

**Zell- und molekularbiologische
Untersuchungen zum Photo- und Polarotropismus
in den Moosen *Ceratodon purpureus* und
*Physcomitrella patens***

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum naturalium
(Dr. rer. nat.)

Eingereicht am Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

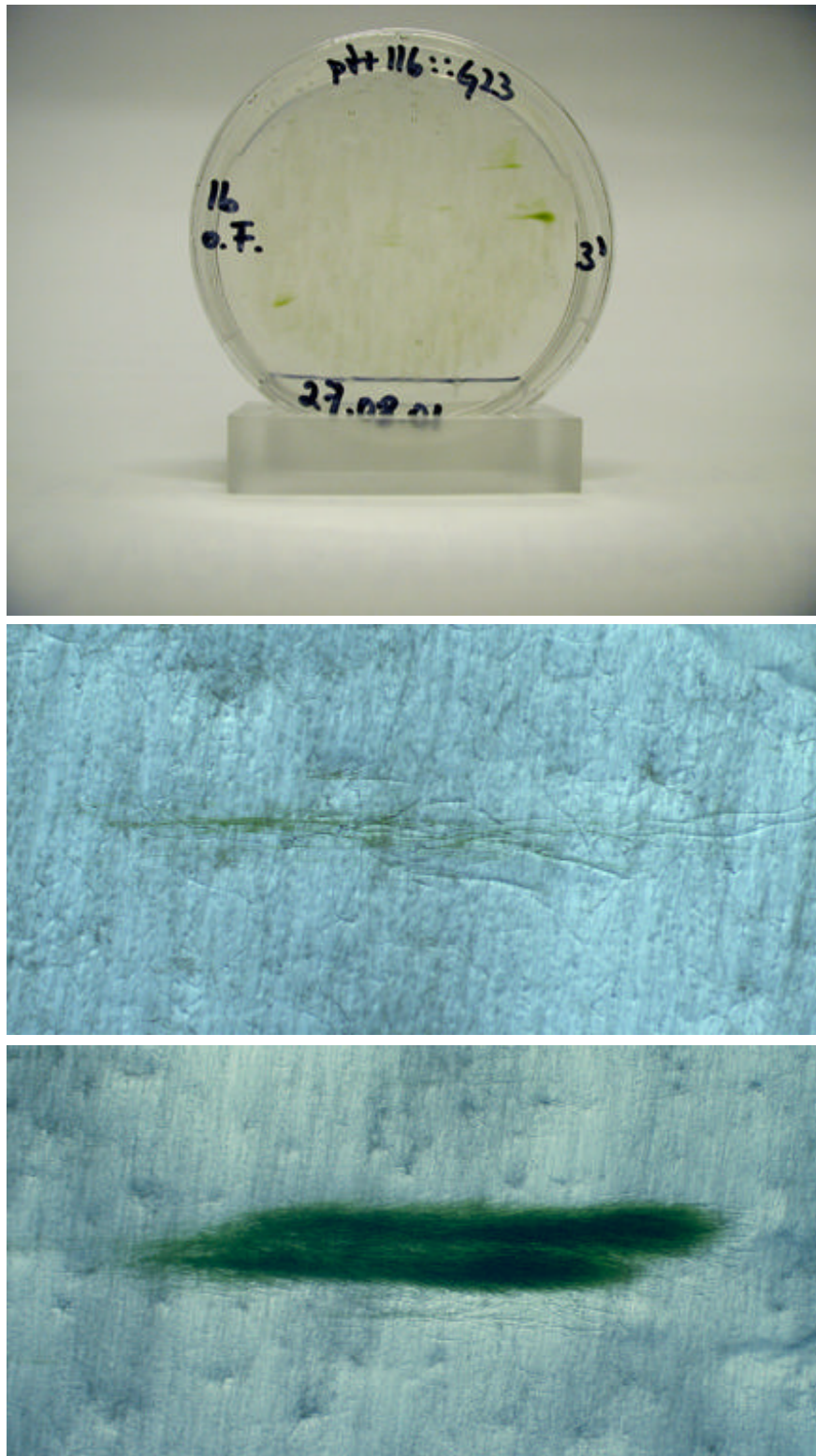
Gerhard Brücker

Berlin, März 2003

Diese Arbeit wurde im Zeitraum von Januar 1998 bis September 2002 am Institut für Pflanzenphysiologie und Mikrobiologie der Freien Universität Berlin in der AG von Prof. Dr. Elmar Hartmann angefertigt. Der Verfasser versichert, die Arbeit eigenständig durchgeführt und alle Hilfsmittel angegeben zu haben.

