Analyse der Argonauten-Proteinfamilie als Kandidaten für die Regulation der Chemotypbildung in *Thymus vulgaris*

Dissertation

zur Erlangung des
Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I – Biowissenschaften

der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg,

vorgelegt

von Frau Franziska Elisabeth Leidecker, geb. Schäfer,

geb. am 17.04.1988 in Weilburg/Lahn

1. Gutachter: Prof. Dr. Jörg Degenhardt
2. Gutachter: Prof. Dr. Björn Junker
3. Gutachter: Prof. Dr. Ludger Beerhues

Datum der öffentlichen Verteidigung: 31.05.2022

ZUSAMMENFASSUNG

Thymus vulgaris, der Echte Thymian, steht exemplarisch für eine Vielzahl an Arzneipflanzen, deren Produktion von ätherischen Ölen unter anderem in der pharmazeutischen Industrie von Bedeutung ist. In seiner Wildform, die vor allem im mediterranen Raum verbreitet ist, sind sechs verschiedene Chemotypen bekannt, die sich anhand des Hauptmonoterpens im ätherischen Öl voneinander unterscheiden lassen: Geraniol (G), α-Terpineol (A), trans-Sabinenhydrat (U), Linalool (L), Carvacrol (C) und Thymol (T). Diese sind namensgebend für die Chemotypen. Vor allem Carvacrol und Thymol, die phenolischen Chemotypen, haben eine hohe antibakterielle und spasmolytische Wirkung. Die Vererbung dieser Chemotypen erfolgt über mindestens 5 verschiedene Allele in einer epistatischen Reihe (G > A > U > L > C > T). Der T-Typ prägt sich dabei nur aus, wenn alle beteiligten Allele ein rezessives Gen tragen. Man hat lange angenommen, dass der Chemotyp nicht gewechselt werden kann. Jedoch konnte nachgewiesen werden, dass Jungpflanzen des L-Typs zu Beginn Carvacrol oder Thymol produzieren und erst nach Monaten ihren eigentlichen Chemotyp präsentieren. Zudem konnte gezeigt werden, dass die Transkriptmengen der γ-Terpinensynthase, welche für die Ausprägung der Chemotypen C und T von Bedeutung ist, durch Methylierungen im Promotorbereich reguliert werden. Für die methylierten Bereiche konnten auch 24 nt siRNAs identifiziert werden.

In dieser Dissertation sollten Komponenten des Methylierungsmechanismus identifiziert werden, die nicht nur für die Genregulation, sondern auch die epistatische Vererbung der Chemotypen verantwortlich sein könnten. Als wahrscheinlichster Mechanismus wurde hier RdDM (*engl.* RNA-directed DNA methylation, *dt.* RNA-dirigierte DNA-Methylierung) angenommen. Mittels Transkriptomanalysen unter Zuhilfenahme von Referenzgenen, konnte ein zentrales Protein des RdDM-Komplexes, AGO4, in allen Chemotypen von *T. vulgaris* identifiziert werden. AGO4 spielt eine wesentliche Rolle in der Funktion von RdDM. Es nimmt 24 nt siRNAs auf, wodurch die Ausbildung des RISC (*engl.* RNA-induced silencing complex; *dt.* RNA-induzierter Stilllegungskomplex) angestoßen wird. Durch die Interaktion von siRNA und AGO4 mit der Polymerase PolV, wird die Methyltransferase DRM2 an den Komplex rekrutiert, welche den Bereich methyliert, der komplementär zu der von AGO4 aufgenommenen siRNA ist.

Phylogenetische Analysen und Untersuchungen der Struktur der konservierten Domänen der Sequenz in Thymian, zeigten eine relativ hohe Übereinstimmung mit AGO4-Proteinen aus anderen Pflanzen. Die Funktionalität dieses Proteins aus Thymian (*Tv*AGO4) wurde in einem Cleavage Assay getestet. Die Sequenz-spezifische RNA-Spaltung in diesem Experiment zeigte, dass das Gen funktionell ist und in seiner Aktivität dem orthologen Gen aus *Arabidopsis thaliana* ähnelt. Eine Regulation der Chemotypenbildung in Thymian durch RdDM ist deshalb wahrscheinlich.

Da die Familie der Argonautenproteine in Thymian noch nicht beschrieben wurde und diese vermutlich auch in dieser Pflanze vielfältige Rollen in der Kontrolle der Genexpression einnehmen, wurden auch diese per Transkriptomanalyse gesucht und konnten teilweise identifiziert werden. Auch hier wurden phylogenetische Analysen vorgenommen und die konservierten Domänen untersucht. Jedoch sind weitere Untersuchungen, analog zu dem genannten Cleavage Assay bei AGO4, nötig, um bessere Aussagen hinsichtlich der der Funktionalität treffen zu können.

SUMMARY

Thymus vulgaris, also known as common thyme or garden thyme, stands as a model system for numerous medicinal plants which produce essential oils and are of use for the pharmaceutical industry. It is mainly found in the Mediterranean and known to be differentiated into six different chemotypes. These chemotypes are morphologically similar but can be discriminated by the main monoterpene alcohol present in their essential oil: geraniol (G), α-terpineol (A), trans-sabinene hydrate (U), linalool (L), carvacrol (C) und thymol (T). These monoterpenes are eponyms for the six chemotypes. Especially caravacrol and thymol have a high anti-bacterial and spasmolytic effect. The inheritance of the chemotypes is regulated via at least five different alleles and form an epistatic row (G > A > U > L > C > T). Plants of the T type only develop when all involved alleles carry a recessive gene. It has been assumed that chemotype assignment is fixed during plant development. However, studies have shown that very young plants of the L type produce carvacrol and switch to linalool in later developmental states. Previous research into the regulation of terpene biosynthesis showed that γ-terpinene synthase, a key biosynthetic component of carvacrol and thymol formation, is controlled on the level of transcription region. Its product, γ-terpinene, is an intermediate in the formation of carvacrol and thymol. The gene is expressed primarily in the C and T chemotypes. Its transcript levels also correlate with a methylation of its promoter region. 24 nt siRNAs covering this methylated areas have been identified as well.

This dissertation was supposed to identify the components of the methylation mechanism, which may be responsible for both, gene regulation and epistatic inheritance of the chemotypes. The most likely mechanism involved in the chemotype-specific methylation is RdDM. Through analyses of the transcriptome of thyme performed with the help of reference genes, AGO4, a crucial protein component of the RdDM complex, was identified in all chemotypes. AGO4 plays an essential role in the function of RdDM. It takes up 24 nt siRNAs, thereby initializing the formation of the RISC. The interaction of AGO4 with the polymerase PolV leads to the recruiting of DRM2, a methyltranferase, which methylates the area complementary to the siRNA bound by AGO4.

Phylogenetic analyses and examination of the conserved domains showed that thyme AGO4 bears relatively high resemblance with AGO4 proteins of other plant species. The functionality of the protein (TvAGO4) was tested via cleavage assay. The sequence-specific RNA cleavage in this experiment showed that the isolated gene is functional an its activity is

similar to that of the orthologous gene in *Arabidopsis thaliana*. Regulation of chemotype development via RdDM in thyme therefore seems feasable.

Transcriptome analyses were used to identify other members of the thyme Argonaute protein family as well. This protein family has not yet been described in *Thymus vulgaris* and may also play an important role in gene expression control in this model system. Phylogenetic analyses were conducted within this family and conserved elements were characterized. The functional diversity within the thyme AGO family remains to be tested, for example with cleavage assays.

INHALTSVERZEICHNIS

Zusammenfassung I

Summary III

Abkürzungsverzeichnis IX

Abbildungsverzeichnis XII

Tabellenverzeichnis XIII

1. Einleitung 1

1.1. Der Echte Thymian (*Thymus vulgaris*) 1

1.1.1. Thymian als Arznei und Insektizid 1

1.1.2. Polymorphismen des Echten Thymians 2

1.2. Ätherische Öle und Terpenbiosynthese 4

1.3. Genregulation durch Methylierung 6

1.3.1. RNA-gesteuerte DNA-Methylierung (RdDM) 9

1.3.2. Die Argonauten-Proteinfamilie 12

1.4. Zielsetzung 16

2. Material und Methoden 17

2.1. Pflanzenmaterial 17

2.1.1. Freilandkulturen und Stecklinge 17

2.1.2. Ernte und Lagerung des Blattmaterials von Thymus vulgaris 18

2.2. Mikrobiologische Methoden 18

2.2.1. Kultivierung und Lagerung von *Escherichia coli* (*E. coli*) 18

2.2.2. Antibiotika 18

2.2.3. Verwendete Medien 19

2.2.4. Transformation in *E.coli* 19

2.3. Molekularbiologische Methoden 20

2.3.1. Nukleinsäure-Extraktion aus *Thymus vulgaris* 20

2.3.2. DNA-Verdau 20

2.3.3. cDNA-Synthese 21

2.3.4. PCR (engl. polymerase chain reaction) 21

2.3.4.1. Overlap-PCR 22

2.3.5. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) 24

2.3.6. Verwendete Oligonukleotide 25

2.3.7. Agarose-Gelelektrophorese 26

2.3.8. Gelextraktion 27

2.3.9. Restriktion von PCR-Produkten 27

2.3.10. Ligation von PCR-Produkten 28

2.3.11. Isolation von Plasmid-DNA aus *E. coli* 29

2.3.12. Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren 29

2.3.13. Sequenzierung 29

2.3.14. Aktivitätsassay – Cleavage Assay 29

2.4. Bioinformatische Methoden 31

2.4.1. Transkriptom-Datenbank 31

2.4.2. Sequenzanalysen 32

2.4.3. Phylogenetische Analysen 32

3. Ergebnisse 34

3.1. Das Gen *AGO4* als Kandidatengen für die Kontrolle der Biosynthese von Monoterpenen in *Thymus vulgaris* 34

3.1.1. Identifikation möglicher Kandidatensequenzen von *AGO4* in *Thymus vulgaris* 36

3.1.2. Analyse der AGO4-Sequenz in *T.vulgaris* 39

3.1.3. AGO4-Nucleotidsequenzen im Vergleich 49

3.1.4. AGO4-Aminosäuresequenzen im Vergleich 49

3.1.5. Aufklärung der Intron-Exon-Struktur von *TvAGO4* in genomischer DNA (gDNA) 52

3.2. Untersuchung der konservierten Domänen von AGO4 55

3.3. Aktivitätsbestimmung des TvAGO4-Proteins 68

3.4. Weitere Argonauten-Sequenzen im Vergleich 69

3.4.1. Vergleich der Nukleotidsequenzen 70

3.4.2. Vergleich der Aminosäuresequenzen 72

3.4.3. Abgleich konservierter Domänen in weiteren Vertretern der AGO-Familie in *T. vulgaris* 74

4. Diskussion 76

4.1. *AGO4* konnte erfolgreich in *Thymus vulgaris* nachgewiesen werden 76

4.1.1. Herausforderungen bei der Extraktion von *AGO4* aus *T. vulgaris* cDNA 76

4.1.2. Analyse der *AGO4*-Sequenzen aus verschiedenen Organismen 78

4.1.3. Die gDNA-Sequenz von *TvAGO4* besitzt die gleiche Intron-Exon-Struktur wie die von *AtAGO4* 79

4.2. Die Proteinsequenzen von AGO4 zeigen eine leicht veränderte Phylogenie gegenüber jener der Nukleotidsequenzen 80

4.3. TvAGO4 hat eine ähnliche Domänenstruktur wie andere AGO4-Proteine und kodiert für ein funktionsfähiges Protein 81

4.4. Die Sequenzvergleiche innerhalb der weiteren AGO-Familie folgen weitgehend einem ähnlichen Muster wie die AGO4-Abgleiche 83

5. Verzeichnisse 86

5.1. Literaturverzeichnis 86

6. Anhang 92

6.1. cDNA-Sequenzen der AGOs aus *T. vulgaris* 92

6.2. Aminosäuresequenzen der AGOs aus *T. vulgaris* 103

6.3. Referenzgene 110

6.4. Distanzmatrizen phylogenetischer Analysen 111

6.5. Vergleich der Piwi-Domänen von AGO4 131

6.6. Vergleich der konservierten Domänen von AGO1, 3, 6, 7, 9 und 10 135

6.7. Sequenzvergleich der genomischen DNA von AGO4 aus *A. thaliana* und *T. Vulgaris* .. 179

6.8. Vollständiger Sequenzvergleich *RoAGO4* CDS und *SmAGO4* CDS (mit Sequenzlücke). 183

7. Danksagungen 187

8. Veröffentlichungen 188

8.1. Publikationen 188

8.2. Poster 188

9. Lebenslauf 189

10. Eidesstattliche Erklärung 190

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
AGO	Argonaut-Protein
Aq. Bidest.	Aqua bidestillata (vgl. *dd*H_2O)
At	*Arabidopsis thaliana*
A-Typ	A-Terpineol-Chemotyp
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ci	Curie (veraltete Maßeinheit für die Aktivitiät eines radioaktiven Stoffes)
cDNA	„complementary DNA“, dt. komplementäre DANN
C-Typ	Carvacrol-Chemotyp
d	Tag
ddH_2O	Doppelt-destilliertes Wasser (vgl. Aq. Bidest)
d.h.	das heißt
DNA	„Desoxribonucleic acid“, dt. Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonucleosidtriphosphat
dt.	deutsch
E. coli	*Escherichia coli* (Bakterium)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
Eg	*Erythranthe guttata*
engl.	Englisch
EtBr	Ethidium-Bromid
Fa.	Firma
GFP	„green fluorescent protein“, dt. Grün fluoreszierendes Protein
G-Typ	Geraniol-Chemotyp
h	Stunde(n)
Kap.	Kapitel
kb	Kilobasen
Konz.	Konzentration

l	Liter
LB	Lysogeny Broth (Nähermedium)
L-Typ	Linalool-Chemotyp
M	Mol
max.	maximal
mg	Milligramm
min	Minute(n)
min.	mindestens
ml	Milliliter
mM	Millimol
mm	Millimeter
Nb	*Nicotiana benthamiana*
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
PCR	„Polymerase chain reaction“, dt. Polymerasekettenreaktion
RNA	„ribonuleic acid“, dt. Ribonukleinsäure
RNASeq	RNA-Sequenzierung
RISC	„RNA-induced silencing complex“, dt. RNA-induzierter Stilllegungskomplex
rpm	„rotations per minute“, dt. Rotationen/Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
s / sec	Sekunde(n)
sog.	sogenannt(e(r))
Si	*Sesamum indicum*
Sm	*Salvia miltiorrhiza*
Tab.	Tabelle
Ta	*Triticum aestivum*
TAE	Tris-Acetat-EDTA-Puffer
T-Typ	Thymol-Chemotyp
Tv	*Thymus vulgaris*
u.a.	unter anderem
ugs.	umgangssprachlich

U-Typ	*trans*-Sabinenhydrat-Chemotyp
V	Volt
vgl.	vergleiche
z.B.	zum Beispiel
µCi	Mikro-Curie (vgl. Ci)
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µM	Mikromol
µm	Mikrometer

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABBILDUNG 1-1| EPISTATISCHE REIHE DER HAUPTMONOTERPENE IN *THYMUS VULGARIS*. [SCHIMMEL, 2014] 3
ABBILDUNG 1-2| STRUKTURFORMELN VON ISOPREN, ISOPENTENYLPYROPHOSPHAT (IPP) UND GERANYLPYROPHOSPHAT (GPP). 4
ABBILDUNG 1-3 | SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER KANONISCHEN RDDM. 10
ABBILDUNG 3-1 | RELATIVE TRANSKRIPTMENGE DES GENS DER Γ-TERPINENSYNTHASE IN DEN SECHS CHEMOTYPEN VON THYMUS VULGARIS. 34
ABBILDUNG 3-2 | 24 NT SIRNA-DECKUNG ÜBER DEM ERSEN ABSCHNITT DER PROMOTORREGION DER Γ-TERPINENSYNTHASE *TVTPS2* IN *THYMUS VULGARIS*..... 35
ABBILDUNG 3-3 | DENDROGRAMM-ANALYSE VON ARGONAUTEN-CDNA-SEQUENZEN AUS *ARABIDOPSIS THALIANA, TRITICUM AESTIVUM, THYMUS VULGARIS* UND *NICOTIANA BENTHAMIANA*. 38
ABBILDUNG 3-4 | VERGLEICH DER SEQUENZIERERGEBNISSE DES MÖGLICHEN *AGO4*-FRAGMENTS MIT RNASEQ-ERGEBNISSEN. 40
ABBILDUNG 3-5 | DENDROGRAMM DER *AGO*-SEQUENZEN ERWEITERT UM *SALVIA MILTIORRIHZA*, *ERYTHRANTHE GUTTATA* UND *SESAMUM INDICUM*..... 43
ABBILDUNG 3-6 | AUSSCHNITT DES SEQUENZVERGLEICHS VON *ROAGO4* CONSENSUS SEQUENCE UND *SMAGO4* CDS. 45
ABBILDUNG 3-7 | VERGLEICH DER KORRIGIERTEN MIT DER URSPRÜNGLICHEN *SMAGO4*-CDS UND DER *ROAGO4* CDS. 46
ABBILDUNG 3-8 | ERWEITERTES DENDROGRAMM DER CODIERENDEN *AGO*-SEQUENZEN MIT KORRIGIERTER *SMAGO4*-MRNA UND ERMITTELTER *TVAGO4*-CDS. 48
ABBILDUNG 3-9 | DENDROGRAMM DER AGO4-PROTEINSEQUENZEN VON *ARABIDOPSIS THALIANA*, *ERYTHRANTHEGUTTATA, NICOTIANA BENTHAMIANA*, *SALVIA MILTIORRHIZA*, *SESAMUM INDICUM, TRITICUM AESTIVUM* UND *THYMUS VULGARIS*. 51
ABBILDUNG 3-10| SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER INTRON-EXON-STRUKTUR VON *TVAGO4*. 52
ABBILDUNG 3-11 | VERGLEICH DER ARGON-DOMÄNE IN AGO4. 56
ABBILDUNG 3-12 | VERGLEICH DER PAZ-DOMÄNE IN AGO4. 59
ABBILDUNG 3-13 | | VERGLEICH DER AGOMID-DOMÄNE IN AGO4. 61
ABBILDUNG 3-14 | VERGLEICH DER 5' RNA GUIDE STRAND ANCHORING SITE DER PIWI-DOMÄNE IN AGO4. 63
ABBILDUNG 3-15 | VERGLEICH DER ACTIVE SITE DER PIWI-DOMÄNE IN AGO4. 67
ABBILDUNG 3-16 | CLEAVAGE-ASSAY: VERGLEICH DER AKTIVITÄT VON TVAGO4 MIT ATAGO4 AUF GFP-TRAGET-MRNA. 69
ABBILDUNG 3-17 | DENDROGRAMM DER NUKLEOTIDSEQUENZEN VERSCHIEDENER ARGONAUTEN-PROTEINE. 71
ABBILDUNG 3-18 | DENDROGRAMM DER AMINOSÄURESEQUENZEN VERSCHIEDENER ARGONAUTEN-PROTEINE. 73
ABBILDUNG 4-1 | SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER DOMÄNENSTRUKTUR VON AGO4. 82

TABELLENVERZEICHNIS

TABELLE 1-1 | KLASSIFIZIERUNG DER TERPENE NACH IHREN GRUNDGERÜSTEN. 5
TABELLE 2-1 | LISTE DES VERWENDETEN PFLANZENMATERIALS VON *THYMUS VULGARIS*. 17
TABELLE 2-2 | EIGENSCHAFTEN UND VERWENDUNGSGEBIETE DES GENUTZTEN BAKTERIENSTAMMES. 18
TABELLE 2-3 | VERWENDETE ANTIBIOTIKA 19
TABELLE 2-4 | LISTE DER VERWENDETEN MEDIEN FÜR DIE MIKROBIOLOGIE. 19
TABELLE 2-5 | LISTE DER VERWENDETEN OLIGONUKLEOTIDE ZUR FRAGMENTERZEUGUNG UND SEQUENZIERUNG. 25
TABELLE 2-6 | LISTE DER VERWENDETEN PUFFER FÜR DIE AGAROSE 27
TABELLE 3-1 | LISTE DER MÖGLICHEN *AGO4*-SEQUENZEN AUS DER RNA-SEQ-DATENBANK. 37
TABELLE 3-2 | TABELLARISCHE AUFLISTUNG DER SEQUENZVERGLEICHE ZUR KLONIERUNG DER MÖGLICHEN *TVAGO4*-CDNA-SEQUENZ 41
TABELLE 3-3 | DISTANZMATRIX VERSCHIEDENER *AGO4*-NUKLEOTIDSEQUENZEN. 49
TABELLE 3-4 | DISTANZMATRIX VERSCHIEDENER AGO4-AMINOSÄURESEQUENZEN. 50
TABELLE 3-5 | VERGLEICH DER EXON-GRÖßEN DER GDNA-SEQUENZEN VON *ATAGO4* UND *TVAGO4*. 53
TABELLE 3-6 | VERGLEICH DER INTRON-GRÖßEN DER GDNA-SEQUENZEN VON *ATAGO4* UND *TVAGO4*. 54
TABELLE 3-7 | DISTANZMATRIX DER *AGO4* ARGON-DOMÄNE, BEZOGEN AUF DIE NUKLEOTIDSEQUENZ. 57
TABELLE 3-8 | DISTANZMATRIX DER AGO4 ARGON-DOMÄNE, BEZOGEN AUF DIE AMINOSÄURESEQUENZ. 57
TABELLE 3-9 | DISTANZMATRIX DER *AGO4*-PAZ-DOMÄNE, BEZOGEN AUF DIE NUKLEOTIDSEQUENZ. 59
TABELLE 3-10 | DISTANZMATRIX DER AGO4-PAZ-DOMÄNE, BEZOGEN AUF DIE AMINOSÄURESEQUENZ. 60
TABELLE 3-11 | DISTANZMATRIX DER *AGO4*-AGOMID-DOMÄNE BEZOGEN AUF DIE NUKLEOTIDSEQUENZ 61
TABELLE 3-12 | DISTANZMATRIX DER AGO4-AGOMID-DOMÄNE, BEZOGEN AUF DIE AMINOSÄURESEQUENZ. 62
TABELLE 3-13 | DISTANZMATRIX DER 5‘ RNA GUIDE STRAND ANCHORING SITE IN DER *AGO4* PIWI-DOMÄNE, BEZOGEN AUF DIE NUKLEOTIDSEQUENZ. 63
TABELLE 3-14 | DISTANZMATRIX DER 5‘ RNA GUIDE STRAND ANCHORING SITE IN DER AGO4 PIWI-DOMÄNE, BEZOGEN AUF DIE AMINOSÄURESEQUENZ. 64
TABELLE 3-15 | DISTANZMATRIX DER ACTIVE SITE IN DER *AGO4* PIWI-DOMÄNE, BEZOGEN AUF DIE NUKLEOTIDSEQUENZ. 67
TABELLE 3-16 | DISTANZMATRIX DER ACTIVE SITE IN DER AGO4 PIWI-DOMÄNE, BEZOGEN AUF DIE AMINOSÄURESEQUENZ. 67

1. EINLEITUNG

1.1. DER ECHTE THYMIAN (*THYMUS VULGARIS*)

Die Gattung *Thymus* zählt zu der Familie der *Lamiaceae*, der „Lippenblütler“. Sie ist vornehmlich im mediterranen Raum verbreitet, einzelne Arten sind aber fast in ganz Europa zu finden [Stahl-Biskup & Sáez, 2002]. Die Art des Echten Thymians (*Thymus vulgaris*) – ein perennierender Halbstrauch – stammt ursprünglich aus dem Mittelmeerraum, wurde aber inzwischen in gemäßigteren Klimazonen angesiedelt. Es existieren zahlreiche Zuchtformen, wie „Deutscher Winter“ und „Schweizer Thymian“.

Der Echte Thymian ist, aufgrund seiner ätherischen Öle, die er in glandulären Trichomen auf der Blattober- und Unterseite produziert und speichert, die meistgenutzte Thymian-Art, sowohl in der pharmazeutischen Industrie, als auch in der Lebensmittel- und Aromaindustrie. Während Thymianblätter in der Lebensmittelindustrie als Gewürz geschätzt sind, wird das ätherische Öl in der der Parfum- und Kosmetikindustrie als Basismaterial bei der Dufterzeugung genutzt [Stahl-Biskup & Sáez, 2002].

1.1.1. THYMIAN ALS ARZNEI UND INSEKTIZID

Pharmazeutisch wird Thymian traditionell als Expektorans bei Erkrankungen der oberen Atemwege sowie bei Bronchitis und Keuchhusten eingesetzt. Bereits in der Antike und im Mittelalter war Thymian zur Behandlung dieser Krankheiten als Arzneimittel bekannt, wie beispielsweise Gaius Plinius Secundus Maior (Plinius der Ältere) in seiner Enzyklopädie „Naturalis historiae“ (ca. 77 n. Chr.) darlegte [Maior, 1765]. Hildegard von Bingen schrieb in ihrem Werk „Physica“ (1151–1158) dem Thymian heilende Eigenschaften bei Hauterkrankungen zu [Throop, 1998].

Die Wirkung bei Erkrankungen der oberen Atemwege wurde über diverse Studien mit Pflanzenextrakten und dem ätherischen Öl nachgewiesen, und hat dem Thymian einen festen Platz in der Phytotherapie verschafft [Stahl-Biskup & Sáez, 2002; Rahfeld, 2011]. Das ätherische Öl hat sowohl eine antiseptische, als auch eine spasmolytische Wirkung,

insbesondere wenn es viel Carvacrol oder Thymol enthält [Stahl-Biskup & Sáez, 2002; Hosseinzadeh *et al.*, 2015].

Des Weiteren konnte vorwiegend für die phenolischen Monoterpene des Thymian eine antimikrobielle Aktivität gegen ein breites Spektrum an Bakterien nachgewiesen werden, wie beispielsweise *E. coli* oder den Erreger der Europäischen Faulbrut, *Melissococcus plutonius* [Marino *et al.*, 1999; Hosseinzadeh *et al.*, 2015; Wiese *et al.*, 2018]. Zudem können Thymol und Carvacrol insektizid gegen Schadinsekten wirken [Park *et al.*, 2017]. Thymol wird zum Beispiel zur Behandlung von Varroose (Befall durch *Varroa destructor*, ugs. Varroamilbe) bei Honigbienen angewendet, wobei die Behandlung allerdings auch negative Effekte auf die Fitness des Bienenvolkes haben kann [Floris *et al.*, 2004; Gregorc & Planinc, 2005; Glavan *et al.*, 2020].

1.1.2. POLYMORPHISMEN DES ECHTEN THYMIANS

Zwei unterschiedliche Polymorphismen sind bei Thymian bekannt. Zum einen liegt beim Thymian stabile Gynodiözie vor. Dies bedeutet, dass es in einer Population sowohl zwittrige bzw. hermaphrodite Pflanzen gibt, die Blüten mit Pistill (ugs. Blütenstempel) und Stamina (ugs. Staubblätter) präsentieren, als auch rein weibliche (d.h. männlich-sterile) Pflanzen, deren Blüten nur ein Pistill besitzen [Thompson *et al.*, 1998; Cheptou, 2012]. Etwa 60 % aller *T. vulgaris* Pflanzen sind rein weiblich [Belhassen *et al.*, 1990; Thompson *et al.*, 1998].

Zum anderen wurde beim Thymian ein chemischer Polymorphismus beschrieben [Thompson *et al.*, 1998], bei dem die Individuen einer Population eine distinkte, genetisch determinierte Komposition der ätherischen Öle besitzen. Der Hauptunterschied besteht dabei in einem einzelnen, dominant vorkommenden Monoterpen. Sechs Monoterpene sind für die sogenannten „Chemotypen“ namensgebend, die in dieser Arbeit verwendet wurden und aus einer Population der Universität Montpellier (Südfrankreich) stammen: neben den pharmazeutisch besonders relevanten phenolischen Monoterpenen Thymol (**T**) und Carvacrol (**C**), sind auch die nicht-phenolischen Monoterpene Geraniol (**G**), α-Terpineol (**A**), trans-Sabinenhydrat (**U**) und Linalool (**L**) in *Thymus vulgaris* zu finden [Thompson *et al.*, 1998]. Der Erbgang erfolgt nach einer epistatischen Reihe, wie in Abb. 1-1 dargestellt.

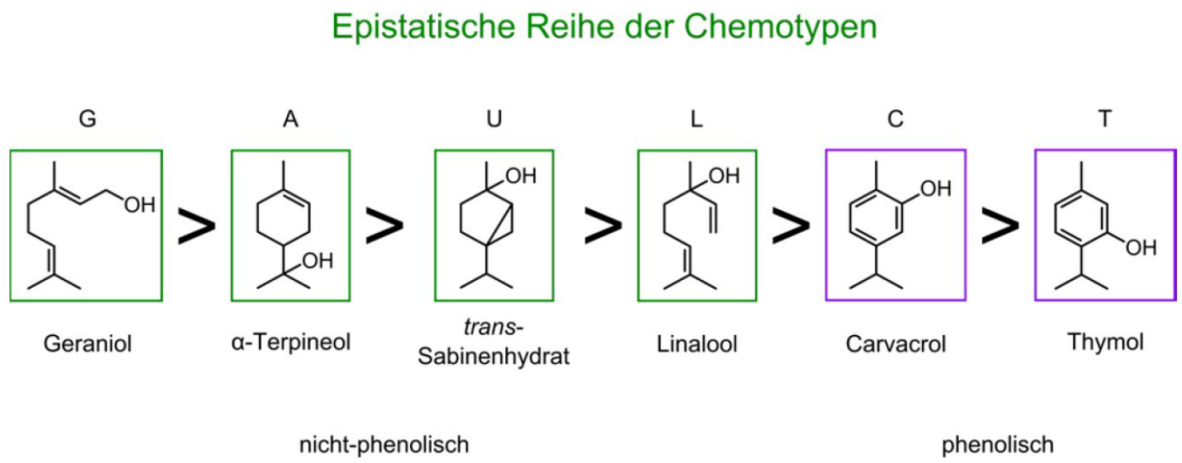


Abbildung 1-1|Epistatische Reihe der Hauptmonoterpene in *Thymus vulgaris*. [Schimmel, 2014]

Die Chemotypen werden nach einer sogenannten epistatischen Reihe vererbt, wobei Geraniol/G der dominanteste Chemotyp ist und Thymol/T der rezessivste. Die nicht-phenolischen Chemotypen sind grün eingerahmt, die phenolischen violett.

Epistase bedeutet, nach der Begriffsprägung durch den englischen Biologen William Bateson im Jahr 1907, dass nicht-allelische Gene sich gegenseitig in ihrer phänotypischen Ausprägung beeinflussen können [Purves *et al.*, 2006]. Per Definition ist es also möglich, dass die entscheidenden Gene auf unterschiedlichen Loci auf dem gleichen Chromosom oder aber auf gänzlich unterschiedlichen Chromosomen liegen [Spektrum-Verlag, o. J.].

Bei *Thymus vulgaris* prägt sich der G-Phänotyp immer aus, sobald ein dominantes G-Allel auftritt, egal ob die anderen Loci dominante Allele tragen. Der T-Typ wiederum bildet sich nur aus, wenn alle Genloci ein rezessives Allel tragen [Thompson *et al.*, 1998].

Die Vererbung der Chemotypen erfolgt multiallelisch. Für die Chemotypen A, U, L und C ist je ein Allelpaar zuständig, während Segregationsanalysen für den G-Typ darauf hindeuten, dass zwei Genloci involviert sein könnten. Der T-Typ wiederum bildet sich nur aus, wenn alle Genloci ein rezessives Allel tragen [Vernet *et al.*, 1986; Thompson *et al.*, 1998].

Da die Chemotypen sich nur sehr geringfügig in ihrer Morphologie unterscheiden, ist eine Differenzierung nur am Geruch bzw. an der Zusammensetzung des ätherischen Öls möglich. Es wird vermutet, dass es sich bei der Ausbildung der Chemotypen um eine Anpassung der Pflanze an äußere Faktoren handeln könnte, da sich bestimmte Chemotypen an manchen Standorten konzentrieren [Thompson *et al.*, 1998; Stahl-Biskup & Sáez, 2002]. So wachsen die nicht-phenolischen Chemotypen vermehrt an Orten, die durch erheblichen Frost im Winter charakterisiert sind, während die phenolischen an Orten mit hoher Trockenheit im Sommer gehäuft auftreten [Thompson *et al.*, 1998; Thompson *et al.*, 2007;

Thompson *et al.*, 2013]. Ein direkter Vergleich der phenolischen Chemotypen zeigt, dass der T-Typ Frost etwas besser als der C-Typ erträgt [Thompson *et al.*, 2013]. Eine Studie von Thompson et al. (2013) hat darüber hinaus gezeigt, dass sich der Anteil phenolischer Chemotypen in der Region um den Standort Montpellier seit den 1970er Jahren in der Gesamtpopulation erhöht hat, wobei für diese Entwicklung eine Korrelation mit den immer milder werdenden Wintern und sehr heißen und trockenen Sommern dargelegt werden konnte.

1.2. ÄTHERISCHE ÖLE UND TERPENBIOSYNTHESE

Die Bezeichnung „ätherisch“ definiert der Duden in seiner Online-Ausgabe als „ätherartig [daher flüchtig] und angenehm riechend“ [Dudenredaktion, o.J.]. Diese Definition gibt die offensichtlichen Eigenschaften der ätherischen Öle wieder. Jedoch wirken sie nur auf Höhere Tiere angenehm, während sie Arthropoden eher abschrecken und so diese potentiellen Herbivoren abwehren können [Weiler & Nover, 2008]. Sie verdunsten ohne einen Rückstand zu hinterlassen, und bestehen in der Regel aus Terpenen, Estern, Alkoholen oder Ketonen [Seilnacht, o. J.]. Die Monoterpene sind hierbei die interessanteste Gruppe, da sie in der Regel den Hauptanteil der ätherischen Öle ausmachen [Weiler & Nover, 2008]. Zudem konnten bei den Monoterpenen vielfältige Funktionen nachgewiesen werden, wie die bereits genannte Herbivorenabwehr, aber auch Pathogenabwehr und die Kommunikation mit anderen Pflanzen [Block *et al.*; Baldwin *et al.*, 2006; Gershenzon & Dudareva, 2007; Degenhardt *et al.*, 2009a].

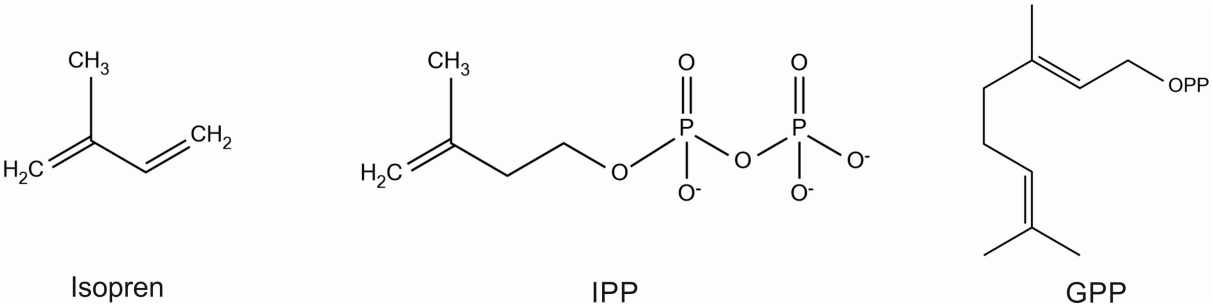


Abbildung 1-2| Strukturformeln von Isopren, Isopentenylpyrophosphat (IPP) und Geranylpyrophosphat (GPP).

Die Grundeinheit der Terpene bzw. Terpenoide ist der C_5-Körper Isopren (Abb. 1-2), weshalb sie zu den Isoprenoiden zählen [Chappell, 1995]. Terpene sind innerhalb der Gruppe der Isoprenoide als sekundäre Metabolite klassifiziert, da sie für den Organismus nicht

lebensnotwendig sind [Chappell, 1995]. Sie werden anhand dieser Grundeinheit in verschiedene Gruppen untergliedert, wie in Tabelle 1-1 dargestellt.

Tabelle 1-1 | Klassifizierung der Terpene nach ihren Grundgerüsten.

Isopreneinheiten	Klassifizierung
1	Hemiterpen
2	Monoterpen
3	Sesquiterpen
4	Diterpen
6	Triterpen
8	Tetraterpen
≥ 9	Polyterpen

Der Mevalonat-Weg (MVA-Weg), dessen Zwischenprodukt Mevalonat namensgebend ist, da dessen Entstehung einen irreversiblen Schritt darstellt, wurde früher als Synonym zum Begriff Isoprenoid-Biosynthese-Weg verwendet [Chappell, 1995]. Inzwischen wurde jedoch nachgewiesen, dass ein weiterer Weg zur Synthese von Isoprenoiden existiert: der 2C-Methyl-D-Erythritol-4-Phosphat-Weg (MEP-Weg) [Dudareva *et al.*, 2013]. Dieser findet in Plastiden statt, während der MVA-Weg im Cytoplasma abläuft [Hsieh *et al.*, 2008; Dudareva *et al.*, 2013]. Es wird in manchen Studien die Möglichkeit diskutiert, dass der MVA-Weg zwischen Cytosol, Endoplasmatischem Retikulum und Peroxisomen aufgeteilt ist [Pulido *et al.*, 2012]. Der MVA-Weg ist für die Bildung von Sesqui- und Triterpenen verantwortlich, der MEP-Weg für die von Hemi-, Mono und Diterpenen [Dudareva *et al.*, 2013].

Durch Phosphorylierung entsteht im Verlauf beider Wege Isopentenylpyrophosphat (IPP; siehe Abb. 1-2), welches durch Kondensation mit Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP, ein Isopren-Isomer) unter anderem den Vorläufer der Monoterpene generiert, Geranylpyrophosphat (GPP; siehe Abb. 1-2) [Chappell, 1995; Dudareva *et al.*, 2013; Majdi *et al.*, 2017]. Dieser Vorläufer wird von verschiedenen Monoterpensynthasen genutzt, um unterschiedliche Monoterpene zu erzeugen, wobei eine Synthase oft mehr als ein Monoterpen erzeugen kann [Degenhardt *et al.*, 2009b]. Es existieren sowohl zyklische als

auch azyklische Monoterpene, deren Entstehung stets durch die Ionisierung von GPP zu einem Geranylkation angestoßen wird [Chappell, 1995; Degenhardt *et al.*, 2009b]

Die durch Synthasen direkt erzeugten Monoterpene sind aber selten die Endprodukte; durch sekundäre Modifizierungen wie Hydroxylierungen, Methylierungen, Isomerisierungen und Reduktionen wird die Vielzahl an Monoterpenen erhöht [Chappell, 1995]. Bis jetzt wurden in *T. vulgaris* zwei Sabinenhydratsynthasen und eine γ-Terpinensynthase näher beschrieben [Crocoll, 2010; Krause *et al.*, 2013; Schimmel, 2014]. Insbesondere bei der γ-Terpinensynthase wurde von J. Schimmel 2014 herausgestellt, dass ein Zusammenhang zwischen der Methylierung des Promotorbereichs und der Expression des Gens in den verschiedenen Chemotypen von *T. vulgaris* besteht. Dabei konnte sie zeigen, dass funktionale Allele des Gens in allen Chemotypen vorhanden sind, obwohl es in dem gaschromatographischen Profil der Pflanzen oft keinen Hinweis auf die Genaktivität gibt. Sie mutmaßte daher, dass der Grad der Methylierung hier eine Rolle spielen könnte.

1.3. GENREGULATION DURCH METHYLIERUNG

Die Expression von Genen wird auf verschiedenen Ebenen gesteuert. Man unterscheidet zwischen transkriptionaler, posttranskriptionaler und posttranslationaler Regulation. Jede Variante in einer dieser Regulationsebenen kann Einfluss auf den Phänotyp (sowohl morphologisch als auch physiologisch) eines Organismus haben. Die transkriptionale Regulation ist dabei für die meisten Gene von höchster Bedeutung, da nur auf dieser Ebene verhindert werden kann, dass überflüssige Zwischenprodukte synthetisiert werden [Lodish *et al.*, 2007]. Die wichtigste transkriptionale Modifikation ist die Methylierung, also das Anbringen von Methylgruppen an den Nukleinbasen der DNA. In der Regel findet diese Veränderung nach der DNA-Synthese statt; und in jedem Fall stellt sie eine Informationserhöhung dar [Finnegan & Kovac, 2000; Law & Jacobsen, 2010]. Nach aktuellem Stand der Forschung sind Methylierungen von Adenin und Cytosin bekannt, in den Varianten N^6-Methyladenin, sowie N^4-Methylcyostin und 5-Methylcytosin (5mC); sie wurden ursprünglich in Bakterien nachgewiesen [Brooks & Roberts, 1982; Ehrlich *et al.*, 1985]. Diese Modifikation existiert nicht nur in Bakterien und Archäen, sondern auch in Eukaryoten. Bei der DNA-Methylierung handelt es sich damit um einen evolutiv sehr alten und konservierten Mechanismus [Law & Jacobsen, 2010; Yang *et al.*, 2016]. Er wird mit epigenetischen

Veränderungen assoziiert, wie der Genomstabilität, dem Genomic Imprinting (dt. Genomische Prägung) und somit auch mit der Stilllegung von Genen [Finnegan & Kovac, 2000; Law & Jacobsen, 2010; Gallego-Bartolomé, 2020]. Methylierungen spielen auch eine Rolle in der Reaktion auf biotischen Stress, beispielsweise bei der Infektion mit Pathogenen, und abiotischen Stress, zum Beispiel durch Hitze oder Kälte [Kawasaki *et al.*, 2004; Purves *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2018].

Für Eukaryoten ist in der überwältigenden Mehrheit der Fälle 5mC in Bezug auf Genomstabilität und Genexpression von Bedeutung, und insbesondere bei höheren Eukaryoten für eine normale Entwicklung essentiell [Finnegan & Kovac, 2000; Le *et al.*, 2014; Ashapkin *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018; Gallego-Bartolomé, 2020]. In einigen wenigen Ausnahmefällen wurde lange Zeit vermutet, dass manche Eukaryoten grundsätzlich keine methylierte DNA haben, da kein 5mC nachgewiesen werden konnte [Suzuki & Bird, 2008; Schimmel, 2014]. Jedoch wurde beispielsweise beim Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* von Lieberman Greer et al. im Jahr 2015 nachgewiesen, dass bei dessen DNA stattdessen eine Modifikation von Adenin zu N^6-Methyladenin vorliegt [Lieberman Greer *et al.*, 2015].

Bei Pflanzen wurde allerdings klar 5mC als die vorherrschende und genetisch stabilste epigenetische Modifikation benannt und auch am intensivsten untersucht [Ashapkin *et al.*, 2016]. Der Sequenzkontext dieser Veränderung ist bei Säugetieren auf CG-Stellen beschränkt, bei Pflanzen sind sie darüber hinaus an CHG- und CHH-Positionen verortet, wobei das H hier für die Basen Adenin, Thymin oder Cytosin stehen kann, und damit die Anzahl an möglichen Modifikationsstellen entsprechend groß ist [Le *et al.*, 2014; Zhong *et al.*, 2014; Ashapkin *et al.*, 2016; Gallego-Bartolomé, 2020]. Die Methylierungen im CHH-Kontext erfolgen asymmetrisch, in den beiden anderen hingegen symmetrisch [Law & Jacobsen, 2010; Ashapkin *et al.*, 2016]. Die CHH-Methylierung ist die instabilste: sie übersteht die Replikation der DNA nicht, weswegen es sich immer um eine *de novo* Methylierung handelt [Le *et al.*, 2014; Kuhlmann, 2019]. Erwähnt sei an dieser Stelle auch, dass Pflanzen die CG- und CHG-Modifikationen auch über die Meiose hinaus erhalten können; dies ist für Säugerzellen unmöglich [Ito, 2013]. Über die prozentuale Verteilung der Modifikation auf die verschiedenen Stellen im pflanzlichen Genom besteht Uneinigkeit. Während Law et al. (2010) das Verhältnis CG-CHG-CHH bei 24%-6,7%-1,7% in *A. thaliana* nachwiesen, betrug dieses nach Ashapkin et al. (2015) 55%-23%-22%, da sie auch die Frequenz der Sequenzmuster im Gesamtgenom berücksichtigten, und damit CG deutlich als

vorherrschendes Modifikationsziel in Pflanzen ausschlossen [Bender, 2004; Law & Jacobsen, 2010; Ashapkin *et al.*, 2016]. Unstrittig erscheint hingegen, dass – wenn auch variierend – der Methylierungsgrad in Pflanzen gegenüber Säugern erhöht ist und immer wichtiger wird, je komplexer das Genom ist [Finnegan & Kovac, 2000; Suzuki & Bird, 2008; Zhang *et al.*, 2018]. Judith Bender stellte in einem Review (2004) die Methylierung im CG-Kontext als Grundmuster heraus und ordnete die Nicht-CG-Methylierungen als Verstärkungen ein. Diese These wird von Stroud et al. (2014) gestützt, wobei die Verstärkungsfunktion hier im Sinne der Etablierung neuer Methylierungen eingeordnet sowie ein Bezug zu *de novo* Methylierungen hergestellt wird [Stroud *et al.*, 2014].

Die Funktion der Methylierung variiert je nach Sequenzkontext [Jones, 2012]. Wie bereits erwähnt, ist die Methylierung vorwiegend als Stilllegungsmechanismus zu sehen. Dabei ergibt sich die stärkste Herabregulierung der Expression nicht aus der Methylierung der Gene selbst, sondern aus der der jeweils zugehörigen Promotorbereiche in 5‘-Richtung; aufgrund der Methylierung können so keine Transkriptionsfaktoren mehr binden, wodurch die Initiation der Transkription blockiert ist [Attwood *et al.*, 2002; Bender, 2004; Gehring & Henikoff, 2007; Feng *et al.*, 2010; Zemach *et al.*, 2010]. Betroffen sind bei Pflanzen in der Regel nicht nur Gene, sondern auch Transposons und repetitive Elemente [Law & Jacobsen, 2010; McCue *et al.*, 2015; Gallego-Bartolomé, 2020]. Sie wird dabei nicht uniform, aber regional angewandt und signalisiert oder schützt die lokale Aktivität der entsprechenden Sequenzabschnitte [Suzuki & Bird, 2008]. Beteiligt sind beim Erhalt von Methylierungsmustern drei Klassen von DNA-Methyltransferasen, abhängig vom Sequenzbereich: MET, CMT und DRM. MET1 (Methyltransferase 1) ist dem CG-Kontext zugeordnet, CMT3 (Chromomethylase 3) und teilweise auch CMT2 hingegen zu CHG; regionsabhängig erhalten CMT2 und DRM2 (Domains-rearranged methyltransferase 2) die Methylierung von CHH [Finnegan & Kovac, 2000; Bender, 2004; Johnson *et al.*, 2008; Ashapkin *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018]. MET1 und CMT3 sind vor allem für die zuverlässige Stilllegung von Transposons zuständig [Matzke *et al.*, 2014]. Die Methylasen aus der DRM-Familie sind darüber hinaus in allen der genannten Cytosin-Sequenzfolgen an der *de novo* Methylierung beteiligt, und speziell DRM2 spielt in der sogenannten RNA-gesteuerten DNA-Methylierung eine wichtige Rolle [Bender, 2004; Johnson *et al.*, 2008; Naumann *et al.*, 2011].

1.3.1. RNA-GESTEUERTE DNA-METHYLIERUNG (RDDM)

Die RNA-gesteuerte DNA-Methylierung (kurz: RdDM) ist eine Variante der RNA-Interferenz und der wesentliche Antriebmechanismus für die *de novo* Methylierung von CG- und Nicht-CG-Cytosinen [Bender, 2004]. Er wurde erstmalig bei Virusinfektionen in transgenem Tabak beschrieben [Wassenegger *et al.*, 1994; Matzke *et al.*, 2014], und ist seither auch als relevant für die Gametogenese in Pflanzen klassifiziert worden, da hier genomweit die Methylierung verloren geht und danach wieder neu aufgebaut werden muss [Law & Jacobsen, 2010]. Neben diesen beiden Beteiligungen wurde festgestellt, dass es sich bei RdDM um einen selbstverstärkenden Loop handelt [Law & Jacobsen, 2010; Wang *et al.*, 2017a; Liu *et al.*, 2018]. Für die Initiation der RdDM ist dsRNA (double strand RNA) verantwortlich und für die Steuerung dieses Mechanismus sind siRNAs (small interfering RNAs) und lncRNAs (long non-coding RNAs) zuständig [Qi *et al.*, 2006; Matzke *et al.*, 2014]. Es gibt vereinzelte Veröffentlichungen, die darauf hinweisen, dass ein Funktionsverlust der DCLs (Dicer-like proteins), welcher zum weitgehenden Zusammenbruch der smRNA-Produktion führt, keinen signifikanten Effekt auf die Methylierung von RdDM-Loci hat [Yang *et al.*, 2016]. Die Mehrheit der Studien bestätigt dies allerdings nicht.

siRNAs entstehen, indem durch Pol IV (RNA-Polymerase IV) erzeugte lange ssRNA (single strand RNA) – Transkripte über RDR2 (RNA-abhängige RNA-Polymerase 2) in dsRNA konvertiert und anschließend durch DCL3 (Dicer-like protein 3) in Stücke mit einer Länge von 24 Nukleotiden (nt) geteilt werden [Law & Jacobsen, 2010; Rowley *et al.*, 2011; Dalakouras & Wassenegger, 2012; Duan *et al.*, 2015; McCue *et al.*, 2015; Lahmy *et al.*, 2016]. Zusätzlich werden sie durch das Anfügen einer Methylgruppe am 3‘-Ende stabilisiert [Haag & Pikaard, 2011]. Diese siRNAs triggern die sequenzspezifische Methylierung von Promotoren, aber auch die reguläre transkriptionale Genstilllegung [Matzke *et al.*, 2014]. Dies ist auch bei niedrigen Transkriptmengen möglich, die zu schwach ausgeprägt sind um eine gewöhnliche RNA-Interferenz (RNAi) auszulösen [Bender, 2004]. Die 24 nt siRNAs werden von dem Protein AGO4 (Argonautenprotein 4) aufgenommen und geben mit ihm zusammen den Anstoß zur Ausbildung des RNA-induced silencing complex (RISC) [Fernandes-Brum *et al.*, 2017]. Jedoch reichen 24 nt siRNAs bei der RdDM nicht aus, um die Methylierung anzustoßen [Dalakouras & Wassenegger, 2012]. PolV wirkt in 3‘-Richtungvon der siRNA-Zielstelle und ermöglicht die *de novo* Methylierung der DNA, indem sie lncRNAs (long non-coding RNAs) erzeugt, die als Gerüst für den siRNA/AGO-Komplex dienen und weitere

Komponenten für die Stilllegung rekrutiert [Haag & Pikaard, 2011; Matzke *et al.*, 2014; Zhong *et al.*, 2014; Lahmy *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2018]. Pol V ist wichtig für die Herstellung und die Erhaltung von repressiven Chromatinmodifikationen und seine Transkription ist stets unabhängig von der siRNA-Produktion [Law & Jacobsen, 2010; Rowley *et al.*, 2011]. Man vermutet, dass die in AGO4 gebundenen siRNAs mit den Pol-V-Transkripten eine Basenpaarung eingehen können, und dass AGO4 zudem direkt mit einer Untereinheit von Pol V direkt interagieren kann [Wierzbicki *et al.*, 2009; Haag & Pikaard, 2011; Rowley *et al.*, 2011]. Es gibt auch einen nicht-kanonischen RdDM-Weg, welcher über 21-22 nt siRNAs, AGO6 und RDR6 verläuft [McCue *et al.*, 2015; Wang & Axtell, 2017], der nicht Fokus dieser Arbeit ist und daher hier nicht näher erläutert wird.

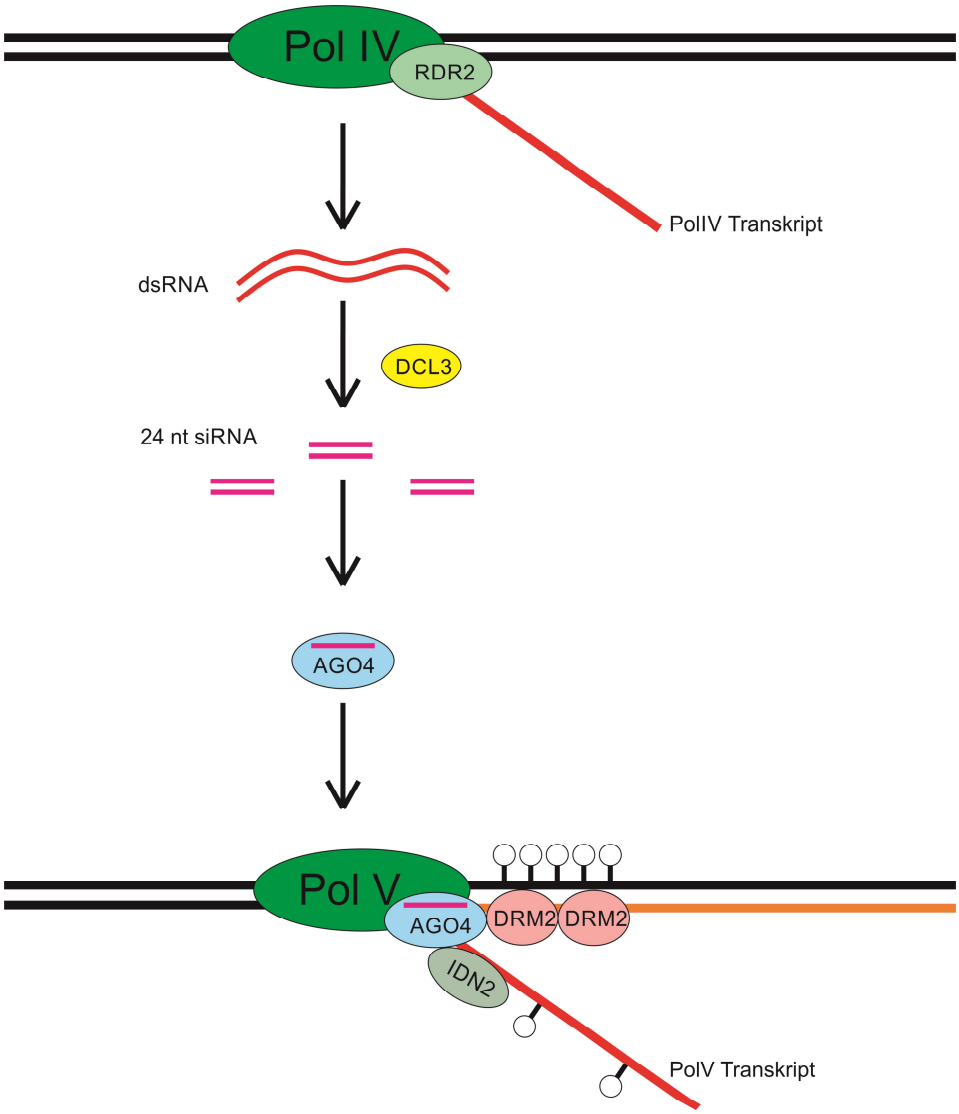


Abbildung 1-3 | Schematische Darstellung der kanonischen RdDM.

Der kanonische RdDM-Weg läuft über das Zusammenwirken von Pol IV und RDR2. PolIV transkribiert die Zielregion. RDR2 interagiert währenddessen mit PolIV und wandelt die Transkripte in dsRNA um. Diese dsRNAs werden von DCL3 aufgenommen und in 24 nt siRNAs

gespalten, die weiterhin doppelsträngig sind. Der „guide strand“ dieser siRNAs wird in AGO4 integriert, welches eine Komplexbildung mit PolV eingeht. Durch die Komplexbildung und die AGO4-Interaktion mit dem PolV-Transkript wird DRM2 als Heterodimer zum Komplex rekrutiert. Durch die Dimerisierung kann es seine Aktivität aufnehmen und die DNA der Zielregion methylieren.
Abbildung modifiziert nach Zhong et al. (2014) und Matzke et al. (2015).

In dem beschriebenen kanonischen RdDM-Weg spielt AGO4 die Rolle des siRNA-aufnehmenden AGO-Proteins [Matzke *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2018]. AGO4 hat zwar auch eine Slicer-Aktivität, diese konnte bisher aber nicht mit der Bildung sekundärer smRNAs (small RNAs) in Verbindung gebracht werden. Deshalb geht man davon aus, dass die siRNAs, welche mit AGO4 interagieren, über ein RdDM-Feedback erzeugt werden [Wang & Axtell, 2017; Liu *et al.*, 2018]. Es wird vermutet, dass AGO4 die siRNAs im Cytoplasma aufnimmt und der Komplex anschließend in den Nukleus transportiert wird [Ye *et al.*, 2012; Xie, 2015]. Durch die Bildung des siRNA/AGO4-Komplexes und dessen Interaktion mit PolV-Transkripten, wird DRM2 als Dimer an den zu methylierenden DNA-Bereich rekrutiert [Zhong *et al.*, 2014; Wendte & Pikaard, 2017]. DRM2 ist ein Ortholog der humanen Methyltransferase DNMT3a/b, was die gemeinsamen evolutiven Wurzeln von Pflanzen und Tieren unterstreicht [Cao *et al.*, 2003; Wendte & Pikaard, 2017]. Die Bindung von DRM2 wird durch IDN2 (Involved in De novo 2) unterstützt, das wiederum AGO4-abhängig an Pol V-Transkripte bindet, wobei der genaue Mechanismus bisher ungeklärt ist [Wendte & Pikaard, 2017]. Die *de novo* Methylierung der Cytosine über RdDM wird zudem von diversen Histonmodifikationen begleitet (als wichtigste sei hier H2K9me2 erwähnt), welche die Genstilllegung weiter forcieren [Deleris *et al.*, 2010; Oliver *et al.*, 2016; Wendte & Pikaard, 2017]. Die Funktion von AGO4 kann teilweise von AGO6 oder AGO9 übernommen werden [Qi *et al.*, 2006; Haag & Pikaard, 2011].

Auch andere AGO-Proteine, wie AGO2, AGO6 und AGO9, spielen eine Rolle in RdDM und können ebenso siRNAs binden, wenn auch in anderer Länge als AGO4 [Wendte & Pikaard, 2017]. Deren Beteiligung scheint jedoch eher untergeordnet zu sein, was zumindest die bisherige Datenlage in *A. thaliana* nahelegt (ca. 90% der siRNAs sind 24 nt lang) [Sigman & Slotkin, 2016; Wendte & Pikaard, 2017].

1.3.2. DIE ARGONAUTEN-PROTEINFAMILIE

Bei der Familie der Argonauten-Proteine (auch AGOs oder AGO-Proteine) handelt es sich um eine stark konservierte Proteinfamilie, die eine wichtige Rolle im RISC bei der RNA-Interferenz spielt [Singh & Pandey, 2015]. Sie wurde zuerst in *Arabidopsis thaliana* identifiziert und beschrieben, später aber auch in Bakterien, Archaeen und Eukaryoten gefunden [Cerutti & Casas-Mollano, 2006; Fang & Qi, 2016]. AGOs sind in allen Eukaryoten, bis auf *Saccharomyces cervisiae*, zu finden [Meister, 2013].

Ihre Anzahl ist je nach Organismus variabel, in Pflanzen aber tendenziell eher hoch, besonders in blühenden Pflanzen [Cerutti & Casas-Mollano, 2006; Singh & Pandey, 2015; Fernandes-Brum *et al.*, 2017]. Ihre Entstehung wird auf Duplikationsereignisse eines gemeinsamen Vorläufers zurückgeführt, die etwa zwischen der Entstehung von Algen und der Abspaltung von Moosen stattgefunden haben sollen [Singh *et al.*, 2015].

Alle AGOs enthalten regulär vier Hauptdomänen: die N-terminale Domäne, sowie die katalytischen Domänen PAZ (Piwi-Argonaute-Zwille), MID (Middle) und PIWI (P-element Induced Wimpy testis) [Vaucheret, 2008; Singh *et al.*, 2015; Fang & Qi, 2016; Fernandes-Brum *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017a]. N-PAZ und MID-PIWI bilden in der Proteinstruktur jeweils einen Teilkomplex des Argonautenproteins aus und sind über eine Art Gelenk miteinander verbunden [Meister, 2013]. Die N-terminale Domäne wird benötigt um kleine RNAs zu binden, während deren 3‘- bzw. 5‘-Ende in der PAZ- bzw. der MID-Domäne verankert wird [Meister, 2013; McCue *et al.*, 2015; Fang & Qi, 2016]. Die genaue Funktionsweise der N-terminalen Domäne ist derzeit noch unklar und die Resultate aus verschiedenen Organismen weisen teilweise auf unterschiedliche Funktionen hin [Fang & Qi, 2016]. Die PIWI-Domäne enthält in den katalytisch aktiven AGOs eine DDX-Triade (Asp-Asp-Asp/His) und übernimmt somit eine Endonukleaseaktivität (ähnlich der RNase H), kann also Ziel-RNAs spalten [Meister, 2013; McCue *et al.*, 2015; Fang & Qi, 2016]. Eine Slicer-Aktivität wurde für AGO1, AGO2, AGO4, AGO7 und AGO 10 nachgewiesen [Fang & Qi, 2016]. Bisher gibt es von keinem pflanzlichen AGO eine vollständige Proteinstruktur, jedoch wird aufgrund der hohen Ähnlichkeit von bereits aufgeklärten Strukturen anderer eukaryotischer AGOs davon ausgegangen, dass die pflanzlichen Varianten in Aufbau und Funktion ähnlich sind [Fang & Qi, 2016].

