



**Institut für Pflanzenbiochemie, Halle (Saale)**  
*ein Leibniz-Institut*

## **Jahresbericht 2001**

Weinberg 3  
06120 Halle (Saale)  
Deutschland  
Tel.: +49 (0) 3 45 - 55 82 - 0  
Fax: +49 (0) 3 45 - 55 82 10 09  
[www.ipb-halle.de](http://www.ipb-halle.de)

## Inhalt

<b>Vorstellung des Instituts</b> .....	<b>4</b>
<b>Entwicklung des Instituts im Jahre 2001</b> .....	<b>4</b>
ORGANE DES INSTITUTS.....	7
DIREKTORIUM IN SEINER ZUSAMMENSETZUNG AM 31. 12. 2001: .....	7
DER STIFTUNGSRAT.....	7
DER WISSENSCHAFTLICHE BEIRAT (STAND VOM 31. 12. 2001).....	8
DER WISSENSCHAFTLICHE INSTITUTSRAT .....	8
MITARBEITER DES IPB IN SPEZIELLEN FUNKTIONEN.....	9
MITGLIEDER DES PERSONALRATS.....	9
ABTEILUNGSSTRUKTUR DES IPB .....	11
<b>Abteilung Naturstoff-Biotechnologie</b> .....	<b>13</b>
ALKALOID-BIOSYNTHESE .....	14
SCHLAFMOHN-BIOTECHNOLOGIE .....	15
PFLANZLICHE ZELLKULTUREN .....	16
FUNCTIONAL GENOMICS.....	17
JASMONATWIRKUNGSWEISE.....	18
NATURSTOFFANALYTIK.....	19
PUBLIKATIONEN .....	20
PATENTE.....	21
<b>Abteilungsübergreifendes Projekt NWC-NBT: Sekundärmetabolismus in Hopfen (Humulus)</b> .....	<b>23</b>
<b>Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie</b> .....	<b>25</b>
SYNTHESE UND METHODENENTWICKLUNG .....	26
BIOKATALYSE UND LIGANDENDESIGN.....	27
PFLANZEN- UND PILZINHALTSSTOFFE / MIKROANALYTIK.....	28
STRUKTURANALYTIK & COMPUTERCHEMIE.....	29
PUBLIKATIONEN .....	30
<b>Abteilungsübergreifendes Projekt: GABI</b> .....	<b>33</b>
<b>Abteilung Stress- und Entwicklungsbiologie</b> .....	<b>34</b>
SIGNALERKENNUNG IN PFLANZE-PATHOGEN INTERAKTIONEN.....	35
ZELLULÄRE SIGNALTRANSDUKTION.....	36
SIGNALTRANSDUKTIONSMUTANTEN.....	37
INDUZIERTE PATHOGENABWEHR.....	38
SCHWERMETALLTOLERANZ.....	39
CHROMATIN UND GENREGULATION.....	40
PUBLIKATIONEN .....	41
<b>Abteilung Sekundärstoffwechsel</b> .....	<b>45</b>
ZELLBIOLOGIE DER MYKORRHIZA.....	46
MOLEKULARE PHYSIOLOGIE DER MYKORRHIZA.....	47
BIOCHEMIE DER BETALAINE.....	48
MOLEKULARE PHYSIOLOGIE UND PHYLOGENIE DER BETALAINE .....	49
HYDROXYZIMTSÄUREN .....	50
PUBLIKATIONEN .....	51
BUCHBEITRAG.....	52

<b>Nahtstelle zwischen Wissenschaft und Öffentlichkeit .....</b>	<b>55</b>
CORPORATE DESIGN.....	55
NEUER INTERNETAUFTRITT.....	55
NEWSLETTER.....	55
JOBBOERSE LEIPZIG .....	55
PARLAMENTARISCHER ABEND DER LEIBNIZ-GEMEINSCHAFT.....	55
TAG DER FORSCHUNG.....	56
BIOTECHNICA 2001.....	56
JAHRESTAGUNG DER LEIBNIZ-GESELLSCHAFT (WGL).....	56
LERNMATERIAL FÜR SCHÜLER.....	56
SCHÜLERFÜHRUNGEN UND SCHÜLERPRAKTIKA.....	57
PRESSEMITTEILUNGEN .....	57
<b>Übersicht Haushalts- und Drittmittel 2001 .....</b>	<b>59</b>
DRITTMITTELEINSATZ (STAND 31.12.2001) .....	60
STELLENPLAN 2001 .....	63
SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES HAUSHALTES.....	64
BESCHÄFTIGUNGSGRUPPEN & FINANZIERUNGSGRUNDLAGE .....	64
GASTWISSENSCHAFTLER.....	65
<b>Impressum .....</b>	<b>66</b>

## Vorstellung des Instituts

Das Institut für Pflanzenbiochemie in Halle wurde am 01.01.1992 als außeruniversitäres Forschungsinstitut der sogenannten „Blauen Liste“ gegründet. Aus dem Zusammenschluss der „Blau-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 105 Mitarbeiter aus Haushaltsmitteln und weitere 41 über Drittmittelfinanzierung beschäftigt werden. Das Forschungsprofil des Institutes weist unverwechselbare Züge in der deutschen Wissenschaftslandschaft auf. Im Mittelpunkt der Forschungsaktivitäten steht die umfassende Analyse pflanzlicher und pilzlicher Naturstoffe, die Untersuchung der Wechselwirkung von Pflanzen mit Pathogenen, Symbionten und abiotischen Stressoren und das Studium molekularer Interaktionen als Teil komplexer biologischer Prozesse. Dabei 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 2001

Das IPB kann für das Jahr 2001 eine sehr positive Bilanz vorlegen. Mit Beginn des Jahres waren durch das Eintreffen von Prof. Ludger Wessjohann Ende 2000 alle vier wissenschaftlichen Abteilungen mit neuen Abteilungsleitern besetzt. Mit dem kontinuierlichen Prozess der Etablierung der Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie ging die verstärkte Einbindung in die Institutsstruktur einher. Das erforderte eine erste **Neufassung des Forschungskonzeptes**, das im Entwurf dem wissenschaftlichen Beirat und dem Stiftungsrat vorgelegt und von beiden sehr positiv bewertet wurde. Danach bilden vier thematisch, methodisch und organisatorisch vernetzte Schwerpunkte die Grundlage des Forschungskonzeptes des IPB: pflanzliche Naturstoffe, molekulare Interaktionen, Informatik und metabolic engineering. Besondere Anstrengungen erforderte die zur Bearbeitung der rapide wachsenden Datenmengen dringend notwendige Etablierung von Bioinformatikkapazitäten. Gemeinsam mit dem Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) Gatersleben und dem Institut für Informatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg gelang es dem IPB, das für fünf Jahre vom BMBF geförderte Bioinformatikzentrum Gatersleben-Halle ins Leben zu rufen. Im Rahmen dieses Zentrums wird eine von fünf Nachwuchsgruppen im Laufe des Jahres 2002 am IPB etabliert. Sie wird sich mit der bioinformati-

schen Bearbeitung massenspektroskopischer Daten aus Metabolomic- und Proteomic-Projekten befassen.

Im Sommer fand zum zweiten Mal eine zweitägige **wissenschaftliche Institutstagung** statt, auf der alle Wissenschaftler des IPB ihre Projekte gemeinsam diskutierten. In diesem Jahr fand diese Veranstaltung in einem hervorragenden Rahmen in der Leucorea in Wittenberg statt. Es ergaben sich neue Ansätze für abteilungsübergreifende Kooperationen, Methoden und Materialtransfer.

Das neue Forschungskonzept und die Etablierung der Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie erfordern die Einrichtung neuer vor allem chemisch-analytischer Techniken, für die ein Funktionalgebäude errichtet werden soll. Mit den Arbeiten soll im Jahr 2002 begonnen werden. Weitere **wichtige Baumaßnahmen** des Jahres 2001 betrafen die Sanierung von Haus A. Das erforderte den Umzug der Abteilung Sekundärstoffwechsel und der Verwaltung in provisorische Räumlichkeiten, wodurch deren Arbeit erheblich beeinträchtigt wurde. Im Frühjahr wurde der erste Bauabschnitt des neuen Gewächshausbereiches fertiggestellt, wodurch sich seit langem dringend notwendige Verbesserungen der Arbeitsbedingungen in diesem Bereich ergaben.

Die **Zusammenarbeit** mit der **Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg** war auch 2001 intensiv und produktiv. Im Frühjahr veranstalteten die Universität und das IPB im Rahmen eines auslaufenden Innovationskollegs eine gemeinsame internationale Tagung zur Stressphysiologie, die auf sehr großes Interesse stieß. Im September wurde der SFB 363, an dem das IPB mit drei Projekten beteiligt ist, erfolgreich in einer wissenschaftlichen Begutachtung verteidigt. Dieser SFB wird deshalb mit einer vierten Periode bis Ende 2004 weiter bestehen. Das bereits erwähnte Biozentrum Gatersleben-Halle kann als besonderer Erfolg der beteiligten Institute gewertet werden. Im Rahmen dieses Zentrums wurde im Wintersemester ein Aufbaustudiengang Bioinformatik eingerichtet, für den das IPB einmal jährlich ein Praktikum anbietet. Weitere Forschungsk Kooperationen mit der Martin-Luther-Universität bestehen über ein Graduiertenkolleg, eine DFG-geförderte Forschungsgruppe und Kooperation auf individueller Ebene. Darüber hinaus sind Mitglieder des IPB in vielfältiger Weise in die Lehre der Fachbereiche Biologie, Chemie und Pharmazie eingebunden. Das IPB beteiligte sich wiederum am Universitätstag auf dem Marktplatz.

Die Zusammenarbeit mit der **Fachhochschule Anhalt** wurde im Bereich der Ausbildung intensiviert. Studenten des Studienganges Biotechnologie können am IPB ihr fünfmonatiges Praktikum absolvieren und eine Mitarbeiterin des Instituts hält eine Vorlesung an dieser Fachhochschule.

Im Frühjahr gründete das IPB mit dem IPK und den Max-Planck-Instituten für molekulare Pflanzenphysiologie in Golm und chemische Ökologie in Jena das **Plant Metabolism Network** (PlantMetaNet, [www.plantmetanet.de](http://www.plantmetanet.de)). Die Zielsetzung dieses Kompetenzzwerpunktes liegt in der verstärkten gemeinsamen Nutzung von Geräten und anderen Ressourcen, dem verbesserten Informationsaustausch auf allen Ebenen und der gemeinsamen Einwerbung von Drittmitteln. Im Sommer fand zum ersten Mal der jährliche PlantMetaNet-Workshop in der Leucorea in Wittenberg statt.

Unter Vorsitz von Prof. Axel Zeeck fand am 04. und 05.10.2001 die 10. **Sitzung des Wissenschaftlichen Beirats** im IPB statt. Dabei bewertete der Beirat die Arbeit des IPB im Berichtsjahr sehr positiv und unterstützte die dem Stiftungsrat zur Entscheidung vorzulegenden Anträge. Aufgrund satzungsgemäßer Bestimmungen schieden Prof. Amrhein, Prof. Hartmann, Prof. Steglich, Dr. von Szczepanski, Dr. Wolf und der langjährige Vorsitzende Prof. Zeeck als Mitglieder des Beirates aus. Für ihre lange konstruktive Mitarbeit bedankt sich das IPB bei allen ausscheidenden Mitgliedern des Beirates.

Unter Vorsitz von Frau Ltd. MDgt'in Dr. Berg fand am 22. und 23.11.2001 die 10. **Sitzung des Stiftungsrates** im IPB statt. Der Stiftungsrat schloss sich auf seiner Sitzung der positiven Bewertung der Arbeit des IPB durch den Wissenschaftlichen Beirat an. Prof. Reinhard Neubert, Prorektor für Forschung und wissenschaftlichen Nachwuchs der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, wurde für eine zweite Amtsperiode als Vertreter des wissenschaftlichen Lebens in den Stiftungsrat berufen. Da sie Anfang 2002 in den Ruhestand geht, war dies für Frau Dr. Berg die letzte Sitzung des Stiftungsrates. Nach acht Jahren äußerst aktiver Mitgliedschaft im Stiftungsrat schied auch Prof. Karl-Heinz Büchel aufgrund satzungsgemäßer Bestimmung aus diesem Gremium aus. Wegen seines Ausscheidens aus dem Wissenschaftlichen Beirat endete auch für Prof. Zeeck die Mitgliedschaft im Stiftungsrat. Für ihre lange konstruktive Tätigkeit im Stiftungsrat bedankt sich das IPB herzlich. Als sein Nachfolger wurde Prof. Jörg Stetter, Bayer-AG berufen. Der Stiftungsrat berief Prof. Bohland, Dr. habil. Strittmatter, Prof. Welzel und Prof. Wobus für eine zweite Amtsperiode in den wissenschaftlichen Beirat und berief Prof. Boller, Prof. Kunz, Prof. Tietze und Prof. Willmitzer als neue Mitglieder in den Beirat. Schließlich wurde der Administrative Leiter des IPB, Lothar Franzen, dessen Amtsperiode am 31.12.2002 endet, für weitere fünf Jahre bis zum 31.12.2007 in seinem Amt bestätigt.

## 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. 2001:

<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>Rainer Gross</b>	Bundesministerium für Bildung und Forschung Stellvertretender Vorsitzender
<b>Prof. Karl-Heinz Büchel</b>	Vormals Forschungsleiter Bayer AG
<b>Prof. Reinhard Neubert</b>	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
<b>Dr. Wolfgang Rechner</b>	Kultusministerium des Landes Sachsen-Anhalt
<b>Dr. Hans-Jürgen Strunck</b>	Bundesministerium für Bildung und Forschung
<b>Prof. Axel Zeeck</b>	Georg-August-Universität Göttingen

### Der Wissenschaftliche Beirat (Stand vom 31. 12. 2001)

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

<b>Prof. Axel Zeeck</b> (Vorsitzender)	Institut für Organische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen
<b>Prof. Wilhelm Boland</b> (Stellv.)	MPI für Chemische Ökologie, Jena
<b>Prof. Nikolaus Amrhein</b>	ETH Zürich
<b>Prof. Alfons Gierl</b>	Technische Universität München
<b>Prof. Thomas Hartmann</b>	Institut für Pharmazeutische Biologie, Technische Universität Braunschweig
<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 v. 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 Kultur- pflanzenforschung, 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 2001 wie folgt zusammen:

