgruppe sind in enger Kooperation mit den oben erwähnten Arbeitsgruppen des IPB sowie den Gruppen von Ivo Feußner und Udo Conrad (IPK Gatersleben) entstanden. Internationale Kooperation beziehen sich auf die Rolle von Jasmonaten in anderen Systemen und Interaktionen zwischen Pflanzen und ihrer Umwelt.

## Naturstoffanalytik

Gruppenleiter: Otto Miersch

Wissenschaftlicher Mitarbeiter: Robert Kramell

Gastwissenschaftlerin: Satinder Gidda (05.04. – 04.06.)

Technische Assistentinnen: Monika Krohn, Sabine Vorkefeld

**Die Analytik von Octadecanoiden und Jasmonaten ist ein wesentlicher Baustein bei der Untersuchung von Biosynthese und Metabolismus der Jasmonate. Gentechnisch veränderte Pflanzen sollen zur Klärung der Rolle von Jasmonaten in Entwicklungs- und Stressprozessen beitragen.**

Die Untersuchungen zum Vorkommen von 12-Oxophytodiensäure, Jasmonsäure, Jasmonsäure-Isoleucinkonjugat und hydroxylierter Jasmonsäuren in ausgewählten Organen der Tomatenpflanze wurden im Zusammenhang mit der Regulation des Jasmonsäure-Biosyntheseenzym *Allenoxidcyclase* fortgesetzt. Im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 363 der DFG und in enger Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe „Jasmonat-Wirkungsweise“ (Claus Was-ternack) wurde die transgene Modulation der Jasmonat- und Octadecanoidmenge zur Aufklärung ihrer Bedeutung bei Stresseinwirkung, bei entwicklungsabhängigen Prozessen sowie unter Applikation entwicklungsbeeinflussender Substanzen analysiert.

Die Arbeiten zur Jasmonat-Signalabschaltung erfolgten in enger Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Luc Varin an der Concordia University of Montreal, Kanada. Eine aus *Arabidopsis thaliana* isolierte Sulfotransferase (Atst) wurde als spezifisch für 12-Hydroxyjasmonsäure charakterisiert. Sie scheint bedeutend für die Regulation des Jasmonatmetabolismus zu sein. Das Enzymprodukt 12-Hydroxysulfonyloxyjasmonsäure konnte im Wildtyp und in transgenen Pflanzen von *Arabidopsis* und Tabak erstmals nachgewiesen werden (Kooperation mit Arbeitsgruppe „Bioaktive Pflanzliche Naturstoffe“, Jürgen Schmidt). Physiologische Versuche mit Atst-überexpremierenden Pflanzen wurden begonnen.

Neue JA-Konjugate (Dopamintyp) wurden aus der Ackerbohne isoliert und ihre Struktur mittels GC-MS bzw. LC-MS (Zusammenarbeit mit mit Arbeitsgruppe „Bioaktive Pflanzliche Naturstoffe“ Jürgen Schmidt) charakterisiert. Die Bildung derartiger Jasmonate konnte mit verschiedenen Enzympräparaten (Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe „Biochemie der Betalaine, Willibald Schliemann) *in vitro* nachgewiesen werden. JA-Konjugate wurden durch Applikation an Zellkulturen von *Eschscholzia californica* hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität (Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe „Pflanzliche Zellkulturen“, Gabriele Herrmann) getestet.

Die stoffliche Bearbeitung der Jasmonate, ihrer Vorstufen und Metabolite beinhaltet die chemische Synthese oder mikrobielle Gewinnung von Substraten, Testjasmonaten, markierten Präkursoren und Standards sowie die Nutzung vorhandener bzw. adaptierter Analytik (HPLC, GC, GC-MS, LC-MS).

## Pflanzliche Zellkulturen

Gruppenleiterin: Gabriele Herrmann

Technische Assistentinnen: Domenika Arndt, Ingeborg Reeh,

Gastwissenschaftlerinnen: Gülaçti Topcu (02. 04.–02.07.), Arusyak Abrahamyan (04. 07–31. 12.)

**Hauptaufgabe dieser Gruppe ist die Erhaltung und Fortführung einer wertvollen Zellkultur-Sammlung, die zur Zeit aus Zellkulturen von insgesamt etwa 250 Pflanzenarten besteht, von denen 40 als Suspensionen und alle anderen als Kalluskulturen wachsen. Ferner arbeitet die Gruppe an dem im August 2000 genehmigten DFG-Projekt: „Funktionsbestimmung von Genen in pflanzlichen Zellkulturen unter Verwendung viraler Vektoren“. Es soll versucht werden, molekulargenetische Methoden zur Untersuchung pflanzlicher Biosynthesewege und deren Regulation zu nutzen. Dabei sollten cDNA-basierende pflanzliche Virusvektoren als Träger bestimmter genetischer Informationen zum Einsatz gelangen. Das ferne Ziel solcher Untersuchungen ist die metabolische Veränderung von Arzneimittelpflanzen oder pflanzlichen Zellkulturen.**

Die in der Zellkultur-Sammlung enthaltenen Spezies gehören insgesamt 43 verschiedenen Pflanzenfamilien an und stammen aus unterschiedlichsten geographischen Verbreitungsgebieten. Einen Schwerpunkt bilden Arten mit interessanten Inhaltsstoffen, wie z. B. Alkaloide. Die Erhaltung der umfangreichen Zellkultur-Sammlung ist eine reine Serviceleistung für die Mitarbeiter des IPB sowie für Gäste und interessierte Wissenschaftler anderer Einrichtungen. Zu den Aufgaben unsere Gruppe gehört auch die Einarbeitung von Gästen in Zellkultur-Methoden und Hilfe beim Anlegen neuer Kulturen.

Für das DFG-Projekt wurde mit wichtigen Vorversuchen begonnen. Um Bedingungen für die Infektion von Zellkulturen mit viralen Vektoren, die bestimmte cDNA-Klone zur Veränderung von Biosynthesewegen enthalten, ausarbeiten zu können, müssen entsprechende Kulturen ausgewählt sowie Methoden zur Protoplastierung und Transfektion erprobt werden. Zellkulturen, die interessante und farbige Sekundärmetabolite produzieren, sind z. B. *Eschscholzia californica* (Sanguinarin), *Berberis stolonifera* (Berberin) oder *Morinda citrifolia* (Anthrachinone). Wir begannen mit einer Zellkultur von *Eschscholzia californica*, die das rot fluoreszierende Alkaloid Sanguinarin produziert. Mittels eines nun gut erprobten Protokolls können gereinigte Protoplasten mit guter Lebensfähigkeit isoliert werden. Allerdings ist es bisher noch nicht gelungen, Protoplasten zu einer neuen Kultur zu regenerieren. Ein viraler Vektor, der von einem Tabakmosaikvirus abstammt, wurde uns von unserem Kooperationspartner Greg Pogue (Large Scale Biology, Vacaville, CA, USA) zur Verfügung gestellt. Dieser Vektor enthält das Gen für GFP („green-fluorescent protein“) und lässt sich somit nach der Transfektion in den Protoplasten unkompliziert mittels UV-Mikroskopie nachweisen. Die ersten Experimente zur Transfektion werden zur Zeit durchgeführt. Im weiteren Verlauf soll eine „Antisense“-cDNA-Bibliothek erstellt werden. „Antisense“-Klone, die den normalen Biosyntheseweg unterbrechen, sollten dann einen Farbverlust der Kultur induzieren.

## Schlafmohn-Biotechnologie

Gruppenleiterin: Susanne Frick

Technische Assistentinnen: Sandra Barth, Anja Zeuner (seit 01.10.)

Schlafmohn (*Papaver somniferum* L., Papaveraceae) ist eine der wichtigsten Arzneipflanzen und bildet nach wie vor das Ausgangsmaterial für eine Vielzahl von therapeutisch wichtigen Alkaloiden. Viele dieser Substanzen sind pharmakologisch aktiv und verursachen verschiedenartige physiologische Wirkungen bei Mensch und Tier. Die Verwendung alkaloidhaltiger Pflanzen als Farbstoffe, Gewürze, Medikamente, Drogen oder Gifte kann fast bis zum Beginn menschlicher Zivilisation zurück verfolgt werden. Alkaloide besitzen als Sekundärmetabolite eine enorme strukturelle Vielfalt und bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt konnten mehr als 12.000 natürlich vorkommende Alkaloide isoliert und ihre Strukturen aufgeklärt werden. Die größte und mannigfaltigste Alkaloidgruppe sind die Benzylisochinoline mit ungefähr 2.500 Vertretern. Zwei wichtige Substanzen dieser Gruppe sind die Morphinan-Alkaloide Morphin und Codein, die im Schlafmohn vorkommen. Beide Alkaloide sind wichtige Analgetika, Codein findet daneben noch Verwendung als Antitussivum.

Während der letzten Jahre wurde die Morphin-Biosynthese an der Universität München in der Arbeitsgruppe von Prof. Meinhard Zenk umfassend untersucht. Es konnten mehrere biosynthetische Enzyme charakterisiert und deren Gene kloniert werden. Diese cDNAs bilden nun die Grundlagen zur Transformation von *Papaver somniferum*. Die Entwicklung von Transformationssystemen für Schlafmohn steht im Mittelpunkt dieser Arbeitsgruppe.

Vor kurzem konnten wir unser erstes Transformationssystem etablieren. Alle transgenen Zelllinien haben begonnen, somatische Embryonen zu regenerieren. Wir ernteten mittlerweile die ersten Samen. Erste Untersuchungen der transformierten Pflanzen und ihrer Alkaloidprofile wurden begonnen.

Zukünftig verfolgen wir mit diesem Projekt zwei verschiedene Ziele: Einerseits sollen die transformierten Pflanzen dazu verwendet werden, die Regulation und ökologische Funktion der Morphinan-Alkaloide zu untersuchen. Andererseits wollen wir den Alkaloidmetabolismus in kommerziellen Varietäten von Schlafmohn verändern und gezielt modifizieren. So könnten entweder Mohnsorten mit maßgeschneiderten Alkaloidprofilen oder ohne Alkaloide produziert werden.

## Alkaloid-Functional Genomics

Gruppenleiter: Jonathan Page; Doktoranden/in: Massimo De Carlo (bis 31. 08.), Supachai Samapitto (seit 04.05.), Ursula Schäfer (seit 01.12.); Technische Assistentinnen: Verona Dietl (seit 01.11.), Annegret Flier (seit 01.03.)

Viele sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe dienen als Wirkstoffe für Medikamente, als Geschmacks- und Geruchsstoffe sowie als Chemikalien für vielfältige Zwecke. Mit „Functional Genomics“-Methoden versuchen wir, unbekannte Gene für Enzyme und regulatorische Faktoren des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels aufzuspüren. Zur Zeit konzentrieren wir uns auf die Biosynthese von Tropan-Alkaloiden in Nachtschattengewächsen (Solanaceae) und auf Cannabinoide in Hanf (*Cannabis sativa*). Beide Klassen dieser Naturstoffe sind von pharmazeutischer Relevanz und daher für die biotechnologische Forschung interessant.

### Virus-vermitteltes Aufspüren unbekannter Gene

- Zur Untersuchung des Alkaloid-Stoffwechsels entwickeln wir „Gene-Silencing“-Methoden mittels viraler Vektoren.
- Wir sind an der Identifizierung und Charakterisierung von Genen der Tropan-Biosynthese interessiert.

Zielgerichtete genetische Methoden, die sich Pflanzenviren zu Nutze machen, versprechen für beide Projekte eine beschleunigte Entdeckung bislang unbekannter Gene und deren Klonierung, die mit herkömmlichen Methoden nicht möglich wäre. Dabei verwenden wir virale Vektoren, die vom Tabakmosaik-Virus (TMV) abgeleitet sind, denn TMV hat ein breites Wirtsspektrum in Nachtschattengewächsen, die interessante Alkaloide bilden. Ferner nutzen wir andere virale Vektoren, um den Alkaloidstoffwechsel verschiedener Tabak-Arten (*Nicotiana spec.*) und von Bilsenkraut (*Hyoscyamus spec.*) zu beeinflussen. Wir versuchen zuerst, die Putrescin-N-Methyltransferase (PMT), ein Enzym, welches an der Nikotin-Biosynthese beteiligt ist, stillzulegen („gene silencing“). Zunächst wurde dazu eine PMT-Teil-cDNA aus *Nicotiana benthamiana* kloniert. Jetzt testen wir den Effekt von „sense“- und „antisense“-TMV-PMT-Vektor-Konstrukten auf den Nikotinlevel und die PMT-Transkription. Spätere Arbeiten werden sich auf die Klonierung bislang unbekannter Gene konzentrieren. Hierzu benutzen wir in virale Vektoren klonierte cDNA-Banken.

### „Functional Genomic“-Ansätze zur Klonierung von Enzymen der Cannabinoid-Synthese aus *Cannabis sativa*

Wir entwickelten eine zweifache Strategie, um Gene der Cannabinoid-Biosynthese zu klonieren. Die erste Methode basiert auf Homologien von Enzymen der Cannabinoid-Biosynthese zu bereits bekannten Enzymen. Diese Methode lieferte mögliche cDNAs für die ersten beiden Enzyme der Cannabinoid-Biosynthese, die Olivetolsäure-Synthase und die Olivetolat-Geranyltransferase. Zusätzlich wurde ein EST-Projekt gestartet, mit dem Ziel, Trichom-spezifische cDNAs zu sequenzieren, da in Trichomen die entsprechenden Gene der Cannabinoid-Biosynthese stark exprimiert werden.

## Alkaloid-Biosynthese

Gruppenleiterin: Toni M. Kutchan

Postdoktorand: Jörg Ziegler

Doktoranden/in: Torsten Grothe, Anan Ounarooon, Marion Weid (seit 01. 12.)

Technische Assistentin: Silvia Wegener

**Alkaloid-haltige Pflanzen sind ein Teil der ursprünglichen 'Materia medica' der Menschheit. Eines der am häufigsten gebräuchlichen als Arzneimittel verwendeten Alkaloide ist das antitussiv und analgetisch wirksame Codein aus Schlafmohn (*Papaver somniferum* L.). Diese Pflanze produziert mehr als 80 verschiedene Alkaloide und ist damit gegenwärtig eine der wichtigsten erneuerbaren Ressourcen für pharmazeutische verwendete Alkaloide. Die Schlafmohn-Alkaloide sind alle von der Aminosäure L-Tyrosin abgeleitet und besitzen das Tetrahydrobenzyliso-chinolin-Alkaloid (S)-Retikulin als gemeinsames Intermediat. Zusätzlich zu dem narkotisch-analgetisch wirkenden Alkaloid Morphin bildet diese Pflanze auch das Benzo[c]phenanthridin-Alkaloid Sanguinarin. Benzo[c]phenanthridine besitzen antimikrobielle Eigenschaften. Man hält sie für einen Teil des chemischen Abwehrsystems des Schlafmohns.**

Das Ziel der Arbeitsgruppe ist es, die Alkaloid-Biosynthese, ihre Gene und ihre Regulation auf molekularbiologischer Ebene zu verstehen. Wir setzen unsere Arbeit fort, cDNAs zu isolieren, die für Enzyme der Morphin-, Sanguinarin- und Narkotin-Biosynthese in Schlafmohn kodieren, und sie funktionell zu exprimieren. Die Gene, die bis jetzt isoliert und deren cDNAs erstmals charakterisiert werden konnten, beinhalten:

- die Norcoclaurin-6-O-Methyltransferase, die (S)-N-Methylcoclaurin-3'-Hydroxylase und die Cytochrom P450-Reduktase, die sowohl an der Sanguinarin- als auch der Morphin-Biosynthese beteiligt sind,
- das Berberin-Brückenzym, das für die Sanguinarin-Biosynthese charakteristisch ist,
- die Salutaridinol-7-O-Acetyltransferase und die Codeinon-Reduktase, die für die Morphin-Biosynthese spezifisch sind,
- die Retikulin-3'-O-Methyltransferase, die vermutlich für die Narkotin- und Papaverin-Biosynthese spezifisch ist.