Die AGOs teilen sich in Pflanzen in drei phylogenetische Klassen bzw. Kladen auf, welche sich an den in *A. thaliana* zuerst beschriebenen AGOs orientieren:

- **Klade I:** AGO1, AGO5 und AGO10;
- **Klade II:** AGO2, AGO3 und AGO7;
- **Klade III:** AGO4, AGO6, AGO8 und AGO9 [Vaucheret, 2008; Wang *et al.*, 2011; Mirzaei *et al.*, 2014; Fang & Qi, 2016; Fátyol *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017a].

In manchen Veröffentlichungen bildet AGO5 eine eigenständige Klade [Singh *et al.*, 2015; Singh & Pandey, 2015], üblicherweise wird aber in die drei genannten unterschieden. Die AGOs interagieren jeweils mit unterschiedlichen smRNAs, wobei deren Länge als Faktor nachrangig ist und das Nukleotid an ihrem 5‘-Ende bestimmend wirkt [Mi *et al.*, 2008; Hamera *et al.*, 2012; Meister, 2013; Singh *et al.*, 2015; Fang & Qi, 2016]. Grundsätzlich kann man bei Pflanzen von einer ubiquitären Verteilung der AGOs reden, da in jedem Gewebe mindestens ein Vertreter dieser Familie exprimiert wird [Mirzaei *et al.*, 2014]. Wie zuvor in Kapitel 1.3.1. angedeutet, erfüllen sie dabei ein breites Spektrum an Funktionen, die sich teilweise ergänzen oder durch eine gewisse Redundanz unterstützen.

Klade I – AGO1, AGO5 und AGO10

In der ersten Klade sind AGOs gruppiert, die eine große Rolle im posttranskriptionalen Gensilencing spielen [Fátyol *et al.*, 2016]. AGO1 wird ubiquitär exprimiert und bindet spezifisch miRNAs (micro-RNAs) und ta-siRNAs (trans-acting siRNAs), um dann mRNAs zu spalten, deren Sequenz mit jener der jeweiligen RNA übereinstimmt; allerdings kann AGO1 durch die miRNA-Bindung ebenso auch die Translation entsprechender Sequenzen inhibieren [Fang & Qi, 2016]. Die miRNAs sind häufig 21 nt lang [Qi *et al.*, 2006]. AGO1 greift vor allem in die Virusabwehr ein, sowie regulatorisch bei der Expression von Genen, die für physiologische Prozesse und die Entwicklung von Pflanzen relevant sind [Fang & Qi, 2016]. AGO10 ist in seiner Aminosäuresequenz AGO1 sehr ähnlich und bindet ebenfalls miRNAs, wenn auch spezifischere als AGO1, und scheint mit diesem um die miRNAs zu konkurrieren [Fang & Qi, 2016]. Im Gegensatz zu AGO1 ist es nur lokal in den Blattanlagen und im Wurzelmeristem exprimiert [Meister, 2013; Fang & Qi, 2016]. AGO5 gehört zu derselben Klade und ist ebenfalls nur lokal exprimiert, in den Megasporen und den somatischen Zellen um die Megasporenmutterzelle, und scheint nach bisherigen Erkenntnissen ebenfalls eine gewisse Rolle beim Schutz vor Virusinfektionen zu spielen [Fang & Qi, 2016].

Klade II – AGO2, AGO3 und AGO7

AGO2 spielt hauptsächlich in der Virenabwehr eine Rolle, da es aufgrund seiner katalytischen Aktivität eine Resistenz gegen eine Vielzahl von Pflanzenviren vermittelt [Fang & Qi, 2016; Fátyol *et al.*, 2016]. Des Weiteren kann seine Expression durch γ-Strahlung induziert werden und ist an der Beseitigung von Doppelstrangbrüchen beteiligt [Fang & Qi, 2016; Fátyol *et al.*, 2016]. Ebenso kann es im Zusammenspiel mit 21 und 22 nt siRNAs *de novo* Methylierungen herbeiführen [Fang & Qi, 2016]. Darüber hinaus kann es bei der Stilllegung von Genabschnitten und Transposons mit AGO1 zusammenarbeiten [Pontier *et al.*, 2012; Fátyol *et al.*, 2016]. AGO3 indes hat bisher keine nachweisbare biologische Funktion, auch wenn *in vitro* bewiesen wurde, dass es virale RNA spalten kann, sofern entsprechende siRNAs zugegeben werden [Fang & Qi, 2016]. AGO2 und AGO3 haben eine hohe Sequenzähnlichkeit, weswegen angenommen wird, dass diese sich zu einem jüngeren Zeitpunkt der Evolution per Duplikation entwickelt haben [Fátyol *et al.*, 2016]. AGO7 hingegen hat eine konservierte Funktion in der ta-siRNA Biosynthese, zu deren Zweck es spezifisch mit miR390 interagiert [Meister, 2013; Fang & Qi, 2016]. Hierdurch greift es regulierend in den Auxin-Signalprozess ein [Fátyol *et al.*, 2016].

Klade III – AGO4, AGO6, AGO8 und AGO9

Wie zuvor bereits ausführlich beschrieben, ist AGO4 maßgeblich an RdDM beteiligt, einem speziellen Weg der RNA-Interferenz, wofür es 24 nt hc-siRNAs bindet. Dies spielt auch in der Pathogenabwehr eine Rolle [Ma *et al.*, 2017]. AGO4 wird ubiquitär in allen Geweben der Pflanze exprimiert; die Hauptaktivität liegt hierbei in centromerischen und pericentromerischen Regionen [Oliver *et al.*, 2016]. Seine katalytische Aktivität ist für die effektive siRNA-Produktion wichtig [Qi *et al.*, 2006]. Neben der Beteiligung an RdDM konnte ein eindeutige Beteiligung in der korrekten Chromosomensegregation in der Anaphase I der Meiose nachgewiesen werden, wobei angenommen wird, dass der Spindelapparat ohne AGO4 nicht richtig ausgebildet wird [Oliver *et al.*, 2016]. AGO6 hat ebenfalls die Fähigkeit, *de novo* Methylierungen herbeizuführen, allerdings im Zusammenspiel mit 21 bis 22 nt siRNAs [Fang & Qi, 2016]. Dabei wirkt es teilweise redundant zu AGO4, es ist allerdings vorwiegend in den Meristemen von Wurzel und Spross zu finden [Meister, 2013; Fang & Qi, 2016]. Die Redundanz könnte daher stattdessen eine Parallelität sein [Duan *et al.*, 2015]. AGO4 und AGO6 können ebenso unabhängige Funktionen in RdDM einnehmen [Duan *et al.*, 2015;

Oliver *et al.*, 2016]. AGO8 und AGO9 haben eine hohe Sequenzidentität, wobei AGO8 bisher in keinem Gewebe nachgewiesen werden konnte und daher vermutet wird, dass es sich um ein Pseudogen handelt [Fang & Qi, 2016]. AGO9 wird vornehmlich in weiblichen Gameten exprimiert, wo es mit 24 nt siRNAs interagiert um Transposons stillzulegen bzw. die Ausbildung weiblicher Gameten kontrolliert [Meister, 2013; Fang & Qi, 2016; Wang & Axtell, 2017; Wang *et al.*, 2017a].

Aufgrund der Vielfältigkeit der Funktionen der Argonauten-Proteinfamilie, sind sie sehr lohnende Kandidaten für eine Untersuchung ihrer Auswirkung auf die Biosynthese von Monoterpenen sowie die Vererbung von Chemotypen, im Speziellen im Zusammenhang mit RdDM.

1.4. ZIELSETZUNG

Die Regulation der Terpenbiosynthese ist Gegenstand der Forschung in vielen Pflanzen, angefangen bei Modellorganismen wie *Zea mays* und *Arabidopsis thaliana* bis hin zu Nicht-Modellorganismen wie *Thymus vulgaris*. Während bei Modellorganismen die Produktion der Terpene eher hinsichtlich der Reaktionen auf Umweltstress und Herbivorenbefall von hohem Interesse ist, geht es in der vorliegenden Arbeit beim Nicht-Modellorganismus *Thymus vulgaris* oft um die Produktion pharmazeutisch relevanter Terpene.

Die in dieser Arbeit verwendeten sechs Chemotypen des Echten Thymian sind hinsichtlich ihrer Ausprägung und Vererbung bisher nur marginal als chemischer Polymorphismus beschrieben worden. Ob es sich hierbei um eine klassische Mendelsche Vererbung mit mehreren Allelen handelt, ist bisher unklar. Da bekannt ist, dass der L-Typ des *T. vulgaris* als Setzling einen anderen Chemotyp hat (C oder T) und sich Linalool als dominante Komponente des ätherischen Öls erst nach mindestens drei Monaten ausbildet [Thompson *et al.*, 1998], liegt die Vermutung nahe, dass hier weitere Regulationsmechanismen an der Ausprägung beteiligt sind.

Der Fokus ist in der vorliegenden Dissertation deshalb die RNA-gesteuerte DNA-Methylierung (RdDM). Diese ist für *de novo* Methylierungen zuständig, welche im Hinblick auf die multiallelische Vererbung der Chemotypen-Gene von großem Interesse sind. Wie in Kap. 1.1.2. erwähnt, spielen hier mindestens fünf Genloci eine Rolle, die für die phänotypische Ausprägung methyliert oder demethyliert werden müssen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher RNA-Seq-Datenbanken der Chemotypen von *T. vulgaris* per BLAST mit Vergleichssequenzen durchsucht, um Gene zu identifizieren, die an RdDM beteiligt sind. Besonderes Hauptaugenmerk wurde hierbei auf AGO4 gelegt, sowie auch AGO6, da dieses die Aktivität von AGO4 in beschränktem Maße auffangen kann, wenn es defekt sein sollte [Duan *et al.*, 2015]. Auf diesem Weg wurde auch nach weiteren AGOs gesucht, um die Familie der Argonautenproteine in Thymian als Ganzes näher vergleichend zu untersuchen, da diese Proteinfamilie in Nicht-Modellorganismen bisher kaum beschrieben wurde.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. PFLANZENMATERIAL

2.1.1. FREILANDKULTUREN UND STECKLINGE

Die Freilandkulturen setzten sich aus Montpellier, Frankreich, stammenden Kultivaren zusammen, welche dort am CNRS (Centre national de la recherche scientifique) gesammelt worden waren. 2013 wurden diese am Hohen Weg 8 in Halle (Saale) ausgepflanzt. Diese Pflanzen wurden durch regelmäßigen Rückschnitt jung gehalten und auch über Stecklinge vermehrt. Düngung erfolgte ein Mal pro Jahr mit „Substral Osmocote Citrus & Mediterrane Pflanzen Dünger“ (Fa. Scotts Miracle-Gro Company) gemäß der Mengenangaben des Herstellers. Im Winter (Nachttemperaturen dauerhaft unter 4°C) wurden die Pflanzen mit Stoffbahnen aus Jute abgedeckt, um sie vor Frostschäden zu schützen.

Stecklinge wurden in COMPO SANA® Anzucht- und Kräutererde (COMPO GmbH, Münster, Deutschland) in einem Klimaraum bei folgenden Bedingungen kultiviert:

	Licht bzw. Dunkelheit	Luftfeuchtigkeit	Temperatur
Tag	16 h bei 150 $\frac{\mu mol}{m^2 \times s}$	65 %	22°C
Nacht	8 h, Dunkelheit	65 %	18°C

Die Jungpflanzen wurden drei Monate nach erfolgreicher Vermehrung wieder im Freiland ausgebracht.

Tabelle 2-1 | Liste des verwendeten Pflanzenmaterials von *Thymus vulgaris*.

Alle verwendeten Chemotypen stammen vom CNRS (Centre national de la recherche scientifique).

Chemotyp	Hauptmonoterpen	Herkunft
A-Typ	α-Terpineol	Montpellier, Frankreich
C-Typ	Carvacrol	Montpellier, Frankreich
G-Typ	Geraniol	Montpellier, Frankreich
L-Typ	Linalool	Montpellier, Frankreich
T-Typ	Thymol	Montpellier, Frankreich
U-Typ	trans-Sabinenhydrat	Montpellier, Frankreich

2.1.2. ERNTE UND LAGERUNG DES BLATTMATERIALS VON THYMUS VULGARIS

Blatternten wurden von Anfang April bis Ende August vorgenommen, da zu dieser Zeit die Außentemperaturen ideal für mediterrane Pflanzen wie Thymian sind. Von 2016 bis 2020 erfolgten jährlich Blatternten, um stets möglichst frisches Material verwenden zu können. Es wurden junge Blattriebe geerntet, die unmittelbar nach dem Schnitt in flüssigem Stickstoff eingefroren wurden, um das Material möglichst zu schonen. Die Lagerung bis zur Verwendung erfolgte bei -80°C.

2.2. MIKROBIOLOGISCHE METHODEN

2.2.1. KULTIVIERUNG UND LAGERUNG VON *ESCHERICHIA COLI* (*E. COLI*)

TOP 10 *E. coli* wurden entweder auf festem LB-Agar in einem Standinkubator oder in flüssigem LB-Medium in einem Schüttelinkubator (220 rpm) kultiviert. Die Temperatur betrug in beiden Fällen 37°C.

Tabelle 2-2 | Eigenschaften und Verwendungsgebiete des genutzten Bakterienstammes.

Bakterienstamm	Genotyp	Verwendung
One Shot® TOP 10 Chemically Competent *E. coli* (Invitrogen, Carlsbad, USA)	F-***mcr***AΔ(***mrr-hsd***RMS-***mcr***BC) φ80***lac***ZΔM15 Δ***lac***X74 ***rec***A1 ***ara***D139 Δ(***ara-leu***) 7697 ***gal***U***gal***K***rps***L (Str^R) ***end***A1 ***nup***Gλ-	Klonierung, Sequenzierung, Proteinexpression

Für sogenannte flüssige Dauerkulturen wurden Glycerolstocks angelegt. Hierzu wurden 250 µl flüssiger Bakterienkultur mit 250 µl 60% Glycerol versetzt, vorsichtig durchmischt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Die Lagerung erfolgte bei -80°C.
LB-Agar-Platten wurden bis zu zwei Monate bei 4°C aufbewahrt.

2.2.2. ANTIBIOTIKA

Antibiotika wurden genutzt, um bei erfolgreicher Klonierung von Gensequenzen in einen Plasmid, transformierte Kolonien bzw. Bakterien zu selektieren. Diese wurden dem LB-Medium zugesetzt.

Tabelle 2-3 | Verwendete Antibiotika.

Antibiotikum	Stammlösung	Arbeitskonzentration
Ampicillin (Sigma Life Sciences)	100 mg/ml in *dd*H2O	100 µg/ml
Kanamycinsulfat (Kanamycin) (Carl Roth, Deutschland)	50 mg/ml in *dd*H_2O	50 µg/ml

2.2.3. VERWENDETE MEDIEN

Tabelle 2-4 | Liste der verwendeten Medien für die Mikrobiologie.

Lösung	Menge	Substanz
LB-Medium	20 g	LB-Medium (AppliChem, Darmstadt, Deutschland) in 1l *dd*H_2O
LB-Agar	32 g	LB-Agar (AppliChem, Darmstadt, Deutschland) in 1l *dd*H_2O
SOC-Medium	2% [w/v]	Trypton (Sigma-Aldrich, St. Lous, USA)
	0,5% [w/v]	Yeast Extract (Sigma-Aldrich, St. Lous, USA)
	10 mM	NaCl (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland)
	2,5 mM	KCl (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland)
	10 mM	$MgCl_2$ (AppliChem, Darmstadt, Deutschland) $MgSO_4$ (AppliChem, Darmstadt, Deutschland)
	10 mM	Glucose (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland)
	20 mM	

2.2.4. TRANSFORMATION IN *E. COLI*

Zur Replikation des Ligationsprodukts wurden, abhängig von dem verwendeten Vektor, 2-5 µl des Ligationsansatzes zu 50 µl chemisch kompetenten OneShot® TOP 10 *E. coli* gegeben. Es folgte eine Inkubation von 30 min auf Eis. Im Anschluss wurde der Transformationsansatz für 30 sec bei 42°C einem Hitzeschock unterzogen, wonach er unmittelbar wieder auf Eis für

2 min abgekühlt wurde. Nach Zugabe von 250 µl S.O.C.-Medium wurde das Reaktionsgefäß für 1 h bei 37°C und 220 rpm inkubiert. Nach dieser Zeit wurden 100 µl des Ansatzes auf zwei auf 37°C vorgewärmte, mit einem passenden Antibiotikum versetzte LB-Agar-Platten ausplattiert. Die Platten wurden über Nacht bei 37°C inkubiert. Positive Kolonien wurden über eine PCR mit gen- oder vektorspezifischen Primern ermittelt.

2.3. MOLEKULARBIOLOGISCHE METHODEN

2.3.1. NUKLEINSÄURE-EXTRAKTION AUS *THYMUS VULGARIS*

Für die Extraktion von Nukleinsäuren (DNA und RNA) wurde das geerntete Blattmaterial von Thymus vulgaris (vgl. Kapitel 2.1.2.) verwendet. Die schockgefrorenen und anschließend bei -80°C gelagerten Proben, wurden in einem Keramikmörser pulverisiert. Dieser Mörser war zuvor mit 70% EtOH und 100 % Aceton gesäubert und anschließend mit flüssigem Stickstoff gekühlt worden. Während des Mörserns wurde permanent mit flüssigem Stickstoff gekühlt, um die Proben zu schonen.

Zur Extraktion von Gesamt-RNA wurde das „Spectrum™ Plant Total RNA Kit“ der (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) gemäß den Herstellerangaben verwendet. Die kurzfristige Lagerung erfolgte bei -20°C, die langfristige Lagerung bei -80°C.
Um genomische DNA (gDNA) zu gewinnen wurde das „DNeasy Plant Maxi Kit“ (Quiagen GmbH, Hilden, Deutschland) gemäß den Herstellerangaben verwendet. Die Lagerung der gDNA erfolgte bei 4°C.

2.3.2. DNA-VERDAU

Um saubere RNA zu erhalten, wurde isolierte Gesamt-RNA mit Promega DNase (Promega, Madison, USA) nach den Angaben des Herstellers behandelt.
2 µg RNA wurden für 30 min bei 37°C im Verdauansatz inkubiert. Die Reaktion wurde anschließend mit 1 µl Stopplösung und direkt folgender Inkubation für 10 min bei 65°C beendet.

2.3.3. cDNA-SYNTHESE

cDNA, welche für die Untersuchung codierender DNA-Sequenzen benötigt wurde, wurde mittels „RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis“-Kits (Thermo Scientific, St. Leon-Rot, Deutschland) synthetisiert. Die Durchführung erfolgte entsprechend der Angaben des Herstellers, nur die Zusammensetzung des Reaktionsansatzes wurde wie folgt verändert:

Verdaute RNA	4 µl
Oligo (dT) Primer	0,5 µl
Random Hexamer Primer	0,5 µl
ddH_2O	7 µl
Reaction Buffer	4 µl
RiboLock RNase Inhibitor	1 µl
dNTP Mix	2 µl
RevertAid H Minus M-MulV RT	1 µl
Gesamtvolumen	**20 µl**

Die cDNA wurde bis zu ihrer Verwendung bei -20°C aufbewahrt.

2.3.4. PCR (ENGL. POLYMERASE CHAIN REACTION)

Zur Vervielfältigung von (c)DNA-Abschnitten wurden PCRs (*engl.* Polymerase chain reaction*, dt.* Polymerasekettenreaktion) durchgeführt.

Die PCR erfolgte im Falle der Erzeugung von Fragmenten für funktionelle Klonierungen unter Verwendung der Phusion® HF DNA Polymerase der Firma New England Biolabs (NEB). Diese hat laut Hersteller eine hohe Proofreading-Aktivität und ist daher hierfür besonders geeignet. Kontroll-PCRs zur Überprüfung von Klonierungen wurden hingegen mithilfe der GoTaq® DNA-Polymerase (Promega, Madison, USA) durchgeführt. Hierfür wurden Kolonien zur Hälfte gepickt und in den PCR-Ansatz überführt, weswegen man hier auch von Kolonie-PCRs spricht.

Die Zusammensetzung der Reaktionsansätze wurde nach den Angaben des jeweiligen Herstellers durchgeführt.

Die PCR-Reaktion wurde im Thermocycler peqSTAR (peqSTAR 96 Universal Gradient, Peqlab Biotechnologie, Erlangen, Deutschland) vorgenommen. Die PCR-Reaktionsbedingungen wurden entsprechend der jeweiligen Kit-Angaben eingestellt. Die Annealing-Temperatur war von der Schmelztemperatur der verwendeten Primer abhängig. Alle Primer wurden von der Eurofins Genomics GmbH (Ebersberg, Deutschland) bezogen. Die Elongationszeit wurde entsprechend Länge der zu amplifizierenden DNA-Sequenzen und der Geschwindigkeit der verwendeten Polymerase angepasst.

	Phusion		**GoTaq**		
	Temperatur	*Zeit*	*Temperatur*	*Zeit*	
Initiale Denaturierung	98°C	30 sec	95°C	2 min	
Denaturierung	98°C	10 sec	95°C	30 sec	
Annealing	45-72°c	30 sec	42-65°C	30 sec	25-35 Zyklen
Elongation	72°C	30 sec/kb	72°C	1 min/kb	
Finale Elongation	72°C	5-10 min (abh. kb)	72°C	5-10 min (abh. kb)	

Nach Abschluss der PCR wurden die Reaktionsprodukte auf ein Agarosegel aufgetragen und so überprüft (siehe Kapitel 2.3.5.).

2.3.4.1. OVERLAP-PCR

Bei der Overlap-PCR handelt es sich um eine Abwandlung der Overlap extension PCR, welche von Higuchi *et al.* beschrieben wurde [Higuchi *et al.*, 1988]. Während bei der ursprünglichen Variante durch das Verfahren eine Mutation eingeführt werden sollte, geht es bei der in dieser Arbeit verwendeten Variante darum, zwei Bruchstücke der *AGO4*-cDNA-Sequenz zusammenzufügen, welche nicht als Ganzes isoliert werden konnte.

Daher wurden zwei Primerpaare (TvAGO4_F6 + TvAGO4_R10 und TvAGO4_F10 + TvAGO4_R4) verwendet, um die zwei benötigten Stücke zu erhalten. Zwei Primer (TvAGO4_R10 und TvAGO4_F10) haben hierbei komplementäre Sequenzen, da der betroffene Genabschnitt den beiden Stücken in der Overlap-PCR als Fusionsstelle dient.

Zunächst wurden die beiden cDNA-Stücke mithilfe der Phusion-Polymerase (vgl. oben) über eine gewöhnliche PCR repliziert. Die PCR-Ansätze wurden auf einem Agarosegel eine Gelelektrophorese unterzogen (Kap. 2.3.5.) und die resultierenden Fragmente aus dem Gel extrahiert (Kap. 2.3.6.).

Für die Overlap-PCR wurden folgende Komponenten auf Eis vereinigt:

Gelextraktion Primerpaar 1	20 µl
Gelextraktion Primerpaar 2	20 µl
10x PfuBuffer	5 µl
dNTPs (25 µM)	1,5 µl
PfuCx Polymerase (2,5 U/µl)	1 µl
Total	**48 µl**

Anschließend erfolgte die Overlap-PCR in zwei Schritten:

1. **Schritt**

95°C	2 min	
95°C	30 sec	15 Zyklen
60°C	30 sec	
72°C	3 min 30 sec	
72°C	10 min	

Nun wurde jeweils 1 µl der Primer beigefügt, die an Beginn und Ende der Gesamtsequenz binden (TvAGO4_F6 und TvAGO4_R4).

2. **Schritt**

95°C	2 min	
95°C	30 sec	20 Zyklen
56°C	30 sec	
72°C	3 min 30 sec	
72°C	10 min	
8°C	∞	

Der Overlap-PCR-Ansatz wurde anschließend in einer Agarose-Gelelektrophorese eingesetzt und das passende Fragment extrahiert.

2.3.5. QUANTITATIVE REAL-TIME PCR (QRT-PCR)

Um die exemplarisch die Expressionslevel der γ-Terpinensynthase in den verschiedenen Chemotypen darzustellen, wurde eine quantitative real-time PCR durchgeführt. Hierzu wurde der iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA) verwendet. Dieser Mix enthält bereits ein fertiges Gemisch aus allen für die PCR notwendigen Komponenten, wie Puffer, eine Polymerase und dNTPs, sowie den Farbstoff SYBR Green I. Im Gegensatz zu Ethidiumbromid interkaliert dieser Farbstoff nicht in die doppelsträngige DNA, sondern bindet unspezifisch an sie. Bei einer Wellenlänge von 494 nm absorbiert er Licht, bei einer Wellenlänge von 521 nm emittiert er es. Dieses emittierte Licht wird mittels eines Photodetektors gemessen und erlaubt so über die Lichtintensität Rückschlüsse auf die Menge der enthaltenen RNA.

Bei der Zusammenstellung des Ansatzes wurde sich vollständig an die Herstellerangaben gehalten.

Die Durchführung im CFX96 (Bio-Rad, Hercules, USA) Thermocycler erfolgte über folgendes Programm

95°C	30 sec	
95°C	5 sec	40 Zyklen
56-60°C	30 sec	
72°C	30 sec	
95°C	1 min	
56-95°C	0,5°C/30sec	Schmelzkurve

Es wurde ein Pool aus cDNA hergestellt, der zu gleichen Teilen cDNA aus allen für das Experiment verwendeten Chemotypen-Proben enthielt. Mittels dieses Pools wurde eine Standardkurve zur Bestimmung der Transkriptmenge erstellt. Als Referenzgen diente *yls8* (yellow leaf specififc gene 8), welches in jeder Probe ungefähr das gleiche Expressionslevel zeigte.

Über das Programm „Bio-Rad CFX Manager 3.1“ (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA) wurde automatisch der Schwellenwert (threshold) berechnet. Relative Expressionslevel wurden durch den Quotient des Schwellenwerts des Gens und des Referenzgens angegeben. Für jeden Chemotyp wurden mindestens drei technische und drei biologische Replikate vermessen.

2.3.6. VERWENDETE OLIGONUKLEOTIDE

Die in dieser Arbeit verwendeten Oligonukleotide stammen von der Firma Eurofins Genomics (Ebersberg, Deutschland). Sie sind in nachfolgend in Tab. 2-5 aufgelistet.

Tabelle 2-5 | Liste der verwendeten Oligonukleotide zur Fragmenterzeugung und Sequenzierung.

Name	Zielgen	Sequenz (5‘-3‘)
	Primer zur Klonierung	
TvAGO4_R2	TvAGO4	CAACATAGGCATGGATAACTTAACA
TvAGO4_F4	TvAGO4	CACCATGGATCCATCTGAG CA
TvAGO4_F6	TvAGO4	CACCGGAGTGAATTATTGAGGAGCTCG (Overlap-PCR, Fragment)
TvAGO4_R4	TvAGO4	ATGGGAAACGAACGCTACATACAACCTAGT (Overlap-PCR, Fragment)
TvAGO4_F10	TvAGO4	TAATGGAGATGATTTGTTTACACGCAATGG (Overlap-PCR, Fragment)
TvAGO4_R10	TvAGO4	CCATTGCGTGTAAACAAATCATCTCCATTA (Overlap-PCR, Fragment)
TvAGO4_R11	TvAGO4	TTAACAGAAGAACATAGAGTTACGGACA
TvAGO4_pSPLF2fwd	TvAGO4	gcTCTAGAgccATGGATCCATCTGAGCA
TvAGO4_pSPLF2rev	TvAGO4	tccCCCGGGgaaTTAACAGAAGAACATAGAGTTACG GACA
TvAGO6_fwd	TvAGO6	ATGCAAGGAGAAATGGAGAAGGAAC
TvAGO6_rev	TvAGO6	TCAACAAAAGAACATCGATCCAGCAAC
TvAGO9_fwd	TvAGO9	ATGGCTACGGATGCTGCTAATGGAAATGGT
TvAGO9_rev	TvAGO9	TTAACAAAAGAACATACTGTTGCGAACG
TvAGO10_fwd	TvAGO10	ATGCCTATAAGGCAGATGAAAGAAAATTCA
TvAGO10_rev	TvAGO10	TCAACAATAAAACATGACTCTCTTT

Name	Zielgen	Sequenz (5‘-3‘)
Primer zur Sequenzierung		
TvAGO4-Seq1	TvAGO4	GGTTGAGTGAAAAGCCTTGCCGAG
TvAGO4-Seq2	TvAGO4	AAGCGAAGGAGATATCTCAGCAGCTA
TvAGO6_fwd2	TvAGO6	TGAACTTAAGTTGACAGCCTACA
TvAGO9_fwd2	TvAGO9	TCTAAAGAATTTGAGGATTACAACA
TvAGO10_fwd2	TvAGO10	TCAGGCAAAATAGCCAACAGAAGATCCA
SmAgo4_F4	TvAGO4	GATCATCCAGCCAGGGCCTGT
TvAGO4_F14	TvAGO4	TTATACTTTGCATCCTTTCTGTCAGG
TvAGO4_R11	TvAGO4	ACAATGACTACAAACTTCGGATTCAG
TvAGO4_F15	TvAGO4	GCAACGATACACGAAAGCTCTGTCAA
TvAGO4_R12	TvAGO4	GTTCAAAAGAAAATGATAGTGTG
TvAGO4_F16	TvAGO4	AGCTTCCTGGCCCACCAAGGTT
pSPLF2 Vektorprimer	pSPLF2-Vektor	AACGCGGCTACAATTAATACATAACC
Primer für die qRT-PCR		
Tvtps2_F	TvTps2	CAGCACAGATAAATATAAGGATGAG
Tvtps2_R	TvTps2	CTGAATGCAAGAGATGTGAAATAC
YLS8_fwd	YLS8	ACGAGACCTGCATGCAGATG
YLS8_rev	YLS8	TTATTCCTGAAGAAGAACATGATGGT

2.3.7. AGAROSE-GELELEKTROPHORESE

Zur Überprüfung des Erfolges einer PCR wurden die Reaktionsprodukte auf ein 1 – 1,5%iges TAE-Agarosegel aufgetragen, abhängig von der benötigten Auftrennung der PCR-Produkte. Dieses wurde hergestellt, indem 1 – 1,5% (w/v) Agarose (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA) durch Aufkochen in 0,5x TAE-Puffer gelöst und anschließend für etwa 20 min bei Raumtemperatur abgekühlt wurde. Danach wurde die Lösung mit 3,5 µl Ethidiumbromid (EtBr) pro 50 ml Gel versetzt.

Die Gelelektrophorese erfolgte in einer mit 0,5xTAE gefüllten Elektrophoresekammer „Mupid®-One“ (Biozym Scientific, Hessisch Oldendorf, Deutschland). Die Proben wurden vor Auftragung auf das Gel mit 5x Ladepuffer versetzt. Zudem wurden 1-2,5 µl Größenstandard

(abhängig von der Gelbeladung) „Gene Ruler^{TM} 1 kb DNA Ladder“ (Thermo Fischer Scientific, Waltham, USA) mit auf das Gel aufgetragen.

Der Gellauf erfolgte bei DNA-Proben bei einer konstanten Spannung 100 Volt für 35 min (1,5% Gel) bzw. 130 V für 20 min (1% Gel).

Tabelle 2-6 | Liste der verwendeten Puffer für die Agarose

Puffer		
TAE-Puffer, 50x	40 mM	Tris-HCl (pH 8.0)
	20 mM	Natriumacetat
	2 mM	EDTA
Ladepuffer, 5x	200 mM	Tris-HCl (pH 8.0)
	120 mM	EDTA
	50% (v/v)	Glycerol
	0,1% (w/v)	Bromphenolblau

2.3.8. GELEXTRAKTION

Um die im Gel gebundenen DNA-Fragmente zur Klonierung in Vektoren weiterverwenden zu können, wurden sie aus dem Gel extrahiert.

Zunächst wurden die gewünschten DNA-Banden unter UV-Licht mit einem Skalpell aus dem Agarose-Gel geschnitten und in 1,5ml Eppendorfgefäße überführt. Anschließend erfolgte die Extraktion der DNA aus dem Agarose-Gel mit dem „GeneJET Gel Extraktion Kit“(Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) nach Angaben des Herstellers. Die DNA wurde mit 30 µl auf 50°C vorgewärmtem Nuklease-freiem H_2O (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) von der Säule eluiert. Es folgte eine Konzentrationsvermessung (Kap. 2.3.12.). Bei Bedarf wurde die Aufreinigung erneut durch Agarose-Gelelektrophorese (Kap.2.3.7.) von 3 µl aufgereinigter DNA-Lösung kontrolliert.

2.3.9. RESTRIKTION VON PCR-PRODUKTEN

Sofern zur Ligation von PCR-Produkten ein spezifischer Überhang nötig war, wurden diese mit Restriktionsenzymen behandelt. Die verwendeten Enzyme und die dazugehörigen Puffer stammten voll ständig von Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA). Gemäß den Herstellerempfehlungen wurde 1 µl Enzym auf 1 µg Plasmid oder auf 0,2 µg PCR-Produkt

angewendet. Es wurden 0,2 – 3 µg DNA und eine dem Volumenverhältnis angepasste Menge an entsprechendem Puffer verwendet. Ein Reaktionsansatz umfasste ein Gesamtvolumen von 10 µl. Die Inkubation erfolgt für 1 h bei 37°C und wurde dann, sofern es für verwendete Enzyme vorgeschlagen war, für 20 min bei 65°C hitzeinaktiviert.

2.3.10. LIGATION VON PCR-PRODUKTEN

Die generierten blunt-end PCR-Produkte wurden zu Sequenzierungszwecken entweder mit dem pENTR™/D-TOPO® Cloning Kit (Invitrogen, Carlsbad, USA) oder mit dem CloneJET™ PCR Cloning Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) in den im jeweiligen Kit enthaltenen Vektor ligiert. Hierbei wurden vollständig die Angaben des Kit-Herstellers befolgt.

Um cDNA-Sequenz mittels Cleavage Assay (vgl. Kap. 2.3.13.) auf ihre Funktionalität überprüfen zu können, musste die Sequenz in einen den Vektor pSPLF2 (Dr. Gursinsky, AG Mikrobielle Biotechnologie, MLU Halle-Wittenberg) ligiert werden. Es handelt sich hierbei um eine modifizierte Variante des Vektors pSP64-poly(A) (nähere Erläuterung in Kap. 2.3.13.).
Für diese Ligation wurde der Vektor mit den Enzymen XbaI und SmaI linearisiert. Die *AGO4*-cDNA-Sequenz wurde mit vektorspezifischen Primern amplifiziert und anschließend mit XbaI und SmaI behandelt, um die für die Ligation notwendigen Überhänge zu erzeugen.
Die Reaktion für die Ligation wurde wie folgt auf Eis zusammengestellt:

Komponente	**Masse bzw. Volumen**
pSPLF2-Vektor	100 ng
Vektorspezifisches *AGO4*-cDNA-Fragment	3-facher Überschuss gegenüber dem Vektor
T4 DNA-Ligase	5 Units
Gesamtvolumen	**20 µl**

Die Ligation erfolgte bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 2 Stunden.
Anschließend wurde die Transformation in *E. coli* gemäß der in Kapitel 2.2.4. beschriebenen Methodik durchgeführt.

2.3.11. ISOLATION VON PLASMID-DNA AUS *E. COLI*

Um Plasmide aus Bakterien zu isolieren, wurde das NucleoSpin® Plasmid Kit der (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) verwendet. Die Präparation erfolgte im Wesentlichen entsprechend der Herstellerangaben, wobei auf 50°C vorgewärmtes Nuklease-freies Wasser (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland), statt Elutionspuffer verwendet wurde, wenn diese zunächst sequenziert werden mussten, da der Elutionspuffer die Qualität der Sequenzierung verschlechtern kann. Nach der Präparation wurden die Plasmidlösungen per NanoQuant vermessen.

2.3.12. KONZENTRATIONSBESTIMMUNG VON NUKLEINSÄUREN

Zur Bestimmung der Konzentration und Reinheit der Isolationsprodukte wurde eine photometrische Vermessung von je 2 µl Plasmid-Suspension am Spectrophotometer NanoQuant infinite® M200 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) vorgenommen. Als annehmbarer Quotient A_{260nm}/A_{280nm}, um die Reinheit zu gewährleisten, wurde ein Ergebnis zwischen 1,7 bis 2,0 angesehen.

2.3.13. SEQUENZIERUNG

Zur Sequenzierung von Plasmid-DNA wurden Proben an die Eurofins Genomics GmbH (Ebersberg, Deutschland) geschickt. Hierfür wurden die extrahierten Plasmide jeweils auf 75ng/µl in einem Gesamtvolumen von 15 µl in einem Eppendorf-Tube eingestellt.

Sofern die für die Sequenzierung benötigten Primer nicht bei der beauftragten Firma als Standard vorlagen, wurden den verdünnten Plasmidlösungen 2 µl des benötigten Primers beigefügt. Die Auswertung erfolgte zu Beginn der vorliegenden Arbeit mit der Software „MEGA-7“ [Kumar *et al.*, 2016] bzw. „MEGA-X“ [Kumar *et al.*, 2018] und „DNAStar Lasergene“ (DNAStar, Madison, USA), ab 2019 dann ausschließlich mit „Geneious Prime, Version 2019.2.3“ (Biomatters, Auckland, Neuseeland).

2.3.14. AKTIVITÄTSASSAY – CLEAVAGE ASSAY

Die Durchführung der Cleavage Assays (zu deutsch: Spaltungsassays) wurden extern von Dr. Torsten Gursinsky der AG Mikrobielle Biotechnologie des Instituts für Biochemie und Biotechnologie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt.

Zellkultur und Präparierung des BY-2-Zellextrakts

Zunächst wurden BY-2-Zellen von *Nicotiana tabacum* bei 23°C in flüssigem Murashige&Skoog Medium kultiviert [Gursinsky *et al.*, 2009]. Die Zellen wurden einer Percoll-Gradienten-Zentrifugation unterzogen, um evakuolierte BY-2-Protoplasten zu erhalten, aus welchen dann ein Zytoplasmaextrakt (BY-2-Lysat, kurz: BYL) präpariert wurde [Komoda *et al.*, 2004; Gursinsky *et al.*, 2009; Schuck *et al.*, 2013].

In vitro Transkription

Die Synthese der AGO-mRNAs erfolgte in Anwesenheit von m^7GP_3G (Jena Biosciences, Jena, Deutschland), einem monomethylierten Cap-Analogon, welches von SwaI-linearisierten Plasmidkonstrukten stammt, unter Verwendung einer SP6-RNA-Polymerase (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Transkripte, die die Leuchtkäfer-Luciferase codieren, wurden durch die SP6-RNA-Polymerase aus dem XhoI-linearsierten Plasmid pSP-luc(+) (Promega, Madison, WI) generiert. Die Transkriptreaktionen und die folgende Behandlung der Transkripte wurden über standardisierte Verfahren der AG Mikrobielle Biotechnologie durchgeführt.

Um ein „target“ (engl.: Ziel) für die GFP.-spezifische siRNA zu erhalten, wurde eine 432 bp lange Sequenz aus dem Plasmid pGFP-C1 mit den Primern GFP-F und GFP-R generiert. Die Transkription der GFP-traget-mRNA wurde auf diesem Fragment mit einer T7-Polymerase durchgeführt, in Anwesenheit von 0.5 µCi/µl [α-^{32}P]-CTP (3,000 Ci/mmol). Das markierte Transkript wurde mittels GeneJET RNA Purification Kit der Firma Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA) purifiziert.

T7GFP2f:CGTAATACGACTCACTATAGGAGAATCGAGTTAAAAGGTATTG

TraGFP1r: ATTTGCGGCCGCTTATCTAGATCCGGTGGATCCCG

siRNAs

Die Sequenzen der 24 nt Variante der GFP-spezifischen siRNA waren

5’-AAGUUCAUCCAUGCCAUGUGUAAU-3’ (guide strand) und

5’-UACACAUGGCAUGGAUGAACUUUA-3’ (passenger strand).

Um siRNA-Duplices zu produzieren, wurden die ssRNA-Oligonucleotide (Biomers, Ulm, Deutschland) für 1 min bei 90°C in Annealing Buffer erhitzt (30 mM HEPES-KOH, pH 7,4; 100 mM Kaliumacetat; 2 mM Magnesiumacetat) und anschließend für 60 min bei 37°C hybridisiert.

Target cleavage assay

Um mit siRNA programmierte AGO/RISC zu erhalten, wurde eine 20 µl Reaktion angesetzt, die 50% (v/v) BYL, 0,5 pmol AGO-mRNA und 100 nM si-RNA-Duplex enthielt, zu bereits von Gursinsky et al. (2009) und Schuck et al. (2013) beschriebenen Bedingungen [Gursinsky *et al.*, 2009; Schuck *et al.*, 2013]. Nach einer Inkubation bei 25°C für 2,5 h wurden 2 µg der Leuchtkäfer-Luciferase-mRNA (Konkurrent) und die ^{32}P-gelabelte target-RNA (20 fmol) der Reaktion beigefügt. Die Spaltungsreaktion (Cleavage reaction) wurde für 15 min durchgeführt. Durch Behandlung des Reaktionsansatzes mit 20 µg Proteinkinase K in Gegenwart von 0,5% SDS für 30 min bei 37°C, gefolgt von einer Chloroform-Extraktion und Ethanol-Präzipitation, wurden die Gesamt-RNA isoliert. Die RNA-Proben wurden auf 5% TBE-Polyacrylamidgelen, die 8 M Urea enthielten, separiert. 32P-gelabelte target-RNAs und Spaltungsprodukte wurden durch Phosphor-Imaging sichtbar gemacht (Typhoon Trio+, GE Healthcare, Chicago, IL).

2.4. BIOINFORMATISCHE METHODEN

2.4.1. TRANSKRIPTOM-DATENBANK

Die AG-interne Transkriptom Datenbank wurde von Dr. Claudia Schaff eingerichtet. Die Daten stammten aus RNA-Sequenzierungen früherer Projekte. Proben hochreiner Gesamt-RNA waren per Illumina MiSeq mit einem halben Lauf und 7,5 Mio „reads“ (Länge der „reads“: ca. 500 bp) pro Probe sequenziert worden. Diese Sequenzierungen sind am Max Planck Genomzentrum (Köln, Deutschland) durchgeführt worden.

Die erhaltenen „reads“ wurden durch Dr. Schaff mittels der Software „CLC Genomics Workbench“, Version 20.0.4, von Qiagen (Venlo, Niederlande) assembliert und dort als Datenbank bereit gehalten.

Die Einstellungen für die CLC Genomics Workbench waren:

Mapping mode	Create simple contig sequence (fast)
Automatic bubble size	No
Bubble size	400
Minimum contig length	350
Automatic word size	No
Word size	30
Perform scaffolding	Yes
Auto-detect paired distances	Yes

2.4.2. SEQUENZANALYSEN

Für Sequenzvergleiche von Nuklein- und Aminosäuresequenzen wurde die frei zugängliche BLAST-Funktion von NBCI (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) genutzt, ab 2019 dann auch und fast ausschließlich „Geneious Prime, Version 2019.2.3“ (Biomatters, Auckland, Neuseeland). In beiden Fällen wurden die Default-Einstellungen der jeweiligen Software verwendet; bei Geneious die Einstellungen des MUSCLE-Alignments.

Um konservierte Domänen in Protein- und Nukleotidsequenzen zu finden, wurde die CD Search Software von NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi) verwendet.

2.4.3. PHYLOGENETISCHE ANALYSEN

Sowohl anhand der Nuklein- als auch der Aminosäuresequenz wurden phylogenetische Analysen zu Beginn der vorliegenden Arbeit mittels „MEGA-7“ [Kumar *et al.*, 2016] bzw. „MEGA-X“ [Kumar *et al.*, 2018] durchgeführt, ab 2019 dann ausschließlich mit „Geneious Prime, Version 2019.2.3“ (Biomatters, Auckland, Neuseeland). Mit letzterem wurden auch die zuvor gemachten Analysen noch einmal vollständig aufgearbeitet.

Die Einstellungen für die Analyse von Nukleinsäuresequenzen in der „Geneious Prime“ Software waren wie folgt:

Genetic Distance Model	Tamura-Nei
Tree Build Method	Neighbor-Joining
Outgroup	TaAGO4 CDS
Resampling Method	Bootstrap, 1000 Wiederholungen
Random Seed	600.000
Support Threshold	50 %

Die Einstellungen für die Analyse von Aminosäuresequenzen in der „Geneious Prime“ Software waren wie folgt:

Genetic Distance Model	Jukes-Cantor
Tree Build Method	Neighbor-Joining
Outgroup	TaAGO4 CDS
Resampling Method	Bootstrap, 1000 Wiederholungen
Random Seed	600.000
Support Threshold	50 %

3. ERGEBNISSE

3.1. DAS GEN *AGO4* ALS KANDIDATENGEN FÜR DIE KONTROLLE DER BIOSYNTHESE VON MONOTERPENEN IN *THYMUS VULGARIS*

Die Synthese von Monoterpenen ist ein komplexes Gebiet und wird in *Thymus vulgaris* über mindestens fünf Genloci kontrolliert [Thompson *et al.*, 1998]. Wie bereits in Kapitel 1.1.2 erklärt, prägt sich dies als chemischer Polymorphismus aus, der in Pflanzen resultiert, die je ein Hauptmonoterpen als bestimmendes Merkmal ihres ätherischen Öls auszeichnet (Chemotypen). Die in dieser Dissertation betrachteten Chemotypen aus Südfrankreich bilden eine epistatische Reihe (siehe Kapitel 1.1.2, Abbildung 1-1).

In der Dissertation von Jette Schimmel (2014) wurde bereits per qRT-PCR gezeigt, dass die Transkriptmengen der verschiedenen Terpensynthasen mit der Produktion des jeweiligen Monoterpenalkohols insgesamt übereinstimmt, aber teilweise auch in solchen Chemotypen zu finden sind, deren ätherisches Öl keinen Hinweis auf diese Expression liefert. Um dies zu unterstreichen, wurde dies für die vorliegende Arbeit nochmals exemplarisch anhand der γ-Terpinensynthase gezeigt.

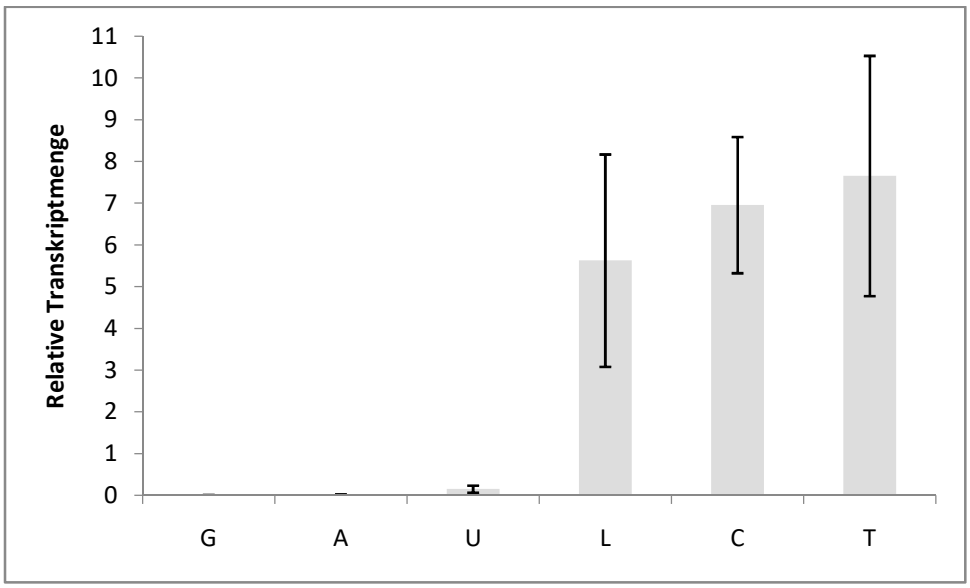


Abbildung 3-1 | Relative Transkriptmenge des Gens der γ-Terpinensynthase in den sechs Chemotypen von Thymus vulgaris.
Alle Chemotypen exprimieren das Gen der γ-Terpinensynthase. Mithilfe von qPCR wurden die Transkriptmengen von TvTPS2 im gesamten Blatt bestimmt. Im G-Typ und A-Typ ist die Expression jedoch sehr gering, ebenso wie der Standardfehler. Als Referenzgen für die relativen Transkriptmengen wurde *yls8* (yellow leaf specific gene 8) verwendet. Die dargestellten Werte ergeben sich aus einem Mittelwert von drei biologischen Replikaten (n = 3) pro Chemotyp, welche wiederum auf drei technischen Replikaten (n = 3) beruhen.

Es stellte sich daher die Frage, wie die Transkription der jeweiligen Monoterpensynthasen in den Chemotypen reguliert wird.

Da bereits nachgewiesen wurde, dass die Methylierung der Promotorregion der Monoterpensynthasen hier Einfluss haben könnte [Schimmel, 2014], fiel die Wahl darauf, Gene zu identifizieren, welche an Methylierungsmechanismen beteiligt sind. Ein realistisch erscheinender Mechanismus ist die RNA-gesteuerte DNA-Methylierung (engl. RNA-directed DNA methylation, RdDM), da diese unter anderem für *de novo* Methylierungen wichtig ist [Bender, 2004], welche beispielsweise bei der Vererbung und Merkmalsausprägung eine Rolle spielt. Eine wichtige Gruppe von Proteinen, die in diesem Mechanismus beteiligt sind, sind die AGO-Proteine, welche in der Lage sind, siRNAs aufzunehmen und mit ihrer Hilfe den RISC-Komplex an die zu methylierende Stelle leiten [Movahedi *et al.*, 2015].

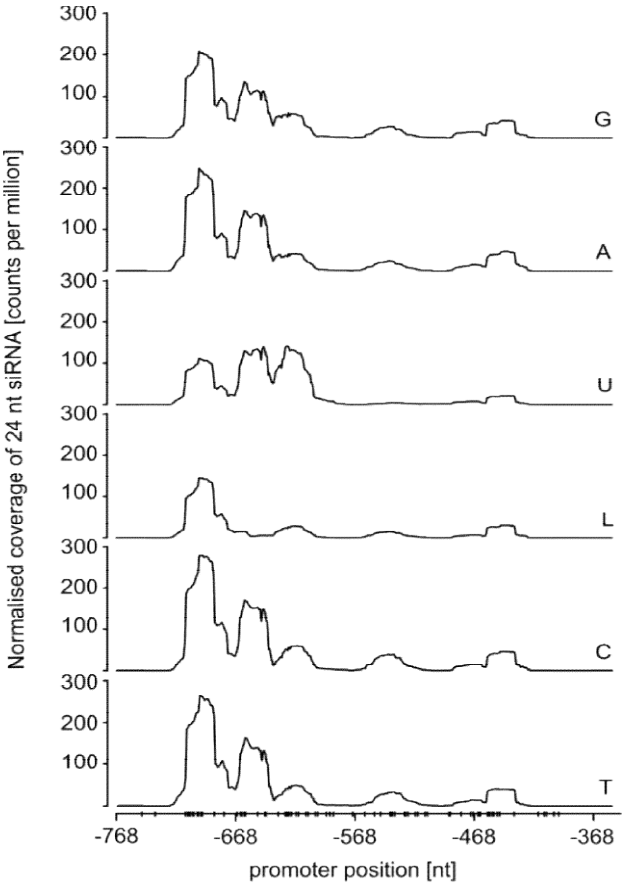


Abbildung 3-2 | 24 nt siRNA-Deckung über dem ersten Abschnitt der Promotorregion der γ-Terpinensynthase *Tvtps2* in *Thymus vulgaris*. Alle sechs Chemotypen zeigen ein ähnliches Deckungsmuster mit einer sehr hohen Abdeckung des ersten Promotorabschnitts. Hohe Konzentrationen der 24nt siRNAs korrelieren mit Methylierungspositionen die als verdickte Bereiche auf der x-Achse dargestellt sind (unveröffentlichte Daten von Jette Schimmel).

Insbesondere AGO4 ist hier von Interesse.

3.1.1. IDENTIFIKATION MÖGLICHER KANDIDATENSEQUENZEN VON *AGO4* IN *THYMUS VULGARIS*

Da AGO4 im RdDM-Mechanismus eine signifikante Rolle spielt, wurde zunächst überprüft, ob sich eine Gensequenz in *Thymus vulgaris* findet, die der von *AGO4* in anderen pflanzlichen Organismen ähneln. Dies ist allerdings nicht unproblematisch, da es bisher für Thymian kein vollständig sequenziertes Genom gibt, im Gegensatz zu beispielsweise *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana)*, welches über die TAIR-Datenbank (https://www.arabidopsis.org/) gezielt durchsucht werden kann und darüber hinaus bereits umfassend annotiert ist. Desweiteren finden sich in der Datenbank von *A. thaliana* auch zu jedem Gen die mRNA, CDS und Aminosäuresequenz.

Daher wurden *AGO*-Sequenzen von Vergleichsorganismen ausgewählt und gegen die arbeitsgruppeninterne Transkriptom-Datenbank (siehe Kapitel 2.4.1.) von *T. vulgaris* geblastet. Zu Beginn dieser Arbeit enthielt die Datenbank nur die RNASeq-Ergebnisse der Chemotypen G, C und T, weshalb auch nur sie für die nachfolgende Untersuchung verwendet worden sind. Als Referenzgene wurden *AGO4* aus *A. thaliana* (Sequenz aus der TAIR-Datenbank) und *Nicotiana benthamiana* (*N. benthamiana*; Sequenz aus der NCBI-Datenbank) gewählt, da von näher verwandten Pflanzen, wie *Rosmarinus officinalis* oder *Salvia officinalis*, keine entsprechenden Daten online vorliegen (Stand: 26.09.2021). Die durch beide Referenzgene in den Thymian-Chemotypen ermittelten Kandidatensequenzen waren jeweils dieselben. Sie wurden zunächst untereinander verglichen, um Mehrfachtreffer bzw. weitreichende Sequenzüberlappungen bei Treffern aus demselben Chemotyp zu identifizieren. Die verbliebenen Sequenzen sind in Tab. 3-1 aufgelistet.

Tabelle 3-1 | Liste der möglichen *AGO4*-Sequenzen aus der RNA-Seq-Datenbank.

Tv: *Thymus vulgaris*; C: C-Typ, G: G-Typ, T-Typ. Die Sequenzen konnten sowohl mit dem Referenz-cDNA von *AGO4* aus *A. thaliana*, als auch aus *N. benthamiana* erhalten werden.

RNA-Seq-Sequenz	Chemotyp	Länge (bp)
Tv C1 mRNA	Carvacrol	3356
Tv C2 mRNA	Carvacrol	3563
Tv C3 mRNA	Carvacrol	3121
Tv C4 mRNA	Carvacrol	3214
Tv G1 mRNA	Geraniol	3511
Tv G2 mRNA	Geraniol	3152
Tv G3 mRNA	Geraniol	3201
Tv T1 mRNA	Thymol	3311
Tv T2 mRNA	Thymol	3495
Tv T3 mRNA	Thymol	3219

Nach der Harmonisierung der Daten wurden die Thymian-Sequenzen einer Stammbaumanalyse unterzogen. Hierzu wurden die Daten zu allen *AGO*-Gensequenzen aus der TAIR-Datenbank für *A. thaliana* verwendet sowie die *AGO4*-cDNA-Sequenz von *N. benthamiana*. Eine *AGO4*-Sequenz von *Triticum aestivum (T. aestivum)* wurde als sogenannte „Outgroup“ verwendet, d.h. als eine Referenz aus einer entfernt verwandten Pflanzenfamilie. Die Wahl fiel hier auf *T. aestivum*, da es sich um eine Monokotyledone handelt, wohingegen *T. vulgaris* eine Dicotyledone ist, ebenso wie *N. benthamiana* und *A. thaliana*.

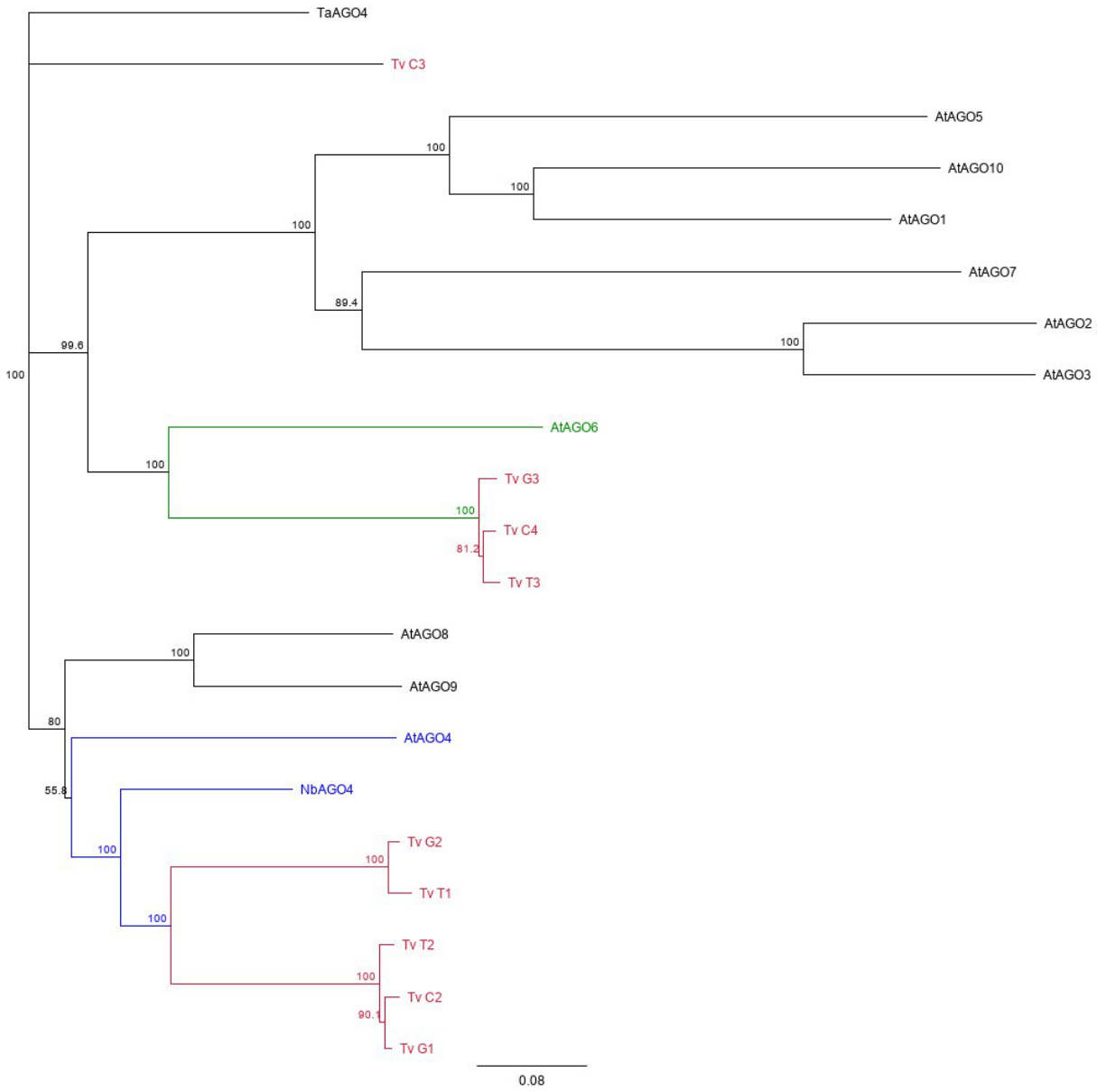


Abbildung 3-3 | Dendrogramm-Analyse von Argonauten-cDNA-Sequenzen aus *Arabidopsis thaliana, Triticum aestivum, Thymus vulgaris* und *Nicotiana benthamiana*.

Die cDNA -Sequenzen der AGO-Gene von *Arabidopsis thaliana (At)*, *Nicotiana benthamiana (Nb)*, Ta*: Triticum aestivum (Ta), und* Tv: *Thymus vulgaris (Tv)* wurden *in silico* verglichen.

Zahlen hinter dem Kürzel „AGO" zeigen an, welches Argonauten-Protein von dieser Sequenz codiert wird. Die Zahlen an den Zweigen des Stammbaums repräsentieren als Prozentzahlen die Plausibilität der Verwandtschaftsbeziehungen der Sequenzen untereinander bzw. von einem nicht identifizierten gemeinsamen Vorfahren, welche sich aus den 1000 Wiederholungen der Berechnung ergibt. Die Hervorhebung der AGO4-Zweige ist blau, von AGO6 grün. Die vorhergesagten Sequenzen aus Thymian sind rot.

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Genetic Distance Model: Tamura-Nei; Tree Build Method: Neighbor-Joining; Outgroup: TaAGO4 CDS; Resampling Method: Bootstrap, 1000 Wiederholungen, Support Threshold: 50 %.