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

### Mitarbeiter des IPB in speziellen Funktionen

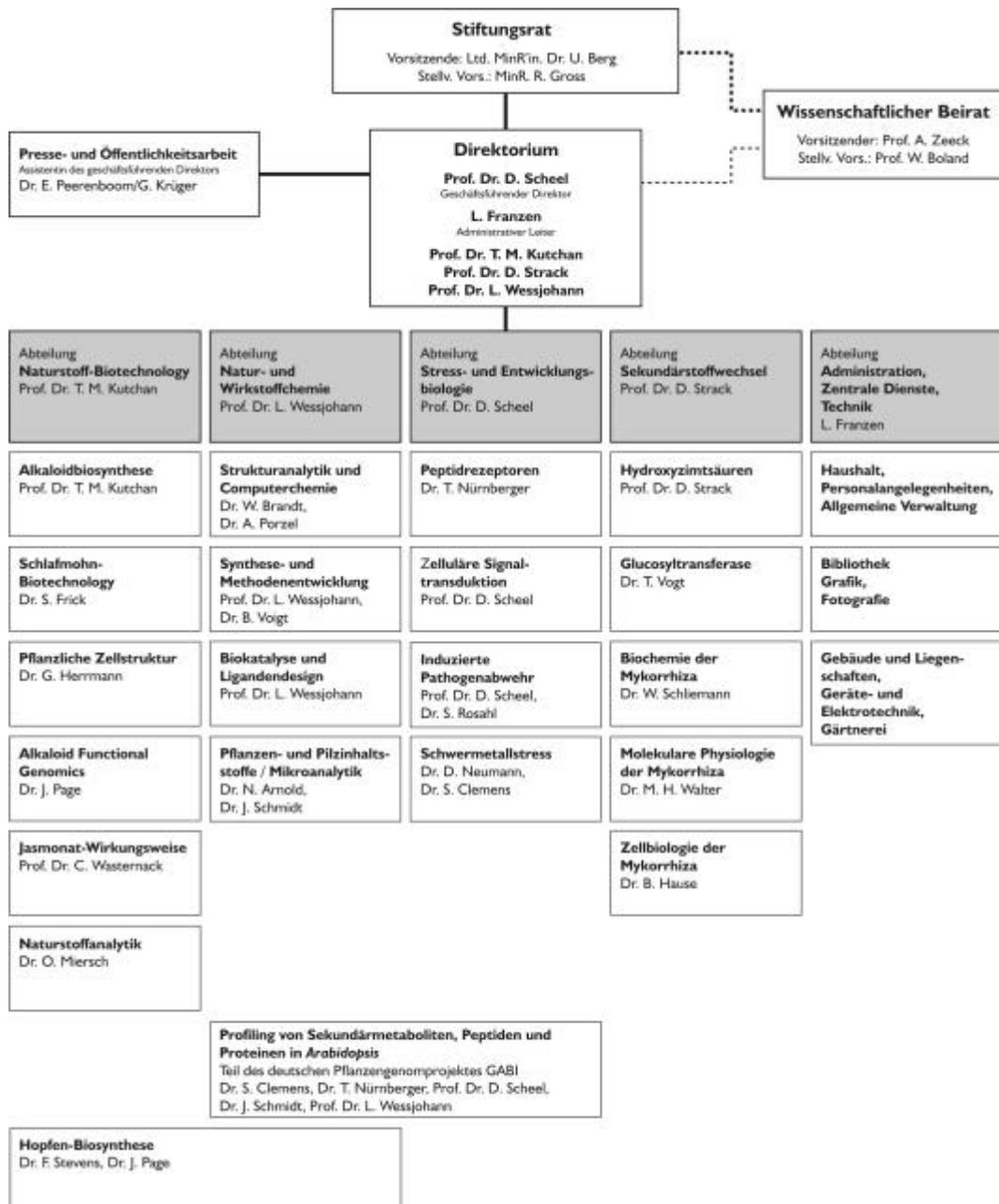
<b>Arbeitssicherheit</b> <i>(Sicherheitsingenieur)</i>	Dr. Hans-Jürgen Steudte
<b>Biologische Sicherheit</b>	Dr. Sabine Rosahl
<b>Datenschutz</b>	Dr. Willibald Schliemann
<b>Energie</b>	Hans-Günter König
<b>Gleichstellungsbeauftragte</b>	Christel Rülke
<b>Presse- und Öffentlichkeitsarbeit</b>	Dr. Ellen Peerenboom Gesine Krüger
<b>Projektleiter GenTG</b>	Prof. Dierk Scheel, Prof. Claus Wasternack
<b>Schwerbehinderten Beauftragte</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>	Andrea Piskol
<b>Stellvertretender Vorsitzender</b>	Peter Schneider
<b>Weitere Mitglieder</b>	Martina Lerbs Dr. Susanne Frick Angelika Weinel



## Abteilungsstruktur des IPB





## Abteilung Naturstoff-Biotechnologie

Das Forschungsthema der Abteilung Naturstoff-Biotechnologie ist die Molekulargenetik von Naturstoffbiosynthesen in Arzneipflanzen. Dazu besitzt das IPB eine Zellkultursammlung (ca. 250 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 potentesten natürlichen Giftstoffe gerade zu dieser Substanzklasse. In den meisten Fällen werden auch heute noch die in Arzneipflanzen enthaltenen Alkaloide aus Pflanzen isoliert. Der Grund dafür liegt in ihren teilweise überaus komplizierten Strukturen, die nicht chemisch synthetisierbar oder wirtschaftlich nur unrentabel zu erhalten sind.

Eine etablierte analytisch/synthetische Chemie und Enzymologie bei der Aufklärung dieser Biosynthesewege vervollständigt das breite Spektrum an molekulargenetischen Methoden in unserer Alkaloidforschung. Zusätzlich sollen ausgewählte Arzneipflanzen genetisch verändert 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;
- „Gene-Silencing“-Methoden mittels viraler Vektoren;
- EST und Makroarray Methoden

Die pflanzlichen Zellkulturen und Ganzpflanzensysteme werden darüber hinaus auch verwendet, um eine Analyse der Funktion von Jasmonaten und Octadecanoiden durchzuführen. Diese Stoffe sind als Signale der Abwehrreaktionen der Pflanze auf Stress und als Signale pflanzlicher Entwicklungsprozesse erkannt worden. Durch molekulargenetische Methoden wird 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.

## Alkaloid-Biosynthese

Gruppenleiterin: Toni M. Kutchan

Postdoktoranden: Jörg Ziegler, Robert Kramell

Doktoranden: Torsten Grothe, Anan Ounaroon, Marion Weid

Technische Assistentinnen: Silvia Wegener, Monika Krohn

Alkaloid-haltige Pflanzen sind ein Teil der ursprünglichen *'materia medica'* der Menschheit. Eines der am meisten gebräuchlichen medizinischen Alkaloide ist das antitussiv und analgetisch wirksame Kodein aus dem Schlafmohn *Papaver somniferum* L. *P. somniferum* produziert mehr als 80 verschiedene Alkaloide und ist damit gegenwärtig eine der wichtigsten erneuerbaren Ressourcen für pharmazeutische Alkaloide. Diese sind alle von der Aminosäure L-Tyrosin abgeleitet und besitzen das Tetrahydrobenzylisochinolin 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 Alkaloidbiosynthese und ihre Regulation auf molekularbiologischer Ebene zu verstehen. Wir haben unsere Arbeit fortgesetzt, cDNA's zu isolieren, die für Enzyme der Morphin-, Sanguinarin- und Narkotinbiosynthese in Schlafmohn kodieren, und sie funktionell zu exprimieren. Die Gene, die bis jetzt isoliert werden konnten, beinhalten: die **Norococlaurin-6-O-Methyltransferase**, die (S)-N-Methylcoclaurin-3'-Hydroxylase und die Cytochrom P-450-Reduktase, die sowohl an der Sanguinarin- als auch der Morphinbiosynthese beteiligt sind, das Berberinbrückenenzym, das für die Sanguinarinbiosynthese charakteristisch ist, die **Salutaridinol-7-O-Acetyltransferase** und die Codeinon-Reduktase, die für die Morphinbiosynthese spezifisch sind sowie die **Retikulin-7-O-Methyltransferase**, die vermutlich für die Narkotinbiosynthese spezifisch ist.

Wir verwenden diese cDNAs, um *in situ* Hybridisierungs-Experimente an Gewebeschnitten von Schlafmohn durchzuführen. Ferner verwenden wir die cDNAs, um die einzelnen Enzyme entweder in bakteriellen Systemen oder in Insektenzellen heterolog zu exprimieren und nach Reinigung anschließend als Antigene zur Produktion von Antikörpern zu verwenden. Diese Antikörper sollen zur Immunlokalisation der Proteine in Gewebeschnitten von Schlafmohn verwendet werden. Die neu isolierten Klone wurden außerdem zur Transformation in Schlafmohn an die Arbeitsgruppe von Susanne Frick weitergegeben.

Wir setzen eine cDNA-FPLC-Analyse fort, die den Wildtyp mit einer Morphinfreien Mutante von Schlafmohn vergleicht. Ein unterschiedlich exprimierter cDNA-Klon wird momentan charakterisiert. Wir haben in diesem Jahr mit einem Schlafmohn EST-Projekt begonnen. Wir erwarten von diesen beiden Projekten Informationen über die Gene der Morphinbiosynthese und deren Regulationsfaktoren.

## Schlafmohn-Biotechnologie

*Gruppenleiterin: Susanne Frick*

*Technische Assistentinnen: Sandra Barth, Anja Zeuner*

*Praktikantinnen: Sophie Bundtzen (17.05. – 03.07.2001),*

*Nancy Eichler (02.01. – 31.03.2001), Kerstin Liphardt (05.11. – 14.12.2001)*

Mit mehr als 80 verschiedenen Alkaloiden ist Schlafmohn (*Papaver somniferum* L.) nach wie vor eine der am wichtigsten industriell genutzten Arzneipflanzen. Der Schlafmohn ist eine erneuerbare Ressource für eine Vielzahl medizinisch relevanter Alkaloide. Zu diesen Substanzen zählen unter anderem das Analgetikum Morphin, das Antitussivum Codein, das Muskelrelaxans Papaverin, das Antitumor Agens Noscapin und das antimikrobiell wirksame Sanguinarin. Den Schwerpunkt der Forschungsarbeiten bildete die Etablierung eines Transformationssystems für Schlafmohn, um die Regulation und die ökologische Funktion der Benzylochinolin-Alkaloide zu untersuchen. Durch „metabolic engineering“ wollen wir für die Pharmaindustrie den Gehalt an therapeutisch wichtigen Alkaloiden gezielt steigern. Alkaloid-freie Mohnsorten könnten von der Nahrungsmittelindustrie für die Produktion von Mohnöl verwendet werden.

Während der letzten Jahre konnten verschiedene Gene der Retikulin-, Sanguinarin- und Morphin-Biosynthese kloniert werden. Diese Biosynthesen sind auf enzymatischem Niveau nahezu vollständig aufgeklärt. Trotzdem sind die molekularen und biochemischen Mechanismen, welche diese Stoffwechselwege regulieren, nicht bekannt. Der Schwerpunkt des vorgestellten Projekts ist deshalb die Entwicklung eines Transformations- und Regenerationssystems für Schlafmohn. Da Morphin auch die Grundlage zur illegalen Produktion von Heroin darstellt, verhindert vor allem der Gehalt an Morphinan-Alkaloiden den Anbau von Schlafmohn als Nutzpflanze. Aus diesem Grund können die Samenöle von der chemischen Industrie nur zur Produktion von Farbstoffen und Lacken verwendet werden. Durch eine vollständige Suppression der Morphinbiosynthese in Schlafmohn könnte diese Pflanze jedoch zu einer „harmlosen“ Nutzpflanze werden. Zuchtprogramme und Mutationen erbrachten bisher keine Erfolge. Die Biosynthese der Alkaloide konnte bestenfalls verringert werden. Die Transformation von Schlafmohn stellt nun eine Alternative dar, um dieses Problem zu umgehen. Sowohl für eine gezielte Veränderung einzelner Morphinan-Alkaloide als auch eine vollständige Suppression der Morphinbiosynthese sind jedoch genaue Kenntnisse über die Regulation und Funktion der Benzylochinolin-Alkaloide nötig. Wir haben unter Verwendung agrobakterieller Shuttle Vektoren verschiedene cDNAs, die für Enzyme der Morphin- und Sanguinarin-Biosynthese codieren, in sense und antisense Orientierung in Schlafmohn transformiert. Bis heute konnten 158 Pflanzen regeneriert werden. Von den bisher mittels PCR analysierten 126 Pflanzen waren 84 transgen. In den Alkaloidprofilen dieser T0-Pflanzen sind erhöhte bzw. verminderte Alkaloidkonzentrationen mittels HPLC und CE nachweisbar. Die Analyse der ersten transgenen T1-Pflanzen wird zeigen, ob diese Merkmale in die T1-Generation weitervererbt wurden.

## Pflanzliche Zellkulturen

*Gruppenleiterin: Gabriele Herrmann*

*Technische Assistentinnen: Ingeborg Reeh, Domenika Arndt*

*Gastwissenschaftler: Nigel Bailey*

**Auch weiterhin ist die wichtigste Aufgabe der Arbeitsgruppe die Erhaltung und Fortführung der relativ umfangreichen Zellkultursammlung. Diese Sammlung besteht aus Zellkulturen von etwa 250 Pflanzenarten, von denen 40 als Suspensionen und alle anderen als Kalluskulturen wachsen. Der zweite Schwerpunkt der Gruppe ist die Bearbeitung eines seit August 2000 genehmigten DFG-Projekts mit dem Thema: "Funktionsbestimmung von Genen in pflanzlichen Zellkulturen unter Verwendung viraler Vektoren". Molekulargenetische Methoden sollen zur Untersuchung pflanzlicher Biosynthesen und deren Regulation genutzt werden. Dabei sollen virale Vektoren als Träger bestimmter genetischer Informationen zum Einsatz kommen.**

Unsere Arbeiten für das DFG-Projekt konzentrierten sich bisher auf Untersuchungen einer Suspensionskultur von *Eschscholzia californica*, die das rot fluoreszierende Alkaloid Sangüinarin produziert. Zu Vergleichszwecken arbeiteten wir auch mit *Nicotiana tabacum* und *Morinda citrifolia*. Aus den Suspensionen dieser Kulturen können in kurzer Zeit Protoplasten guter Qualität und Lebensfähigkeit isoliert werden, die dann für die Infektion mit viralen Vektoren, die Klone einer "Antisense"-DNA-Bibliothek zur Veränderung des Biosyntheseweges enthalten, zur Verfügung stehen. Ein positiver Klon ist dann in der Lage, den normalen Biosyntheseweg zu unterbrechen, was durch Farbverlust sehr schnell nachweisbar wäre. Der ursprüngliche Plan zur Regenerierung infizierter Protoplasten zu einer neuen Suspensionskultur mußte wegen des sehr hohen zeitlichen Aufwandes aufgegeben werden. Für die Regenerierung wurden frisch isolierte Protoplasten in Alginate eingebettet und durch Medien mit unterschiedlicher hormoneller Zusammensetzung zu Zellteilung und Wachstum angeregt. Dieser Prozess benötigt jedoch zwei bis drei Monate und die Gefahr von Unsterilitäten ist über einen so langen Zeitraum mit häufigem Medienwechsel groß. Wir konnten bei unseren Untersuchungen jedoch feststellen, dass Protoplasten von *Eschscholzia* mindestens so gut elicitierbar sind wie die entsprechende Suspension und damit die durch die Infektion induzierte Störung in der Alkaloidbiosynthese innerhalb von 48 h nachweisbar wäre. Die Menge der dazu benötigten Protoplasten in einer Untersuchungsprobe ist auch groß genug für die Lokalisation und Charakterisierung einer festgestellten Biosyntheseveränderung. Erste Erfahrungen zur Arbeit mit viralen Vektoren hinsichtlich Konstruktion und Transfektion liegen vor. Die Verwendung eines Vektors, in welchen wir zum schnellen Nachweis einer erfolgreichen Transfektion die cDNA von GFP klonierten, war allerdings bisher nicht erfolgreich. Wir arbeiten jetzt mit einem GUS enthaltenden TMV-Vektor.

## Functional Genomics

Gruppenleiter: Jonathan Page

Doktorandin: Ursula Schäfer

Technische Assistentinnen: Verona Dietl, Annegret Flier

Diplomand: Vincent Spelbos (mit F. Stevens, Abteilung NWC)

**Unsere Arbeitsgruppe wendet "functional genomics" an, um die Gene herauszufinden, welche für Enzyme und Transkriptionsfaktoren aus Naturstoffbiosynthesen kodieren. Momentan werden drei verschiedene Projekte mit dem Schwerpunkt in der Biosynthese glandulärer Trichome bearbeitet: wir verwenden Vektoren viralen Ursprungs, um damit die Expression der Gene, die in *Nicotiana benthamiana* am Alkaloidmetabolismus und an der Trichomentwicklung beteiligt sind, zu inhibieren. Mit einem EST-Projekt versuchen wir diejenigen Enzyme herauszufinden, die in *Cannabis sativa* (Hanf) den Aufbau von Cannabinoiden und Terpenoiden katalysieren. Außerdem untersuchen wir in *Humulus lupulus* (Hopfen) Prenylierungsreaktionen.**

Pflanzen antworten auf eine Virusinfektion mit dem Ausschalten viraler Gene. Durch das Klonieren von Pflanzengen in Viren können wir das Ausschalten ihrer endogenen Partner in der Pflanze bewirken. Das Ziel unseres Virus-induzierten Ausschaltens von Genen sind Transkriptionsfaktoren, die die Synthese von Metaboliten und deren Ansammlung in Trichomen von *Nicotiana benthamiana* kontrollieren. Trichome, die einen Hauptbildungsort und einen Speicher von natürlichen Produkten darstellen, sind harzige Haare, die Blätter und Blüten bedecken. In Solanaceen werden sie von Viruskonstrukten erreicht. Wir erstellen einen Katalog von MYB-Transkriptionsfaktoren aus den Trichomen von *N. benthamiana* und testen die Wirkung, die das Ausschalten dieser Regulationsproteine auf den Metabolitengehalt der Trichome und die Morphologie der Trichome hat.