1. Gutachter: Prof. Dr. Elmar Hartmann
2. Gutachter: Priv. Doz. Dr. Tilman Lamparter

Tag der Disputation: 07. Mai 2003



Selektion von *gene replacement*-Mutanten.

Teile dieser Arbeit wurden in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Brücker,G., Zeidler,M., Kohchi,T., Hartmann,E., and Lamparter,T. (2000). Microinjection of heme oxygenase genes rescues phytochrome-chromophore-deficient mutants of the moss *Ceratodon purpureus*. *Planta* 210, 529-535.

Danksagung

Danken möchte ich vor allem meinem Betreuer Prof. Dr. Elmar Hartmann, der mich diese Arbeit in seiner sehr gut ausgestatteten Arbeitsgruppe durchführen lies. Besonders die große Freiheit und alle Unterstützung, die er mir die gesamte Zeit über gewährte, haben viel zu den erzielten Ergebnissen beigetragen.

Priv. Doz. Dr. Tilman Lamparter danke ich für seine umfassende Betreuung. Durch seine stete und kompetente Bereitschaft zur Diskussion habe ich viel von ihm in Bezug auf die Photobiologie als auch auf wissenschaftliches Arbeiten allgemein gelernt.

Ferner gebührt mein Dank Prof. Dr. Jon Hughes, der mir während der gesamten Zeit immer hilfreich zur Seite stand.

Insbesondere möchte ich auch meinem Doktorandenkollegen (seit Februar 2003 Dr. rer. nat.) Franz Mittmann danken. Er hat mich auf unterhaltsame Weise in die Methodik der Molekularbiologie eingewiesen und war stets bereit, sich mit anstehenden Problemen der Arbeit auseinander zusetzen und Lösungsvorschläge zu entwickeln.

Dipl. Biol. Alexander Repp, Tom Abts, Mareike Becker, Dr. Mathias Zeidler und Dr. Hans Peter Haschke danke ich für ihre Hilfe und Unterstützung.

Allen Kollegen in der AG Hartmann möchte ich für die gute Zusammenarbeit und die angenehme Arbeitsatmosphäre danken. Besonders bei Sabine Artelt, Sabine Buchert, Viola Eckl und Conny Görick für die technische Unterstützung sowie Doris Matzkuhn für ihre administrative Hilfe.

Danken möchte ich den Professoren A. Wilks (University of Maryland, Baltimore, USA) und P. R. Ortiz de Montellano (University of California, San Francisco, USA) für das Gen der Ratten-Hämoxygenase *HO-1* und Prof. T. Kohchi (Graduate School of Biological Sciences, Nara, Japan) für das *Arabidopsis*-Hämoxygenase-Gen *AtHO-1*. Dr. W. Gärtner (MPI für Strahlenchemie, Mülheim a.d. Ruhr, Germany) danke ich für das aufgereinigte Haferphytochrom A.

Für ihre Gastfreundschaft und Hilfe im Rahmen meines Forschungsaufenthaltes an der University of Leeds, UK, danke ich Prof. David Cove, Prof. Celia Knight und Dr. Andrew Cuming.