Abbildung 3-3 zeigt die hierarchische Clusteranalyse der verwendeten Sequenzdaten, wobei die eigentlichen Sequenznamen aus Gründen der Lesbarkeit verkürzt dargestellt wurden (die volle Bezeichnung bzw. Datenbankbezeichnung findet sich im Anhang 6.3). Hierbei ist zu berücksichtigen, dass bei der verwendeten Dendrogramm-Analyse kein

Ausgangspunkt festgelegt wurde und die Darstellung somit die relativen Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb der Sequenzen repräsentiert. Neun der zehn identifizieren Sequenzen aus *T. vulgaris* wurden vom Programm Geneious Prime bei der Stammbaumberechnung klar in die Verwandtschaft einer Argonauten-Sequenz aus *A. thaliana* eingruppiert. Dabei sind drei der *AtAGO6*-cDNA zugeordnet und fünf der *AtAGO4*-cDNA. Zu den letztgenannten sei zudem bemerkt, dass diese tatsächlich näher zu *NbAGO4*-mRNA eingeordnet werden, aber mit diesem gemeinsam in die Beziehung zu AtAGO4 stehen.

Eine Thymian-Sequenz (Tv C3 mRNA) wurde darüber hinaus als allein stehend eingeordnet. Desweiteren ist zu beachten, dass sowohl *AtAGO4*, als auch *AtAGO6* durch die Clusteranalyse Sequenzen von jedem der drei verwendeten Chemotypen (C, G und T) zugeordnet wurden. Anhand der Resultate wurden Primer für die Klonierung von *AGO4* entworfen.

3.1.2. ANALYSE DER AGO4-SEQUENZ IN *T. VULGARIS*

Anhand der RNA-Seq-Sequenzen, die zu *AtAGO4* aus *A. thaliana* (*AtAGO4*) eingeordnet worden waren, wurden verschiedene Primer entworfen, um per PCR aus *T. vulgaris*-cDNA (genauer: C-Typ-cDNA) eine codierende Sequenz für *TvAGO4* zur Analyse zu erhalten. Erwartet wurde, dass die resultierende Sequenz etwa 2715 (*NbAGO4*) bzw.2775 bp (*AtAGO4*) lang sein würde. Nur ein Primerpaar brachte ein Fragment hervor. Die Gelelektrophorese bestätigte dies zunächst, so dass das erhaltene Fragment in einen Vektor kloniert und über Nacht in *E. coli* kultiviert werden konnte. Die darauf folgende Kontrolle der scheinbar positiven Bakterienkolonien resultierte jedoch in einem Fragment, welches etwa um die Hälfte kürzer war als ursprünglich. Um den Grund hierfür zu verifizieren, wurde eine Plasmidpräparation vorgenommen und zur Sequenzierung eingeschickt.

Die Resultate der Sequenzierungen konnten nur mit *AtAGO4* verglichen werden, da die Reverse-Sequenzierung nicht zu der Sequenz von *NbAGO4* passte. Der Vergleich der Sequenzierungsresultate mit *AtAGO4* zeigte, dass ein Bereich von 755bp nicht in dem klonierten Fragment enthalten war. Die Lücke erklärte jedoch nicht, warum das ursprüngliche erhaltene Fragment die erwartete Länge hatte und nach dem klonieren verkürzt erschien. Um eine präzisere Aussage treffen zu können, wurden die Resultate daraufhin mit den *T.* vulgaris Sequenzen aus der Stammbaumanalyse verglichen (siehe Tab.

3-2) welche explizit zu *AtAGO4* gruppiert worden waren. Hierbei stellte sich heraus, dass die Sequenzvergleiche unterschiedliche Resultate lieferten. Am auffälligsten ist hier, dass TvC1 mRNA, TvG2 mRNA und TvT1 mRNA jeweils nur ein Mal eine Deckung mit der Forward- und Reverse-Sequenzierung zeigten, während Tv C2 mRNA, Tv G1 mRNA und Tv T2 mRNA doppelte Übereinstimmungen zeigten. Für Tv T3 mRNA ergab sich hier nur eine Ähnlichkeit mit der Forward-Sequenzierung in einem minimalen Bereich (siehe Abb. 3-4). Für Tv C3 mRNA, Tv C4 mRNA und Tv G3 mRNA ergaben sich keinerlei Übereinstimmungen.



Abbildung 3-4 | Vergleich der Sequenzierergebnisse des möglichen *AGO4*-Fragments mit RNASeq-Ergebnissen.

Die Darstellung präsentiert die Ergebnisse der Sequenzvergleiche der Sequenzierungsresultate eines vermuteten *AGO4*-Fragments mit den *in silico* erhaltenen Kandidatensequenzen für das Gen *AGO4* aus Thymian (A – G).

Die mit Consensus gekennzeichnete Sequenz (jeweils oben in jeder Teilabbildung) gibt den gesamten Sequenzbereich wieder, der von der Referenzsequenz und Sequenzierungsergebnissen in Summe dargestellt wird. Die „Coverage" (blauer Bereich) zeigt an, wo sich die Referenzsequenz und Sequenzierungsergebnissen überlagern bzw. sich die Sequenzierungsergebnisse untereinander überlagern. Je nach Anzahl der dieser Überlappungen stehen die blauen Markierungen für eine bis zwei Sequenzen, deren Bereiche miteinander

übereinstimmen. Dies gilt für alle mit Ausnahme des Vergleichs mit Tv T3 mRNA (Abschnitt G) – hier liegt womöglich ein Sequenzierungsfehler oder –artefakt vor. Die schwarzen Bereiche der Sequenzen zeigen an, dass Basenpaare mit der Referenzsequenz übereinstimmen, während die grauen Bereiche Abweichungen darstellen.
Die meisten Sequenzübereinstimmungen finden sich bei Tv C1 mRNA (A), sowie Tv G2 mRNA (D) und Tv T1 mRNA (E). Zu beachten ist auch, dass bei Tv C2 mRNA (B), Tv G1 mRNA (C) und Tv T2 mRNA (F) die Sequenzen der beiden Sequenzierungsergebnisse miteinander übereinstimmen.

Tabelle 3-2 | Tabellarische Auflistung der Sequenzvergleiche zur Klonierung der möglichen *TvAGO4*-cDNA-Sequenz

Vergleichssequenz	Länge der Lücke [bp]	Länger der Überlappung fwd [bp]	Länge der Überlappung rev [bp]
Tv C1 mRNA	734	-	-
Tv C2 mRNA	1475	424	304
Tv G1 mRNA	1475	424	304
Tv G2 mRNA	734	-	-
Tv T1 mRNA	734	-	-
Tv T2 mRNA	1475	424	304
Tv T3 mRNA	-	-	-

Auffällig ist hier bei dem Vergleich der doppelten Übereinstimmungen, dass diese von ungewöhnlich großem Ausmaß sind, zwischen 304 bp (Reverse) und 424 bp (Forward) (siehe Abbildung 3-4). Da diese Überlappungen besonders den Bereich der ersten 1000 bp nach dem Start-Codon betrafen, wurde kontrolliert, ob mit einem weiter davon entfernt liegendem Forward-Primer dieses Phänomen weiterhin auftritt. Dies konnte nicht bestätigt werden, die Sequenz war ab dem Forward-Primer vollständig und ohne Dopplungen.

Es handelte sich hierbei wahrscheinlich um Artefakte, die nicht vollständig aufgeklärt werden konnten. Aus molekularbiologischer Erfahrungswerten lässt sich dies beispielsweise darüber erklären, dass eine Klonierung in einen Vektor wahrscheinlicher mit Schwierigkeiten verbunden ist, je größer das zu klonierende Fragment ist. Durch Bruchstellen in der RNA ist es darüber hinaus aus möglich, dass sich bei der cDNA-Synthese Chimären ausgebildet haben, die zu dieser Erscheinung führten. Dafür sprechen vor allem die Bildabschnitte, die zeigen, dass die Forward- und die Reverse-Sequenzierungen übereinstimmende Sequenzen ergeben (Abb. 3-4, Abschnitte B, C, F). Die minimale Übereinstimmung der Forward-

Sequenzierung mit Tv T3 mRNA kann als nicht relevant angesehen werden, da sie sehr kurz ist und es sich daher aller Wahrscheinlichkeit nach um ein Sequenzierungsartefakt handelt. Näheres zu dieser Problematik wird in der Diskussion erläutert.

Der so erhaltene Abschnitt codierender DNA-Sequenz wurde mit der NCBI-BLAST-Software untersucht. Hierdurch ergab sich ein Hinweis auf eine andere Art aus der Familie der Lamiaceae, den Rotwurzelsalbei oder auch chinesischen Salbei *Salvia miltiorrhiza* (*S. miltiorrhiza*). Die in NCBI hinterlegten cDNA-Sequenzen der für diesen Salbei beschriebenen *AGOs* wurden für eine erweiterte Stammbaumanalyse verwendet, ebenso die in derselben Datenbank zu findenden Sequenzen der *AGOs* von *Erythranthe. guttata* und *Sesamum indicum* (Stand der Sequenzdaten in NCBI: 07.07.2021), um durch die erhöhte Anzahl von Vergleichsdaten eine möglichst präzise Zuordnung zu erhalten.

Zunächst war zu beobachten (siehe Abbildung 3-5), dass Tv C3 mRNA laut Analyse eine hohe Ähnlichkeit zu *SmAGO8* mRNA hat, aber mit ihm zusammen weiterhin außerhalb der Verwandtschaftsbeziehung der anderen *AGO*-Nukleotidsequenzen steht. Zudem wurden die Sequenzen von Tv C1, G2 und T1 mRNA nicht mehr direkt *AtAGO4* cDNA und *NbAGO4* mRNA zugeordnet, sondern zu *SmAGO9* mRNA, das selbst aber dennoch in Beziehung zu den beiden genannten *AGO4*-Varianten gesetzt wurde. Jede weitere neu in die Analyse einbezogene Sequenz, wurde in Verwandtschaft zu der Argonauten-Nukleotidsequenz aus *A. thaliana* eingeordnet, welche dieselbe Nummer trägt.

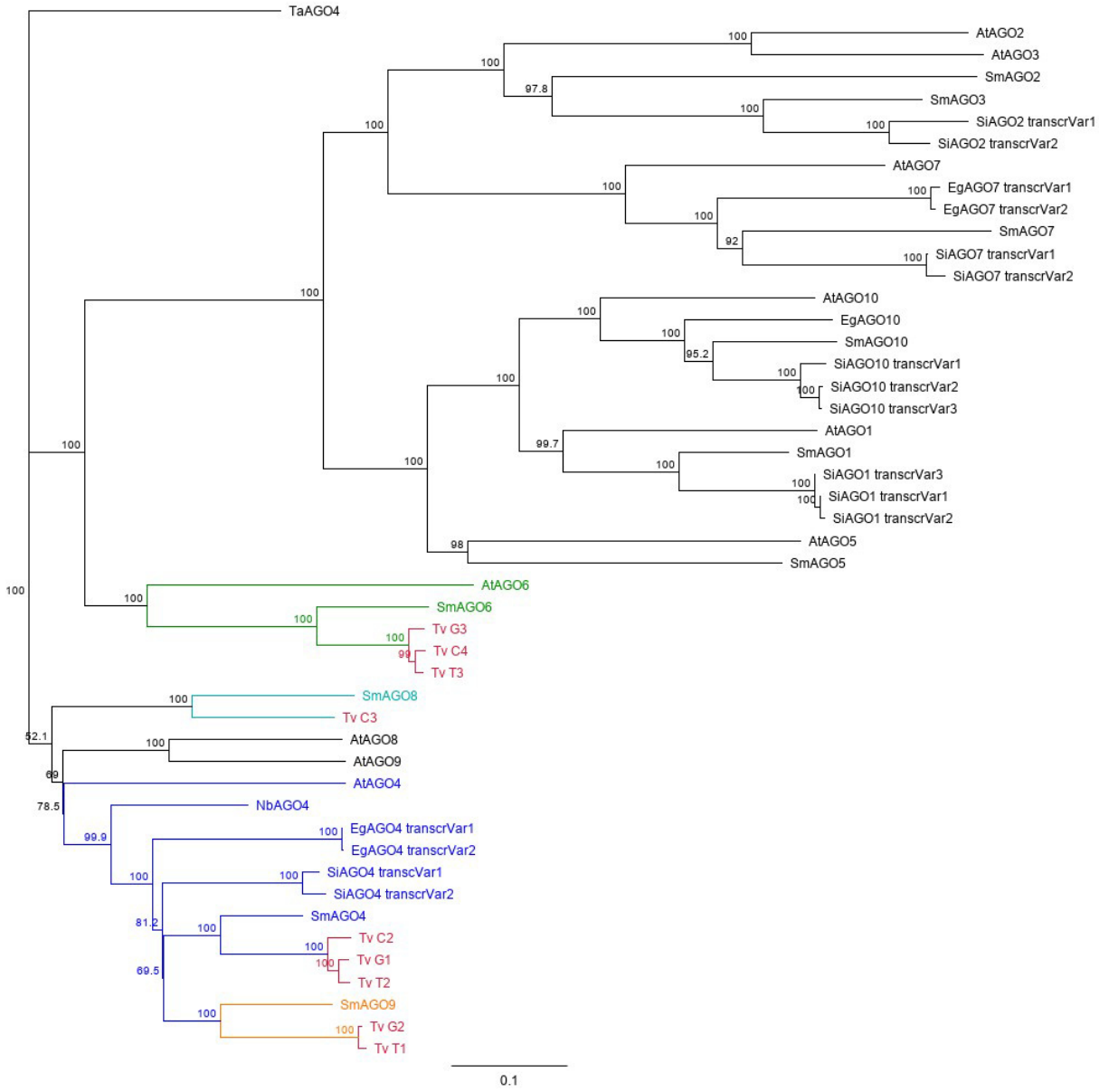


Abbildung 3-5 | Dendrogramm der *AGO*-Sequenzen erweitert um *Salvia miltiorrhiza*, *Erythranthe guttata* und *Sesamum indicum*.

Es wurden cDNA-Sequenzen von *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm), *Triticum aestivum* (Ta) *und Thymus vulgaris* (Tv) miteinander verglichen.

Die Zahlen hinter dem Kürzel „AGO" zeigen an, welches Argonauten-Protein von dieser Sequenz codiert wird. Die Zahlen an den Zweigen des Stammbaums repräsentieren als Prozentzahlen die Plausibilität der Verwandtschaftsbeziehungen der Sequenzen untereinander bzw. von einem nicht identifizierten gemeinsamen Vorfahren, welche sich aus den 1000 Wiederholungen der Berechnung ergibt. Die Hervorhebung der AGO4-Zweige ist blau, von AGO6 grün, von Ago8 türkis und von AGO9 orange. Die Sequenzen aus Thymian sind rot.

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Genetic Distance Model: Tamura-Nei; Tree Build Method: Neighbor-Joining; Outgroup: TaAGO4 CDS; Resampling Method: Bootstrap mit 1000 Wiederholungen; Random Seed: 600,000; Support Threshold: 50 %.

Im Anhang 6.4 befindet sich eine Distanzmatrix, welche die Identitäten der Sequenzen zueinander in Prozent ausdrückt.

Da sich hier beim Vergleich mit den RNA-Seq-Daten eine größere Nähe der Verwandtschaft sowie eine hohe Plausibilität derselben zeigte, wurden erneut Primer entworfen, um möglicherweise auf diesem Wege die vollständige Sequenz aus Thymian zu erhalten. Es wurde analog zur ursprünglichen Versuchsreihe vorgegangen. Hier wurde aufgrund der erhöhten Ähnlichkeit ein Fragment von 2613 bp vermutet, entsprechend der Länge des Leserasters für *SmAGO4*. Dies konnte aus Thymian nicht erhalten werden. Aufgrund dieser Schwierigkeit wurde als Alternative *Rosmarinus officinalis*, wegen seiner Zugehörigkeit zur gleichen Pflanzenfamilie, verwendet, welcher ein positives Ergebnis lieferte. Das erhaltene Fragment (*RoAGO4*) wurde kloniert und durch Sequenzierung bestätigt. Es wurde davon ausgegangen, dass man mit dieser Sequenz nun Aktivitätstests durchführen könnte.

Eine Rücksprache mit Dr. Torsten Gursinsky von der AG Mikrobielle Biotechnologie am Institut für Biochemie und Biotechnologie an der MLU Halle-Wittenberg ergab jedoch, dass bei der Sequenz ein entscheidender Faktor fehlte: eine Gensequenz, am Ende der cDNA direkt vor dem Stop-Codon, die für das Aminosäuremotiv MFFC (Met-Phe-Phe-Cys) oder MFYC (Met-Phe-Tyr-Cys) codiert. Diese kurze Sequenz taucht bei allen AGO-Proteinen auf, in seltenen Fällen auch mit einer anderen Aminosäure an der vorletzten oder letzten Position. Eine gemeinsame Untersuchung der Leseraster führte zu der Vermutung, dass mindestens einen Fehler in der Sequenz vorlag, in Form einer Deletion oder Insertion in der Sequenz, welcher zu einer Verschiebung des Leserasters führte. Die darauffolgende Untersuchung der *S. miltiorrhiza AGO4*-CDS im Vergleich mit der *RoAGO4* Consensus-Sequenz der Sequenzierungsresultate erfolgte mittels einer Funktion der Geneious Software, bei der neben den Nukleotidsequenzen die korrespondierenden Aminosäuren anhand der Basentripletts angezeigt werden. Dieser Abgleich legte nahe, dass zwei Basen in der Sequenz von *S. miltiorrhiza*, fehlten wie in Abb. 3-6 zu sehen ist (rote Markierung). Auffällig ist hier auch, dass die korrespondierende Aminosäuresequenz vor dieser „Lücke“ sehr ähnlich ist und danach deutlich abweicht (vollständiger Vergleich im Anhang 6.8).

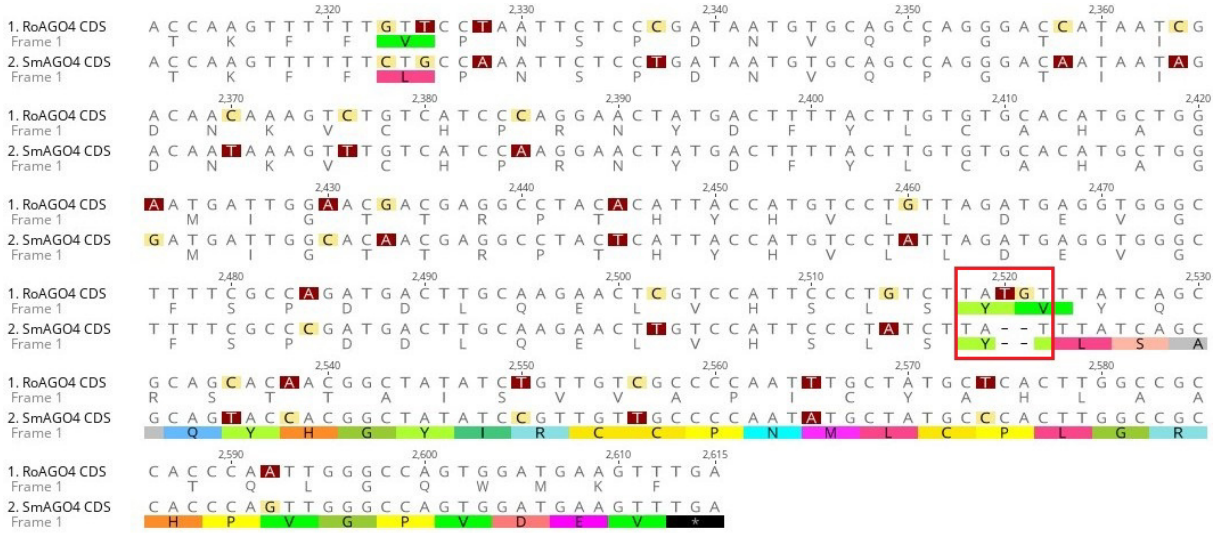


Abbildung 3-6 | Ausschnitt des Sequenzvergleichs von *RoAGO4* consensus sequence und *SmAGO4* CDS.

Die cDNA-Sequenzen und abgeleitete Aminosäuresequenzen der AGO4 Proteine von *Rosmarinum officinalis (Ro) und Salvia miltiorrhiza (Sm)* wurden miteinander verglichen. Die Sequenz von *RoAGO4* wurde durch eigene Sequenzierung erhalten, jene von *SmAGO4* aus der NCBI-Datenbank bezogen. Im roten Kasten ist die Sequenzabweichung markiert, die bei *SmAGO4* zu einem vorzeitigen Stop-Codon führt.

Probeweise wurden in *silico* zwei Basen an der Stellen ergänzt, an welcher der Sequenzvergleich ein Fehlen indizierte. Durch die Ergänzung veränderte sich das Leseraster, sodass die cDNA-Sequenz nicht mehr 2613 bp, sondern 2730 bp (inkl. Stop-Codon) umfasste und am Ende eine Kodierung für das MFFC-Motiv ergab (Abb. 3-7; vollständiger Vergleich im Anhang 6.8).

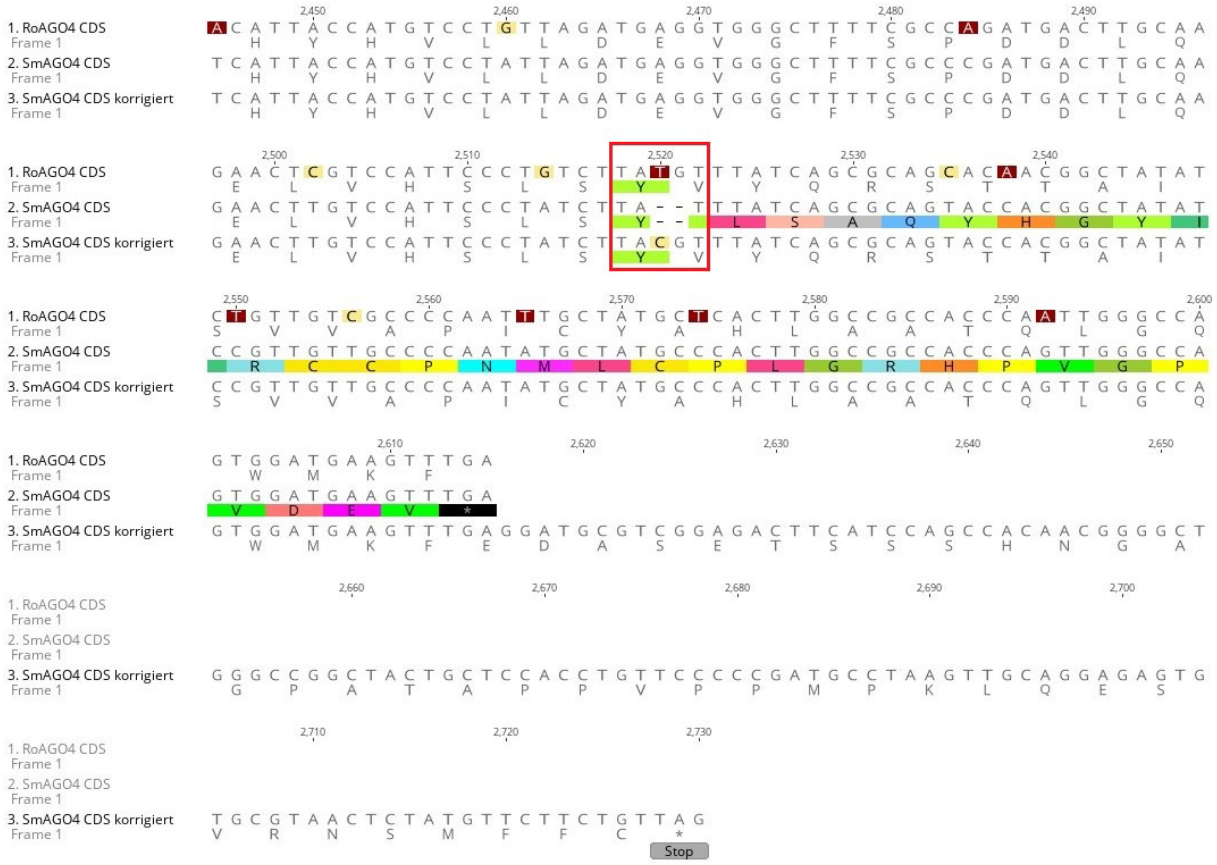


Abbildung 3-7 | Vergleich der korrigierten mit der ursprünglichen *SmAGO4*-CDS und der *RoAGO4* CDS.

Die *in silico* Ergänzung von zwei Basen in die Sequenz von *SmAGO4* aus *Salvia miltiorrhiza* führte zu einer Verschiebung des Leserasters und damit zu einem um 115 bp längerem Segment mit der AGO-typischen MFFC-Endung

Ro: *Rosmarinum officinalis*, Sm: *Salvia miltiorrhiza*.

Neu entwickelte Reverse-Primer konnten jedoch auch nicht dazu beitragen, dass durch eine PCR die gesamte cDNA-Sequenz von *AGO4* aus Rosmarin erhalten werden konnte. Daher wurde auf das Verfahren der Overlap-PCR zurückgegriffen, um aus zwei etwa gleich großen Fragmenten, die in 20 bp am Ende bzw. am Anfang übereinstimmen, eine vollständige Sequenz zu erhalten. Diese wurde zunächst direkt auf *Thymus vulgaris* cDNA angewandt, da dies das eigentliche Ziel der Dissertation war und sich bei einem positiven Resultat die Analyse von *RoAGO4* erübrigt. Die so erlangte *TvAGO4*-CDS wurde anschließend, gemeinsam mit der korrigierten Sequenz von *S. miltiorrhiza AGO4*, wieder einer Stammbaumanalyse unterzogen.

Im Zuge dieser Untersuchung der Sequenz von *S. miltiorrhiza AGO4*, wurden auch andere Datenbanksequenzen einer genauen Überprüfung unterzogen. Es stellte sich heraus, dass neben *SmAGO4* noch weitere Sequenzen von *S. miltiorrhiza* vermutlich Fehler aufweisen. Dies betrifft *SmAGO2*, *SmAGO5* und *SmAGO8*. Sie resultieren nicht in einer

vollständigen Aminosäuresequenz und sind deshalb entweder Pseudogene oder enthalten so viele Sequenzierfehler, dass sie nicht (wie im Fall von *SmAGO4* geschehen) durch einen Vergleich mit einer ähnlichen Sequenz plausibel korrigiert werden können. Desweiteren stellte sich die *AGO10*-Sequenz von *E. guttata* als zwar nicht von Fehlern durchzogen, aber verkürzt heraus. Daher wurden diese Daten in die neue Analyse nicht miteinbezogen. Es ergibt sich daher ein leicht veränderter Stammbaum.

Wie in Abbildung 3-8 zu sehen ist, hat sich am Dendrogramm durch die Insertion der Basen in *SmAGO4* nichts verändert. Die erhaltene *TvAGO4*-CDS wurde erwartungsgemäß der Verwandtschaft der *SmAGO4* mRNA zugeordnet. Die zugehörige Distanzmatrix befindet sich im Anhang 6.4.

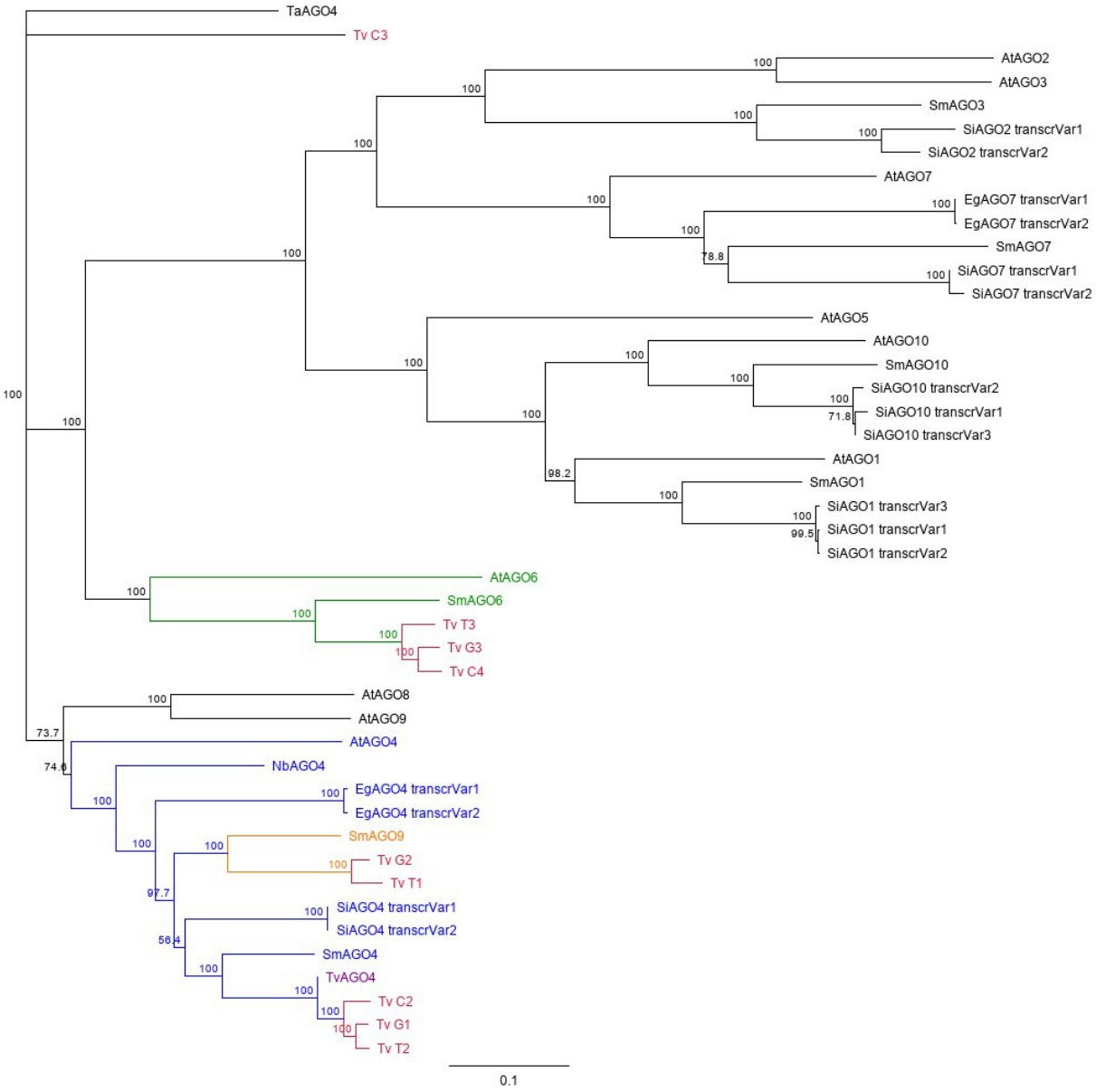


Abbildung 3-8 | Erweitertes Dendrogramm der codierenden *AGO*-Sequenzen mit korrigierter *SmAGO4*-mRNA und ermittelter *TvAGO4*-CDS.

Es wurden cDNA-Sequenzen von *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm), *Triticum aestivum* (Ta) *und Thymus vulgaris* (Tv) miteinander verglichen.

Die Zahlen hinter dem Kürzel „AGO“ zeigen an, welches Argonauten-Protein von dieser Sequenz codiert wird. Die Zahlen an den Zweigen des Stammbaums repräsentieren als Prozentzahlen die Plausibilität der Verwandtschaftsbeziehungen der Sequenzen untereinander bzw. von einem nicht identifizierten gemeinsamen Vorfahren, welche sich aus den 1000 Wiederholungen der Berechnung ergibt. Die Hervorhebung der AGO4-Zweige ist blau, von AGO6 grün und von AGO9 orange. Die vorhergesagten Sequenzen aus Thymian sind rot. Die durch die Overlap-PCR erhaltene vollständige AGO4-Sequenz aus *T. vulgaris* ist purpurn hervorgehoben.

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Genetic Distance Model: Tamura-Nei; Tree Build Method: Neighbor-Joining; Outgroup: TaAGO4 CDS; Resampling Method: Bootstrap mit 1000 Wiederholungen; Random Seed: 600,000; Support Threshold: 50 %.

3.1.3. AGO4-NUCLEOTIDSEQUENZEN IM VERGLEICH

Um eine Aussage über die Evolution der *AGO4*-Gene in verschiedenen Pflanzen zu treffen, wurden die codierenden Nukleotidsequenzen von *AGO4* aus den gewählten Pflanzen miteinander verglichen und hinsichtlich ihrer Sequenzidentität untersucht. Dabei wurde auch ein besonderes Augenmerk auf Ähnlichkeiten und Unterschiede in den einzelnen konservierten Domänen gelegt. Für den Abgleich wurden von eventuell vorhandenen Transkriptionsvarianten nur die erste Variante gewählt, da es sich um synonyme Sequenzen handelt, d.h. sie resultieren in derselben Aminosäuresequenz.

Tabelle 3-3 | Distanzmatrix verschiedener *AGO4*-Nukleotidsequenzen.

Die Tabelle zeigt die relative Nukleinsäureidentität von AGO4-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	NbAGO4	EgAGO4	SiAGO4	SmAGO4	TvAGO4
AtAGO4						
NbAGO4	68,65 %					
EgAGO4	67,06 %	72,13 %				
SiAGO4	68,61 %	76,46 %	80,19 %			
SmAGO4	68,11 %	75,20 %	78,27 %	85,03 %		
TvAGO4	72,11 %	73,81 %	77,03 %	82,00 %	87,28 %	

Am höchsten ist die Identität zwischen *S. miltiorrhiza* und *T. vulgaris* bzw. *S. indicum* mit Werten von 87,28 % bzw. 82,00 %. Auch die Ähnlichkeit zwischen den genannten und *E. guttata* ist auffallend hoch (>77 %).

3.1.4. AGO4-AMINOSÄURESEQUENZEN IM VERGLEICH

Es wurde desweitern untersucht, ob die aus den *AGO4*-Nukleotidsequenzen resultierenden Aminosäuresequenzen zueinander synonym sind oder sich voneinander unterscheiden. Auch sie wurden einem allgemeinen Sequenzvergleich, sowie einer Stammbaumanalyse unterzogen.

Sofern die Aminosäuresequenz verschiedener Transkriptionsvarianten identisch war, wurde nur eine der Varianten in die Analyse miteinbezogen.

Tabelle 3-4 | Distanzmatrix verschiedener AGO4-Aminosäuresequenzen.

Die Tabelle zeigt die relative Aminosäureidentität von AGO4-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	**NbAGO4**	**EgAGO4**	**TvAGO4**	**SiAGO4**	**SmAGO4**
AtAGO4						
NbAGO4	72,26 %					
EgAGO4	70,38 %	79,10 %				
TvAGO4	70,38 %	79,52 %	83,71 %			
SiAGO4	72,57 %	82,86 %	88,18 %	89,13 %		
SmAGO4	72,11 %	82,38 %	86,79 %	92,19 %	92,65 %	

Im Vergleich mit dem Ergebnis der Nukleotidsequenzen, sind die Identitäten der Aminosäuresequenzen nochmal erhöht. Am höchsten ist die Identität zwischen *S. miltiorrhiza* und *T. vulgaris* bzw. *S. indicum* mit Werten von 92,19 % bzw. 92,65 %. Auch die Ähnlichkeit zwischen den genannten und *E. guttata* ist auffallend hoch (>83 %). Bemerkenswert ist auch, dass die Übereinstimmung aller genannten mit *N. benthamiana* über 79 % liegt.

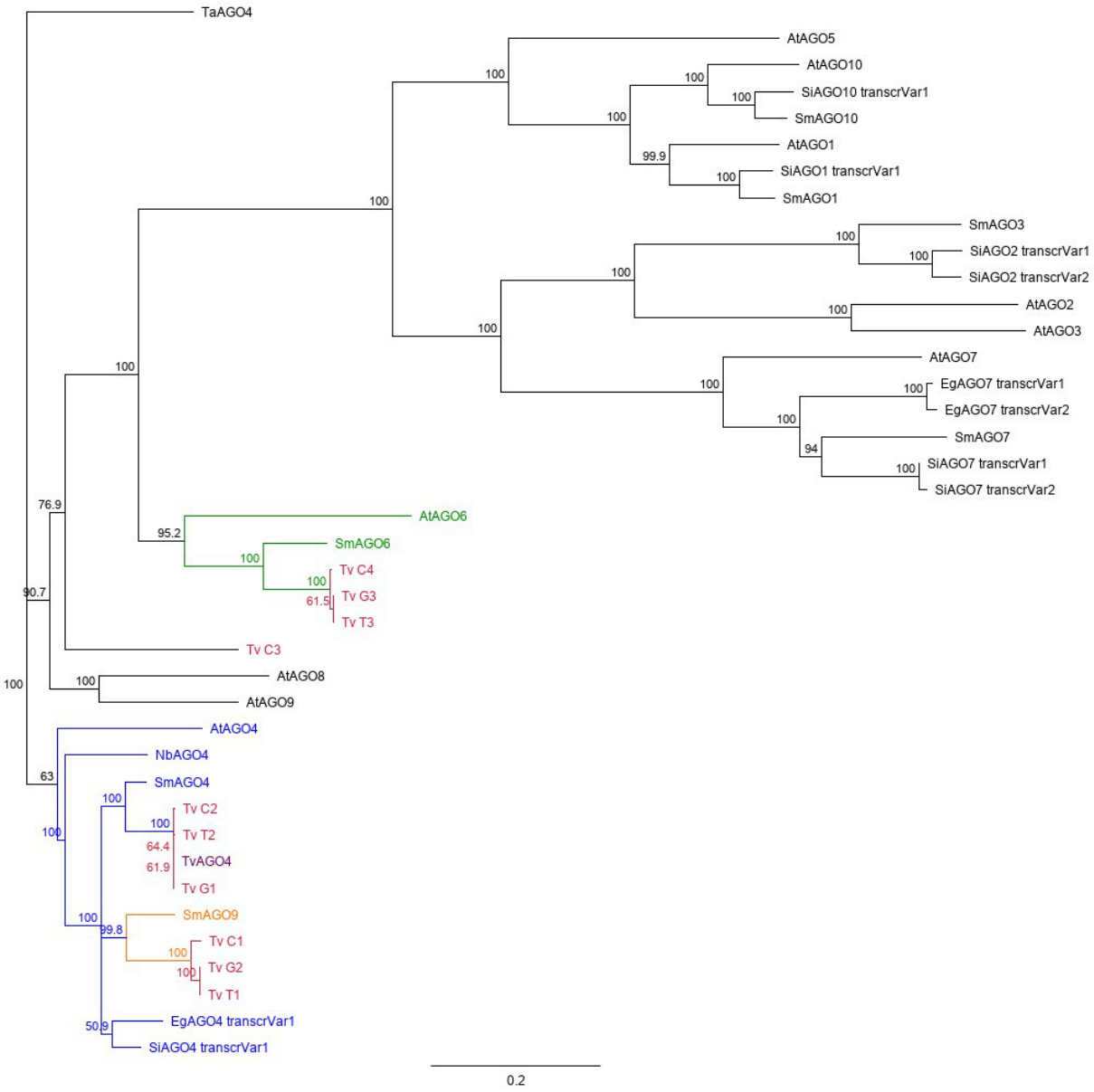


Abbildung 3-9 | Dendrogramm der AGO4-Proteinsequenzen von *Arabidopsis thaliana*, *Erythranthe guttata, Nicotiana benthamiana*, *Salvia miltiorrhiza*, *Sesamum indicum, Triticum aestivum* und *Thymus vulgaris*.

Das Dendrogramm zeigt die Verwandtschaft pflanzlicher AGO-Proteine auf Basis der Aminosäureidentität. Die Proteine stammen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm), *Triticum aestivum* (Ta) *und Thymus vulgaris* (Tv).

Die Zahlen hinter dem Kürzel „AGO“ zeigen an, welches Argonauten-Protein von dieser Sequenz codiert wird. Die Zahlen an den Zweigen des Stammbaums repräsentieren als Prozentzahlen die Plausibilität der Verwandtschaftsbeziehungen der Sequenzen untereinander bzw. von einem nicht identifizierten gemeinsamen Vorfahren, welche sich aus den 1000 Wiederholungen der Berechnung ergibt. Die Hervorhebung der AGO4-Zweige ist blau, von AGO6 grün und von AGO9 orange. Die vorhergesagten Sequenzen aus Thymian sind rot. Die durch die Overlap-PCR erhaltene vollständige AGO4-Sequenz aus *T. vulgaris* ist purpurn hervorgehoben.

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Genetic Distance Model: Jukes-Cantor; Tree Build Method: Neighbor-Joining; Outgroup: TaAGO4 CDS; Resampling Method: Bootstrap mit 1000 Wiederholungen; Random Seed: 600,000; Support Threshold: 50 %.

Im Vergleich mit dem Dendrogramm der Nukleotidsequenzen (Abbildung 3-8, zugehörige Distanzmatrix im Anhang 6.4.) zeigt sich als größter Unterschied, dass das Protein

Tv C3 im Gegensatz zu seiner mRNA-Sequenz hier nicht als eine Art Vorform aller anderen Proteine errechnet wurde, sondern die Klade sich weiter nach hinten verschoben hat und somit u.a. für den AGO6-Zweig Vorläufer ist.

Insgesamt bleibt die Darstellung des Vergleichs der Aminosäuresequenzen (Abbildung 3-9) im Wesentlichen gleich zu der der Nukleotidsequenzen. Lediglich EgAGO4 transcrVar1 und SiAGO4 transcrVar1 erscheinen nicht mehr als separate, sondern als nah verbundene Verzweigungen. Zudem hat sich die Abstammungsreihenfolge der Proteine TvAGO4, TvC2, TvG1 und Tv T2 gegenüber ihrer Nukleotidsequenzen verschoben, wenn auch im Vergleich mit etwas verringerter Plausibilität.

3.1.5. AUFKLÄRUNG DER INTRON-EXON-STRUKTUR VON *TvAGO4* IN GENOMISCHER DNA (GDNA)

Um die Analyse der gefundenen codierenden Sequenz (CDS) von *TvAGO4* weiter zu vertiefen, wurde mittels der Primer, die bereits für die Isolation der CDS genutzt worden waren, versucht, die vollständige Sequenz des Gens von gDNA zu erhalten, beginnend mit dem Start- und endend mit dem Stop-Codon. Erwartet wurde, dass die Länge des Gens etwa der von *AtAGO4* entspricht (4709 bp), wobei aufgrund von Splicing-Mechanismen dieser Wert nur als Orientierung gesehen werden konnte. Darüber hinaus wurde angenommen, dass die genomische DNA-Sequenz eine ähnliche Intron-Exon-Struktur wie das Vergleichsgen aufweisen würde. Nach einer erfolgreichen PCR wurde das erhaltene Fragment in einen pJET-Vektor kloniert und dieser schrittweise sequenziert, wobei sich herausstellte, dass die gDNA-Sequenz von *TvAGO4* 5360 bp umfasst. Diese wurde mit der *TvAGO4*-CDS verglichen.

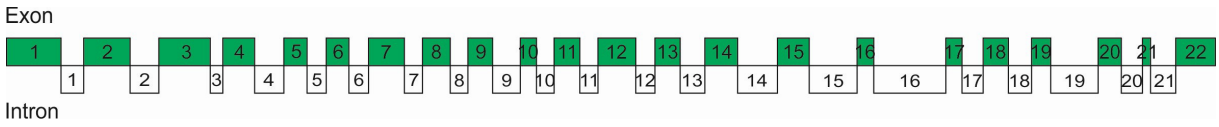


Abbildung 3-10| Schematische Darstellung der Intron-Exon-Struktur von *TvAGO4*.

Der Abgleich der gDNA- und cDNA-Sequenz von *TvAGO4* resultierte in der hier schematisch dargestellten Intron-Exon-Struktur auf der gDNA. Der vollständige Sequenzabgleich befindet sich im Anhang 6.7.

Anhand dessen wurden die Exons auf der genomischen Sequenz identifiziert (siehe Abbildung 3-10), da eine Gegenüberstellung der gDNA-Sequenz von *AtAGO4* (und der in TAIR vermerkten Exons) sowie der *AtAGO4* CDS die Validität dieser Herangehensweise nahelegte.

Die genomischen Sequenzen von *AtAGO4* und *TvAGO4* wurden wiederum einem Vergleich unterzogen, um zu beurteilen, ob die Intron-Exon-Struktur sich gleicht und zudem wie ähnlich diese Sequenzen zueinander sind (Sequenz- und Strukturvergleich im Anhang 6.7).

Grundsätzlich ist zu sagen, dass die Sequenzidentität zwischen den beiden genomischen DNA-Sequenzen lediglich 52,36 % beträgt. Sie liegt damit deutlich unter dem Wert der codierenden DNA-Sequenzen (67,97 %). Allerdings erscheint die Intron-Exon-Struktur beider Sequenzen sehr ähnlich. Die Zahl der Exons und Introns zwischen Start- und Stop-Codon ist identisch, lediglich ihre Größe schwankt leicht.

Tabelle 3-5 | Vergleich der Exon-Größen der gDNA-Sequenzen von *AtAGO4* und *TvAGO4*.

At: *Arabidopsis thaliana*; Tv: *Thymus vulgaris*.

Exon	Größe in *AtAGO4* [bp]	Größe in *TvAGO4* [bp]	Differenz [bp]
1	273	234	39
2	206	204	2
3	225	227	2
4	137	136	1
5	98	96	2
6	98	101	3
7	169	161	7
8	117	119	2
9	108	106	2
10	63	63	0
11	114	116	2
12	166	165	1
13	116	112	4
14	138	139	1
15	128	130	2
16	66	64	2
17	64	66	2
18	112	111	1
19	74	77	3

Exon	Größe in *AtAGO4* [bp]	Größe in *TvAGO4* [bp]	Differenz [bp]
20	95	95	0
21	32	31	1
22	176	177	1

Aus der Abbildung geht auch hervor, dass die Sequenzen der Exons sich eher ähneln, während die der Introns deutlich variieren und auch hinsichtlich ihrer Größe stärker unterscheiden. Die Exons von *AtAGO4* und *TvAGO4* variieren im Schnitt um 3,68 bp und bis auf Exon 1 ist der Unterschied der Exongrößen immer im einstelligen Bereich. Der größte Unterschied umfasst 39 bp (Exon 1) der geringste 0 bp (Exon 10 und 20).

Tabelle 3-6 | Vergleich der Intron-Größen der gDNA-Sequenzen von *AtAGO4* und *TvAGO4*.

At: *Arabidopsis thaliana*; Tv: *Thymus vulgaris*.

Intron	Größe in *AtAGO4* [bp]	Größe in *TvAGO4* [bp]	Differenz [bp]
1	159	100	59
2	78	128	50
3	76	62	14
4	96	136	40
5	99	87	11
6	121	88	33
7	96	81	15
8	81	79	2
9	89	134	45
10	68	80	12
11	97	82	15
12	90	84	6
13	77	110	23
14	94	191	97
15	94	221	127
16	84	330	246
17	81	98	17
18	79	107	28

Intron	Größe in *AtAGO4* [bp]	Größe in *TvAGO4* [bp]	Differenz [bp]
19	85	220	135
20	100	98	2
21	90	114	24

Die Introns weisen drastischere Abweichungen in ihrer Länge auf als die Exons. Sie variieren im Schnitt um 48,19 bp; der größte Unterschied umfasst 246 bp (Intron 16) der geringste 2 bp (Intron 8 und 20). Die meisten Introns haben einen Längenunterschied im niedrigen bis mittleren zweistelligen Bereich. Ausnahmen sind die Introns 8 und 20, welche nur einen niedrigen einstelligen Unterschied in der Länge aufweisen, und die Introns 15, 16 und 19, deren dreist Längenunterschied dreistellig ist.

3.2. UNTERSUCHUNG DER KONSERVIERTEN DOMÄNEN VON AGO4

Da nun die kodierende Sequenz von *TvAGO4* vorlag, stellte den nächsten Schritt der Untersuchung die Analyse der Nukleotidsequenz, sowie der korrespondierenden Aminosäuresequenz, auf konservierte Domänen dar. Um eine Vorstellung davon zu bekommen, wie groß die Übereinstimmungen und Unterschiede dieser Bereiche innerhalb der Dikotyledonen sind, wurden alle verwendeten *AGO4*-Sequenzen mittels des NCBI-Tools „CD Search“ (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi) auf konservierte Domänen und Sequenzmotive hin untersucht. Über die Software Geneious Prime wurden die betreffenden Bereiche markiert und jeweils miteinander verglichen.

In allen anderen folgenden Darstellungen wurden Nukleotid- und Aminosäuresequenz der AGOs parallel zueinander dargestellt und nur die Unterschiede in diesen Sequenzen farblich hervorgehoben, um den unmittelbaren Zusammenhang zwischen kodierenden Basentripletts und resultierenden Aminosäuren besonders hervorzuheben. Ebenso wurden die Distanzmatrizen für alle verglichenen Domänen jeweils für Nukleotid- und Aminosäuresequenz abgeleitet.

Für die bildlichen Darstellungen der Sequenzvergleiche (Abb. 3-11 bis 3-15) ist zunächst allgemein zu bemerken, dass die wenigen farblichen Hervorhebungen den Eindruck

erwecken, dass die Abweichungen der konservierten Domänen eher geringen Ausmaßes sind. Eine Ausnahme ist hier lediglich die AGO-Mid-Domäne (Abb. 3-13).

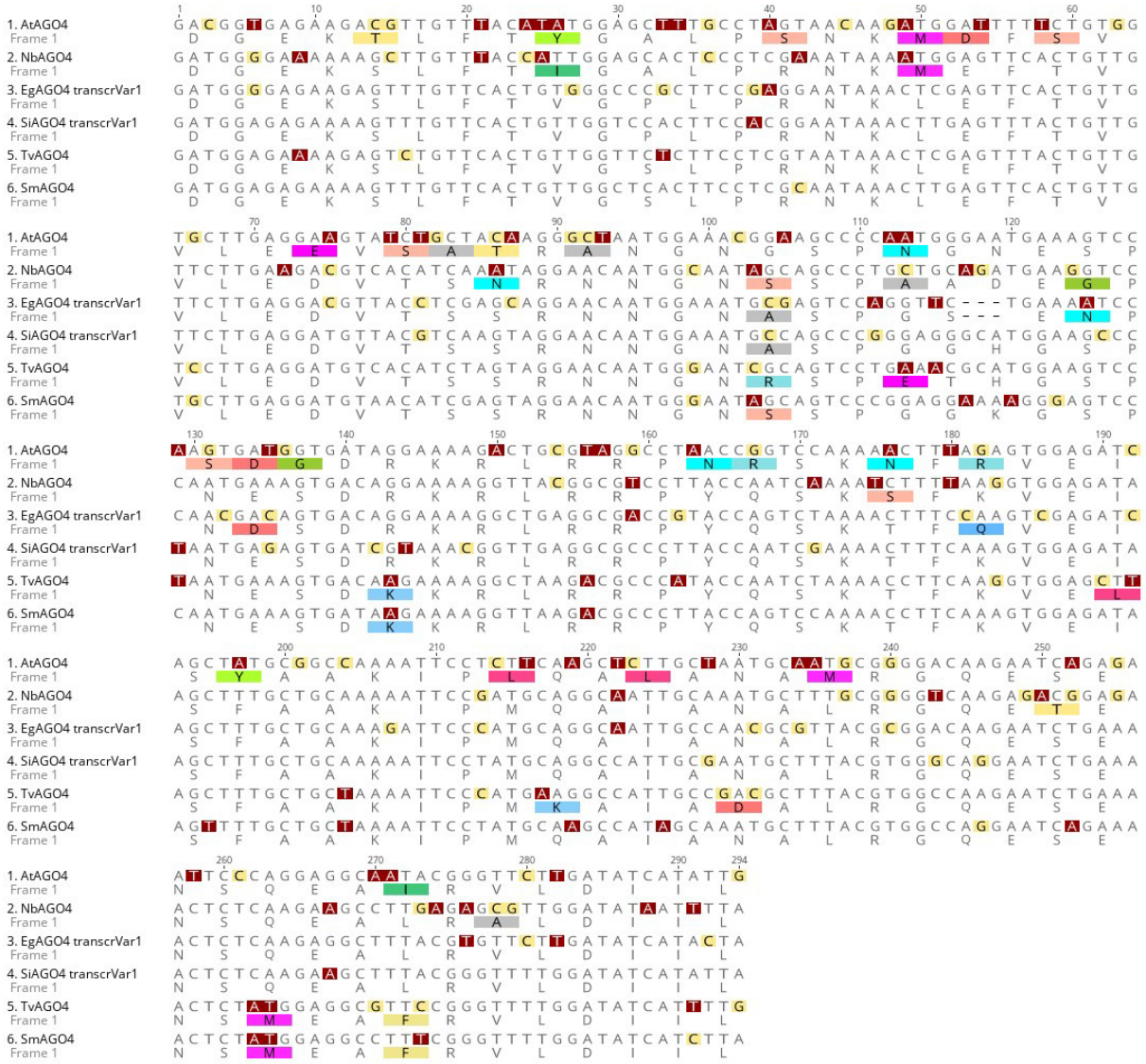


Abbildung 3-11 | Vergleich der ArgoN-Domäne in AGO4.

Die Nukleinsäuresequenzen und abgeleitete Aminosäuresequenzen der ArgoN-Domäne von AGO4 Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) *und Thymus vulgaris* (Tv) wurden miteinander verglichen. Mittels der Software Geneious Prime (Version 2019.2.3) wurden Unterschiede in den Sequenzen farblich hervorgehoben.

Tabelle 3-7 | Distanzmatrix der *AGO4* ArgoN-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

Die Tabelle zeigt die relative Nukleinsäureidentität der ArgoN-Domäne von AGO4-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	**NbAGO4**	**EgAGO4**	**SiAGO4**	**TvAGO4**	**SmAGO4**
AtAGO4						
NbAGO4	67,01					
EgAGO4	67,35	74,83				
SiAGO4	68,03	78,57	81,63			
TvAGO4	66,67	76,53	78,23	82,31		
SmAGO4	68,71	77,89	77,21	85,03	85,37	

Tabelle 3-8 | Distanzmatrix der AGO4 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

Die Tabelle zeigt die relative Aminosäureidentität der ArgoN-Domäne von AGO4-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	**NbAGO4**	**TvAGO4**	**SmAGO4**	**EgAGO4**	**SiAGO4**
AtAGO4						
NbAGO4	70,41					
TvAGO4	65,31	80,61				
SmAGO4	69,39	84,69	92,86			
EgAGO4	72,45	85,71	84,69	88,78		
SiAGO4	71,43	86,73	89,80	93,88	93,88	

Für die ArgoN-Domäne ergaben sich Sequenzidentitäten von bis zu 85 % auf der Nukleotidebene (siehe Tabelle 3-7) und von bis zu 94 % auf der Aminosäureebene (siehe Tabelle 3-8). Bezogen auf die Nukleotidsequenz bestanden die höchsten Ähnlichkeiten zwischen *SiAGO4* und *EgAGO4* (81,63%), TvAGO4 (82,31 %) und *SmAGO4* (85,03 %), sowie zwischen *TvAGO4* und *SmAGO4* (85,37 %). Diese Ähnlichkeiten waren auf der Aminosäureebene nochmal erhöht, und lagen zwischen 89,90 % (SiAGO4 vs. TvAGO4) und 93,88 % (SiAGO vs. EgAGO4 / SmAGO4).


1. AtAGO4
Frame 1
2. NbAGO4
Frame 1
3. EgAGO4 transcrVar1
Frame 1
4. SiAGO4 transcrVar1
Frame 1
5. SmAGO4
Frame 1
6. TvAGO4 CDS
Frame 1
PAZ
PAZ argonaute-like



Abbildung 3-12 | Vergleich der PAZ-Domäne in AGO4.

Die Nukleinsäuresequenzen und abgeleitete Aminosäuresequenzen der PAZ-Domäne von AGO4 Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) *und Thymus vulgaris* (Tv) wurden miteinander verglichen. Mittels der Software: Geneious Prime (Version 2019.2.3) wurden Unterschiede in den Sequenzen farblich hervorgehoben.

Tabelle 3-9 | Distanzmatrix der *AGO4*-PAZ-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

Die Tabelle zeigt die relative Nukleinsäureidentität der PAZ-Domäne von AGO4-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	NbAGO4	EgAGO4	SiAGO4	SmAGO4	TvAGO4
AtAGO4						
NbAGO4	68,67					
EgAGO4	68,42	71,64				
SiAGO4	69,17	74,38	80,60			
SmAGO4	65,66	75,76	76,62	83,33		
TvAGO4	66,42	75,32	75,44	81,45	89,06	

Tabelle 3-10 | Distanzmatrix der AGO4-PAZ-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

At: *Arabidopsis thaliana*, Eg: *Erythranthe guttata*, Nb: *Nicotiana benthamiana*, Si: *Sesamum indicum*, Sm: *Salvia miltiorrhiza*, Tv: *Thymus vulgaris*

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	**NbAGO4**	**TvAGO4**	**SmAGO4**	**EgAGO4**	**SiAGO4**
AtAGO4						
NbAGO4	73,68					
EgAGO4	72,18	76,87				
TvAGO4	69,92	79,39	85,71			
SiAGO4	73,68	82,09	88,81	87,22		
SmAGO4	72,18	81,82	87,31	89,31	90,30	

Für die PAZ-Domäne errechneten sich Sequenzidentitäten von bis zu 89 % auf der Nukleotidebene (siehe Tabelle 3-9) und von bis zu 90 % auf der Aminosäureebene (siehe Tabelle 3-10). Bezogen auf die Nukleotidsequenz ergaben sich die höchsten Ähnlichkeiten zwischen *SiAGO4* und *EgAGO4* (80,60 %), *TvAGO4* (81,45 %) und *SmAGO4* (83,33 %), sowie zwischen *TvAGO4* und *SmAGO4* (89,06 %). Diese Ähnlichkeiten waren auf der Aminosäureebene nochmal erhöht, und lagen zwischen 87,22 % (SiAGO4 vs. SmAGO4) und 90,30 % (SmAGO vs. EgAGO4).

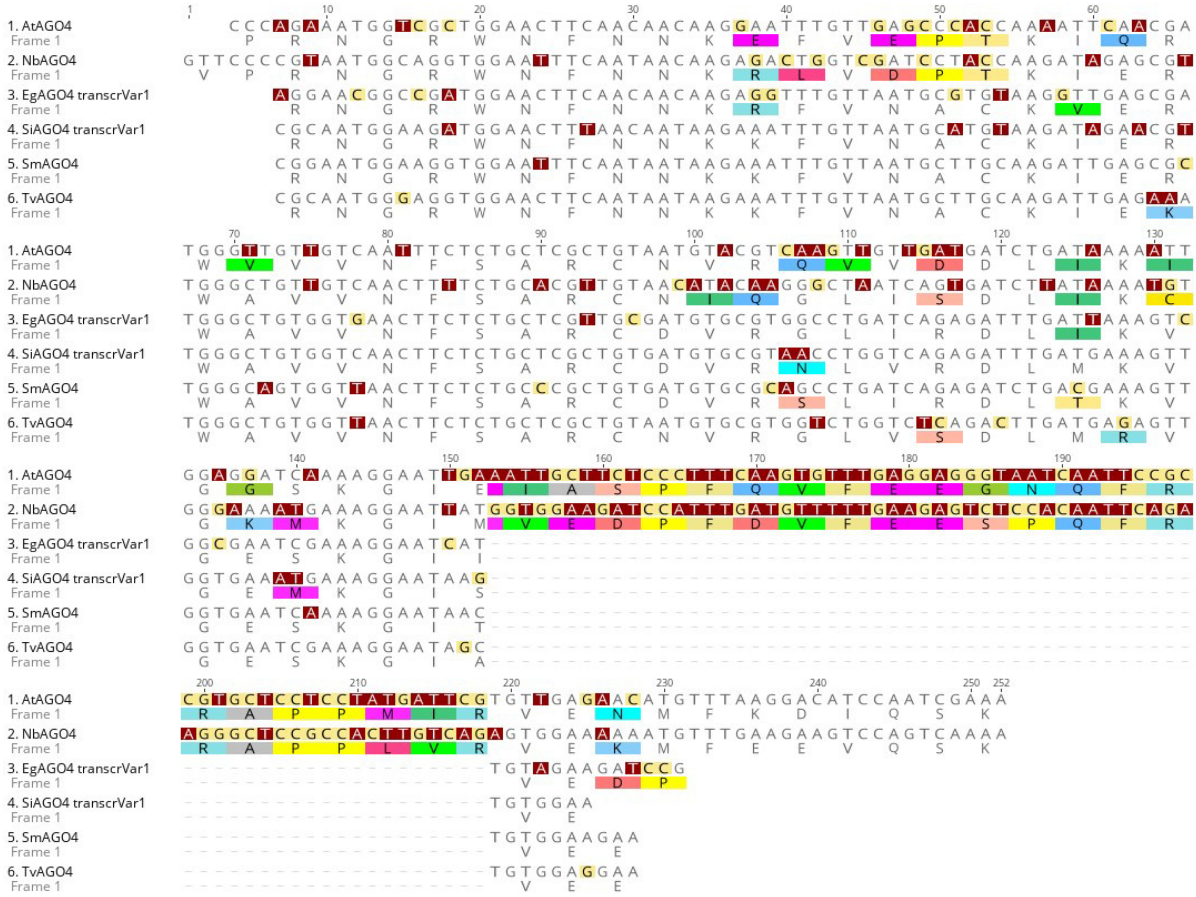


Abbildung 3-13 | Vergleich der AgoMid-Domäne in AGO4.