Die cDNAs werden verwendet, um *in situ*-Hybridisierungs-Experimente an Gewebeschnitten von Schlafmohn durchzuführen. Ferner nutzen wir die cDNAs, um die einzelnen Enzyme entweder in Bakterien- oder in Insektenzellen heterolog zu exprimieren und nach Reinigung als Antigene zur Produktion von Antikörpern zu verwenden. Letztere sollen zur Immunlokalisation der Proteine in Gewebeschnitten verwendet werden. Die Arbeitsgruppe „Schlafmohn-Biotechnologie“ (Susanne Frick) transformiert die neu isolierten Klone außerdem in Schlafmohn. Wir haben mit einer cDNA-AFLP-Analyse begonnen, die den Wildtyp mit einer Morphin-freien Mutante von Schlafmohn vergleicht. Unterschiedlich exprimierte Transkripte werden momentan identifiziert.

## Publikationen

De-Eknamkul, W., Suttipanta, N. & Kutchan, T.M. Purification and characterization of deacetylpecoside synthase from *Alangium lamarckii* Thw. *Phytochemistry* **55**, 177–181.

Haider, G., von Schrader, T., Fülllein, M., Blechert, S. & Kutchan, T.M. Structure-activity relationships of synthetic analogs of jasmonic acid and coronatine on induction of benzo[c]phenanthridine alkaloid accumulation in *Eschscholzia californica* cell cultures. *Biol. Chem.* **381**, 741–748.

Hause, B., Stenzel, I., Miersch, O., Maucher, H., Kramell, R., Ziegler, J. & Wasternack, C. Tissue-specific oxylipin signature of tomato flower – The allene oxide cyclase is highly expressed in distinct flower organs and vascular bundles. *Plant J.* **24**, 113–126.

Huang, F.-C. & Kutchan, T.M. Distribution of morphinan and benzo[c]phenanthridine alkaloid gene transcript accumulation in *Papaver somniferum*. *Phytochemistry* **53**, 555–564.

Kramell, R., Miersch, O., Atzorn, R., Parthier, B. & Wasternack, C. Octadecanoid-derived alteration of gene expression and the 'oxylipin signature' in stressed barley leaves – implications for different signalling pathways. *Plant Physiol.* **123**, 177–186.

Maucher, H., Hause, B., Feussner, I., Ziegler, J. & Wasternack, C. Allene oxide synthases of barley (*Hordeum vulgare* cv. Salome) – tissue specific regulation in seedling development. *Plant J.* **21**, 199–213.

Miersch, O. & Wasternack, C. Octadecanoid and jasmonate signaling in tomato leaves (*Lycopersicon esculentum* Mill.): Endogenous jasmonates do not induce jasmonate biosynthesis. *Biol. Chem.* **381**, 715–722.

Warzecha, H., Gerasimenko, I., Kutchan, T.M. & Stöckigt, J. Molecular cloning and functional bacterial expression of a plant glucosidase specifically involved in alkaloid biosynthesis. *Phytochemistry* **54**, 657–666.

Wasternack, C. & Hause, B. Jasmonate – Signale zur Stressabwehr und Entwicklung in Pflanzen. *Biologie in unserer Zeit* **30**, 312–319.

Ziegler, J., Stenzel, I., Hause, B., Maucher, H., Hamberg, M., Grimm, M., Ganai, M. & Wasternack, C. Molecular cloning of allene oxide cyclase: The enzyme establishing the stereochemistry of octadecanoids and jasmonates. *J. Biol. Chem.* **275**, 19132–19138.

## Buchbeiträge

Croteau, R., Kutchan, T.M. & Lewis, N.G. Secondary metabolites. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R., eds.), American Society of Plant Physiologists (Rockville, USA), 2000 pp. 1250–1318.

Kutchan, T.M. The biotechnological exploitation of medicinal plants. In: *Ernst Schering Research Foundation – Workshop 32. The Role of Natural Products in*

*Drug Discovery*. (Mulzer, J. & Bohlmann, R., eds.), Springer-Verlag (Berlin, Heidelberg), 2000, pp. 269–285.

## **Patent**

Ziegler, J., Stenzel, I., Hause, B., Wasternack, C. Allenoxidcyclase-Gen und dessen Verwendung zum Herstellen von Jasmonsäuren. Deutsches Patent 10004468, eingereicht.



## Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie

Im November 2000 übernahm Prof. Ludger Wessjohann als neuer Leiter die bisherige Abteilung für Naturstoffchemie von Prof. Günther Adam bzw. dem kommissarischen Leiter Gernot Schneider. Mit seinem Eintritt wurde die Abteilung in „Natur- und Wirkstoffchemie“ (NWC) umbenannt. Der neue Name soll die geplante Änderung und Erweiterung des Aktivitätsspektrums widerspiegeln, welches neben der Isolierung pflanzlicher Naturstoffe verstärkt neue Aspekte in den Bereichen Methodenentwicklung, Naturstoffsynthese, Metabolismusstudien und Biokatalyse beinhaltet sowie in einer späteren Stufe "molecular modelling" und das "screening" von Wirkstoffen integrieren soll.

Ausgangspunkt der Forschungsarbeiten sind Pflanzen und Pilze als eine ergiebige Quelle für vielfältig nutzbare Naturstoffe und Enzyme. Die neuen Arbeiten der Abteilung werden sich auf die Isolierung, Charakterisierung, Modifizierung und Synthese dieser Inhaltsstoffe konzentrieren, um ihre Funktionen im natürlichen System zu verstehen. Ergänzt werden diese Arbeiten durch biomimetische Synthesen, die Entwicklung neuer Methoden und *de novo*-Synthesen sowie kombinatorisch-chemische Arbeiten, die zu einer höheren strukturellen Variationsbreite chemischer Substanzen führen sollen. In naher Zukunft werden Chemo- und Bioinformatik und Modelling sowie geeignete Biotests (screening) zum besseren Design und Verständnis der Wirkstoffe bzw. -mechanismen beitragen. Die gewonnen Erkenntnisse sollen u. a. dazu dienen, Sekundärstoffe als Leitstrukturen für die Entwicklung neuer Medikamente oder Kosmetika und Enzyme als Katalysatoren für umweltfreundliche oder schwierige chemische Reaktionen zu nutzen. Im Jahr 2001 werden folgende neue Arbeitsgruppen etabliert:

- Pflanzen- und Pilzinhaltsstoffe  
(Norbert Arnold, Andrea Porzel, Jürgen Schmidt)
- Biokatalyse und Moleküldesign  
(Prof. Ludger Wessjohann, NN)
- Synthese und Methodenentwicklung  
(Prof. Ludger Wessjohann, Brunhilde Voigt, NN)
- Instrumentelle Analytik und Screening  
(Jürgen Schmidt, Andrea Porzel, Norbert Arnold)

Das abteilungsübergreifende Projekt GABI (Gernot Schneider) wird in seiner bisherigen Form auch in der neuen Abteilung integriert bleiben.

Die neue Ausrichtung zeigt sich auch darin, dass ein Teil der Abteilung Ende des Jahres aus Haus A in sanierte neue Räume in Haus C umziehen konnte. Mit dem Umzug und den vom Land und dem IPB im Rahmen der Berufung bereitgestellten Mitteln begannen wir gleichzeitig mit einer Erneuerung der Laborausstattung und Analytik. Wir planen die funktionale Erneuerung der Abteilung etwa 2003 abzuschließen. Es folgen die Berichte der bisherigen Arbeitsgruppen.

## Bioaktive pflanzliche Naturstoffe

Gruppenleiter: Jürgen Schmidt,

Postdoktoranden/in: Torsten Blitzke (bis 31. 05.), Katrin Franke, Fred Stevens (seit 01. 10.), Ernst Plaß (seit 01. 09.); Technische Assistentinnen: Christine Kuhnt, Monika Kummer, Martina Lerbs, Angela Schaks

Die Suche nach neuen Pflanzen- und Pilzinhaltsstoffen, die potentiell als Leitstrukturen für Pharmazeutika und Phytopharmaka in Frage kommen können, bildet einen Forschungsschwerpunkt der Arbeitsgruppe. Eine besondere Rolle spielen dabei Untersuchungen von endemisch vorkommenden Pflanzen aus dem Jemen. Die Entwicklung und Anwendung analytischer Methoden, insbesondere der GC-MS und LC-Elektrospray-MS/MS, steht ebenfalls im Zentrum der Arbeiten.

### Phytochemische Arbeiten

Aus *Dorstenia gigas* (Moraceae) wurden elf neue Furanocumarine, insbesondere mit oxygenierten Geranylketten, und ein Benzofuranderivat mittels hochauflösender MS und 2D-NMR-Analysen strukturell aufgeklärt. Eine Serie von Cardanolen wurde in *Rhus thyrsoiflora* (Anacardiaceae) nachgewiesen und konnte insbesondere durch GC-MS identifiziert werden. Diesen Stoffen wird potenziell eine kanzerostatische Wirkung zugeschrieben. Darüber hinaus wurden aus *Aloe saba-ea* (Aloeaceae) neben den bekannten Piperidinalkaloiden Coniin und Conicein das bislang als Naturstoff unbekannte *N,N*-Dimethylconiin und ein chloriertes Amid sowie aus *Commiphora socotrana* (Burseraceae) ein neues 5-Methylchromonglykosid isoliert. Eine phytochemische Untersuchung von *Eulophia petersii* (Orchidaceae) führte zur Identifizierung von strukturell bekannten Phenanthren-derivaten, *Jatropha uncostata* (Euphorbiaceae) enthält als Hauptkomponenten das Cumarin Fraxetin und das Flavonoid Luteolin (Kooperation mit der Arbeitsgruppe „NMR-Analytik“, Andrea Porzel; Mohamed Masaoud, University of Sanáa, Sanáa, Jemen).

### Analytische Arbeiten

Wir setzen LC-ES-MS/MS-Techniken auch in Zusammenarbeit mit anderen Abteilungen des IPB und externen Arbeitskreisen erfolgreich ein. Die im Spurenbereich vorkommende 12-Hydroxysulfonyloxyjasmonsäure wurde mittels CIDMS-Technik im „selected ion monitoring“-Modus in *Arabidopsis thaliana* und *Nicotiana tabacum* identifiziert (Arbeitsgruppe „Naturstoffanalytik“, Otto Miersch; Luc Varin, Concordia University Montreal, Kanada). Auch zur Strukturermittlung von JA-Konjugaten des Dopamintyps aus *Vicia faba* (Arbeitsgruppe „Naturstoffanalytik“, Robert Kramell) trugen die Electrospray-CID-Daten entscheidend bei. Darüber hinaus wurde die Struktur von Betalainen und anderer Sekundärstoffe u. a. mit MS/MS-Techniken charakterisiert (Abteilung „Sekundärstoffwechsel“, Willibald Schliemann, Dieter Strack). In Kooperation mit Kathrin Schrick und Gerd Jürgens (Universität Tübingen) bestimmten wir 8,14-ungesättigte Phytosterole als Marker für *fk*-Mutationen in der Embryogenese von *Arabidopsis* mittels GC-MS. Weiterhin führten wir massenspektrometrische Messungen (hochauflösende EI-MS, GC-MS) für alle Abteilungen des IPB durch.

## Brassinosteroidsynthese

Gruppenleiterin: Brunhilde Voigt

Wissenschaftliche Mitarbeiterin: Adelheid Kolbe (bis 31. 10. Gastrecht)

Technische Assistentin: Gisela Schmidt

**Die Synthese von neuen Brassinosteroiden schafft die substanzielle Grundlage von Standardverbindungen für das Auffinden neuer Strukturtypen in Pflanzen und Insekten, für Metabolismus-, Struktur-Wirkungs- und molekularbiologische Untersuchungen sowie für „molecular modelling“-Studien.**

In Fortführung der Untersuchungen zum Metabolismus von Brassinosteroiden in der Küchenschabe *Periplaneta americana* wurden weitere neue Brassinosteroid-Analoga wie 2,3,24-Trisepi-castasteron, 2,3,5,24-Tetraepi-castasteron, 2,3,22,23,24-Pentaepi-castasteron und 2,3,5,22,23,24-Hexaepi-castasteron synthetisiert. Dabei wurden verschiedene Synthesestrategien wie Woodward-Prevost-Dihydroxylierungen, Sharpless-Dihydroxylierungen und Iodhydrin-Zwischenstufen angewandt und die Ausbeuten der gewünschten Zielverbindungen optimiert. Alle synthetisierten Verbindungen wurden sowohl auf ihre Phytohormonaktivität als auch auf ihre agonistische und antagonistische Wirkung als Insektenhäutungshormone getestet. Die Ergebnisse werden in Zusammenarbeit mit Laurence Dinan, University of Exeter, Großbritannien, publiziert.

In Zusammenarbeit mit Guy Smagghe, Universität Ghent, Belgien, wurde die Wirkung von 24-epi-Brassinolid und 24-epi-Castasteron am Baumwoll-Blattwurm *Spodoptera littoralis* untersucht. Wir fanden, dass diese Verbindungen zu einer hohen Mortalitätsrate führen, wenn sie spät im letzten Larven-Stadium injiziert werden. Für beide getesteten Brassinosteroide wurde erstmalig eine signifikante antagonistische Aktivität nachgewiesen. Damit wurde mit *Spodoptera littoralis* ein System zur Untersuchung von Hormon-Rezeptor-Wechselwirkungen gefunden (gemeinsame Publikation im Druck).

Im Arbeitskreis von Klaus Richter, Sächsische Akademie der Wissenschaften, Jena, wurden neue Fütterungsversuche an der Küchenschabe *Periplaneta americana* mit den synthetisierten Brassinosteroid-Derivaten 24-epi-Teasteron und 24-epi-Typhasterol durchgeführt. Durch GC-MS-Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass beide Verbindungen in den Ovarien metabolisiert und als 3-Dehydro-Derivate eingebaut werden.

Die Untersuchungen zur Synthese heterodimerer Konjugate von Dexamethason mit den Phytohormonen 24-epi-Castasteron und Gibberellinsäure sowie von speziellen deuterierten Brassinosteroiden wurden abgeschlossen.

## Gibberellinbiochemie

Gruppenleiter: Gernot Schneider

Postdoktorandin: Petra Fuchs (bis 31. 10.)

Technische Assistentin: Gudrun Hahn

**Die in der Arbeitsgruppe durchgeführten Untersuchungen haben das Ziel, den Gibberellinhaushalt unter besonderer Berücksichtigung von Konjugationsprozessen mit relevanten pflanzlichen Entwicklungsphänomenen zu korrelieren.**

Nachdem durch vorangegangene Untersuchungen (siehe Berichte 1998 und 1999) mit der Fütterung einer Serie markierter Gibberelline an *Phaseolus*-Keimlinge die Bildung der entsprechenden Glucosylester (LC-MS-Analysen) als allgemeines metabolisches Prinzip bestätigt werden konnte, standen nun Arbeiten zum Nachweis des verbreiteten endogenen Vorkommens dieser Glucosylester-Konjugate von Gibberellinen im Vordergrund. Durch Einsatz von LC-Tandem-MS-Techniken konnte so in Gerstenkaryopsen cv. Himalaya erstmals endogener GA<sub>20</sub>-glucosylester nachgewiesen werden. In Samen von *Phaseolus coccineus* wurden neben GA<sub>20</sub>-glucosylester auch GA<sub>1</sub>-glucosylester und GA<sub>5</sub>-glucosylester gefunden.

