

Berichte aus der Biologie

Christina Mihr

**Proteomanalysen zur Charakterisierung
agronomisch bedeutender Merkmale in
Brassica napus L. und *Solanum tuberosum* L.**

Shaker Verlag
Aachen 2003

Die Deutsche Bibliothek - CIP-Einheitsaufnahme

Mihr, Christina:

Proteomanalysen zur Charakterisierung agronomisch bedeutender Merkmale in
*Brassica napus*L. und *Solanum tuberosum*L. / Christina Mihr.

Aachen : Shaker, 2003

(Berichte aus der Biologie)

Zugl.: Hannover, Univ., Diss., 2002

ISBN3-8322-1153-5

Copyright Shaker Verlag 2003

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen
oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungs-
anlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-1153-5

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

Zusammenfassung

Die Proteomanalyse basiert in der Regel auf zweidimensionalen Gelelektrophoresen zur Auftrennung komplexer Proteingemische und massenspektrometrischen Verfahren zur Identifizierung der interessierenden Eiweiße. Sie dient der Untersuchung des Proteoms, das heißt der Gesamtheit der Proteine einer Zelle, eines Gewebes oder eines Organismus.

Die Darstellung pflanzlicher Proteome ist aufgrund der Widerstandsfähigkeit der Zellwand, dem Vorkommen von Vakuolen, sowie zahlreicher sekundärer Inhaltsstoffe und Pigmente besonders schwierig. In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb zunächst Methoden zur Isolation von Gesamteiweißfraktionen aus Kartoffel und Raps etabliert. Bei verschiedenen Kartoffelgeweben erwies sich die Präzipitation mit Ammoniumacetat in Methanol nach einer Phenolextraktion als geeignet, während bei Raps mit der TCA/Aceton-Fällung gute Ergebnisse erzielt wurden. Da im Fall von Raps ein Großteil der anvisierten Untersuchungen am mitochondrialen Proteom durchgeführt werden sollten, wurden darüber hinaus Mitochondrienisolationen für etiolierte und grüne Rapsgewebe optimiert.

Die optimierten Methoden wurden zur Darstellung der Proteome verschiedener Gewebe von Kartoffel und Raps bezüglich der nachfolgend dargestellten Fragestellungen eingesetzt.

1) Im Fall der Kartoffel wurden Gesamteiweißextrakte aus Blättern, Stängeln, Wurzeln und Knollen engverwandter Kartoffellinien, die sich hinsichtlich ihrer Ertragsleistung unterscheiden, mit Hilfe der 2D-Gelelektrophorese aufgetrennt, wobei zahlreiche genotyp- aber auch entwicklungs- und organspezifische Unterschiede festgestellt werden konnten.

2) In erster Linie wurde die vergleichende Proteomanalyse jedoch zur Untersuchung molekularer Ursachen der cytoplasmatischen männlichen Sterilitätssysteme *Tournefortii* und *Tokumasu* eingesetzt. Bei der Gegenüberstellung der Gesamproteome männlich steriler und männlich fertiler Pflanzen konnten bei der CMS *Tournefortii* zahlreiche Unterschiede detektiert werden. Hingegen wurden beim Vergleich mitochondrialer Proteome bei der CMS *Tournefortii* ein Unterschied und bei der CMS *Tokumasu* acht Unterschiede festgestellt. Das im Fall der CMS *Tournefortii* betroffene Eiweiß konnte als Peroxiredoxin identifiziert werden und wird in Knospen männlich steriler Pflanzen vermindert gebildet. Dies verursacht möglicherweise Probleme bei der Reduktion von Sauerstoffradikalen, was wiederum zur Entstehung männlicher Sterilität führen könnte.

3) Des Weiteren wurde die Proteomtechnologie genutzt, um gewebespezifische Unterschiede in der Zusammensetzung der mitochondrialen Proteine bei Raps zu untersuchen. Beim Vergleich etiolierter und grüner Keimlinge bzw. grüner Keimlinge und Knospen zeigten sich große Übereinstimmungen zwischen den jeweiligen Proteomen. Dies deutet darauf hin, dass die Proteinstmuster vorwiegend sogenannte „house-keeping“-Proteine repräsentieren. Die massenspektrometrische Auswertung der detektierten Unterschiede konnte bislang noch nicht abgeschlossen werden.

4) In einem weiteren Projekt wurden mitochondriale Proteome unterschiedlicher *Brassica*-Arten sowie von Ackerbohne und Kartoffel miteinander verglichen, die dem bereits charakterisierten Proteom von *Arabidopsis thaliana* gegenübergestellt wurden. Bei nahe verwandten Arten deutete sich das Potential der Proteomanalyse hinsichtlich phylogenetischer Fragestellungen an.