Die Nukleotidsequenzen und abgeleitete Aminosäuresequenzen der ArgoMid-Domäne von AGO4 Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) *und Thymus vulgaris* (Tv) wurden miteinander verglichen. Mittels der Software Geneious Prime (Version 2019.2.3) wurden Unterschiede in den Sequenzen farblich hervorgehoben.

Tabelle 3-11 | Distanzmatrix der *AGO4*-AgoMid-Domäne bezogen auf die Nukleotidsequenz.

Die Tabelle zeigt die relative Nukleinsäureidentität der AgoMid-Domäne von AGO4-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	NbAGO4	EgAGO4	SiAGO4	SmAGO4	TvAGO4
AtAGO4						
NbAGO4	65,46					
EgAGO4	47,56	48,00				
SiAGO4	49,32	49,77	81,70			
SmAGO4	47,75	50,90	80,13	85,62		
TvAGO4	49,55	48,20	78,21	83,66	85,90	

Tabelle 3-12 | Distanzmatrix der AGO4-AgoMid-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

Die Tabelle zeigt die relative Aminosäureidentität der AgoMid-Domäne von AGO4-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	**NbAGO4**	**TvAGO4**	**EgAGO4**	**SiAGO4**	**SmAGO4**
AtAGO4						
NbAGO4	67,47					
TvAGO4	65,38	69,23				
EgAGO4	66,04	75,47	80,77			
SiAGO4	66,67	70,59	86,27	86,27		
SmAGO4	65,38	69,23	84,62	88,46	90,20	

Die AgoMid-Domäne wurde von CD Search für alle Sequenzen als lediglich partiell vorhanden markiert. Es ergaben sich Sequenzidentitäten von bis zu 86 % auf der Nukleotidebene (siehe Tabelle 3-11) und von bis zu 90 % auf der Aminosäureebene (siehe Tabelle 3-12). Bezogen auf die Nukleotidsequenz bestanden die höchsten Ähnlichkeiten zwischen *SiAGO4* und *EgAGO4* (81,70 %), *TvAGO4* (83,66 %) und *SmAGO4* (85,62 %), sowie zwischen *TvAGO4* und *SmAGO4* (85,90 %). Diese Ähnlichkeiten waren auf der Aminosäureebene nochmal erhöht, und lagen zwischen 84,62 % (SmAGO4 vs. TvAGO4) und 90,20 % (SiAGO vs. SmAGO4).

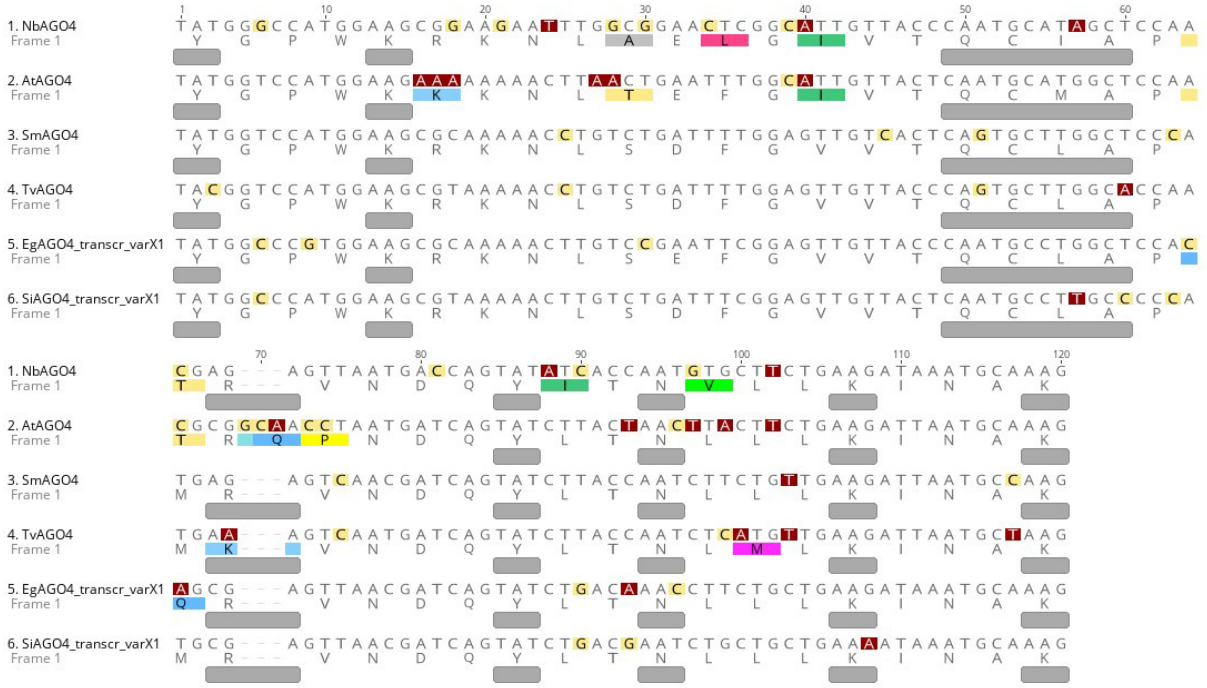


Abbildung 3-14 | Vergleich der 5' RNA guide strand anchoring site der Piwi-Domäne in AGO4.

Die Nukleotidsequenzen und abgeleitete Aminosäuresequenzen der 5' RNA guide strand anchoring site der Piwi-Domäne von AGO4 Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) *und Thymus vulgaris* (Tv) wurden miteinander verglichen. Mittels der Software: Geneious Prime (Version 2019.2.3) wurden Unterschiede in den Sequenzen farblich hervorgehoben.

Tabelle 3-13 | Distanzmatrix der 5' RNA guide strand anchoring site in der *AGO4* Piwi-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

Die Tabelle zeigt die relative Nukleinsäureidentität der 5' RNA guide strand anchoring site der Piwi-Domäne von *AGO4*-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

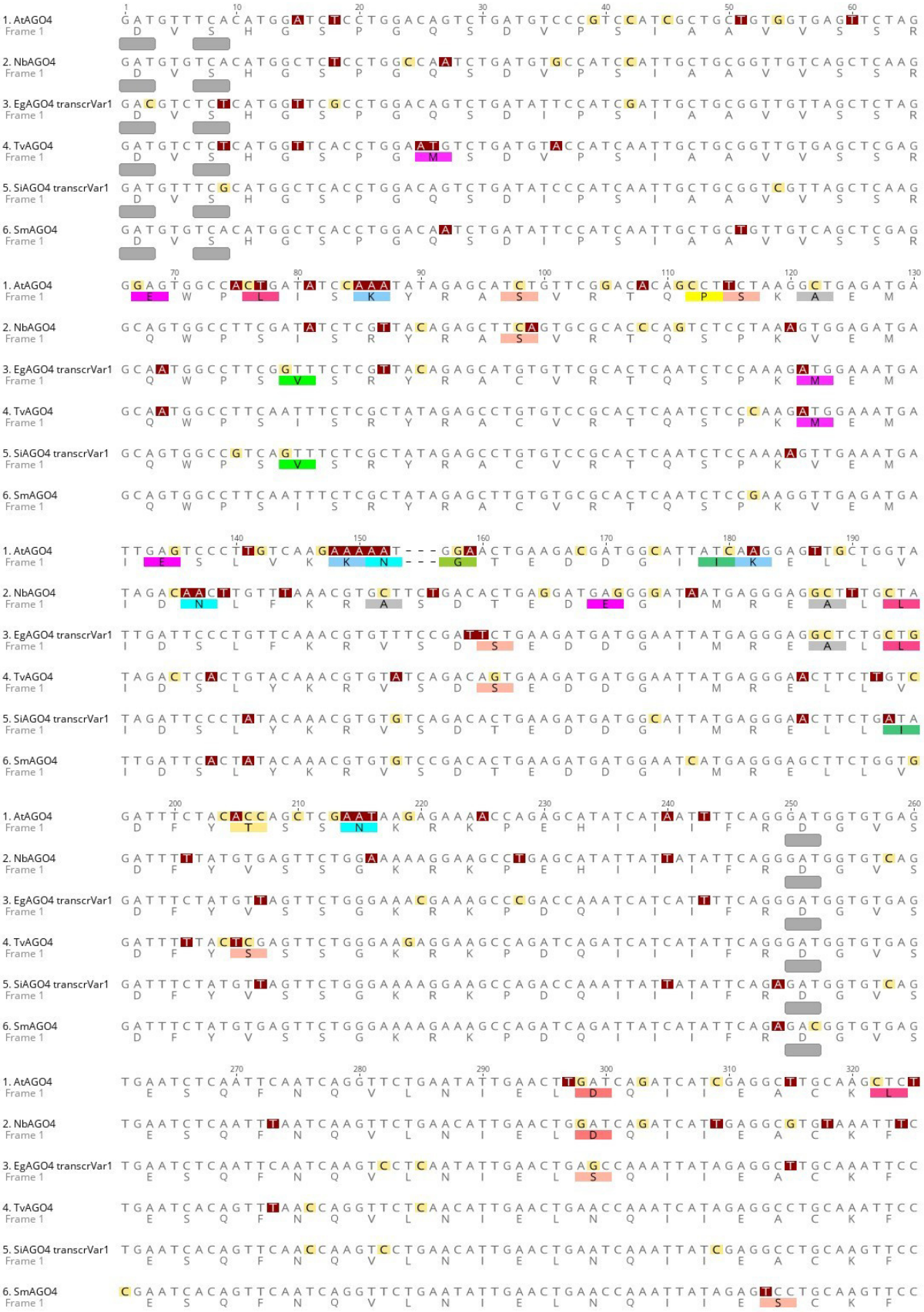
Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	NbAGO4	SmAGO4	TvAGO4	EgAGO4	SiAGO4
AtAGO4						
NbAGO4	77,50					
SmAGO4	74,36	75,83				
TvAGO4	74,36	74,17	90,60			
EgAGO4	79,49	77,50	82,05	78,63		
SiAGO4	78,63	75,83	84,62	81,20	88,03	

Tabelle 3-14 | Distanzmatrix der 5‘ RNA guide strand anchoring site in der AGO4 Piwi-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.
Die Tabelle zeigt die relative Aminosäureidentität der 5‘ RNA guide strand anchoring site der Piwi-Domäne von AGO4-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).
Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	NbAGO4	**AtAGO4**	**TvAGO4**	**EgAGO4**	**SiAGO4**	**SmAGO4**
NbAGO4						
AtAGO4	80,00					
TvAGO4	74,36	75,00				
EgAGO4	82,05	82,50	89,74			
SiAGO4	79,49	80,00	94,87	94,87		
SmAGO4	79,49	80,00	94,87	94,87	100,00	

Für die 5’ RNA guide strand anchoring site errechneten sich Sequenzidentitäten von bis zu 91 % auf der Nukleotidebene (siehe Tabelle 3-13) und von bis zu 100 % auf der Aminosäureebene (siehe Tabelle 3-14). Bezogen auf die Nukleotidsequenz ergaben sich die höchsten Ähnlichkeiten zwischen *SmAGO4* und *EgAGO4* (82,05 %) bzw. *SiAGO4* (84,62 %), desweiteren zwischen *EgAGO4* und *SiAGO4* (88,03 %), sowie zwischen *SmAGO4* und *TvAGO4* (90,60%). Diese Ähnlichkeiten waren auf der Aminosäureebene nochmal erhöht, und lagen zwischen 94,87,22 % (SiAGO4 vs. TvAGO4 / EgAGO4, SmAGO4 vs. TvAGO4 / EgAGO4) und 100 % (SmAGO vs. SiAGO4).


1. AtAGO4
2. NbAGO4
3. EgAGO4 transcrVar1
4. TvAGO4
5. SiAGO4 transcrVar1
6. SmAGO4
Frame 1

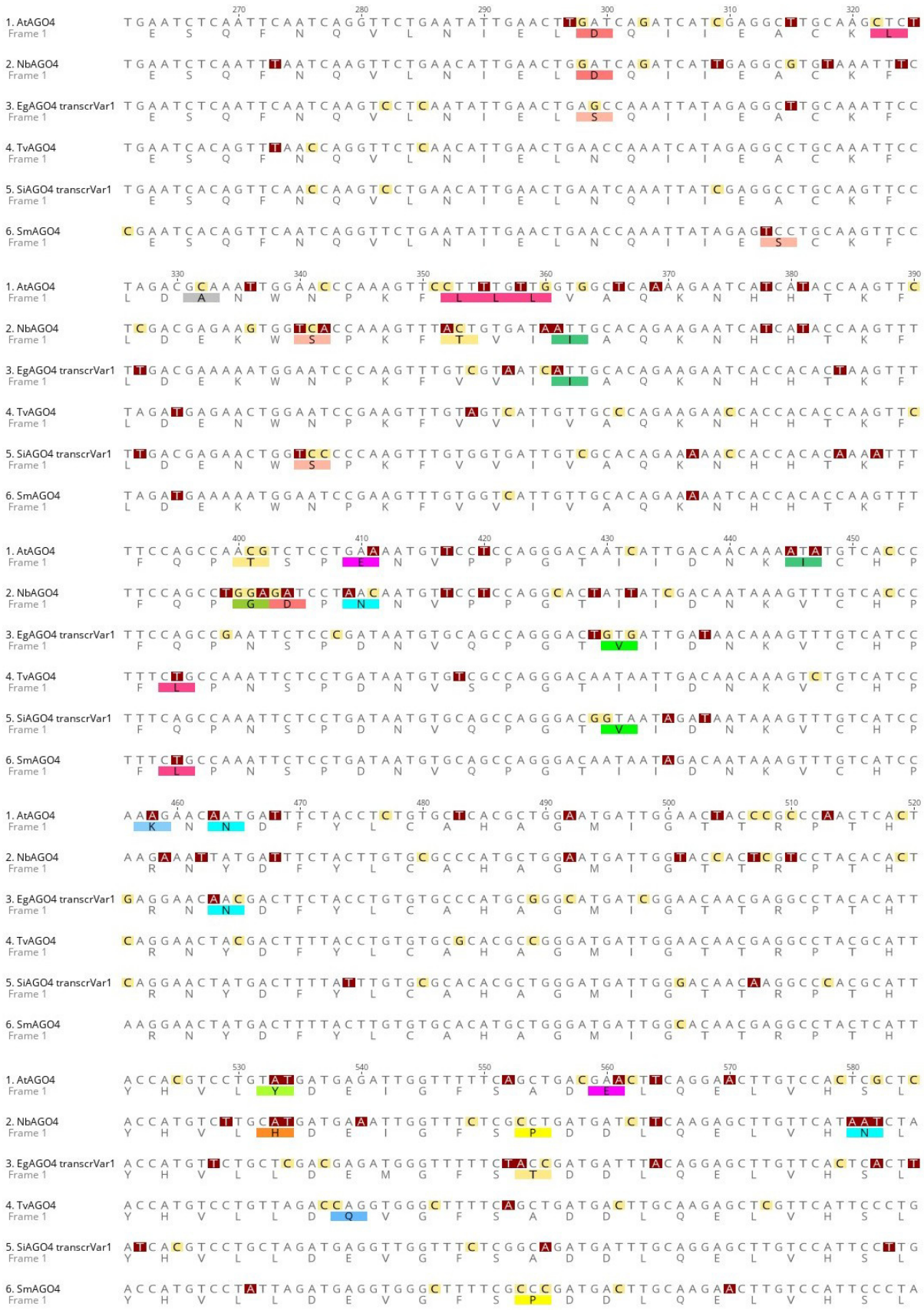

1. AtAGO4
2. NbAGO4
3. EgAGO4 transcrVar1
4. TvAGO4
5. SiAGO4 transcrVar1
6. SmAGO4
Frame 1



Abbildung 3-15 | Vergleich der Active site der Piwi-Domäne in AGO4.

Die Nukleotidsequenzen und abgeleitete Aminosäuresequenzen der Active site der Piwi-Domäne von AGO4 Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) *und Thymus vulgaris* (Tv) wurden miteinander verglichen. Mittels der Software: Geneious Prime (Version 2019.2.3) wurden Unterschiede in den Sequenzen farblich hervorgehoben.

Tabelle 3-15 | Distanzmatrix der Active site in der *AGO4* Piwi-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

Die Tabelle zeigt die relative Nukleinsäureidentität der Active site der Piwi-Domäne von *AGO4*-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	NbAGO4	EgAGO4	TvAGO4	SiAGO4	SmAGO4
AtAGO4						
NbAGO4	74,07					
EgAGO4	72,99	77,01				
TvAGO4	72,99	75,00	82,72			
SiAGO4	72,22	77,47	82,25	83,95		
SmAGO4	73,30	76,70	83,49	86,88	87,04	

Tabelle 3-16 | Distanzmatrix der Active site in der AGO4 Piwi-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

Die Tabelle zeigt die relative Aminosäureidentität der Active site der Piwi-Domäne von AGO4-verwandten Proteinen aus *Arabidopsis thaliana* (At), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Erythranthe guttata* (Eg), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm) und *Thymus vulgaris* (Tv).

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Softwarespezifische Default-Einstellung für MUSCLE-Alignment.

	AtAGO4	NbAGO4	TvAGO4	SmAGO4	EgAGO4	SiAGO4
AtAGO4						
NbAGO4	81,94					
EgAGO4	79,63	88,89				
TvAGO4	81,94	87,04	91,67			

	AtAGO4	NbAGO4	TvAGO4	SmAGO4	EgAGO4	SiAGO4
SiAGO4	81,48	88,89	93,98	94,44		
SmAGO4	81,48	89,35	93,06	95,37	96,30	

Für die Active site ergaben sich Sequenzidentitäten von bis zu 87 % auf der Nukleotidebene (siehe Tabelle 3-15) und von bis zu 90 % auf der Aminosäureebene (siehe Tabelle 3-16). Bezogen auf die Nukleotidsequenz bestanden die höchsten Ähnlichkeiten zwischen *SmAGO4* und *EgAGO4* (83,49 %), *TvAGO4* (86,88 %) und *SiAGO4* (87,04 %), sowie zwischen *TvAGO4* und *SiAGO4* (83,95 %). Diese Ähnlichkeiten waren auf der Aminosäureebene nochmal erhöht, und lagen zwischen 93,98 % (TvAGO4 vs. SiAGO4) und 96,30 % (SmAGO vs. EgAGO4).

Der Vergleich der gesamten Piwi-Domäne befindet sich im Anhang 6.5. Für die gesamte Domäne ergaben sich Sequenzidentitäten von bis zu 87 % auf der Nukleotidebene und von bis zu 96 % auf der Aminosäureebene. Bezogen auf die Nukleotidsequenz bestanden die höchsten Ähnlichkeiten zwischen *SiAGO4* und *EgAGO4* (83,17 %), *TvAGO4* (83,60 %) und *SmAGO4* (86,73 %), sowie zwischen *TvAGO4* und *SmAGO4* (87,38 %). Diese Ähnlichkeiten waren auf der Aminosäureebene nochmal erhöht, und lagen zwischen 93,98 % (SiAGO4 vs. EgAGO4 / TvAGO4) und 96,12 % (SiAGO vs. SmAGO4).

3.3. AKTIVITÄTSBESTIMMUNG DES TVAGO4-PROTEINS

Nachdem sichergestellt war, dass offenbar die vollständige cDNA-Sequenz von *TvAGO4* gefunden worden war, wurde das Fragment in einen pSPLF2-Vektor einkloniert. Dieses Konstrukt wurde an Torsten Gursinsky, von der AG Mikrobielle Biotechnologie des Instituts für Biochemie und Biotechnologie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, weitergereicht, welcher damit ein Aktivitätsassay durchführte.

Das Assay wurde mit einer *GFP*-target-mRNA und passenden siRNAs vollzogen. Als Vergleich wurde das Protein AtAGO4 herangezogen.

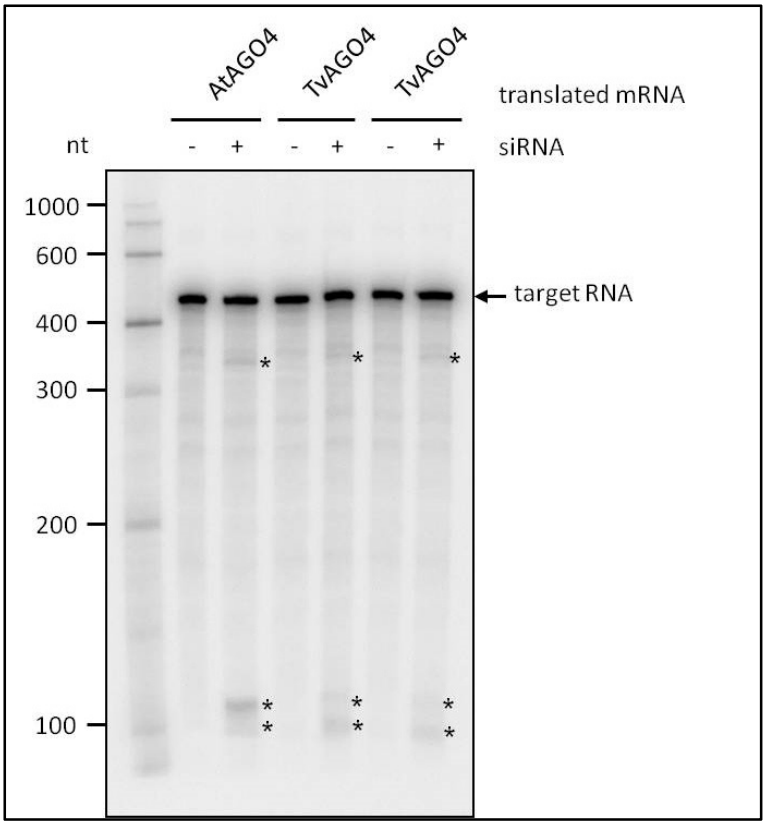


Abbildung 3-16 | Cleavage-Assay: Vergleich der Aktivität von TvAGO4 mit AtAGO4 auf GFP-traget-mRNA.

Die AGO4 Proteine wurden in BY2-Zellen exprimiert und mit flüssigem Murashige&Skoog Medium inkubiert, um eine spezifische Schneideaktivität nachzuweisen. nt: Nukleotide; -: Negativkontrolle ohne GFP-siRNA; +: Reaktion mit GFP-siRNA.

Pro Bahn wurde der vollständige Reaktionsansatz des jeweiligen Cleavage-Assays aufgetragen. Mit * sind Spaltungsprodukte in den Reaktionsansätzen mit GFP-siRNA (+) markiert, welche in den Ansätzen ohne diese siRNA (-) nicht zu sehen sind. Das Muster ist in den Ansätzen mit TvAGO4 ähnlich wie in jenem mit AtAGO4.

In Abbildung 3-16 ist zu sehen, dass die Ansätze mit GFP-siRNA und translatiertem AGO4 Spaltungsprodukte aufweisen, die in den Ansätzen ohne siRNA nicht zu sehen sind. Die Produkte im Ansatz mit TvAGO4 sind ähnlich wie die in jenem mit AtAGO4. Dies deutet eine Aktivität des TvAGO4-Proteins an, die der von AtAGO4 ähnelt.

Um zu überprüfen, ob dieses Ergebnis sich bei einem möglichen Target in Thymian reproduzieren lässt, wurde das gleiche Experiment auf einer künstlich aus dem Promotorbereich von Tvtps2 erzeugen mRNA mit einer passenden siRNA durchgeführt.

3.4. WEITERE ARGONAUTEN-SEQUENZEN IM VERGLEICH

Wie Kapitel 1.3.2 bereits beschrieben, ist die gesamte Familie der Argonautenproteine von Relevanz bei der Genregulation und ihre Mitglieder sind jeweils mit unterschiedlichen

Aufgabenbereichen assoziiert. Um dieses Feld weiter zur eröffnen, wurden die Transkriptome von *Thymus vulgaris* auch auf mögliche Kandidatensequenzen für weitere Argonautenproteine untersucht. Die Vorgehensweise erfolgte hier analog zu jener für AGO4, welche in Kapitel 3.1 ausführlich dargelegt wurde.

Auch hier wurden per BLAST Kandidatensequenzen aus der Transkriptomdatenbank isoliert und durch Sequenzvergleiche mit nachfolgender Stammbaumanalyse entsprechend eingeordnet. Zu diesem Zeitpunkt der Arbeit waren RNASeq-Daten von allen Chemotypen vorhanden. Für alle Kandidatensequenzen wurden Primer entworfen, um diese über PCR in cDNA nachweisen zu können. Dies gelang im Zuge der vorliegenden Arbeit jedoch nur für *AGO6*, *AGO9* und *AGO10*, für die sich aus dem Transkriptom mehrere Kandidatensequenzen erhaben. Für *AGO1*, *AGO3* und *AGO7* ergab sich jeweils nur eine Kandidatensequenz. Es ist nicht gelungen, diese über eine PCR zu bestätigen. Sie wurden unter Vorbehalt in die Analyse miteinbezogen. Nicht klar einer Klade der Argonauten zuzuordnende Sequenzen, wie Tv C3 mRNA, wurden von dieser Analyse ausgenommen, da nur tatsächlich nachgewiesene oder zumindest digital klar zuzuordnende Sequenzen für diese Arbeit von Relevanz sind.

3.4.1. VERGLEICH DER NUKLEOTIDSEQUENZEN

Die bestätigten und vorhergesagten Nukleotidsequenzen von *AGO1*, *AGO3*, *AGO6*, *AGO7*, *AGO9* und *AGO10*, wurden in dem Sequenzvergleich und der anschließenden Stammbaumanalyse von *AGO4* ergänzt, um ein vollständigeres Bild der Argonautenfamilie in *Thymus vulgaris* zu erhalten.

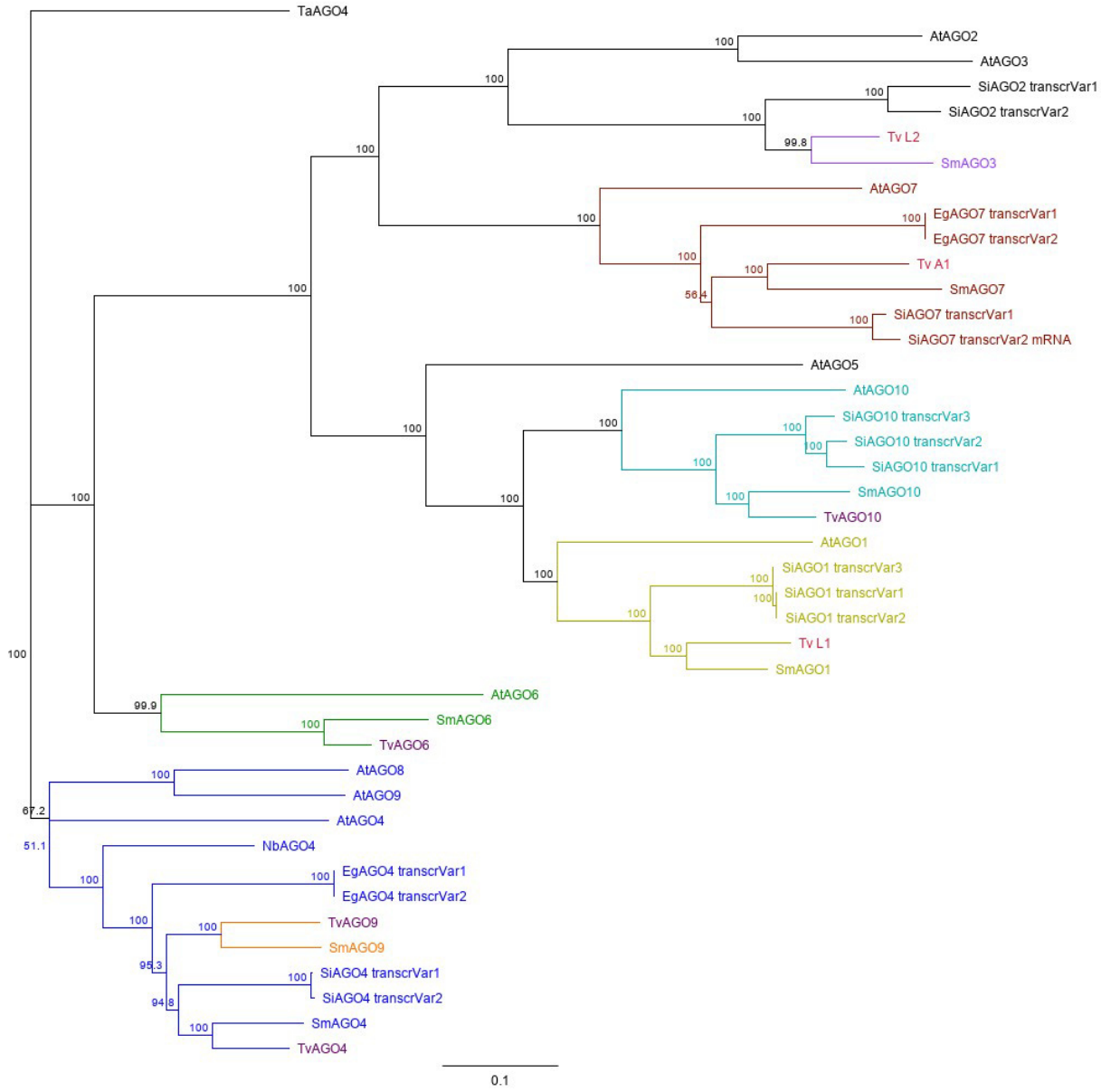


Abbildung 3-17 | Dendrogramm der Nukleotidsequenzen verschiedener Argonauten-Proteine.

Es wurden cDNA-Sequenzen von *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm), *Triticum aestivum* (Ta) *und Thymus vulgaris* (Tv) miteinander verglichen.

Die Zahlen hinter dem Kürzel „AGO" zeigen an, welches Argonauten-Protein von dieser Sequenz codiert wird. Die Zahlen an den Zweigen des Stammbaums repräsentieren als Prozentzahlen die Plausibilität der Verwandtschaftsbeziehungen der Sequenzen untereinander bzw. von einem nicht identifizierten gemeinsamen Vorfahren, welche sich aus den 1000 Wiederholungen der Berechnung ergibt. Die Hervorhebung der AGO-Zweige ergibt sich wie folgt: AGO1 gelb, AGO3 lila, AGO4 blau, AGO6 grün, AGO7 braun, AGO9 orange, AGO 10 türkis. Die per PCR bestätigten *AGO*-Sequenzen aus *T. vulgaris* sind purpurn hervorgehoben, die vorhergesagten rot.

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Genetic Distance Model: Tamura-Nei; Tree Build Method: Neighbor-Joining; Outgroup: TaAGO4 CDS; Resampling Method: Bootstrap mit 1000 Wiederholungen; Random Seed: 600,000; Support Threshold: 50 %.

Bemerkenswert ist bei der Einbeziehung weiterer nachgewiesener und vermuteter Mitglieder der AGO-Familie aus *T. vulgaris* (siehe Abb. 3-17), dass das resultierende Dendrogramm sich nur in einem Detail von jenem unterscheidet, welches zur Einordnung von *TvAGO4* erstellt worden ist (siehe Abb. 3-8). Die Plausibilität der Auftrennung der

AGO4/6/8/9-Klade an ihrem Beginn ist prozentual niedriger, darüber hinaus erfolgt keine Abgrenzung von *AtAGO8* und *AtAGO9* von *AtAGO4*, sondern sie werden unmittelbar linear zueinander angeordnet. Ansonsten sind die Wahrscheinlichkeiten der Verzweigungen im Vergleich nahezu identisch, bis auf eine im *AGO7*-Zweig. Mit der Eingruppierung von Tv A1 mRNA in die nahe Verwandtschaft der *SmAGO7* mRNA beträgt die Wahrscheinlichkeit für die Verzweigung zwischen *EgAGO7* mRNA und *SiAGO7* bzw. *SmAGO7* mRNA nicht mehr 100%, sondern nur noch 56,4%.

3.4.2. VERGLEICH DER AMINOSÄURESEQUENZEN

Analog des Vorgehens mit Nukleotidsequenzen von *AGO1*, *AGO3*, *AGO6*, *AGO7*, *AGO9* und *AGO10*, wurde auch ein Sequenzvergleich der Aminosäuresequenzen mit anschließender Stammbaumanalyse durchgeführt, um auch hier ein besseres Bild der Proteinfamilie in Thymian zu erhalten.

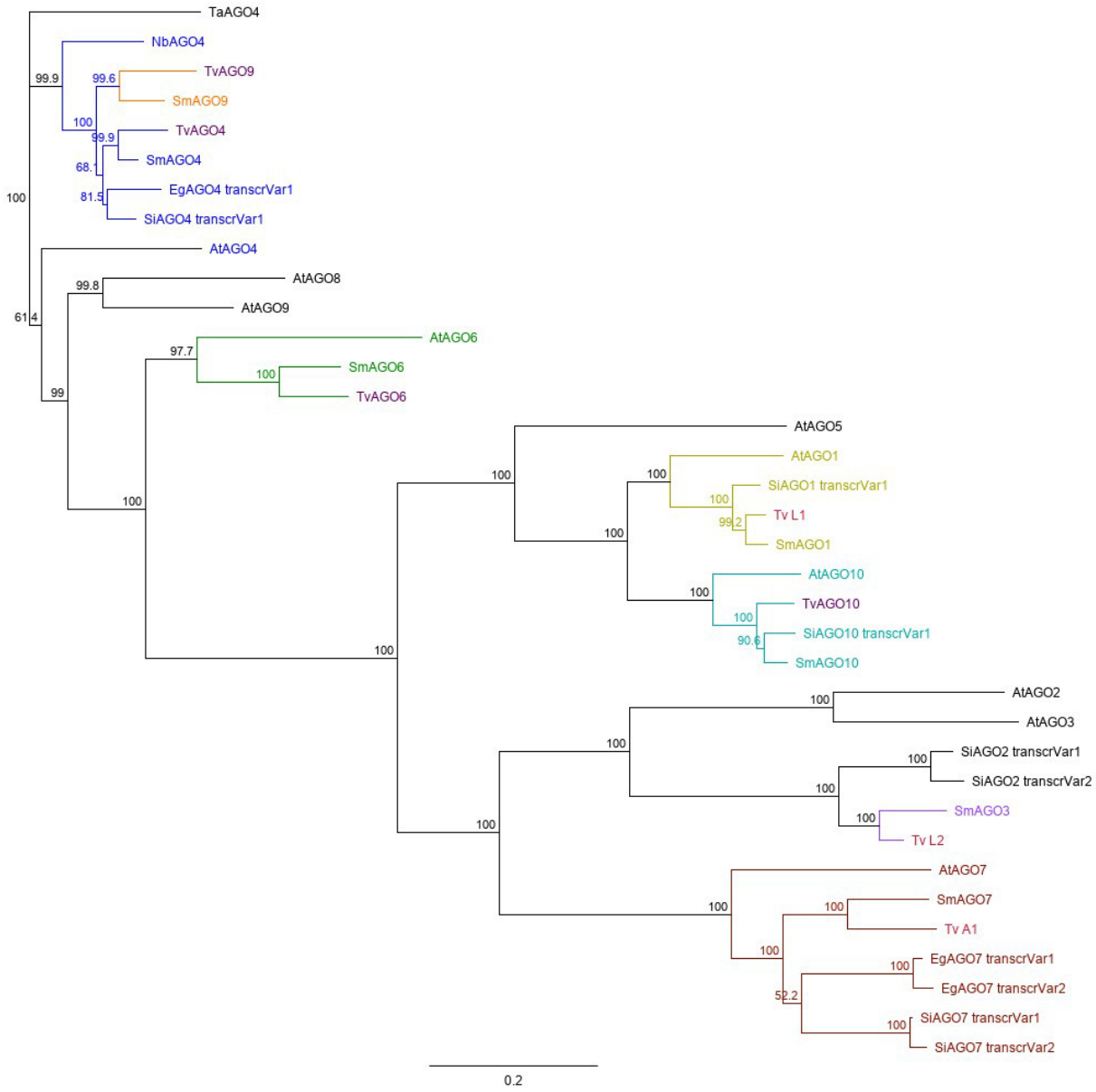


Abbildung 3-18 | Dendrogramm der Aminosäuresequenzen verschiedener Argonauten-Proteine.

Es wurden Aminosäuresequenzen von *Arabidopsis thaliana* (At), *Erythranthe guttata* (Eg), *Nicotiana benthamiana* (Nb), *Sesamum indicum* (Si), *Salvia miltiorrhiza* (Sm), *Triticum aestivum* (Ta) *und Thymus vulgaris* (Tv) miteinander verglichen.

Die Zahlen hinter dem Kürzel „AGO" zeigen an, welches Argonauten-Protein von dieser Sequenz codiert wird. Die Zahlen an den Zweigen des Stammbaums repräsentieren als Prozentzahlen die Plausibilität der Verwandtschaftsbeziehungen der Sequenzen untereinander bzw. von einem nicht identifizierten gemeinsamen Vorfahren, welche sich aus den 1000 Wiederholungen der Berechnung ergibt. Die Hervorhebung der AGO-Zweige ergibt sich wie folgt: AGO1 gelb, AGO3 lila, AGO4 blau, AGO6 grün, AGO7 braun, AGO9 orange, AGO 10 türkis. Die per PCR bestätigten *AGO*-Sequenzen aus *T. vulgaris* sind purpurn hervorgehoben, die *in silico* vorhergesagten rot.

Software: Geneious Prime, Version 2019.2.3 / Genetic Distance Model: Jukes-Cantor; Tree Build Method: Neighbor-Joining; Outgroup: TaAGO4 CDS; Resampling Method: Bootstrap mit 1000 Wiederholungen; Random Seed: 600,000; Support Threshold: 50 %.

Die der Einbeziehung weiterer nachgewiesener und vermuteter Mitglieder der AGO-Familie aus *T. vulgaris* (siehe Abb. 3-18) ergibt im Vergleich mit dem Dendrogramm zur Hervorhebung von *Tv*AGO4 (siehe Abb. 3-9) kein anderes Bild als vorher. Auch die Plausibilitäten der einzelnen Verzweigungen sind sich bei beiden Stammbäumen ähnlich.

Bemerkenswert ist jedoch, dass die Gruppierung der Kladen sich anders darstellt als beim Vergleich der Nukleotidsequenzen. Während bei diesen alle AGO4/6/8/9-Sequenzen zusammengruppiert wurden, stehen die Aminosäuresequenzen von *At*AGO4, *At*AGO8 und *At*AGO9 hier außerhalb dieser Klade. Diese Auftrennung ist mit 61,4 % etwas unsicherer als jene der Nukleotidsequenzen (67,2%). Die zugehörige Distanzmatrix befindet sich im Anhang 6.4.

3.4.3. ABGLEICH KONSERVIERTER DOMÄNEN IN WEITEREN VERTRETERN DER AGO-FAMILIE IN *T. VULGARIS*

Analog zu der Betrachtung der konservierten Domänen in *Tv*AGO4 in Vergleich zu AGO4 aus den Referenzorganismen (vgl. Kap. 3.2.), wurden auch für die weiteren identifizierten AGOs die Domänen gesucht und vergleichend betrachtet. Auch hier wurden wiederum sowohl die Nukleotidsequenzen, als auch die Aminosäuresequenzen betrachtet. Auch in diesen Darstellungen wurden Nukleotid- und Aminosäuresequenz der AGOs parallel zueinander präsentiert. und nur die Unterschiede in diesen Sequenzen farblich hervorgehoben, um den unmittelbaren Zusammenhang zwischen kodierenden Basentripletts und resultierenden Aminosäuren besonders hervorzuheben. Die bildlichen Darstellungen und die Distanzmatrizen befinden sich in Anhang 6.5.

Es ist zu betonen, dass sich hier die Vergleichswerte größtenteils in engen Grenzen hielten. Dies liegt zum einen daran, dass für alle weiteren AGOs, im Gegensatz zu AGO4, weniger mögliche Vergleichssequenzen in der NCBI Datenbank gab. Zum anderen war es auch so, dass die CD Search Software bei manchen AGOs nicht immer Domänen erkannt hat, was auch durch direkte Sequenzvergleiche bestätigt werden konnte. Dies betrifft vor allem AGO3, 6 und 9, wo teilweise nur zwei bis drei Sequenzen und/oder Domänen miteinander verglichen werden konnten.

Allgemein lässt sich sagen, dass sich beim Abgleich der konservierten Domänen der AGOs 1, 3, 6, 7, 9 und 10 ein recht ähnliches Bild zu jenem von AGO4 ergibt. Es zeigte sich, dass im Schnitt auch hier die Proteinsequenzen der Domänen eine höhere Übereinstimmung haben, als die Nukleotidsequenzen. Auch stellt es sich AGO-übergreifend so dar, dass die Ähnlichkeiten von allem zwischen den Sequenzen aus *T. vulgaris* und *S. miltiorrhiza* sehr

hoch sind, ebenso wie zwischen *E. guttata* und *S. indicum* bzw. den beiden erstgenannten und den beiden letztgenannten untereinander.

Zu beachten ist hier, dass vor allem beim Vergleich der AGO3-, Ago6-, AGO7- und AGO9-Sequenzen die Übereinstimmung der Sequenzen aus den Lamiales (*T. vulgaris*, *S. miltiorrhiza*, *E. guttata* und *S. indicum*) zu jener aus *A. thaliana* beachtlich niedrig ist, häufig unter 70%, teilweise auch unter 60%. Dies ist bei allen betrachteten Domänen zu sehen und besonders bei AGO3 stark ausgeprägt.

Außerdem ist zu bemerken, dass in AGO6 aus Thymian keine MID-Domäne identifiziert werden konnte, während die Vergleichssequenzen aus *S. miltiorrhiza* und *A. thaliana* diese aber aufwiesen.

Desweiteren ist bei dem Vergleich der Aminosäuresequenzen von AGO10 auffällig, dass dies der einzige Abgleich ist, bei dem alle Sequenzidentitäten über 90% liegen. Weiterhin ist zu bemerken, dass AGO3- und AGO7-Sequenz artübergreifend keine MID-Domäne hat. Diese fehlt laut CD Search auch bei AGO6 und AGO9 aus *A. thaliana*, während sie in *S. miltiorrhiza* und *T. vulgaris* als vorhanden markiert wurde.

4. DISKUSSION

4.1. *TvAGO4* KONNTE ERFOLGREICH IN *THYMUS VULGARIS* NACHGEWIESEN WERDEN

Die Terpenproduktion und Chemotypbildung in Thymian beruhen nicht nur auf der Regulation Transkriptmengen von Terpensynthasen, sondern scheinen auch von der differentiellen Methylierung von Promotorregionen und dem Auftreten von spezifischen siRNAs kontrolliert zu werden. Um diese Zusammenhänge besser untersuchen zu können, ist die Identifikation von zentralen Komponenten des Regulationsmechanismus wichtig.

Im Falle von *Thymus vulgaris* liegen die Gene am nächsten, welche für Proteine codieren, die an *De novo* Methylierungen im Rahmen von RdDM beteiligt sind. Da hier bereits in früheren Publikationen über *Arabidopsis thaliana* deutliche Hinweise auf *AGO4* geliefert wurden [He *et al.*, 2009; Duan *et al.*, 2015], lag es nahe, dies auch für *T. vulgaris* in Erwägung zu ziehen.

4.1.1. HERAUSFORDERUNGEN BEI DER EXTRAKTION VON *AGO4* AUS *T. VULGARIS* cDNA

Das Dendrogramm in Abbildung 3-1 zeigte eine Verwandtschaft von sechs Kandidatensequenzen aus dem Echten Thymian mit *AtAGO4*-cDNA an, während drei weitere in die Nähe von *AtAGO6*-cDNA eingeordnet wurden und eine als eine Art Vorläufer für alle Argonautensequenzen, außer jener von *Triticum aestivum*, welche als sogenannte „Outgroup“ festgelegt worden war, da diese als Monokotyledone hinsichtlich einer möglichen Verwandtschaft maximal entfernt ist, da sonst nur Dikotyledonen zur Analyse verwendet wurden.

Da durch die Bootstrapping-Methode die Wahrscheinlichkeiten für die Korrektheit der Zuordnung innerhalb des Dendrogramms im Schnitt als sehr hoch berechnet wurden, gab es zunächst keinen Grund an der Aufteilung zu zweifeln. Die Resultate waren erwartungsgemäß, da in der arbeitsgruppeninternen RNA-Seq-Datenbank explizit nach solchen Sequenzen gesucht wurde, die eine hohe Ähnlichkeit mit *AtAGO4* und *NbAGO4* haben (≥ 75% Sequenzidentität). Die Zuordnung dreier Thymian-Sequenzen in die Nähe von *AtAGO6* cDNA ist dabei nicht verwunderlich, da die Proteine AGO4 und AGO6 zu derselben

Gruppe bzw. Klade von Argonautenproteinen gehören und einen ähnlichen Wirkmechanismus haben [Duan *et al.*, 2015; Underwood & Martienssen, 2015]

Wie in den Kapitel 3.1.2 beschrieben, stellte sich die Extraktion und Analyse der cDNA-Sequenz von *TvAGO4* als nicht trivial heraus, sondern war von zahlreichen Schwierigkeiten begleitet.

Am beachtlichsten war die beschriebene scheinbare Verkürzung des Fragments aus der Gelextraktion. Wie in Abbildung 3-2 zu sehen, konnten die durch Sequenzierung erhaltenen Teile mit allen Kandidaten verglichen werden, ausgenommen Tv C3, C4 und G3 mRNA, welche keine Treffer ergaben. Bei den Vergleichen zeigten sich deutliche Lücken in einem Umfang von 734 bis 1475 bp (vgl. Kapitel 3.1.2., Tabelle 3-2). Auffällig war, dass bei den Vergleichssequenzen, die eine Lücke von 734 bp suggerierten, dass hier die Forward- und Reverse-Sequenzierung jeweils nur ein Mal als der Sequenz ähnlich angezeigt wurden und auch nur aus der Richtung, aus welcher sie sequenziert worden waren. Bei jenen Sequenzen, bei denen die Lücke mit 1475 bp weitaus größer dargestellt wurde, waren die Ergebnisse der Sequenzierung des klonierten Fragments jeweils zwei Mal als ähnlich gezeigt worden, und zwar sowohl Forward als auch Reverse. Dabei zeigten sich auch deutliche Überlappungen der beiden Sequenzierresultate in nicht unwesentlicher Länge (vgl. Kapitel 3.1.2., Tabelle 3-2). Daraus lässt sich ableiten, dass in der Sequenz von *TvAGO4* längere redundante Abschnitte vorkommen, wodurch auch das PCR-Ergebnis beeinflusst wird. Zum anderen erklärt dies auch, warum das isolierte cDNA-Stück zunächst so erschien, dass es vollständig sei, aber bei der Kontrolle des Klonierungserfolges um die Hälfte verkürzt schien: es besteht die Möglichkeit, dass *AGO4* in RNA eher instabil ist und zu Strangbrüchen neigt. Erfolgen diese in einem Bereich, wo innerhalb des Gens redundante Sequenzabschnitte existieren, so können diese sich beim Umschreiben in cDNA miteinander verbinden und zusammen als cDNA übersetzt werden.

Durch den Fund der Daten verschiedener *AGO*-Nukleotidsequenzen aus *S. miltiorrhiza* war erhofft worden, dass anhand dieser Daten designte Primer für *TvAGO4* ein besseres Ergebnis liefern würden. Wie in Kapitel 3.1.2. erwähnt, war die PCR zwar erfolgreich, doch wurde von externen Kollegen darauf aufmerksam gemacht, dass der erhaltenen Sequenz vor dem Stop-Codon ein Abschnitt fehlt, der für das

Aminosäuresequenzmotiv MFFC oder MFYC codiert, welches bei den Argonautenproteinen stark konserviert ist. Durch einen Sequenzabgleich von *SmAGO4* mit dem erhaltenen PCR-Fragment hatte sich dann herausgestellt, dass mindestens zwei Basenpaare fehlen, wodurch sich danach ein Frameshift ergab, so dass das gesuchte Motiv im dritten statt im ersten Reading-Frame erscheint. Die Gegenprobe durch Ergänzung von zwei Basenpaaren führte dann *in silico* zum gewünschten Ergebnis anhand dessen neue Primer designt wurden.

Da auch diese nicht zu einer vollständigen Sequenzen führten, wurde das Verfahren der Overlap-PCR angewandt. Die so erhaltene CDS von *TvAGO4* fügte sich im Dendrogramm erwartungsgemäß in die Klade mit *AtAGO4*, *NbAGO4* und *SmAGO4* ein (vgl. Kap. 3.1.2., Abb. 3-6). Ein erneuter Abgleich mit *SmAGO4* mRNA ohne Korrektur wies wieder dieselbe Lücke auf, die im Vergleich mit den Consensus-Sequenz, die aus *R. officinalis* mit den zunächst falschen Primern ermittelt worden war, sowie auch im Vergleich mit laut Dendrogramm ähnlichen Sequenzen aus *T. vulgaris* (Daten im Anhang 6.8). Ein Vergleich mit der korrigierten CDS von *SmAGO4* zeigte eine weitgehende Sequenzidentität (87,15%), die bei Organismen derselben Familie naheliegend ist. Da dieser „Fehler“ in der publizierten Sequenz von *SmAGO4* also beim Vergleich mit Sequenzen aus zwei anderen Mitgliedern der Familie der Lamiaceae aufgefallen ist, liegt hier die Vermutung nahe, dass es sich um einen Sequenzierungsfehler handelt, da die verwandten Pflanzen tendenziell sehr ähnliche Sequenzen aufweisen. Gestützt wird dies dadurch, dass bei Ergänzung zweier Basen in der Sequenz von *SmAGO4* unmittelbaren Erfolg hatte, insofern dass *in silico* die Sequenz bis zur Codierung für das MFFC-Motiv im ersten Frame durchgängig war.

4.1.2. ANALYSE DER *AGO4*-SEQUENZEN AUS VERSCHIEDENEN ORGANISMEN

Nach Ergänzung der hierarchischen Sequenzanalyse um die Daten von *S. miltiorrhiza*, *E. guttata* und *S. indicum* veränderte sich das Dendrogramm, wie erwartet, da mehr Vergleichsdaten in aller Regel ein genaueres und verlässlicheres Bild ergeben. Hierdurch wurde eine Sequenzverwandtschaft von Tv C3 mRNA mit SmAGO8 mRNA offenbar; zudem wurden die Sequenzen von Tv C1 mRNA, Tv G2 mRNA und Tv T1 mRNA nicht mehr direkt in Beziehung zu *AtAGO4* und *NbAGO4* eingeordnet, sondern zum neu eingebrachten SmAGO9 mRNA. Dieses Resultat ist insofern überraschend, da alle anderen *AGO*-Sequenzen aus den neu in die Analyse einbezogenen Organismen immer zu jenen aus *A. thaliana* in Relation gesetzt wurden, die dieselbe Nummerierung haben. Dies könnte zum einen ein Hinweis auf

eine Unregelmäßigkeit in den Sequenzen aus der RNA-Seq-Datenbank sein, zum anderen aber auch auf eine fehlerhafte Zuordnung der Sequenzen aus *S. miltiorrhiza* seitens der Autoren des zugehörigen Artikels, oder einen grundsätzlichen Fehler in der publizieren Sequenz. Für Letzteres spricht, dass die Umschreibung von *SmAGO2*, *SmAGO5* und *SmAGO8* in eine Aminosäuresequenz zu keinem möglichen Protein führte, da in jedem möglichen ORF mehrere Stop-Codons auftraten und nur in jeweils einem dieser Frames das MFFC/MFYC-Sequenzmotiv auftrat (vgl. Kap. 3.1.2.). Diese These unterstützt ebenso, dass auch in der Sequenz von *SmAGO4*, welche ansonsten große Ähnlichkeit zu der aus Thymian isolierten Sequenz hatte, an exakt einer Stelle eine mögliche Deletion von zwei Basenpaaren aufwies, wodurch das erwähnte Sequenzmotiv erst im zweiten ORF auftrat.

Denkbar wäre jedoch auch, dass es sich bei dem „vermeintlichen" *SmAGO9* um eine Transkriptionsvariante von *SmAGO4* handelt. Gegen diese Vermutung spricht allerdings, dass das resultierende Protein SmAGO9 länger ist als SmAGO4, und zudem ein direkter Vergleich der Aminosäuresequenzen eine Reihe an Unterschieden aufzeigt, die bei Transkriptionsvarianten aus den anderen Vergleichspflanzen – welche aufgrund von Sequenzunterschieden im Protein-Dendrogramm verblieben sind (vgl. Kapitel 3.1.4., Abbildung 3-7) aber dennoch fast 100% Sequenzidentität aufwiesen (Daten im Anhang 6.4.) – nicht in dieser Anzahl und auch nicht über die gesamte Sequenzlänge hinweg auftreten. *SmAGO9* ist also als tatsächlich eigenständig zu betrachten. Dies gilt vor allem, weil *AGO9* und *AGO4* zum einen zu derselben Klade gehören, und zum anderen *AGO9* teilweise die Funktion von *AGO4* übernehmen kann, was beides eine hohe Ähnlichkeit der Sequenzen erklärt.

4.1.3. DIE GDNA-SEQUENZ VON *TVAGO4* BESITZT DIE GLEICHE INTRON-EXON-STRUKTUR WIE DIE VON *ATAGO4*

Da der Vergleich der CDS und der gDNA-Sequenz von *AtAGO4* nahelegte, dass man durch einen solchen Abgleich die Intron-Exon-Struktur auf der genomischen DNA rekonstruieren kann, war dies auch auf die gDNA-Sequenz von *TvAGO4* angewandt worden. Die Analyse ist von Bedeutung, weil sich hierüber Rückschlüsse über die evolutionäre Entwicklung einer Genfamilie ableiten lassen [Lecharny *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2017b].

Auch wenn die Sequenzierung zeigte, dass genomische *AGO4*-Sequenz von *T. vulgaris* 651 bp länger ist als jene von *A. thaliana* (5360 bp vs. 4709 bp), so ist die grundsätzliche

Struktur der beiden identisch, die Anzahl an Introns und Exons überein. Diese Ähnlichkeit lässt sich darüber erklären, dass die Familie der Argonautenproteine eine hochkonservierte Gruppe von Proteinen in allen lebenden Organismen darstellt [Cerutti & Casas-Mollano, 2006; Meister, 2013; Fang & Qi, 2016], welche zudem evolutiv sehr alt ist [Singh *et al.*, 2015]. Singh et al. beschrieben 2015 die Aufspaltung der AGOs durch Duplikationsereignisse zwischen die Entstehung von einzelligen Algen wie Chlamydomonas (vor circa 1 Milliarde Jahren [Hedges, 2002]) und dem erstmaligen Auftauchen von Moosen, welche sich in der Erdgeschichte als erste Landpflanzen ausbildeten (vor circa 400 bis 500 Millionen Jahren [Karol *et al.*, 2010]). Bei einer evolutiv so alten Proteingruppe ist eine sehr hohe Ähnlichkeit in der Genstruktur nicht verwunderlich. Es konnte nachgewiesen werden, dass viele orthologe eukaryotische Gene eine Reihe von Intronpositionen gemeinsam haben, welche zum Teil auch in paralogen Vorläufern bereits vorhanden waren bzw. sind [Rogozin *et al.*, 2005]. Es wird vermutet, dass diese Genverdopplungsereignisse erst zur Insertion dieser Zahl an Introns geführt haben [Babenko *et al.*, 2004], wobei auch ein unmittelbarer Zusammenhang zur Entstehung von Eukaryoten diskutiert wird [Fedorov *et al.*, 2002; Lynch & Richardson, 2002]. Hierbei ist interessant, dass in den letzten 100 Millionen Jahren nur noch wenige oder gar keine neuen Introns hinzukamen [Babenko *et al.*, 2004], und die ursprünglichen Introns vor allem in Pflanzen und Vertebraten erhalten geblieben sind [Rogozin *et al.*, 2003]. Für letzteres sprechen insbesondere stark konservierte Gene wie *AGO4*. Die Ähnlichkeit in seiner Intron-Exon-Struktur zu der von *AtAGO4* untermauert dies. Zukünftige Forschung sollte hier zum Ziel haben, die Genstruktur dieses AGOs auch mit genomischen *AGO4*-Sequenzen aus anderen Organismen zu vergleichen. Desweiteren sollte eine solche Untersuchung auch für die anderen Gene aus der Argonautenfamilie erfolgen.

4.2. DIE PROTEINSEQUENZEN VON AGO4 ZEIGEN EINE LEICHT VERÄNDERTE PHYLOGENIE GEGENÜBER JENER DER NUKLEOTIDSEQUENZEN

Bei der hierarchischen Clusteranalyse der Aminosäuresequenzen, die zu den vorher analysierten Nukleotidsequenzen korrespondieren, stellte sich das erhaltene Dendrogramm (Kapitel 3.1.4., Abbildung 3-7) sehr ähnlich zu jenem der Nukleotidsequenzen heraus (Kapitel 3.1.2., Abbildung 3-6). Wobei sich allerdings die Weglassung der Sequenzen bemerkbar macht, die in keinem ORF eine stimmig erscheinende Aminosäuresequenz ergeben haben

und somit durch ihre Abwesenheit die Struktur des Dendrogramms etwas beeinflussen. Da sich die Verwandtschaftsbeziehungen durch die Translation in eine Proteinsequenz nicht verändert haben, lässt sich somit festhalten, dass artspezifische Unterschiede posttranslational erhalten bleiben.

Eine genetische Konservierung eines Proteins zeigt sich vor allem bei der Translation von Nukleotiden in Aminosäuren. Sogar scheinbar stark abweichende Nukleotidsequenzen können dennoch für die gleiche Aminosäuresequenz kodieren. Dies ist möglich durch sogenannte stille Mutationen. Bei diesen Punktmutationen ändert sich auf DNA-Ebene ein Basenpaar, dennoch hat dies keinen Effekt auf die Translation der mRNA – die korrespondierende Aminosäure bleibt die Gleiche [Purves *et al.*, 2006].

In der hierarchischen Clusteranalyse der korrespondierenden Aminosäuresequenzen zeigte sich diese genetische Varianz erneut. Wie bereits in Kapitel 3.1.4. erklärt, haben hier angegebene Transkriptionsvarianten für eine identische Aminosäuresequenz codiert, weshalb nur eine derselben in die Analyse miteinbezogen wurde. Varianz innerhalb derselben Art ist nicht ungewöhnlich. Dies liegt in der Redundanz des genetischen Codes begründet, welcher über stille Mutationen höhere genetische Diversität erlaubt, jedoch in keinem erkennbaren Phänotyp resultiert [Purves *et al.*, 2006]. Eine weitere Option wäre, dass es sich nur um vermeintliche Transkriptionsvarianten handelt, die Unterschiede tatsächlich aber nur aus kleineren Fehlern bei der Sequenzierung resultieren. Zudem wäre es möglich, dass bei der Assemblierung dieser Sequenzen in der Datenbank kleinere Fehler unterlaufen sind. Zur Klärung sollte künftige Forschung darauf abzielen, per RACE- oder klassischer PCR die codierende Sequenz aus cDNA dieser Pflanzen heraus zu isolieren. Desweiteren wären auch funktionelle Analysen über Enzymaktivitätsassays denkbar, um zu überprüfen, ob die AGO4-spezifische Aktivität vorhanden ist.

4.3. *Tv*AGO4 HAT EINE ÄHNLICHE DOMÄNENSTRUKTUR WIE ANDERE AGO4-PROTEINE UND KODIERT FÜR EIN FUNKTIONSFÄHIGES PROTEIN

Mittels des CD Search Tools von NCBI konnte *Tv*AGO4 sowohl auf Nukleotid- als auch auf Aminosäureebene auf konservierte Domänen hin untersucht werden. Gleiches wurde auch für die herangezogenen Referenzen durchgeführt. Die gefundenen Domänen wurden in den

in der Geneious Prime Software eingepflegten Sequenzen annotiert. Anschließend wurden die Domänen aller Sequenzen miteinander verglichen.

Wie schon in Kapitel 3.2 kurz angesprochen, ist bei der bildlichen Darstellung der Sequenzvergleich zu sehen, dass sich innerhalb der konservierten Domänen die Unterschiede sowohl in der Nukleotid- als auch in der Aminosäuresequenz, in sehr engen Grenzen halten (außer bei AGO-Mid, Abb. 3-11). Grundsätzlich lässt sich aus den Vergleichen folgende übereinstimmende Domänenstruktur für AGO4 ableiten:



Abbildung 4-1 | Schematische Darstellung der Domänenstruktur von AGO4.

Bemerkenswert hoch sind domänenübergreifend die Übereinstimmungen in der Sequenz der Nukleotide und/bzw. Aminosäuren bei beiden Domänen zwischen den Vergleichssequenzen von *T. vulgaris*, *S. miltiorrhiza*, *E. guttata* und *S. indicum*. Zwar gehören nur *T. vulgaris* und *S. miltiorrhiza* zur Familie der Lamiaceae (Lippenblütler); aber *E. guttata* (auch als *Mimulus guttatus* bekannt [Barker *et al.*, 2012]), aus der Familie der Scrophulariaceae, und *S. indicum*, aus der Familie der Pedaliaceae gehören ebenso wie sie der Ordnung der Lamiales (Lippenblütlerartige) an [Barker *et al.*, 2012; mobot.org, o. J.]. Damit sind sie zwar nicht nah miteinander verwandt, aber diese Verwandtschaftsbeziehung erklärt die große Ähnlichkeit in den konservierten Bereichen. Dies bestätigt auch das im Kapitel 4.1.2. erläuterte gemeinsame Clustern der betrachteten AGOs in einer Klade. Die Verwandtschaft der Pflanzen, die hohe Ähnlichkeit der Sequenzen zueinander, auch und insbesondere in den konservierten Bereichen, und die Resultate der phylogenetischen Untersuchung unterstützen die These des mehrfachen horizontalen Gentransfers zwischen Spezies [Wei *et al.*, 2012], aber auch die These der Genduplikation als Artbildungsereignis.