Durch eine Reihe von Versuchen mit markierten Gibberellinderivaten war in den vergangenen Jahren die Reversibilität der Konjugationsprozesse von Gibberellinen zu Glucosylestern und O-Glucosiden eindeutig bewiesen worden. Außer der Hydrolyse von Gibberellinkonjugaten waren weitere metabolische Veränderungen dieser Zuckerderivate bisher nicht bekannt. Mit synthetisiertem [17-D<sub>2</sub>]GA<sub>20</sub>-13-O-[6'-D<sub>2</sub>]glucosid sollte nun untersucht werden, ob auch intakte Gibberellin-O-glucoside der für freie Gibberelline bekannten Hydroxylierungssequenz ohne vorherige Hydrolyse der Glucosid-Bindung zugänglich sind. Nach Gabe von [17-D<sub>2</sub>]GA<sub>20</sub>-13-O-[6'-D<sub>2</sub>]glucosid an *Phaseolus*-Keimlinge zeigten LC-Tandem-MS-Analysen, dass auch doppelt markierte Glucoside neben einfach markiertem GA<sub>29</sub>-2-O-glucosid und GA<sub>8</sub>-2-O-glucosid gebildet worden waren. Es handelte sich hierbei um [17-D<sub>2</sub>]GA<sub>29</sub>-13-O-[6'-D<sub>2</sub>]glucosid, [17-D<sub>2</sub>]GA<sub>1</sub>-13-O-[6'-D<sub>2</sub>]glucosid und [17-D<sub>2</sub>]GA<sub>8</sub>-13-O-[6'-D<sub>2</sub>]glucosid. Die Struktur der Metabolite wurde durch GC-MS-Analyse der permethylierten [17-D<sub>2</sub>]GA<sub>1</sub>-13-O-[6'-D<sub>2</sub>]glucosid-Fraktion bestätigt. Damit konnte erstmals gezeigt werden, dass auch intakte Gibberellin-Konjugate metabolischen Veränderungen unterliegen und in das metabolische Netz der Gibberelline eingebunden sind.

Im Rahmen des Genom-Projektes GABI wurde für die Serien-Analyse sekundärer Inhaltsstoffe in *Arabidopsis*-Mutanten eine Methode zur Reinigung der Proben für anschließende LC- und LC-MS-Analysen entwickelt.

## NMR-Analytik

Gruppenleiterin: Andrea Porzel

Wissenschaftliche Mitarbeiter/in: Susanne Drosihn

(bis 31. 07. Gastrecht bis 31. 08.),

Alexander Buske (Gastrecht vom 01. 01.- 30.06. und Vertrag vom 01. 09. – 31. 12.)

Technische Assistentin: Maritta Süße

**Die NMR-Spektroskopie wurde eingesetzt, um die chemische Struktur biologisch aktiver Naturstoffe aus Pflanzen aufzuklären. Auch die chemisch-synthetischen Arbeiten der Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie wurden durch NMR-spektroskopische Untersuchungen und optische Spektroskopie unterstützt. Einen Schwerpunkt der Forschungsarbeiten bildeten weiterführende Untersuchungen zur Seitenketten-Konformation von Brassinosteroiden.**

Unsere Vermutung einer hochkonservierten Konformation der Brassinolid-Seitenkette wurde durch die Ergebnisse der NMR-Untersuchungen von Brassinolid und 24-Epibrassinolid in wässriger Lösung mit und ohne Mizellenbildner unterstützt. Die Löslichkeit von Brassinosteroiden in Wasser ist extrem gering (kleiner als 0,2 mmol/l). Durch Anwendung einer speziellen Lösungsmittel-Unterdrückungstechnik konnten wir erstmals NMR-Spektren von wässrigen Brassinosteroid-Lösungen aufnehmen. Bei Zugabe der Mizellenbildner in einer Konzentration, die jeweils höher als die kritische Mizellbildungs-Konzentration ist, erhöht sich die Löslichkeit der Brassinosteroide beträchtlich. Sie bleibt ähnlich gering wie in reinem Wasser, wenn die Mizellenbildner in einer geringen Konzentration zugesetzt werden. Brassinolid zeigt sowohl in reinem Wasser als auch in Gegenwart von Mizellen ein ähnliches Protonen-NMR-Spektrum wie in organischen Lösungsmitteln. Die Seitenketten-Konformation bleibt offenbar erhalten. Im Gegensatz dazu ändert sich für das weniger bioaktive 24-Epibrassinolid der Habitus der Protonen-NMR-Signale deutlich, wenn die wässrige Lösung Mizellen enthält. Die vicinalen Kopplungskonstanten und damit die entsprechenden Diederwinkel ändern sich in Richtung der Werte von Brassinolid. Wir interpretieren diesen Befund dahingehend, dass sich bei Wechselwirkung mit Mizellen die Vorzugs-Konformation der Steroidseitenkette von 24-Epibrassinolid der von Brassinolid annähert. Das NOE-Korrelationsmuster ist für Brassinolid in mizellarer Lösung das gleiche wie in organischen Lösungsmitteln, allerdings ist das Vorzeichen der NOESY-Korrelationssignale umgekehrt. Das wird offenbar verursacht durch eine erhöhte Korrelationszeit infolge Anlagerung der Brassinosteroid-Moleküle an oder in die Mizellenschicht. Das Verhalten der Brassinosteroide in mizellarer Lösung kann als Modell für ihre Wechselwirkung mit einem Rezeptor oder/und einer Membran angesehen werden und stützt unsere Annahme, dass die Lösungs-Konformation von Brassinolid in der aktiven Konformation im Wesentlichen erhalten bleibt.

## Publikationen

Blitzke, T., Porzel, A., Masaoud, M. & Schmidt, J. A chlorinated amide and piperidine alkaloids from *Aloe sabaea*. *Phytochemistry* **55**, 979–982.

Blitzke, T., Masaoud, M. & Schmidt, J. Constituents of *Eulophia petersii*. *Fitoterapia* **71**, 590–591.

Bringmann, G., Schlauer, J., Rischer, H., Wohlfarth, M., Mühlbacher, J., Buske, A., Porzel, A., Schmidt, J. & Adam, G. Revised structure of antidesmone, an unusual alkaloid from tropical *Antidesma* plants (Euphorbiaceae). *Tetrahedron* **56**, 3691–3695.

Franke, K., Kuhnt, C., Schmidt, J., Munoz, O. & Adam, G. 24-Epi-castasterone and phytosterols from seeds of *Maytenus boaria* (Celastraceae). *Rev. Latinoamer. Quim.* **27**, 111–115.

Irmiler, S., Schröder, G., St-Pierre, B., Crouch, N. P., Hotze, M., Schmidt, J., Strack, D., Matern, U. & Schröder, J. Indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*: new enzyme activities and identification of cytochrome P450 CYP72A1 as secologanin synthase. *Plant J.* **24**, 797–804.

Kobayashi, N., Schmidt, J., Nimtz, M., Wray, V. & Schliemann, W. Betalains from Christmas cactus. *Phytochemistry* **54**, 419–426.

Lien, Trinh Phuong, Porzel, A., Schmidt, J., Tran Van Sung & Adam, G. Chalconoids from *Fissistigma bracteolatum*. *Phytochemistry* **53**, 991–995.

Loc, Tran Van, Tran Van Sung, Kamperdick, C. & Adam, G. Synthesis of amino acid conjugates and further derivatives of 3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)ene-23,28-dioic acid. *J. prakt. Chem./Chemiker-Zeitung* **342**, 63–71.

Maier, W., Schmidt, J., Nimtz, M., Wray, V. & Strack, D. Secondary products in mycorrhizal tobacco and tomato roots. *Phytochemistry* **54**, 473–479.

Porzel, A., Trinh Phuong Lien, Schmidt, J., Drosihn, S., Wagner, C., Merzweiler, K., Tran Van Sung & Adam, G. Fissistigmatins AD: Novel type natural products with flavonoid-sesquiterpene hybrid structure from *Fissistigma bracteolatum*. *Tetrahedron* **56**, 865–872.

Schmidt, J., Richter, K., Voigt, B. & Adam, G. Metabolic transformation of the brassinosteroid 24-epi-castasterone by the cockroach *Periplaneta americana*. *Z. Naturforsch.* **55c**, 233–239.

Schneider, G., Koch, M., Fuchs, P. & Schmidt, J. Identification of metabolically formed glucosyl conjugates of [17-D<sub>2</sub>]GA<sub>34</sub>. *Phytochem. Anal.* **11**, 232–239.

Schrack, K., Mayer, U., Horrichs, A., Kuhnt, C., Bellini, C., Dangl, J., Schmidt, J. & Jürgens, G. FACKEL is a sterol G-14 reductase required for organized cell division and expansion in Arabidopsis embryogenesis. *Genes & Development* **14**, 1471–1484.

Wessjohann, L.A. Synthesis of natural-product-based compound libraries. *Cur. Opin. in Chem. Biol.* **4**, 303–309.

## Buchbeitrag

Schmidt, J., Spengler, B., Voigt, B. & Adam, G. Brassinosteroids – Structures, Analysis and Synthesis. In: *Evolution of Metabolic Pathways, Recent Advances in Phytochemistry* (Romeo, J.T., Ibrahim, R., Varin, L. & DeLuca, V. Eds.) Pergamon (Amsterdam, Niederlande) 2000, **34**, 385–407.

Wessjohann, L.A. & Scheid, G. Synthetic access to epothilones – Natural products with extraordinary anticancer activity. In: *Organic Synthesis Highlights IV* (Schmalz, H.-G. ed.), Wiley-VCH (Weinheim) 2000, pp. 251–267.

## Mitarbeiter der neuen Arbeitsgruppen

die 2000 ihre Arbeit am Institut aufnehmen, aber vorne nicht erwähnt sind:

**Tobias Herzfeld** (seit 01.09.)

**Lars Seipold** (seit 16.08.)

**Norbert Arnold** (seit 01.09.)



## Abteilungsübergreifendes Projekt: GABI

### Auf der Suche nach Signalen: Stress-induzierte Veränderungen in sekundären Metabolit-, Peptid- und Proteinmustern

(“GABI Project: Searching for Signals: Stress-induced changes in *Arabidopsis* secondary metabolite, peptide and protein patterns”)

*Gruppenleiter: Stephan Clemens, Thorsten Nürnberger, Jürgen Schmidt, Gernot Schneider, Dierk Scheel*

*Postdoktorandin/en: Edda von Röpenack-Lahaye (seit 01. 04.), Thomas Degenkolb (seit 01. 06.), Udo Roth (seit 01. 04.)*

*Technische Assistentin: Kerstin Körber (seit 01. 05.)*

**Ziel des Projektes ist es, die im Rahmen der „Functional Genomics“ verfolgte Analyse des Transcriptoms von *Arabidopsis thaliana* durch das umfassende „Profiling“ von Proteinen, Peptiden und Metaboliten zu ergänzen. Die gewonnenen Profile sollen für die Detektion früher, stress-induzierter Veränderungen genutzt werden, um so die Identifizierung bislang unbekannter Signalmoleküle und Stressantworten zu ermöglichen. Die Analytik soll anhand eines exemplarischen biotischen Stresses (Pathogenbefall) und eines abiotischen Stresses (Schwermetall-Belastung) aufgebaut werden und letztlich generell für die Untersuchung entwicklungs- oder anpassungsbedingter Veränderungen einsetzbar sein. Weiterhin sollen so Werkzeuge für die im Zuge der “Reverse Genetics” immer wichtiger werdende biochemische Charakterisierung von Mutanten entwickelt werden.**

Essentiell für das „Profiling“ ist die möglichst kontrollierte und reproduzierbare Anzucht von *Arabidopsis*. Um dies zu gewährleisten, ist ein steriles hydroponisches System etabliert worden. Ebenso wurden Methoden der Stressapplikation optimiert. Für die Sekundärstoff-Analytik sind verschiedene Extraktionsschemata getestet und evaluiert worden. Ein standardisiertes Verfahren ist inzwischen eingeführt. Es stützt sich auf GC-MS und LC-ESI-Q-TOF-MS. Das für letztere Methode verwendete Massenspektrometer (Q-STAR, Perkin-Elmer) ist aufgebaut und eingefahren worden. Auch die Peptidanalytik mit Hilfe dieses Gerätes befindet sich in der Erprobungsphase. Die Proteinanalytik stützt sich im wesentlichen auf zweidimensionale Gelelektrophorese und anschließende Identifikation der Proteine anhand des „Peptid-Fingerabdrucks“ mittels MALDI-TOF-MS. Verfahren der Proteinextraktion und -detektion wurden getestet und evaluiert. Inzwischen wird an der Übertragung der Methodik auf großformatige Gele gearbeitet. Die Bildanalyse wird derzeit optimiert. Ein MALDI-TOF-Massenspektrometer mit Roboter für die Probenauftragung wurde ausgewählt, aufgebaut und eingefahren. Die ersten Experimente drei parallelen Ansätze werden im Moment vermessen.

## Abteilung Stress- und Entwicklungsbiologie

Die pflanzliche Entwicklung ist, wenn auch genetisch determiniert, so doch in erheblichem Umfang durch biotische und abiotische Umweltfaktoren modulierbar. Dadurch ist gewährleistet, dass Entwicklungsprogramme an jeweilige Standort-Bedingungen angepasst beziehungsweise Schutz- und Abwehrreaktionen in Stresssituationen eingeleitet werden. Dies bietet bei der sessilen pflanzlichen Lebensweise einen Vorteil.

Die Grundlage dieser Prozesse bildet die Fähigkeit von Pflanzen, die entsprechenden Umweltfaktoren zu erkennen und über Signaltransduktions-Prozesse in veränderte Genexpressionsmuster zu übersetzen. Die Untersuchung der molekularen Mechanismen dieser Vorgänge steht im Mittelpunkt der Arbeiten der Abteilung „Stress- und Entwicklungsbiologie“.

Bei den biotischen Umweltfaktoren konzentrieren sich die Arbeiten insbesondere auf die Wechselwirkungen von Pathogenen mit Pflanzen, die für sie keine Wirtspflanzen darstellen. In diesen Fällen zeigt die Pflanze eine stabile Resistenz, die auf der Aktivierung einer aus vielen Komponenten bestehenden Abwehrreaktion beruht. Mehrere Arbeitsgruppen der Abteilung untersuchen Erkennungs-, Signaltransduktions- und Genaktivierungs-Prozesse, die bei der Wechselwirkung von Pflanzen und Pathogenen eine Rolle spielen.

Unter den abiotischen Umweltfaktoren werden schwerpunktmäßig Schwermetalle in ihrem Einfluss auf die pflanzliche Entwicklung untersucht. Die Arbeitsgruppe „Schwermetallstress“ studiert am Beispiel einer Schwermetall-akkumulierenden Modellpflanze die Struktur und Funktion von Genen, die für die Toleranz dieser Pflanze gegenüber ansonsten toxischen Schwermetall-Konzentrationen verantwortlich sind.