Cannabis wird weltweit für industrielle Zwecke angebaut, um Fasern und Samen zu ernten, sowie wegen seines Gehaltes an psychoaktiven Cannabinoiden. Die Cannabinoid-Biosynthese findet hauptsächlich in den glandulären Trichomen statt, die in Gruppen mit hoher Dichte auf einer weiblichen Cannabis-Blüte angeordnet sind. Wir haben eine Trichom-spezifische cDNA-Bibliothek aus den gereinigten Trichom-Drüsenzellen angelegt, wozu wir eine Cannabis-Varietät mit hohem THC-Gehalt verwendet haben. Aus dieser Bibliothek wurden mehr als 1200 ESTs sequenziert und wir konnten diesen Sequenzen durch die Verwendung von Bioinformatik mögliche Genfunktionen zuweisen. Mit Hilfe dieser Methode gelang es uns, potentielle cDNA-Klone für die Olivetolsäure-Synthase, und die 9-Tetrahydrocannabinolsäure-Synthase zu identifizieren.

Wir bearbeiten zusammen mit Fred Stevens aus der Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie ein gemeinsames Projekt, mit dem Ziel, Prenyltransferase-Reaktionen aus der Prenylflavonoid-Biosynthese in den Lupulindrüsen von Hopfen (*Humulus lupulus* L. Cannabaceae) zu verifizieren.

## Jasmonatwirkungsweise

*Gruppenleiter: Claus Wasternack*

*Postdoktorand/in: Irene Stenzel, Helmut Maucher*

*Doktorand: Tobias Kurz*

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

*Technische Assistentin: Birgit Ortel*

**Jasmonate und ihre Vorstufen, die Octadecanoide, sind Signale in pflanzlichen Entwicklungsprozessen und Abwehrreaktionen gegen biotischen und abiotischen Stress. Dabei lösen sie nach ihrer endogenen Bildung die Expression spezifischer Gene aus, deren Produkte an den genannten Prozessen beteiligt sind. Die funktionelle Analyse der Jasmonatwirkungsweise in Entwicklung und Stressabwehr mittels molekular-genetischer Methoden ist Ziel der Arbeitsgruppe.**

Nach der erfolgreichen Klonierung eines essentiellen Enzyms der Jasmonatbiosynthese, der Allenoxidcyclase (AOC), wurden in diesem Jahr transgene Tomatenpflanzen mit konstitutiver Überexpression bzw. Mangel gewonnen. Sie lieferten neue Aussagen zur Regulation der Jasmonatbiosynthese und zur zell- und gewebsspezifischen Bildung von Jasmonaten und Octadecanoiden in den Leitbündeln. Danach amplifiziert Jasmonat bzw. die AOC die Wundabwehr der Tomate, die z. B. bei Insektenfraß auftritt. Dabei entstehen auch Lipidperoxidationsprodukte. In den Blüten wird ein jeweils charakteristisches Spektrum (Oxylipinsignatur) von Verbindungen gebildet, das mittels der transgenen Pflanzen in seinem Zusammenhang zu ‚Sink-Source‘-Beziehungen und zur Blütenentwicklung untersucht wird.

Um genetische Methoden stärker nutzen zu können, ist mit der molekularen Analyse der Jasmonatwirkungsweise und der AOC in *Arabidopsis* begonnen worden. Hier konnten vier verschiedene AOC-Formen kloniert und die Regulation der Jasmonatbiosynthese transgen analysiert werden. Diese AOCs sind funktionell nicht redundant und ihre gewebsspezifische Bildung bzw. erste ‚Loss of function‘-Experimente sprechen für eine spezifische Funktion von Jasmonaten und Octadecanoiden in der Entwicklung.

Alle Untersuchungen wurden in enger Kooperation mit der Arbeitsgruppe „Naturstoffanalytik“ (O. Miersch) und „Zellbiologie der Mykorrhiza“ (B. Hause) am IPB sowie den Arbeitsgruppen I. Feussner und U. Conrad (IPK Gatersleben) durchgeführt. Internationale Kooperationen beziehen sich auf die Rolle von Jasmonaten in anderen Pflanzen und deren Interaktion zur Umwelt.

## Naturstoffanalytik

Gruppenleiter: Otto Miersch

Postdoktorand: Robert Kramell (bis 30.06.2001)

Technische Assistentinnen: Monika Krohn (bis 30.06.2001), Sabine Vorkefeld

Gastwissenschaftlerinnen: Izabella Florek (30.04. – 02.06.2001),

Guillermina Abdala (08.06. – 16.07.2001)

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

Die Untersuchungen zum Vorkommen von 12-Oxophytodiensäure, Dinor-12-oxophytodiensäure, Jasmonsäure, Jasmonsäure-Isoelucinkonjugat und hydroxylierter Jasmonsäuren in ausgewählten Organen der Tomatenpflanze wurden im Zusammenhang mit der Regulation des Jasmonsäure-Biosyntheseenzym Allenoxidcyclase fortgesetzt. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe „Jasmonat-wirkungsweise“ (C. Wasternack) wurde die transgene Modulation der Jasmonat- und Octadecanoidmenge zur Aufklärung ihrer Bedeutung bei Stresseinwirkung, bei entwicklungsabhängigen Prozessen sowie unter Applikation entwicklungsbeeinflussender Substanzen analysiert.

Hervorzuheben sind Untersuchungen an Samen, Blüten und Knospen transgener und normaler Tomatenpflanzen, die eine Bedeutung von Jasmonaten und Vorstufen für eine normale Blütenentwicklung unterstreichen sowie Verwendungsexperimente an Tomatenblättern, in denen in Übereinstimmung mit dem Vorkommen von Allenoxidcyclase, eine Jasmonatinduktion bevorzugt in vasculärem Gewebe gefunden wird.

Arbeiten zur Jasmonat-Signalabschaltung erfolgen in enger Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Luc Varin, Concordia University of Montreal.

In Vorbereitung tiefergehender Untersuchungen zur Bedeutung einer Jasmonat-spezifischen Sulfotransferase wurde die Analytik stark polarer Jasmonat-metabolite vorangetrieben.

JA-Konjugate wurden durch Applikation an Zellkulturen von *Eschscholzia californica* hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität (Zusammenarbeit mit der AG „Pflanzliche Zellkulturen“, G. Herrmann) getestet.

Im Rahmen internationaler Kooperation konnten zahlreiche Pflanzenanalysen durchgeführt werden, deren Ergebnisse zur Rolle von Jasmonaten als Signalstoffe beitragen.

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-MS, LC-MS).

## Publikationen

Berger, S., Weichert, H., Porzel, A., Wasternack, C., Kühn, H. & Feussner, I. Enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation in leaf development. *Biochim. Biophys. Acta* **1533**, 266-276.

Chaussaigne, H., Vacchina, V., Kutchan, T.M. & Zenk, M.H. Identification of phytochelatin-related peptides in maize seedlings exposed to cadmium and obtained enzymatically *in vitro*. *Phytochemistry* **56**, 657-668.

Feussner, I., Kühn, H. & Wasternack, C. The lipoxygenase dependent degradation of storage lipids. *Trends Plant Sci.* **6**, 268-273.

Frick, S., Ounaroon, A. & Kutchan, T.M. Combinatorial biochemistry in plants: the case of *O*-methyltransferases. *Phytochemistry* **56**, 1-4.

Grothe, T., Lenz, R. & Kutchan, T.M. Molecular characterization of the glutaridinol 7-*O*-acetyltransferase involved in morphine biosynthesis in opium poppy *Papaver somniferum*. *J. Biol. Chem.* **276**, 30817-30723.

Hilpert, B., Bohlmann, H., Den Camp, R.O., Przybyla, D., Miersch, O., Buchala, A. & Apel, K. Isolation and characterization of signal transduction mutants of *Arabidopsis thaliana* that constitutively activate the octadecanoid pathway and form necrotic microlesions. *Plant J.* **26**, 435-446.

Kutchan, T.M. Ecological arsenal and developmental dispatcher – The paradigm of secondary metabolism. *Plant Physiol.* **125**, 58-60.

Oven, M., Raith, K., Neubert, R.H.H., Kutchan, T.M. & Zenk, M.H. Homophytochelatinins are synthesized in response to cadmium in azuki beans. *Plant Physiol.* **126**, 1275-1280.

Weichert, H., Kohlmann, M., Wasternack, C. & Feussner, I. Lipids and signalling: oxylipins 3 - functional aspects. *Biochem. Soc. Trans.* **28**, 861-862.

Weichert, H., Kolbe, A., Wasternack, C. & Feussner, I. Formation of 4-hydroxy-1-alkenals in barley leaves. *Biochem. Soc. Trans.* **28**, 850-851.

Ziegler, J., Keinänen, M. & Baldwin, I.T. Herbivore-induced allene oxide synthase transcripts and jasmonic acid in *Nicotiana attenuata*. *Phytochemistry* **58**, 729-738.

## Patente

Kutchan, T.M., Zenk, M.H., Grothe, T. Salutaridinol 7-O-acetyltransferase and derivatives thereof. European Patent Application No. 01114122.3



## **Abteilungsübergreifendes Projekt NWC-NBT: Sekundärmetabolismus in Hopfen (Humulus)**

*Gruppenleiter: Jan F. Stevens, Jonathan Page*

*Diplomanden (extern): Vincent Spelbos (seit 10.01.2001)*

*Technische Assistenten: Martina Lerbs (teilw.)*

**Hopfen ist ein wichtiger Rohstoff der Bierindustrie, aber auch Lieferant für Wirkstoffe der Medizinischen Chemie. Die entscheidenden Inhaltsstoffe sind prenylierte Phenole wie Chalkone und Flavonoide. Ziel des neuen Projektes zwischen den Abteilungen Naturstoffbiotechnologie (NBT) und Natur- und Wirkstoffchemie (NWC) ist die Aufklärung der späten Schritte der Synthese, insbesondere der aromatischen Prenylierung.**

Im September 2001 begann das Projekt mit der Ernte und Bearbeitung externer Hopfendolden sowie der Kultivierung eigenen Hopfens. Im Mittelpunkt der anfänglichen Untersuchungen stand die Isolierung der sekretorischen Zellen und von deren Inhaltsstoffen. Die Naturstoffanalytik als Basis enzymatischer Assays wurde erfolgreich etabliert.



## Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie

Pflanzen und Pilze sind ergiebige Quellen für Naturstoffe und Enzyme. Die Abteilung konzentriert sich auf die Isolierung, Charakterisierung, Modifizierung und Synthese dieser Inhaltsstoffe, um ihre Funktionen im natürlichen System zu verstehen. Die gewonnenen Kenntnisse tragen dazu bei, Naturstoffe als Leitstrukturen für die Entwicklung neuer Medikamente oder Kosmetika zu nutzen. Enzyme dienen als Katalysatoren für chemische Reaktionen oder sind neue Ziele für die Wirkstoffentwicklung. Ergänzt werden diese Arbeiten durch die Entwicklungen neuer Methoden und de novo-Synthesen sowie kombinatorisch-chemische Arbeiten, die zu einer erhöhten strukturellen Variationsbreite chemischer Substanzen führen. Chemoinformatische Verarbeitung und Modelling sollen die Untersuchungen komplettieren, indem sie zum theoretischen Verständnis beitragen.

Zu diesem Zwecke wurde 2001 die Neuausrichtung der Abteilung begonnen. Die neue Struktur beinhaltet die Arbeitsgruppen *Synthese & Methodenentwicklung*, *Biokatalyse & Ligandendesign*, *Pflanzen- und Pilzinhaltsstoffe/ Mikroanalytik*, *Strukturanalytik & Computerchemie* und die abteilungsübergreifenden Projekte *GABI* und *Humulus*. Zu Beginn des Jahres wurden die ersten beiden Arbeitsgruppen und der Teilbereich Pilzinhaltsstoffe in Halle erstmals installiert. Im Bereich Synthese erfolgte eine Schwerpunktbildung im Bereich Makrocyclen. Im September wurde die Arbeit in der Computerchemie und im Humulus-Projekt aufgenommen. Viele Projekte überschreiten dabei die Grenzen dieser Struktur, so werden Prenyltransferasen z. B. in wenigstens drei AGs untersucht.

Mit der fachlichen und personellen Neuausrichtung gingen auch erhebliche räumliche Veränderungen einher. Im Januar wurde der Umzug in das renovierte Haus C vollendet, Haus D wurde wieder komplett an die Abteilung übergeben und bis zum Sommer z. T. umgestaltet und neu eingerichtet. Es wurden 2 NMR-Geräte überholt und nahezu alle Großgeräte neu platziert (u.a. 2 NMR, 4 MS, alle optischen und HPLC-Geräte). Neu installiert wurden u.a. ein NMR-Gerät, ein FT-ICR- und ein LC-ESI-Massenspektrometer, Glove- und Sterilboxen. In einigen Fällen mußten bis zur Fertigstellung des Funktionalgebäudes Behelfsplätze bezogen werden.

Der Umzug der Mitarbeiter (und Geräte) aus Amsterdam erfolgte zwischen Februar und Mai 2001. Weitere 18 Personen kamen als neue Mitarbeiter in verschiedenen Funktionen hinzu. Besonders hervorzuheben ist die Neuanstellung von PD Dr. Wolfgang Brandt als Leiter der Computerchemie im August, sowie das Ausscheiden des ehemaligen stellvertretenden Abteilungsleiters Dr. Gernot Schneider im Juni.

## Synthese und Methodenentwicklung

*Gruppenleiter: Ludger Wessjohann, Brunhilde Voigt*

*Doktoranden: Henri Schrekker, Eelco Ruijter (seit 01.05.2001),*

*Tran Thi Phuong Thao (seit 01.11.2001), Mingzhao Zhu (seit 01.11.2001)*

*Postdoktoranden: Dirk Michalik, Lars Ostermann (seit 01.05.2001),*

*Uwe Eichelberger (seit 01.07.2001)*

*Technische Assistentinnen: Gisela Schmidt, Angela Schaks*

*Sonstige: Frederike Ziethe, Csongor Hajdu*

**Die AG bildet einen neuen Schwerpunkt der Abteilung. In ihr sollen Probleme, die sich durch die Anwendung geeigneter Verbindungen oder chemischer Modifikationen lösen lassen, aufgegriffen werden. Dazu werden Verfahren zur Darstellung von Naturstoffen und deren Derivaten, von Metaboliten, Inhibitoren und funktionellen Verbindungen entwickelt, z. B. um zu helfen, Prozesse im Organismus aufzuklären, oder um zu neuen Wirkstoffen zu gelangen. Die Entwicklung neuer Methoden als auch die Nutzung kombinatorischer Verfahren spielt eine entscheidende Rolle, um zum einen neue Zugänge zu Wirkstoffen zu erschließen und zum anderen schnell ein Spektrum an Derivaten zu erzeugen.**

Im Laufe des Jahres wurde das synthetische Großlabor eingerichtet und in Betrieb genommen und im Rahmen des Umzuges aus Amsterdam die meisten Projekte transferiert, sowie die neuen Projekte Combiocat und Benzopyran-Naturstoffe initiiert. Der Arbeitsschwerpunkt Macrocyklen wurde weiter verstärkt. Im Einzelnen sind folgende Projekte in der Bearbeitung:

**Macrocyklen-Multikomponentensynthese:** Die erfolgreiche Schnellsynthese des Kerns pflanzlicher Ansa-Cyclopeptidalkaloide durch Ugi-Vierkomponentenreaktion mit anschließender Cyclisierung konnte auf größere Systeme mit Biphenyletherüberbrückung übertragen werden.

**Macrocyklen-Combiocat:** Im Juli wurde das EU-Projekt mit der Synthese von bifunktionellen Bausteinen für die Macrocyclensynthese begonnen. Ab November wurde mit der Synthese neuer, mild spaltbarer Linker für die Polymeranbindung empfindlicher komplexer Macrocyklen begonnen.

**Macrocyklen-Totalsynthese:** (a) Für mehrfach asymmetrisch substituierte Tetrahydropyranone, Bestandteil vieler biologisch aktiver Macrocyklen, wurde eine neue, effektive Synthese entwickelt. (b) Die Synthese von Derivaten des Epothilons wurde im Nov. 2001 nach Halle transferiert.

**Benzopyran-Naturstoffe:** Eine neuer Weg zur kombinatorischen Synthese flavonoidartiger Verbindungen wurde entworfen und erste Produkte wurden erfolgreich synthetisiert.

**Chrom- und selenbasierte Methoden:** Es wurden neue Derivate von Phenylseleniden für die selektive  $\omega$ -Oxidation von Isoprenoiden und Selenocyclisierungen entwickelt. Im Bereich der Chrom(II)-vermittelten Reaktion wurden Probleme der Ligandensteuerung und Einflüsse von Redox-Folgereaktionen untersucht.

## Biokatalyse und Ligandendesign

*Gruppenleiter: Ludger Wessjohann*

*Doktoranden: Michael Fulhorst, Marco Dessoy (seit 01.05.2001),*

*Andrea Köver (seit 01.11.2001)*

*Postdoktoranden: Jan F. Stevens (teilw.)*

*Technische Assistentin: Gudrun Hahn*

*Sonstige (Kurzzeit): Reik Löser, Heike Belting, Heike Schültingkämper*

**Enzyme ermöglichen katalytische Umsetzungen, die mit klassisch-chemischen Methoden oft nicht oder nur unter drastischeren Bedingungen erreicht werden können. Gleichzeitig sind Enzyme elementar zum Verständnis der Stoffwechselforgänge von Organismen und wichtige Ziele für Arzneimittel. Die Arbeitsgruppe versucht, geeignete Enzyme für chemische Anwendungen zu identifizieren, zu isolieren und zu charakterisieren, die Enzymmechanismen aufzuklären und den Einsatz in der analytischen und präparativen Chemie vorzubereiten. Dies geschieht vor allem mithilfe substratbasierter chemischer Methoden wie Inhibitoren, Affinitätsmarkern oder markierten Substraten. Die Erkenntnisse werden auch zur Aufklärung von Stoffwechselwegen und zur Entwicklung von pharmazeutisch nutzbaren Inhibitoren genutzt.**

Aromat-Prenyltransferasen sind wichtige Schlüsselenzyme zur Synthese zentraler Zwischenstufen für amphiphile Naturstoffe mit Prenylseitenkette, z. B. Vitamin E oder Ubichinone wie Q10. Um den Prenyltransfermechanismus besser zu verstehen, wurden neue, funktionalisierte Prenyldiphosphate und deren Derivate synthetisiert und eingesetzt. Eine besondere Schwierigkeit ist die Synthese oxidierter Derivate der kurzen Prenyldiphosphate, die aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit schwer zu reinigen sind. Ebenfalls wurden erstmals selektiv isoto-penmarkierte Derivate hergestellt. Dadurch konnte ein Substratmodell für den Prenylteil ermittelt werden. Gleichzeitig gelang es, die stabilisierenden Faktoren der Reaktion zu identifizieren und bessere Reaktionsbedingungen zu ermitteln.

In Amsterdam konnten wir zeigen, dass der Hennafarbstoff Lawson in der nativen Pflanze als auch im Verkaufsprodukt entgegen der Literatur nicht frei vorliegt, sondern im Laufe des Färbeprozesses erst durch eine enzymatische Reaktion und weitere (enzymatische oder spontane) Schritte Lawson bildet. Die auftretenden Zwischenstufen haben dabei eine andere Reaktivität als Lawson. So ließ sich im verstärkten Maße Konjugatbildung, z. B. mit nativen oder zugesetztem Vitamin C nachweisen. Ähnliche Konjugationsprozesse könnten für die Bindung an Haar verantwortlich sein. Daher wurde begonnen, die Analytik der Konjugatbildung mit Proteinen zu entwickeln, wobei Lawson und Insulin das Modellsystem liefern. Konjugatbildung zwischen niedermolekularen pflanzlichen Inhaltsstoffen, vor allem aus der Nahrung, und Strukturproteinen haben erhebliche Bedeutung, sind jedoch bisher analytisch kaum fassbar.

## Pflanzen- und Pilzinhaltsstoffe / Mikroanalytik

Gruppenleiter: Norbert Arnold, Jürgen Schmidt, Ludger Wessjohann

Doktoranden: Tobias Herzfeld, Tilo Lübken (seit 01.03.2001), Lars Seipold

Postdoktoranden: Katrin Franke, Ernst Plaß (bis 01.09.2001),

Nguyen Hoang Anh (bis 01.08.2001)

Technische Assistentinnen: Christine Kuhnt, Monika Kummer, Martina Lerbs (teilw.)

Gäste (Kurzzeit): Prof. Luay Rashan (Jordanien), Prof. Tran Van Sung (Vietnam)

**Die Isolierung von Inhaltsstoffen aus Pflanzen und Pilzen bildet die Basis für das Verständnis und die Untersuchung von Natur- und Wirkstoffen, wobei neben dem potentiellen Nutzen in der Arzneimittel- und Kosmetikindustrie vor allem das Aufspüren der Funktion dieser Stoffe in ihrem natürlichen System ein zentrales Anliegen unserer Forschung ist. Ein Schwerpunkt im Bereich Mikroanalytik ist die Entwicklung geeigneter Methoden für pilzliche und pflanzliche Naturstoffe. Dabei stehen beim "screening" von Extrakten und im Mikrobereich vor allem gekoppelte massenspektrometrische Methoden im Mittelpunkt wie GC-MS, HPLC-ESI-MS und seit Nov. 2001 auch die hochauflösende FT-ICR-Massenspektrometrie.**

HEA(N)TOS ist ein Antidrogenmittel, welches aus der vietnamesischen Volksmedizin abgeleitet wurde. Im Rahmen eines von den Vereinten Nationen (UNOPS) koordinierten internationalen Großprojektes beschäftigen wir uns mit der phytochemischen Analyse der pflanzlichen Komponenten. Unser Ziel ist dabei, die Grundlagen für eine Qualitätssicherung zu schaffen und letztlich die biologisch aktiven Wirkstoffe zu isolieren und zu charakterisieren. Es wurden bislang 7 Pflanzen der insgesamt 13 Bestandteile (mit vermutlich ca. 15 Pflanzen) vollständig phytochemisch charakterisiert und ca. 100 Substanzen isoliert, darunter u. a. neue Homoisoflavonoide.

Forschungsschwerpunkte im Bereich der Pilzinhaltsstoffe sind die Arten *Hygrophorus personii* und *Cortinarius bolaris*. *H. personii* zeigt eine starke braun-gelbe Verfärbung der Stielbasis mit KOH und blaugrüne Verfärbung des Schleimes mit Ammoniak. *C. bolaris* ist in der Literatur als giftig beschrieben. Für beide Arten sollen die stofflichen Ursachen der Farbveränderungen bzw. der Giftigkeit ermittelt werden.

In einer Kooperation mit dem Botanischen Garten München-Nymphenburg werden Blütenöle, im engeren Sinne nicht-flüchtige, florale Lockmittel, auf ihre chemische Zusammensetzung hin untersucht. Im Mittelpunkt stehen hierbei süd-amerikanische Ölblumen der Familien Iridaceae, Malpighiaceae und Orchidaceae. Im ersten Jahr des Projekts konnten bereits zahlreiche ungewöhnliche Lipide nachgewiesen und in ihrer Struktur aufgeklärt werden. Aus den Strukturen der Verbindungen wurden Rückschlüsse auf die Evolution dieser speziellen Fettsäurederivate erhalten.

In Zusammenarbeit mit anderen Arbeitsgruppen des IPB und externen Partnern konnten durch tandem-massenspektrometrische Methoden (CID, SRM) in Kopplung mit der Mikro-HPLC eine Reihe von enzymatisch gebildeten Naturstoffen (Alkaloide, Pyrone, Chalkone, Stilbene und Antibiotika) identifiziert werden. Die Inbetriebnahme des neuen FT-ICR-MS wurde begonnen.

## Strukturanalytik & Computerchemie

*Gruppenleiter: Andrea Porzel, Wolfgang Brandt (seit 15.08.2001)*

*Wissenschaftliche Mitarbeiterinnen: Monika Bögel (seit 01.08.2001),*

*Susanne Drosihn (seit 01.09.2001)*

*Diplomand: Lars Bräuer (seit 01.10.2001)*

*Systemadministrator: Olaf Ludwig (seit 01.03.2001)*

*Technische Assistentin: Maritta Süße*

**In der Arbeitsgruppe Strukturanalytik und Computerchemie werden strukturelle und mechanistische Aspekte der Natur- und Wirkstoffchemie mittels Molecular Modelling, Chemoinformatik, Optischer und NMR-Spektroskopie bearbeitet.**

2001 wurden die beiden vorhandenen 500- und 300-MHz-NMR-Spektrometer durch Austausch der Hochfrequenz-Konsolen und Probenköpfe grundlegend erneuert und ein weiteres NMR-Spektrometer (400 MHz) mit automatischem Probenwechsler installiert. Dadurch wurde sowohl das Methodenspektrum als auch der Durchsatz im Routinebetrieb entscheidend erweitert und die direkte Messung durch die Nutzer selbst ermöglicht. Ferner konnten erstmals deuterium-entkoppelte  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren aufgenommen werden. Durch Einsatz eines HR-MAS-Probenkopfes (Hochauflösende NMR-Spektroskopie mit Probenrotation im magischen Winkel) sind jetzt Untersuchungen an festphasengebundenen Verbindungen möglich. Auch DOSY-Experimente (diffusion ordered spectroscopy) können durchgeführt werden; bei diesen Messungen werden die Signale verschiedener Verbindungen in einer Lösung entsprechend der Diffusionskonstanten separiert. Die Anzahl der nur im Service-Messbetrieb aufgenommenen  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - und  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren hat sich 2001 im Vergleich zum Vorjahr mehr als verzehnfacht.

Im September 2001 begann der Aufbau der Computerchemie – Modelling und Chemoinformatik - mit der Installation der Modelling Server und Software. Etabliert wurden Berechnungen zu quantitativen Struktur-Wirkungsbeziehungen, struktur-basiertem Ligandendesign und Proteinmodellierung sowie quantenchemischen Berechnungen. Zur Vorbereitung eines Laborinformations- und Chemoinformatiksystems wurden SciDex-Datenbank, Phytobase und CLAKS-Substanzverwaltungssoftware evaluiert.

Erste Untersuchungen erfolgten zu Vorzugskonformationen von Cyclopeptid-alkaloiden. Weiterhin wurde mit der Modellierung der im Bereich Biokatalyse untersuchten Oligoprenyltranstransferase (*ubiA*) begonnen. *UbiA* ist ein membrangebundenes Enzym, welches den Transfer von Prenylresten auf 4-Hydroxybenzoesäure katalysiert und kaum Homologien aufweist.

Im Rahmen des EU-Projektes „Opioid Treatment of Chronic Pain and Inflammation of the Locomotor System“ wurden G-Protein gekoppelte Rezeptoren (speziell Opioidrezeptoren) modelliert. Auf der Grundlage dieser Modelle wurden Ligandenspezifitäten aufgeklärt und neue potentielle Wirkstoffe zur Behandlung rheumatischer Arthritis mittels Computersimulationen vorhergesagt, welche anschließend von den Projektpartnern synthetisiert wurden.

## Publikationen

Amaral, A.C.F., Kuster, R.M., de Santana Bessa, W., Barnes, R.A., Kaplan, M.A.C. & Wessjohann, L.A., Flavonoids and other phenolics from leaves of two *Marliera* species (Myrtaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **29**, 653-654.

Baumert, A., Mock, H.-P., Schmidt, J., Herbers, K., Sonnewald, U. & Strack, D. Patterns of phenylpropanoids in non-inoculated and potato virus Y-inoculated leaves of transgenic tobacco plants expressing yeast-derived invertase. *Phytochemistry* **56**, 535-541.

Berger, S., Weichert, H., Porzel, A., Wasternack, C., Kühn, H., Feussner, I. Enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation in leaf development. *Biochimica et Biophysica Acta* **1533**, 266-276.

Blitzke, T., Masaoud, M. & Schmidt, J. Constitutents of *Aloe rubroviolacea*. *Fitoterapia* **72**, 78-79.

Blitzke, T., Schmidt, J. & Masaoud, M. 7-O-Methylaloesin A - a new chromone glycoside from *Commiphora socotrana*. *Nat. Prod. Letters* **15**, 27-33.

Blitzke, T., Baranovsky, A. & Schneider, B. Synthesis and protein binding of (4-Carboxybutyl)carbamoylsustituted Taxoids. *Helv. Chim. Acta* **84**, 1989-1995.

Braga, A.L., Appelt, H.R., Schneider, P.H., Rodrigues, O.E.D., Silveira, C.C. & Wessjohann, L.A., New C2-symmetric chiral disulfide-ligands derived from (R)-cysteine. *Tetrahedron* **57**, 3291-3295.

Buske, A., Schmidt, J., Porzel, A. & Adam, G. Alkaloidal, megastigmane and lignane glucosides from *Antidesma membranaceum* (Euphorbiaceae). *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 3537-3543.

Cassán, F., Bottini, R., Schneider, G. & Piccoli, P. *Azospirillum brasiliense* and *Azospirillum lipoferum* hydrolyse conjugates of GA<sub>20</sub> and metabolize the resultant aglycones to GA<sub>1</sub> in seedlings of rice dwarf mutants. *Plant Physiol.* **125**, 2053-2058.

Clemens, S., Schroeder, J. I. & Degenkolb, T. *Caenorhabditis elegans* expresses a functional phytochelatin synthase. *Eur. J. Biochem.* **268**, 3640 – 3643.

Drosihn, S., Porzel, A., Brandt, W. Determination of preferred conformations of brassinosteroids by means of NMR investigations and Boltzmann statistical analysis of simulated annealing calculations. *J. Mol. Model.* **7**, 34-42.

Franke, K., Masaoud, M. & Schmidt, J. Cardanols from *Rhus thyriflora*. *Planta Medica* **67**, 477-479.

Franke, K., Porzel, A., Masaoud, M., Adam, G. & Schmidt, J. Fur anocoumarins from *Dorstenia gigas*. *Phytochemistry* **56**, 611-621.

Gräther, O. & Schneider, B. The metabolic diversity of plant cell and tissue cultures. *Physiology, Progress in Botany*, Vol. **62**, S. 266-304.

Kamperdick, C., Nguyen Minh Phuong, Tran Van Sung & Adam, G. Guaiane dimers from *Xylopiá vielana*. *Phytochemistry* **56**, 335-340.

- Kobayashi, N., Schmidt, J., Wray, V. & Schliemann, W. Metabolic formation and occurrence of dopamine-derived betacyanins. *Phytochemistry* **56**, 429-436.
- Porzel, A. & Huneck, S. Acaranoic acid and acarenoic acid: Confirmation of structure by modern NMR methods. *Bibliotheca Lichenologica* **78**, 365-368.
- Schliemann, W., Cai, Y., Degenkolb, T., Schmidt, J. & Corke, H. Betalains of *Celosia argentea*. *Phytochemistry* **58**, 159-165.
- Schmidt, J. Blitzke, T. & Masaoud, M., Structural investigations of 5-methylchromone glycosides from *Aloe* species by liquid chromatography / electrospray tandem mass spectrometry. *Eur. Mass Spectrom.* **7**, 481-490.
- Schulz-Lang, E., Burrow, R.A., Braga, A.L., Appelt, H.R., Schneider, P.H., Silveira, C.C. & Wessjohann, L.A., *R,R*-(+)-Bis[(3-benzyloxazolan-4-yl)methyl]disulfide. *Acta Cryst.* **E57**, 41-42.
- Tierens, K. F. M.-J., Thomma, B. P. H. J., Brouwer, M., Schmidt, J., Kistner, K., Porzel, A., Mauch-Mani, B., Cammue, B. P. A. & Broekaert, W. F. Study of the role of antimicrobial glucosinolate-derived isothiocyanates in resistance of *Arabidopsis thaliana* to microbial pathogens. *Plant Physiol.* **125**, 1688-1699.
- Trinh Phuong Lien, Tran Van Sung, Adam, G. Phytochemische Untersuchungen über Inhaltsstoffe der vietnamesischen Heilpflanze *Tabernaemontana corymbosa* (Nghien Cúu Thành Phần Hóa Học Cây Lài Trau Tu Tán *Tabernaemontana Corymbosa*). *Zeitschrift für Chemie Vietnam* **39**, 39-44.
- Trinh Thi Thuy, Tran Van Sung, Adam, G. Limonoide aus der vietnamesischen Heilpflanze *Clausena excavata* (Các Hop Chất Limonoit Từ Cây Hông Bi Dai *Clausena excavata*). *Zeitschrift für Chemie Vietnam* **39**, 27-33.
- Voigt, B., Whiting, P. & Dinan, L. The ecdysteroid agonist/antagonist and brassinosteroid-like activities of synthetic brassinosteroid/ecdyysteroid hybrid molecules. *Cell. Mol. Life Sci.* **58**, 1133-1140.