Überraschend war, dass die AGO4-MID-Domäne von *T. vulgaris*, *S. miltiorrhiza*, *E. guttata* und *S. indicum* nur als partiell vorhanden ausgegeben wurde. Bei *N. benthamiana* und *A. thaliana* wurde sie als vollständig von der Software erkannt. Alle anderen Domänen wurden artübergreifend als komplett markiert. Die MID-Domäne bindet die 5‘-Phosphate vom smRNAs und verankert sie so im AGO-Protein [Ma *et al.*, 2005; Höck & Meister, 2008]. Zunächst könnte man vermuten, dass diese Domäne und damit auch das Protein aus *T. vulgaris* nicht funktionsfähig ist.

Dem widerspricht jedoch in aller Deutlichkeit das Cleavage Assay (Kap. 3.3., Abb. 3-14). Die nachgewiesene Spaltungsaktivität von *Tv*AGO4, welche darüber hinaus jener des Kontrollansatzes mit *At*AGO4 gleicht, spricht für ein funktionell aktives Protein. Wang & Axtell (2017) haben in ihrer Arbeit zu AGO4 in *A. thaliana* geschlussfolgert, dass die katalytische Aktivität für die Akkumulation der meisten AGO4-abhängigen 24 nt siRNAs von großer Wichtigkeit ist, wenn auch von Locus zu Locus unterschiedlich stark ausgeprägt. Demzufolge bestätigt die Slicer-Aktivität von *Tv*AGO4, dass es auch in *T. vulgaris* im RISC seine Rolle erfüllen kann. Daraus kann man ableiten, dass diese Aktivität möglicherweise auch bei den anderen zum Vergleich herangezogenen AGO4 zu finden ist. Es obliegt zukünftigen Untersuchungen, dies nachzuweisen.

Für die zukünftige Forschung an *Thymus vulgaris* bietet es sich an, Experimente zu entwerfen, die analog denen in der bereits gut erforschten Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* sind, um die Lokalisation des Proteins und das Verhalten von Knockout-Mutanten näher zu beleuchten. Im Bezug auf die vorliegende Arbeit ist hier vor allem die Fokussierung auf die Erforschung von Knockout-Mutanten ein besonderes Augenmerk zu richten. AGO4 wurde hier besonders hervorgehoben, da es durch seine Beteiligung im RISC in der *de novo* Methylierung im RdDM-Mechanismus als Kandidat zur Untersuchung des Einflusses der Methylierung auf die Ausprägung von Chemotypen in *T. vulgaris* geeignet ist. Die Erzeugung von Knockout-Mutanten wäre hier ein gangbarer Weg, um diesen Einfluss auf die Vererbung zu untersuchen.

4.4. DIE SEQUENZVERGLEICHE INNERHALB DER WEITEREN AGO-FAMILIE FOLGEN WEITGEHEND EINEM ÄHNLICHEN MUSTER WIE DIE AGO4-ABGLEICHE

Um weitere Mitglieder der AGO-Proteinfamilie in *T. vulgaris* zu identifizieren, war auch nach diesen gesucht worden, vor allem mit Referenzgenen aus *A. thaliana*. Aufgrund der Ergebnisse beim Vergleich der AGO4-Sequenzen wurde auch hier besonders darauf geachtet, wie die Sequenzen aus *T. vulgaris*, *S. miltiorrhiza*, *E. guttata* und *S. indicum* sich zueinander verhalten.

Interessant ist, dass im Falle von AGO3 die Sequenzen aus *T. vulgaris* und *S. miltiorrhiza* vergleichsweise stark von jener aus *A. thaliana* abweichen, sowohl auf die Nukleotidsequenz, als auch auf die Aminosäuresequenz bezogen. In beiden Fällen liegt die Übereinstimmung bei unter 50%. Auch bei isolierter Betrachtung der konservierten Domänen trifft dies zu. Bei den anderen AGOs liegt die Ähnlichkeit zu vergleichbaren *A. thaliana* Sequenzen im Schnitt bei 70-75%. Da die Thymian- und Salbei-Sequenzen nicht in unmittelbare Verwandtschaft (d.h. auf einem Zweig des phylogenetischen Dendrogramms liegend) von jener der Ackerschmalwand eingeordnet wurden, sondern etwas entfernt, ist es möglich, dass gerade AGO3 sich in den Lamiaceen schon deutlich von seiner ursprünglichen evolutiven Form entfernt hat. Zwar sind die Argonautenproteine, wie bereits angesprochen, eine evolutiv sehr ursprüngliche Proteinfamilie [Cerutti & Casas-Mollano, 2006; Singh *et al.*, 2015], jedoch sind Lamiaceen wie *T. vulgaris* „jünger“ als Brassicaeen wie *A. thaliana*, und zudem komplexer. AGO3 ist, wie in Kapitel 1.3.2 erwähnt, jedoch ein Sonderfall unter den Argonautenproteinen, da bei ihm bisher keine biologische Funktion nachgewiesen werden konnte, auch wenn *in vitro* eine gewisse Aktivität vorlag [Fang & Qi, 2016]. Daher stellt sich die Frage, ob diese Unterschiede beachtenswert oder vernachlässigbar sind. Die gleichzeitige hohe Sequenzidentität von AGO3 zu AGO2 in *A. thaliana* [Fátyol *et al.*, 2016] zeigt eine genetische Redundanz an, weswegen der Unterschied – zumal biologisch anscheinend nicht funktionell bedeutsam – vermutlich unwesentlich ist.

Ebenfalls interessant zu sehen war, dass die von Fang & Qi 2016 erklärte hohe Ähnlichkeit in der Aminosäuresequenz von AGO1 und AGO10 nicht gezeigt werden konnte, weder für Thymian noch für Arabidopsis. Dies ist verwunderlich und wirft die Frage auf, inwiefern „hohe Ähnlichkeit“ angegeben werden kann. Für diese Arbeit wurde davon ausgegangen, dass eine hohe Ähnlichkeit bei 75%+ Übereinstimmung angegeben kann. Die ermittelte Ähnlichkeit zwischen AGO1 und AGO10 lag aber um 60%. Dies ist allerdings nicht verwunderlich, da Familienmitglieder nicht zwingend eine hohe Ähnlichkeit haben müssen, selbst wenn sie aus nahe verwandten Organismen stammen. Es besteht die Möglichkeit, dass diese Gene sich in den Organismen unterschiedlich weiterentwickelt haben. Desweiteren können Genfamilien von Pflanze zu Pflanze durch Genduplikation und den Verlust von Genen auch unterschiedlich strukturiert sein.

Relevant ist für diese Arbeit vielmehr, dass sich bei allen anderen AGOs erneut das Bild, das sich für AGO4 dargestellt hat, wiederholt. Insgesamt waren die Übereinstimmungen zwischen den Mitgliedern aus der Ordnung der Lamiales (*T. vulgaris*, *S. miltiorrhiza*, *E. guttata* und *S. indicum*) sehr hoch, im Schnitt über 80%, teilweise sogar bei 90% oder höher. Dies unterstreicht, was in Kapitel 4.3. diskutiert wurde, dass diese vier Pflanzen näher miteinander verwandt sind, als die Zuordnung in dieselbe Ordnung, jedoch nicht in dieselbe Gattung zunächst vermuten lässt. Dies gilt umso mehr, als dass sich selbst über eine evolutiv so alte Gruppe wie die Argonauten diese Beziehung herausarbeiten lässt.

Im Zuge dieser Arbeit ließen sich leider keine weiteren Aktivitätsassays für die nachgewiesenen AGOs aus Thymian durchführen. Die große Ähnlichkeit untereinander, sowie das Cleavage Assay von AGO4 lassen jedoch vermuten, dass sich auf für die anderen AGOs ähnliche Aktivitäten wie in *A. thaliana* nachweisen lassen werden.

5. VERZEICHNISSE

5.1. LITERATURVERZEICHNIS

Ashapkin, V. V., Kutueva, L. I., & Vanyushin, B. F. (2016). Plant DNA methyltransferase genes: Multiplicity, expression, methylation patterns. *Biochemistry (Moscow), 81*(2), 141-151. doi:10.1134/s0006297916020085

Attwood, J. T., Yung, R. L., & Richardson, B. C. (2002). DNA methylation and the regulation of gene transcription. *Cellular and Molecular Life Sciences, 59*(2), 241-257. doi:10.1007/s00018-002-8420-z

Babenko, V. N., Rogozin, I. B., Mekhedov, S. L., & Koonin, E. V. (2004). Prevalence of intron gain over intron loss in the evolution of paralogous gene families *Nucleic Acids Research, 32*(12), 3724-3733. doi:10.1093/nar/gkh686

Baldwin, I. T., Halitschke, R., Paschold, A., von Dahl, C. C., & Preston, C. A. (2006). Volatile signaling in plant-plant interactions: "talking trees" in the genomics era. *Science, 311*(5762), 812-815. doi:10.1126/science.1118446

Barker, W. R., Nesom, G. L., Beardsley, P. M., & Fraga, N. S. (2012). A taxonomic conspectus of Phrymaceae: A narrowed circumscriptions for Mimulus, new and resurrected genera, and new names and combinations. *Phytoneuron, 2012-39*, 1-60.

Belhassen, E., Beltran, M., Couvet, D., Dommée, B., Gouyon, P. H., & Olivieri, I. (1990). Evolution des taux de femelles dans les populations naturelles de Thym, Thymus vulgaris L. Deux hypothèses alternatives confirmées = Evolution of female frequencies in natural populations of Thyme, Thymus vulgaris L. Two alternative hypotheses accepted. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*(310), 371-375. Retrieved from https://hal.archives-ouvertes.fr/halsde-00340229

Bender, J. (2004). DNA Methylation and Epigenetics. *Annual Review of Plant Biology, 55*(1), 41-68. doi:10.1146/annurev.arplant.55.031903.141641

Block, A. K., Vaughan, M. M., Schmelz, E. A., & Christensen, S. A. Biosynthesis and function of terpenoid defense compounds in maize (Zea mays). *Planta, 249*(1), 21-30. doi:10.1007/s00425-018-2999-2

Brooks, J. E., & Roberts, R. J. (1982). Modification profiles of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research, 10*(3), 913-934. doi:10.1093/nar/10.3.913

Cao, X., Aufsatz, W., Zilberman, D., Mette, M. F., Huang, M. S., Matzke, M., & Jacobsen, S. E. (2003). Role of the DRM and CMT3 Methyltransferases in RNA-Directed DNA Methylation. *Current Biology, 13*(24), 2212-2217. doi:10.1016/j.cub.2003.11.052

Cerutti, H., & Casas-Mollano, J. A. (2006). On the origin and functions of RNA-mediated silencing: from protists to man. *Current Genetics, 50*(2), 81-99. doi:10.1007/s00294-006-0078-x

Chappell, J. (1995). Biochemistry and Molecular Biology of the Isoprenoid Biosynthetic Pathway in Plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 46*(1), 521-547. doi:10.1146/annurev.pp.46.060195.002513

Cheptou, P.-O. (2012). The Evolution of Plant Mating System: Is It Time for a Synthesis? *Studies in Population Genetics*, 17-38.

Crocoll, C. (2010). *Biosynthesis of the phenolic monterpenes, thymol and carvacrol, by terpene synthases and cytochrome P450 in oregano and thyme.* (PhD thesis). Friedrich-Schiller-Universtität,

Dalakouras, A., & Wassenegger, M. (2012). Revisiting RNA-directed DNA methylation. *RNA Biology, 10*(3), 453-455.

Degenhardt, J., Hiltpold, I., Köllner, T. G., Frey, M., Gierl, A., Gershenzon, J., Hibbard, B. E., Ellersieck, M. R., & Turlings, T. C. J. (2009a). Restoring a maize root signal that attracts insect-killing nematodes to control a major pest. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 106*(32), 13213-13218. doi:10.1073/pnas.0906365106

Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J. (2009b). Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry, 70*(15-16), 1621-1637. doi:10.1016/j.phytochem.2009.07.030

Deleris, A., Greenberg, M. V. C., Ausin, I., Law, R. W. Y., Moissiard, G., Schubert, D., & Jacbosen, S. E. (2010). Involvement of a Jumonji-C domain-containing histone demethylase in DRM2-mediated maintenance of DNA methylation. *EMBO reports, 11*, 950-955. doi:10.1038/embor.2010.158 [Titel anhand dieser DOI in Citavi-Projekt übernehmen]

Duan, C. G., Zhang, H., Tang, K., Zhu, X., Qian, W., Hou, Y. J., Wang, B., Lang, Z., Zhao, Y., Wang, X., Wang, P., Zhou, J., Liang, G., Liu, N., Wang, C., & Zhu, J. K. (2015). Specific but interdependent functions for Arabidopsis AGO4 and AGO6 in RNA-directed DNA methylation. *The EMBO Journal, 34*(5), 581-592. doi:10.15252/embj.201489453

Dudareva, N., Klempien, A., Muhlemann, J. K., & Kaplan, I. (2013). Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *The New Phytologist, 198*(1), 16-32. doi:10.1111/nph.12145

Dudenredaktion. (o.J.). "ätherisch, fachsprachlich auch etherisch" auf Duden online. Retrieved from https://www.duden.de/rechtschreibung/aetherisch_aetherhaltig

Ehrlich, M., Gama-Sosa, M. A., Carreira, L. H., Ljungdahl, L. G., Kuo, K. C., & Gehrke, C. W. (1985). DNA methylation in thermophilic bacteria: N4-methylcytosine, 5-methylcytosine, and N4-methyladenine. *Nucleic Acids Research, 13*(4), 1399-1412. doi:10.1093/nar/13.4.1399

Fang, X., & Qi, Y. (2016). RNAi in Plants: An Argonaute-Centered View. *The Plant Cell, 28*, 272-285. doi:10.1105/tpc.15.00920

Fátyol, K., Ludman, M., & Burgyán, J. (2016). Functional dissection of a plant Argonaute. *Nucleic Acids Research, 44*(3), 1384-1397. doi:10.1093/nar/gkv1371

Fedorov, A., Merican, A. F., & Gilbert, W. (2002). Large-scale comparison of intron positions among animal, plant, and fungal genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 99*(25), 16128-16133. doi:10.1073/pnas.242624899

Feng, S., Cokus, S. J., Zhang, X., Chen, P.-Y., Bostick, M., Goll, M. G., Hetzel, J., Jain, J., Strauss, S. H., Halpern, M. E., Ukomadu, C., Sadler, K. C., Pradhan, S., Pellegrini, M., & Jacobsen, S. E. (2010). Conservation and divergence of methylation patterning in plants and animals *Proceedings of the National Academy of Sciences, 107*(19), 8689-8694. doi: 10.1073/pnas.1002720107

Fernandes-Brum, C. N., Rezende, P. M., Ribeiro, T. H. C., De Oliveira, R. R., De Sousa Cardoso, T. C., Do Amaral, L. R., De Souza Gomes, M., & Chalfun, A. (2017). A genome-wide analysis of the RNA-guided silencing pathway in coffee reveals insights into its regulatory mechanisms. *PLoS ONE, 12*(4), 1-29. doi:10.1371/journal.pone.0176333

Finnegan, E. J., & Kovac, K. A. (2000). Plant DNA methyltransferases. *Plant molecular biology, 43*(2-3), 189-201. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10999404

Floris, I., Satta, A., Cabras, P., Garau, V. L., & Angioni, A. (2004). Comparison Between Two Thymol Formulations in the Control of Varroa destructor: Effectiveness, Persistence, and Residues. *Journal of Economic Entomology, 97*(2), 187-191. doi:10.1093/jee/97.2.187

Gallego-Bartolomé, J. (2020). DNA methylation in plants: mechanisms and tools for targeted manipulation. *New Phytologist, 227*(1), 38-44. doi:10.1111/nph.16529

Gehring, M., & Henikoff, S. (2007). DNA methylation dynamics in plant genomes. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Structure and Expression, 1769*(5-6), 276-286. doi:10.1016/j.bbaexp.2007.01.009

Gershenzon, J., & Dudareva, N. (2007). The function of terpene natural products in the natural world. *Nature Chemical Biology, 3*(7), 408-414. doi:10.1038/nchembio.2007.5

Glavan, G., Novak, S., Božič, J., & Jemec Kokalj, A. (2020). Comparison of sublethal effects of natural acaricides carvacrol and thymol on honeybees. *Pesticide Biochemistry and Physiology, 166*, 104567-104567. doi:10.1016/j.pestbp.2020.104567

Gregorc, A., & Planinc, I. (2005). The control of Varroa destructor in honey bee colonies using the thymol-based acaricide - Apiguard. *American Bee Journal, 145*(8), 672-675.

Gursinsky, T., Schulz, B., & Behrens, S.-E. (2009). Replication of Tomato bushy stunt virus RNA in a plant in vitro system. *Virology, 390*(2), 250-260. doi:10.1016/j.virol.2009.05.009

Haag, J. R., & Pikaard, C. S. (2011). Multisubunit RNA polymerases IV and V: Purveyors of non-coding RNA for plant gene silencing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology, 12*(8), 483-492. doi:10.1038/nrm3152

Hamera, S., Song, X., Su, L., Chen, X., & Fang, R. (2012). Cucumber mosaic virus suppressor 2b binds to AGO4-related small RNAs and impairs AGO4 activities. *Plant Journal, 69*(1), 104-115. doi:10.1111/j.1365-313X.2011.04774.x

He, X.-J., Hsu, Y.-F., Zhu, S., Wierzbicki, A. T., Pontes, O., Pikaard, C. S., Liu, H.-L., Wang, C.-S., Jin, H., & Zhu, J.-K. (2009). An Effector of RNA-Directed DNA Methylation in Arabidopsis Is an ARGONAUTE 4- and RNA-Binding Protein. *Cell, 137*(3), 498-508. doi:10.1016/j.cell.2009.04.028

Hedges, S. B. (2002). The Origin and Evolution of Model Organisms. *Nature Reviews Genetics, 3*, 838-849. doi:10.1038/nrg929

Higuchi, R., Krummel, B., & Saiki, R. (1988). A general method of in vitro preparation and specific mutagenesis of dna fragments: Study of protein and DNA interactions. *Nucleic Acids Research, 16*(15), 7351-7367. doi:10.1093/nar/16.15.7351

Höck, J., & Meister, G. (2008). The Argonaute protein familiy. *Genome Biology*(9), 210. doi:10.1186/gb-2008-9-2-210

Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., & Armand, R. (2015). The Application of Medicinal Plants in Traditional and Modern Medicine: A Review. *International Journal of Clinical Medicine, 06*(09), 635-642. doi:10.4236/ijcm.2015.69084

Hsieh, M.-H., Chang, C.-Y., Hsu, S.-J., & Chen, J.-J. (2008). Chloroplast localization of methylerythritol 4-phosphate pathway enzymes and regulation of mitochondrial genes in ispD and ispE albino mutants in Arabidopsis. *Plant molecular biology, 66*(6), 663-673. doi:10.1007/s11103-008-9297-5

Ito, H. (2013). Small RNAs and regulation of transposons in plants. *Genes & Genetic Systems, 88*(1), 3-7. doi:10.1266/ggs.88.3

Johnson, L. M., Law, J. A., Khattar, A., Henderson, I. R., & Jacobsen, S. E. (2008). SRA-domain proteins required for DRM2-mediated de novo DNA methylation. *PLoS Genetics, 4*(11). doi:10.1371/journal.pgen.1000280

Jones, P. A. (2012). Functions of DNA methylation: Islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nature Reviews Genetics, 13*(7), 484-492. doi:10.1038/nrg3230

Karol, K. G., Arumuganathan, K., Boore, J. L., Duffy, A. M., Everett, K. D. E., Hall, J. D., Hansen, S. K., Kuehl, J. V., Mandoli, D. F., Mishler, B. D., Olmstead, R. G., Renzaglia, K. S., & Wolf, P. G. (2010). Complete plastome sequences ofEquisetumarvenseandIsoetes flaccida: implications forphylogeny and plastid genome evolution of earlyland plant lineages. *BMC Evolutionary Biology*(10), 321. doi: 10.1186/1471-2148-10-321

Kawasaki, H., Taira, K., & If, I. P. (2004). Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. *Nature, 431*(September), 211-218. doi:10.1038/nature02783.1.

Komoda, K., Naito, S., & Ishikawa, M. (2004). Replication of plant RNA virus genomes in a cell-free extract of evacuolated plant protoplasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 101*(7), 1863-1867. doi:10.1073/pnas.0307131101

Krause, S. T., Köllner, T. G., Asbach, J., & Degenhardt, J. (2013). Stereochemical mechanism of two sabinene hydrate synthases forming antipodal monoterpenes in thyme (Thymus vulgaris). *Archives of Biochemistry and Biophysics, 529*(2), 112-121. doi:10.1016/j.abb.2012.12.003

Kuhlmann, M. (2019). DNA-Methylierung - das 5. Element / Mehr als ein Regulationsprinzip in der Pflanze. *Biologie in unserer Zeit, 49*(5), 342-349. doi:10.1002/biuz.201910686

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis acrossComputing Platforms. *Molecular Biology and Evolution, 35*(6), 1547-1549. doi:10.1093/molbev/msy096

Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0forBiggerDatasets. *Molecular Biology and Evolution, 33*(7), 1870-1874. doi:10.1093/molbev/msw054

Lahmy, S., Pontier, D., Bies-Etheve, N., Laudié, M., Feng, S., Jobet, E., Hale, C. J., Cooke, R., Hakimi, M. A., Angelov, D., Jacobsen, S. E., & Lagrange, T. (2016). Evidence for ARGONAUTE4–DNA interactions in RNA-directed DNA methylation in plants. *Genes and Development, 30*(23), 2565-2570. doi:10.1101/gad.289553.116

Law, J. A., & Jacobsen, S. E. (2010). Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nature Reviews Genetics, 11*(3), 204-220. doi:10.1038/nrg2719

Le, T. N., Schumann, U., Smith, N. A., Tiwari, S., Khang Au, P. C., Zhu, Q. H., Taylor, J. M., Kazan, K., Llewellyn, D. J., Zhang, R., Dennis, E. S., & Wang, M. B. (2014). DNA demethylases target promoter transposable elements to positively regulate stress responsive genes in Arabidopsis. *Genome Biology, 15*(9), 1-18. doi:10.1186/s13059-014-0458-3

Lecharny, A., Boudet, N., Gy, I., Aubourg, S., & Kreis, M. (2003). Introns in, introns out in plant gene families: a genomic approach of the dynamics of gene structure. *Journal of Structural and Functional Genomics*(3(1-4)), 111-116.

Lieberman Greer, E., Blanco, M. A., Gu, L., Sendinc, E., Liu, J., Aristizábal-Corrales, D., Hsu, C.-H., Aravind, L., He, C., & Shi, Y. (2015). DNA Methylation on N6-Adenine in C. elegans. *Cell, 161*(4), 868-878. doi:10.1016/j.cell.2015.04.005

Liu, W., Duttke, S. H., Hetzel, J., Groth, M., Feng, S., Gallego-Bartolome, J., Zhong, Z., Kuo, H. Y., Wang, Z., Zhai, J., Chory, J., & Jacobsen, S. E. (2018). RNA-directed DNA methylation involves co-transcriptional small-RNA-guided slicing of polymerase v transcripts in Arabidopsis. *Nature Plants, 4*(3), 181-188. doi:10.1038/s41477-017-0100-y

Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Bertscher, A., & Ploegh, H. (2007). *Molecular Biology of the Cell* (K. Ahr & N. Tymoczko Eds. 6 ed.). New York, NY, USA; Houndmills, Basingstoke, England: W. H. Freeman and Company.

Lynch, M., & Richardson, A. O. (2002). The evolution of spliceosomal introns. *Current Opinion in Genetics & Development, 12*(6), 701-710. doi: 10.1016/s0959-437x(02)00360-x

Ma, J.-B., Yuan, Y.-R., Meister, G., Pei, Y., Tuschl, T., & Patel, D. J. (2005). Structural basis for 5'-end-specific recognition of guide RNA by the A. fulgidus Piwi protein *Nature, 434*(7033), 666-670. doi: 10.1038/nature03514

Ma, W., Gabriel, T. S., Martis, M. M., Gursinsky, T., Schubert, V., Vrána, J., Doležel, J., Grundlach, H., Altschmied, L., Scholz, U., Himmelbach, A., Behrens, S. E., Banaei-Moghaddam, A. M., & Houben, A. (2017). Rye B chromosomes encode a functional Argonaute-like protein with in vitro slicer activities similar to its A chromosome paralog. *New Phytologist, 213*(2), 916-928. doi:10.1111/nph.14110

Maior, G. P. S. (1765). *Plinius Naturgeschichte*. Rostock und Greifswald: Anton Ferdinand Rösens Buchhandlung.

Majdi, M., Malekzadeh-Mashhady, A., Maroufi, A., & Crocoll, C. (2017). Tissue-specific gene-expression patterns of genes associated with thymol/carvacrol biosynthesis in thyme (Thymus vulgaris L.) and their differential changes upon treatment with abiotic elicitors. *Plant Physiology and Biochemistry, 115*, 152-162. doi:10.1016/j.plaphy.2017.03.016

Marino, M., Bersani, C., & Comi, G. (1999). Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Thymus vulgaris L. Measured Using a Bioimpedometric Method. *Journal of Food Protection, 62*(9), 1017-1023. doi:10.4315/0362-028X-62.9.1017

Matzke, M. A., Kanno, T., & Matzke, A. J. M. (2014). RNA-Directed DNA Methylation: The Evolution of a Complex Epigenetic Pathway in Flowering Plants. *Annual Review of Plant Biology, 66*(1), 243-267. doi:10.1146/annurev-arplant-043014-114633

McCue, A. D., Panda, K., Nuthikattu, S., Choudury, S. G., Thomas, E. N., & Slotkin, R. K. (2015). ARGONAUTE 6 bridges transposable element mRNA-derived siRNAs to the establishment of DNA methylation. *The EMBO Journal, 34*(1), 20-35. doi:10.15252/embj.201489499

Meister, G. (2013). Argonaute proteins: functional insights and emerging roles. *Nature reviews. Genetics, 14*(7), 447-459. doi:10.1038/nrg3462

Mi, S., Cai, T., Hu, Y., Chen, Y., Hodges, E., Ni, F., Li, S., Zhou, H., Long, C., Chen, S., & Hannon, G. J. (2008). Sorting of Small RNAs into Arabidopsis Argonaute Complexes Is Directed by the 5' Terminal Nucleotide. *Cell, 133*(1), 116-127. doi:10.1016/j.cell.2008.02.034.Sorting

Mirzaei, K., Bahramnejad, B., Shamsifard, M. H., & Zamani, W. (2014). In silico identification, phylogenetic and bioinformatic analysis of argonaute genes in plants. *International Journal of Genomics*. doi:10.1155/2014/967461

mobot.org. (o. J.). "Lamiales". Retrieved from http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/orders/lamialesweb.htm#Lamiales

Movahedi, A., Sun, W., Zhang, J., Wu, X., Mousavi, M., Mohammadi, K., Yin, T., & Zhuge, Q. (2015). RNA-directed DNA methylation in plants. *Plant Cell Reports, 34*(11), 1857-1862. doi:10.1007/s00299-015-1839-0

Naumann, U., Daxinger, L., Kanno, T., Eun, C., Long, Q., Lorkovic, Z. J., Matzke, M., & Matzke, A. J. M. (2011). Genetic evidence that DNA methyltransferase DRM2 has a direct catalytic role in RNA-directed DNA methylation in Arabidopsis thaliana. *Genetics, 187*(3), 977-979. doi:10.1534/genetics.110.125401

Oliver, C., Santos, J. L., & Pradillo, M. (2016). Accurate chromosome segregation at first meiotic division requires AGO4, a protein involved in RNA-dependent DNA methylation in Arabidopsis thaliana. *Genetics, 204*(2), 543-553. doi:10.1534/genetics.116.189217

Park, J. H., Jeon, Y. J., Lee, C. H., Chung, N., & Lee, H. S. (2017). Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from Thymus vulgaris Lin. against Pochazia shantungensis Chou &lu., newly recorded pest. *Scientific Reports, 7*(January), 1-7. doi:10.1038/srep40902

Pontier, D., Picart, C., Roudier, F., Garcia, D., Lahmy, S., Azevedo, J., Alart, E., Laudié, M., Karlowski, W. M., Cooke, R., Colot, V., Voinnet, O., & Lagrange, T. (2012). NERD, a Plant-Specific GW Protein, Defines an Additional RNAi-Dependent Chromatin-Based Pathway in Arabidopsis. *Molecular Cell, 48*(1), 121-132. doi:10.1016/j.molcel.2012.07.027 [Titel anhand dieser DOI in Citavi-Projekt übernehmen]

Pulido, P., Perello, C., & Rodriguez-Conception, M. (2012). New insights into plant isoprenoid metabolism. *Molecular Plant, 5*(5), 964-967. doi:10.1093/mp/sss088

Purves, W. K., Sadava, D., Orians, G. H., & Heller, H. C. (2006). *Biologie* (7 ed.). München: Spektrum Akademischer Verlag; Elsevier GmbH.

Qi, Y., He, X., Wang, X. J., Kohany, O., Jurka, J., & Hannon, G. J. (2006). Distinct catalytic and non-catalytic roles of ARGONAUTE4 in RNA-directed DNA methylation. *Nature, 443*(7114), 1008-1012. doi:10.1038/nature05198

Rahfeld, B. (2011). *Mikroskopischer Farbatlas pflanzlicher Drogen* (2 ed.). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Rogozin, I. B., Sverdlov, A. V., Babenko, V. N., & Koonin, E. V. (2005). Analysis of evolution of exon-intron structure of eukaryotic genes. *Briefings in Bioinformatics, 6*(2), 118-134. doi:10.1093/bib/6.2.118

Rogozin, I. B., Wolf, Y. I., Sorokin, A. V., Mirkin, B. G., & Koonin, E. V. (2003). Remarkable interkingdom conservation of intron positions and massive, lineage-specific intron loss and gain in eukaryotic evolution *Current Biology, 13*(17), 1512-1517. doi: 10.1016/s0960-9822(03)00558-x

Rowley, M. J., Avrutsky, M. I., Sifuentes, C. J., Pereira, L., & Wierzbicki, A. T. (2011). Independent chromatin binding of ARGONAUTE4 and SPT5L/KTF1 mediates transcriptional gene silencing. *PLoS Genetics, 7*(6), 1-9. doi:10.1371/journal.pgen.1002120

Schimmel, J. (2014). *Molekulare Mechanismen der Ausprägung von Chemotypen in Thymus vulgaris* (PhD Thesis). Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,

Schuck, J., Gursinsky, T., Pantaleo, V., Burgyán, J., & Behrens, S.-E. (2013). AGO/RISC-mediated antiviral RNA silencing in a plant in vitro system. *Nucleic Acids Research, 41*(9), 5090-5103. doi:10.1093/nar/gkt193

Seilnacht. (o. J.). Retrieved from https://www.seilnacht.com/Chemie/problema.html#etherischeoele

Sigman, M. J., & Slotkin, R. K. (2016). The First Rule of Plant Transposable Element Silencing: Location, Location, Location. *Plant Cell*. doi:10.1105/tpc.15.00869

Singh, R. K., Gase, K., Baldwin, I. T., & Pandey, S. P. (2015). Molecular evolution and diversification of the Argonaute family of proteins in plants. *BMC Plant Biology, 15*(23). doi:10.1186/s12870-014-0364-6

Singh, R. K., & Pandey, S. P. (2015). Evolution of structural and functional diversification among plant Argonautes. *Plant Signaling & Behavior, 10*(10), e1069455-e1069455. doi:10.1080/15592324.2015.1069455

Spektrum-Verlag. (o. J.). Retrieved from https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/epistase/21953

Stahl-Biskup, E., & Sáez, F. (2002). *Thyme - The genus Thymus* (1 ed. Vol. 1): Taylor & Francis Inc.

Stroud, H., Do, T., Du, J., Zhong, X., Feng, S., Johnson, L. M., Patel, D. J., & Jacobsen, S. E. (2014). Non-CG methylation patterns shape the epigenetic landscape in Arabidopsis. *Nature, 21*(1), 64-73.

Suzuki, M. M., & Bird, A. (2008). DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nature reviews. Genetics, 9*(6), 465-476. doi:10.1038/nrg2341

Thompson, J., Charpentier, A., Bouguet, G., Charmasson, F., Roset, S., Buatois, B., Vernet, P., & Gouyon, P. H. (2013). Evolution of a genetic polymorphism with climate change in a Mediterranean landscape. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 110*(8), 2893-2897. doi:10.1073/pnas.1215833110

Thompson, J. D., Gauthier, P., Amiot, J., Ehlers, B. K., Collin, C., Fossat, J., Barrios, V., Arnaud-Miramont, F., Keefover-Ring, K., & Linhart, Y. B. (2007). Ongoing adaptation to Mediterranean climate extremes in a chemically polymorphic plant. *Ecological Monographs, 77*(3), 421-439. doi:10.1890/06-1973.1

Thompson, J. D., Manicacci, D., & Tarayre, M. (1998). Thirty-five years of thyme: A tale of two polymorphisms Why so many females? Why so many chemotypes? *BioScience, 48*(10), 805-815.

Throop, P. (1998). *Hildegard von Bingen's Physcia - The Complete English Translation of Her Classic Work on Health and Healing*: Healing Arts Press.

Underwood, C. J., & Martienssen, R. A. (2015). Argonautes team up to silence transposable elements in Arabidopsis. *The EMBO Journal, 34*(5), 579-580. doi:10.15252/embj.201590971

Vaucheret, H. (2008). Plant ARGONAUTES. *Trends in Plant Science, 13*(7), 350-358. doi:10.1016/j.tplants.2008.04.007 [Titel anhand dieser DOI in Citavi-Projekt übernehmen]

Vernet, P., Gouyon, R. H., & Valdeyron, G. (1986). Genetic control of the oil content in Thymus vulgaris L: a case of polymorphism in a biosynthetic chain. *Genetica, 69*(3), 227-231. doi:10.1007/BF00133526

Wang, F., & Axtell, M. J. (2017). AGO4 is specifically required for heterochromatic siRNA accumulation at Pol V-dependent loci in Arabidopsis thaliana. *Plant Journal, 90*(1), 37-47. doi:10.1111/tpj.13463

Wang, H., Zhang, X., Liu, J., Kiba, T., Woo, J., Ojo, T., Hafner, M., Tuschl, T., Chua, N. H., & Wang, X. J. (2011). Deep sequencing of small RNAs specifically associated with Arabidopsis AGO1 and AGO4 uncovers new AGO functions. *Plant Journal, 67*(2), 292-304. doi:10.1111/j.1365-313X.2011.04594.x

Wang, M., Deng, Y., Shao, F., Liu, M., Pang, Y., Li, C., & Lu, S. (2017a). ARGONAUTE Genes in Salvia miltiorrhiza: Identification, Characterization, and Genetic Transformation. In A. Carbonell (Ed.), (Vol. 1640, pp. 173-189).

Wang, Y., Xu, L., Thilmony, R., You, F. M., GU, Y. Q., & Colemann-Derr, D. (2017b). PIECE 2.0: an update for the plant gene structure comparison and evolution database. *Nucleic Acids Research, 45*(D1), 101-1020. doi:10.1093/nar/gkw935 [Titel anhand dieser DOI in Citavi-Projekt übernehmen]

Wassenegger, M., Heimes, S., Riedel, L., & Sänger, H. L. (1994). RNA-directed de novo methylation of genomic sequences in plants. *Cell, 76*(3), 567-576. doi:10.1016/0092-8674(94)90119-8

Wei, K.-F., Wu, L.-J., Chen, J., Chen, Y.-f., & Xie, D. x. (2012). Structural evolution and functional diversification analyses of argonaute protein. *Journal of Cellular Biochemistry, 113*(8), 2576-2585. doi:10.1002/jcb.24133

Weiler, E., & Nover, L. (2008). *Allgemeine und Molekulare Botanik*. Bochum/Frankfurt: Georg Thieme Verlag KG.

Wendte, J. M., & Pikaard, C. S. (2017). The RNAs of RNA-directed DNA methylation. *Biochemica et Biophysica Acta, 1860*(1), 140-148. doi:10.1016/j.bbagrm.2016.08.004 [Titel anhand dieser DOI in Citavi-Projekt übernehmen]

Wierzbicki, A. T., Ream, T. S., Haag, J. R., & Pikaard, C. S. (2009). RNA polymerase V transcription guides ARGONAUTE4 to chromatin. *Nature Genetics, 41*(5), 630-634. doi:10.1038/ng.365

Wiese, N., Fischer, J., Heidler, J., Lewkowski, O., Degenhardt, J., & Erler, S. (2018). The terpenes of leaves, pollen, and nectar of thyme (Thymus vulgaris) inhibit growth of bee disease-associated microbes. *Scientific Reports, 8*(1), 1-12. doi:10.1038/s41598-018-32849-6

Xie, M. Y., Bin. (2015). siRNA-directed DNA methylation in plants. *Current Genomics, 16*(1), 23-31.

Yang, D. L., Zhang, G., Tang, K., Li, J., Yang, L., Huang, H., Zhang, H., & Zhu, J. K. (2016). Dicer-independent RNA-directed DNA methylation in Arabidopsis. *Cell Research, 26*(1), 66-82. doi:10.1038/cr.2015.145

Ye, R., Wang, W., Iki, T., Liu, C., Wu, Y., Ishikawa, M., Zhou, X., & Qi, Y. (2012). Cytoplasmic Assembly and Selective Nuclear Import of Arabidopsis ARGONAUTE4/siRNA Complexes. *Molecular Cell, 46*(6), 859-870. doi:10.1016/j.molcel.2012.04.013 [Titel anhand dieser DOI in Citavi-Projekt übernehmen]

Zemach, A., McDaniel, I. E., Silva, P., & Zilberman, D. (2010). Genome-Wide Evolutionary Analysis of Eukaryotic DNA Methylation. *Science, 328*(5980), 916-919. doi:10.1126/science.1186366

Zhang, H., Lang, Z., & Zhu, J. K. (2018). Dynamics and function of DNA methylation in plants. *Nature Reviews Molecular Cell Biology, 19*(8), 489-506. doi:10.1038/s41580-018-0016-z

Zhong, X., Du, J., Hale, C. J., Gallego-Bartolome, J., Feng, S., Vashisht, A. A., Chory, J., Wohlschlegel, J. A., Patel, D. J., & Jacobsen, S. E. (2014). Molecular Mechanism of Action of Plant DRM De Novo DNA Methyltransferases. *Cell, 157*(5), 1050-1060. doi:10.1016/j.cell.2014.03.056

6. ANHANG

6.1. cDNA-SEQUENZEN DER AGOS AUS *T. VULGARIS*

In vivo nachgewiesen

TvAGO4 (2730 bp)

ATGGATCCATCTGAGCATGATGGAAATGGGGCCTCAGAAGATCTTCCCCCACCACCGCCGGTTCCTC
CAAATGTTACTCCCATAAAATTTGCTACAGAACCAGAATTGAAAAAATCATTCCTGACCCCAATGGCT
AGACGTGGGTTTGGAACTAGGGGAAACAAAGTCCCCCTTTTAACTAATCACTTTAAAGTGAATGTCA
GCAATGTTGATGGGAACTTCTTTCACTATAGTGTTGCCCTTTTCTATGAAGATGGGCGCCCGGTTGAT
GGCAAGGGTGTCGGCAGAAAAGTGCTCGACCGTGTTCGTGATACATACGATTCTGAATTGTCTGGG
AAGGAATTCGCTTACGATGGAGAAAAGAGTCTGTTCACTGTTGGTTCTCTTCCTCGTAATAAACTCGA
GTTTACTGTTGTCCTTGAGGATGTCACATCTAGTAGGAACAATGGGAATCGCAGTCCTGAAACGCAT
GGAAGTCCTAATGAAAGTGACAAGAAAAGGCTAAGACGCCCATACCAATCTAAAACCTTCAAGGTG
GAGCTTAGCTTTGCTGCTAAAATTCCCATGAAGGCCATTGCCGACGCTTTACGTGGCCAAGAATCTGA
AAACTCTATGGAGGCGTTCCGGGTTTTGGATATCATTTTGAGGCAAAATGCAGCAAAGAAGGGTTGT
TTGCTGGTACGTCAGTCGTTTTTCCACAATGATCCAAAGAGTTTTTCTGATGTGGGTGGTGGGGTCCT
TGGCTGTCGAGGTTTCCATTCAAGCTTCCGGACTACACAAAGTGGACTATCTTTGAATATTGATGTAT
CGACAACCATGATCATCCAGCCAGGGCCTGTTGCTGAATTTCTTGTTGCCAATCAAAAAGTGAGAGA
TCCTTTCTCACTTGATTGGGCAAAGGCAAAACGCACTCTCAAGAACTTGAGGATCACAACAAGCCCCA
CCAACCAAGAGTTCAAAATAACCGGGTTGAGTGAAAAGCCTTGCCGAGAGCAACTGTTCTCATTGAA
GCAGAGAAGTAAGGATGGTGATGGCGAAACAGTAGAAATCACTGTTTATGATTACTTTGTCAAACAC
CGTAATATTGACTTGCGATTTTCTGCTGATCTCCCTTGCATTAATGTTGGAAAACCTAAACGGCCTACA
TATTTCCCTATTGAGCTATGCTCTCTGATCTCGTTGCAACGATACACGAAAGCTCTGTCAACTTTCCAA
CGAGCAGCCTTGGTTGAGAAATCACGACAAAAGCCACAGGAGAGAATGTCTGTGCTTAGTAATGCTC
TGAAAATCAACGACTACGATTCTGAGCCTATGCTTCGTTCTTGTGGGGTTTCTATTAGTACTAACTTTA
CTCAAGTTGAAGGCCGTGTTCTCCCACCCCCTAAGCTAAAAGTTGCTAATGGAGATGATTTGTTTACA
CGCAATGGGAGGTGGAACTTCAATAATAAGAAATTTGTTAATGCTTGCAAGATTGAGAAATGGGCTG
TGGTTAACTTCTCTGCTCGCTGTAATGTGCGTGGTCTGGTCTCAGACTTGATGAGAGTTGGTGAATCG
AAAGGAATAGCTGTGGAGGAACCATTTGATGTTTTCGAAGAAAATCAACAGTTTAGACGAGCTCCAC
CTAAGGTTAGAGTGGACAAAATGTTTGAAGAGGTGCAGTCAAAGCTTCCTGGCCCACCAAGGTTTCT
ACTATGTTTGCTTCCGGAAAGAAAGAACTGTGACATTTACGGTCCATGGAAGCGTAAAAACCTGTCT
GATTTTGGAGTTGTTACCCAGTGCTTGGCACCAATGAAAGTCAATGATCAGTATCTTACCAATCTCAT

GTTGAAGATTAATGCTAAGCTTGGTGGGCTGAACTCTATGTTAGCTGCTGAGATATCTCCTTCGCTTC
CTGTGGTATCAAAGTCCCCCACCTTGATTCTGGGCATGGATGTCTCTCATGGTTCACCTGGAATGTCT
GATGTACCATCAATTGCTGCGGTTGTGAGCTCGAGGCAATGGCCTTCAATTTCTCGCTATAGAGCCTG
TGTCCGCACTCAATCTCCCAAGATGGAAATGATAGACTCACTGTACAAACGTGTATCAGACAGTGAA
GATGATGGAATTATGAGGGAACTTCTTGTCGATTTTTACTCGAGTTCTGGGAAGAGGAAGCCAGATC
AGATCATCATATTCAGGGATGGTGTGAGTGAATCACAGTTTAACCAGGTTCTCAACATTGAACTGAA
CCAAATCATAGAGGCCTGCAAATTCCTAGATGAGAACTGGAATCCGAAGTTTGTAGTCATTGTTGCC
CAGAAGAACCACCACACCAAGTTCTTTCTGCCAAATTCTCCTGATAATGTGTCGCCAGGGACAATAAT
TGACAACAAAGTCTGTCATCCCAGGAACTACGACTTTTACCTGTGTGCGCACGCCGGGATGATTGGA
ACAACGAGGCCTACGCATTACCATGTCCTGTTAGACCAGGTGGGCTTTTCAGCTGATGACTTGCAAG
AGCTCGTTCATTCCCTGTCTTACGTGTACCAGCGCAGCACAACTGCTATATCTGTCGTGGCCCCTATCT
GCTATGCTCACTTGGCAGCCACTCAGTTAGGCCAATGGATGAAGTTCGAAGATGCATCAGAGACATC
ATCAAGCCACAACGGAACGGGGTCTGAAACCGCTCCACCTGTGCCTCCAATGCCAAAGCTGAACGAG
ACTGTCCGTAACTCTATGTTCTTCTGTTAA

***TvAGO6* (2697 bp)**

ATGCAAGGAGAAATGGAGAAGGAACCACCACCACCGCCAAATATACAGCAAAGTTTGAAGGAAGAA
GGAGTTGACCTTCCTGCAAGGTCCATTATGACACGACCTGGATTTGGGACCTCTGGAAGACGTGTCT
CGTTGCTCTCTAATCACTTCAAAGTTTCCATCAGAAATCCAAAAGAGTTTTTTTACCAATACAGTGTTT
CTATGAGTTATGAGGATAATGTATCTGTTGAAAACAAGGTTATTGGGAGGAGAGTCATCGATAAACT
TTACCAAACATACTCTTCTGAACTAGCTGAGAAGGGATTTGCATATGATGGGGATAAGAGTTTGTTTA
CAGTGGGACCCTTACCAAAGAACAAGTTTGAATTTATGGTCATTCTTGAGGAATCTGCTGCCAAGAG
TAGTTGCAGTCCTTCCAAAAATGGTAGCATGACTGAGCCAAGCAAAAAGTCGAAGCACTCTCTACAG
TCAAAAGCATTCAAGGTAGAAATCAGCTATGCTGCTAAAATACCCTTGAGTTCCCTATCCTTTGCCCTT
CAAGGAGCTGAATCAGAATATGTTCAAGATGCTCTGAGAGTGTTAGACATCATTCTAAGGCAACAGG
CAGCTAAACGCGGCTGTCTATTGGTTCGACAATCATTCTTTCAGGATGATTCAAGGATGTTCACTGAT
GTTGGAGGGGGCGTGACAGGTGTCCGAGGACTCCATTCTAGCTTTCGTCCAACTCTTGACGGTTTAT
CTCTAAATATGGATGTATCAACAACCATGATCTTGAAACCAGGACCTGTTCTGGAATTCATTCTAGCT
AACCAAAATGTTAAGGATCCTCGCTATATTGACTGGGCAAAGGCCAAAAGGATGCTGAAGAATATG
AGGGTTAAGGCTATTCATAGTAATAGGGAGTTCAAGATTATAGGCTTAAGCGAGAAACCCTGCAATC
AGCAGTTTTTTTCCTTGAAAGTAAAAAGTGGCAGCACTGCTGGAGTCAGCGACGAAGCAATTGAAAT
TACTGTTTATGAATATTTTGTTAAACACCGAAATATTGAACTTAAGTTGACAGCCTACATGCMWKGC

CTTGATGTTGGGAAACCAAAACGACCAAACTATCTGCCATTGGAGCTCTGCTCTTTAGTCTCTCTTCA
GAGATACACAAAAGCATTATCAGTGACCCAAAGATCATCCTTAGTTGAAAAATCAAGGCAAAAGCCA
CCTGAGAGAATTCGCATAGTAACTGATGCTGTGACGAACTACAAGTATGATGAAGATCCACTCCTTG
TCTCTTGTGGTATATCAATTGAAAAGCAGCTTAGTCGAGTAGATGGACGGGTCCTTGACCCACCAAA
GTTGAAGTTTGGGAATAATGAAGATTTTTTGCCCCGGAATGGTCGGTGGAACTTCAATAACAAGAAA
CTTCTGAAGCCCCAACATATACAAGATTGGACACTTGTCAATTTCTCTGGACCTTGTGACTGTAGTCG
TCTTTCACGGGAGCTGATCGACTGTGGGAGGAGCAAAGGCATTGAAATTGAACGCCCATATACGATC
ATTGAAGAAGATTCACAAAGCAGAAAAGCTAGCCCTTTCGTACGTGTAGAGAAGATGTTTGAGCAAA
TTATGGCCAAGCTAGCTGGCCCTCCAGAATTTCTGCTTTGTGTTCTGCCAGAACGGAAAAATTGTGAT
ATTTATGGACCTTGGAAGAAAAAATGTCTGAGTAACTTGGGTATTATCACCCAATGCATTTCTCCTAT
TCCTAACAAGATCAATGATCAGTACCTTACGAACGTCCTCCTCAAAATAAATACCAAGCTAGGGGGA
ACCAACTCGTTGTTAGCAATAGAGCACTCCAATCGAATTCCAGTAGTTACAGATCAGCCAACCATGAT
CTTGGGAATGGATGTTTCACATGGTTCTCCTGGTCGATCTGATGTTCCGTCGATTGCTGCTGTTGTTG
GATCGCGAAGCTGGCCATTGATATCAAAATACAGAGCAGCTGTACGAACTCAACCTGCAAAGACAG
AAATGATTGCATCTTTGTTCAAGCCACTAGCAAATGGGCAGGATGATGGTATTATGAGAGAACTGCT
GCTGGATTTCTATCAAACCAGTAATAAACGCAAACCAACTCAAATTGTTGTATTCAGGGATGGTGTCA
GCGAGTCCCAGTTTGCTCAGGTTATAAACATTGAGCTTGATCAAATGATAAAGGCATATCAGCATCTT
GGCGAGACTGATATTCCAAAATTCACCGTGATAGTGGCCCAAAAGAATCATCATACCAAGCTATTCC
AAGCTTCGTCTCCAGAAAATGTACCCTGTGGTACTGTTGTGGATGCTAAGATCGTTCACCCTAGAAAC
CATGATTTTTACATGTGTGCTCAGGCCGGTTTAATAGGAACATCCCGACCTGCCCACTATCATGTCTT
GCTCGACGAGATTGGTTTCTCCCCAGATGTACTGCAGAATCTGATCCATTCACTATCATACGTTTACCA
GAGAAGCACCACTGCTGTCTCCATAGTTGCGCCAGTATGCTATGCACATCTTGCAGCCCAGCAGGTA
GGCCAGTTCATGAAGTTTGAGGACTTATCTGAAACTTCGTCCGGAAAAAATAGTGTGACAGCAACAG
AGAATGTACCCGTACCCGAACTTCCCAGGCTCCACGAGAATGTTGCTGGATCGATGTTCTTTTGTTGA

***TvAGO9* (2787 bp)**

ATGGCTACGGATGCTGCTAATGGAAATGGTGCTGCTAATGGAAATGGGGCAACTCTAGAGCATGAT
GGCAATGGTGTTCATGATGGAAATGGGGCTGCAGATACTCTGCCCCCACCACCACCGGTTCCTCCAA
ACGTGACTCCTACAAAAGTTGAGCTGGAGGCAGAATCACAAAAGGTTGTGAGGTACCCAATGGCTA
GACGTGCCCCTGGAACAAAGGGAAATAAGGTCCCGATCCTAACGAATCACTTCAAAGTGAATGTTTC
CAATCTTGATGGGAATTTTTTCCACTACAGTGTTGCCCTGTTCTATGAGGATGGCCGTCCCGTTGATG
GGAAGGGCGTGGGGAGGAAAGTGCTTGACCGAGTTCGTGAGACATATGATACTGAGTTGGCTGGC

AAGGAGTTTGCCTATGATGGAGAGAAGACTCTATTTACTGTTGGCCCGCTACCTCGCAACAAGCTCG
AGTTCGATGTGGTGCTTGAGGATGTTACGTCGACTAGGAACAATGGTAACTCCAGCCCAGATAATGA
TAGCGATAGGAAAAGGATGAGACGTCAATACCAATCGAAAACTTTCAAAGTGGAGATCAGCTTTGCT
GCCAAAATACCCATGAAGGCCATTGCTAATGCCTTGCGTGGCCAAGAATCTGAGAGCTCTCAGGAAG
CTATAAGGGTTTTGGATATCATACTAAGGCAGCATGCAGCAAGGAAGGGTTGCCTCTTGGTTCGTCA
ATCTTTTTTCCATAATGAGCCAAAGAATTTTACTGATGTTGGAGGTGGTATTCTTGGTTGCCGAGGAT
TCCATTCCAGCTTTAGAACGACCCAAAGTGGCTTGTCTTTAAATATTGATGTTTCAACTACCATGATTA
TCCAGCCCGGATGTGTCACAACCTTTCTGGTTGCCAATCAAAATGTCAGAGATCCCTCCGGAATTGAT
TGGGTTAAGGCCAAGCGTACTCTAAAGAATTTGAGGATTACAACAAGTCCGACAAATCAAGAGTACA
AAATTACTGGGTTAAGTGAGAAGTCCTGCCGGGAGCAACTATTCACACTGAAGCAAAAGAAAGGTG
ATGGAGGAATTGAAGGTGAAGCAAAAGAAATTACTGTGTATGATTACTTTGTAGACCACCGGAAAAT
CAACTTGAGATTTTCTGCTGATCTTCCTTGCATTAACGTTGGAAAGCCTAAGCGACCAACTTATGTCCC
AATAGAGTTATGTTCTCTAGTCTCTTTGCAACGTTACACTAAAGCTCTATCAACATTCCAACGATCCTC
CTTGGTGGAGAAATCACGTCAAAAGCCACAAGAGAGGATGTCTGTGCTGAGTAATGCTCTGAAAATC
AATGACTATGGTGCTGAACCCATGCTTCGATCTTGTGGGGTTGCTATCAATAGTAGCTTTACTCAGGT
TGATGGCCGTGTTCTGCCGACCCCCAAGCTCAAGGTTGGTAATGGAGAAGATTTGTTTGTCCGTAAT
GGGAGATGGAACTTTAACAATAAGAAATTCGCTAAGCCATGTAAGGTAGAAAAGTGGGCTGTTGTC
AACTTTTCTGCCCGTTGTGAGATACGTAACCTGATTAGTCAACTGATCAAAGTTGGGGAAGCAAAAG
GAATAGCTGTTGAAGATCCCTATGATGTTTTTGAAGAAAGCCCGCAGGCTCGTCGAAGACCGCCGAT
GGACAGAGTCAACAGTATGTTTGAACAGGTTCAGACAAAGCTTCCTGGCCCGCCGATGTTTCTTCTCT
GTTTGCTTCCAGAGCGGAAAAACTCAGACCTTTATGGCCCTTGGAAGCGGAAAAACTTGTCTGATTTT
GGCATCGTCACACAATGCCTTGCTCCAACCCGGGTGAATGATCAATATCTTACAAATCTATTGCTGAA
GATCAACGCAAAGCTTGGTGGTGTAAGCTCTTTGTTAGCTGGAATGCCGGCTACAATTCCAGTGGTA
TCAAAGGTTCCCACACTTATCCTTGGAATGGACGTGTCTCATGGCTCTCCAGGACAGTCCGACATTCC
ATCAATTGCTGCGGTTGTTAGCTCAAGACTATGGCCGTCAATAAGTCACTATAGAGGAGCTGTTCGC
ACTCAATCTCCAAAACTTGAAATGATGGATTCCCTATACAAACGGGTCTCAGAAACTGAAGATGATG
GCATTATGCGTGAACTTCTTCTTGATTTCTACGAAAGCTCTCAGAAAAGAAAGCCAGACCAGATAATC
ATTTTCAGAGATGGTGTTAGTGAGTCTCAGTTTAATCAGGTTCTGAATATTGAACTAAATCAGATTAT
AGAGGCATGCAAGTTCCTGGATCAGACATGGTGTCCCAAATTTGTGGTTATCATTGCACAGAAAAAT
CACCACACAAAATTCTTTCTGCCGAATTCACCTGATAACGTGCAGCCTGGGACGATCATTGACAATAA
AGTTTGTCATCCGAAGAATAATGACTTTTACTTGTGTGCACATGCTGGGATGATTGGAACGACTAGG
CCAACTCACTATCATGTCCTATTGGATGAGATCGGCTTCTCCCCTGATGACTTGCAGGAGCTTGTTCA

CTCACTGTCCTACGTGTACCAGCGCAGCACCACTGCAATATCTGTTGTTGCCCCCATATGCTATGCTCA
CTTGGCAGCCACCCAGTTAGGGCAGTGGATGAAGTACGAAGACGCATCAGAGACTTCGTCTAGCCA
CAACGGAACAGGGTCCGGTACTGGTACTGCTCCTGCTGTTCCTCCAATGCCTAAGCTAAATGCGAAC
GTTCGCAACAGTATGTTCTTTTGTTAA

***TvAGO10* (2973 bp)**

ATGCCTATAAGGCAGATGAAAGAAAATTCAGAGCAACACTATGTTATCAAACCTCAGTTGCAGCAGC
ACAACTCCATGAATGCAACTCCAAAAACCTCCAAAACTGCTCAAAATGGGAAAGGCCCACCACCAGT
TCAAGAATCCCAGACCAACAAAGCTCAAAACCAGTCCTCCCCTCCATCGAGAAACAGGGGATGGAG
GAGGGGTCGAGGGGGCCGGAAATCGGATCAAGGCGACGCGTGTATGAGGCCGAGTTCGAGGCCAT
GCACCGCAGCTGACAAGCCGATTGTGAGAGAGAATGGTAGAGCTATTGTTCCAGTTTTGTGCAGCAA
TGGATCAGCTGGGAATGGAGGGAGCTTGTCTCAATCAGACATGGGATTCCCTAGTTCGAGCAAATCT
TTGACTTTTCCGATGAGGCCGGGGTTCGGCCAGCTCGGGACGAAATGCATCGTCAAGGCCAACCATT
TCTTTGCAGATTTGCCACAGAAGGATTTGAACCATTATGATGTAACTATTACCCCTGAGGTGACTTCT
AGAGTCGTGAATCGAGCTATAATGGCGGAGCTCGTGAAATCGTACAGAGAATCTGAATTGGGCATG
AGATTGCCTGCCTATGATGGAAGGAAGAGTCTGTATACAGCTGGTGAACTTCCTTTTGCTTGGAAGG
AGCTCGCAGTTAAGCTTATTGATGAAGAGGATAGCATAAATGGTCCCAAGAGAGTAAGGGAGTATA
AAGTAGTACTTAAGTTCGTTGCGAAGGCAAACTTGCATCATTTGGAACAATTTCTTGCTGGTAAAAG
GGCTGATGGCCCTAAGGAAGCTCTTCAGATTCTTGACATTGTACTGAGAGAGCTCTCGATGAAAAGG
TTCTGCCCGGTCGGGAGGTCATTCTTTTCTCCTGATATACGGAAACCACAAAAGCTCGGTGATGGTTT
AGAGGCATGGTGTGGATTTTATCAGAGTATAAGACCTACTCAGATGGGCTTGTCGCTTAATATAGAT
ATGGCTTCAGCTGCATTTATTGAGGCTTTACCAGTGATTGAGTTTGTTGCTCAACTACTCGGGAAAGA
TGTTTTGTCAAGGCCATTGTCTGATTCAGACCGTATTAAGATTAAGAAGGCCCTTAGAGGAGTAAAA
GTTGAAGTGACACACAGAGGGGATGTACGAAGAAAATATCGAGTTTCAGGCATCACAACTCAACCA
ACTAGAGAGCTAGTATTTCCTGTTGATGATATCTCGACCATGAAGTCGGTTGTCGAATACTTCCAAGA
GATGTATGAATTCACAATTCAATATACTCATCTGCCTTGCCTTCAAGTAGGAAACCAGAAGAAGGCTA
ACTATCTGCCTATGGAGGCCTGTAAAATTGTCGAGGGCCAAAGATACACTAAGAGGTTGAGTGAGA
AACAAATCACCTCCCTTTTAAAGGTCACATGCCAAAGACCAAGGGATCGAGAAAATGATATTTTGCA
GACTGTCCAACACAATGGTTACGACCAAGATCCTTATGCAAAGGAGTTTGGAATGAGGATTAGTGAA
AAACTGGCAACAGTGGAGGCAAGAGTTCTTCCTGCACCTTGGTTGAAATATCACGAGACTGGAAAA
GAAAAAGATTGCTTGCCCCAAGTCGGCCAGTGGAATATGATGAACAAGAAAATGATAAATGGCATG
ACTGTCAGTAGATGGGCATGTATTAACTTCTCACGAGGTGTTCAAGACAGCGTTGCTCGAGGATTTT