## Signalerkennung in Pflanze-Pathogen Interaktionen

Gruppenleiter: Thorsten Nürnberger

Postdoktoranden: Justin Lee, Frédéric Brunner

Doktorand/in: Annette Romanski, Guido Fellbrich

Praktikandin/Diplomandin: Yvonne Gäbler (19. 04.–14. 07.; seit (06. 11.))

Technische Assistentinnen: Jutta Elster, Christel Rülke

**Rezeptoren in der Plasmamembran von Pflanzenzellen erkennen spezifische Oberflächenstrukturen von Pathogenen und initiieren intrazelluläre Signalkaskaden, die letztlich zur Auslösung pflanzlicher Abwehrreaktionen führen. Gegenstand unserer Arbeiten ist die Aufklärung der endogenen Funktion solcher Signalmoleküle sowie die molekulare Wirkungsweise der pflanzlichen Perzeptionsmechanismen. Von uns untersuchte Zellwandproteine phytopathogener Spezies der Gattung *Phytophthora* bzw. das sekretorische bakterielle Protein Harpin<sub>PspH</sub> aus *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* induzieren die transkriptionelle Aktivierung von Abwehrgenen und die Phytoalexin-Biosynthese in Petersilie.**

Eine calciumabhängige Transglutaminase (TGase EC 2.3.2.13), die in der Zellwand von zehn Spezies der Gattung *Phytophthora* nachgewiesen wurde, dient als Erkennungsdeterminante für die Auslösung von nicht-kultivarspezifischen Abwehrreaktionen in Petersilie. Innerhalb einer oberflächenexponierten Loop-Struktur dieses Proteins konnte ein 13 Aminosäuren umfassendes evolutionär konserviertes Peptid (Pep-13) identifiziert werden. Pep-13 reicht für die rezeptorvermittelte Erkennung an der pflanzlichen Oberfläche aus. Mutationen im Pep-13-Motiv der TGase aus *P. sojae*, die die Elicitoraktivität des Proteins zerstörten oder stark reduzierten, hatten ebensolchen Einfluss auf dessen Enzymaktivität. Offensichtlich haben Pflanzen im Zuge der Evolution Rezeptoren für stabile und für die endogene Aktivität unverzichtbare Epitope mikrobieller Oberflächen erworben, die die molekulare Grundlage für dauerhafte Pathogenresistenz bilden könnten. Die evolutionäre Stabilität nicht-kultivarspezifischer pflanzlicher Pathogenresistenz lässt sich außerdem mit der Existenz mehrerer Pflanzenrezeptoren für verschiedene Strukturmerkmale von Pathogenen erklären. Ein 24-kD-Protein aus der Zellwand verschiedener *Phytophthora*-spezies induziert Abwehrreaktionen in Petersilie in ähnlicher Weise wie Pep-13. Diese Aktivierung wird jedoch nicht durch den Pep-13-Rezeptor, ein 100-kD-Protein, sondern durch ein separates Perzeptionssystem vermittelt. Beide Elicitoren lösen einen raschen Anstieg im cytoplasmatischen Ca<sup>2+</sup>-Gehalt sowie die posttranslationale Aktivierung einer MAP-Kinasekaskade, d. h. Komponenten konvergierender Signalkaskaden aus. Im Gegensatz zu Pep-13 induziert der bakterielle Elicitor Harpin<sub>PspH</sub> das Abwehrsystem der Petersilie offensichtlich nicht über ein Membranrezeptorprotein, sondern formt vermutlich nach Interaktion mit negativ geladenen Lipiden Kationenporen in der pflanzlichen Plasmamembran.

## Zelluläre Signaltransduktion

Gruppenleiter: Dierk Scheel

Postdoktorand/in: Magdalena Krzymowska, Jason Rudd (seit 01.04.)

Praktikantin: Romy Gallas (seit 01. 11.), Heidi Zinecker

Bei der Nichtwirts-Interaktion zwischen dem Sojapathogen *Phytophthora sojae* und Petersilie fungiert der Oligopeptidelicitor Pep-13, der von einem Rezeptor in der pflanzlichen Plasmamembran gebunden wird, als ein Erkennungssignal. Zu den Elementen, die das vom Pep-13-Rezeptor erzeugte zelluläre Signal in die spezifische Aktivierung von Abwehrgenen umsetzen, gehören Ionenkanäle der Plasmamembran, Proteinkinasen, eine NADPH-Oxidase und Jasmonat. Zusammen mit weiteren noch unbekanntenen Komponenten bilden diese Elemente ein komplexes Netzwerk der Signaltransduktion, das eine aus vielen Bestandteilen bestehende Abwehrreaktion auslöst.

Die Behandlung von Petersilie-Zellen mit Pep-13 löst einen transienten zwei-phasigen Anstieg der cytosolischen  $Ca^{2+}$ -Konzentration aus, dessen zweite Phase zur Stimulation aller bislang bekannten durch den Pep-13-Rezeptor aktivierten Komponenten der Pathogenabwehr dieser Pflanze erforderlich ist. So werden unterhalb dieser  $Ca^{2+}$ -Signatur mindestens drei MAP-Kinasen durch Phosphorylierung im konservierten TEY-Motiv aktiviert und zum Teil in den Zellkern transportiert. Transiente Co-Expression von konstitutiv aktiven oder inaktiven Varianten der MAP-Kinasen mit Reporter-gen-Fusionen der pr1- oder pr2-Promotoren deutet eine funktionale Beteiligung der MAP-Kinasen an der transkriptionellen Aktivierung dieser Gene an.

$O_2^-$ -Ionen, die primär während des  $Ca^{2+}$ -abhängigen „oxidative burst“ erzeugten reaktiven Sauerstoffspezies, sind notwendig und hinreichend für die Phytoalexinproduktion, nicht jedoch für die Aktivierung der pr1-, pr2- und wrky-Gene. Zwei Gene mit Homologie zur katalytischen Untereinheit der Säuger-NADPH-Oxidase wurden aus Petersilie isoliert und charakterisiert. Die heterologe Expression beider Gene in Hefe führt zur Produktion aktiver NADPH-Oxidasen in mikrosomalen Präparationen.

Cytosolischer  $Ca^{2+}$ -Anstieg und „oxidative burst“ sind notwendig für die Akkumulation von Jasmonat und seiner Vorstufe 12-Oxophytodiensäure. Beide Substanzen stellen in Petersilie allerdings keine Bestandteile der zur Phytoalexinproduktion führenden Signalkette dar, so dass es an dieser Stelle wahrscheinlich zu einer weiteren Verzweigung des Signalweges kommt. Die Bildung von Salicylat, das alternativ zu Jasmonat an der Aktivierung von Abwehrreaktionen beteiligt ist, wird über den Pep-13-Rezeptor nicht induziert.

## Signaltransduktionsmutanten

Gruppenleiter: Norbert Naß

Postdoktorandin: Susanne Berger

Doktorand/innen: Stephan Bau (bis 31. 05.), Denny Hallmann (bis 30. 04.),  
Anja Nickstadt (seit 01. 06.), Astrid Patzlaff (bis 31. 07.; anschl. Gastrecht),  
Anne Varet, Melanie Witt (seit 01. 10.)

Technische Assistentin: Barbara Degner

Signalketten, die von der Erkennung eines Elicitors bzw. eines Pathogens hin zur Aktivierung von Abwehrgenen führen, sollen in diesem Projekt genetisch zerlegt werden. Hierdurch sollen wichtige regulatorische Gene der pflanzlichen Abwehr isoliert werden. Zu diesem Zweck wurden aus Pathogen- bzw. Jasmonat-responsiven Promotoren und Reporter genen wie Luciferase und  $\beta$ -Glucuronidase Reporter genkassetten konstruiert und zur stabilen Transformation von *Arabidopsis* eingesetzt. Diese Reporterlinien, die nach Infektion als leicht erfassbaren Phänotyp eine stark erhöhte Reporter genaktivität zeigen, waren Ausgangspunkt für Mutagenese-Experimente und die nachfolgende Suche nach Mutanten mit veränderter Expression des Reporter genprodukts.

Im bisherigen Verlauf der Arbeiten wurden vier Reporter genlinien etabliert und nach Pflanzen mit a) konstitutiv hoher Expression von Abwehrgenen und b) Jasmonat-Insensitivität gesucht. Aufgrund einer genetischen Analyse der Mutanten wurde eine Auswahl interessanter Mutanten zur weiteren Bearbeitung getroffen.

Insgesamt handelt es sich hierbei um eine Linie aus dem Screen nach *pal1*-überexprimierenden Mutanten, fünf Linien aus dem Screen mit dem Peroxidase-Promotor-Luciferase-Screen und weitere sechs aus dem Projektteil, in dem der *eli3*-Promotor fusioniert mit  $\beta$ -Glucuronidase eingesetzt wurde. Kartierungspopulationen werden zur Zeit durch Kreuzungen mit dem Ökotyp *Landsberg erecta* entwickelt. Die im *jrg21*-Teil gefundenen Jasmonat-insensitiven 16 Linien werden zur Zeit weiter genetisch charakterisiert.

Für den *prxCA*-Promotor konnten wir in transgenem Tabak zeigen, dass die Aktivierung durch Elicitor  $Ca^{2+}$ -Einstrom, Proteinphosphorylierung und „oxidative burst“ benötigt.

Weiterhin untersuchen wir die Pathogenantwort in den Jasmonat-insensitiven Mutanten *jin1* und *jin4*. In diesen Mutanten scheint die Pathogen-induzierte Expression einiger Abwehrgene gegenüber dem Wildtyp reduziert zu sein. Während eine dieser Mutanten resistenter als der Wildtyp gegenüber einem virulenten Bakterienstamm ist, zeigt die andere Mutante keine Veränderung des bakteriellen Wachstums. Das *jin1*-Gen wollen wir über seine chromosomale Position klonieren. Für die Feinkartierung wurde eine Reihe von SSLP und SNP-Markern entwickelt.

## Induzierte Pathogenabwehr

Gruppenleiter/in: Sabine Rosahl & Dierk Scheel

Postdoktorand: Peter Landgraf (bis 30.06.)

Doktorandinnen: Cornelia Göbel, Astrid Hunger, Birgit Kemmerling (bis 30. 06. anschl. Gastrecht), Julia Petters (bis 30. 06. anschl. Gastrecht)

Diplomand/in: Carola Geiler (seit 13. 06.), Jörn Landtag (seit 13. 06.)

Technische Assistentin: Angelika Weinel

Praktikantin: Anja Grohnert (seit 02. 10.)

**Die Infektion von Kartoffelpflanzen mit Pathogenen führt zur Induktion von Abwehrreaktionen, die eine erhöhte lokale und systemische Resistenz bewirken können. So wird nach Infiltration von *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* eine Akkumulation von Salicylsäure, Jasmonsäure und 12-Oxophytodiensäure sowie die lokale und systemische Expression spezifischer Abwehrgene beobachtet. Um die Mechanismen zu untersuchen, die zu induzierter Pathogenabwehr in Kartoffel führen, werden zum einen lokal und systemisch aktivierte Gene charakterisiert und zum anderen die Mengen an Oxylipinen und Salicylsäure in transgenen Pflanzen verändert.**

Nach Infiltration von Bakterien in Kartoffelblätter wurden die Gene für Enzyme des Phenylpropanstoffwechsels, Lipoxygenasen, PR-Proteine, RNA-bindende Proteine und Phosphatasen als lokal und/oder systemisch aktiviert identifiziert. Funktionelle Analysen in gentechnisch veränderten Pflanzen sollen Aufschluss über eine mögliche Funktion der Genprodukte bei der Ausprägung der induzierten Resistenz geben.

In Zusammenarbeit mit Udo Conrad (IPK Gatersleben) soll die Menge an physiologisch aktiver Jasmonsäure (JA) und 12-Oxophytodiensäure (OPDA) durch Expression von Einkettenantikörpern gegen JA und OPDA in transgenen Kartoffelpflanzen verringert werden. Erste Untersuchungen transgener Pflanzen zeigen hohe Mengen an Antikörpern und z.T. eine verringerte Akkumulation von Transkripten der JA- und wundinduzierten Proteinase-Inhibitor-II-Gene. Durch Expression des *nahG*-Gens wurde in transgenen Pflanzen die Pathogen-induzierte Akkumulation von Salicylsäure verhindert. Diese Pflanzen werden auf Veränderungen der lokalen und systemischen Resistenzinduktion untersucht.

In infizierten Kartoffelblättern und Elicitor-behandelten Zellkulturen wurden durch „oxylipin profiling“ (Kooperation mit Ivo Feußner, IPK Gatersleben) spezifische Produkte des 9Lipoxygenase-Weges in erhöhten Mengen nachgewiesen. Die funktionelle Analyse von 9Lipoxygenase-Genen beinhaltet die Expression von „Antisense“- und RNAi-Konstrukten in Pflanzen und die Untersuchung des Effekts auf die Aktivierung der induzierten Abwehr.

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe „Hydroxymitsäuren“ (Dieter Strack; Abteilung „Sekundärstoffwechsel“) wird die Rolle von Hydroxymitsäure-Tyramiden bei der Pathogenantwort in Kartoffel analysiert. Um die Tyramin-Mengen in Kartoffelpflanzen zu erhöhen, wurde die cDNA einer Tyrosin-Decarboxylase aus Petersilie (Imre Somssich, MPIZ, Köln) exprimiert. Erste Untersuchungen zeigen eine Erhöhung spezifischer Tyramin-Derivate.

## Schwermetalltoleranz

Gruppenleiter: Stephan Clemens & Dieter Neumann

Wissenschaftliche Mitarbeiterin: Uta zur Nieden

Postdoktorandin: Anne-Claire Cazalé (seit 01. 02.)

Doktorand/innen: Clarice de Figuereido, Olga Lubaretz (bis 31.03.),

Sergej Miroshnychenko (bis 31. 03.), Claudia Simm (seit 01.10.), Christoph Veß,

Susan Wassersleben (seit 01. 07),

Diplomandin: Stefanie Haase (seit 01. 11.), Claudia Simm (bis 03. 06)

Technische Assistentinnen: Marina Häußler, Sylvia Krüger

**Pflanzen müssen – wie alle anderen Lebewesen – die intrazelluläre Konzentration von essenziellen, jedoch potentiell toxischen Schwermetallen sehr genau regulieren. Außerdem müssen sie die Konzentrationen nicht-essentieller, toxischer Schwermetalle wie Cadmium möglichst gering halten. Dies wird erreicht durch ein Netzwerk von Transport-, Chelatierungs- und Sequestrierungs-Prozessen. Projekte dieser Gruppe zielen auf die molekulare Charakterisierung von Komponenten der pflanzlichen Metallhomöostase und –toleranz durch Untersuchungen an *Arabidopsis thaliana*, einigen auf mittelalterlichen Halden vorkommenden Metallophyten (*Arabidopsis halleri*, *Silene*, *Minuartia*, *Armeria*) und der Spalthefe *Schizosaccharomyces pombe* als zellulärem Modellsystem.**

Die Bildung von Phytochelatinen ist eine prinzipielle Antwort von Pflanzen auf Schwermetallexposition. Phytochelatin-Synthase-(PCS)-kodierende Gene sind von uns und anderen kloniert worden. Wir haben PCS in *Schizosaccharomyces pombe* biochemisch charakterisiert in Bezug auf die Lokalisation und die Interaktion mit anderen Proteinen. Ein zweites PCS-Gen in *Arabidopsis* ist kloniert und funktionell durch Expression in Bäckerhefe charakterisiert worden. PCS in der Cd-hypertoleranten *Arabidopsis halleri* werden untersucht. Das „Expression Profiling“ mittels cDNA-AFLP in *Arabidopsis halleri* hat zur Identifizierung einer Reihe von metallregulierten Signaltransduktions-Komponenten geführt, die derzeit funktionell charakterisiert werden. Metalltransporter der „Cation Diffusion Facilitator“-Familie, die wahrscheinlich eine Rolle bei der Schwermetall-Homöostase und -Akkumulation spielen, sind – ausgehend von *Schizosaccharomyces pombe* und in diesem System generierten „Knock-out“-Mutanten – charakterisiert worden.

Eine schnelle Reaktion auf Schwermetallstress ist die Bildung von Hitzestressproteinen (HSP). Erste zelluläre Veränderungen bei toxischen Schwermetallkonzentrationen sind immer Membranschäden, die durch die Bildung von HSP verhindert werden können. Um Einzelschritte der komplexen Stressantwort untersuchen zu können, sind transgene Tabakpflanzen hergestellt worden, die einen sc-Fv-Antikörper gegen HSP17 exprimieren (Zusammenarbeit mit Renate Manteuffel, IPK- Gatersleben). Es wurden eine Reihe von Pflanzen erhalten, die eine stabile Expression der Antikörper entweder im Zytoplasma oder im ER zeigen, was durch Immunfluoreszenz und Immunelektronenmikroskopie bestätigt werden konnte. Expression der HSP17-„single-chain“-Antikörper im Zytoplasma verhindert die Bildung von Hitzestress-Granula, die im Wildtyp unter Hitze- und Schwermetallstress nachzuweisen sind und die offenbar für das Überleben der Zelle bei länger anhaltendem Stress von Bedeutung sind.

## Chromatin und Genregulation

Gruppenleiter: Dierk Scheel & Bettina Tschiersch (bis 31. 08.)

Postdoktorandin: Ursula Niesbach-Klößgen (seit 01. 12.)

Doktorand: Ingo Hofmann

Zelldifferenzierung und Zellspezialisierung werden in eukaryotischen Organismen in bedeutendem Maße durch epigenetische Regulationsmechanismen realisiert. Hierzu gehören insbesondere Veränderungen im Verpackungsgrad einzelner Chromatindomänen, die zu einer Aktivierung oder Inaktivierung der darin lokalisierten Gene führen können. Veränderungen der Chromatinstruktur werden derzeit auch als mögliche Ursache für transkriptionelles „*gene silencing*“ repetitiver Transgenkopien in Pflanzen diskutiert. Dieses Phänomen wird innerhalb des Projekts als mögliches Modellsystem zur Untersuchung von Regulationsmechanismen der Genexpression auf der Ebene der Chromatinstruktur genutzt. Anliegen des Projektes ist es, Mutanten zu isolieren und zu charakterisieren, deren Defekte einen Einfluss auf „*silencing*“ repetitiver Transgenkopien bei *Arabidopsis thaliana* haben und somit möglicherweise durch Veränderungen auf der Ebene der Chromatinstruktur hervorgerufen werden.

Als Grundlage für das Mutantenscreening wurde eine Kollektion transgener Arabidopsis-Linien hergestellt, die T-DNA-Konstrukte mit bis zu vier Kopien eines Reportergens (Gus, Luciferase) unter Kontrolle eines konstitutiven 35S-Promotors tragen. Aus den vorhandenen gentechnisch veränderten Luciferase-Linien wurden Linien ausgewählt, bei denen zwar die Insertion von T-DNA-Konstrukten mit vier Luciferase-Expressionskassetten nachgewiesen werden konnte, die nachweisbare Enzymaktivität jedoch stark reduziert ist. Die Stilllegung der repetitiven Luciferasekopien korreliert in diesen Linien mit einer starken DNA-Methylierung der Transgenkopien und einer drastischen Reduktion der Menge an Luciferase-mRNA. Die beobachteten „*silencing*“-Prozesse sind revertierbar durch Behandlung der Pflanzen mit 5'-Azacytidin, einem spezifischer Hemmstoff der DNA-Methylierung.

Transgene Luciferase-Linien, die ein derart reversibles „*silencing*“ stabil über mehrere Generationen zeigten, wurden für ein Mutagenese-Experiment eingesetzt. Insgesamt wurden ca. 5000 Samen von fünf unabhängigen Linien mit EMS (Ethylmethansulfonat) behandelt. Aus ungefähr 10 000 bisher analysierten M2-Pflanzen konnten ca. 100 Pflanzen mit erhöhter Luciferase-Aktivität selektiert werden. Von den bisher näher charakterisierten 18 putativen Mutanten sind 7 dadurch gekennzeichnet, dass die Reaktivierung der inaktivierten Transgene mit einer Veränderung im Methylierungsstatus der Transgenkopien korreliert. Bei den restlichen 11 Mutanten sind die Luciferase-Transgene transkriptionsaktiv, aber weiterhin hypermethyliert. Zur näheren Charakterisierung der morphologischen Phänotypen und zur Kartierung der Mutations-Orte wurden Rückkreuzungen gegen die Ausgangslinien und Kreuzungen gegen einen anderen Arabidopsis-Ökotyp durchgeführt. Durch Grobkartierung der Mutations-Orte von 9 Mutanten wurden acht verschiedene Loci identifiziert, die nicht zu bisher bekannten Modifikatoren für „*gene silencing*“ (*ddm1*, *mom1*) allel sind.

## Publikationen

Abel, S., Nürnberger, T., Ahnert, V., Krauss, G.-J. & Glund, K. Induction of an extracellular cyclic nucleotide phosphodiesterase as an accessory ribonucleolytic activity during phosphate starvation of cultured tomato cells. *Plant Physiol.* **122**, 543–552.

Blume, B., Nürnberger, T., Nass, N. & Scheel, D. Receptor-mediated increase in cytoplasmic free calcium required for activation of pathogen defense in parsley. *Plant Cell* **12**, 1425–1440.

Dow, M., Newman, M.-A. & von Roepenack, E. The induction and modulation of plant defense responses by bacterial lipopolysaccharides. *Annu. Rev. Phytopathol.* **38**, 241–261.

Fellbrich, G., Blume, B., Brunner, F., Hirt, H., Kroj, T., Ligterink, W., Romanski, A. & Nürnberger, T. *Phytophthora parasitica* elicitor-induced reactions in cells of *Petroselinum crispum*. *Plant Cell Physiol.* **41**, 692–701.

Hornung, E., Rosahl, S., Kühn, H. & Feussner, I. Creating lipoxygenases with new positional specificities by site-directed mutagenesis. *Biochem. Soc. Trans.* **28**, 825–826

Li, J., Nass, N., Kusaba, M., Dodds, P., Treloar, N., Clarke, A.E. & Newbigin, E.J. A genetic map of the *Nicotiana glauca* S-locus that includes three pollen-expressed genes. *Theor. Appl. Genet.*, **100**, 956–964.

Noehringer, C., Scheel, D. & Blée E. Lipoxygenase isoforms in elicitor-treated parsley cell suspension cultures. *Biochem. Soc. Trans* **28**, 827–829

## Buchbeiträge

Bruns, I., Sutter, K., Neumann, D. & Krauss, G.-J. Glutathione accumulation – a specific response of mosses to heavy metal stress. In: *Sulfur nutrition and sulfur assimilation in higher plants*. (Brunold, C. ed.) Haupt (Bern) 2000 pp. 389–391.

Hirt, H. & Scheel, D. Receptor-mediated MAP kinase activation in plant defense. In: *Results and Problems in Cell Differentiation*, Vol. 27. MAP Kinases in Plant Signal Transduction (Hirt, H., ed.), Springer-Verlag (Heidelberg) 2000, pp. 85–93.

Scheel, D. Parasitismus im Pflanzenreich. *Nova Acta Leopoldina* NF 83, Nr. **316**, 25–31.

Scheel, D., Blume, B., Brunner, F., Fellbrich, G., Dalboge, H., Hirt, H., Kauppinen, S., Kroj, T., Ligterink, W., Nürnberger, T., Tschöpe, M., Zinecker, H. & zur Nieden, U. Receptor-mediated signal transduction in plant defense. In: *Biology of Plant-Microbe Interactions*, Vol. 2 (de Wit, P.J.G.M., Bisseling, T. & Stiekema, W.J., eds.), International Society for Molecular Plant-Microbe Interactions (St. Paul, USA) 2000 pp. 131–135.

## Patent

Scheel, D., Rosahl, S., Strack, D. & Schmidt, A. Transgene Pflanzen mit erhöhter Resistenz gegen den Befall durch Phytopathogene. Deutsches Patent 19846001 C2.



## Abteilung Sekundärstoffwechsel

Die Abteilung verfolgt das Ziel, Beiträge zur Enzymologie und Molekularbiologie pflanzlicher Sekundärstoffe, insbesondere der Phenylpropanerivate, Isoprenoide und Betalaine zu leisten. Im Mittelpunkt stehen Untersuchungen zur molekularen Regulation der Sekundärstoffbildung. Dies beinhaltet sowohl die Isolierung und Charakterisierung von Enzymen und der kodierenden cDNAs als auch Arbeiten zur Regulation der Genexpression. In diesen Projekten werden pflanzliche Transferasen bearbeitet, eine Cholin-Hydroxycinnamoyltransferase und verschiedene Hydroxyzimtsäure-Glucosyltransferasen aus *Brassica napus* und *Arabidopsis thaliana* (Arbeitsgruppe „Hydroxyzimtsäuren“), Flavonoid- und Betalain-Glucosyltransferasen aus Betalain-führenden Pflanzen und eine Flavonoid-Methyltransferase aus *Mesembryanthemum crystallinum* (Arbeitsgruppe „Molekulare Physiologie und Phylogenie der Betalaine“). Arbeiten über Betalaine konzentrieren sich auf die subzelluläre Lokalisation ihrer Biosynthese und auf eine biogenetische Schlüsselreaktion, der durch eine Dioxygenase katalysierten extradiolischen Dopa-Spaltung (Arbeitsgruppe „Biochemie der Betalaine“).

Weitere Projekte zielen auf die Aufklärung molekularer Interaktionen der Pflanze mit ihrer Umwelt. Die Arbeitsgruppe „Molekulare Physiologie und Phylogenie der Betalaine“ beschäftigt sich mit der Induktion der Betacyan- und Flavonoid-Biosynthese durch Starklicht in den Blasenzellen von *Mesembryanthemum crystallinum*. Ein Schwerpunkt, der verstärkt bearbeitet wird, ist die Aufklärung der Bedeutung von Sekundärstoffen und der Rolle von Phytohormonen (Jasmonate) in mutualistisch-symbiontischen Wurzel-Pilz-Interaktionen, insbesondere in arbuskulären Mykorrhizen. Zwei Arbeitsgruppen („Molekulare Physiologie der Mykorrhiza“ und „Zellbiologie der Mykorrhiza“) untersuchen Mykorrhizapilz-induzierte Stoffwechselveränderungen, z.B. der Isoprenoid-Biosynthese, und Veränderungen cytologischer Strukturen, z.B. der Wurzel-Plastiden.

## Zellbiologie der Mykorrhiza

Gruppenleiterin: Bettina Hause

Doktoranden: Stanislav Isayenkov (seit 01. 11) Tamás Monostori

Diplomand/in: Constantin Rüder (bis 30. 09), Diana Schmidt (seit 15. 05.)

Technische Assistentin: Ulrike Hintsche

Praktikant: Stefan Günther (01.07-31.08.)

Wissenschaftliche Hilfskraft: Constantin Rüder (01. 11. – 31. 12.)

Bei der Interaktion von arbuskulären Mykorrhizapilzen und Pflanzen wird zunehmend den Phytohormonen eine Rolle sowohl bei der Erkennung der Interaktionspartner als auch bei der Ausbildung der Symbiose zugewiesen. Ein Kandidat ist hierbei auch die Jasmonsäure (JA), deren Menge in der Wurzel während der Interaktion von Gerste und *Glomus intraradices* deutlich ansteigt. Da die Jasmonsäure und ihre Abkömmlinge als Signale für verschiedene, durch Umwelteinflüsse oder innerhalb der pflanzlichen Entwicklung regulierte Prozesse gelten, soll die Rolle von Jasmonaten bei der Ausbildung der Symbiose zwischen Gerste und *G. intraradices* sowie *Medicago truncatula* und *G. mosseae* analysiert werden. Daneben werden als weiterer Schwerpunkt der Arbeiten zellbiologische Analysen zur Ausbildung und Entwicklung der arbuskulären Mykorrhizen hinsichtlich der Akkumulation von pflanzlichen Sekundärstoffen durchgeführt.

Mittels zellbiologischer Methoden soll zellspezifisch das Expressionsmuster von Genen der Jasmonat-Biosynthese als auch von Genen Jasmonat-induzierbarer Proteine als „Reporter“ eines endogenen JA-Anstiegs in mykorrhizierten Geweben beider Pflanzenspezies bestimmt werden. Dazu und zur funktionellen Analyse der Rolle von Jasmonaten wurden aus einer cDNA-Bank von mykorrhizierten *Medicago*-Wurzeln cDNAs isoliert, die für Enzyme der JA-Biosynthese (Allenoxidsynthase und Allenoxidcyclase) kodieren. Damit kann im nachfolgenden Schritt mit der Transformation von *M. truncatula* zur endogenen Modulation des JA-Gehaltes begonnen werden. Einflüsse des veränderten JA-Gehaltes sollten zu Veränderungen des Mykorrhiza-Phänotyps führen, die zunächst anhand morphologischer Parameter sichtbar werden sollten. In Vorbereitung dieser Arbeiten wurden Fixierung und Einbettung mykorrhizierter Wurzeln optimiert und die Hochdruck-Gefrierfixierung mit anschließender Gefriersubstitution für diese Gewebe etabliert. Gleichzeitig erfolgten Analysen der Struktur von Arbuskeln mittels Konfokaler Laser Scanning Mikroskopie.

Um Rückschlüsse auf die metabolische Aktivität der vom Pilz kolonisierten Pflanzenzellen und eine mögliche Funktion der akkumulierenden Apocarotenoide ziehen zu können, wurde in Zusammenarbeit mit Thomas Fester (Arbeitsgruppe „Molekulare Physiologie der Mykorrhiza“) die Morphologie der pflanzlichen Zellorganellen in mykorrhizierten Zellen untersucht. So konnte in transgenen Tabakpflanzen, die das „green fluorescent protein“ (GFP) in den Plastiden enthalten, eine komplexe Änderung der Plastidenpopulation hinsichtlich Anzahl und Morphologie der Plastiden in Abhängigkeit von der Entwicklung der Arbuskeln gezeigt werden.

## Molekulare Physiologie der Mykorrhiza

Gruppenleiter: Michael H. Walter

Postdoktoranden/in: Thomas Fester, Sudha Sahay, Michael Stephan (seit 20. 01.)

Doktorand/in: Joachim Hans, Kristine Halfmann (bis 29. 02.)

Technische Assistentinnen: Kerstin Manke, Gerlinde Waiblinger

Praktikantin: Dana Hoffmann (10.04.–31. 05.)