## **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, Ludger Wessjohann, Dierk Scheel*

*Postdoktorand/Innen: Edda von Röpenack-Lahaye, Thomas Degenkolb, Udo Roth*  
*Technische Assistentinnen: Kerstin Körber, Claudia Horn*

**Ziel des Projektes ist, 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, stressinduzierter Veränderungen genutzt werden, um so die Identifizierung bislang unbekannter Signalmoleküle und Stressantworten zu ermöglichen. Die Analytik wird anhand eines exemplarischen biotischen Stresses (Pathogenbefall) und eines abiotischen Stresses (Schwermetallbelastung) aufgebaut 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.**

Das „Profiling“ von stressinduzierten Veränderungen in steril und hydroponisch angezogenen *Arabidopsis* ist nun etabliert. Ein standardisiertes Verfahren zur Metabolitenextraktion aus Wurzeln und Blättern ist eingeführt. Es stützt sich im wesentlichen auf Micro-LC-ESI-QqTOF-MS von methanolischen Extrakten sowie für die Analyse der am stärksten hydrophoben Verbindungen auf GC-MS-Daten von Heptanextrakten. Mehr als 200 Massensignale werden auf diese Weise getrennt und detektiert. Muster löslicher Proteine werden in grossformatigen zweidimensionalen Gelen mit verschiedenen weiten pH-Gradienten aufgenommen. Interessierende Proteinspots, d.h. solche, deren Vorhandensein oder Intensität sich stressinduziert reproduzierbar ändert, wurden isoliert und für die Identifikation mittels MALDI-TOF-MS aufbereitet. Ein MALDI-TOF-Massenspektrometer wurde eingefahren. Die Nutzung für die Peptidanalytik wurde etabliert. Erste Kandidaten sind inzwischen gefunden. Durch Infiltration gewonnene interzelluläre Waschflüssigkeit von Kontroll- und behandelten Pflanzen wird im Nanospray auf Metabolite und Peptide untersucht. Die Entwicklung von Verfahren zur automatisierten Rohdatenanalyse und zum Aufbau von Datenbanken ist im Gange. In diesem Zusammenhang ist auch eine Zusammenarbeit mit dem Institut für Informatik der Universität Halle initiiert worden. Der Fokus für die ersten vollständig zu vermessenden Experimente lag auf der *Arabidopsis*-Antwort auf Behandlung mit subtoxischen Cadmiumdosen. Dieser Stress eignet sich wegen der guten Reproduzierbarkeit der Applikation besonders für den Systemaufbau.

## 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/Innen: Annette Romanski, Guido Fellbrich

Diplomandin: Yvonne Gäbler

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 Phytoalexinbiosynthese 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-kultivar-spezifischen Abwehrreaktionen in Petersilie. Innerhalb einer oberflächenexponierten Loop-Struktur dieses Proteins konnte ein evolutionär konserviertes Peptid (Pep-13), das 13 Aminosäuren umfasst, 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-kultivar-spezifischer pflanzlicher Pathogenresistenz lässt sich außer dem 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. Gegenstand weiterer Untersuchungen ist, ob der bakterielle Elicitor Harpin<sub>PspH</sub> das pflanzliche Abwehrsystem rezeptorvermittelt oder aber durch seine nachgewiesene Fähigkeit, Kationenporen in Lipiddoppelmembranen zu bilden, auslöst.

## Zelluläre Signaltransduktion

Gruppenleiter: Dierk Scheel

Postdoktorand/Innen: Magdalena Krzymowska, Jason Rudd

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 rezeptorreguliertes Netzwerk der Signaltransduktion, das zeitlich und räumlich strikt reguliert eine aus vielen Bestandteilen bestehende Abwehrreaktion auslöst.

Die Behandlung von Petersilie-Zellen mit Pep-13 löst einen transienten zweiphasigen 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 inaktiven Varianten der MAP-Kinasen mit Reportergen-Fusionen der *pr1*- oder *pr2*-Promotoren zeigen eine funktionale Beteiligung der MAP-Kinasen an der transkriptionellen Aktivierung dieser Gene.

$O_2^-$ -Radikale, die primär während des  $Ca^{2+}$ -abhängigen oxidativen burst erzeugten reaktiven Sauerstoffspezies, sind notwendig und hinreichend für die Phytoalexinproduktion, nicht jedoch für die Aktivierung der über die MAP-Kinasen regulierten *pr1*-, *pr2*- und *wrky*-Gene. Zwei Gene mit Homologie zur katalytischen Untereinheit der Säuger-NADPH-Oxidase wurden aus Petersilie isoliert und charakterisiert. Im Vergleich zu den Säugerorthologen haben sie eine N-terminale Extension mit zwei  $Ca^{2+}$ -bindenden EF-Händen. Eines der beiden Gene wird nach Pep-13-Behandlung der Zellen transkriptionell aktiviert. Zusätzlich werden durch alternatives Splicing Proteine mit und ohne EF-Hand produziert. Die heterologe Expression beider Gene in Hefe führt zur Produktion aktiver NADPH-Oxidasen in mikrosomalen Präparationen, wobei die Enzymaktivität im Protein mit EF-Hand  $Ca^{2+}$ -abhängig ist.

Cytosolischer  $Ca^{2+}$ -Anstieg und oxidativer 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

Postdoktorandinnen: Susanne Berger, Birgit Kemmerling (seit 04.2001)

Doktorandinnen: Anja Nickstadt, Anne Varet, Melanie Witt (bis 08.2001), Astrid Patzlaff (Gastrecht bis 05.2001)

Diplomand: Pierre Tennstedt (seit 11.2001)

Technische Assistentin: Barbara Degner

**Signalketten, die in *Arabidopsis* nach der Erkennung von Pathogenen initiiert werden und zur Aktivierung von Abwehrgenen führen, sollen in diesem Projekt mit genetischen Methoden analysiert werden. Dadurch wollen wir neue Regulatoren der Pathogenabwehr identifizieren und die biochemischen und pharmakologischen Studien der anderen Arbeitsgruppen im Petersilie- und Tabaksystem komplementieren. Mit Hilfe von Pathogen- und Jasmonat-responsiven Reportergensystemen wurde nach *Arabidopsis*-Mutanten gesucht, die konstitutiv Abwehrgene aktiviert haben, bzw. nicht mehr auf das an der Pathogenabwehr beteiligte Phytohormon Jasmonat reagieren. Komplementär werden bekannte Jasmonat-insensitive Mutanten, wie etwa *jin1*, auf veränderte Pathogenantwort hin untersucht. In einem weiteren Ansatz wurden durch Homologievergleiche in Datenbanken Gene identifiziert, die den Genen *ndr1* aus *Arabidopsis* und *hin1* aus Tabak verwandt sind.**

In den letzten Jahren wurden aus drei Pathogen-responsiven Reportergenlinien eine Vielzahl von Mutanten isoliert, die konstitutiv das jeweilige Reporter gen überexprimieren. Nach einer Verifizierung des Phänotyps durch Northern blot- und RT-PCR-Analyse schloss sich die genetische Analyse durch Rückkreuzung und den Aufbau von Kartierungspopulationen an. Im Berichtszeitraum wurde die genetische Analyse der isolierten Mutanten weitgehend abgeschlossen. Bei der überwiegenden Anzahl der isolierten Mutanten konnte der Phänotyp der Überexpression der Abwehrgene nach den Kreuzungen nicht in den folgenden Generationen wiedergefunden werden, obwohl einige Mutanten die Überexpression des Reporter gens stabil vererbten. Daher stehen im Augenblick nur noch vier Mutanten zur weiteren Analyse zur Verfügung, die eine Pathogen-responsive Peroxidase überexprimieren.

Die mRNA von zwei der etwa 20 in *Arabidopsis* vorhandenen *NDR1/HIN1*-verwandten Gene („*NHL*“-Gene) akkumuliert als Antwort auf eine avirulente Infektion. Wir vermuten daher, und auf Grund der Ähnlichkeit zu *NDR1*, eine Beteiligung dieser Gene an der Signalweiterleitung während der Pathogenantwort. Durch Expressionsanalyse in *Arabidopsis*-Mutanten im Vergleich zum Wildtyp wurden die Signale näher untersucht, die zur Akkumulation der *NHL*-mRNA führen. Die transiente Expression „getaggtter“ Versionen dieser Proteine zeigte, dass *NHL*-Proteine membran-gebunden vorliegen.

Die Beteiligung von Jasmonat-abhängigen Signaltransduktionswegen an der Reaktion der Pflanze auf Pathogene und Ozon wurde in Kooperation mit Jaakko Kangasjärvi (Universität Helsinki, Finnland) untersucht. Dazu wurde die Pathogenantwort sowie die Reaktion auf Ozonbehandlung der Jasmonat-insensitiven Mutanten *jin1* und *jin4* charakterisiert. Nur eine der beiden Jasmonat-insensitiven Mutanten zeigte hierbei erhöhte Ozonsensitivität. Die chromosomale Lokalisation des Gens, das in der *jin1*-Mutante betroffen ist, konnte weiter eingengt werden.

## Induzierte Pathogenabwehr

Gruppenleiter: Dierk Scheel & Sabine Rosahl  
Doktorandinnen: Cornelia Göbel, Astrid Hunger, Jörn Landtag  
Diplomand/Innen: Carola Geiler, Jörn Landtag,  
Technische Assistentin: Angelika Weinel,  
Praktikantin: Anja Grohnert, Martina Kausch

**Pflanzen reagieren auf Pathogenbefall mit der Induktion einer Reihe von Abwehrreaktionen, die zu erhöhter lokaler und systemischer Resistenz führen können. Dabei scheinen Oxylipine, oxidierte Fettsäurederivate, eine Rolle als Signalmoleküle sowie als antimikrobielle Substanzen zu spielen. In Kartoffelpflanzen akkumulieren nach Infektion mit Pathogenen spezifische Oxylipine, wie Trihydroxyfettsäuren und Divinylether. Ziel der Arbeiten ist die Aufklärung der Funktion von Oxylipinen für induzierte Abwehrreaktionen der Kartoffel nach Pathogenbefall.**

Sowohl während der Interaktion von Kartoffel mit dem Oomyceten *Phytophthora infestans*, dem Erreger der Kraut- und Knollenfäule, als auch nach Infiltration mit phytopathogenen Bakterien werden verstärkt Oxylipine gebildet, die durch „Oxylin-Profiling“ als Trihydroxy- und Hydroxyfettsäuren sowie als Divinylether identifiziert wurden. Diese Oxylipine sind Produkte des 9-Lipoxygenase-Wegs, der spezifisch nach Pathogenbefall oder Behandlung mit Elicitor in Kartoffelzellen stimuliert wird. Nach Infiltration mit dem Brassica-Pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* wurden ausserdem stark erhöhte Mengen an 12-Oxo-Phytodiensäure und Jasmonsäure, Produkten des 13-Lipoxygenase-Wegs, sowie Salicylsäure gemessen.

Durch funktionelle Ansätze mittels transgener Pflanzen soll die Rolle dieser Substanzen für die induzierte Abwehr der Kartoffel untersucht werden. Dazu wurden zunächst Pflanzen hergestellt, in denen der endogene Gehalt von Jasmonsäure und Salicylsäure verändert ist. Durch die Expression von single chain-Antikörpern, die spezifisch Jasmonsäure bzw. deren Vorstufe 12-Oxo-Phytodiensäure erkennen, soll eine Reduktion der Menge an physiologisch aktiven Substanzen erreicht werden.

Transgene Pflanzen, die ein RNA-Interferenz-Konstrukt für eine pathogeninduzierte 9-Lipoxygenase enthalten, zeigten keine 9-Lipoxygenase-Transkriptakkumulation nach Infektion mit *P. infestans* oder nach Bakterieninfiltration und werden zur Untersuchung der Rolle der 9-Oxylipine für die Pathogenantwort verwendet.

Als Reaktion von Kartoffelzellen auf die Behandlung mit dem Oligopeptidelicitor Pep-13 aus *Phytophthora sojae* konnte neben dem „oxidative burst“ und einer Alkalinisierung des Kulturmediums die Akkumulation von Abwehrgentranskripten und die Anreicherung von Hydroxy- und Trihydroxyfettsäuren nach Pep-13-Behandlung beobachtet werden. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe „Peptidrezeptoren“ wurde unter Verwendung von inaktiven Pep-13-Derivaten nachgewiesen, dass Kartoffelzellen auf den Elicitor mit der gleichen Spezifität reagieren wie Petersiliezellen.

## Schwermetalltoleranz

Gruppenleiter: Dieter Neumann & Stephan Clemens

Wissenschaftlerin: Uta zur Nieden

Postdoktorand/in: Anne-Claire Cazalé, Thomas Maier

Doktorand/Innen: Clarice de Figueiredo, Susan Wassersleben, Claudia Simm, Christoph Vess, Michael Weber

Diplomandin: Steffi Haase

Technische Assistentinnen: Marina Häußler, Sylvia Krüger

**Pflanzen müssen – wie alle anderen Lebewesen – die intrazelluläre Konzentration von essentiellen, jedoch potentiell toxischen Schwermetallen sehr genau regulieren. Außerdem müssen sie die Konzentrationen nichtessentieller, toxischer Schwermetalle wie Cadmium möglichst gering halten. Dies wird erreicht durch ein Netzwerk von Transport-, Chelatierungs- und Sequestrierungsprozessen. 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*, *Silene*, *Minuartia*, *Armeria*,) und der Spaltheefe *Schizosaccharomyces pombe* als zellulärem Modellsystem.**

Die Bildung von Phytochelatinen (PCs) ist eine prinzipielle Antwort von Pflanzen auf Schwermetalexposition. Wir haben ein Phytochelatin-Synthase (PCS)-kodierendes Gen auch in *Caenorhabditis elegans* gefunden und funktionell charakterisiert – ein Hinweis auf die Rolle von PCs auch in manchen tierischen Organismen. Die Regulation des zweiten PCS-Gens in *Arabidopsis* ist detailliert analysiert worden. PCS in der Cd-hypertoleranten *A. halleri* werden untersucht. Das „Expression Profiling“ mittels cDNA-AFLP in *A. halleri* hat zur Identifizierung einer Reihe von metallregulierten Signaltransduktionskomponenten geführt. *Arabidopsis* „Knock-out“-Linien für drei dieser Gene werden derzeit auf Veränderungen in der Metallantwort untersucht. Experimente zur Rolle von verschiedenen Komponenten der Metallhomöostase in *S. pombe*, u.a. Metalltransportern der „Cation Diffusion Facilitator“-Familie und dem einzigen Metallothionein in dieser Hefe, haben zu grundlegend neuen Einsichten in Mechanismen der Metallverteilung und –toxizität geführt.

Die Toxizität von Mn und Al wird durch Silizium auf einem bisher unbekanntem Weg moduliert. Für Zn wurde ein ähnliches Phänomen beobachtet. In Zellkulturen von *Silene* wird die durch Zn bedingte Wachstumshemmung durch Si aufgehoben und eine Reihe Zn-toleranter Pflanzen zeigen eine erhöhte Si-Aufnahme. Im Zytoplasma dieser Pflanzen wurden Zn-Silikat Niederschläge gefunden, die als temporäre Schwermetallspeicher dienen. Das instabile Zn-Silikat zerfällt langsam unter Bildung von SiO<sub>2</sub>, das freiwerdende Zn wird in der Vakuole gespeichert. Ein weiterer ungewöhnlicher Mechanismus ist offenbar an der Zn-Toleranz von Pflanzen beteiligt. Der überwiegende Teil des Schwermetalls wird in der Pflanze extrazytoplasmatisch transportiert und ohne Membran- und Plasmassage in die Vakuole aufgenommen. Der Transport erfolgt über Vesikel, die von Plasmalemma und Tonoplast gebildet werden.

## Chromatin und Genregulation

*Gruppenleiter: Dierk Scheel*

*Postdoktorandin: Ursula Niesbach-Klöggen*

*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 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 das „silencing“ repetitiver Transgenkopien bei *Arabidopsis thaliana* haben und somit möglicherweise durch Veränderungen auf der Ebene der Chromatinstruktur hervorgerufen werden.**

Eine Kollektion von *Arabidopsis*-Linien, die vierfache Insertionen des Luciferase Reporter-Gens unter der Kontrolle des konstitutiven 35S-Promotors enthielten, aber deutlich reduzierte Enzymaktivität des Reporters und eine starke DNA-Methylierung der Transgenkopien aufwiesen, wurden in einem Mutagenese-Experiment mit EMS (Ethylenmethansulfonat) behandelt. Aus diesem Mutantenscreen konnten 100 Pflanzen mit erhöhter Luciferase-Aktivität selektiert werden. Von den bisher näher charakterisierten 18 potentiellen Mutanten sind 7 dadurch gekennzeichnet, dass die Reaktivierung der inaktiven Transgene mit einer Veränderung im Methylierungsstatus der Transgenkopien korreliert. Bei den restlichen 11 Mutanten sind die Luciferase-Transgene transkriptionell aktiv, aber weiter hypermethyliert.

Die nach Kreuzung gegen einen anderen Ökotyp durchgeführte Grobkartierung der Mutationsorte von 9 Mutanten zeigt, dass es sich hierbei nicht um Allele der bereits für *Arabidopsis* identifizierten Modifikatoren für „gene silencing“ (ddm, mom1) handelt. Die nähere Charakterisierung einer Mutante, die phänotypisch neben einem aktiven Luciferasegen die Ausbildung verformter Trichome aufweist, führte zur Identifizierung eines Gens, das für ein potentiell DNA-bindendes Protein des WRKY-Typs kodiert. Experimente zur Komplementierung der Mutation mit dem Wildtypallel sowie die Feinkartierung der anderen Mutanten laufen zur Zeit.

## Publikationen

Berger, S., Weichert, H., Porzel, A., Wasternack, C., Kühn, H. & Feussner, I. Enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation in leaf development. *Biochim. et Biophys. Acta* **1533**, 266-276.

Bruns, I., Sutter, K., Menge, S., Neumann, D. & Krauss, G.-J. Cadmium lets increase the glutathione pool in bryophytes. *J. Plant Physiol.* **158**, 79-89.

Cazalé, A.-C., Clemens, S. *Arabidopsis thaliana* expresses a second functional phytochelatin synthase. *FEBS Letters* **507**, 215-219.

Clemens, S., Schroeder, J.I. & Degenkolb, T. *Caenorhabditis elegans* expresses a functional phytochelatin synthase. *Eur. J. Biochem.* **268**, 3640-3643.

Clemens, S. Developing tools for phytoremediation: Towards a molecular understanding of plant metal tolerance and accumulation. *Int. J. Occup. Med. Environm. Health* **14**, 235-239.

Clemens, S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* **212**, 475-486.

Göbel, C., Feussner, I., Schmidt, A., Scheel, D., Sanchez-Serrano, J., Hamberg, M. & Rosahl, S. Oxylipin profiling reveals the preferential stimulation of the 9 lipoxygenase pathway in elicitor-treated potato cells. *J. Biol. Chem.* **276**, 6267-6273.

Lee, J., Klessig, D.F. & Nürnberger, T. A harpin binding site in tobacco plasma membranes mediates activation of the pathogenesis-related gene HIN1 independent of extracellular calcium but dependent on mitogen-activated protein kinase activity. *Plant Cell* **13**, 1079-1093.

Lee, J., Klüsener, B., Tsiamis, G., Stevens, C., Neyt, C., Tampakaki, A.P., Panoopoulos, N.J., Nöller, J., Weiler, E.W., Cornelis, G.R. Mansfield, J.W. & Nürnberger, T. HrpZ<sub>PspH</sub> from the plant pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* is exported by the type III secretion pathway and forms an ion-conducting pore *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 289-294.

Luderer, R., Rivas, S., Nürnberger, T., Mattei, B., Van den Hooven, H.W., Van der Hoorn, R.A.L., Romeis, T., Wehrfritz, J.-M., Blume, B., Nennstiel, D., Zuidema, D., Vervoort, J., De Lorenzo, G., Jones, J.D.G., De Wit, P.J.G.M. & Joosten, M.H.A.J. No evidence for binding between resistance gene product Cf-9 of tomato and avirulence gene product AVR9 of *Cladosporium fulvum*. *Mol. Plant Microbe Interact.* **14**, 867-876.

Nass, N. & Scheel, D. Enhanced luciferin entry causes rapid wound-induced light emission in plants expressing high levels of luciferase. *Planta* **212**, 149-154.

Neumann, D. & zur Nieden, U. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. *Phytochemistry* **56**, 685-692.

Newman, M.-A., von Roepenack-Lahaye, E., Parr, A., Daniels, M.J. & Dow, J.M. Induction of hydroxycinnamoyl-tyramine conjugates in pepper by *Xanthomonas campestris*, a plant defense response activated by *hrp* gene-dependent and *hrp* gene-independent mechanisms. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **14**, 785-792.

Nürnberg, T. & Scheel, D. Signal transmission in the plant immune response. *Trends Plant Sci.* **6**, 372-379.

Stumpe, M., Kandzia, R., Göbel, C., Rosahl, S. & Feussner, I. A pathogen-inducible divinyl ether synthase (*CYP74D*) from elicitor-treated potato suspension cells. *FEBS Letters* **507**, 371-376.

Veit, S., Wörle, J.M., Nürnberg, T., Koch, W. & Seitz, H.U. A novel protein elicitor (PaNie) from *Pythium aphanidermatum* induces dual defense responses in carrot and *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **127**, 832-841.





## Abteilung Sekundärstoffwechsel

Schwerpunkt der Arbeiten liegt auf Untersuchungen der molekularen Regulationsmechanismen des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels. Im Mittelpunkt stehen Phenylpropanoide, Isoprenoide und Betalaine. Die Arbeiten beinhalten sowohl die Isolierung und Charakterisierung von Enzymen und der kodierenden cDNAs als auch die Aufklärung der Regulation der zell- und gewebsspezifischen Genexpression. In verschiedenen Projekten werden pflanzliche Transferasen bearbeitet, insbesondere Malat- und Cholin-Hydroxyzimtsäuretransferasen und verschiedene Hydroxyzimtsäure-Glucosyltransferasen aus *Arabidopsis* und Raps (Arbeitsgruppe „Hydroxyzimtsäuren“), Flavonoid- und Betanidin-Glucosyltransferasen aus Betalain-führenden Pflanzen und Methyltransferasen aus dem Eiskraut (*Mesembryanthemum crystallinum*; Arbeitsgruppe „Molekulare Physiologie und Phylogenie der Betalaine“). Die Arbeitsgruppe „Biochemie der Betalaine“ konzentriert sich neben der Aufklärung neuartiger Betalain-Strukturen auf die subzelluläre Lokalisation der Biosynthese und auf eine biogenetische Schlüsselreaktion, der durch eine Dioxygenase katalysierten extradiolischen Dopa-Spaltung.

Weitere Arbeiten zielen auf die Aufklärung der Rolle pflanzlicher Sekundärstoffe in 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 weiterer Schwerpunkt ist die Aufklärung von Veränderungen des Sekundärstoffwechsels und der Rolle von Phytohormonen (Jasmonate) in symbiontischen Wurzel-Pilz-Interaktionen, insbesondere in arbuskulären Mykorrhizen. Zwei Arbeitsgruppen („Molekulare Physiologie der Mykorrhiza“ und „Zellbiologie der Mykorrhiza“) untersuchen die Biosynthese und den Abbau von Carotinoiden und Veränderungen cytologischer Strukturen, insbesondere der Plastiden, in mykorrhizierten Wurzeln. Diese Arbeiten werden verstärkt durch umfassende Analysen der Veränderungen der Primär- und Sekundärstoffmuster („Metabolite Profiling“). Ziel der Arbeiten an arbuskulären Mykorrhizen ist die Aufklärung der molekularen Interaktionen, die die Entwicklung und die erfolgreiche Etablierung der Symbiose steuern.

## Zellbiologie der Mykorrhiza

Gruppenleiterin: Bettina Hause

Doktoranden: Tamás Monostori (bis 14.03.2001), Stanislav Isayenkov

Diplomandin: Diana Schmidt (bis 31.05.2001)

Technische Assistentin: Ulrike Hintsche

Wissenschaftl. Hilfskraft: Diana Schmidt (01.06. – 31.07.2001)

Praktikantin: Martina Sobottka (01.06. – 31.07.2001)

**Bei der Ausbildung der Symbiose zwischen arbuskulären Mykorrhizapilzen und Pflanzen sind pflanzliche Hormone wichtige Regulatoren. Jasmonsäure (JA) und ihre Abkömmlinge gelten als Signale für verschiedene, durch Umwelteinflüsse oder innerhalb der pflanzlichen Entwicklung regulierte Prozesse und spielen auch bei der Mykorrhizierung eine Rolle. Deshalb soll die mögliche Funktion dieses Hormons bei der Ausbildung der Symbiose zwischen Gerste bzw. *Medicago truncatula* und *Glomus intraradices* analysiert werden. Als weiterer Schwerpunkt der Arbeiten werden zellbiologische Analysen durchgeführt, die die Akkumulation von pflanzlichen Sekundärstoffen in der Ausbildung und Entwicklung der arbuskulären Mykorrhiza betreffen.**

Die Zugabe von JA stimuliert die Mykorrhizierung verschiedener Pflanzen. Außerdem steigt die Menge endogener JA in mykorrhizierten Gerstenwurzeln gegenüber den Wurzeln nicht-mykorrhizierter Pflanzen deutlich an. Dabei ist der endogene JA-Anstieg von einer Expression von Genen begleitet, die für JA-Biosynthese-Enzyme bzw. für JA-induzierbare Proteine kodieren. Es konnte mittels *in situ*-Techniken gezeigt werden, dass die Expression in den Zellen stattfindet, die pilzliche Strukturen (Arbuskeln) enthalten. Dieser zeitlich und räumlich mit dem Auftreten von Symbiosestrukturen korrelierende JA-Anstieg in mykorrhizierten Wurzeln könnte zu einem verbesserten Abwehrstatus der Pflanzen führen. Um diese mögliche Funktion der JA zu analysieren, soll ein funktioneller Ansatz mittels transgener *Medicago*-Pflanzen genutzt werden: die Überexpression bzw. die antisense-Expression eines Gens für die JA-Biosynthese soll zu Pflanzen mit verändertem Jasmonatgehalt führen. Die zur Transformation notwendigen Vektoren (cDNA der Allenoxidcyclase unter der Kontrolle eines konstitutiv exprimierten bzw. eines Wurzelcortex-spezifischen Promotors) wurden hergestellt und mit der Transformation von *M. truncatula* cv. Jemalong begonnen. Der erwartete Zusammenhang von Mykorrhizierung und JA-Gehalt sollte durch Veränderungen des Mykorrhizaphänotyps in den transgenen Pflanzen in morphologischer, biochemischer und molekularbiologischer Hinsicht sichtbar werden.

Für mykorrhizierte Wurzeln wurde die Hochdruckgefrierfixierung mit anschließender Gefriersubstitution etabliert. Unter Verwendung beider Methoden konnte gezeigt werden, dass das „gelbe Pigment“ in Maiswurzeln zunächst im Cytoplasma der Cortezellen lokalisiert ist, zu späteren Zeitpunkten der Mykorrhizierung jedoch in der Vakuole akkumuliert (Zusammenarbeit mit T. Fester, AG „Molekulare Physiologie der Mykorrhiza“).

## Molekulare Physiologie der Mykorrhiza

Gruppenleiter: Michael H. Walter

Postdoktoranden/in: Thomas Fester, Sudha Sahay (bis 31.08.2001)

Michael Stephan (bis 30.09.2001)

Doktorand/in: Joachim Hans, Swanhild Lohse (seit 01.02.2001)

Technische Assistentinnen: Kerstin Manke, Gerlinde Waiblinger

Die arbuskuläre Mykorrhiza (AM), eine Lebensgemeinschaft zwischen Pflanzenwurzeln und Pilzen der Ordnung Glomales, gilt als die verbreitetste und wichtigste Symbiose überhaupt. Die obligat biotrophen Pilze kolonisieren die innere Wurzelrinde, wo sie pflanzliche Kohlenhydrate als Nährstoffe erhalten. Der Vorteil für die Pflanze besteht in der verbesserten Aufnahme von Mineralstoffen aus dem Boden über die externen Hyphen der Pilze. Die Untersuchungen der Arbeitsgruppe konzentrieren sich auf den pflanzlichen Isoprenoidstoffwechsel, insbesondere auf plastidenlokalisierte Reaktionen. Ausgehend von der Analyse AM-spezifisch akkumulierender Apocarotenoide konnten einzelne, durch Mykorrhizierung stimulierte Genaktivitäten in deren Biosyntheseweg charakterisiert werden. Die Arbeiten sollen zu einem besseren Verständnis AM-abhängiger Genregulation beitragen und die Bedeutung dieser Gene bzw. Metabolite für eine funktionelle Mykorrhiza aufklären helfen.

In Zusammenarbeit mit der AG "Zellbiologie der Mykorrhiza" wurde die Charakterisierung von Wurzelplastiden weitergeführt. Ein Vergleich von „Green-Fluorescent Protein“-markierten Plastiden in mykorrhizierten und nicht mykorrhizierten Wurzeln transgener Tabakpflanzen zeigte eine unerwartet deutliche Ausbildung von Plastidennetzwerken um die Arbuskeln kolonisierter Zellen. Diese Netzwerke sind dynamische Strukturen, die sich zusammen mit der Entstehung und dem Abbau von Arbuskeln verändern.

Diese Arbeiten stehen in Zusammenhang mit den Untersuchungen zur plastidenlokalisierten Carotinoidbiosynthese und der nachfolgenden Ablagerung von Apocarotinoiden. Stimulierung der Carotinoidbiosynthese durch die AM konnte u.a. durch RT-PCR-Untersuchungen an Transkripten für die Phytoendesaturase und durch Inhibitorstudien für dieses Enzym weiter belegt werden.

Frühe Schritte der Carotinoidbiosynthese verlaufen über den kürzlich entdeckten Nichtmevalonatweg (Methylethritolphosphatweg). Für dessen ersten Syntheseschritt, katalysiert durch die 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase (DXS), konnte im Modellsystem *Medicago truncatula* erstmals für Pflanzen die Existenz von zwei unabhängigen, nur entfernt verwandten Genen gezeigt werden, die differentiell reguliert werden. Nur die Expression von *DXS2* wird durch AM-Pilze deutlich stimuliert, während der *DXS1* bisher eher „Housekeeping“-Funktionen zuzuweisen sind. Genomische Sequenzen mit einem vollständigen *DXS2*-Gen, einschließlich des Promotors, konnten isoliert werden. Damit stehen nun vielversprechende Hilfsmittel für gezielte Gensuppressionen und Promotor-Analysen AM-regulierter Gene zur Verfügung.

## Biochemie der Betalaine

Gruppenleiter: Willibald Schliemann

Doktorandin: Naoko Kobayashi

Technische Assistentin: Barbara Kolbe

**Die Betalaine sind eine chemotaxonomisch wichtige Gruppe wasserlöslicher Chromoalkaloide (rotviolette Betacyane und gelbe Betaxanthine), die nur in Pflanzen bestimmter Familien der Ordnung Caryophyllales die Anthocyane funktionell ersetzen und darüber hinaus in einigen höheren Pilzen (z.B. Fliegenpilz) vorkommen. Nach der Charakterisierung enzymatisch und spontan ablaufender Biosyntheseschritte standen Versuche zur Detektion der Dopa-4,5-dioxygenase, die für die Bildung der Betalaminsäure aus Dopa verantwortlich ist, im Mittelpunkt unseres Interesses. Darüber hinaus wurde Versuche zum Transport von Betaxanthinen in Vakuolen der Roten Rübe fortgesetzt.**

Experimente, die Dopa-4,5-dioxygenase aus Betalain-bildenden Pflanzen und Zellkulturen zu isolieren und mittels [<sup>14</sup>C]Dopa nachzuweisen, schlugen fehl. Für einen molekularen Ansatz, der auf dem Einbringen von cDNAs aus Betalain-bildenden Pflanzen durch Partikelbeschuss basieren sollte, wurde eine weiße Zellkultur von *Tinospora cordifolia* (Menispermaceae) ausgewählt, die nach Elizitierung mit 30 µM Methyljasmonat eine 4-fache Zunahme des Dopamingehaltes zeigte. Jedoch führte die Applikation von Betalaminsäure an diese elizitierten Zellen nicht zur Bildung des gelben Miraxanthins V, das als Selektionsmarker die essenzielle Voraussetzung für den Nachweis einer transienten Dopa-4,5-dioxygenase-Expression gewesen wäre.