GTAATGAGCTTGCCCAAATGTGCCAAGTATCTGGCATGGAATTTACTCCGGAGCCAGTTATTCCTATC
TTTAACGCCCGACCAGATCAAGTTGAGAAAGCTTTGAAGCATGTTTATCATGCATGCATGAACAAATT
AAAAGGAAAAGAGTTGGATCTTCTGTTGGCTATTTTGCCTGACAACAACGGGTCCCTATATGGTGAT
CTGAAGCGAATATGTGAAACCGACCTCGGTATTATATCCCAATGTTGTTTGACGAAACATGTTTTCAA
GATCAACAAGCAATATTTGGCTAATGTGTCCTTGAAAATTAATGTTAAGATGGGGGGCAGAAACACT
GTTCTTGTGGATGCTCTTAGCTGCAGAATTCCGTTAGTTAGTGACATTCCTACAATTATATTTGGAGCA
GATGTCACGCATCCTGAGAATGGAGAGGAGACGAGTCCTTCGATTGCTGCGGTTGTAGCATCTCAAG
ATTGGCCTGAGGTGACCAAGTATGCCGGATTAGTTTGTGCTCAAGCTCATAGACAAGAATTAATACA
AGATTTGTACAAGACTTGGCAGGATCCCGTTCGTGGTACAGTCAGTGGAGGAATGATCAGGGATCT
ATTGGTTTCTTTTAGAAAAGCAACTGGTCAAAAGCCACAGAGGATCATATTTTACAGGGATGGGGTG
AGTGAAGGGCAATTTTACCAGGTGCTGCTCTTCGAGTTGGATGCTATAAGAAAGGCTTGTGCTTCTTT
GGAGCCAAATTACCAACCACCGGTCACGTTTATTGTAGTTCAGAAACGACATCATACCAGACTCTTTG
CGAATAATCACAGAGACAAGAGCAGCACTGATAGGAGTGGAAATATATTACCAGGCACGGTTGTCG
ATTCCAAAATCTGCCATCCAACGGAATTTGACTTCTATTTGTGCAGTCATGCCGGAATTCAGGGAACA
AGTCGACCAGCACATTATCATGTACTATGGGATGAGAACAATTTCACTGCAGATGGAATTCAGTCGT
TGACGAACAATCTTTGTTATACATATGCTAGGTGCACACGTTCCGTCTCAGTTGTTCCTCCGGCTTACT
ACGCTCATTTGGCTGCTTTTCGAGCAAGGTTCTACATGGAACCGGACGTGCAAGAGAATGGCGGGG
TCAAGGCCCCACGAGTAGTCGGAGAAACGGGTTTCCGTCCTCTACCGGCCCTGAAAGAAAATGTAAA
GAGAGTCATGTTTTATTGTTGA

In silico vorhergesagt

***Tv L1 mRNA; TvAGO1*-Kandidat (3252 bp)**

ATGGCTCGAAAGAGGAGAACTGAACTTCCTGGAGGTGAGAGCTCCGAGCCTCAAGAAACTAGTGGA
GAACGCGGTGGTGCTCAGCGCCCACCTGCCCAACAGCAGCCGCAGCCGCAGCCACAGCCACAACCG
CAACCACAACCACAGCTACAACAGTCACAGCAGCAAGGGGGATATCAAGGTGGAAGAGGCTGGGC
ACCTCAACGCGGTGGGGCCTATGGTGGCCGTGGTGGGGGCAGAGCTGCTCCTCCTCAGCAGTATTA
TGGTGGACCTCCCGAGTATCAGCCTGTCCAGGGCCAGGGCCAGGGTCAGGGCCAGGGTCGTGGTG
GTCAGCAGCAGTATGGCCGAGGAGGTGCGCCACGCCGTGGGGCATTTGTAGGTGGCCGCGAGGCA
CCTTCTGCTGGTGGGCCATCTCGTCCACCGGCTCCCGAGCTGCACCAAGCTATGCAGTCACCATATCA
AGCAGGGATGACTAAGCCGAGGCCCGTTGAGACATTTCCAGGGACAAGTTCCTCTTCCCAGGTACCT
GATCCCCCTCAGACTTCAGAAGTTACTGAACAGATCGAGCAACTCTCTATCCAGCAAGTAACCCCAGG
TCAAGATTTGGCACCGGCTTCTAGCAAATCGTTGAGATTTCCTTTGAGGCCAGGCAAGGGAAGTGTT
GGTGCAAAGTGTGTGGTGAAAGCCAATCACTTTTTTGCGGAGCTTCCAGACAAGGACTTGCATCAAT
ATGACGTCTCGATTACTCCTGAAGTTACATCCCGGGGAGTTAATCGGGCTGTGATGGAGCAGTTAGT
AAAGCTATACAGGGAGTCCCATCTGGGTAGGAGGCTTCCTGCCTATGATGGGAGAAAAAGCCTGTA
TACTGCTGGACCACTGCCTTTTGCTTCTAAAGAATTCAAGATAACTCTTATAGATGAAGAAGATGGCC
CTGGTGGCTCCAGGAGAGAACGTGAATTCAAGGTGGTTATCAAATTTGCTGCACGAGCTGACCTGCA
CCATCTAGGAATGTTCTTACAGGGTAGACAAGCGGATGCCCCACAAGAAGCACTTCAGGTTCTGGAC
ATTGTACTTCGTGAGCTTCCAACCTCTCGCTACTGCCCGGTTGGTCGTTCTTTCTATTCCCCTGATTTAG
GCAGAAGGCAACCTCTGGGGGAAGGCCTTGAGAGTTGGCGGGGTTTTTATCAGAGCATTCGTCCCA
CTCAGATGGGTCTGTCTCTGAATATAGATATGTCATCAACTGCTTTCATCGAACCACTCCCAGTGATT
GATTTTGTGGCCCAGCTTCTGAATCGGGATGTGTCTGCTAGACCATTATCTGATGCTGACCGTGTTAA
GATCAAGAAAGCACTTAGAGGGGTAAAGGTCGAGGTTACTCATCGAGGAAACATGCGAAGGAAAT
ATCGTATCTCTGGTTTGACTTCTCAGGCAACTCGTGAGCTCACATTTCCAGTTGACGAAAGGGGTACA
ATGAAATCTGTGGTGGAATACTTCCAAGAAACATATGGATTTATCATTCAACACACCCAGTGGCCTTG
TCTTCAAGTAGGAAATACTCAAAGGCCAAACTATTTGCCTATGGAGGTGTGCAAGATAGTTGAAGGT
CAGAGATACTCTAAGAGGTTAAATGAGAGACAGATCACTGCACTGCTAAAAGTGACTTGCCAGCGTC
CTCAGGAAAGAGAACTTGACATTCTTAAGACTGTTCACCATAATGCATACGGTAATGACCCATATGCA
AAAGAGTTTGGAATCAAGATTAGTGAGTCGTTGGCACAGGTTGAGGCTCGTGTCCTCCCCCCACCCT
GGCTTAAATATCATGATTCGGGTAGGGAGAAGGACTGTCTTCCACAAGTTGGGCAGTGGAATATGA
TGAATAAGAGGATGGTCAATGGTGGCACTGTGAACAGCTGGATCTGTATTAACTTTGCTCGAAACGT
TCAAGACAGTGTGGCACAGAGCTTCTGTCACGAACTTGCTCAGATGTGCATGACTTCTGGCATGGCG

TTTAATCCTCAGCCTGTTCTGCCCGTCATGAGTGGTCGCCCGGATCAGGTTGAAAGAGTTTTGAAGGC
TAGGTATCATGACGTGACAACTAAACTACCGCCAAATAAAAAAGAGCTTGACTTGCTTATTGTAATAT
TGCCTGACAACAATGGCTCTCTATATGGTGATTTGAAGCGTATATGTGAGACCGACCTGGGCATTGT
CTCACAATGTTGTCTGCAGAAGCACGTTTATCGGATGAGCAAACAGTATCTTGCCAATGTTTCACTCA
AGATAAATGTCAAAGTTGGTGGCAGGAACACTGTTCTGGTTGACGCCCTCTCCAGGCGTATACCCCT
TGTGAGTGATCAGCCTACAATTATTTTTGGTGCTGATGTTACACATCCGCATCCTGGAGAAGATTCTA
GCCCATCAATTGCTGCTGTCGTCGCTTCTCAGGATTGGCCTGAGGTCACAAAATATGCTGGCTTGGTT
TGTGCACAAGCGCACAGACAGGAGCTGATTCAAGACCTGTACAAAACTTGGCACGATCCTCAAAAG
GGAACCGTGCATGGCGGCATGATCAAGGAATTGCTCATTTCATTCCGCAGAGCAACTGGACAGAAAC
CTCAACGCATAATTTTCTACAGGGATGGAGTAAGTGAGGGACAGTTCTATCAAGTTTTGCTTTATGAA
CTCGATGCCATTCGCAAGGCCTGTGCATCTCTGGAACCAAACTATCAGCCTACTGTTACCTTTGTGGT
GGTTCAAAAGCGTCACCACACTCGATTGTTTGCTAATAACCATCGTGACCGACATGCTGTCGACAGAA
GTGGGAATATTTTGCCAGGTACTGTTGTTGATTCAAAGATCTGCCACCCCACAGAATTTGATTTCTAC
CTGTGCAGCCATGCAGGGATTCAGGGAACTAGTCGTCCGGCTCATTACCATGTGCTATGGGATGAGA
ATAAGTTTTCAGCCGATGCACTGCAGTCCCTTACTAACAACCTCTGTTACACATATGCAAGATGTACA
CGATCTGTCTCAATTGTGCCTCCTGCATACTATGCACATCTTGCTGCTTTCCGTGCTCGATTCTACATG
GAGCCTGAGACCTCTGACAGTGGGTCTATGACAAGTAGTGCTGTTACTGGTCGTGGTGGAGGTGCA
GGTGCGAGAAGTACGAGGATGCCGGGGCCCAATGCTGCTGTGAGGCCGCTCCCCCAGCTTAGGGA
GAATGTTAAAAGAGTGATGTTTTACTGTTGA

***Tv L2 mRNA*; *TvAGO3*-Kandidat (2454 bp; bezogen auf SmAGO3 als Referenz, fehlen etwa 339 bp inkl. Start-Codon)**

ACCATATATCATTATAGTTTGGATATCAGGCAGTCAGCATCCCATGGAAAAAGACCAGTAAGAAAAT
CGAGATTCAAGGCTGGACTGCGTCTGATACTAAACAAACTCTTCCTTGATGATCAAGCTCGATTTCCG
GCTAACCGGACTGCTTATGATGGTGAAAAGAATCTCTACAGTGTGGTTTCACTGCCCACTGGTCAATT
CAAAGTGGAGCTCTCTGGTGAAGACTCGTCTACTCAGACTTACGTGGTTTCCATCAAGATAATGAAT
GAGCTGAAGCTTTCCAAGCTGGAAGATTATTTGACTGGTAAGGTGCCTTATGTGCCTCGTGATATACT
GCAAGGGATGGATATGGTGATGAAGGAGAATCCTTCAAGGTATAGTATCTCCATCGGTCGACACTTT
TACCCTTCCAGTTTCAAAGTAGAGGATGATCTTGGGCGCGGTATTGCAGCATATAGAGGCTTTCAATC
GACTCTTAGGCCTACTGCCCAAGGCCTTGCATTGTGCTTGGATTGTTCGGTCATGACATTTAGGAAGC
CATTGCCAGTTGTAGAGTTCCTCAAGGAGAATATACCTGAATTTGATGGAGCGTTTCTTGATCTGAAC
TTGAGGCGAAAAGTTGCAAATGCTTTGAAAGGGTTGACGGTAAGAGTAACTCATCGTCTTACTAAAC

AACTATTCACTATAGCTGGTTTGACTGGGAAAAGTACCCGTGATCTTTGGTTTGACTTTGTTGATCCG
AAGGGAAAGGATCCGACTGTGAAACTCAGCCTGGTGCAGTATTTTCGGGAGAAATATGGTAAGGAA
ATCATTTACCAGGATGTCCCTTGCTTGATTCTTGGCAGAAATAATCGGACAAATCATGTTCCAATGGA
ATTCTGCATCTTGACTGTGGGGCAACGGTACAAAAAAGAGCTTTTGAATGAATCTAGACGGGAGAAA
TTGAAAGAAAAATGTCTGGCTTGGCCACCAGAAAGGAGAAAGATAATCAGTGAGATGATGCAAGAT
CTTGATGGGCCTTGTGGAGATGTCACTCGAAATTTCGGACTTCAAGTTGATAAGAACATGACATCTGT
TGAAGGTCGGATAATAGTCCCACCTGATCTGAAGCTCGGTGCTGCTGATGGTACTGTTGATGTAGTA
AGAGTTGAGAACGAGAAACGACAATGGAACCTGGCTGAGAGCTCTGTTGTGGAAGGGAAACGAAT
CGATAGATGGGCATTGATTGACTTTAGCTCTTCTGATTTTTCCAAGCTTAGAGCAAAAGACTTCATTA
CCAGTCTGAGAAATAGATCCATGAGTTTAGGAATCTTCATGGAAGAGCCTTTGCTCTGCCATATTACG
AGCATGCGCGAGTTCTCTTCAGTCAGCAGGCTCGAAGTCCTTCTCAGAAACGTCATTCAAGAAGCTA
ACAGAAAATGTTGTAACAAATTGCAGATAATAATCTGTGTAATGGCTGAGAAGCACCATGGATATAA
GTACCTTAAATGGGTGTCTGAAACTCGGATAGGCGTCGTAACACAGTGTTGCTTGTCCCACCATGCG
AACAAAGGAGACGACCAGTTTCTTGGAAACCTCTGTCTGAAAATCAATGCGAAGCTTGGAGGAAGC
AACGTGGAGCTCATTCAAAGGCTTCCGCATTTCGAAGAGGAAGACGACCATGTTATGTTCATTGGCG
CCGATGTTAATCATCCAGTCTCAAAGAAATCAGTGACACCATCTATAGCCGCTGTCGTCTCCACGATC
AACTGGCCTGCTGCGAATCGCTATGCTGCGAGAGTTTCGCCTCAAGACCACAGAACCGAAAAGATCC
TCGACTTCGGATCCATGTGTAGGGAGCTTGTCAACACTTATTACGAAGTCAATAACGTTAGGCCAAA
GAAGATTGTTGTTTTTCGCGATGGAGTAAGTGAAGGACAGTTTGATATGGTGCTAAACGAGGAGCT
ATCAGACTTGAAAAGGGCCATTTTCGATGATCATTACCAGCCAAGAATCACACTCGTCGTGGCTCAG
AAGAGGCACCAAACTCGTCTCTTCCTCGAAAATTTCGAAGACGGGAGCACTACCGGAAATGTGCCAC
CTGGAACTGTTGTGGATACGAAGATCGTCCATCCATTCGAGTTCGATTTCTACCTCTGCAGTCACTAC
GGAAGAATCGGGACGAGCAAGGCTGTGCGATACTGCGTGCTGTGGGATGAAAATTCCTTCACATCT
GATCAACTGCAGAAGCTTATATTCAACCTATGCTTCACTTTTGCACGGAGCACGAGACCCGTTTCGCT
TGTTCCACCCGTTTACTACGCGGACCTCGTGGCCTATCGAGGCCGTCTTTTTCAAGAAGCGGCAAAG
GAGTTCGATTCTCGTCCCACTCCCACGTCGAAGCCTGGTACTTTTGATTTAGGTTTCTATAAGCTTCAT
CCTGATCTTGAGAACATCATGTTTTTTGTTTGA

***Tv A1 mRNA*; *TvAGO7*-Kandidat (3048 bp)**

ATGGAGGAGGAAGAGTCCAATACCAATACCAATACCAATAGCAGCAGGAAATGCAGCCCCAAAACC
AGGAGTTTTAGAGAGAGGAGAGAGAGAGCTTACACCTATCAGTATCACCACCACCACCACCATCACT
TGCTGCAGAACTCATACAGCTTTGGCTATGGCTTCGGATTTGGTTACCAGAATCCATACCAAAGCTTC

CCTGCTTTGCTCCCTCTGCCTCCCACCATTCCTCTGCACCTCACTGTTACTTCTTCACCTTTCCCTCAAAA
TCACACCTTTGGACAAAAACCCCACCTTCGGAGAGGTCTATGTAGGCAGACCGCCCCTTCTCTTGCAA
CTTCCTCGGATTACCATGTCCAAGATTTCTCTGTTGCTCAAGGTAAAAAGGAAACCTCAAAGGCAGTT
AGCTTGCCTTATAACAAGAAGGAAAATGCAAGGAAGGTTTCAAATTCTAAGGCAATGCCATATGCAT
TAGCAAGAAGGCCAGATTCTGGTGGGGTGGAAGGGAGAGTTGTCACTCTCCTAGCTAATCATTACTT
GGTGAAGTTCAGCCCTTCACACAGAATTTTCCATTACGATGTCGAGATATCTCCGAATCCCTCGAAGG
ATATTGCTCGTAGGATCAAGAGAAAACTGGTTGAAGATCATCCGAAGCTGCTGTCTAATGCTCTCCC
GGTTTATGATGGTCGAAGAACGCTGTATAGCCCGGTTGAGTTCCTAGAGGATAGGCTCGAGTTCTAC
ATTGGCCTCCCAGTTGCTGTAGGCAAGAGAAGTGTTGCGTTGTCTCCAGAAATGGGGGAGCTCTCTC
AGAAGAAGATGTTTCGAGTGAATGTCAAGCTTGTGTCGAAGTTGGATGGAGAGGTTCTGAGCAAGT
ATTTGGATAAAGGAGATGAATCCACTCCTCTTCCTCAGGAGTACCTCCATGCTCTTGATGTGGTTCTG
AGGGAGGGGCCTTCGGAGAAATGTATAGCTTCGGGGAAATCCTTTTACTCGAGTTTAATGGGAGGG
GCGAAGGAAATAGGAGGAGGGGCTATTGCTTATAGAGGATTCTTTCAAAGTTTGAGGCCAACTCAG
CAAGGCCTCTCTCTCAATGTGGATTTCTCGGTGACAGCCTTCCACGAGAGTATTGGAGTGATCCCGTA
TCTTCAGAAACGGTTTGATTTCATGCGCGAGGTGTGTCAGAGGAAGTCGAGGTGCTTGAGGATCGA
AGAAAGGAAGGAAGTGGAGAGAGCTTTGAAGAATATGAGGGTCTTTGTTTGCCATAGGGAAACTGT
TCAGAGATATAGAGTCCATAGCTTGACTGAAGAGGTCACTGAGAATCTCTGGTTTCCGGATCGAGAT
GGTGGAAATTTACGTCTCGTGAGCTATTTCAAAGATCATTACGACTATGAAATCGAGTATAGGAATCT
GCCATGCTTGCAGATTAGTAGGAGGAAGCCTTGTTATCTACCTATGGAGCTTTGTATGATTTGTGAAG
GGCAGAAGTTTCTTGGGAAGCTCTCGGATGATCAGACGTCGAAACTGATCAAAATCGGCTGCCAAAA
GCCGTTGGATCGGAAAGCCATAATCGATGGAGTTATGGAAGGAACATCAGGTCCAACCAGTGGCAA
CGTGGCGAAAGAGTTCAAGCTAGAAGTTTCGAGGGAGATGACAAAGTTGAAAGGAAGAATTCTTGA
GCCTCCAAAGCTCAAGCTTGGAAATGGTGGACATGTTAGGAATCTAACTCCCTCGCGCCATGACCGG
CAATGGAACCTTCTAGAAAGCCACGTCTTCGAAGGGACCCGTGTCGAGAGATGGGCTGTGATAAGC
TTTGGTGGCTCCATTGATCAGAAAGCAAGCATTTCAAGATTCATACACCAGCTATCTCAGAAGTGTGA
GCAATTAGGCATCTTCCTCAACAAAAACACTGTCATTAGTCCGATTTTTGAGCCGATGCATGTTCTTG
GAAATCCGAAACTGCTGGAATCGAAGCTGAAGAAGATTCAAAAGGCCTCTTTCAACAATCTTCAGCT
CTTGATCTGTGTAATGGAGAAGAAACACAAAGGGTACGCAGATTTGAAGCGAATTGCAGAAACGAG
CATCGGTGTGTTAAGCCAGTGCTGTCTGTACTCAAATCTCGGAAAGTTGACGTCACAGTTCCTCACAA
ATATAGCTCTCAAGATCAATGCCAAGATCGGTGGAAGCACGGTTGCTTTATACAACTCGCTGCCTTCT
CAAATGCCGAGGCTCTTTAGCATCGAAGATCCGGTCATCTTCATGGGAGCCGACGTCACTCATCCTCA
CCCTTTAGACGACACCAGCCCCTCGATTGCAGCTGTGGTGGGGAGCATAAACTGGCCGAACGCGAA

CAAGTACGTCTCAAGAATGAAGTCTCAAACTCACAGGCAAGAGATCATTCAAGATTTGTCTTCAATG
GTGAAGGAGATTTTGGATGACTTCTACGAGGCTCTCTCCCAACTTCCAACGAGAATCATCTTCTTTCG
AGACGGGGTGAGCGAGACTCAGTTCAAGAAAGTTCTGGAAGAAGAGCTAGAGGCGATCCGAGTTG
CTTGCTCAAAGTTCATCAGCTACAATCCACCCATCACTTTCCTAGTAGTGCAGAAAAGGCACCATACC
AGGCTATTCCCATTCGAGAACAAGAATCAGAACTCGAACCCAAACGAGGAAAATATCCATCCGGGAA
CAGTAGTGGACACCGTGATCACCCATCCCAAAGAGTTCGATTTCTACTTATGCAGCCATTGGGGCGT
GAAGGGCACGAGCCGACCAATCCACTACCATATCTTGTGGGACGAGAGCAACTTCACATCCGACGAA
GTTCAGAAGCTCGTCTACAACCTCTGCTTCACTTTCATGAGGTGCACGAAGCCTATCTCTCTAGTCCCG
CCCGCCTATTACGCTCATCTAGCTGCTTATAGAGGAAGACTGTACCTCGAACGCTCAGAATCCATGAC
AAGCTCGGCTGTATCACGGACTTCGCCCCCAAAGGCAAGGCCTCTACCTAAACTTAGTGAGAACATT
AGGAAGTTGATGTTTTACTGCTGA

6.2. AMINOSÄURESEQUENZEN DER AGOS AUS *T. VULGARIS*

In vivo nachgewiesene cDNA

TvAGO4 (924 aa)

MDPSEHDGNGASEDLPPPPPVPPNVTPIKFATEPELKKSFLTPMARRGFGTRGNKVPLLTNHFKVNVSN
VDGNFFHYSVALFYEDGRPVDGKGVGRKVLDRVRDTYDSELSGKEFAYDGEKSLFTVGSLPRNKLEFTVVL
EDVTSSRNNGNRSPETHGSPNESDKKRLRRPYQSKTFKVELSFAAKIPMKAIADALRGQESENSMEAFRV
LDIILRQNAAKKGCLLVRQSFFHNDPKSFSDVGGGVLGCRGFHSSFRTTQSGLSLNIDVSTTMIIQPGPVAE
FLVANQKVRDPFSLDWAKAKRTLKNLRITTSPTNQEFKITGLSEKPCREQLFSLKQRSKDGDGETVEITVYD
YFVKHRNIDLRFSADLPCINVGKPKRPTYFPIELCSLISLQRYTKALSTFQRAALVEKSRQKPQERMSVLSNA
LKINDYDSEPMLRSCGVSISTNFTQVEGRVLPPPKLKVANGDDLFTRNGRWNFNNKKFVNACKIEKWAV
VNFSARCNVRGLVSDLMRVGESKGIAVEEPFDVFEENQQFRRAPPKVRVDKMFEEVQSKLPGPPRFLLCL
LPERKNCDIYGPWKRKNLSDFGVVTQCLAPMKVNDQYLTNLMLKINAKLGGLNSMLAAEISPSLPVVSKS
PTLILGMDVSHGSPGMSDVPSIAAVVSSRQWPSISRYRACVRTQSPKMEMIDSLYKRVSDSEDDGIMREL
LVDFYSSSGKRKPDQIIIFRDGVSESQFNQVLNIELNQIIEACKFLDENWNPKFVVIVAQKNHHTKFFLPNS
PDNVSPGTIIDNKVCHPRNYDFYLCAHAGMIGTTRPTHYHVLLDQVGFSADDLQELVHSLSYVYQRSTTAI
SVVAPICYAHLAATQLGQWMKFEDASETSSSHNGTGSETAPPVPPMPKLNETVRNSMFFC



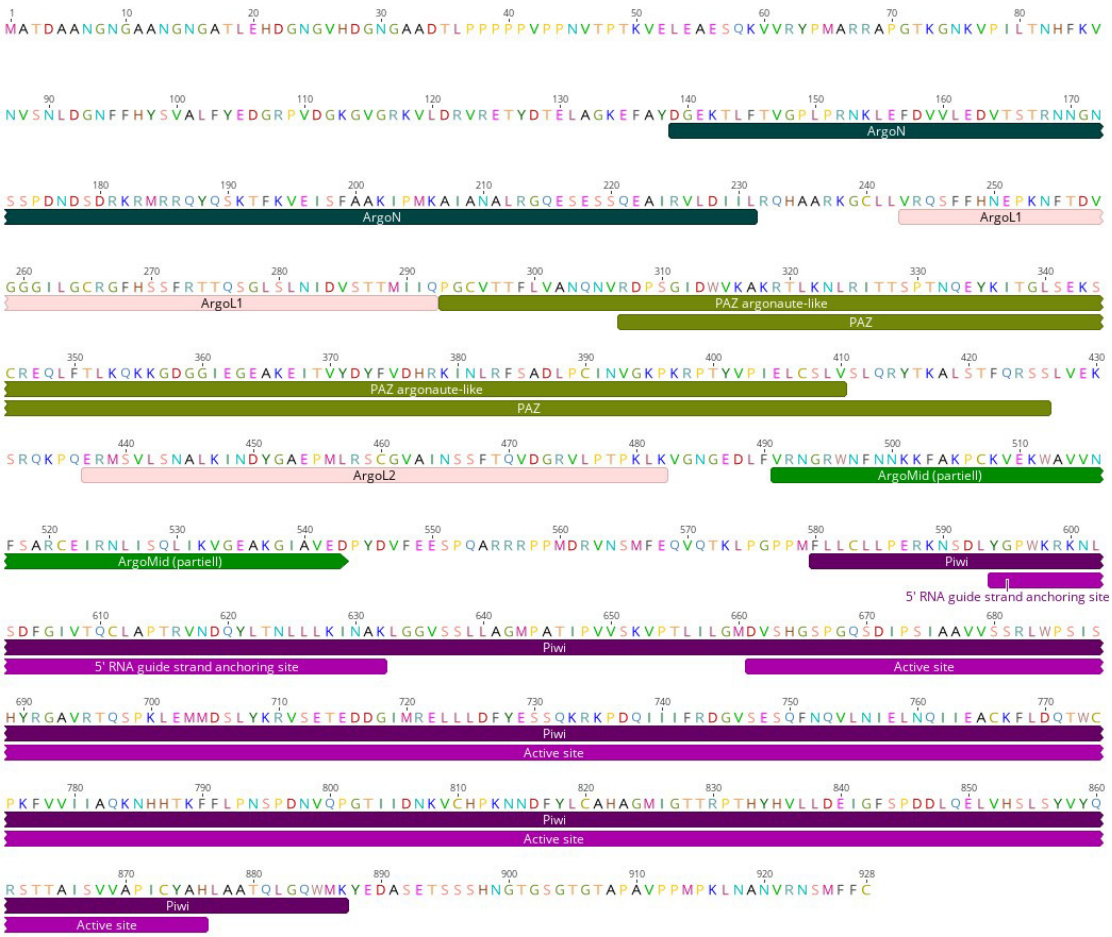
TvAGO6 (898 aa)

MQGEMEKEPPPPPNIQQSLKEEGVDLPARSIMTRPGFGTSGRRVSLLSNHFKVSIRNPKEFFYQYSVSMS
YEDNVSVENKVIGRRVIDKLYQTYSSELAEKGFAYDGDKSLFTVGPLPKNKFEFMVILEESAAKSSCSPSKN
GSMTEPSKKSKHSLQSKAFKVEISYAAKIPLSSLSFALQGAESEYVQDALRVLDIILRQQAAKRGCLLVRQSF
FQDDSRMFTDVGGGVTGVRGLHSSFRPTLDGLSLNMDVSTTMILKPGPVLEFILANQNVKDPRYIDWAK
AKRMLKNMRVKAIHSNREFKIIGLSEKPCNQQFFSLKVKSGSTAGVSDEAIEITVYEYFVKHRNIELKLTAY
MXXLDVGKPKRPNYLPLELCSLVSLQRYTKALSVTQRSSLVEKSRQKPPERIRIVTDAVTNYKYDEDPLLVSC
GISIEKQLSRVDGRVLDPPKLKFGNNEDFLPRNGRWNFNNKKLLKPQHIQDWTLVNFSGPCDCSRLSRELI
DCGRSKGIEIERPYTIIEEDSQSRKASPFVRVEKMFEQIMAKLAGPPEFLLCVLPERKNCDIYGPWKKKCLS
NLGIITQCISPIPNKINDQYLTNVLLKINTKLGGTNSLLAIEHSNRIPVVTDQPTMILGMDVSHGSPGRSDVP
SIAAVVGSRSWPLISKYRAAVRTQPAKTEMIASLFKPLANGQDDGIMRELLLDFYQTSNKRKPTQIVVFRD
GVSESQFAQVINIELDQMIKAYQHLGETDIPKFTVIVAQKNHHTKLFQASSPENVPCGTVVDAKIVHPRN
HDFYMCAQAGLIGTSRPAHYHVLLDEIGFSPDVLQNLIHSLSYVYQRSTTAVSIVAPVCYAHLAAQQVGQF
MKFEDLSETSSGKNSVTATENVPVPELPRLHENVAGSMFFC



TvAGO9 (928 aa)

MATDAANGNGAANGNGATLEHDGNGVHDGNGAADTLPPPPPVPPNVTPTKVELEAESQKVVRYPMA
RRAPGTKGNKVPILTNHFKVNVSNLDGNFFHYSVALFYEDGRPVDGKGVGRKVLDRVRETYDTELAGKEF
AYDGEKTLFTVGPLPRNKLEFDVVLEDVTSTRNNGNSSPDNDSDRKRMRRQYQSKTFKVEISFAAKIPMK
AIANALRGQESESSQEAIRVLDIILRQHAARKGCLLVRQSFFHNEPKNFTDVGGGILGCRGFHSSFRTTQSG
LSLNIDVSTTMIIQPGCVTTFLVANQNVRDPSGIDWVKAKRTLKNLRITTSPTNQEYKITGLSEKSCREQLFT
LKQKKGDGGIEGEAKEITVYDYFVDHRKINLRFSADLPCINVGKPKRPTYVPIELCSLVSLQRYTKALSTFQR
SSLVEKSRQKPQERMSVLSNALKINDYGAEPMLRSCGVAINSSFTQVDGRVLPTPKLKVGNGEDLFVRNG
RWNFNNKKFAKPCKVEKWAVVNFSARCEIRNLISQLIKVGEAKGIAVEDPYDVFEESPQARRRPPMDRV
NSMFEQVQTKLPGPPMFLLCLLPERKNSDLYGPWKRKNLSDFGIVTQCLAPTRVNDQYLTNLLLKINAKL
GGVSSLLAGMPATIPVVSKVPTLILGMDVSHGSPGQSDIPSIAAVVSSRLWPSISHYRGAVRTQSPKLEM
MDSLYKRVSETEDDGIMRELLLDFYESSQKRKPDQIIIFRDGVSESQFNQVLNIELNQIIEACKFLDQTWCP
KFVVIIAQKNHHTKFFLPNSPDNVQPGTIIDNKVCHPKNNDFYLCAHAGMIGTTRPTHYHVLLDEIGFSPD
DLQELVHSLSYVYQRSTTAISVVAPICYAHLAATQLGQWMKYEDASETSSSHNGTGSGTGTAPAVPPMP
KLNANVRNSMFFC



TvAGO10 (990 aa)

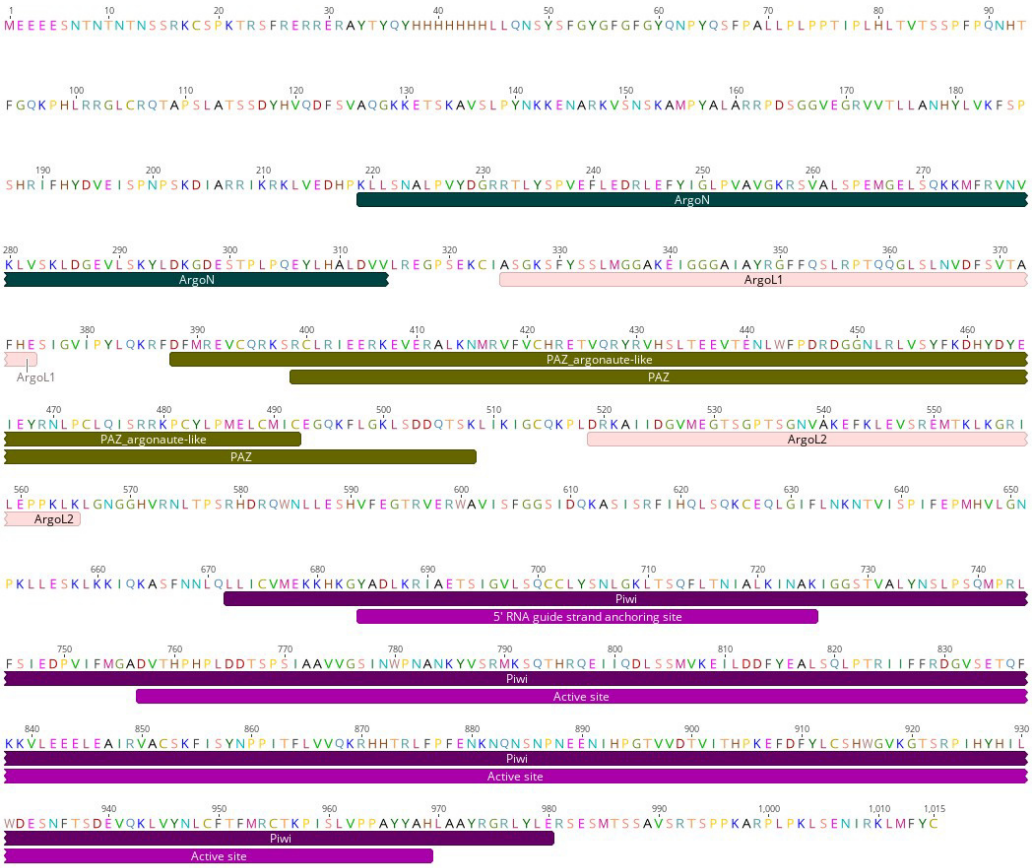
MPIRQMKENSEQHYVIKPQLQQHNSMNATPKTSKTAQNGKGPPPVQESQTNKAQNQSSPPSRNRGW
RRGRGGRKSDQGDACMRPSSRPCTAADKPIVRENGRAIVPVLCSNGSAGNGGSLSQSDMGFPSSSKSLT
FPMRPGFGQLGTKCIVKANHFFADLPQKDLNHYDVTITPEVTSRVVNRAIMAELVKSYRESELGMRLPAY
DGRKSLYTAGELPFAWKELAVKLIDEEDSINGPKRVREYKVVLKFVAKANLHHLEQFLAGKRADGPKEALQ
ILDIVLRELSMKRFCPVGRSFFSPDIRKPQKLGDGLEAWCGFYQSIRPTQMGLSLNIDMASAAFIEALPVIE
FVAQLLGKDVLSRPLSDSDRIKIKKALRGVKVEVTHRGDVRRKYRVSGITTQPTRELVFPVDDISTMKSVVE
YFQEMYEFTIQYTHLPCLQVGNQKKANYLPMEACKIVEGQRYTKRLSEKQITSLLKVTCQRPRDRENDILQ
TVQHNGYDQDPYAKEFGMRISEKLATVEARVLPAPWLKYHETGKEKDCLPQVGQWNMMMNKKMING
MTVSRWACINFSRGVQDSVARGFCNELAQMCQVSGMEFTPEPVIPIFNARPDQVEKALKHVYHACMN
KLKGKELDLLLAILPDNNGSLYGDLKRICETDLGIISQCCLTKHVFKINKQYLANVSLKINVKMGGRNTVLVD
ALSCRIPLVSDIPTIIFGADVTHPENGEETSPSIAAVVASQDWPEVTKYAGLVCAQAHRQELIQDLYKTWQ
DPVRGTVSGGMIRDLLVSFRKATGQKPQRIIFYRDGVSEGQFYQVLLFELDAIRKACASLEPNYQPPVTFIV
VQKRHHTRLFANNHRDKSSTDRSGNILPGTVVDSKICHPTEFDFYLCSHAGIQGTSRPAHYHVLWDENNF
TADGIQSLTNNLCYTYARCTRSVSVVPPAYYAHLAAFRARFYMEPDVQENGGVKAPRVVGETGFRPLPAL
KENVKRVMFYC



In silico vorhergesagte cDNA

Tv A1; TvAGO7-Kandidat (1015 aa)

MEEEESNTNTNTNSSRKCSPKTRSFRERRERAYTYQYHHHHHHHHLLQNSYSFGYGFGFGYQNPYQSFPA
LLPLPPTIPLHLTVTSSPFPQNHTFGQKPHLRRGLCRQTAPSLATSSDYHVQDFSVAQGKKETSKAVSLPYN
KKENARKVSNSKAMPYALARRPDSGGVEGRVVTLLANHYLVKFSPSHRIFHYDVEISPNPSKDIARRIKRKL
VEDHPKLLSNALPVYDGRRTLYSPVEFLEDRLEFYIGLPVAVGKRSVALSPEMGELSQKKMFRVNVKLVSK
LDGEVLSKYLDKGDESTPLPQEYLHALDVVLREGPSEKCIASGKSFYSSLMGGAKEIGGGAIAYRGFFQSLR
PTQQGLSLNVDFSVTAFHESIGVIPYLQKRFDFMREVCQRKSRCLRIEERKEVERALKNMRVFVCHRETVQ
RYRVHSLTEEVTENLWFPDRDGGNLRLVSYFKDHYDYEIEYRNLPCLQISRRKPCYLPMELCMICEGQKFL
GKLSDDQTSKLIKIGCQKPLDRKAIIDGVMEGTSGPTSGNVAKEFKLEVSREMTKLKGRILEPPKLKLGNGG
HVRNLTPSRHDRQWNLLESHVFEGTRVERWAVISFGGSIDQKASISRFIHQLSQKCEQLGIFLNKNTVISPI
FEPMHVLGNPKLLESKLKKIQKASFNNLQLLICVMEKKHKGYADLKRIAETSIGVLSQCCLYSNLGKLTSQFL
TNIALKINAKIGGSTVALYNSLPSQMPRLFSIEDPVIFMGADVTHPHPLDDTSPSIAAVVGSINWPNANKY
VSRMKSQTHRQEIIQDLSSMVKEILDDFYEALSQLPTRIIFFRDGVSETQFKKVLEEELEAIRVACSKFISYNP
PITFLVVQKRHHTRLFPFENKNQNSNPNEENIHPGTVVDTVITHPKEFDFYLCSHWGVKGTSRPIHYHILW
DESNFTSDEVQKLVYNLCFTFMRCTKPISLVPPAYYAHLAAYRGRLYLERSESMTSSAVSRTSPPKARPLPK
LSENIRKLMFYC



Tv L1; TvAGO1-Kandidat (1083 aa)

MARKRRTELPGGESSEPQETSGERGGAQRPPAQQQPQPQPQPQPQPQPQPQLQQSQQQGGYQGGRG
WAPQRGGAYGGRGGGRAAPPQQYYGGPPEYQPVQGQGQGQGQGRGGQQQYGRGGAPRRGAFVG
GREAPSAGGPSRPPAPELHQAMQSPYQAGMTKPRPVETFPGTSSSSQVPDPPQTSEVTEQIEQLSIQQVT
PGQDLAPASSKSLRFPLRPGKGSVGAKCVVKANHFFAELPDKDLHQYDVSITPEVTSRGVNRAVMEQLV
KLYRESHLGRRLPAYDGRKSLYTAGPLPFASKEFKITLIDEEDGPGGSRREREFKVVIKFAARADLHHLGMFL
QGRQADAPQEALQVLDIVLRELPTSRYCPVGRSFYSPDLGRRQPLGEGLESWRGFYQSIRPTQMGLSLNI
DMSSTAFIEPLPVIDFVAQLLNRDVSARPLSDADRVKIKKALRGVKVEVTHRGNMRRKYRISGLTSQATRE
LTFPVDERGTMKSVVEYFQETYGFIIQHTQWPCLQVGNTQRPNYLPMEVCKIVEGQRYSKRLNERQITAL
LKVTCQRPQERELDILKTVHHNAYGNDPYAKEFGIKISESLAQVEARVLPPPWLKYHDSGREKDCLPQVG
QWNMMMNKRMVNGGTVNSWICINFARNVQDSVAQSFCHELAQMCMTSGMAFNPQPVLPVMSGRP
DQVERVLKARYHDVTTKLPPNKKELDLLIVILPDNNGSLYGDLKRICETDLGIVSQCCLQKHVYRMSKQYLA
NVSLKINVKVGGRNTVLVDALSRRIPLVSDQPTIIFGADVTHPHPGEDSSPSIAAVVASQDWPEVTKYAGL
VCAQAHRQELIQDLYKTWHDPQKGTVHGGMIKELLISFRRATGQKPQRIIFYRDGVSEGQFYQVLLYELD
AIRKACASLEPNYQPTVTFVVVQKRHHTRLFANNHRDRHAVDRSGNILPGTVVDSKICHPTEFDFYLCSH
AGIQGTSRPAHYHVLWDENKFSADALQSLTNNLCYTYARCTRSVSIVPPAYYAHLAAFRARFYMEPETSD
SGSMTSSAVTGRGGGAGARSTRMPGPNAAVRPLPQLRENVKRVMFYC



Tv L2; TvAGO3-Kandidat (817 aa)

TIYHYSLDIRQSASHGKRPVRKSRFKAGLRLILNKLFLDDQARFPANRTAYDGEKNLYSVVSLPTGQFKVELS
GEDSSTQTYVVSIKIMNELKLSKLEDYLTGKVPYVPRDILQGMDMVMKENPSRYSISIGRHFYPSSFKVED
DLGRGIAAYRGFQSTLRPTAQGLALCLDCSVMTFRKPLPVVEFLKENIPEFDGAFLDLNLRRKVANALKGL
TVRVTHRLTKQLFTIAGLTGKSTRDLWFDFVDPKGKDPTVKLSLVQYFREKYGKEIIYQDVPCLILGRNNRT
NHVPMEFCILTVGQRYKKELLNESRREKLKEKCLAWPPERRKIISEMMQDLDGPCGDVTRNFGLQVDKN
MTSVEGRIIVPPDLKLGAADGTVDVVRVENEKRQWNLAESSVVEGKRIDRWALIDFSSSDFSKLRAKDFIT
SLRNRSMSLGIFMEEPLLCHITSMREFSSVSRLEVLLRNVIQEANRKCCNKLQIIICVMAEKHHGYKYLKWV
SETRIGVVTQCCLSHHANKGDDQFLGNLCLKINAKLGGSNVELIQRLPHFEEEDDHVMFIGADVNHPVSK
KSVTPSIAAVVSTINWPAANRYAARVSPQDHRTEKILDFGSMCRELVNTYYEVNNVRPKKIVVFRDGVSE
GQFDMVLNEELSDLKRAIFDDHYQPRITLVVAQKRHQTRLFLENFEDGSTTGNVPPGTVVDTKIVHPFEF
DFYLCSHYGRIGTSKAVRYCVLWDENSFTSDQLQKLIFNLCFTFARSTRPVSLVPPVYYADLVAYRGRLFQE
AAKEFDSRPTPTSKPGTFDLGFYKLHPDLENIMFFV



6.3. REFERENZGENE

Name	Datenbank	Referenznummer
AtAGO1	TAIR	AT1G48410
AtAGO2	TAIR	AT1G31280
AtAGO3	TAIR	AT1G31290
AtAGO4	TAIR	AT2G27040
AtAGO5	TAIR	AT2G27880
AtAGO6	TAIR	AT2G32940
AtAGO7	TAIR	AT1G69440
AtAGO8	TAIR	AT5G21030
AtAGO9	TAIR	AT5G43810
AtAGO10	TAIR	AT5G43810
EgAGO4_transcr_varX1 mRNA	NCBI	XM_012997182.1
EgAGO4_transcr_varX2 mRNA	NCBI	XM_012997254.1
EgAGO7_transcr_varX1 mRNA	NCBI	XM_012992214.1
EgAGO4_transcr_varX2 mRNA	NCBI	XM_012992215.1
SiAGO4_transcr_varX1 mRNA	NCBI	XM_011082171.2
SiAGO4_transcr_varX2 mRNA	NCBI	XM_011082172.2
SiAGO7_transcr_var_X1 mRNA	NCBI	XM_011077242.2
SiAGO7_transcr_var_X2 mRNA	NCBI	XM_011077243.2

6.4. DISTANZMATRIZEN PHYLOGENETISCHER ANALYSEN

Distanzmatrix zu Kapitel 3.1.2., Abbildung 3-5 „Dendrogramm der *AGO*-Sequenzen erweitert um *Salvia miltiorrhiza*, *Erythranthe guttata* und *Sesamum indicum*."

	SmAGO2 mRNA	SmAGO3 mRNA	SiAGO2 transcrVar1 mRNA	SiAGO2 transcrVar2 mRNA	AtAGO7 cDNA	EgAGO7 transcrVar1 mRNA	EgAGO7 transcrVar2 mRNA	SmAGO7 mRNA	SiAGO7 transcrVar1 mRNA	SiAGO7 transcrVar2 mRNA	AtAGO6 cDNA	SmAGO6 mRNA	Tv G3 mRNA	Tv C4 mRNA	Tv T3 mRNA	TaAGO4 CDS	AtAGO8 cDNA
SmAGO2 mRNA		45,28	44,67	44,99	34,12	37,68	37,49	35,59	35,62	35,02	33,80	33,29	34,67	34,74	34,30	35,41	34,41
SmAGO3 mRNA	45,28		64,34	67,66	38,68	38,78	38,30	38,44	36,75	35,96	34,76	35,53	34,96	34,82	35,21	36,50	36,57
SiAGO2 transcrVar1 mRNA	44,67	64,34		84,37	38,03	38,07	37,81	35,81	36,82	36,95	35,26	35,52	35,89	35,70	35,76	37,65	36,22
SiAGO2 transcrVar2 mRNA	44,99	67,66	84,37		37,87	39,71	38,87	37,86	37,16	36,52	36,15	35,92	36,50	36,56	36,79	38,16	36,89
AtAGO7 cDNA	34,12	38,68	38,03	37,87		54,19	53,03	52,55	54,90	53,65	35,24	35,38	34,93	34,58	34,37	36,92	37,77
EgAGO7 transcrVar1 mRNA	37,68	38,78	38,07	39,71	54,19		95,54	60,57	62,74	60,80	35,12	34,01	34,41	34,50	33,64	36,68	36,43
EgAGO7 transcrVar2 mRNA	37,49	38,30	37,81	38,87	53,03	95,54		61,37	61,45	59,57	35,14	33,93	34,43	34,55	33,63	36,58	36,70
SmAGO7 mRNA	35,59	38,44	35,81	37,86	52,55	60,57	61,37		59,87	58,29	32,81	32,68	32,90	32,83	32,70	35,88	34,66
SiAGO7 transcrVar1 mRNA	35,62	36,75	36,82	37,16	54,90	62,74	61,45	59,87		96,48	33,55	32,25	33,71	33,90	33,75	35,94	35,01
SiAGO7 transcrVar2 mRNA	35,02	35,96	36,95	36,52	53,65	60,80	59,57	58,29	96,48		33,20	32,82	33,81	33,74	33,59	35,85	34,35
AtAGO6 cDNA	33,80	34,76	35,26	36,15	35,24	35,12	35,14	32,81	33,55	33,20		56,15	56,08	55,97	56,70	55,99	51,31
SmAGO6 mRNA	33,29	35,53	35,52	35,92	35,38	34,01	33,93	32,68	32,25	32,82	56,15		74,37	74,60	75,76	57,23	50,96
Tv G3 mRNA	34,67	34,96	35,89	36,50	34,93	34,41	34,43	32,90	33,71	33,81	56,08	74,37		97,04	96,07	57,26	50,60
Tv C4 mRNA	34,74	34,82	35,70	36,56	34,58	34,50	34,55	32,83	33,90	33,74	55,97	74,60	97,04		97,06	57,56	50,80
Tv T3 mRNA	34,30	35,21	35,76	36,79	34,37	33,64	33,63	32,70	33,75	33,59	56,70	75,76	96,07	97,06		57,45	50,92
TaAGO4 CDS	35,41	36,50	37,65	38,16	36,92	36,68	36,58	35,88	35,94	35,85	55,99	57,23	57,26	57,56	57,45		58,85
AtAGO8 cDNA	34,41	36,57	36,22	36,89	37,77	36,43	36,70	34,66	35,01	34,35	51,31	50,96	50,60	50,80	50,92	58,85	
AtAGO9 cDNA	35,45	37,25	36,78	37,09	36,73	36,00	36,03	34,37	35,07	35,06	52,22	52,57	51,66	51,81	52,36	60,15	67,56
SmAGO8 mRNA	33,40	34,54	34,56	36,88	35,39	34,94	34,77	33,84	34,06	33,40	52,09	51,61	52,94	52,73	52,32	59,26	54,54
Tv C3 mRNA	33,46	32,78	33,60	33,66	33,91	33,85	33,59	31,46	32,02	32,23	51,04	51,20	52,00	52,22	52,72	61,99	52,64
AtAGO4 cDNA	34,39	35,37	36,14	36,24	36,34	36,06	36,18	33,85	35,06	34,93	50,62	52,24	53,98	54,03	53,96	61,62	56,72
NbAGO4 mRNA	38,70	39,68	38,71	39,03	38,53	38,03	38,00	35,96	37,06	37,03	57,89	59,99	61,35	61,46	61,50	65,49	61,98
SmAGO9 mRNA	34,35	36,48	34,41	35,65	35,11	34,12	34,18	33,41	32,96	32,44	49,05	51,47	50,47	50,55	51,15	60,34	54,21
Tv G2 mRNA	34,59	36,84	36,08	36,92	36,40	36,26	36,23	33,94	33,81	34,08	50,67	54,08	53,19	53,12	53,67	62,90	55,85
Tv T1 mRNA	34,60	36,89	35,99	37,08	35,98	35,76	35,73	34,02	33,84	34,22	50,70	54,11	53,14	53,06	53,07	63,15	56,21
EgAGO4 transcrVar1 mRNA	35,09	34,20	36,57	36,47	36,11	35,12	35,04	33,96	35,19	35,19	50,11	52,49	53,97	53,64	53,33	61,41	55,26
EgAGO4 transcrVar2 mRNA	35,23	34,37	36,63	36,40	36,22	35,23	35,15	33,99	35,30	35,29	50,15	52,57	53,93	53,57	53,27	61,20	55,26
SiAGO4 transcVar1 mRNA	34,99	34,69	36,01	36,04	35,29	34,23	34,34	33,56	33,78	33,79	49,88	54,01	53,74	53,37	53,53	62,82	55,18
SiAGO4 transcrVar2 mRNA	35,24	34,70	36,05	35,76	35,37	33,96	34,07	33,27	34,36	34,46	49,73	53,36	54,17	53,51	53,38	62,60	55,18
SmAGO4 mRNA	34,71	37,37	36,28	37,56	36,59	35,62	35,71	34,85	34,65	33,65	52,38	54,61	53,98	53,86	54,74	63,42	56,99
Tv C2 mRNA	33,59	34,30	35,61	35,23	34,30	33,70	33,78	32,83	33,28	33,26	48,62	52,59	51,92	51,99	51,48	62,78	53,08
Tv G1 mRNA	33,73	34,28	35,89	35,42	34,86	33,61	33,69	32,79	33,26	33,21	48,69	52,87	51,78	51,66	51,38	62,85	53,15
Tv T2 mRNA	33,75	34,37	35,92	35,25	34,79	33,72	33,80	32,62	33,33	33,42	48,62	52,53	51,75	51,66	51,53	63,04	53,25
AtAGO2 cDNA	44,47	42,42	43,04	44,42	35,99	37,13	36,35	35,81	36,04	36,01	33,87	33,88	33,90	34,00	33,70	35,83	35,07
AtAGO3 cDNA	39,66	36,88	39,21	39,40	34,01	34,16	34,37	33,77	35,39	34,16	31,43	31,87	32,43	32,58	31,17	34,36	34,24
AtAGO5 cDNA	35,25	37,23	37,84	39,12	40,41	38,59	37,66	37,78	37,78	37,74	36,61	38,16	37,68	37,81	37,80	39,41	39,69
AtAGO1 cDNA	36,22	36,37	37,41	37,95	37,77	37,96	37,44	38,02	39,30	38,58	37,58	36,70	37,12	36,88	36,91	40,58	38,63
SmAGO1 mRNA	34,51	35,31	36,30	36,89	38,05	36,83	37,22	37,75	38,42	37,15	36,56	36,10	36,81	36,75	36,36	40,46	38,51
SiAGO1 transcrVar1 mRNA	36,00	35,73	36,49	36,82	37,22	36,13	36,47	37,49	38,32	37,83	36,92	36,78	36,79	36,73	36,63	40,17	38,81
SiAGO1 transcrVar2 mRNA	35,83	35,18	36,41	36,74	37,51	36,57	36,92	37,56	38,40	37,32	37,03	36,78	36,86	36,83	36,17	40,29	38,81
SiAGO1 transcrVar3 mRNA	36,04	35,79	36,49	36,82	37,05	36,42	36,78	37,49	38,32	37,78	36,92	36,78	36,79	36,73	36,61	40,17	38,81
SmAGO5 mRNA	39,57	38,33	39,40	39,51	38,92	38,77	38,75	37,00	38,12	38,18	40,51	40,21	40,91	41,09	40,99	42,46	38,44
AtAGO10 cDNA	37,38	36,40	36,57	37,89	38,92	38,72	38,85	37,06	38,83	37,80	38,58	37,85	38,94	38,84	38,85	41,65	40,47
EgAGO10 mRNA	25,71	25,82	26,47	26,53	27,26	26,61	26,56	26,27	25,80	25,76	27,75	26,60	26,53	26,60	26,56	30,07	29,76
SmAGO10 mRNA	36,63	37,55	37,55	38,45	38,82	39,27	39,10	38,38	38,29	37,80	37,95	37,68	38,15	37,84	37,89	41,33	39,76
SiAGO10 transcrVar2 mRNA	36,40	37,66	38,19	39,32	38,64	37,93	37,50	37,72	38,34	37,82	38,15	37,83	38,28	38,01	37,61	41,15	40,28
SiAGO10 transcrVar1 mRNA	32,93	32,69	33,92	35,17	35,03	34,49	34,12	34,32	38,23	33,79	34,07	34,08	34,26	34,28	33,20	41,15	40,27
SiAGO10 transcrVar3 mRNA	36,40	37,66	38,19	39,32	38,64	38,18	37,74	37,72	38,34	37,82	38,15	37,83	38,28	38,01	37,61	41,15	40,28

	AtAGO9 cDNA	SmAGO8 mRNA	Tv C3 mRNA	AtAGO4 cDNA	NbAGO4 mRNA	SmAGO9 mRNA	Tv G2 mRNA	Tv T1 mRNA	EgAGO4 transcrVar1 mRNA	EgAGO4 transcrVar2 mRNA	SiAGO4 transcVar1 mRNA	SiAGO4 transcrVar2 mRNA	SmAGO4 mRNA	Tv C2 mRNA	Tv G1 mRNA	Tv T2 mRNA	AtAGO2 cDNA
SmAGO2 mRNA	35,45	33,40	33,46	34,39	38,70	34,35	34,59	34,60	35,09	35,23	34,99	35,24	34,71	33,59	33,73	33,75	44,47
SmAGO3 mRNA	37,25	34,54	32,78	35,37	39,68	36,48	36,84	36,89	34,20	34,37	34,69	34,70	37,37	34,30	34,28	34,37	42,42
SiAGO2 transcrVar1 mRNA	36,78	34,56	33,60	36,14	38,71	34,41	36,08	35,99	36,57	36,63	36,01	36,05	36,28	35,61	35,89	35,92	43,04
SiAGO2 transcrVar2 mRNA	37,09	36,88	33,66	36,24	39,03	35,65	36,92	37,08	36,47	36,40	36,04	35,76	37,56	35,23	35,42	35,25	44,42
AtAGO7 cDNA	36,73	35,39	33,91	36,34	38,53	35,11	36,40	35,98	36,11	36,22	35,29	35,37	36,59	34,30	34,86	34,79	35,99
EgAGO7 transcrVar1 mRNA	36,00	34,94	33,85	36,06	38,03	34,12	36,26	35,76	35,12	35,23	34,23	33,96	35,62	33,70	33,61	33,72	37,13
EgAGO7 transcrVar2 mRNA	36,03	34,77	33,59	36,18	38,00	34,18	36,23	35,73	35,04	35,15	34,34	34,07	35,71	33,78	33,69	33,80	36,35
SmAGO7 mRNA	34,37	33,84	31,46	33,85	35,96	33,41	33,94	34,02	33,96	33,99	33,56	33,27	34,85	32,83	32,79	32,62	35,81
SiAGO7 transcrVar1 mRNA	35,07	34,06	32,02	35,06	37,06	32,96	33,81	33,84	35,19	35,30	33,78	34,36	34,65	33,28	33,26	33,33	36,04
SiAGO7 transcrVar2 mRNA	35,06	33,40	32,23	34,93	37,03	32,44	34,08	34,22	35,19	35,29	33,79	34,46	33,65	33,26	33,21	33,42	36,01
AtAGO6 cDNA	52,22	52,09	51,04	50,62	57,89	49,05	50,67	50,70	50,11	50,15	49,88	49,73	52,38	48,62	48,69	48,62	33,87
SmAGO6 mRNA	52,57	51,61	51,20	52,24	59,99	51,47	54,08	54,11	52,49	52,57	54,01	53,36	54,61	52,59	52,87	52,53	33,88
Tv G3 mRNA	51,66	52,94	52,00	53,98	61,35	50,47	53,19	53,14	53,97	53,93	53,74	54,17	53,98	51,92	51,78	51,75	33,90
Tv C4 mRNA	51,81	52,73	52,22	54,03	61,46	50,55	53,12	53,06	53,64	53,57	53,37	53,51	53,86	51,99	51,66	51,66	34,00
Tv T3 mRNA	52,36	52,32	52,72	53,96	61,50	51,15	53,67	53,07	53,33	53,27	53,53	53,38	54,74	51,48	51,38	51,53	33,70
TaAGO4 CDS	60,15	59,26	61,99	61,62	65,49	60,34	62,90	63,15	61,41	61,20	62,82	62,60	63,42	62,78	62,85	63,04	35,83
AtAGO8 cDNA	67,56	54,54	52,64	56,72	61,98	54,21	55,85	56,21	55,26	55,26	55,18	55,18	56,99	53,08	53,15	53,25	35,07
AtAGO9 cDNA		56,71	55,34	58,69	66,21	56,05	57,84	58,06	57,14	57,20	57,22	56,91	60,55	55,91	56,00	55,74	34,39
SmAGO8 mRNA	56,71		68,64	56,21	63,85	54,19	56,57	55,67	54,72	54,82	55,19	54,90	57,89	52,74	52,27	53,23	32,53
Tv C3 mRNA	55,34	68,64		54,81	65,80	54,38	56,07	56,30	55,30	55,13	56,70	56,12	57,00	56,17	56,04	56,29	32,71
AtAGO4 cDNA	58,69	56,21	54,81		69,07	59,11	59,11	59,13	60,72	60,72	60,53	60,60	61,51	58,85	59,40	58,98	35,45
NbAGO4 mRNA	66,21	63,85	65,80	69,07		69,77	71,01	71,35	73,39	73,39	75,84	75,88	74,69	73,30	73,52	73,41	38,68
SmAGO9 mRNA	56,05	54,19	54,38	59,11	69,77		73,47	73,81	65,42	65,64	68,44	67,87	73,16	65,52	65,34	65,49	33,72
Tv G2 mRNA	57,84	56,57	56,07	59,11	71,01	73,47		98,61	67,13	67,31	69,06	68,53	70,77	66,64	66,56	66,63	35,79
Tv T1 mRNA	58,06	55,67	56,30	59,13	71,35	73,81	98,61		66,35	66,52	68,30	67,79	71,00	64,78	65,19	65,01	35,75
EgAGO4 transcrVar1 mRNA	57,14	54,72	55,30	60,72	73,39	65,42	67,13	66,35		99,56	69,71	69,20	68,90	65,58	66,00	65,78	35,59
EgAGO4 transcrVar2 mRNA	57,20	54,82	55,13	60,72	73,39	65,64	67,31	66,52	99,56		69,80	69,29	68,84	65,51	65,95	65,74	35,67
SiAGO4 transcVar1 mRNA	57,22	55,19	56,70	60,53	75,84	68,44	69,06	68,30	69,71	69,80		94,34	73,00	70,68	70,93	70,80	34,73
SiAGO4 transcrVar2 mRNA	56,91	54,90	56,12	60,60	75,88	67,87	68,53	67,79	69,20	69,29	94,34		71,87	69,71	69,80	69,68	34,65
SmAGO4 mRNA	60,55	57,89	57,00	61,51	74,69	73,16	70,77	71,00	68,90	68,84	73,00	71,87		74,00	74,23	74,30	34,82
Tv C2 mRNA	55,91	52,74	56,17	58,85	73,30	65,52	66,64	64,78	65,58	65,51	70,68	69,71	74,00		96,07	95,92	33,55
Tv G1 mRNA	56,00	52,27	56,04	59,40	73,52	65,34	66,56	65,19	66,00	65,95	70,93	69,80	74,23	96,07		98,08	33,17
Tv T2 mRNA	55,74	53,23	56,29	58,98	73,41	65,49	66,63	65,01	65,78	65,74	70,80	69,68	74,30	95,92	98,08		33,43
AtAGO2 cDNA	34,39	32,53	32,71	35,45	38,68	33,72	35,79	35,75	35,59	35,67	34,73	34,65	34,82	33,55	33,17	33,43	
AtAGO3 cDNA	33,12	29,06	29,59	32,38	35,77	30,91	32,57	31,44	31,76	31,86	31,52	31,25	32,11	31,18	31,07	30,95	55,87
AtAGO5 cDNA	39,22	37,61	35,40	38,08	42,07	36,74	39,54	39,58	38,28	38,24	37,87	37,42	38,65	36,80	36,67	36,75	37,48
AtAGO1 cDNA	37,27	36,56	34,78	37,76	40,64	36,51	37,55	37,32	36,35	36,36	37,21	37,00	38,21	35,98	35,69	36,02	37,04
SmAGO1 mRNA	36,96	35,00	34,45	37,33	40,70	35,68	37,25	36,48	36,26	36,27	36,45	36,49	37,43	35,44	35,66	35,47	35,61
SiAGO1 transcrVar1 mRNA	37,63	35,77	34,84	37,47	40,99	35,49	37,85	37,55	37,07	37,14	37,40	37,15	36,50	35,99	35,72	35,78	37,78
SiAGO1 transcrVar2 mRNA	37,63	35,33	34,84	37,52	40,99	35,49	37,85	36,96	36,97	37,03	37,00	36,80	36,50	36,31	36,04	35,95	37,39
SiAGO1 transcrVar3 mRNA	37,63	36,16	34,84	37,47	40,99	35,49	37,85	37,47	37,07	37,14	37,45	37,21	36,50	35,75	35,68	35,67	37,74
SmAGO5 mRNA	41,53	39,92	38,96	41,25	42,50	39,23	40,44	40,54	40,34	40,34	40,49	40,49	40,92	39,62	39,43	39,37	38,59
AtAGO10 cDNA	38,91	37,92	36,05	38,61	42,44	36,09	38,46	38,33	38,38	38,41	37,98	38,11	38,88	38,02	38,09	38,20	37,93
EgAGO10 mRNA	27,41	27,63	25,86	27,09	29,76	25,03	26,74	26,97	26,58	26,50	27,48	27,28	27,83	26,27	26,21	26,25	25,51
SmAGO10 mRNA	39,01	38,48	35,82	39,00	41,34	37,00	38,71	38,87	37,93	37,99	37,74	37,58	38,42	36,74	36,86	36,82	37,13
SiAGO10 transcrVar2 mRNA	40,20	37,57	36,00	39,46	42,05	37,19	38,85	38,66	38,50	38,55	38,48	38,86	39,53	37,17	36,99	37,14	36,53
SiAGO10 transcrVar1 mRNA	36,06	33,08	32,23	35,63	42,05	33,33	34,95	34,26	34,83	34,88	34,58	34,78	35,15	34,09	34,14	33,88	33,11
SiAGO10 transcrVar3 mRNA	40,20	37,57	36,00	39,46	42,05	37,19	38,85	38,66	38,50	38,55	38,48	38,86	39,53	37,17	36,99	37,14	36,53