ABKÜRZUNGEN

... x g	Vielfaches der Erdbeschleunigung
A _{xxx}	Absorption bei einer Wellenlänge von XXX nm
bp	Basenpaar(e)
BSA	Rinderserumalbumin
bzw.	beziehungsweise
cDNA	<i>complementary</i> DNA: aus mRNA synthetisierte komplementäre DNA
CDP-Star	Substrat der Alkalischen Phosphatase (Chemolumineszenzreagens, Boehringer Mannheim)
CIAP	Alkalische Phosphatase aus Kälberdarm
<i>CerpuPhy1</i>	Phytochrom-Gen 1 aus <i>C. purpureus</i> ; GB Accession Number: U87632
<i>CerpuPhy2</i>	Phytochrom-Gen 2 aus <i>C. purpureus</i> ; GB Accession Number: U56698
<i>CerpuPhy3</i>	Phytochrom-Gen 3 aus <i>C. purpureus</i> ; GB Accession Number: AY123149
<i>CpHO1</i>	Hämoxygenase-Gen 1 aus <i>C. purpureus</i> ; GB Accession Number: AJ489940
CTAB	Hexadecyltrimethyl-ammonium Bromide (Sigma); Kationisches, chaotropes Detergenz
CTP	Chloroplasten-Transit-Peptid
d	Tag(e)
DEPC	Diethylpyrocarbonat
d.h.	das heißt
DIG	Digoxigenin; Hapten des nichtradioaktiven Nukleinsäuremarkierungs- und Detektionssystems von Roche
DTT	Dithiothreitol
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure, Dinatriumsalz
EtOH	Ethanol
f	Femto
g	Gramm
GB	GenBank
GFP	<i>Green Fluorescent Protein</i>
GUS	Glucuronidase
h	Stunde(n)
H ₂ O	MilliQ-Wasser
HO	Hämoxygenase
hpt	Hygromycinphosphotransferase
hy1	<i>Arabidopsis thaliana</i> Mutante (long hypocotyl)
hyg	Hygromycin B
IAA	Isoamylalkohol
IPTG	Isopentyl-β-D-thiogalactosid
kb	Kilobase(n)
kDa	Kilodalton
ko	<i>knockout</i>
l	Liter
LB	Luria Bertani Medium für <i>E. coli</i>
Lsg.	Lösung
μ	Mikro
m	Milli
MCS	<i>Multiple Cloning Site</i> ; Klonierungsstelle mit verschiedenen Restriktionsenzym-Erkennungssequenzen
min	Minute(n)
M _r	relatives Molekulargewicht
n	Nano
Ni-NTA	Nickel-Nitrilotriacetic acid
nt	Nukleotid(e)
ORF	<i>open reading frame</i>
pA	Polyadenylierungssignal
PAGE	Polyacrylamidgelelektrophorese

PCR	Polymerase Chain Reaction
PEG	Polyethylenglycol; verwendet wurde PEG ₈₀₀₀ mit einem M _r von 8000 (Sigma)
P _{fr} /P _r	dunkel-rot (far red) bzw. rot absorbierende Form des jew. Holo-Phytochrom
PHYA, B,...	Phytochrom-Gene A, B,...
PhyA, B,...	Phytochrom A, B,...
PhyA _{Phy1}	Phytochrom-Gen 1 aus <i>P. patens</i> ; GB Accession Number: AY123146
PhyA _{Phy2}	Phytochrom-Gen 2 aus <i>P. patens</i> ; GB Accession Number: AY123147
PhyA _{Phy3}	Phytochrom-Gen 3 aus <i>P. patens</i> ; GB Accession Number: AY123148
PhyA _{Phy4}	Phytochrom-Gen 4 aus <i>P. patens</i> ; GB Accession Number: AY123145
PSM	<i>Prestained</i> Marker
RAcE	Rapid Amplification of cDNA Ends
rpm	<i>rounds per minute</i>
RT	Raumtemperatur
RT-PCR	Reverse Transkriptase PCR
s	Sekunde
s.	siehe
SDM	<i>Site Directed Mutagenesis</i>
SDS	Natriumdodecylsulphat
SLB	<i>Sample Loading Buffer</i> : Proben-Auftragspuffer für Gelelektrophorese
T _{an}	<i>Annealing</i> -Temperatur (PCR)
TE	Tris/EDTA-Puffer (10 mM Tris/HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0)
Tris	Tris(hydroxymethyl)amminomethan
U	Unit; Enzym- und teilweise Herstellerspezifische Angabe
ü. N.	über Nacht
UTR	<i>untranslated region</i> : (3' - bzw. 5' -) nicht translaterter Bereich
v/v	<i>volume per volume</i>
Vol.	Volumen
w/v	<i>weight per volume</i>
wt	Wildtyp
X-Gal	5-Bromo-4-Chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranosid