

5. Zusammenfassung

Das auf Chromosom 1 von *Arabidopsis thaliana* lokalisierte Resistenzgen *RPBI* vermittelt eine dominant vererbte Resistenz gegen den obligaten Wurzelparasiten *Plasmodiophora brassicae*. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Region, in der das *RPBI*-Gen in vorangehenden Arbeiten lokalisiert wurde, möglichst weit einzugrenzen, so dass ein DNA-Fragment isoliert werden kann, welches das Resistenzgen trägt und zur Transformation anfälliger Pflanzen eingesetzt werden kann. Hierfür war eine hochauflösende Kartierung der *RPBI*-Region notwendig. Der erste Schritt im Rahmen dieser Kartierungsarbeiten war die Erstellung eines BAC-Contigs, das den Resistenzlocus überspannt und zur Identifizierung neuer, eng gekoppelter Marker diente. Es wurden zwei BAC-Klone identifiziert, die den Resistenzlocus überspannen. Der Klon T12O21 grenzte den *RPBI*-Locus hierbei am engsten ein, und die vollständig veröffentlichte Sequenz dieses Klons diente der weiteren molekularen Analyse der Region. Da die BAC-Klone DNA des anfälligen *Arabidopsis*-Ökotyps Columbia enthalten, wurde im Hinblick auf eine weitere Eingrenzung des *RPBI*-Locus eine Cosmid-Bibliothek des resistenten Ökotyps Tsu erstellt, der auch zur Herstellung der Kartierungspopulation verwendet wurde.

Die bereits existierende Kartierungspopulation konnte im Verlauf dieser Arbeit von 900 auf 4230 Pflanzen vergrößert werden. Zu diesem Zweck wurden zwei allelspezifische PCR-Marker etabliert, die eine schnelle Vorselektion von Pflanzen mit Rekombinationsereignissen nahe am Resistenzlocus ermöglichten. Insgesamt konnten 17 neue, eng gekoppelte RFLP- und PCR-Marker in einem Bereich von ca. 200 kb um den *RPBI*-Locus kartiert werden. Im letzten Abschnitt der Kartierungsarbeiten konnten einige BAC-Fragmente kartiert werden, die über einen großen Abschnitt von ca. 29 kb alle Cosegregation mit dem *RPBI*-Gen zeigten. Anhand der Kartierungsdaten erwies sich die *RPBI*-Region als ein Chromosomenabschnitt mit verringerter Rekombinationshäufigkeit ("cold spot").

Der *RPBI*-Locus wurde gemäß der Sequenz des Ökotyps Columbia auf einen Bereich von ca. 71 kb eingegrenzt. In diesem Abschnitt liegen drei Pseudogene und 13 codierende Sequenzen, von denen sechs in einem Abschnitt liegen, der absolute Kopplung mit dem Resistenzlocus zeigt. Die anderen sieben Gene liegen in den Abschnitten rechts und links von der cosegregierenden Region und müssen ebenfalls als Kandidatengene eingestuft werden. Aus der Tsu-Cosmidbibliothek wurde ein Cosmidklon isoliert, der drei dieser Kandidatengene enthält. Bei zwei der sechs Gene im cosegregierenden Abschnitt handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um Col-spezifische Gene, zwei andere Gene sind in duplizierter Form auf Chromosom 5 vorhanden. Keines der 13 Gene konnte einem bekannten Gen bzw. Protein zugeordnet werden oder zeigte Ähnlichkeiten zu bereits identifizierten Resistenzgenen, weshalb sie in den Datenbanken als hypothetische bzw. unbekannte Gene eingestuft wurden. In cDNA-Analysen wurde für 10 der 13 codierenden Sequenzen eine Expression in mindestens einem der beiden Ökotypen Tsu (resistent) und Cvi (anfällig) nachgewiesen. Ein Gen (CDS9) wurde sowohl bei infizierten als auch bei nicht infizierten Pflanzen nur im resistenten Ökotyp Tsu exprimiert. In Sequenzvergleichen der beiden Ökotypen Col und Tsu

und in PCR-Analysen der vier Ökotypen Tsu, Cvi, RLD und Col konnte ein hoher Polymorphiegrad mit einer großen Anzahl an Einzelnukleotidpolymorphismen zwischen den einzelnen *Arabidopsis*-Ökotypen festgestellt werden.

Mit den durchgeführten Kartierungsarbeiten und der molekularen Analyse der *RPBI*-Region wurde die Basis für nachfolgende Komplementationsversuche geschaffen, die zur Isolierung des *RPBI*-Gens notwendig sind.