	AtAGO3 cDNA	AtAGO5 cDNA	AtAGO1 cDNA	SmAGO1 mRNA	SiAGO1 transcrVar1 mRNA	SiAGO1 transcrVar2 mRNA	SiAGO1 transcrVar3 mRNA	SmAGO5 mRNA	AtAGO10 cDNA	EgAGO10 mRNA	SmAGO10 mRNA	SiAGO10 transcrVar2 mRNA	SiAGO10 transcrVar1 mRNA	SiAGO10 transcrVar3 mRNA
SmAGO2 mRNA	39,66	35,25	36,22	34,51	36,00	35,83	36,04	39,57	37,38	25,71	36,63	36,40	32,93	36,40
SmAGO3 mRNA	36,88	37,23	36,37	35,31	35,73	35,18	35,79	38,33	36,40	25,82	37,55	37,66	32,69	37,66
SiAGO2 transcrVar1 mRNA	39,21	37,84	37,41	36,30	36,49	36,41	36,49	39,40	36,57	26,47	37,55	38,19	33,92	38,19
SiAGO2 transcrVar2 mRNA	39,40	39,12	37,95	36,89	36,82	36,74	36,82	39,51	37,89	26,53	38,45	39,32	35,17	39,32
AtAGO7 cDNA	34,01	40,41	37,77	38,05	37,22	37,51	37,05	38,92	38,92	27,26	38,82	38,64	35,03	38,64
EgAGO7 transcrVar1 mRNA	34,16	38,59	37,96	36,83	36,13	36,57	36,42	38,77	38,72	26,61	39,27	37,93	34,49	38,18
EgAGO7 transcrVar2 mRNA	34,37	37,66	37,44	37,22	36,47	36,92	36,78	38,75	38,85	26,56	39,10	37,50	34,12	37,74
SmAGO7 mRNA	33,77	37,78	38,02	37,75	37,49	37,56	37,49	37,00	37,06	26,27	38,38	37,72	34,32	37,72
SiAGO7 transcrVar1 mRNA	35,39	37,78	39,30	38,42	38,32	38,40	38,32	38,12	38,83	25,80	38,29	38,34	38,23	38,34
SiAGO7 transcrVar2 mRNA	34,16	37,74	38,58	37,15	37,83	37,32	37,78	38,18	37,80	25,76	37,80	37,82	33,79	37,82
AtAGO6 cDNA	31,43	36,61	37,58	36,56	36,92	37,03	36,92	40,51	38,58	27,75	37,95	38,15	34,07	38,15
SmAGO6 mRNA	31,87	38,16	36,70	36,10	36,78	36,78	36,78	40,21	37,85	26,60	37,68	37,83	34,08	37,83
Tv G3 mRNA	32,43	37,68	37,12	36,81	36,79	36,86	36,79	40,91	38,94	26,53	38,15	38,28	34,26	38,28
Tv C4 mRNA	32,58	37,81	36,88	36,75	36,73	36,83	36,73	41,09	38,84	26,60	37,84	38,01	34,28	38,01
Tv T3 mRNA	31,17	37,80	36,91	36,36	36,63	36,17	36,61	40,99	38,85	26,56	37,89	37,61	33,20	37,61
TaAGO4 CDS	34,36	39,41	40,58	40,46	40,17	40,29	40,17	42,46	41,65	30,07	41,33	41,15	41,15	41,15
AtAGO8 cDNA	34,24	39,69	38,63	38,51	38,81	38,81	38,81	38,44	40,47	29,76	39,76	40,28	40,27	40,28
AtAGO9 cDNA	33,12	39,22	37,27	36,96	37,63	37,63	37,63	41,53	38,91	27,41	39,01	40,20	36,06	40,20
SmAGO8 mRNA	29,06	37,61	36,56	35,00	35,77	35,33	36,16	39,92	37,92	27,63	38,48	37,57	33,08	37,57
Tv C3 mRNA	29,59	35,40	34,78	34,45	34,84	34,84	34,84	38,96	36,05	25,86	35,82	36,00	32,23	36,00
AtAGO4 cDNA	32,38	38,08	37,76	37,33	37,47	37,52	37,47	41,25	38,61	27,09	39,00	39,46	35,63	39,46
NbAGO4 mRNA	35,77	42,07	40,64	40,70	40,99	40,99	40,99	42,50	42,44	29,76	41,34	42,05	42,05	42,05
SmAGO9 mRNA	30,91	36,74	36,51	35,68	35,49	35,49	35,49	39,23	36,09	25,03	37,00	37,19	33,33	37,19
Tv G2 mRNA	32,57	39,54	37,55	37,25	37,85	37,85	37,85	40,44	38,46	26,74	38,71	38,85	34,95	38,85
Tv T1 mRNA	31,44	39,58	37,32	36,48	37,55	36,96	37,47	40,54	38,33	26,97	38,87	38,66	34,26	38,66
EgAGO4 transcrVar1 mRNA	31,76	38,28	36,35	36,26	37,07	36,97	37,07	40,34	38,38	26,58	37,93	38,50	34,83	38,50
EgAGO4 transcrVar2 mRNA	31,86	38,24	36,36	36,27	37,14	37,03	37,14	40,34	38,41	26,50	37,99	38,55	34,88	38,55
SiAGO4 transcVar1 mRNA	31,52	37,87	37,21	36,45	37,40	37,00	37,45	40,49	37,98	27,48	37,74	38,48	34,58	38,48
SiAGO4 transcrVar2 mRNA	31,25	37,42	37,00	36,49	37,15	36,80	37,21	40,49	38,11	27,28	37,58	38,86	34,78	38,86
SmAGO4 mRNA	32,11	38,65	38,21	37,43	36,50	36,50	36,50	40,92	38,88	27,83	38,42	39,53	35,15	39,53
Tv C2 mRNA	31,18	36,80	35,98	35,44	35,99	36,31	35,75	39,62	38,02	26,27	36,74	37,17	34,09	37,17
Tv G1 mRNA	31,07	36,67	35,69	35,66	35,72	36,04	35,68	39,43	38,09	26,21	36,86	36,99	34,14	36,99
Tv T2 mRNA	30,95	36,75	36,02	35,47	35,78	35,95	35,67	39,37	38,20	26,25	36,82	37,14	33,88	37,14
AtAGO2 cDNA	55,87	37,48	37,04	35,61	37,78	37,39	37,74	38,59	37,93	25,51	37,13	36,53	33,11	36,53
AtAGO3 cDNA		36,31	36,38	35,67	36,28	36,79	36,45	38,00	35,42	25,14	35,54	35,21	33,17	35,21
AtAGO5 cDNA	36,31		51,34	48,59	48,89	48,89	48,89	53,32	49,40	34,30	49,70	49,68	44,60	49,68
AtAGO1 cDNA	36,38	51,34		62,79	62,65	61,64	63,28	50,76	56,19	40,45	56,47	56,30	49,90	56,53
SmAGO1 mRNA	35,67	48,59	62,79		76,80	77,59	76,83	50,57	55,26	40,68	56,60	55,78	50,80	55,78
SiAGO1 transcrVar1 mRNA	36,28	48,89	62,65	76,80		97,92	99,17	51,09	58,05	40,66	56,35	56,49	50,29	56,89
SiAGO1 transcrVar2 mRNA	36,79	48,89	61,64	77,59	97,92		97,29	51,09	57,27	40,66	56,35	55,64	50,66	56,01
SiAGO1 transcrVar3 mRNA	36,45	48,89	63,28	76,83	99,17	97,29		51,09	58,02	40,66	56,35	57,64	50,82	57,64
SmAGO5 mRNA	38,00	53,32	50,76	50,57	51,09	51,09	51,09		51,63	34,53	50,99	50,80	50,79	50,80
AtAGO10 cDNA	35,42	49,40	56,19	55,26	58,05	57,27	58,02	51,63		46,27	64,76	64,29	57,77	64,29
EgAGO10 mRNA	25,14	34,30	40,45	40,68	40,66	40,66	40,66	34,53	46,27		53,47	53,34	53,34	53,34
SmAGO10 mRNA	35,54	49,70	56,47	56,60	56,35	56,35	56,35	50,99	64,76	53,47		79,63	70,54	79,63
SiAGO10 transcrVar2 mRNA	35,21	49,68	56,30	55,78	56,49	55,64	57,64	50,80	64,29	53,34	79,63		83,08	99,61
SiAGO10 transcrVar1 mRNA	33,17	44,60	49,90	50,80	50,29	50,66	50,82	50,79	57,77	53,34	70,54	83,08		83,71
SiAGO10 transcrVar3 mRNA	35,21	49,68	56,53	55,78	56,89	56,01	57,64	50,80	64,29	53,34	79,63	99,61	83,71	

Distanzmatrix zu Kapitel 3.1.2., Abbildung 3-6 „Erweitertes Dendrogramm der codierenden *AGO*-Sequenzen mit korrigierter *SmAGO4*-mRNA und ermittelter *TvAGO4*-CDS.“

	AtAGO2 cDNA	AtAGO3 cDNA	AtAGO5 cDNA	AtAGO10 cDNA	SmAGO10 mRNA	SiAGO10 transcrVar2 mRNA	SiAGO10 transcrVar1 mRNA	SiAGO10 transcrVar3 mRNA	AtAGO1 cDNA	SmAGO1 mRNA	SiAGO1 transcrVar1 mRNA	SiAGO1 transcrVar2 mRNA	SiAGO1 transcrVar3 mRNA	SmAGO3 mRNA	SiAGO2 transcrVar1 mRNA	SiAGO2 transcrVar2 mRNA
AtAGO2 cDNA		61,31	36,99	37,33	36,45	36,61	33,63	36,16	35,97	34,40	35,84	35,30	36,61	43,37	43,62	43,72
AtAGO3 cDNA	61,31		34,84	34,15	33,12	33,86	31,76	33,38	35,42	34,29	35,88	35,39	36,87	39,63	39,50	39,79
AtAGO5 cDNA	36,99	34,84		48,88	48,06	47,71	46,25	47,47	47,59	48,75	48,51	48,51	48,51	36,15	36,40	37,24
AtAGO10 cDNA	37,33	34,15	48,88		64,43	65,52	59,34	65,33	54,26	54,19	54,52	53,71	55,94	34,97	34,86	35,40
SmAGO10 mRNA	36,45	33,12	48,06	64,43		75,98	72,68	76,42	54,54	56,34	57,03	57,03	57,03	34,30	34,25	35,85
SiAGO10 transcrVar2 mRNA	36,61	33,86	47,71	65,52	75,98		88,93	97,12	54,71	54,75	54,90	54,08	56,32	34,64	34,07	35,30
SiAGO10 transcrVar1 mRNA	33,63	31,76	46,25	59,34	72,68	88,93		87,92	49,38	51,53	52,40	52,70	51,17	33,15	31,30	32,10
SiAGO10 transcrVar3 mRNA	36,16	33,38	47,47	65,33	76,42	97,12	87,92		54,09	54,15	54,31	53,49	56,11	34,36	34,10	35,49
AtAGO1 cDNA	35,97	35,42	47,59	54,26	54,54	54,71	49,38	54,09		63,39	63,69	62,71	65,40	34,98	34,64	34,64
SmAGO1 mRNA	34,40	34,29	48,75	54,19	56,34	54,75	51,53	54,15	63,39		77,21	76,00	77,01	35,33	34,18	33,62
SiAGO1 transcrVar1 mRNA	35,84	35,88	48,51	54,52	57,03	54,90	52,40	54,31	63,69	77,21		98,25	96,12	35,13	34,32	34,64
SiAGO1 transcrVar2 mRNA	35,30	35,39	48,51	53,71	57,03	54,08	52,70	53,49	62,71	76,00	98,25		94,62	35,13	33,83	34,12
SiAGO1 transcrVar3 mRNA	36,61	36,87	48,51	55,94	57,03	56,32	51,17	56,11	65,40	77,01	96,12	94,62		35,13	35,32	35,69
SmAGO3 mRNA	43,37	39,63	36,15	34,97	34,30	34,64	33,15	34,36	34,98	35,33	35,13	35,13	35,13		66,67	67,83
SiAGO2 transcrVar1 mRNA	43,62	39,50	36,40	34,86	34,25	34,07	31,30	34,10	34,64	34,18	34,32	33,83	35,32	66,67		84,48
SiAGO2 transcrVar2 mRNA	43,72	39,79	37,24	35,40	35,85	35,30	32,10	35,49	34,64	33,62	34,64	34,12	35,69	67,83	84,48	
AtAGO7 cDNA	34,88	34,08	35,89	36,34	36,24	36,18	33,53	35,95	35,21	35,19	34,72	34,22	35,51	38,87	34,99	36,03
SmAGO7 mRNA	35,04	32,92	36,76	36,07	36,90	35,58	33,13	35,28	35,99	35,45	35,15	34,65	35,81	36,75	34,33	35,50
EgAGO7 transcrVar1 mRNA	35,77	35,04	36,86	37,73	36,38	35,20	33,92	34,76	36,11	36,93	36,88	36,33	36,47	38,28	35,15	35,85
EgAGO7 transcrVar2 mRNA	35,74	35,04	36,89	37,74	36,50	35,20	33,94	34,76	36,17	36,93	36,86	36,31	36,45	38,26	35,13	35,80
SiAGO7 transcrVar1 mRNA	37,55	34,99	38,07	38,21	37,26	36,66	33,79	36,33	36,83	35,80	35,71	35,21	36,46	38,37	37,24	37,76
SiAGO7 transcrVar2 mRNA	37,36	34,54	37,57	37,93	37,21	36,59	33,42	36,26	36,09	35,41	35,35	34,87	36,06	38,19	36,99	37,39
AtAGO8 cDNA	34,38	34,31	38,61	38,15	36,98	37,31	37,16	37,30	37,28	38,15	38,08	38,08	38,08	36,00	35,31	36,20
AtAGO9 cDNA	34,75	32,79	38,37	38,45	37,45	38,03	36,50	37,74	38,12	36,86	38,03	38,03	38,03	37,31	36,70	37,80
TaAGO4 CDS	37,05	36,87	39,97	41,27	40,39	40,35	40,35	40,35	41,65	41,83	41,75	41,75	41,75	37,67	38,91	39,19
Tv C3 mRNA	32,51	29,85	36,34	35,19	35,63	34,76	33,32	34,46	35,73	34,45	35,08	35,08	35,08	33,43	34,25	35,35
AtAGO4 cDNA	34,32	31,56	38,81	37,62	37,48	36,82	34,20	35,95	37,04	35,92	36,62	36,09	36,59	35,21	35,53	35,86
NbAGO4 mRNA	38,20	37,00	41,60	40,90	39,01	39,64	39,64	39,64	41,04	41,23	41,90	41,90	41,90	39,98	39,79	39,78
SmAGO9 mRNA	34,65	32,15	37,41	36,41	36,61	35,74	35,54	35,70	35,80	35,42	35,61	35,61	35,61	35,43	35,15	35,42
Tv G2 mRNA	34,99	31,96	38,98	36,72	37,10	37,30	34,11	36,98	36,89	35,99	35,83	35,30	37,18	35,67	34,96	35,62
Tv T1 mRNA	35,79	32,63	38,80	37,34	36,91	38,12	36,67	37,70	37,86	36,73	37,42	37,42	37,42	36,78	35,56	36,06
EgAGO4 transcrVar1 mRNA	35,60	33,09	38,88	37,91	36,50	37,92	34,82	37,48	36,66	36,27	36,41	35,88	37,13	35,61	35,98	36,25
EgAGO4 transcrVar2 mRNA	35,46	33,17	38,89	37,78	36,51	37,90	34,81	37,46	36,39	36,28	36,37	35,84	37,08	35,58	35,90	36,04
SiAGO4 transcrVar1 mRNA	35,11	32,65	37,77	37,45	35,46	36,48	33,46	36,23	37,34	35,64	36,39	35,87	37,53	35,38	37,49	36,86
SiAGO4 transcrVar2 mRNA	34,80	32,36	37,40	37,35	35,14	36,16	33,20	35,91	37,02	35,37	36,11	35,60	37,23	35,08	37,15	36,54
SmAGO4 mRNA	34,15	32,21	38,10	37,74	37,86	36,80	33,44	36,80	37,36	36,59	35,74	35,20	36,90	37,50	35,91	37,86
Tv G1 mRNA	34,38	32,05	36,87	36,89	35,13	35,98	33,52	35,54	35,91	34,67	34,79	34,31	35,24	35,35	36,03	36,13
Tv T2 mRNA	34,46	32,14	37,02	36,84	35,21	36,06	33,67	35,70	36,04	34,81	34,81	34,33	35,23	35,30	35,91	36,06
Tv C2 mRNA	33,73	32,07	36,46	36,55	34,89	35,68	33,64	35,31	35,53	34,18	34,34	33,88	35,18	34,91	35,74	36,00
TvAGO4 CDS	37,12	37,35	41,41	41,68	39,74	40,19	40,19	40,19	41,66	41,69	41,12	41,12	41,12	40,18	40,30	40,30
AtAGO6 cDNA	33,77	30,62	36,61	37,99	37,12	36,52	33,36	36,30	36,70	35,76	35,47	34,95	36,26	35,11	35,36	35,43
SmAGO6 mRNA	34,15	31,07	37,24	36,68	35,63	35,73	32,62	35,41	37,37	35,20	35,53	35,01	36,47	34,61	35,84	36,31
Tv G3 mRNA	35,63	32,80	38,14	38,12	36,62	36,61	33,72	36,25	38,06	36,57	36,46	35,93	37,26	35,18	35,72	36,44
Tv C4 mRNA	34,83	32,71	38,01	38,27	37,25	36,59	33,58	36,34	38,23	36,37	36,63	36,09	37,35	35,28	35,94	36,41
Tv T3 mRNA	35,51	32,84	37,52	38,79	36,72	36,48	33,33	36,25	37,68	36,35	36,52	35,99	37,26	35,49	35,90	36,78

	AtAGO7 cDNA	SmAGO7 mRNA	EgAGO7 transcrVar1 mRNA	EgAGO7 transcrVar2 mRNA	SiAGO7 transcrVar1 mRNA	SiAGO7 transcrVar2 mRNA	AtAGO8 cDNA	AtAGO9 cDNA	TaAGO4 CDS	Tv C3 mRNA	AtAGO4 cDNA	NbAGO4 mRNA	SmAGO9 mRNA	Tv G2 mRNA
AtAGO2 cDNA	34,88	35,04	35,77	35,74	37,55	37,36	34,38	34,75	37,05	32,51	34,32	38,20	34,65	34,99
AtAGO3 cDNA	34,08	32,92	35,04	35,04	34,99	34,54	34,31	32,79	36,87	29,85	31,56	37,00	32,15	31,96
AtAGO5 cDNA	35,89	36,76	36,86	36,89	38,07	37,57	38,61	38,37	39,97	36,34	38,81	41,60	37,41	38,98
AtAGO10 cDNA	36,34	36,07	37,73	37,74	38,21	37,93	38,15	38,45	41,27	35,19	37,62	40,90	36,41	36,72
SmAGO10 mRNA	36,24	36,90	36,38	36,50	37,26	37,21	36,98	37,45	40,39	35,63	37,48	39,01	36,61	37,10
SiAGO10 transcrVar2 mRNA	36,18	35,58	35,20	35,20	36,66	36,59	37,31	38,03	40,35	34,76	36,82	39,64	35,74	37,30
SiAGO10 transcrVar1 mRNA	33,53	33,13	33,92	33,94	33,79	33,42	37,16	36,50	40,35	33,32	34,20	39,64	35,54	34,11
SiAGO10 transcrVar3 mRNA	35,95	35,28	34,76	34,76	36,33	36,26	37,30	37,74	40,35	34,46	35,95	39,64	35,70	36,98
AtAGO1 cDNA	35,21	35,99	36,11	36,17	36,83	36,09	37,28	38,12	41,65	35,73	37,04	41,04	35,80	36,89
SmAGO1 mRNA	35,19	35,45	36,93	36,93	35,80	35,41	38,15	36,86	41,83	34,45	35,92	41,23	35,42	35,99
SiAGO1 transcrVar1 mRNA	34,72	35,15	36,88	36,86	35,71	35,35	38,08	38,03	41,75	35,08	36,62	41,90	35,61	35,83
SiAGO1 transcrVar2 mRNA	34,22	34,65	36,33	36,31	35,21	34,87	38,08	38,03	41,75	35,08	36,09	41,90	35,61	35,30
SiAGO1 transcrVar3 mRNA	35,51	35,81	36,47	36,45	36,46	36,06	38,08	38,03	41,75	35,08	36,59	41,90	35,61	37,18
SmAGO3 mRNA	38,87	36,75	38,28	38,26	38,37	38,19	36,00	37,31	37,67	33,43	35,21	39,98	35,43	35,67
SiAGO2 transcrVar1 mRNA	34,99	34,33	35,15	35,13	37,24	36,99	35,31	36,70	38,91	34,25	35,53	39,79	35,15	34,96
SiAGO2 transcrVar2 mRNA	36,03	35,50	35,85	35,80	37,76	37,39	36,20	37,80	39,19	35,35	35,86	39,78	35,42	35,62
AtAGO7 cDNA		50,70	50,47	50,53	52,67	52,47	34,80	35,31	36,90	32,21	33,38	37,19	33,82	34,14
SmAGO7 mRNA	50,70		54,00	53,92	59,36	58,82	33,77	35,68	36,96	32,55	33,76	36,02	34,13	34,16
EgAGO7 transcrVar1 mRNA	50,47	54,00		99,71	59,91	59,53	34,21	34,51	36,63	32,37	33,02	36,00	32,22	31,51
EgAGO7 transcrVar2 mRNA	50,53	53,92	99,71		59,91	59,50	34,24	34,48	36,64	32,32	33,02	36,00	32,22	31,54
SiAGO7 transcrVar1 mRNA	52,67	59,36	59,91	59,91		98,40	33,74	35,24	37,96	33,85	34,68	36,55	34,42	34,42
SiAGO7 transcrVar2 mRNA	52,47	58,82	59,53	59,50	98,40		33,45	35,12	37,92	33,32	34,37	36,48	34,35	34,47
AtAGO8 cDNA	34,80	33,77	34,21	34,24	33,74	33,45		66,19	57,15	51,77	54,57	60,22	51,87	53,08
AtAGO9 cDNA	35,31	35,68	34,51	34,48	35,24	35,12	66,19		60,86	55,53	57,75	65,89	56,15	57,32
TaAGO4 CDS	36,90	36,96	36,63	36,64	37,96	37,92	57,15	60,86		61,32	62,60	64,09	60,63	63,05
Tv C3 mRNA	32,21	32,55	32,37	32,32	33,85	33,32	51,77	55,53	61,32		57,13	65,23	54,71	56,72
AtAGO4 cDNA	33,38	33,76	33,02	33,02	34,68	34,37	54,57	57,75	62,60	57,13		67,68	59,96	57,16
NbAGO4 mRNA	37,19	36,02	36,00	36,00	36,55	36,48	60,22	65,89	64,09	65,23	67,68		68,41	69,59
SmAGO9 mRNA	33,82	34,13	32,22	32,22	34,42	34,35	51,87	56,15	60,63	54,71	59,96	68,41		74,20
Tv G2 mRNA	34,14	34,16	31,51	31,54	34,42	34,47	53,08	57,32	63,05	56,72	57,16	69,59	74,20	
Tv T1 mRNA	35,01	34,31	33,42	33,45	35,42	35,31	53,07	57,03	63,12	55,32	58,12	69,88	72,81	92,38
EgAGO4 transcrVar1 mRNA	34,92	33,10	32,52	32,52	35,76	35,55	52,10	56,00	61,21	55,65	58,24	70,73	65,55	65,36
EgAGO4 transcrVar2 mRNA	34,80	32,91	32,38	32,38	35,69	35,49	52,04	55,93	61,25	55,37	58,01	70,81	65,39	65,25
SiAGO4 transcrVar1 mRNA	33,70	33,15	31,73	31,73	33,93	33,94	54,65	57,12	64,97	56,49	58,41	75,74	68,25	68,01
SiAGO4 transcrVar2 mRNA	33,70	32,86	31,46	31,46	33,82	33,84	54,65	56,57	64,97	55,94	57,86	75,74	67,57	67,36
SmAGO4 mRNA	35,30	35,14	32,67	32,70	33,87	33,81	56,80	59,70	65,08	57,61	59,87	74,77	72,76	70,18
Tv G1 mRNA	32,94	32,43	31,54	31,53	34,04	34,09	51,99	55,00	64,73	54,83	57,02	73,58	65,02	64,51
Tv T2 mRNA	33,08	32,55	31,92	31,92	34,24	34,35	52,08	55,00	64,91	55,10	57,05	73,47	65,19	64,85
Tv C2 mRNA	32,67	32,17	31,22	31,22	33,72	33,58	52,02	54,09	64,66	53,96	55,95	73,36	65,11	64,51
TvAGO4 CDS	37,20	36,93	36,07	36,07	36,90	36,83	58,71	64,24	64,77	64,44	67,13	73,39	74,74	76,17
AtAGO6 cDNA	32,23	32,51	31,82	31,85	34,23	34,16	50,65	51,99	56,08	51,06	49,44	57,53	49,47	49,26
SmAGO6 mRNA	32,03	32,27	31,26	31,29	33,98	33,84	49,27	52,32	57,80	52,21	52,10	60,07	51,14	52,54
Tv G3 mRNA	33,27	32,42	31,79	31,76	34,67	34,29	49,45	52,31	56,68	51,59	52,06	59,44	50,64	52,59
Tv C4 mRNA	32,81	32,42	31,98	32,01	34,53	34,16	49,50	52,51	56,90	51,96	52,42	59,52	50,43	52,09
Tv T3 mRNA	33,02	32,59	32,35	32,32	34,74	34,66	50,49	53,39	57,64	53,08	52,20	60,67	50,97	53,12

	Tv T1 mRNA	EgAGO4 transcrVar1 mRNA	EgAGO4 transcrVar2 mRNA	SiAGO4 transcrVar1 mRNA	SiAGO4 transcrVar2 mRNA	SmAGO4 mRNA	Tv G1 mRNA	Tv T2 mRNA	Tv C2 mRNA	TvAGO4 CDS	AtAGO6 cDNA	SmAGO6 mRNA	Tv G3 mRNA	Tv C4 mRNA	Tv T3 mRNA
AtAGO2 cDNA	35,79	35,60	35,46	35,11	34,80	34,15	34,38	34,46	33,73	37,12	33,77	34,15	35,63	34,83	35,51
AtAGO3 cDNA	32,63	33,09	33,17	32,65	32,36	32,21	32,05	32,14	32,07	37,35	30,62	31,21	32,8	32,71	32,84
AtAGO5 cDNA	38,80	38,88	38,89	37,77	37,40	38,10	36,87	37,02	36,46	41,41	36,61	37,24	38,14	38,01	37,52
AtAGO10 cDNA	37,34	37,91	37,78	37,45	37,35	37,74	36,89	36,84	36,55	41,68	37,99	36,68	38,12	38,27	38,79
SmAGO10 mRNA	36,91	36,50	36,51	35,46	35,14	37,86	35,13	35,21	34,89	39,74	37,12	35,63	36,62	37,25	36,72
SiAGO10 transcrVar2 mRNA	38,12	37,92	37,90	36,48	36,16	36,80	35,98	36,06	35,68	40,19	36,52	35,73	36,61	36,59	36,48
SiAGO10 transcrVar1 mRNA	36,67	34,82	34,81	33,46	33,20	33,44	33,52	33,67	33,64	40,19	33,36	32,62	33,72	33,58	33,33
SiAGO10 transcrVar3 mRNA	37,70	37,48	37,46	36,23	35,91	36,80	35,54	35,70	35,31	40,19	36,3	35,41	36,25	36,34	36,25
AtAGO1 cDNA	37,86	36,66	36,39	37,34	37,02	37,36	35,91	36,04	35,53	41,66	36,7	37,37	38,06	38,23	37,68
SmAGO1 mRNA	36,73	36,27	36,28	35,64	35,37	36,59	34,67	34,81	34,18	41,69	35,76	35,2	36,57	36,37	36,35
SiAGO1 transcrVar1 mRNA	37,42	36,41	36,37	36,39	36,11	35,74	34,79	34,81	34,34	41,12	35,47	35,53	36,46	36,63	36,52
SiAGO1 transcrVar2 mRNA	37,42	35,88	35,84	35,87	35,60	35,20	34,31	34,33	33,88	41,12	34,95	35,01	35,93	36,09	35,99
SiAGO1 transcrVar3 mRNA	37,42	37,13	37,08	37,53	37,23	36,90	35,24	35,23	35,18	41,12	36,26	36,47	37,26	37,35	37,26
SmAGO3 mRNA	36,78	35,61	35,58	35,38	35,08	37,50	35,35	35,30	34,91	40,18	35,11	34,61	35,18	35,28	35,49
SiAGO2 transcrVar1 mRNA	35,56	35,98	35,90	37,49	37,15	35,91	36,03	35,91	35,74	40,30	35,36	35,84	35,72	35,94	35,9
SiAGO2 transcrVar2 mRNA	36,06	36,25	36,04	36,86	36,54	37,86	36,13	36,06	36,00	40,30	35,43	36,31	36,44	36,41	36,78
AtAGO7 cDNA	35,01	34,92	34,80	33,70	33,70	35,30	32,94	33,08	32,67	37,20	32,23	32,03	33,27	32,81	33,02
SmAGO7 mRNA	34,31	33,10	32,91	33,15	32,86	35,14	32,43	32,55	32,17	36,93	32,51	32,27	32,42	32,42	32,59
EgAGO7 transcrVar1 mRNA	33,42	32,52	32,38	31,73	31,46	32,67	31,54	31,92	31,22	36,07	31,82	31,26	31,79	31,98	32,35
EgAGO7 transcrVar2 mRNA	33,45	32,52	32,38	31,73	31,46	32,70	31,53	31,92	31,22	36,07	31,85	31,29	31,76	32,01	32,32
SiAGO7 transcrVar1 mRNA	35,42	35,76	35,69	33,93	33,82	33,87	34,04	34,24	33,72	36,90	34,23	33,98	34,67	34,53	34,74
SiAGO7 transcrVar2 mRNA	35,31	35,55	35,49	33,94	33,84	33,81	34,09	34,35	33,58	36,83	34,16	33,84	34,29	34,16	34,66
AtAGO8 cDNA	53,07	52,10	52,04	54,65	54,65	56,80	51,99	52,08	52,02	58,71	50,65	49,27	49,45	49,5	50,49
AtAGO9 cDNA	57,03	56,00	55,93	57,12	56,57	59,70	55,00	55,00	54,09	64,24	51,99	52,32	52,31	52,51	53,39
TaAGO4 CDS	63,12	61,21	61,25	64,97	64,97	65,08	64,73	64,91	64,66	64,77	56,08	57,8	56,68	56,9	57,64
Tv C3 mRNA	55,32	55,65	55,37	56,49	55,94	57,61	54,83	55,10	53,96	64,44	51,06	52,21	51,59	51,96	53,08
AtAGO4 cDNA	58,12	58,24	58,01	58,41	57,86	59,87	57,02	57,05	55,95	67,13	49,44	52,1	52,06	52,42	52,2
NbAGO4 mRNA	69,88	70,73	70,81	75,74	75,74	74,77	73,58	73,47	73,36	73,39	57,53	60,07	59,44	59,52	60,67
SmAGO9 mRNA	72,81	65,55	65,39	68,25	67,57	72,76	65,02	65,19	65,11	74,74	49,47	51,14	50,64	50,43	50,97
Tv G2 mRNA	92,38	65,36	65,25	68,01	67,36	70,18	64,51	64,85	64,51	76,17	49,26	52,54	52,59	52,09	53,12
Tv T1 mRNA		66,84	66,80	68,79	68,13	68,50	66,39	65,98	65,14	76,26	49,59	52,49	53,14	52,64	53,26
EgAGO4 transcrVar1 mRNA	66,84		99,06	70,33	69,70	66,89	65,80	65,84	65,30	75,51	49,07	51,36	51,69	51,31	52,38
EgAGO4 transcrVar2 mRNA	66,80	99,06		70,03	69,40	66,54	65,68	65,72	65,18	75,39	48,98	50,99	51,48	50,99	52,05
SiAGO4 transcrVar1 mRNA	68,79	70,33	70,03		98,97	71,99	69,51	69,13	69,13	81,66	49,44	52,92	52,08	52,13	52,68
SiAGO4 transcrVar2 mRNA	68,13	69,70	69,40	98,97		71,29	68,86	68,49	68,52	81,66	48,96	52,42	51,59	51,64	52,18
SmAGO4 mRNA	68,50	66,89	66,54	71,99	71,29		71,91	72,01	71,49	87,15	50,7	53,37	52,69	53,17	53,97
Tv G1 mRNA	66,39	65,80	65,68	69,51	68,86	71,91		97,76	94,42	99,01	48,3	51,11	50,75	50,28	50,77
Tv T2 mRNA	65,98	65,84	65,72	69,13	68,49	72,01	97,76		93,81	99,05	48,28	51,15	50,8	50,49	51,37
Tv C2 mRNA	65,14	65,30	65,18	69,13	68,52	71,49	94,42	93,81		99,05	47,73	50,61	49,92	49,68	50,06
TvAGO4 CDS	76,26	75,51	75,39	81,66	81,66	87,15	99,01	99,05	99,05		56,63	59,05	58,94	58,78	59,67
AtAGO6 cDNA	49,59	49,07	48,98	49,44	48,96	50,70	48,30	48,28	47,73	56,63		55,89	55,39	55,08	56,98
SmAGO6 mRNA	52,49	51,36	50,99	52,92	52,42	53,37	51,11	51,15	50,61	59,05	55,89		75,32	76,29	75,86
Tv G3 mRNA	53,14	51,69	51,48	52,08	51,59	52,69	50,75	50,80	49,92	58,94	55,39	75,32		93,43	90,83
Tv C4 mRNA	52,64	51,31	50,99	52,13	51,64	53,17	50,28	50,49	49,68	58,78	55,08	76,29	93,43		90,39
Tv T3 mRNA	53,26	52,38	52,05	52,68	52,18	53,97	50,77	51,37	50,06	59,67	56,98	75,86	90,83	90,39	

Distanzmatrix zu Kapitel 3.1.4., Abbildung 3-9 „Dendrogramm der AGO4-Proteinsequenzen von *Arabidopsis thaliana*, *Erythranthe guttata, Nicotiana benthamiana*, *Salvia miltiorrhiza*, *Sesamum indicum, Triticum aestivum* und *Thymus vulgaris*.“

	SmAGO3	SiAGO2 transcrVar1	SiAGO2 transcrVar2	AtAGO2	AtAGO3	AtAGO6	SmAGO6	Tv C4	Tv G3	Tv T3	AtAGO8	AtAGO9	Tv C3
SmAGO3		73,65	72,46	39,02	33,67	27,94	27,67	27,61	27,48	27,48	26,35	28,46	26,91
SiAGO2 transcrVar1	73,65		90,59	39,90	34,41	27,91	28,42	28,05	27,92	27,92	26,72	27,72	27,10
SiAGO2 transcrVar2	72,46	90,59		39,88	33,94	27,82	28,13	28,07	27,93	27,93	26,42	27,42	26,92
AtAGO2	39,02	39,90	39,88		56,78	24,55	24,33	24,53	24,41	24,41	22,62	23,49	23,45
AtAGO3	33,67	34,41	33,94	56,78		22,63	21,76	21,48	21,38	21,47	21,01	21,43	20,97
AtAGO6	27,94	27,91	27,82	24,55	22,63		63,07	62,29	62,18	62,29	47,29	52,12	53,05
SmAGO6	27,67	28,42	28,13	24,33	21,76	63,07		84,31	84,33	84,22	49,95	56,28	57,83
Tv C4	27,61	28,05	28,07	24,53	21,48	62,29	84,31		99,44	99,44	50,50	57,06	57,30
Tv G3	27,48	27,92	27,93	24,41	21,38	62,18	84,33	99,44		99,56	50,33	56,89	57,13
Tv T3	27,48	27,92	27,93	24,41	21,47	62,29	84,22	99,44	99,56		50,33	56,89	57,13
AtAGO8	26,35	26,72	26,42	22,62	21,01	47,29	49,95	50,50	50,33	50,33		64,46	54,70
AtAGO9	28,46	27,72	27,42	23,49	21,43	52,12	56,28	57,06	56,89	56,89	64,46		63,19
Tv C3	26,91	27,10	26,92	23,45	20,97	53,05	57,83	57,30	57,13	57,13	54,70	63,19	
TaAGO4	25,71	26,13	26,05	24,31	21,17	51,97	58,40	57,98	57,81	57,70	55,18	62,68	63,49
AtAGO4	25,27	25,20	25,67	23,48	19,79	51,77	57,02	57,65	57,36	57,25	58,58	65,53	64,11
NbAGO4	26,17	26,06	26,19	24,24	20,97	53,99	59,89	60,13	59,96	59,96	60,64	68,06	66,12
Tv C1	24,70	24,83	25,55	22,44	18,86	52,50	58,92	58,83	58,65	58,65	58,13	65,23	63,75
Tv G2	24,80	24,73	25,55	22,54	18,94	51,61	58,48	58,39	58,21	58,21	58,46	65,23	63,31
Tv T1	24,80	24,73	25,55	22,54	18,94	51,72	58,50	58,41	58,23	58,23	58,59	65,38	63,45
SmAGO9	25,00	24,45	25,23	22,58	18,46	50,39	55,85	56,08	55,91	55,91	56,56	62,46	61,28
EgAGO4 transcrVar1	25,77	25,63	25,82	23,51	19,55	52,66	59,63	59,43	59,25	59,36	59,76	66,63	66,08
Tv C2	27,03	27,02	27,04	24,14	20,99	52,16	59,12	58,92	58,75	58,75	58,95	64,61	64,58
Tv T2	26,82	26,92	26,93	23,95	20,82	52,39	59,12	59,14	58,97	58,97	58,95	64,50	64,80
TvAGO4	26,93	26,92	26,93	24,04	20,90	52,39	59,12	59,14	58,97	58,97	58,95	64,61	64,80
Tv G1	26,93	26,92	26,93	24,04	20,90	52,39	59,12	59,14	58,97	58,97	58,95	64,61	64,80
SiAGO4 transcrVar1	26,87	26,45	26,36	24,49	20,95	52,93	60,22	60,02	59,85	59,85	60,57	66,67	66,74
SmAGO4	27,03	26,81	26,83	24,14	20,64	53,05	60,33	60,35	60,18	60,18	60,04	66,04	65,13
AtAGO7	34,08	31,53	30,90	28,95	26,44	26,65	27,99	26,36	26,43	26,43	25,39	27,06	28,40
SmAGO7	32,61	32,11	31,93	30,15	26,31	25,25	26,39	26,00	25,97	25,97	24,87	26,98	26,29
SiAGO7 transcrVar1	32,00	31,77	31,33	29,67	26,98	26,31	27,36	26,77	26,65	26,65	25,73	27,35	27,26
SiAGO7 transcrVar2	31,35	31,04	29,36	28,98	26,99	26,34	27,39	26,80	26,67	26,67	25,75	27,38	27,29
EgAGO7 transcrVar1	33,01	31,98	31,58	29,95	26,54	25,95	26,77	26,06	26,04	25,94	25,64	27,37	26,90
EgAGO7 transcrVar2	32,31	31,32	30,23	29,31	26,05	25,98	26,79	26,09	26,06	25,96	25,67	27,39	26,92
AtAGO5	27,39	27,59	26,93	27,44	23,49	31,59	32,76	32,59	32,45	32,45	30,32	31,23	30,84
AtAGO10	29,01	30,25	29,23	27,64	23,84	32,88	31,97	33,47	33,33	33,33	30,61	32,08	31,04
SiAGO10 transcrVar1	29,57	30,09	29,32	27,61	24,53	32,36	31,37	32,74	32,71	32,61	30,36	31,63	30,92
SmAGO10	29,92	30,30	29,48	28,14	24,17	32,06	31,63	32,71	32,67	32,57	29,78	31,17	31,24
AtAGO1	28,91	29,22	28,39	30,02	25,91	31,78	31,03	31,96	31,93	31,83	29,75	31,33	30,94
SiAGO1 transcrVar1	28,49	28,29	28,05	28,93	25,28	31,93	31,09	31,71	31,68	31,68	29,42	30,88	30,60
SmAGO1	28,44	28,48	28,07	28,40	25,16	31,77	31,03	31,65	31,62	31,62	29,26	30,92	30,44

	TaAGO4	AtAGO4	NbAGO4	Tv C1	Tv G2	Tv T1	SmAGO9	EgAGO4 transcrVar1	Tv C2	Tv T2	TvAGO4	Tv G1	SiAGO4 transcrVar1
SmAGO3	25,71	25,27	26,17	24,70	24,80	24,80	25,00	25,77	27,03	26,82	26,93	26,93	26,87
SiAGO2 transcrVar1	26,13	25,20	26,06	24,83	24,73	24,73	24,45	25,63	27,02	26,92	26,92	26,92	26,45
SiAGO2 transcrVar2	26,05	25,67	26,19	25,55	25,55	25,55	25,23	25,82	27,04	26,93	26,93	26,93	26,36
AtAGO2	24,31	23,48	24,24	22,44	22,54	22,54	22,58	23,51	24,14	23,95	24,04	24,04	24,49
AtAGO3	21,17	19,79	20,97	18,86	18,94	18,94	18,46	19,55	20,99	20,82	20,90	20,90	20,95
AtAGO6	51,97	51,77	53,99	52,50	51,61	51,72	50,39	52,66	52,16	52,39	52,39	52,39	52,93
SmAGO6	58,40	57,02	59,89	58,92	58,48	58,50	55,85	59,63	59,12	59,12	59,12	59,12	60,22
Tv C4	57,98	57,65	60,13	58,83	58,39	58,41	56,08	59,43	58,92	59,14	59,14	59,14	60,02
Tv G3	57,81	57,36	59,96	58,65	58,21	58,23	55,91	59,25	58,75	58,97	58,97	58,97	59,85
Tv T3	57,70	57,25	59,96	58,65	58,21	58,23	55,91	59,36	58,75	58,97	58,97	58,97	59,85
AtAGO8	55,18	58,58	60,64	58,13	58,46	58,59	56,56	59,76	58,95	58,95	58,95	58,95	60,57
AtAGO9	62,68	65,53	68,06	65,23	65,23	65,38	62,46	66,63	64,61	64,50	64,61	64,61	66,67
Tv C3	63,49	64,11	66,12	63,75	63,31	63,45	61,28	66,08	64,58	64,80	64,80	64,80	66,74
TaAGO4		63,92	69,27	66,70	66,81	66,88	64,78	68,40	68,40	68,40	68,40	68,40	69,74
AtAGO4	63,92		73,03	68,34	68,12	68,16	66,70	69,46	70,46	70,57	70,68	70,68	72,76
NbAGO4	69,27	73,03		76,54	76,86	77,03	76,15	81,32	79,30	79,41	79,52	79,52	82,42
Tv C1	66,70	68,34	76,54		97,84	97,74	82,83	80,43	82,26	82,37	82,26	82,26	83,90
Tv G2	66,81	68,12	76,86	97,84		99,57	82,61	80,74	82,48	82,58	82,48	82,48	83,79
Tv T1	66,88	68,16	77,03	97,74	99,57		82,68	80,92	82,66	82,77	82,66	82,66	83,97
SmAGO9	64,78	66,70	76,15	82,83	82,61	82,68		80,64	81,12	81,23	81,12	81,12	84,85
EgAGO4 transcrVar1	68,40	69,46	81,32	80,43	80,74	80,92	80,64		85,18	85,07	85,18	85,18	90,12
Tv C2	68,40	70,46	79,30	82,26	82,48	82,66	81,12	85,18		99,67	99,78	99,78	88,80
Tv T2	68,40	70,57	79,41	82,37	82,58	82,77	81,23	85,07	99,67		99,89	99,89	88,69
TvAGO4	68,40	70,68	79,52	82,26	82,48	82,66	81,12	85,18	99,78	99,89		100,00	88,80
Tv G1	68,40	70,68	79,52	82,26	82,48	82,66	81,12	85,18	99,78	99,89	100,00		88,80
SiAGO4 transcrVar1	69,74	72,76	82,42	83,90	83,79	83,97	84,85	90,12	88,80	88,69	88,80	88,80	
SmAGO4	69,49	72,32	82,16	83,90	83,90	83,97	84,96	88,36	92,19	92,08	92,19	92,19	92,32
AtAGO7	27,67	26,66	27,20	26,47	26,28	26,28	25,93	26,15	27,87	27,77	27,77	27,77	27,51
SmAGO7	25,45	24,53	25,90	24,81	25,00	25,00	24,74	25,30	25,99	26,09	26,09	26,09	26,34
SiAGO7 transcrVar1	26,84	26,06	27,06	25,40	25,69	25,78	25,24	26,08	26,16	26,26	26,26	26,26	27,10
SiAGO7 transcrVar2	26,87	25,35	27,09	24,75	25,02	25,12	24,72	25,35	26,19	26,29	26,29	26,29	27,13
EgAGO7 transcrVar1	26,54	25,81	26,26	24,62	25,00	25,00	24,59	25,45	25,75	25,86	25,86	25,86	26,51
EgAGO7 transcrVar2	26,57	25,19	26,29	23,59	23,96	23,96	24,07	24,91	25,78	25,88	25,88	25,88	26,53
AtAGO5	30,61	30,16	32,42	29,70	29,89	29,95	29,04	30,32	31,48	31,58	31,58	31,58	32,53
AtAGO10	32,95	29,87	32,78	29,70	29,89	29,79	29,01	30,82	32,33	32,43	32,43	32,43	33,61
SiAGO10 transcrVar1	32,68	30,11	32,19	29,29	29,48	29,48	29,22	30,37	32,37	32,47	32,47	32,47	33,23
SmAGO10	32,85	29,88	32,57	29,66	29,85	29,88	29,78	30,91	32,54	32,64	32,64	32,64	33,61
AtAGO1	31,14	29,58	31,70	29,69	29,69	29,60	28,48	30,02	31,27	31,47	31,37	31,37	32,01
SiAGO1 transcrVar1	32,08	29,90	31,85	29,89	30,08	30,08	29,17	30,68	31,03	31,13	31,13	31,13	32,65
SmAGO1	32,12	29,75	31,59	29,86	30,05	30,05	29,30	30,68	30,78	30,88	30,88	30,88	32,48

	SmAGO4	AtAGO7	SmAGO7	SiAGO7 transcrVar1	SiAGO7 transcrVar2	EgAGO7 transcrVar1	EgAGO7 transcrVar2	AtAGO5	AtAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1
SmAGO3	27,03	34,08	32,61	32,00	31,35	33,01	32,31	27,39	29,01	29,57	29,92	28,91	28,49	28,44
SiAGO2 transcrVar1	26,81	31,53	32,11	31,77	31,04	31,98	31,32	27,59	30,25	30,09	30,30	29,22	28,29	28,48
SiAGO2 transcrVar2	26,83	30,90	31,93	31,33	29,36	31,58	30,23	26,93	29,23	29,32	29,48	28,39	28,05	28,07
AtAGO2	24,14	28,95	30,15	29,67	28,98	29,95	29,31	27,44	27,64	27,61	28,14	30,02	28,93	28,40
AtAGO3	20,64	26,44	26,31	26,98	26,99	26,54	26,05	23,49	23,84	24,53	24,17	25,91	25,28	25,16
AtAGO6	53,05	26,65	25,25	26,31	26,34	25,95	25,98	31,59	32,88	32,36	32,06	31,78	31,93	31,77
SmAGO6	60,33	27,99	26,39	27,36	27,39	26,77	26,79	32,76	31,97	31,37	31,63	31,03	31,09	31,03
Tv C4	60,35	26,36	26,00	26,77	26,80	26,06	26,09	32,59	33,47	32,74	32,71	31,96	31,71	31,65
Tv G3	60,18	26,43	25,97	26,65	26,67	26,04	26,06	32,45	33,33	32,71	32,67	31,93	31,68	31,62
Tv T3	60,18	26,43	25,97	26,65	26,67	25,94	25,96	32,45	33,33	32,61	32,57	31,83	31,68	31,62
AtAGO8	60,04	25,39	24,87	25,73	25,75	25,64	25,67	30,32	30,61	30,36	29,78	29,75	29,42	29,26
AtAGO9	66,04	27,06	26,98	27,35	27,38	27,37	27,39	31,23	32,08	31,63	31,17	31,33	30,88	30,92
Tv C3	65,13	28,40	26,29	27,26	27,29	26,90	26,92	30,84	31,04	30,92	31,24	30,94	30,60	30,44
TaAGO4	69,49	27,67	25,45	26,84	26,87	26,54	26,57	30,61	32,95	32,68	32,85	31,14	32,08	32,12
AtAGO4	72,32	26,66	24,53	26,06	25,35	25,81	25,19	30,16	29,87	30,11	29,88	29,58	29,90	29,75
NbAGO4	82,16	27,20	25,90	27,06	27,09	26,26	26,29	32,42	32,78	32,19	32,57	31,70	31,85	31,59
Tv C1	83,90	26,47	24,81	25,40	24,75	24,62	23,59	29,70	29,70	29,29	29,66	29,69	29,89	29,86
Tv G2	83,90	26,28	25,00	25,69	25,02	25,00	23,96	29,89	29,89	29,48	29,85	29,69	30,08	30,05
Tv T1	83,97	26,28	25,00	25,78	25,12	25,00	23,96	29,95	29,79	29,48	29,88	29,60	30,08	30,05
SmAGO9	84,96	25,93	24,74	25,24	24,72	24,59	24,07	29,04	29,01	29,22	29,78	28,48	29,17	29,30
EgAGO4 transcrVar1	88,36	26,15	25,30	26,08	25,35	25,45	24,91	30,32	30,82	30,37	30,91	30,02	30,68	30,68
Tv C2	92,19	27,87	25,99	26,16	26,19	25,75	25,78	31,48	32,33	32,37	32,54	31,27	31,03	30,78
Tv T2	92,08	27,77	26,09	26,26	26,29	25,86	25,88	31,58	32,43	32,47	32,64	31,47	31,13	30,88
TvAGO4	92,19	27,77	26,09	26,26	26,29	25,86	25,88	31,58	32,43	32,47	32,64	31,37	31,13	30,88
Tv G1	92,19	27,77	26,09	26,26	26,29	25,86	25,88	31,58	32,43	32,47	32,64	31,37	31,13	30,88
SiAGO4 transcrVar1	92,32	27,51	26,34	27,10	27,13	26,51	26,53	32,53	33,61	33,23	33,61	32,01	32,65	32,48
SmAGO4		27,16	25,60	26,07	26,09	25,45	25,48	31,99	32,12	32,37	32,75	31,37	31,23	31,07
AtAGO7	27,16		58,23	60,45	58,67	58,28	55,65	31,24	32,17	32,29	32,10	32,81	31,36	31,39
SmAGO7	25,60	58,23		74,85	73,00	67,45	66,12	31,53	31,98	32,67	32,86	33,80	33,61	33,77
SiAGO7 transcrVar1	26,07	60,45	74,85		96,81	73,94	72,21	32,70	32,80	33,36	34,00	34,26	34,36	34,17
SiAGO7 transcrVar2	26,09	58,67	73,00	96,81		71,59	65,47	31,91	31,84	32,30	32,90	32,98	32,63	32,33
EgAGO7 transcrVar1	25,45	58,28	67,45	73,94	71,59		94,07	30,50	31,84	32,54	33,33	34,02	33,33	33,71
EgAGO7 transcrVar2	25,48	55,65	66,12	72,21	65,47	94,07		29,93	30,83	31,50	32,16	32,65	31,47	32,08
AtAGO5	31,99	31,24	31,53	32,70	31,91	30,50	29,93		47,50	48,64	48,19	52,02	51,49	50,86
AtAGO10	32,12	32,17	31,98	32,80	31,84	31,84	30,83	47,50		79,64	77,35	63,71	63,95	63,32
SiAGO10 transcrVar1	32,37	32,29	32,67	33,36	32,30	32,54	31,50	48,64	79,64		89,94	65,11	66,32	65,91
SmAGO10	32,75	32,10	32,86	34,00	32,90	33,33	32,16	48,19	77,35	89,94		63,69	65,36	65,24
AtAGO1	31,37	32,81	33,80	34,26	32,98	34,02	32,65	52,02	63,71	65,11	63,69		75,14	73,90
SiAGO1 transcrVar1	31,23	31,36	33,61	34,36	32,63	33,33	31,47	51,49	63,95	66,32	65,36	75,14		91,57
SmAGO1	31,07	31,39	33,77	34,17	32,33	33,71	32,08	50,86	63,32	65,91	65,24	73,90	91,57	

Distanzmatrix zu Kapitel 3.4.1., Abbildung 3-17 „Dendrogramm der Nukleotidsequenzen verschiedener Argonauten-Proteine.“

	AtAGO2 cDNA	AtAGO3 cDNA	AtAGO5 cDNA	AtAGO10 cDNA	SiAGO10 transcrVar2 mRNA	SiAGO10 transcrVar1 mRNA	SiAGO10 transcrVar3 mRNA	SmAGO10 mRNA	TvAGO10 CDS	AtAGO1 cDNA	SiAGO1 transcrVar1 mRNA	SiAGO1 transcrVar2 mRNA	SiAGO1 transcrVar3 mRNA
AtAGO2 cDNA		62,76	37,59	37,20	36,34	35,53	36,75	36,87	38,73	38,33	39,73	39,73	39,73
AtAGO3 cDNA	62,76		35,68	34,53	34,73	34,48	34,74	34,89	37,32	36,43	37,23	36,96	36,44
AtAGO5 cDNA	37,59	35,68		49,97	49,36	48,16	49,69	49,89	52,59	50,71	49,14	49,14	49,14
AtAGO10 cDNA	37,20	34,53	49,97		61,11	57,78	62,33	63,88	67,25	55,70	57,15	56,27	57,10
SiAGO10 transcrVar2 mRNA	36,34	34,73	49,36	61,11		86,91	86,47	71,77	75,72	55,69	56,13	55,28	57,26
SiAGO10 transcrVar1 mRNA	35,53	34,48	48,16	57,78	86,91		82,98	69,47	73,20	54,42	55,20	55,58	54,05
SiAGO10 transcrVar3 mRNA	36,75	34,74	49,69	62,33	86,47	82,98		76,72	80,62	56,84	58,11	57,21	57,01
SmAGO10 mRNA	36,87	34,89	49,89	63,88	71,77	69,47	76,72		82,94	56,21	56,96	56,96	56,96
TvAGO10 CDS	38,73	37,32	52,59	67,25	75,72	73,20	80,62	82,94		59,73	60,23	60,23	60,23
AtAGO1 cDNA	38,33	36,43	50,71	55,70	55,69	54,42	56,84	56,21	59,73		63,64	62,71	62,27
SiAGO1 transcrVar1 mRNA	39,73	37,23	49,14	57,15	56,13	55,20	58,11	56,96	60,23	63,64		98,44	96,24
SiAGO1 transcrVar2 mRNA	39,73	36,96	49,14	56,27	55,28	55,58	57,21	56,96	60,23	62,71	98,44		94,73
SiAGO1 transcrVar3 mRNA	39,73	36,44	49,14	57,10	57,26	54,05	57,01	56,96	60,23	62,27	96,24	94,73	
Tv L1 mRNA	39,12	36,64	49,34	55,56	56,07	55,38	57,50	56,75	59,52	63,33	74,47	73,34	73,40
SmAGO1 mRNA	39,06	35,89	49,62	56,47	57,07	54,92	58,08	57,83	61,16	63,95	76,55	75,37	76,60
SiAGO2 transcrVar1 mRNA	43,83	40,05	36,95	36,24	34,74	32,88	35,87	36,44	39,58	35,44	35,95	35,44	36,39
SiAGO2 transcrVar2 mRNA	43,65	41,73	37,44	36,73	36,15	35,37	36,40	36,82	38,88	37,51	37,57	37,57	37,57
Tv L2 mRNA	44,61	43,93	37,41	39,00	37,70	37,70	37,67	37,79	38,80	37,71	37,41	37,41	37,41
SmAGO3 mRNA	42,98	40,11	37,70	35,67	36,05	34,88	36,64	36,18	37,95	36,47	36,51	36,51	36,51
AtAGO7 cDNA	35,75	34,00	36,43	36,52	38,47	35,56	36,65	37,15	38,49	35,30	36,20	35,68	36,71
Tv A1 mRNA	38,91	37,95	38,09	38,16	38,19	37,16	38,22	37,72	39,23	38,66	38,12	38,12	38,12
SmAGO7 mRNA	38,25	36,86	38,52	37,14	38,97	37,55	38,50	39,28	39,57	38,41	38,71	38,71	38,71
EgAGO7 transcrVar1 mRNA	37,50	36,54	37,14	37,70	36,85	36,00	36,71	37,56	39,04	37,14	36,90	36,36	36,45
EgAGO7 transcrVar2 mRNA	37,53	36,51	37,18	37,73	36,88	36,03	36,74	37,59	39,07	37,17	36,93	36,38	36,48
SiAGO7 transcrVar1 mRNA	38,37	36,84	38,15	37,50	38,30	36,50	38,41	38,53	39,82	38,10	38,44	37,88	38,05
SiAGO7 transcrVar2 mRNA	37,94	36,85	37,42	37,00	37,21	35,64	37,67	37,76	39,88	37,95	38,56	38,00	37,72
AtAGO8 cDNA	34,01	33,26	38,99	38,48	38,64	38,64	39,44	39,16	40,61	37,80	37,91	37,91	37,91
AtAGO9 cDNA	33,61	32,82	38,68	37,63	37,55	36,40	38,50	38,77	39,43	37,71	38,15	38,15	38,15
TaAGO4 CDS	36,04	34,99	41,45	42,20	39,58	39,45	40,95	41,54	41,87	41,98	42,21	42,21	42,21
AtAGO4 cDNA	34,96	33,70	37,95	40,01	37,21	36,66	38,02	37,97	39,94	39,25	39,44	39,44	39,44
NbAGO4 mRNA	36,10	33,96	41,22	40,33	38,10	37,72	39,47	39,56	39,52	38,90	39,75	39,75	39,75
EgAGO4 transcrVar1 mRNA	34,55	32,13	38,01	37,98	36,58	34,44	36,18	36,37	39,46	35,19	36,88	36,35	37,21
EgAGO4 transcrVar2 mRNA	34,78	32,02	37,71	37,81	36,36	34,27	36,12	36,27	39,20	35,13	37,02	36,49	37,36
TvAGO9 CDS	35,71	34,44	40,04	39,60	37,95	36,90	39,12	39,38	39,69	39,24	39,03	39,03	39,03
SmAGO9 mRNA	33,29	32,59	37,16	36,65	35,24	33,85	35,87	36,36	37,56	36,84	36,33	36,33	36,33
SiAGO4 transcrVar1 mRNA	35,00	31,55	38,55	37,83	36,57	34,60	37,48	37,83	40,38	36,23	38,33	37,77	39,08
SiAGO4 transcrVar2 mRNA	35,14	31,79	38,72	38,12	36,60	34,85	37,13	37,71	39,91	36,42	38,34	37,78	39,08
SmAGO4 mRNA	34,52	33,70	39,23	38,91	37,10	35,73	38,29	38,04	39,26	38,65	37,90	37,90	37,90
TvAGO4 CDS	36,23	35,72	41,59	41,86	39,60	39,60	40,79	40,55	40,52	40,67	39,41	39,41	39,41
AtAGO6 cDNA	32,42	32,40	37,65	39,02	37,40	35,83	38,02	38,32	40,05	37,50	37,73	37,73	37,73
SmAGO6 mRNA	33,69	32,89	37,02	36,85	36,79	35,23	36,89	36,97	38,73	37,77	37,84	37,84	37,84
TvAGO6 CDS	34,19	33,75	40,09	40,81	38,49	38,04	40,10	40,10	39,93	39,36	39,31	39,31	39,31