Zur Klärung der Frage, ob die Betaninbildung in Roten Rüben ausschließlich über *cyclo*-Dopa oder über *cyclo*-Dopa-5-*O*-glucosid verläuft, wurde der Gehalt des Betanins und des *cyclo*-Dopa-5-*O*-glucosids in Hypokotyl-Extrakten während der Pflanzenentwicklung über 8 Wochen bestimmt. Während der Betaningehalt parallel mit dem Frischgewicht zunahm, konnte zu keinem Zeitpunkt eine *cyclo*-Dopa-5-*O*-glucosid-Akkumulation festgestellt werden. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu früheren Daten von Wyler et al. [Helv. Chim. Acta 67, 1348-1355 (1984)], aber in Übereinstimmung mit Untersuchungen (Hans/Vogt), nach denen eine Glucosyltransferase aus *Beta vulgaris* Betanidin, aber nicht *cyclo*-Dopa als Substrat akzeptiert.

Die Hemmung der MgATP-stimulierten Aufnahme der rübenspezifischen Betaxanthine Miraxanthin V und Vulgaxanthin I (durch 1 mM Vanadat) und des (*R*)-Phenylalanin-Betaxanthins (durch 0,1 µM Bafilomycin A1/ 5 mM NH<sub>4</sub>Cl) in die Vakuolen Roter Rüben deutet auf die Beteiligung eines direkt-energiserten ABC-ähnlichen Transporters bzw. auf ein H<sup>+</sup>/Antiport-System hin.

Parallel zum Abschluss der Betalain-Arbeiten wurde mit Michael Stephan die Etablierung eines Projektes zum "Metabolite Profiling" im symbiontischen System *Medicago truncatula* / *Glomus mosseae* begonnen. Ein Antrag auf Forschungsförderung durch den DFG-Schwerpunkt 1084 "Molekulare Basis der Mykorrhiza-Symbiosen" wurde eingereicht und wird im Rahmen der neuen Arbeitsgruppe "Biochemie der Mykorrhiza" bearbeitet werden.

## Molekulare Physiologie und Phylogenie der Betalaine

Gruppenleiter: Thomas Vogt

Doktorand/in: Mwafaq Ibdah, Judith Hans

Technische Assistentinnen: Dagmar Knöfel, Ute Vinzens

Praktikant: Vitali Ragulin (05.11. – 29.11.2001)

**Die Glycosyltransferasen (GTs) des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels gehören zu einer Multigenfamilie, die mit anderen modifizierenden Enzymen maßgeblich für die große Vielfalt pflanzlicher Naturstoffe verantwortlich ist. Neben biochemischen Fragen zur möglichen Korrelation von Proteinsequenz und Substratspezifität gilt unser Interesse auch den phylogenetischen und zellulären Mechanismen, die für die beobachtete Vielfalt dieser Enzyme verantwortlich sind.**

Die phylogenetische Herkunft der Glucosyltransferasen (GTs) der Betacyanbiosynthese in *Dortheanthus bellidiformis* (5-GT und 6-GT) von unterschiedlichen regiospezifischen Enzymen der Flavonoidbiosynthese kann aufgrund neuer Sequenzbefunde als weitgehend gesichert gelten. Die Identifizierung und heterologe Expression einer bislang unbekannt mit der 5-GT nahezu identischen Sequenz aus der Roten Beete (*Beta vulgaris*) mit hoher regiospezifischer Affinität zu Flavonolen unterstützt bestehende Hypothesen. Die unterschiedlichen Sequenzen und die damit verbundene Zuordnung zu verschiedenen Clustern der Glucosyltransferase-Multigenfamilie machen einen gemeinsamen phylogenetischen Ursprung von 5-GT und 6-GT zunehmend unwahrscheinlich. Eine denkbare alter native Betacyanbildung, ausgehend von der Glucosidierung des *cyclo*-Dopa in anderen Betacyan-führenden Taxa, ist zwar noch nicht ganz auszuschließen, konnte aber durch zahlreiche molekulare und biochemische Studien an *B. vulgaris* weiter entkräftet werden. Am Beispiel der 5-GT wird eine Reihe von gezielten Mutationen durchgeführt, um die in allen GTs vorhandenen hoch konservierten Aminosäuren des katalytisch wichtigen „DXD“-Motifs zu identifizieren.

Aus Licht-gestressten Blattspitzen von *Mesembryanthemum crystallinum* konnte eine neue *O*-Methyltransferase (OMT) identifiziert werden, die Flavonoide an vicinalen Dihydroxygruppen methyliert. Die biochemischen Eigenschaften dieser OMT stimmen nicht mit einem durch Licht induzierten, bereits klonierten und heterolog exprimierten OMT-Transkript überein, dessen Substratspezifität und physiologische Signifikanz daher weiter unklar ist. Der Aufbau einer gewebespezifischen EST-Datenbank Licht-induzierter *M. crystallinum*-Pflanzen soll Lichtstress-relevante epidermale Transkripte erfassen und Gene und Proteine identifizieren, die an der hohen Lichttoleranz dieser Pflanze beteiligt sind.

## Hydroxyzimtsäuren

Gruppenleiter: Dieter Strack

Wissenschaftlicher Mitarbeiter: Alfred Baumert

Postdoktorand/in: Carsten Milkowski, Lilian Nehlin (seit 01.09.2001)

Doktorandin: Diana Schmidt (seit 01.08.2001)

Technische Assistentin: Ingrid Otschik

**Hydroxyzimtsäuren (HCAs) sind zentrale Vorstufen für eine Vielzahl verschiedenartiger sekundärer Pflanzenstoffe, u.a. Flavonoide, Stilbene, Cumarine oder Lignine, akkumulieren aber auch häufig selbst in Form ihrer Ester oder Amide. Sie nehmen eine bedeutende Stellung bei Interaktionen der Pflanze mit abiotischen und biotischen Umweltfaktoren ein. Vertreter der Brassicaceen akkumulieren in ihren Samen den Cholinester der Sinapinsäure (Sinapin = Sinapoylcholin) und in ihren Blättern verschiedene Malatester, u.a. Sinapoylmalat. Die Bildung dieser Ester wird über HCA-Acetaleser durch spezifische HCA-Transferasen katalysiert. An den Modellsystemen Arabidopsis und Raps werden die subzelluläre Lokalisation der Transferasen und die zell- und gewebe-spezifische Expression der kodierenden Gene untersucht.**

Durch heterologe Expression einer Arabidopsis-cDNA, die für die 1-Sinapoylglucose:Malat-Sinapoyltransferase (SMT) kodiert, konnten ausreichende Mengen rekombinanten Proteins für die Herstellung spezifischer Kaninchen-SMT-Antikörper gewonnen werden. Es gelang der Nachweis der vakuolären Lokalisation der SMT in Mesophyll- und Epidermiszellen. Dies unterstützt die vermutete evolutive Verwandtschaft der SMT mit Serincarboxypeptidasen aufgrund hoher Sequenzähnlichkeiten, eines ER-gerichtete N-terminalen Signalpeptids und mehrerer potentieller Glykosidierungsorte.

Die Arbeiten im BMBF-Leitprojekt „NAPUS 2000 – Gesunde Lebensmittel aus transgener Rapssaat“ haben das Ziel, den Sinapingehalt so stark abzusinken, dass die hochwertigen Rapsproteine für die menschliche Ernährung verfügbar werden. Basierend auf der cDNA-Sequenz der UDP-Glucose:Sinapinsäure-Glucosyltransferase (SGT) aus Raps und Arabidopsis, die die Bildung der aktivierten Vorstufe für die Sinapin-Biosynthese katalysiert, wurden Vektoren konstruiert, die eine samenspezifische Suppression der SGT durch Doppelstrang-RNA-Interferenz (dsRNAi) ermöglichen sollen.

In einem begleitenden Ansatz wird versucht, den Sinapingehalt der Samen dadurch zu reduzieren, indem bakterielle Gene (*betA*, *betB*), die Cholin zu Betain oxidieren, in Raps und in Arabidopsis exprimiert werden. Die Bildung von Betain soll außerdem dazu beitragen, die Toleranz der Samen gegen schädigende Umwelteinflüsse wie Salz, Kälte oder Trockenheit zu erhöhen.

## Publikationen

- Back, K., Jang, S. M., Lee, B.-C., Schmidt, A., Strack, D. & Kim, K.-M. Cloning and characterization of a hydroxycinnamoyl-CoA:tyramine N-(hydroxycinnamoyl) transferase induced in response to UV-C and wounding from *Capsicum annuum*. *Plant Cell Physiol.* **42**, 475–481.
- Baumert, A., Mock, H.-P., Schmidt, J., Herbers, K., Sonnewald, U. & Strack, D. Patterns of phenylpropanoids in noninoculated and potato virus Y-inoculated leaves of transgenic tobacco plants expressing yeast-derived invertase. *Phytochemistry* **56**, 535–541.
- Cai, Y., Sun, M., Schliemann, W. & Corke, D. Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigments from *Celosia argentea*. *J. Agric. Food Chem* **49**, 4429–4435.
- Fester, T., Strack, D. & Hause, B. Reorganization of tobacco root plastids during arbuscule development. *Planta* **213**, 864–868.
- Hao, Q., Van Damme, E. J. M., Hause, B., Barre, A., Chen, Y., Rougé, P. & Peumans, W. J. Iris bulbs express type 1 and type 2 ribosome-inactivating proteins with unusual properties. *Plant Physiol.* **125**, 866–876.
- Jones, P. & Vogt, T. Glycosyltransferases in secondary plant product metabolism: tranquilizers and stimulant controllers. *Planta* **213**, 164–174.
- Kobayashi, N., Schmidt, J., Wray, V. & Schliemann, W. Formation and occurrence of dopamine-derived betacyanins. *Phytochemistry* **56**, 429–436.
- Lehmann, K., Hause, B., Altmann, D. & Köck, M. Tomato ribonuclease LX with the functional ER retention motif HDEF is expressed during programmed cell death processes including xylem differentiation, germination and senescence. *Plant Physiol.* **127**, 436–449.
- Milkowski, C., Krampe, S., Weirich, J., Hasse, V., Boles, E. & Breunig, K. D. Feedback regulation of glucose transporter gene transcription in *Kluyveromyces lactis* by glucose uptake. *J. Bacteriol.* **183**, 5223–5229.
- Schliemann, W., Cai, Y., Degenkolb, T., Schmidt, J. & Corke, H. Betalains of *Celosia argentea*. *Phytochemistry* **58**, 159–165.
- Stephan, M., Bangerth, F. & Schneider, G. Transport and metabolism of exogenously applied gibberellins to *Malus domestica* Borkh. cv. Jonagold. *Plant Growth Regul.* **33**, 77–85.
- Strack, D., Fester, T., Hause, B. & Walter, M. H. Eine unterirdische Lebensgemeinschaft: Die arbuskuläre Mykorrhiza. *Biologie in unserer Zeit* **31**, 286–295.
- Strack, D. & Schliemann, W. Bifunctional polyphenol oxidases: novel functions in plant pigment biosynthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **40**, 3791–3794.
- Strack, D. & Schliemann, W. Bifunktionelle Polyphenoloxidasen: neuartige Funktionen in der Biosynthese pflanzlicher Farbstoffe. *Angew. Chem.* **113**, 3907–3911.

Van Damme, E. J. M., Hu, J., Barre, A., Hause, B., Baggerman, G., Rougé, P. & Peumans, W. J. Purification, characterization, immunolocalization and structural analysis of the abundant cytoplasmic beta-amylase from *Calystegia sepium* (hedge bindweed) rhizomes. *Eur. J. Biochem.* **268**, 6263–6273

Yamamoto, K.-I., Kobayashi, N., Yoshitama, K., Teramoto, S. & Komamine, A. Isolation and purification of tyrosine hydroxylase from callus cultures of *Portulaca grandiflora*. *Plant Cell Physiol.* **42**, 969–975.

## Buchbeitrag

Strack, D. Enzymes involved in hydroxycinnamate metabolism. In: *Methods in Enzymology*, Vol. **335**, Flavonoids and Other Polyphenols (Packer, L., ed.), Academic Press, Sheffield, pp. 70–81.

Varma, A. K., Singh, A., Sudha, Sahay, N. S., Sharma, J., Roy, A., Kumari, M., Rana, D., Thakran, S., Deka, D., Bharti, K., Franken, P., Hurek, T., Blechert, O., Rexer, K.-H., Kost, G., Hahn, A., Hock, B., Maier, W., Walter, M. H., Strack, D. & Kranner, I. *Piriformospora indica* - an axenically culturable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In: *The Mycota*, Vol. **IX**, Fungal Associations (Hock, B., ed.), Springer Wien, New York, pp. 125–150.





## **Nahtstelle zwischen Wissenschaft und Öffentlichkeit**

*Leiterin: Ellen Peerenboom (bis 30.06.2001) / Gesine Krüger(seit 01.09.2001)  
Mitarbeiterin & Webmasterin: Jana Krupik*

### **Corporate Design**

Seit Anfang des Jahres 2001 präsentiert sich das Institut für Pflanzenbiochemie mit einem neuen Corporate Design. Es wurde intern entwickelt und erfolgreich eingeführt. Das völlig neu gestaltete Logo fand extern wie intern schnell Akzeptanz. Die neuen Geschäftspapiere, Informationsbroschüren und Visitenkarten werden inzwischen in allen Bereichen angewendet.

### **Neuer Internetauftritt**

Gerade im Wissenschaftsbereich spielen elektronische Medien bei der Wissensaneignung und Kommunikation von Forschungsinhalten eine große Rolle. Deshalb wurden die Internetseiten intern völlig neu entwickelt und fanden mit ihrer englischen Version im Mai 2001 ihren Einsatz im World Wide Web. Sie sind leicht auffindbar, haben eine benutzerfreundliche Navigation und werden ständig gepflegt und aktualisiert.

### **Newsletter**

Die kleine Mitarbeiterzeitung informierte auch 2001 über das Institutsleben. Sie wird intern erstellt und in einer geringen Auflage für Mitarbeiter und Freunde des Instituts vervielfältigt. Da die Resonanz auf die drei Ausgaben groß war, wird der Newsletter auch in diesem Jahr fortgeführt.

### **Jobbörse Leipzig**

Auf der Suche nach wissenschaftlichem Nachwuchs nahm das IPB an der Jobbörse im Leipziger Hauptbahnhof teil. Sie wurde vom BMBF anlässlich des Jahres der Lebenswissenschaften organisiert. Der Stand mit Informationen und Stellenangeboten zog Studenten verschiedener Fachrichtungen, Wissenschaftler sowie Laien an.

### **Parlamentarischer Abend der Leibniz-Gemeinschaft**

Der zweite Parlamentarische Abend der WGL brachte am 19. Juni 2001 Vertreter der Bundes- und Landespolitik, Spitzenvertreter der Forschung und Verantwortliche aus den Leibniz-Instituten zusammen. Prof. Hans Olaf Henkel, der ehemalige Präsident des Bundesverbandes der deutsche Industrie wurde an diesem Abend neuer Präsident der Leibniz Gemeinschaft. Prof. Dierk Scheel und Frau Dr. Ellen Peerenboom nahmen als Vertreter des IPB teil am Rückblick auf zweieinhalb erfolgreiche Jahre der WGL.