Die arbuskuläre Mykorrhiza ist eine sehr alte und weit verbreitete Symbiose zwischen Pflanzenwurzeln und Pilzen der Ordnung Glomales. Die obligat biotrophen Pilze kolonisieren die Wurzelrinde und erhalten dort ihre Nährstoffe in Form von Zuckern. Im Gegenzug liefern sie Mineralstoffe, die über ein Netzwerk externer Hyphen im Boden gesammelt und in die Wurzelzelle translociert werden. Die Arbeitsgruppe untersucht schwerpunktmäßig die Veränderung des pflanzlichen Isoprenoidstoffwechsels in den Wurzeln durch die Pilzeinwirkung, die sich bei vielen Pflanzen schon äußerlich durch das Auftreten gelber bis orangeroter Pigmente (acyclischer Apocarotinoide) erkennen lässt. Ziel der Arbeiten ist die Aufklärung der physiologischen Rolle und des Biosyntheseweges dieser Pigmente und weiterer Mykorrhiza-spezifischer cyclischer Apocarotinoide (Cyclohexenonderivate).

Im Zuge der Einrichtung des neuen DFG-Schwerpunktprogramms 1084 „Molekulare Grundlagen der Mykorrhiza-Symbiosen“, in das die Arbeiten integriert sind, wurden *Medicago truncatula* als neue Modellpflanze und der Pilz *Glomus mosseae* eingeführt. Mykorrhiza-induzierte Akkumulation von Apocarotinoiden konnte auch für dieses neue System nachgewiesen werden. Im Zuge einer erweiterten Charakterisierung dieser Interaktion wurde mit einem generellen „metabolite profiling“ begonnen.

Bei den Untersuchungen zur Biosynthese der Apocarotinoide konnte in mykorrhizierten Tabakwurzeln eine erhöhte Promotoraktivität für das Gen der Phytoendesaturase, einem spezifischen Enzym der Carotinoid-Biosynthese, gezeigt werden. Weitere Untersuchungen konzentrierten sich auf den kürzlich entdeckten Nicht-Mevalonatweg (Methylerythritolphosphatweg) der Isopentenylidiphosphat-Biosynthese. Hier konnte eine cDNA für die 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Reductoisomerase (DXR) aus einer cDNA-Bank von mykorrhizierten Maiswurzeln isoliert werden, die derzeit weiter charakterisiert wird. Aus *M. truncatula* isolierten wir mit einer Sonde für 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase (DXS) mehrere cDNAs, die hohe Sequenzähnlichkeiten zu publizierten DXS-Sequenzen aufweisen, aber durch die Mykorrhizierung unterschiedlich reguliert werden. Für zwei dieser cDNAs sind inzwischen auch genomische Klone zur Promotorcharakterisierung isoliert worden. Zur Funktionsanalyse sollen mit einem einfachen Transformationssystem über Agrobakterieninfiltration von Blüten transgene *M. truncatula* erhalten werden, in denen bestimmte Biosyntheseschritte spezifisch reprimiert sind. Ein transgener Ansatz ist auch für eine Expressionsanalyse über Promotor-Reportergenkonstrukte vorgesehen.

## Biochemie der Betalaine

Gruppenleiter: Willibald Schliemann

Doktorandin: Naoko Kobayashi

Technische Assistentin: Barbara Kolbe

**Betalaine sind eine chemotaxonomisch wichtige und biochemisch interessante Gruppe wasserlöslicher Chromoalkaloide (rotviolette Betacyane und gelbe Betaxanthine), die nur in Pflanzen bestimmter Familien der Ordnung Caryophyllales (z.B. Rote Rüben) und einigen höheren Pilzen (z.B. Fliegenpilz) vorkommen. Unsere Untersuchungen beschäftigten sich zunächst mit der Charakterisierung der Tyrosinase, die zwei Schritte der Biosynthese katalysiert, und der Kondensationsreaktion zwischen Betalaminsäure und Aminosäuren. Nach Abschluss der Arbeiten standen Versuche zum Auffinden der Dopa-Dioxygenase und zum Transport von Betalainen in Vakuolen im Mittelpunkt unseres Interesses.**

Die in die Betalain-Biosynthese involvierte Dopa-Dioxygenase ist innerhalb der Caryophyllales bisher nicht aufgefunden worden. Sie spaltet Dopa 4,5-extradioleisch unter Bildung von 4,5-*seco*-Dopa, das nach spontaner Recyclisation den Chromophor Betalaminsäure bildet. Die Variation von Verfahren zur Aufarbeitung von Proteinen und der Assay-Bedingungen haben bisher nicht zu einem eindeutigen Nachweis geführt. In Enzymassays mit [<sup>14</sup>C]Dopa war keine lösliche markierte Betalaminsäure nachweisbar, während sich aus den Assay-Proteinen durch alkalische Hydrolyse Radioaktivität freisetzen ließ, die nach Derivatisierung (S)-Phenylalanin-Betaxanthin mit äußerst geringer Einbaurate ergab. Die geringen Umsatzraten und die schlechte Reproduzierbarkeit erlauben keine eingehende Enzymcharakterisierung.

Die Versuche zum Transport von Betalainen in Vakuolen wurden fortgesetzt. Basierend auf der Hypothese, dass die Kondensation der Betalaminsäure mit Aminosäuren zu Betaxanthinen vakuolär abläuft, wurden die Arbeiten auf die Aufnahme von Betalaminsäure fokussiert. Um den möglichen Betalaminsäure-Transporter zu charakterisieren, wird die ATP/Mg-abhängige Betalaminsäure-Aufnahme in Anwesenheit von Inhibitoren (Bafilomycin, Vanadat, NH<sub>4</sub>Cl) untersucht werden.

Das Vorkommen und die Struktur der Betalaine gelb, orange und rot gefärbter Blütenstände zweier *Celosia*-Varietäten (*Celosia argentea* var. *cristata* und *C. argentea* var. *plumosa*) wurden in Zusammenarbeit mit chinesischen Kooperationspartnern (Yizhong Cai & Harold Corke, Hong Kong University, China) aufgeklärt. Zusätzlich zu den bereits in der Familie der Amaranthaceae bekannten Pigmenten (Amaranthin, Betalaminsäure) konnten Betaxanthine, die sich vom Dopamin, 3-Methoxytyramin und (S)-Tryptophan ableiten, charakterisiert werden. Der Nachweis hoher Dopaminkonzentrationen in gelben Blüten könnte von toxikologischem Interesse sein, da diese wie die roten Blüten als Gemüse oder traditionell als chinesisches Arzneimittel verwendet werden.

## Molekulare Physiologie und Phylogenie der Betalaine

Gruppenleiter: Thomas Vogt

Doktorand/in: Mwafaq Ibdah, Judith Stolberg (seit 01. 05.)

Diplomand: Stefan Ebert

Technische Assistentin: Dagmar Knöfel, Ute Vinzens (seit 1. 12. 2000)

Praktikantinnen: Anja Lehweß-Litzmann (01.08.–31. 10.),

Sabine Witzel (01.02.–31.03.)

Die Glycosyltransferasen (GTs) des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels gehören zu einer Multigenfamilie, die neben anderen modifizierenden Enzymen maßgeblich für die große Vielfalt pflanzlicher Naturstoffe verantwortlich ist. Der Fülle endogener und exogener Substrate steht ein Netzwerk von GT-Genen und -Enzymen gegenüber. Neben prinzipiellen Fragen, inwieweit es beispielweise möglich ist, aus Sequenzen spezieller GTs eine Funktion abzuleiten, gilt unser Interesse den biochemischen und zellulären Mechanismen, die für die beobachteten Substrat-Spezifitäten der einzelnen Enzyme verantwortlich sind.

Aufgrund ihrer hohen Affinität zu Flavonoiden kann man für die GTs der Betacyan-Biosynthese in *Dorotheanthus bellidiformis* (5-GT und 6GT) eine phylogenetisch abgeleitete Herkunft aus dem Flavonoidstoffwechsel postulieren. Ihre unterschiedlichen Sequenzen und die damit verbundene Zuordnung zu verschiedenen Clustern der GT-Multigenfamilie machen einen gemeinsamen phylogenetischen Ursprung unwahrscheinlich. Eine zu 5-GT- und 6-GT-Aktivitäten denkbare alternative Betacyanbildung, ausgehend von der Glycosidierung des *cyclo*-Dopa, konnte in Betacyan-führenden Pflanzen, selbst mit Hilfe eines neuen empfindlichen Nachweises des *cyclo*-Dopa-Glucosids, noch nicht gezeigt werden. Aufgrund von Sequenzidentitäten der 5GT zu GTs aus Tabak, die durch oxidativen Stress induzierbar sind, wurden transgene Tabakpflanzen hergestellt, die konstitutiv 5-GT akkumulieren. Dies führte jedoch nicht zu einer signifikanten Erhöhung glucosidierter Sekundärstoffe und einer modifizierten Stressantwort. Die Ursachen dieses Befundes sind möglicherweise auf eine strikte Kompartimentierung der Flavonoid-Biosynthese in Tabak zurückzuführen.

Am Beispiel der 5GT konnte durch gezielte Mutationen gezeigt werden, dass bestimmte, in allen GTs hoch konservierte Aminosäuren für die enzymatische Aktivität essenziell sind. Ihr Austausch durch Alanin führte zum Verlust bzw. zu einer starken Reduktion der Enzymaktivität, ohne im letzteren Fall die Substrat-Spezifität zu verändern.

In lichtgestressten Blattspitzen von *Mesembryanthemum crystallinum* ist keine verstärkte Bildung von GT-Transkripten nachzuweisen, die an der beobachteten induzierten Akkumulation von Betacyanen und glycosidierten Phenylpropandervaten beteiligt sein können. Es gelang jedoch die Klonierung eines neuen *O*-Methyltransferase-Gens (*OMT*). Das entsprechende Enzym besitzt auf Aminosäureebene eine signifikante Ähnlichkeit zu Flavonoid-OMTs, deren Aktivität mit dem Auftreten hoher Konzentrationen an *6O*-methylierten Flavonol-Konjugaten nach Lichtstress korreliert.

## Hydroxyzimtsäuren

Gruppenleiter: Dieter Strack

Wissenschaftlicher Mitarbeiter: Alfred Baumert

Postdoktorand: Carsten Milkowski

Doktorand: Claus Lehfeldt (Gastrecht)

Technische Assistentin: Ingrid Otschik

Höhere Pflanzen akkumulieren eine Fülle verschiedenartiger Hydroxyzimtsäure(HCA)-Konjugate (vorwiegend Ester und Amide). Neben anderen Phenylpropanderivaten wie den Flavonoiden und Stilbenen nehmen sie eine bedeutende Stellung in Interaktionen der Pflanze mit abiotischen und biotischen Umweltfaktoren ein. Vertreter der Brassicaceen akkumulieren in den Samen einen Cholinester (Sinapin = Sinapoylcholin) und in den Blättern verschiedene Malatester, unter anderem Sinapoylmalat. Während die Malatester die Pflanzen vor schädigender UV-B-Strahlung schützen, dient Sinapin zur Abwehr von Schadorganismen. Die Bildung dieser Ester wird über HCA-Acetalglucoside durch spezifische HCA-Transferasen katalysiert. An den Modellsystemen *Arabidopsis thaliana* und *Brassica napus* (Raps) werden die Regulation der Transferasen und die Struktur der kodierenden Gene untersucht.

In einer Kooperation mit Clint Chapple (Purdue University, USA) gelang es aus einer durch T-DNA-Tagging erzeugten Arabidopsis-Mutante eine cDNA zu gewinnen, die für eine Sinapoylglucose:Malat-Sinapoyltransferase (SMT) kodiert. Die abgeleitete Aminosäuresequenz zeigt charakteristische Übereinstimmungen mit Sequenzen pflanzlicher Serin-Carboxypeptidasen (SCP), die auf eine evolutionäre Verwandtschaft der SMT mit SCPs schließen lassen. Die SMT-Sequenz weist auf ein ER-gerichtetes N-terminales Signalpeptid und mehrere Glykosidierungsstellen hin, was eine vakuoläre Lokalisation der SMT wahrscheinlich macht.

Unsere Arbeiten im Rahmen des BMBF-Leitprojektes „NAPUS 2000 - Gesunde Lebensmittel aus transgener Rapssaat“ haben das Ziel, den Sinapingehalt in Raps abzusenken. Dazu verwenden wir „Antisense“-Konstrukte von Genen des Sinapin-Biosyntheseweges, die für die UDP-Glucose:Sinapinsäure-Glucosyltransferase (SGT) und die Sinapoylglucose:Cholin-Sinapoyltransferase (SCT) kodieren. Eine SGT-cDNA konnte bereits aus unreifen Raps-Samen isoliert und exprimiert werden. Darüber hinaus konnten vier Arabidopsis-Gene aufgrund von Sequenzähnlichkeiten mit der Raps-SGT-cDNA identifiziert werden, die ebenfalls für Glucosyltransferasen codieren, aber mit unterschiedlicher Spezifität die Bildung von Sinapinsäure- und anderen HCA-Glucoseestern katalysieren.

Unter der Annahme, dass sich die SCT ebenfalls von SCPL-Proteinen (*SCP-like Proteins*) ableiten lässt, wurden Raps-SCPL-Sequenzen als Sonden zum Durchmustern einer cDNA-Bank aus unreifen Samen, die hohe SCT-Aktivitäten aufwiesen, eingesetzt. Wir isolierten eine cDNA mit großer Ähnlichkeit zu Arabidopsis-SCPL-Genen. Die laufenden Arbeiten konzentrieren sich auf die heterologe Expression des SCPL-Proteins, von dem wir annehmen, dass es sich um die SCT handelt, und auf die Herstellung von SGT-„Antisense“-Konstrukten für die Transformation von Raps.

## Publikationen

Binarová, P., Cenklová, V., Hause, B., Kubátová, E., Lysák, M., Dolezel, J., Bögre, L. & Dráber, P. Nuclear  $\gamma$ -tubulin during acentriolar plant mitosis. *Plant Cell* **12**, 433–442.

Breunig, K.D., Bolotin-Fukuhara, M., Bianchi, M.M., Bourgarel, D., Falcone, C., Ferrero, I., Frontali, L., Goffrini, P., Krijger, J.J., Mazzoni, C., Milkowski, C., Steensma, H.Y., Wesolowski-Louvel, M. & Zeeman, A.M. Regulation of primary metabolism in *Kluyveromyces lactis*. *Enzyme Microb. Technol.* **26**, 771–780.

Hause, B., Stenzel, I., Miersch, O., Maucher, H., Kramell, R., Ziegler, J. & Wasternack, C. Tissue-specific oxylipin signature of tomato flowers: allene oxide cyclase is highly expressed in distinct flower organs and vascular bundles. *Plant J.* **24**, 113–126.

Hause B., Weichert, H., Höhne, M., Kindl, H. & Feussner, I. Expression of cucumber lipid-body lipooxygenase in transgenic tobacco: lipid-body lipooxygenase is correctly targeted to seed lipid bodies. *Planta* **210**, 708–714.

Irmeler, S., Schröder, G., St-Pierre, B., Crouch, N.P., Hotze, M., Schmidt, J., Strack, D., Matern, U. & Schröder, J. Indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*: new enzyme activities and identification of cytochrome P450 CYP72A1 as secologanin synthase. *Plant J.* **24**, 797–804.

Kobayashi, N., Schmidt, J., Nimtz, M., Wray, V. & Schliemann, W. Betalains from Christmas cactus. *Phytochemistry* **54**, 419–426.

Lee, Y.K., Hippe-Sanwald, S., Jung, H.W., Hong, J.K., Hause, B. & Hwang, B.K. *In situ* localization of chitinase mRNA and protein in compatible and incompatible interactions of pepper stems with *Phytophthora capsici*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **57**, 111–121.

Lehfeldt, C., Amber, M.S., Meyer, K., Ruegger, M., Cusumano, J.C., Viitanen, P.V., Strack, D. & Chapple, C. Cloning of the *SNG1* gene of *Arabidopsis* reveals a role for a serine carboxypeptidase-like protein as an acyltransferase in secondary metabolism. *Plant Cell* **12**, 1295–1306.

Maier, W., Schmidt, J., Nimtz, M., Wray, V. & Strack, D. Secondary products in mycorrhizal roots of tobacco and tomato. *Phytochemistry* **54**, 473–479.

Maucher, H., Hause, B., Feussner, I. & Wasternack, C. The allene oxide synthase of barley (*Hordeum vulgare* cv. Salome) leaves is developmentally regulated. *Plant J.* **21**, 199–213.

Mikkat, S., Milkowski, C. & Hagemann, M. The gene *sl0273* of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803 encodes a protein essential for growth at low  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratios. *Plant, Cell & Environm.* **23**, 549–559.

Milkowski, C., Baumert, A. & Strack, D. Cloning and expression of a rape cDNA encoding UDP-glucose:sinapate glucosyltransferase. *Planta* **211**, 883–886.

Milkowski, C., Baumert, A. & Strack, D. Identification of four *Arabidopsis* genes encoding hydroxycinnamate glucosyltransferases. *FEBS Lett.* **486**, 183–184.

Peumans, W.J., Hause, B. & Van Damme, E.J.M. The galactose-binding and mannose-binding jacalin-related lectins are located in different sub-cellular compartments. *FEBS Lett* **477**, 186–192.

Riemann, D., Rontsch, J., Hause, B., J. Langner, J. & Kehlen, A. Cell-cell contact between lymphocytes and fibroblast-like synoviocytes induces lymphocytic expression of aminopeptidase N/CD13 and results in lymphocytic activation. *Adv. Exp. Med. Biol.* **477**, 57–66.

Roitsch, T., Ehneß, R., Goetz, M., Hause, B., Hofmann, M. & Sinha, A.K. Regulation and function of extracellular invertase from higher plants in relation to assimilate partitioning, stress responses and sugar signalling. *Aust. J. Plant Physiol.* **27**, 815–825.

Vierheilig, H., Gagnon, H., Maier, W. & Strack, D. Accumulation of cyclohexenone derivatives in barley, wheat and maize roots in response to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* **9**, 291–293.

Vierheilig, H., Maier, W., Wyss, U., Samson, J., Strack, D. & Piche, Y. Cyclohexenone derivative- and phosphate-levels in split-root systems and their role in the systemic suppression of mycorrhization in precolonized barley plants. *J. Plant Physiol.* **157**, 593–599.

Vogt, T. & Jones, P. Glycosyltransferases in plant natural products synthesis: characterization of a supergene family. *Trends Plant Sci.* **5**, 380–386.

Walter, M.H., Fester, T. & Strack, D. Arbuscular mycorrhizal fungi induce the non-mevalonate methylerythritol phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis correlated with accumulation of the 'yellow pigment' and other apocarotenoids. *Plant J.* **21**, 571–578.

Wasternack, C. & Hause, B. Jasmonate – Signale zur Stressabwehr und Entwicklung in Pflanzen. *Biologie in unserer Zeit* **30**, 312–319.

Ziegler, J., Stenzel, I., Hause, B., Maucher, H., Hamberg, M., Grimm, R., Ganai, M. & Wasternack, C. Molecular cloning of allene oxide cyclase: the enzyme establishing the stereochemistry of octadecanoids and jasmonates. *J. Biol. Chem.* **275**, 19132–19138.

## Buchbeitrag

Vogt, T. Glycosyltransferases involved in plant secondary metabolism. In: *Evolution of Metabolic Pathways, Recent Advances in Phytochemistry* **34** (Romeo, J.T., Ibrahim, R., Varin, L., De Luca, V., eds.) Pergamon Press (Amsterdam, Niederlande) 2000 pp. 317–347.

## Patente

Milkowski, C., Baumert, A. & Strack, D. Verfahren zur Beeinflussung des Sinapingehalts in transgenen Pflanzenzellen und Pflanzen. Deutsches Patent, 100 34 320.1, eingereicht.

Scheel, D., Rosahl, S., Strack, D. & Schmidt, A. Transgene Pflanzen mit erhöhter Resistenz gegen den Befall durch Phytopathogene. Deutsches Patent 19846001 C2

Hause, B., Bessler, K., Kogel, K. & Wasternack, C. Method of screening for agrochemicals. Europäisches Patent 981245251, eingereicht.

Ziegler, J., Stenzel, I., Hause, B. & Wasternack, C. Allenoxidcyclase-Gen und dessen Verwendung zum Herstellen von Jasmonsäuren. Deutsches Patent 10004468, eingereicht.



## Kommunikation in vielen Bereichen verstärkt

*Leiterin: Ellen Peerenboom*

*Webmasterin: Jana Krupik (seit 01. 11.)*

### IPB präsentierte sich auf drei Fachmessen

Im Frühjahr 2000 stellte das IPB auf drei Fachmessen aus. Die Präsentation des Instituts, in der je ein Forschungsschwerpunkt der vier wissenschaftlichen Abteilungen gezeigt wurde, stieß besonders bei Wissenschaftlern und Journalisten auf reges Interesse. Es erschienen entsprechend mehrere Artikel in überregionalen Zeitungen und Zeitschriften. Ende März präsentierte sich das IPB auf einem von der „BioRegion Halle-Leipzig GmbH“ organisierten Stand während der „Bio 2000“, der größten internationalen Biotechnologie-Fachmesse, in Boston (USA). Finanziell unterstützt wurde dieses Vorhaben durch das InnoRegio Projekt „Pflanzenbiotechnologie Nordharz-Börde“.

Für die „Analytica 2000“ im April in München organisierte die Öffentlichkeitsarbeit des IPB den Messeauftritt von vier Forschungseinrichtungen des Landes Sachsen-Anhalt. Dabei stellten die beteiligten Institute und Hochschulen ihre Ergebnisse auf einem Gemeinschaftsstand der Länder Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen aus. Zum Messebegleitenden Kongress organisierte Prof. Claus Wasternack im Rahmen der GBM einen Workshop zum Thema: „Plant Biotechnology – Novel Food“.

Im Mai nahm das IPB dann am Gemeinschaftsstand des Landes Sachsen-Anhalt, diesmal auf der „Achema 2000“, in Frankfurt teil. Unter anderem wurde das Exponat des IPB vom Leiter des Referats für Biotechnologie (Ref. 6) des BMBF und seinen Mitarbeitern besucht.

Insgesamt konnten für die Teilnahme an den vier Messen über 25.000 DM vom Landesministerium und InnoRegio eingeworben werden, wobei ein Großteil der eingeworbenen Mittel auf die Organisation des Analytica-Stands entfiel.

### Tag der Forschung auf dem Markt in Halle

Ähnlich wie in den Vorjahren nahm das IPB auch in diesem Jahr im Juni wieder am Tag der Forschung der Universität auf dem Marktplatz in Halle teil und präsentierte die Abteilungen auf einem 12 m<sup>2</sup> großen Stand. Während des Tages betreuten Wissenschaftler aller Abteilungen den Stand und diskutierten mit den Bürgern über Wissenschaft und Forschung. „Sie müssen öfter hier auf den Marktplatz kommen und zeigen, dass es hier in Halle soviel Wissenschaft gibt,“ wünschte sich eine 90-jährige Besucherin des Standes. Die jüngsten Besucher waren im Kindergartenalter.

### Grüne Gentechnik zum Anfassen

Im Juni fand eine vierwöchige Ausstellung zum Thema Gentechnik und Pflanzenzüchtung im Foyer des Instituts statt. Das Alimentaryum aus Vevey (Schweiz) stellte die Präsentation „Gen Welten – Ernährung“ dem Institut kostenlos zur Verfügung und leistete den Aufbau. Die Ausstellung beschreibt anschaulich und mit interaktiven Stationen anhand von Beispielen die Grundzüge

und Geschichte der Pflanzenzüchtung und wie die moderne Gentechnik wichtige Zuchtziele unterstützen kann. Aber auch kritische Fragen zur Gentechnik werden angesprochen.

Im Zuge der Vorbereitungen traten wir an das IPK Gatersleben heran, diese Ausstellung ebenfalls zu zeigen. Das vom IPK und IPB gemeinsam vorbereitete Projekt erhielt an beiden Instituten Unterstützung durch das InnoRegio-Projekt „Pflanzenbiotechnologie Nordharz-Börde“. Sowohl am IPB als auch am IPK war die Ausstellung ein voller Erfolg und traf auf breite Zustimmung der Öffentlichkeit und der Wissenschaftler der Einrichtungen. Allein in Halle besuchten etwa 1000 BürgerInnen die Ausstellung, darunter viele Schulklassen, die jeweils auch einen einleitenden Vortrag hörten. In der Presse und im Fernsehen erschienen mehrere Berichte, die zu einem weiteren Zustrom von Interessenten führten.

### **Kunst und Wissenschaft**

Die Ausstellung „Life · Science · Art“ im Foyer des IPB zeigte im Juli die künstlerische Auseinandersetzung von Silvia Stabel mit Objekten und Themen aus der Wissenschaft. Als Gemeinschaftsprojekt der Öffentlichkeitsarbeit des Instituts und der Künstlerin konzipiert, begleiteten erklärende Texte und kurze Zitate von Wissenschaftlern aus dem IPB und anderen Einrichtungen, aber auch von Klassikern die Bilder. Wissenschaft einmal ganz anders aus der Perspektive einer Künstlerin, das wollten wir mit dieser Ausstellung zeigen. „Die Bilder sollen anregen, über Wissenschaft zu diskutieren,“ erklärte die ehemalige Wissenschaftlerin Silvia Stabel.

Titel ihrer Bilder wie „Alphabet des Lebens“, „Hoffnung“ oder „Orientierung“ geben zum einen die wissenschaftlichen Inhalte der Bilder wieder, lassen aber auch den Forscher als Mensch hinter der wissenschaftlichen Arbeit erkennen. Im „Leibniz“ 4/2000 erschien eine Sonderbeilage zur Veranstaltung. Zur Zeit zeigen auch andere Institute und Museen Interesse an der Ausstellung.

### **Besucher am Institut**

Während des Jahres besuchten verschiedene Gruppen das Institut und informierten sich über die wissenschaftlichen Arbeiten, so zum Beispiel Seniorengruppen der Stadt Halle und verschiedene Klassen der umliegenden Schulen.

Schüler des Thomas-Münzer-Gymnasiums Halle führten während ihrer Projektwoche vom 13. – 17. November 2000 wissenschaftliche Versuche in den Abteilungen Natur- und Wirkstoffchemie und Naturstoff-Biotechnologie am IPB durch und informierten sich über die Arbeiten des Instituts. Mitarbeiter der Abteilungen organisierten diesen Besuch. Zum Abschluss erstellten die Schüler ein Poster über ihre „Forschungsarbeiten“.

Andere Schulklassen besuchten die Arbeitsgruppen von Dieter Neumann und Otto Miersch und informierten sich über elektronenmikroskopische und chromatographische Arbeitsmethoden.

### **Inno-Regio – IPB beteiligte sich an Konzeptentwurf**

Das IPB beteiligte sich Anfang 2000 gemeinsam mit anderen Forschungs-

einrichtungen und Verbänden an einem Konzeptentwurf für die PR-Arbeit des InnoRegio Projektes Pflanzenbiotechnologie Nordharz-Börde (InnoPlanta). Seit September steht fest: Das Projekt gehört zu den Gewinnern des 1998 initiierten Wettbewerbes und wird in den nächsten fünf Jahren vom BMBF mit 40 Millionen DM gefördert.

### **3. Kurt-Mothes-Doktoranden-Workshop**

Ende September fand zum dritten Male der „Kurt-Mothes-Doktoranden-Workshop Sekundärstoffwechsel“ statt. Etwa 40 Teilnehmer aus ganz Deutschland folgten der Einladung. Einleitend hielt Prof. Detlef Gröger einen Vortrag über Kurt Mothes und sein Lebenswerk. Organisiert wurde das Treffen durch die Abteilungen „Sekundärstoffwechsel“ und „Naturstoff-Biotechnologie“. Der Fonds der Chemischen Industrie unterstützte die Veranstaltung.

### **Treffen der Hormonforscher**

Vom 2. – 5. März 2000 fand im IPB eine internationale Tagung des DFG-Schwerpunktes „Molekulare Analyse der Phytohormonwirkung“ statt, die von etwa 110 Teilnehmern besucht und von Prof. Claus Wasternack (IPB) und Prof. Ralf Reski (Uni. Freiburg) organisiert wurde.

### **PUSH-Projekt am IPB**

Im Rahmen der PUSH-Initiative des Stifterverbandes für die Deutsche Wissenschaft erhält das Institut Förderung für eine Multimediaanwendung zum Thema Mykorrhiza, die sich an Schulen und Laien richten soll. Im Frühjahr 2001 soll die erste Ausgabe einer CD erscheinen. Der Stifterverband initiierte 1999 diese Aktion, in deren Mittelpunkt der Dialog der Wissenschaft mit der Öffentlichkeit steht.

### **IPB als guter Nachbar**

Am 22. Februar 2000 organisierten Mitarbeiter des Instituts auf privater Basis ein Benefiz-Konzert zu Gunsten der Tafel im Elisabeth-Krankenhaus. Diese Einrichtung versorgt täglich etwa 70 bedürftige Personen mit einer warmen Mahlzeit. Ein Streichtrio bestehend aus Musikern des Gewandhausorchesters Leipzig spielten Stücke von Mozart, Schubert und van Beethoven. Da die Musiker ohne Gage spielten, gilt ihnen besonderer Dank. Stolztes Resultat der Veranstaltung, zu der auch viele ehemalige Mitarbeiter des Instituts kamen: 325 Essen wurden finanziell durch die Mitarbeiter unterstützt.

### **IPB im neuen Gewand**

Im Laufe des Jahres wurde von der Öffentlichkeitsarbeit mit Unterstützung des Grafikbüros verschiedene neue PR Materialien entwickelt. Ferner wurden Geschäftspapiere und andere Materialien vereinheitlicht. Ab 2001 erhält das Institut ein neues Logo. Die Öffentlichkeitsarbeit überarbeitet zur Zeit mit Hilfe der Wissenschaftler die Institutshomepage. Bei der technische Umsetzung hilft Jana Krupik seit November 2000 stundenweise.

## Newsletter

Für Mitarbeiter und Freunde des Instituts erscheint in regelmäßigen Abständen seit September 2000 ein Newsletter mit Informationen rund um das Institutsleben. Der Newsletter wird in einer geringen Auflage im Institut selbst vervielfältigt und an die Mitarbeiter über E-Mail verschickt.

Über die Presse- und Öffentlichkeitsarbeit des Institutes informiert „IPB interaktiv“ – ein kurzer Newsletter, der ein bis zwei Mal jährlich erscheint und den wir auch an Freunde des Instituts verschicken.

## Publikationen

Peerenboom E., Beitrag zu Personalia. *WGL-Journal* **2**, p. 4.

Peerenboom E., Beitrag zu Personalia. *Leibniz* **4**, p. 25.

Peerenboom E., Staffellauf in der Pflanzenzelle. *Berichte aus der Wissenschaft*, Deutscher Forschungsdienst (Bonn) Mai/Juni 13-15.

Peerenboom E., Zusatz für Farbindustrie bald aus Leinöl. *WGL-Journal* **1**, p. 25.

Peerenboom, E. & Stabel, S. Life Science Art. *Leibniz* 4/2000 (Sonderbeilage).

Scheel, D., Froberg, K., Peerenboom, E. & Wakenhut, U. Traditionen verbunden mit neuen wissenschaftlichen Potentialen. In: *Wirtschaftsstandort Halle*, Europäischer Verlag (Darmstadt) pp. 92 – 97.

## Pressemitteilungen

Prof. Dr. Ludger Wessjohann wird neuer Abteilungsleiter der Abteilung Naturstoffchemie am Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie. 26. 10. 2000.

Eine Symbiose aus Kunst und Wissenschaft: Sonderausstellung „Life Science Art“ am IPB. 03. 07. 2000.

Leckere Gene? Gen-Welten Ernährung Sonderausstellung am IPB. 06. 06. 2000.

<b>Übersicht Haushalts- und Drittmittel 2000</b>			
<b>Haushalt</b>			
		in Mio. DM	in %
<b>Grundfinanzierung</b>			
Personalausgaben		8,2	29,2
Sachausgaben		4,1	14,6
Investitionen		11,1	39,5
HSP III		0,1	0,4
<b>Zwischensumme:</b>		<b>23,5</b>	
<b>Drittmittelfinanzierung</b>			
BMBF		0,6	2,1
MK-LSA		1,1	3,9
DFG		2,3	8,2
Industrie		0,3	1,1
EU		0,3	1,0
<b>Zwischensumme:</b>		<b>4,6</b>	
<b>Gesamtsumme:</b>		<b>28,1</b>	<b>100,0</b>
<b>Investitionshaushalt</b>		in Mio. DM	
<b>Großgeräteinvestition gesamt:</b>			<b>4,4</b>
darunter:			
	Anzahlung Massenspektrometer		
	MS MALDI-TOF		
	NMR 400 MHz		
	GC/TOF MS		
	LC-MS		

	LCQ MS/ HPLC		
	Extractor		
<b>Bauinvestitionen gesamt:</b>			<b>6,8</b>
Darin enthalten sind Fortführung der Sanierung Altbausubstanz von			
	Haus C		
	Gewächshäuser		
	Haus A		

### Drittmittleinsatz (Stand 12. 12. 2000)

Projekt (Projektleiter)	Gesamt-Laufzeit	Zuwendungs-/Auftraggeber	Anteil 2000 (in DM)	Bewilligte Personalstellen
<b>Naturstoff-Biotechnologie</b>				
Jasmonatbiosynthese und JIP-Genexpression (Prof. C. Wasternack & O. Miersch)	99/01	SFB 363	110.000	2
Glutamat-Cyclase (Prof. C. Wasternack)	99/00	Probiodrug GmbH	14.900	0
Jasmonat-Biosyntheseregulation (Prof. C. Wasternack & O. Miersch)	99/01	DFG	62.600	1
<i>Papaver somniferum</i> (Prof. T. Kutchan)	00/01	SFB B26	45.000	1
Funktionelle Genomforschung (G. Herrmann)	00/02	DFG	9.000	0
Analysis of genes (Prof. T. Kutchan)	00/02	Icon Genetics	188.400	1
<i>Papaver somniferum</i> (Prof. T. Kutchan)	99/01	DFG	105.600	1
<b>Zwischensumme:</b>			<b>535.500</b>	<b>6</b>

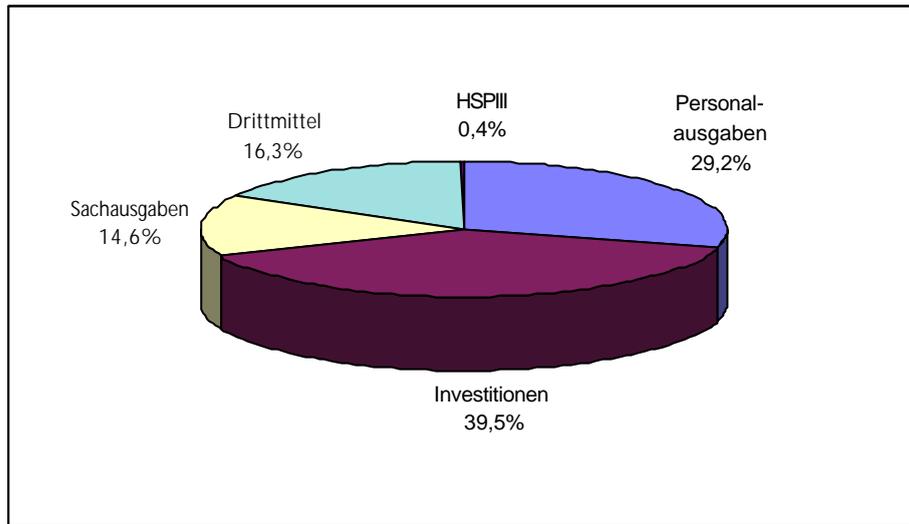
Projekt (Projektleiter)	Gesamt-Laufzeit	Zuwendungs-/Auftraggeber	Anteil 2000 (in DM)	Bewilligte Personalstellen
<b>Abt. Natur- und Wirkstoffchemie</b>				
Brassinosteroidkonformation (A. Porzel)	99/00	DFG	12.600	1
Bioaktive Naturstoffe Jemen (J. Schmidt)	97/02	DFG/GTZ	56.900	0
HEA(N)THOS (Prof. L. Wessjohann)	00/03	BMBF	104.100	2
Kofinanzierung HWP (Prof. L. Wessjohann)	2000	MK-LSA	960.000	0
<b>Zwischensumme:</b>			<b>1.133.600</b>	<b>3</b>
<b>Abt. Stress- und Entwicklungsbiologie</b>				
Schwermetalltoleranz (D. Neumann, S. Clemens)	99/01	SFB 363	62.000	1
Signaltransduktion (Prof. D. Scheel)	99/01	SFB 363	180.000	2
Signaltransduktion (Prof. D. Scheel)	99/00	DFG	5.700	0
Pathogen-Abwehrgene (Prof. D. Scheel)	98/00	DFG	58.600	2
Elicitorrezeptoren (T. Nürnberger)	99/01	DFG	83.900	2
Hitzestressproteine (D. Neumann)	98/00	DFG	16.200	1
Abwehrjasmonat (Prof. D. Scheel)	99/01	DFG	64.300	1
Innovationskolleg (Prof. D. Scheel)	99/00	DFG	49.900	1
Jasmonat-insensitive Mutante (S. Berger)	99/02	MK-LSA	46.500	1
Signals, delivery and response (T. Nürnberger)	97/00	EU	134.100	1
Chromatin und Genregulation (Prof. D. Scheel, ehemals B. Tschiersch)	99/01	SFB 363	67.000	1
Nichtwirtsresistenz (T. Nürnberger)	98/01	KWS	134.820	1
CRISP (Prof. D. Scheel)	00/02	EU	104.300	1
Pflanzenpeptide (Prof. D. Scheel)	2000	DFG	900.000	0
Schwermetalltoleranz (U. zur Nieden)	00/03	MK-LSA	27.100	1
Gene silencing	00/01	MK-LSA	61.900	1

(Prof. D. Scheel)				
Projekt (Projektleiter)	Gesamt-Laufzeit	Zuwendungs-/Auftraggeber	Anteil 2000 (in DM)	Bewilligte Personalstellen
GABI (S. Clemens)	00/04	BMBF	375.000	4
<i>Arabidopsis halleri</i> (S. Clemens)	00/02	DFG	5.000	1
<b>Zwischensumme:</b>			<b>2.376.320</b>	<b>22</b>
<b>Abt. Sekundärstoffwechsel</b>				
Betalaine (W. Schliemann, Prof. D. Strack)	99/01	DFG	57.500	1
Endomykorrhiza (Prof. D. Strack)	98/00	DFG	27.200	1
Glykosyltransferasen (T. Vogt, Prof. D. Strack)	99/01	DFG	87.300	2
Isoprenoidstoffwechsel (M. Walter, T. Fester)	00/03	DFG	55.400	1
TIMBER (M. Walter)	98/00	EU	11.000	1
NAPUS 2000 (Prof. D. Strack)	99/04	BMBF	162.300	2
Jasmonat, Entw., Transformation v. Gerste (B. Hause)	99/01	DFG	59.800	1
Jasmonate bei Ausbildung von Mykorrhiza (B. Hause)	00/02	DFG	29.900	1
Mykorrhizaspez. Carotinoidsynthese (T. Fester)	00/02	DFG	32.800	1
<b>Zwischensumme:</b>			<b>523.200</b>	<b>11</b>
<b>Wissenschaftlicher Querschnitt</b>				
Analytika München (E. Peerenboom)	2000	MK-LSA	21.900	0
Achema Frankfurt (E. Peerenboom)	2000	MK-LSA	2.500	0
PUSH: Multimedia -Anwendung zum Thema „Mykorrhiza“ (T. Fester, E. Peerenboom)	<b>00/01</b>	Stifterverband Deutsche Wissenschaft	6.000	0
<b>Zwischensumme:</b>			<b>30.400</b>	<b>0</b>
<b>Summe der bewilligten Projekte:</b>			<b>4.599.120</b>	<b>42</b>

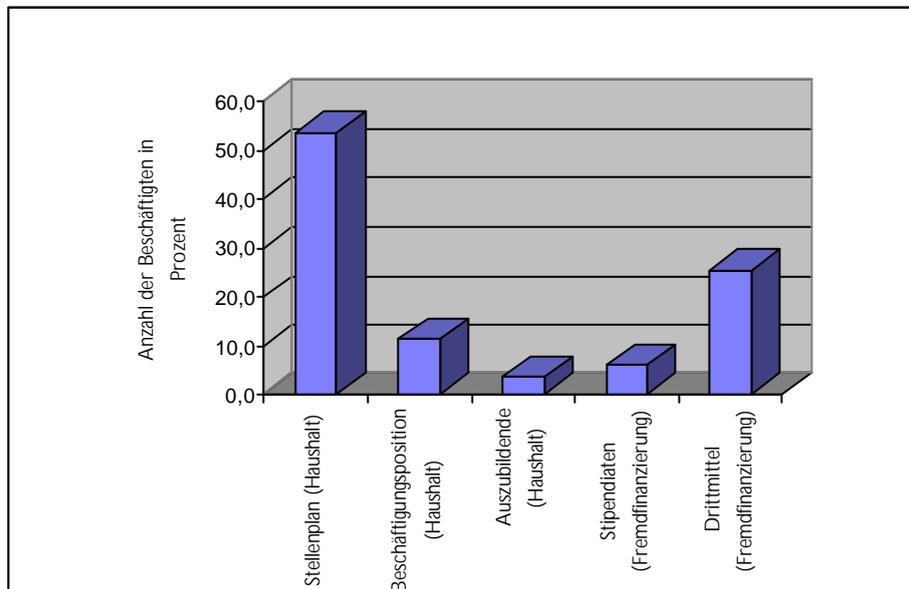
## Stellenplan 2000

<b>Anzahl der Mitarbeiter im Jahresdurchschnitt:</b>	<b>166</b>
Anteil der Vollbeschäftigten:	77 %
Anteil der Teilzeitbeschäftigten:	23 %
Anzahl der Planstellen:	89
Beschäftigungspositionen Haushalt:	19
Anzahl der Mitarbeiter über Drittmittel (im Durchschnitt):	42
Anzahl der Mitarbeiter über HSP III (bis 31. Mai 2000):	1 Postdoktorand
Anteil der weiblichen Beschäftigten:	60 %
Fluktuationsrate:	16,4%
Durchschnittsalter aller Beschäftigten:	40 Jahre
Berufsausbildung:	
- im kaufmännische Bereich:	2
- in der Gärtnerei:	3
- in der Bibliothek:	1
erfolgreiche Berufsabschlüsse im Jahr 2000:	4
Anzahl der Auszubildenden im Durchschnitt:	6
Anzahl der Gastwissenschaftler (inkl. Stipendiaten):	ca.10 Mitarbeiter im Durchschnitt

## Schematische Darstellung des Haushaltes



## Beschäftigungsgruppen & Finanzierungsgrundlage



## Gastwissenschaftler

Im Durchschnitt hielten sich zehn **Gastwissenschaftler** am Institut auf, darunter auch Stipendiaten.

<p><b>Abt. Naturstoff-Biotechnologie:</b></p> <p><b>Arsyak Abrahamyan,</b> (04.07.00 bis 31.12.00), Armenien</p> <p><b>Tamara Krupnova,</b> (01.01.00 bis 30.04.00), Kasachstan</p> <p><b>Anan Ounaroon</b> (seit 26.07.99), Thailand</p> <p><b>Samapitto Supachai,</b> (seit 04.05.00), Thailand</p> <p><b>Satinder Gidda,</b> (05.04.00 bis 04.06.00), Kanada</p> <p><b>Prof. Gülacti Topcu,</b> (02.04.00 bis 02.07.00), Türkei</p> <p><b>Abt. Natur- und Wirkstoffchemie:</b></p> <p><b>Dr. Nguyen Hoang Anh</b> (seit 01.09.00), Vietnam</p>	<p><b>Abt. Stress- &amp; Entwicklungsbiologie:</b></p> <p><b>Dr. Anne-Claire Cazalé,</b> (seit 01.02.00), Frankreich</p> <p><b>Dr. Anano Dinakar Karve,</b> (16.11.99 bis 14.02.00), Indien</p> <p><b>Dr. Magdalene Krzymowska,</b> (seit 01.08.99), Polen</p> <p><b>Abt. Sekundärstoffwechsel:</b></p> <p><b>Dr. Nirmal Sahay</b> (01.01.00 bis 31.12.00), Indien</p> <p><b>Dr. Sudha Sahay</b> (DAAD Stipendiatin) (seit 24.09.99), Indien</p>
---	--

## Impressum

<b>Herausgeber:</b>	Institut für Pflanzenbiochemie (IPB) Presse- und Öffentlichkeitsarbeit Weinberg 3 06120 Halle (Saale)
<b>Telefon:</b>	0345 5582 1110
<b>Fax:</b>	0345 5582 1119
<b>E-Mail:</b>	<a href="mailto:pr@ipb-halle.de">pr@ipb-halle.de</a>
<b>Redaktion:</b>	Ellen Peerenboom
<b>Texte:</b>	Für den Inhalt der wissenschaftlichen Texte sind die jeweiligen Abteilungs- und Gruppenleiter verantwortlich; weitere Texte: Ellen Peerenboom & Prof. Dierk Scheel
<b>Layout:</b>	Ellen Peerenboom

Alle Rechte vorbehalten. Diese Publikation sowie Teile derselben sind urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung in anderen als den gesetzlich zugelassenen Fällen ist ohne vorherige schriftliche Zustimmung des Herausgebers nicht zulässig. Alle Angaben von Daten und alle Literaturangaben in diesem Bericht beziehen sich, soweit nicht ausdrücklich anders erwähnt, auf das Jahr 2000. Der Jahresbericht 2000 erscheint nur auf Deutsch. © 2001 Institut für Pflanzenbiochemie (IPB), Halle.