### **Tag der Forschung**

Zum Ort der Begegnung zwischen Wissenschaftlern und Hallensern wurde am 21. Juni 2001 der Marktplatz von Halle. Das Institut nutzte den von der Martin-Luther-Universität organisierten Tag der Forschung, um seine Arbeiten zu präsentieren und hinterfragen zu lassen. Am Stand des IPB zog das Färben von Wolle mit Pilzfarbstoffen vor allem Schülern und Studenten an. Die einzige Färbetechnik im Mittelalter war Ausgangspunkt für zahlreiche zwanglose Gespräche, in denen sich Forscher und Hallenser näher kamen.

### **Biotechnica 2001**

Vom 09. bis 11. Oktober 2001 präsentierte sich das IPB mit seinen Forschungsergebnissen an gentechnisch verändertem Schlafmohn auf der Biotechnica-Messe in Hannover. Das Forschungsprojekt der Arbeitsgruppe unter Leitung von Dr. Susanne Frick zog zahlreiche Messebesucher aus Wissenschaft, Industrie und Politik an. In vielen intensiven Gesprächen wurden Kontakte geknüpft, unter anderem zu einem mittelständischen Industrieunternehmen.

### **Jahrestagung der Leibniz-Gesellschaft (WGL)**

Als Mitglied der WGL lud diesmal das Deutsche Bergbaumuseum Bochum zur Jahrestagung der Leibniz-Gesellschaft ein. Vom 07. bis 09. Oktober 2001 trafen sich die mittlerweile 79 Forschungseinrichtungen und wissenschaftlichen Serviceeinrichtungen, um Bilanz zu ziehen und ihre Pläne für das kommende Jahr zu diskutieren. Drei Vertreter des IPB nahmen auf der Tagung Einfluss auf die Gestaltung gemeinsamer Aktivitäten.

### **Lernmaterial für Schüler**

Besser informierte Bürger, mehr Verständnis, mehr Akzeptanz und mehr Nachwuchs für die Forschung, das waren die Ziele, welche die Mitarbeiter der Abteilung Sekundärstoffwechsel um Dr. Thomas Fester und die Leiterin der Öffentlichkeitsarbeit Dr. Ellen Peerenboom im Auge hatten, als sie die laienverständliche Lern-CD zu ihrem Forschungsthema Mykorrhiza entwickelten. Im Frühjahr erschien die erste Ausgabe dieser CD. Sie wurde im Dezember an alle Gymnasien in Sachsen-Anhalt verschickt und erzielte eine hohe Resonanz in der Presse. Zahlreiche Anfragen nach einem Exemplar der CD, die mit finanzieller Unterstützung des Stifterverbandes für die Deutsche Wissenschaft entstanden ist, sind die ersten Zeugen einer lebhaften Resonanz. Der Stifterverband initiierte 1999 diese Aktion, in deren Mittelpunkt der Dialog der Wissenschaft mit der Öffentlichkeit steht.

### **Schülerführungen und Schülerpraktika**

In der elften Klasse hat man sich vielleicht noch nicht für den späteren Beruf entschieden, hat aber mit Sicherheit ein Lieblingsfach. Ob daraus mehr werden kann, konnten auch in diesem Jahr wieder Schüler des Thomas-Müntzer-Gymnasiums in der Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie testen. Für die Schüler, die sich für ein einwöchiges berufsorientierendes Praktikum am IPB entschieden hatten, war der Einblick in die Berufswelt der Pflanzenforscher eine große Bereicherung ihrer Erfahrungen.

Den Biologieunterricht mit neuem Leben füllen konnten auch in diesem Jahr einige Schülerführungen im Institut, die als Informationsaustausch angelegt waren. Am Ende des Jahres steht fest: von den Führungen profitieren beide Seiten.

### **Pressemitteilungen**

PlantMetaNet – neues Forschungsnetzwerk – Vier führende Institute auf dem Gebiet der Pflanzenforschung vereinbaren Kooperation (PM vom 06.06.2001)

Wissenschaftler entwickeln Lernmaterial für Schüler – Lern-CD für das Fach Biologie: Mykorrhiza (PM vom 12.12.2001)



## Übersicht Haushalts- und Drittmittel 2001

	in Mio. DM	in %
<b>Haushalt</b>		
<b>Grundfinanzierung</b>		
Personalausgaben	8,2	30,3
Sachausgaben	4,0	14,8
Zuweisungen / Zuschüsse	0,2	0,7
Investitionen	9,8	36,2
HWP	1,6	5,8
<b>Zwischensumme:</b>	<b>23,8</b>	
<b>Drittmittelfinanzierung</b>		
BMBF	0,9	3,3
MK-LSA	0,2	0,7
DFG	1,3	4,8
Industrie	0,4	1,5
EU	0,4	1,5
Sonstige	0,1	0,4
<b>Zwischensumme:</b>	<b>3,3</b>	
<b>Gesamtsumme:</b>	<b>27,1</b>	<b>100,0</b>
<b>Investitionshaushalt</b>		
Großgeräteinvestition gesamt:	2,7	
Bauinvestitionen gesamt:	7,1	
<b>Summe:</b>	<b>9,8</b>	

**Drittmittelleinsatz (Stand 31.12.2001)**

Projekt (Projektleiter)	Gesamt - Laufzeit	Zuwendungs-/ Auftraggeber	Anteil 2001 (in DM)	Bewilligte Personalstellen
<b>Abt. Naturstoff-Biotechnologie</b>				
Jasmonatbiosynthese und JIP- Genexpression (Prof. C. Wasternack & O. Miersch)	99/01	SFB 363	114.800	2
Glutamat-Cyclase (Prof. C. Wasternack)	99/01	Probiodrug	26.400	0
Jasmonat-Biosyntheseregulation (Prof. C. Wasternack & O. Miersch)	99/03	DFG	106.600	1
<i>Papaver somniferum</i> (Prof. T. Kutchan)	99/01	DFG	119.600	1
<i>Papaver somniferum</i> (Prof. T. Kutchan)	00/01	SFB	67.000	1
Funktionelle Genomforschung (G. Herrmann)	00/02	DFG	22.000	0
Analysis of genes (Prof. T. Kutchan)	00/02	Icon Genetics	188.400	1
Alkaloid biosynthesis (Prof. T. Kutchan)	01/04	DFG	34.500	2
Allenoxidcyclase (Prof. C. Wasternack)	01/02	Firmenich	87.700	1
<b>Zwischensumme:</b>			<b>766.600</b>	<b>9</b>
<b>Abt. Natur- und Wirkstoffchemie</b>				
Bioaktive Naturstoffe Jemen (J. Schmidt)	97/02	GTZ	40.400	0
HEA(N)THOS (Prof. L. Wessjohann)	00/03	BMBF	253.200	2
COMBIOCAT (Prof. L. Wessjohann)	01/03	EU	159.400	2
EPILA (W. Brandt)	01/03	EU	44.900	2
Pilzexkursion (N. Arnold)	2001	DFG	2.200	0
<b>Zwischensumme:</b>			<b>500.100</b>	<b>6</b>

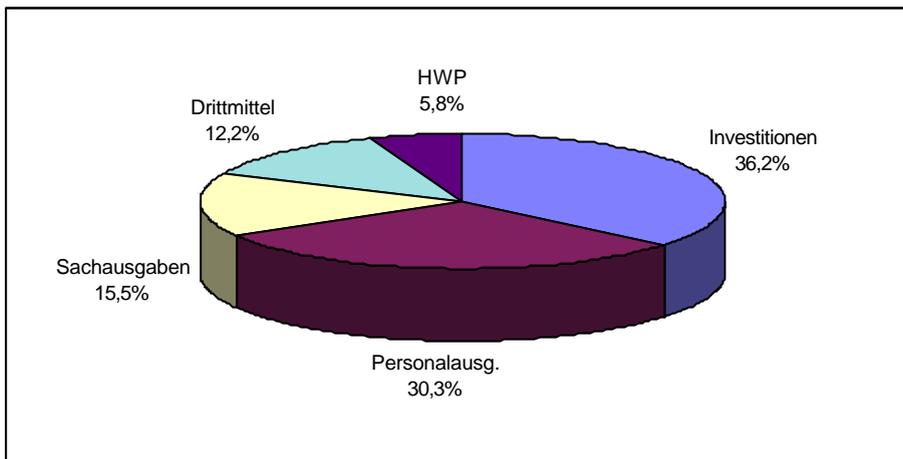
Projekt (Projektleiter)	Gesamt-Laufzeit	Zuwendungs-/Auftraggeber	Anteil 2001 (in DM)	Bewilligte Personalstellen
<b>Abt. Stress- und Entwicklungsbiologie</b>				
Schwermetalltoleranz (D. Neumann, S. Clemens)	99/01	SFB 363	62.000	1
Signaltransduktion (Prof. D. Scheel)	99/01	SFB 363	184.800	2
Chromatin und Genregulation (Prof. D. Scheel)	99/01	SFB 363	67.000	1
Elicitorrezeptoren (T. Nürnberger)	99/01	DFG	22.000	2
Abwehrjasmonat (Prof. D. Scheel)	99/03	DFG	59.700	1
Jasmonat-insensitive Mutante (S. Berger)	99/02	MK-LSA	53.800	1
Nichtwirtsresistenz (T. Nürnberger)	98/01	KWS	73.600	1
CRISP (Prof. D. Scheel)	01/03	EU	103.600	1
Schwermetalltoleranz (U. zur Nieden)	00/03	MK-LSA	63.000	1
Gene silencing (Prof. D. Scheel)	00/01	MK-LSA	116.900	1
<i>Arabidopsis halleri</i> (S. Clemens)	00/02	DFG	51.200	1
PPP-Finnland (Prof. D. Scheel)	2001	DAAD	5.800	0
METALLOPHYTES (S. Clemens)	01/03	EU	132.700	1
Biomineralisation (D. Neumann)	01/03	DFG	39.100	1
Humboldt-Stipendium (Prof. D. Scheel)	01/02	Humb.-Stiftg.	8.000	0
Partnerschaftsvorhaben Südafrika (T. Nürnberger)	01/04	VW-Stiftung	22.200	0
<b>Zwischensumme:</b>			<b>1.065.400</b>	<b>15</b>

Projekt (Projektleiter)	Gesamt - Laufzeit	Zuwendungs-/ Auftraggeber	Anteil 2001 (in DM)	Bewilligte Personalstellen
<b>Abt. Sekundärstoffwechsel</b>				
Betalaine (W. Schliemann, Prof. D. Strack)	99/01	DFG	63.400	1
Endomykorrhiza (Prof. D. Strack)	98/01	DFG	19.700	1
Glykosyltransferasen (T. Vogt, Prof. D. Strack)	99/03	DFG	98.600	2
Isoprenoidstoffwechsel (M. Walter, T. Fester)	00/03	DFG	62.000	1
NAPUS 2000 (Prof. D. Strack)	99/04	BMBF	199.800	2
Jasmonat, Entw., Transformation von Gerste (B. Hause)	99/01	DFG	19.100	1
Jasmonate bei Ausbildung von My- korrhiza (B. Hause)	00/02	DFG	61.500	1
Mykorrhizaspez. Carotinoidsynthese (T. Fester)	00/02	DFG	54.500	1
<b>Zwischensumme:</b>			<b>578.600</b>	<b>10</b>
<b>Wissenschaftlicher Querschnitt</b>				
GABI-Verbundprojekt Abt. Stress- u. Entwicklungsbiologie Abt. Natur- u. Wirkstoffchemie (S. Clemens)	00/04	BMBF	397.500	4
PUSH: Multimedia -Anwendung zum Thema „Mykorrhiza“ (T. Fester, E. Peerenboom)	2001	Stifter- verband Deutsche Wissen- schaft	6.000	0
<b>Zwischensumme:</b>			<b>403.500</b>	<b>4</b>
<b>Summe der bewilligten Projekte:</b>			<b>3.314.200</b>	<b>44</b>

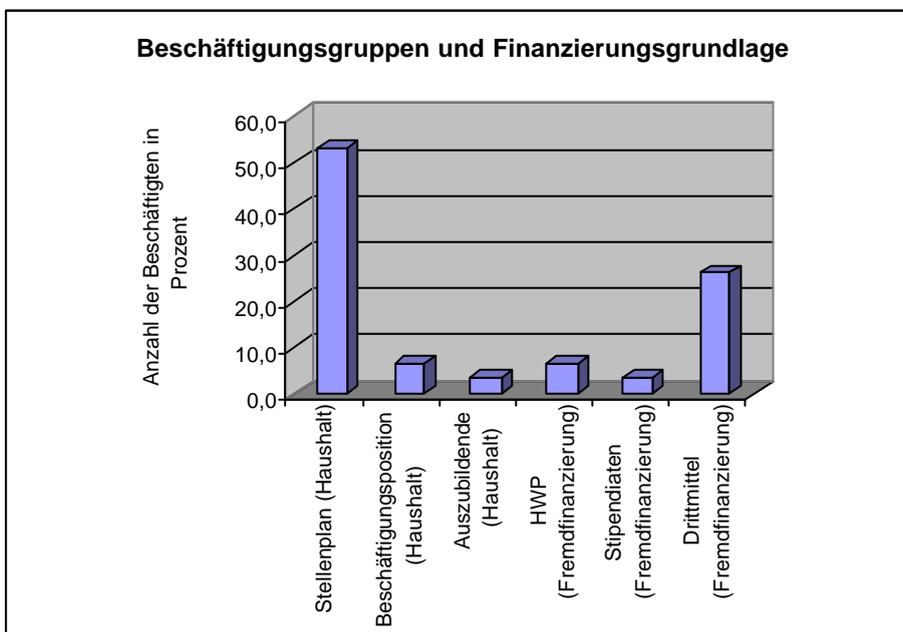
## Stellenplan 2001

<b>Anzahl der Mitarbeiter im Jahresdurchschnitt:</b>	<b>167</b>
Anteil der Vollbeschäftigten:	77 %
Anteil der Teilzeitbeschäftigten:	23 %
Anzahl der Planstellen:	89
Beschäftigungspositionen Haushalt:	11
Anzahl der Mitarbeiter über Drittmittel im Durchschnitt:	44
Anzahl der Mitarbeiter über HWP:	11
Anteil der weiblichen Beschäftigten:	59 %
Fluktuationsrate:	10,4 %
Durchschnittsalter aller Beschäftigten:	39 Jahre
Berufsausbildung:	
- im kaufmännische Bereich:	2
- in der Gärtnerei:	2
- in der Bibliothek:	2
erfolgreiche Berufsabschlüsse im Jahr 2001:	keine Abschlüsse
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.

<b>Abt. Naturstoff-Biotechnologie</b>	<b>Anan Ounaron</b> seit 26.07.1999, Thailand  <b>Samapitto Supachai</b> seit 04.05.2000 – 03.05.2001, Thailand
<b>Abt. Stress- &amp; Entwicklungsbiologie</b>	<b>Dr. Magdalene Krzymowska</b> seit 01.08.1999, Polen  <b>Clarice de Figueiredo</b> 01.11.1999 – 30.09.2001, Brasilien  <b>Dr. Anne-Claire Cazalé</b> seit 01.02.2000 – 31.12.2001, Frankreich
<b>Abt. Natur- &amp; Wirkstoffchemie</b>	<b>Dr. Nguyen Hoang Anh</b> seit 01.09.2000 – 31.08.2001, Vietnam  <b>Marco Aurelio Dessoy</b> seit 01.02.2001, Niederlande
<b>Abt. Sekundärstoffwechsel</b>	<b>Dr. Sudha Sahay</b> (DAAD Stipendiatin) (seit 24.09.1999 – 30.09.2001), Indien

## Impressum

<b>Herausgeber:</b>	Institut für Pflanzenbiochemie (IPB) Presse- und Öffentlichkeitsarbeit Weinberg 3 06120 Halle (Saale)
<b>Telefon:</b>	(03 45) 55 82 11 10
<b>Fax:</b>	(03 45) 55 82 11 19
<b>E-Mail:</b>	pr@ipb-halle.de
<b>Redaktion:</b>	Gesine Krüger, Jana Krupik
<b>Texte:</b>	Für den Inhalt der wissenschaftlichen Texte sind die jeweiligen Abteilungs- und Gruppenleiter verantwortlich; weitere Texte: Gesine Krüger & Prof. Dierk Scheel
<b>Layout:</b>	Jana Krupik

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 2001. Der Jahresbericht 2001 erscheint nur auf Deutsch. © 2002 Institut für Pflanzenbiochemie, Halle (Saale).