	Tv L1 mRNA	SmAGO1 mRNA	SiAGO2 transcrVar1 mRNA	SiAGO2 transcrVar2 mRNA	Tv L2 mRNA	SmAGO3 mRNA	AtAGO7 cDNA	Tv A1 mRNA	SmAGO7 mRNA	EgAGO7 transcrVar 1 mRNA	EgAGO7 transcrVar 2 mRNA	SiAGO7 transcrVar 1 mRNA	SiAGO7 transcrVar 2 mRNA	AtAGO8 cDNA	AtAGO9 cDNA
AtAGO2 cDNA	39,12	39,06	43,83	43,65	44,61	42,98	35,75	38,91	38,25	37,50	37,53	38,37	37,94	34,01	33,61
AtAGO3 cDNA	36,64	35,89	40,05	41,73	43,93	40,11	34,00	37,95	36,86	36,54	36,51	36,84	36,85	33,26	32,82
AtAGO5 cDNA	49,34	49,62	36,95	37,44	37,41	37,70	36,43	38,09	38,52	37,14	37,18	38,15	37,42	38,99	38,68
AtAGO10 cDNA	55,56	56,47	36,24	36,73	39,00	35,67	36,52	38,16	37,14	37,70	37,73	37,50	37,00	38,48	37,63
SiAGO10 transcrVar2 mRNA	56,07	57,07	34,74	36,15	37,70	36,05	38,47	38,19	38,97	36,85	36,88	38,30	37,21	38,64	37,55
SiAGO10 transcrVar1 mRNA	55,38	54,92	32,88	35,37	37,70	34,88	35,56	37,16	37,55	36,00	36,03	36,50	35,64	38,64	36,40
SiAGO10 transcrVar3 mRNA	57,50	58,08	35,87	36,40	37,67	36,64	36,65	38,22	38,50	36,71	36,74	38,41	37,67	39,44	38,50
SmAGO10 mRNA	56,75	57,83	36,44	36,82	37,79	36,18	37,15	37,72	39,28	37,56	37,59	38,53	37,76	39,16	38,77
TvAGO10 CDS	59,52	61,16	39,58	38,88	38,80	37,95	38,49	39,23	39,57	39,04	39,07	39,82	39,88	40,61	39,43
AtAGO1 cDNA	63,33	63,95	35,44	37,51	37,71	36,47	35,30	38,66	38,41	37,14	37,17	38,10	37,95	37,80	37,71
SiAGO1 transcrVar1 mRNA	74,47	76,55	35,95	37,57	37,41	36,51	36,20	38,12	38,71	36,90	36,93	38,44	38,56	37,91	38,15
SiAGO1 transcrVar2 mRNA	73,34	75,37	35,44	37,57	37,41	36,51	35,68	38,12	38,71	36,36	36,38	37,88	38,00	37,91	38,15
SiAGO1 transcrVar3 mRNA	73,40	76,60	36,39	37,57	37,41	36,51	36,71	38,12	38,71	36,45	36,48	38,05	37,72	37,91	38,15
Tv L1 mRNA		80,52	35,15	36,35	37,60	36,56	36,63	38,07	38,46	36,71	36,66	38,65	38,32	38,02	36,69
SmAGO1 mRNA	80,52		36,45	37,10	37,39	37,18	37,25	38,35	39,48	37,78	37,72	38,49	37,90	37,92	37,04
SiAGO2 transcrVar1 mRNA	35,15	36,45		81,28	65,73	64,33	36,03	37,06	36,24	35,98	36,01	36,81	36,78	35,14	36,04
SiAGO2 transcrVar2 mRNA	36,35	37,10	81,28		66,51	66,23	37,10	37,31	37,77	37,93	37,96	38,61	38,71	35,60	37,51
Tv L2 mRNA	37,60	37,39	65,73	66,51		71,82	37,23	37,69	37,56	38,73	38,77	39,19	39,27	35,67	37,37
SmAGO3 mRNA	36,56	37,18	64,33	66,23	71,82		38,31	38,01	39,39	39,49	39,49	39,24	38,33	34,99	36,20
AtAGO7 cDNA	36,63	37,25	36,03	37,10	37,23	38,31		55,77	55,39	53,95	53,96	54,53	52,87	36,61	34,94
Tv A1 mRNA	38,07	38,35	37,06	37,31	37,69	38,01	55,77		70,97	62,35	62,32	65,03	64,04	34,41	34,83
SmAGO7 mRNA	38,46	39,48	36,24	37,77	37,56	39,39	55,39	70,97		63,13	63,10	67,18	65,70	34,01	35,45
EgAGO7 transcrVar1 mRNA	36,71	37,78	35,98	37,93	38,73	39,49	53,95	62,35	63,13		99,91	65,52	62,97	35,25	33,94
EgAGO7 transcrVar2 mRNA	36,66	37,72	36,01	37,96	38,77	39,49	53,96	62,32	63,10	99,91		65,57	63,02	35,28	33,97
SiAGO7 transcrVar1 mRNA	38,65	38,49	36,81	38,61	39,19	39,24	54,53	65,03	67,18	65,52	65,57		93,21	35,25	36,38
SiAGO7 transcrVar2 mRNA	38,32	37,90	36,78	38,71	39,27	38,33	52,87	64,04	65,70	62,97	63,02	93,21		34,48	36,47
AtAGO8 cDNA	38,02	37,92	35,14	35,60	35,67	34,99	36,61	34,41	34,01	35,25	35,28	35,25	34,48		67,60
AtAGO9 cDNA	36,69	37,04	36,04	37,51	37,37	36,20	34,94	34,83	35,45	33,94	33,97	36,38	36,47	67,60	
TaAGO4 CDS	41,92	42,41	38,01	37,75	38,10	36,09	37,39	37,56	37,38	38,04	38,08	37,82	37,83	57,94	60,84
AtAGO4 cDNA	39,29	39,29	35,91	35,30	36,89	34,34	35,26	34,40	33,40	33,92	33,94	35,11	35,05	55,33	56,86
NbAGO4 mRNA	39,42	39,74	38,13	37,81	38,79	38,28	37,11	36,30	34,85	35,69	35,72	36,34	36,31	60,51	64,82
EgAGO4 transcrVar1 mRNA	36,73	37,09	35,09	34,67	36,14	32,78	34,76	34,53	34,62	32,99	33,02	35,07	35,37	53,46	55,56
EgAGO4 transcrVar2 mRNA	36,57	37,00	35,05	34,76	36,14	32,69	34,84	34,39	34,42	32,93	32,96	34,99	35,29	53,46	55,39
TvAGO9 CDS	38,60	39,54	36,75	36,56	38,40	36,62	37,02	36,28	35,96	35,55	35,58	37,06	36,91	58,39	61,04
SmAGO9 mRNA	35,78	36,95	34,26	35,11	35,99	34,59	34,78	34,27	33,96	33,16	33,19	34,90	35,03	52,73	56,30
SiAGO4 transcrVar1 mRNA	37,01	37,75	36,55	36,37	36,26	33,25	35,36	34,02	34,40	32,77	32,79	34,85	34,61	55,31	57,49
SiAGO4 transcrVar2 mRNA	37,05	37,75	36,41	36,03	36,26	32,94	35,25	34,01	34,29	32,78	32,81	34,69	34,46	55,31	56,91
SmAGO4 mRNA	38,18	38,85	35,70	36,99	36,59	35,75	36,02	34,56	35,30	34,42	34,45	35,83	35,98	56,55	60,01
TvAGO4 CDS	39,67	40,15	38,98	38,76	38,52	37,92	38,27	36,52	36,59	36,90	36,93	37,44	37,51	59,33	64,09
AtAGO6 cDNA	36,69	37,49	34,56	35,48	36,50	33,66	34,01	33,76	33,51	33,60	33,63	35,04	35,68	49,86	51,63
SmAGO6 mRNA	36,70	37,61	34,81	35,40	34,80	34,32	33,96	34,29	33,01	33,06	33,09	35,25	35,76	48,32	51,50
TvAGO6 CDS	38,92	39,89	37,54	37,50	37,89	36,53	35,48	35,58	34,34	35,21	35,24	35,82	35,76	54,70	56,94

	TaAGO4 CDS	AtAGO4 cDNA	NbAGO4 mRNA	EgAGO4 transcrVar1 mRNA	EgAGO4 transcrVar2 mRNA	TvAGO9 CDS	SmAGO9 mRNA	SiAGO4 transcrVar1 mRNA	SiAGO4 transcrVar2 mRNA	SmAGO4 mRNA	TvAGO4 CDS	AtAGO6 cDNA	SmAGO6 mRNA	TvAGO6 CDS
AtAGO2 cDNA	36,04	34,96	36,10	34,55	34,78	35,71	33,29	35,00	35,14	34,52	36,23	32,42	33,69	34,19
AtAGO3 cDNA	34,99	33,70	33,96	32,13	32,02	34,44	32,59	31,55	31,79	33,70	35,72	32,40	32,89	33,75
AtAGO5 cDNA	41,45	37,95	41,22	38,01	37,71	40,04	37,16	38,55	38,72	39,23	41,59	37,65	37,02	40,09
AtAGO10 cDNA	42,20	40,01	40,33	37,98	37,81	39,60	36,65	37,83	38,12	38,91	41,86	39,02	36,85	40,81
SiAGO10 transcrVar2 mRNA	39,58	37,21	38,10	36,58	36,36	37,95	35,24	36,57	36,60	37,10	39,60	37,40	36,79	38,49
SiAGO10 transcrVar1 mRNA	39,45	36,66	37,72	34,44	34,27	36,90	33,85	34,60	34,85	35,73	39,60	35,83	35,23	38,04
SiAGO10 transcrVar3 mRNA	40,95	38,02	39,47	36,18	36,12	39,12	35,87	37,48	37,13	38,29	40,79	38,02	36,89	40,10
SmAGO10 mRNA	41,54	37,97	39,56	36,37	36,27	39,38	36,36	37,83	37,71	38,04	40,55	38,32	36,97	40,10
TvAGO10 CDS	41,87	39,94	39,52	39,46	39,20	39,69	37,56	40,38	39,91	39,26	40,52	40,05	38,73	39,93
AtAGO1 cDNA	41,98	39,25	38,90	35,19	35,13	39,24	36,84	36,23	36,42	38,65	40,67	37,50	37,77	39,36
SiAGO1 transcrVar1 mRNA	42,21	39,44	39,75	36,88	37,02	39,03	36,33	38,33	38,34	37,90	39,41	37,73	37,84	39,31
SiAGO1 transcrVar2 mRNA	42,21	39,44	39,75	36,35	36,49	39,03	36,33	37,77	37,78	37,90	39,41	37,73	37,84	39,31
SiAGO1 transcrVar3 mRNA	42,21	39,44	39,75	37,21	37,36	39,03	36,33	39,08	39,08	37,90	39,41	37,73	37,84	39,31
Tv L1 mRNA	41,92	39,29	39,42	36,73	36,57	38,60	35,78	37,01	37,05	38,18	39,67	36,69	36,70	38,92
SmAGO1 mRNA	42,41	39,29	39,74	37,09	37,00	39,54	36,95	37,75	37,75	38,85	40,15	37,49	37,61	39,89
SiAGO2 transcrVar1 mRNA	38,01	35,91	38,13	35,09	35,05	36,75	34,26	36,55	36,41	35,70	38,98	34,56	34,81	37,54
SiAGO2 transcrVar2 mRNA	37,75	35,30	37,81	34,67	34,76	36,56	35,11	36,37	36,03	36,99	38,76	35,48	35,40	37,50
Tv L2 mRNA	38,10	36,89	38,79	36,14	36,14	38,40	35,99	36,26	36,26	36,59	38,52	36,50	34,80	37,89
SmAGO3 mRNA	36,09	34,34	38,28	32,78	32,69	36,62	34,59	33,25	32,94	35,75	37,92	33,66	34,32	36,53
AtAGO7 cDNA	37,39	35,26	37,11	34,76	34,84	37,02	34,78	35,36	35,25	36,02	38,27	34,01	33,96	35,48
Tv A1 mRNA	37,56	34,40	36,30	34,53	34,39	36,28	34,27	34,02	34,01	34,56	36,52	33,76	34,29	35,58
SmAGO7 mRNA	37,38	33,40	34,85	34,62	34,42	35,96	33,96	34,40	34,29	35,30	36,59	33,51	33,01	34,34
EgAGO7 transcrVar1 mRNA	38,04	33,92	35,69	32,99	32,93	35,55	33,16	32,77	32,78	34,42	36,90	33,60	33,06	35,21
EgAGO7 transcrVar2 mRNA	38,08	33,94	35,72	33,02	32,96	35,58	33,19	32,79	32,81	34,45	36,93	33,63	33,09	35,24
SiAGO7 transcrVar1 mRNA	37,82	35,11	36,34	35,07	34,99	37,06	34,90	34,85	34,69	35,83	37,44	35,04	35,25	35,82
SiAGO7 transcrVar2 mRNA	37,83	35,05	36,31	35,37	35,29	36,91	35,03	34,61	34,46	35,98	37,51	35,68	35,76	35,76
AtAGO8 cDNA	57,94	55,33	60,51	53,46	53,46	58,39	52,73	55,31	55,31	56,55	59,33	49,86	48,32	54,70
AtAGO9 cDNA	60,84	56,86	64,82	55,56	55,39	61,04	56,30	57,49	56,91	60,01	64,09	51,63	51,50	56,94
TaAGO4 CDS		60,65	63,33	60,66	60,41	63,00	59,96	63,51	63,51	63,81	63,89	54,91	55,29	57,58
AtAGO4 cDNA	60,65		65,06	59,01	58,82	61,28	57,23	59,32	58,88	60,12	65,69	48,34	50,53	56,74
NbAGO4 mRNA	63,33	65,06		69,00	68,76	70,03	68,01	72,71	72,19	73,31	72,81	54,99	57,18	60,13
EgAGO4 transcrVar1 mRNA	60,66	59,01	69,00		98,42	69,72	65,56	69,65	69,21	68,45	75,48	48,90	51,09	56,22
EgAGO4 transcrVar2 mRNA	60,41	58,82	68,76	98,42		69,72	65,36	69,57	69,27	68,25	75,41	48,61	50,95	56,03
TvAGO9 CDS	63,00	61,28	70,03	69,72	69,72		76,96	73,39	73,24	74,51	75,78	52,84	55,54	59,09
SmAGO9 mRNA	59,96	57,23	68,01	65,56	65,36	76,96		67,72	67,05	72,11	74,42	49,39	50,43	54,82
SiAGO4 transcrVar1 mRNA	63,51	59,32	72,71	69,65	69,57	73,39	67,72		98,64	74,52	80,67	50,18	51,25	58,09
SiAGO4 transcrVar2 mRNA	63,51	58,88	72,19	69,21	69,27	73,24	67,05	98,64		73,76	80,67	49,69	51,00	57,56
SmAGO4 mRNA	63,81	60,12	73,31	68,45	68,25	74,51	72,11	74,52	73,76		86,79	50,73	52,98	58,90
TvAGO4 CDS	63,89	65,69	72,81	75,48	75,41	75,78	74,42	80,67	80,67	86,79		54,88	55,91	59,03
AtAGO6 cDNA	54,91	48,34	54,99	48,90	48,61	52,84	49,39	50,18	49,69	50,73	54,88		54,25	60,17
SmAGO6 mRNA	55,29	50,53	57,18	51,09	50,95	55,54	50,43	51,25	51,00	52,98	55,91	54,25		82,25
TvAGO6 CDS	57,58	56,74	60,13	56,22	56,03	59,09	54,82	58,09	57,56	58,90	59,03	60,17	82,25	

Distanzmatrix zu Kapitel 3.4.2., Abbildung 3-17 „Dendrogramm der Aminosäuresequenzen verschiedener Argonauten-Proteine.“

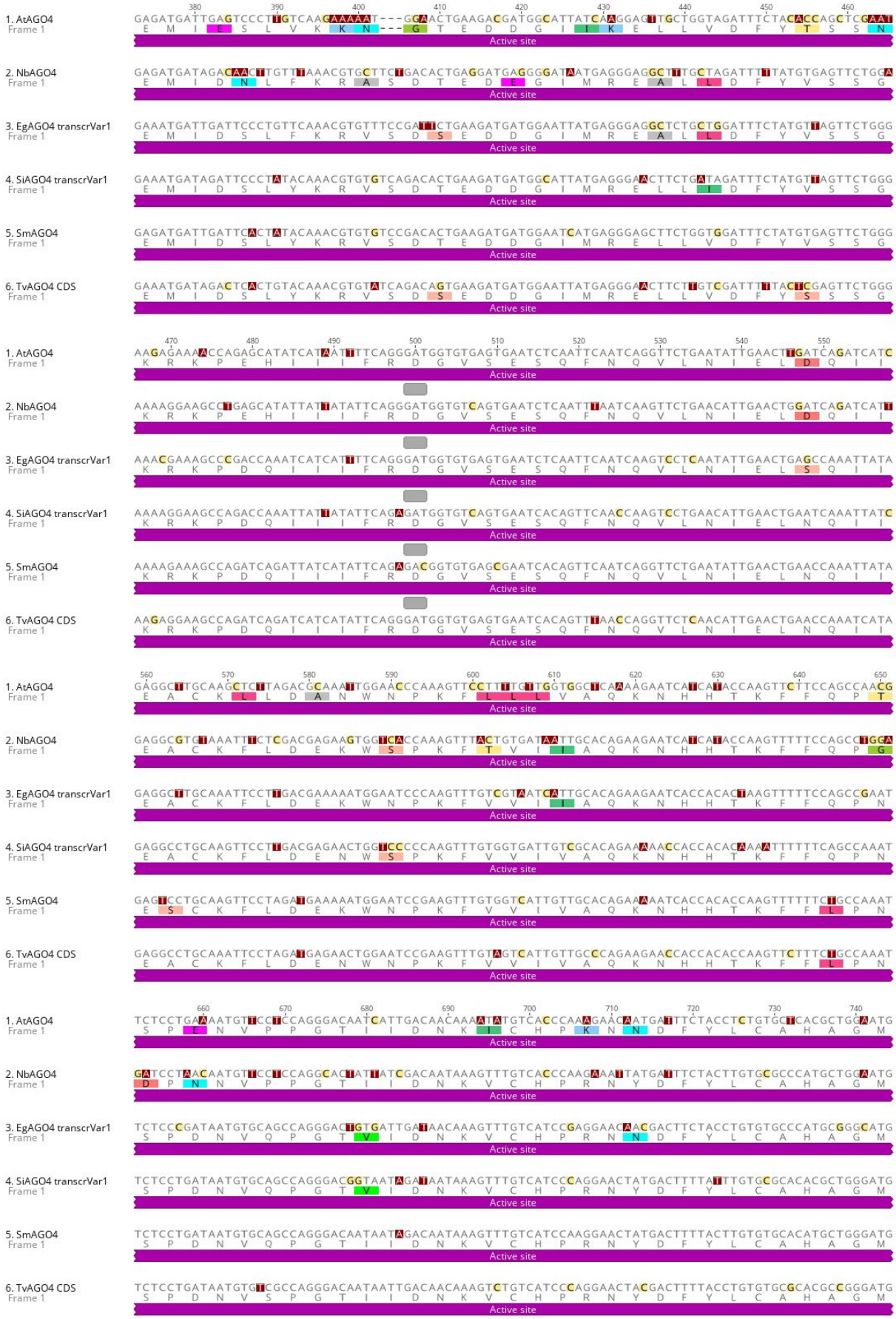
	SiAGO2 transcrVar1	SiAGO2 transcrVar2	SmAGO3	Tv L2	AtAGO2	AtAGO3	TaAGO4	AtAGO4	NbAGO4	TvAGO9	SmAGO9	EgAGO4 transcrVar1
SiAGO2 transcrVar1		88,34	74,33	79,69	40,78	34,87	26,65	25,85	26,03	25,32	25,51	26,47
SiAGO2 transcrVar2	88,34		72,68	74,30	41,09	35,48	25,28	25,34	25,35	25,00	24,78	25,48
SmAGO3	74,33	72,68		88,09	39,74	33,87	25,63	26,20	26,42	25,03	26,04	26,71
Tv L2	79,69	74,30	88,09		46,15	45,24	26,92	28,25	28,00	26,92	27,05	28,02
AtAGO2	40,78	41,09	39,74	46,15		55,83	24,75	24,08	24,07	23,97	23,34	24,59
AtAGO3	34,87	35,48	33,87	45,24	55,83		21,68	20,15	20,76	20,03	19,87	20,73
TaAGO4	26,65	25,28	25,63	26,92	24,75	21,68		63,88	69,38	67,14	64,99	68,95
AtAGO4	25,85	25,34	26,20	28,25	24,08	20,15	63,88		72,19	68,60	67,20	69,50
NbAGO4	26,03	25,35	26,42	28,00	24,07	20,76	69,38	72,19		76,22	75,16	79,29
TvAGO9	25,32	25,00	25,03	26,92	23,97	20,03	67,14	68,60	76,22		82,61	80,00
SmAGO9	25,51	24,78	26,04	27,05	23,34	19,87	64,99	67,20	75,16	82,61		80,28
EgAGO4 transcrVar1	26,47	25,48	26,71	28,02	24,59	20,73	68,95	69,50	79,29	80,00	80,28	
TvAGO4	26,20	25,49	26,46	28,51	24,23	20,51	68,51	69,41	79,19	80,47	79,12	82,53
SiAGO4 transcrVar1	26,04	25,25	26,30	27,99	24,66	20,56	70,07	71,57	82,42	81,76	82,88	87,43
SmAGO4	26,20	25,49	26,56	28,39	24,33	20,27	69,82	71,03	82,05	81,87	82,88	85,62
AtAGO8	26,96	25,87	26,81	27,40	23,11	21,88	55,10	58,35	60,35	57,88	56,08	59,43
AtAGO9	27,23	26,61	27,98	30,11	23,77	20,78	62,46	64,83	68,13	63,98	61,23	64,86
AtAGO6	27,71	26,61	27,88	29,28	24,40	22,64	51,41	51,59	53,19	51,16	49,56	52,21
SmAGO6	28,18	27,06	27,80	29,35	25,00	21,76	58,33	56,85	59,76	58,31	55,57	59,85
TvAGO6	27,61	26,62	27,78	28,66	24,51	21,58	57,12	57,44	59,31	58,18	55,65	59,17
AtAGO7	32,54	32,82	34,18	37,59	28,54	26,13	27,25	26,41	26,61	26,56	25,96	26,41
SmAGO7	32,61	32,66	33,01	37,07	29,99	26,42	26,25	25,05	25,79	25,86	25,55	26,00
Tv A1	32,30	31,28	33,11	35,32	29,83	26,04	26,15	25,24	25,50	25,47	25,17	25,43
SiAGO7 transcrVar1	32,21	32,66	32,86	36,07	29,43	26,11	26,74	25,88	26,17	25,38	25,26	25,81
SiAGO7 transcrVar2	30,69	31,21	31,48	34,19	27,90	25,18	26,84	25,97	26,27	25,47	25,36	25,90
EgAGO7 transcrVar1	32,37	32,16	33,30	37,01	29,84	26,87	26,26	25,96	25,36	24,69	24,56	25,89
EgAGO7 transcrVar2	30,54	31,88	31,37	36,12	27,81	25,92	26,29	25,99	25,39	24,25	24,59	25,92
AtAGO5	28,24	28,38	28,68	31,94	27,70	24,40	30,33	30,60	31,36	30,90	29,54	30,86
AtAGO10	30,06	29,25	30,10	32,60	27,49	23,41	33,26	30,28	31,24	29,88	29,19	31,54
TvAGO10	30,49	30,24	30,43	33,41	27,97	24,14	32,99	30,62	31,49	30,02	29,73	31,57
SiAGO10 transcrVar1	30,52	29,88	30,07	33,18	28,00	24,28	32,85	30,22	31,29	29,72	29,53	30,98
SmAGO10	30,73	30,16	30,63	33,45	28,22	24,16	33,37	29,90	31,81	30,30	30,01	31,36
AtAGO1	29,34	29,07	29,35	33,37	30,06	26,09	31,27	29,98	30,64	29,64	28,69	30,36
SiAGO1 transcrVar1	29,29	28,84	29,02	32,99	28,84	25,48	32,57	30,23	31,21	30,05	29,68	31,19
Tv L1	28,75	27,38	28,64	31,29	28,14	24,96	32,44	29,61	31,14	29,46	29,01	30,34
SmAGO1	29,16	28,95	28,84	32,99	28,53	25,24	32,41	30,01	30,97	29,77	29,40	30,82

	TvAGO4	SiAGO4 transcrVar1	SmAGO4	AtAGO8	AtAGO9	AtAGO6	SmAGO6	TvAGO6	AtAGO7	SmAGO7	Tv A1	SiAGO7 transcrVar1
SiAGO2 transcrVar1	26,20	26,04	26,20	26,96	27,23	27,71	28,18	27,61	32,54	32,61	32,30	32,21
SiAGO2 transcrVar2	25,49	25,25	25,49	25,87	26,61	26,61	27,06	26,62	32,82	32,66	31,28	32,66
SmAGO3	26,46	26,30	26,56	26,81	27,98	27,88	27,80	27,78	34,18	33,01	33,11	32,86
Tv L2	28,51	27,99	28,39	27,40	30,11	29,28	29,35	28,66	37,59	37,07	35,32	36,07
AtAGO2	24,23	24,66	24,33	23,11	23,77	24,40	25,00	24,51	28,54	29,99	29,83	29,43
AtAGO3	20,51	20,56	20,27	21,88	20,78	22,64	21,76	21,58	26,13	26,42	26,04	26,11
TaAGO4	68,51	70,07	69,82	55,10	62,46	51,41	58,33	57,12	27,25	26,25	26,15	26,74
AtAGO4	69,41	71,57	71,03	58,35	64,83	51,59	56,85	57,44	26,41	25,05	25,24	25,88
NbAGO4	79,19	82,42	82,05	60,35	68,13	53,19	59,76	59,31	26,61	25,79	25,50	26,17
TvAGO9	80,47	81,76	81,87	57,88	63,98	51,16	58,31	58,18	26,56	25,86	25,47	25,38
SmAGO9	79,12	82,88	82,88	56,08	61,23	49,56	55,57	55,65	25,96	25,55	25,17	25,26
EgAGO4 transcrVar1	82,53	87,43	85,62	59,43	64,86	52,21	59,85	59,17	26,41	26,00	25,43	25,81
TvAGO4		88,80	92,19	58,37	65,02	51,71	58,95	58,49	26,34	25,45	24,69	25,00
SiAGO4 transcrVar1	88,80		92,32	60,22	67,07	52,15	60,04	59,37	26,19	25,88	25,40	25,71
SmAGO4	92,19	92,32		59,58	66,56	52,37	60,04	59,81	25,85	25,17	24,50	24,81
AtAGO8	58,37	60,22	59,58		64,92	47,07	49,78	50,23	25,13	25,13	25,15	25,88
AtAGO9	65,02	67,07	66,56	64,92		51,94	56,44	56,70	25,44	26,39	26,10	26,29
AtAGO6	51,71	52,15	52,37	47,07	51,94		62,38	61,63	25,97	25,27	25,13	26,30
SmAGO6	58,95	60,04	60,04	49,78	56,44	62,38		84,02	27,44	26,74	26,34	27,28
TvAGO6	58,49	59,37	59,81	50,23	56,70	61,63	84,02		25,83	25,66	25,75	25,81
AtAGO7	26,34	26,19	25,85	25,13	25,44	25,97	27,44	25,83		56,90	58,09	59,60
SmAGO7	25,45	25,88	25,17	25,13	26,39	25,27	26,74	25,66	56,90		79,71	74,15
Tv A1	24,69	25,40	24,50	25,15	26,10	25,13	26,34	25,75	58,09	79,71		72,01
SiAGO7 transcrVar1	25,00	25,71	24,81	25,88	26,29	26,30	27,28	25,81	59,60	74,15	72,01	
SiAGO7 transcrVar2	25,09	25,80	24,91	25,88	26,29	26,40	27,38	25,91	56,75	69,37	65,35	91,54
EgAGO7 transcrVar1	24,66	25,29	24,38	25,41	26,54	26,46	27,32	25,82	57,54	66,93	66,41	72,56
EgAGO7 transcrVar2	24,69	25,31	24,40	25,44	26,57	26,48	27,35	25,85	53,91	62,40	60,05	67,49
AtAGO5	30,48	31,20	30,77	29,82	29,62	30,69	31,96	31,79	31,52	31,18	31,74	32,18
AtAGO10	31,14	31,98	30,95	30,26	30,50	32,85	31,88	32,54	31,69	32,09	32,31	33,43
TvAGO10	31,68	32,80	31,58	30,04	30,01	31,67	31,55	32,20	31,49	32,46	33,08	33,49
SiAGO10 transcrVar1	31,58	32,51	31,68	30,12	30,21	31,81	31,00	31,96	31,68	32,68	32,65	33,27
SmAGO10	31,90	32,93	32,10	29,88	30,01	32,00	31,30	32,27	31,55	32,46	33,15	33,52
AtAGO1	30,08	30,59	30,08	29,11	29,71	31,56	30,68	31,51	32,04	33,30	32,82	33,46
SiAGO1 transcrVar1	29,95	31,38	30,14	29,48	29,13	31,98	31,00	31,62	31,12	32,85	32,79	33,36
Tv L1	29,30	30,62	29,49	29,74	29,14	32,54	30,96	31,99	31,15	33,09	31,80	33,06
SmAGO1	29,64	31,26	29,82	29,42	29,19	31,62	30,84	31,56	31,34	33,30	32,88	33,27

	SiAGO7 transcrVar2	EgAGO7 transcrVar1	EgAGO7 transcrVar2	AtAGO5	AtAGO10	TvAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	Tv L1	SmAGO1
SiAGO2 transcrVar1	30,69	32,37	30,54	28,24	30,06	30,49	30,52	30,73	29,34	29,29	28,75	29,16
SiAGO2 transcrVar2	31,21	32,16	31,88	28,38	29,25	30,24	29,88	30,16	29,07	28,84	27,38	28,95
SmAGO3	31,48	33,30	31,37	28,68	30,10	30,43	30,07	30,63	29,35	29,02	28,64	28,84
Tv L2	34,19	37,01	36,12	31,94	32,60	33,41	33,18	33,45	33,37	32,99	31,29	32,99
AtAGO2	27,90	29,84	27,81	27,70	27,49	27,97	28,00	28,22	30,06	28,84	28,14	28,53
AtAGO3	25,18	26,87	25,92	24,40	23,41	24,14	24,28	24,16	26,09	25,48	24,96	25,24
TaAGO4	26,84	26,26	26,29	30,33	33,26	32,99	32,85	33,37	31,27	32,57	32,44	32,41
AtAGO4	25,97	25,96	25,99	30,60	30,28	30,62	30,22	29,90	29,98	30,23	29,61	30,01
NbAGO4	26,27	25,36	25,39	31,36	31,24	31,49	31,29	31,81	30,64	31,21	31,14	30,97
TvAGO9	25,47	24,69	24,25	30,90	29,88	30,02	29,72	30,30	29,64	30,05	29,46	29,77
SmAGO9	25,36	24,56	24,59	29,54	29,19	29,73	29,53	30,01	28,69	29,68	29,01	29,40
EgAGO4 transcrVar1	25,90	25,89	25,92	30,86	31,54	31,57	30,98	31,36	30,36	31,19	30,34	30,82
TvAGO4	25,09	24,66	24,69	30,48	31,14	31,68	31,58	31,90	30,08	29,95	29,30	29,64
SiAGO4 transcrVar1	25,80	25,29	25,31	31,20	31,98	32,80	32,51	32,93	30,59	31,38	30,62	31,26
SmAGO4	24,91	24,38	24,40	30,77	30,95	31,58	31,68	32,10	30,08	30,14	29,49	29,82
AtAGO8	25,88	25,41	25,44	29,82	30,26	30,04	30,12	29,88	29,11	29,48	29,74	29,42
AtAGO9	26,29	26,54	26,57	29,62	30,50	30,01	30,21	30,01	29,71	29,13	29,14	29,19
AtAGO6	26,40	26,46	26,48	30,69	32,85	31,67	31,81	32,00	31,56	31,98	32,54	31,62
SmAGO6	27,38	27,32	27,35	31,96	31,88	31,55	31,00	31,30	30,68	31,00	30,96	30,84
TvAGO6	25,91	25,82	25,85	31,79	32,54	32,20	31,96	32,27	31,51	31,62	31,99	31,56
AtAGO7	56,75	57,54	53,91	31,52	31,69	31,49	31,68	31,55	32,04	31,12	31,15	31,34
SmAGO7	69,37	66,93	62,40	31,18	32,09	32,46	32,68	32,46	33,30	32,85	33,09	33,30
Tv A1	65,35	66,41	60,05	31,74	32,31	33,08	32,65	33,15	32,82	32,79	31,80	32,88
SiAGO7 transcrVar1	91,54	72,56	67,49	32,18	33,43	33,49	33,27	33,52	33,46	33,36	33,06	33,27
SiAGO7 transcrVar2		69,51	65,07	30,80	31,96	31,79	31,61	31,66	31,94	31,72	29,64	31,63
EgAGO7 transcrVar1	69,51		89,92	30,75	32,38	33,17	33,08	33,27	33,67	33,55	33,61	33,85
EgAGO7 transcrVar2	65,07	89,92		29,02	30,28	31,03	30,80	31,14	31,80	31,30	30,13	31,50
AtAGO5	30,80	30,75	29,02		47,86	49,02	50,00	49,36	50,99	50,42	49,45	50,00
AtAGO10	31,96	32,38	30,28	47,86		78,39	79,56	79,24	62,43	62,97	61,76	62,34
TvAGO10	31,79	33,17	31,03	49,02	78,39		90,16	90,81	65,17	64,39	62,76	63,45
SiAGO10 transcrVar1	31,61	33,08	30,80	50,00	79,56	90,16		91,73	65,71	65,38	64,11	64,73
SmAGO10	31,66	33,27	31,14	49,36	79,24	90,81	91,73		64,98	64,41	62,97	63,66
AtAGO1	31,94	33,67	31,80	50,99	62,43	65,17	65,71	64,98		76,32	73,95	75,14
SiAGO1 transcrVar1	31,72	33,55	31,30	50,42	62,97	64,39	65,38	64,41	76,32		89,63	92,35
Tv L1	29,64	33,61	30,13	49,45	61,76	62,76	64,11	62,97	73,95	89,63		92,65
SmAGO1	31,63	33,85	31,50	50,00	62,34	63,45	64,73	63,66	75,14	92,35	92,65	

6.5. VERGLEICH DER PIWI-DOMÄNEN VON AGO4




1. AtAGO4
Frame 1
2. NbAGO4
Frame 1
3. EgAGO4 transcrVar1
Frame 1
4. SiAGO4 transcrVar1
Frame 1
5. SmAGO4
Frame 1
6. TvAGO4 CDS
Frame 1
Active site



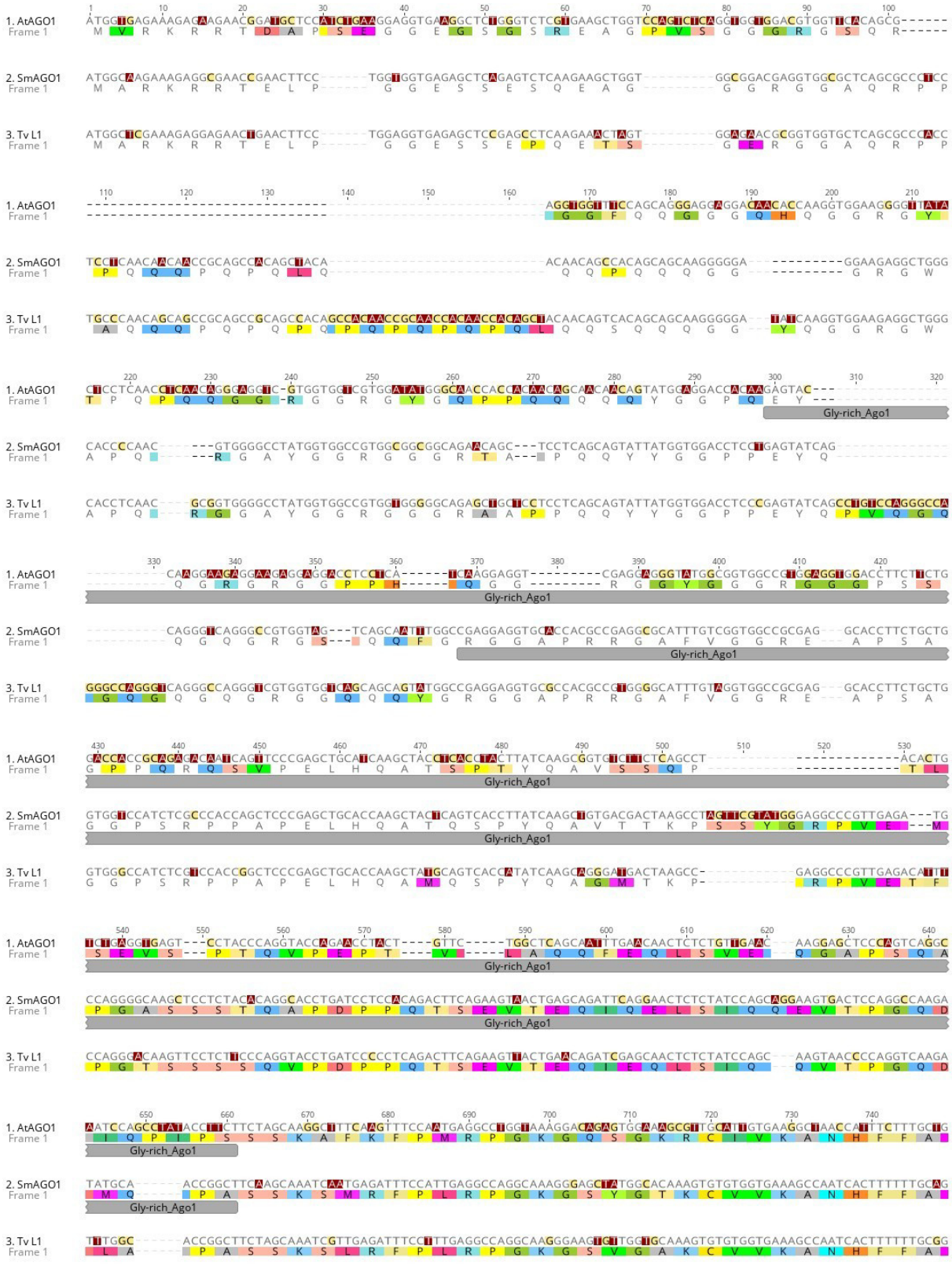
Distanzmatrix der AGO4 Piwi-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

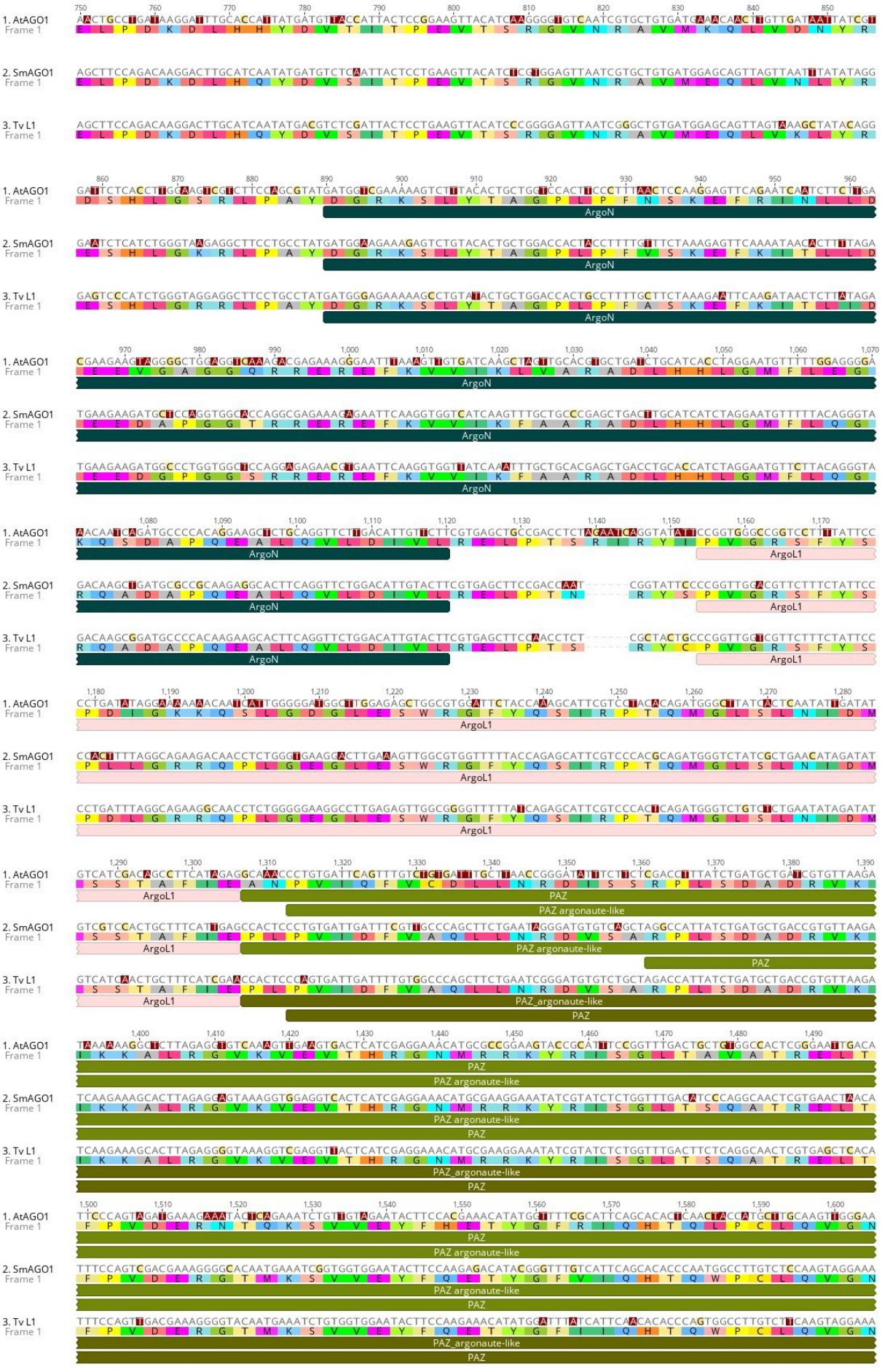
	AtAGO4 cDNA	NbAGO 4 mRNA	EgAGO4 transcrVarX1 mRNA	SiAGO4 transcrVarX1 mRNA	TvAGO4 CDS	SmAGO4 mRNA
AtAGO4 cDNA	74,19	72,47	71,94	72,69	72,58	74,19
NbAGO4 mRNA		77,35	78,53	76,81	75,40	
EgAGO4 transcrVarX1 mRNA	77,35		83,17	82,09	81,34	77,35
SiAGO4 transcrVarX1 mRNA	78,53	83,17		86,73	83,60	78,53
TvAGO4 CDS	76,81	82,09	86,73		87,38	76,81
SmAGO4 mRNA	75,40	81,34	83,60	87,38		75,40

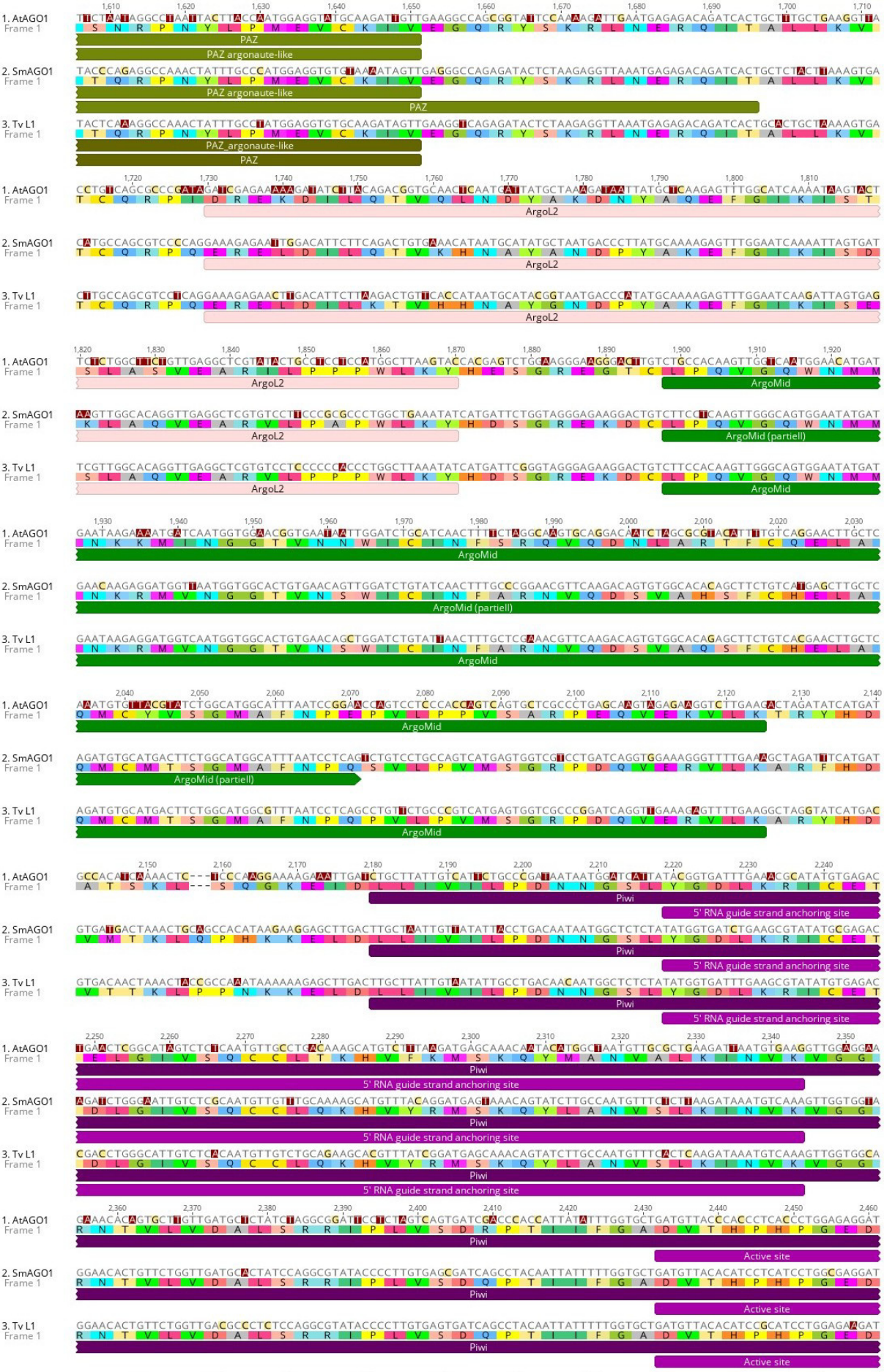
Distanzmatrix der AGO4 Piwi-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

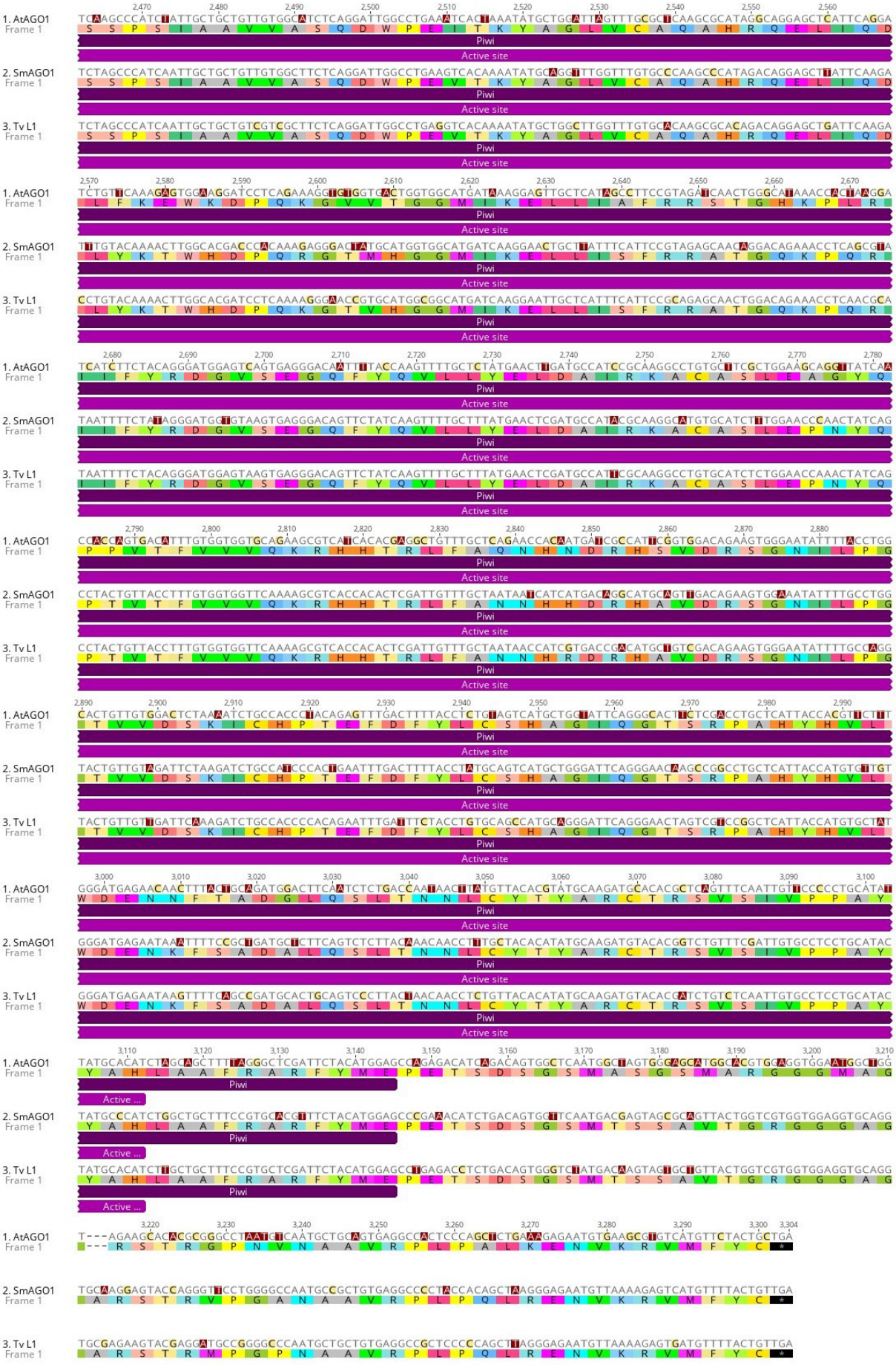
	AtAGO4 cDNA	**NbAGO4 mRNA**	**TvAGO4 CDS**	**SmAGO4 mRNA**	**EgAGO4 transcrVarX1 mRNA**	**SiAGO4 transcrVarX1 mRNA**
AtAGO4 cDNA		79,35	76,77	78,06	78,06	78,39
NbAGO4 mRNA	79,35		86,41	84,47	87,06	87,06
TvAGO4 CDS	76,77	86,41		89,97	93,53	91,91
SmAGO4 mRNA	78,06	84,47	89,97		93,53	95,47
EgAGO4 transcrVarX1 mRNA	78,06	87,06	93,53	93,53		96,12
SiAGO4 transcrVarX1 mRNA	78,39	87,06	91,91	95,47	96,12	

6.6. VERGLEICH DER KONSERVIERTEN DOMÄNEN VON AGO1, 3, 6, 7, 9 UND 10




1. AtAGO1
Frame 1
2. SmAGO1
Frame 1
3. Tv L1
Frame 1
ArgoN
ArgoL1
PAZ
PAZ argonaute-like
PAZ_argonaute-like


1. AtAGO1
Frame 1
PAZ
PAZ argonaute-like
2. SmAGO1
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
3. Tv L1
Frame 1
PAZ_argonaute-like
PAZ
1. AtAGO1
Frame 1
ArgoL2
2. SmAGO1
Frame 1
ArgoL2
3. Tv L1
Frame 1
ArgoL2
1. AtAGO1
Frame 1
ArgoL2
ArgoMid
2. SmAGO1
Frame 1
ArgoL2
ArgoMid (partiell)
3. Tv L1
Frame 1
ArgoL2
ArgoMid
1. AtAGO1
Frame 1
ArgoMid
2. SmAGO1
Frame 1
ArgoMid (partiell)
3. Tv L1
Frame 1
ArgoMid
1. AtAGO1
Frame 1
ArgoMid
2. SmAGO1
Frame 1
ArgoMid (partiell)
3. Tv L1
Frame 1
ArgoMid
1. AtAGO1
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
2. SmAGO1
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
3. Tv L1
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
1. AtAGO1
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
2. SmAGO1
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
3. Tv L1
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
1. AtAGO1
Frame 1
Piwi
Active site
2. SmAGO1
Frame 1
Piwi
Active site
3. Tv L1
Frame 1
Piwi
Active site


1. AtAGO1
Frame 1
2. SmAGO1
Frame 1
3. Tv L1
Frame 1
Piwi
Active site
Active ...

Distanzmatrix der AGO1 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		74,03	74,89	74,89
SiAGO1 transcrVarX1	74,03		82,25	80,09
SmAGO1	74,89	82,25		88,31
Tv L1	74,89	80,09	88,31	

Distanzmatrix der AGO1 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		84,42	84,42	84,42
SiAGO1 transcrVarX1	84,42		92,21	96,10
SmAGO1	84,42	92,21		94,81
Tv L1	84,42	96,10	94,81	

Distanzmatrix der AGO1 PAZ-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		74,78	73,04	75,65
SiAGO1 transcrVarX1	74,78		85,80	87,83
SmAGO1	73,04	85,80		91,88
Tv L1	75,65	87,83	91,88	

Distanzmatrix der AGO1 PAZ-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		86,09	86,09	86,09
SiAGO1 transcrVar1	86,09		99,13	98,26
SmAGO1	86,09	99,13		99,13
Tv L1	86,09	98,26	99,13	

Distanzmatrix der AGO1 MID-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		72,37	74,71	73,25
SiAGO1 transcrVarX1	72,37		90,23	87,72
SmAGO1	74,71	90,23		93,68
Tv L1	73,25	87,72	93,68	

Distanzmatrix der AGO1 MID-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	TvL1	SmAGO1
AtAGO1		77,63	75,00	75,86
SiAGO1 transcrVar1	77,63		94,74	94,83
Tv L1	75,00	94,74		98,28
SmAGO1	75,86	94,83	98,28	

Distanzmatrix der AGO1 Piwi -Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		77,43	78,26	78,26
SiAGO1 transcrVarX1	77,43		86,44	84,37
SmAGO1	78,26	86,44		90,06
Tv L1	78,26	84,37	90,06	

Distanzmatrix der AGO1 Piwi -Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		91,93	91,30	91,93
SiAGO1 transcrVarX1	91,93		98,45	97,52
SmAGO1	91,30	98,45		99,07
Tv L1	91,93	97,52	99,07	

Distanzmatrix der AGO1 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		77,78	75,40	77,78
SiAGO1 transcrVar1	77,78		84,92	82,54
SmAGO1	75,40	84,92		88,89
Tv L1	77,78	82,54	88,89	

Distanzmatrix der AGO1 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

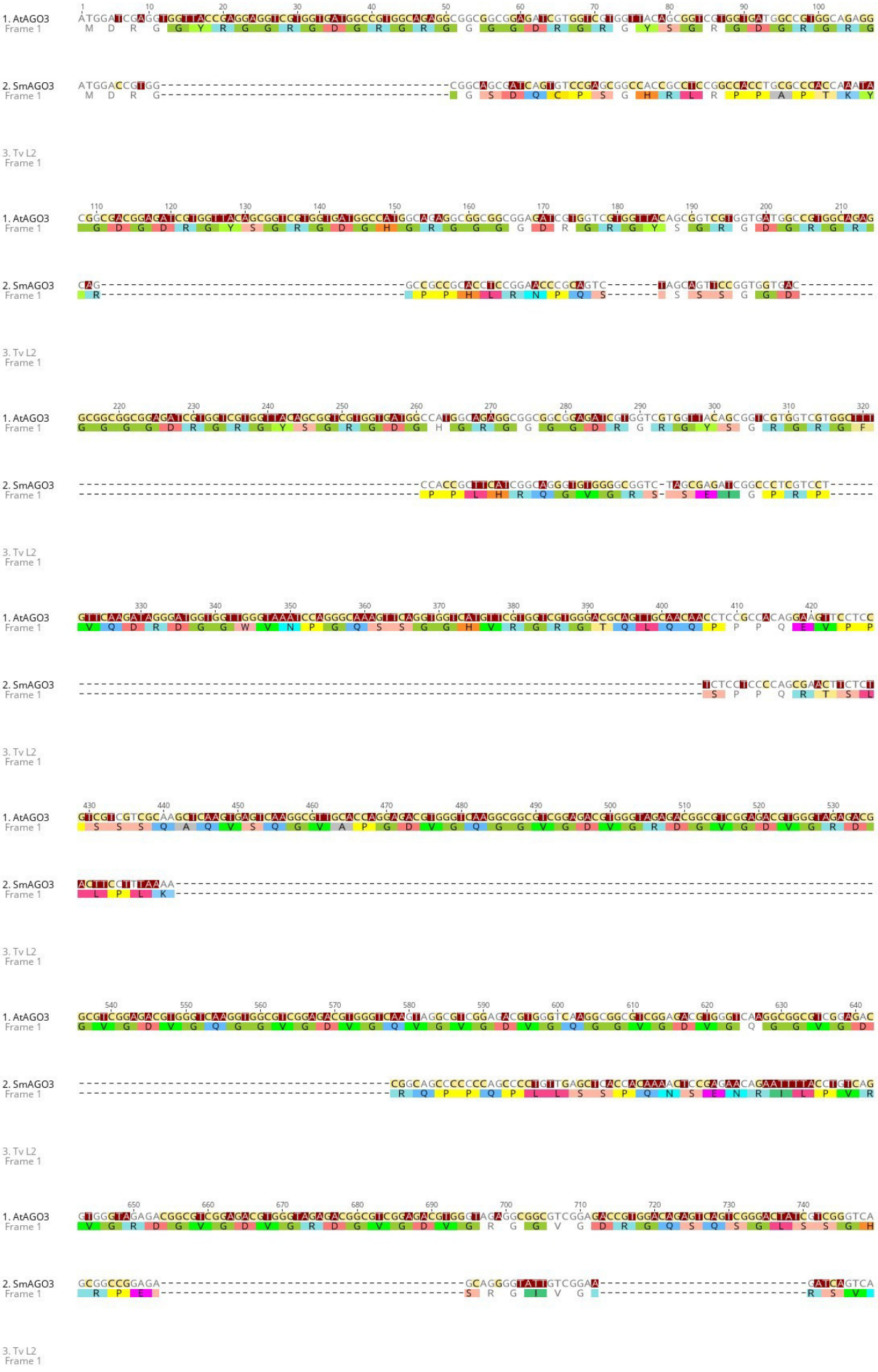
	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		88,10	85,71	85,71
SiAGO1 transcrVarX1	88,10		97,65	97,62
SmAGO1	85,71	97,65		100
Tv L1	85,71	97,62	100	

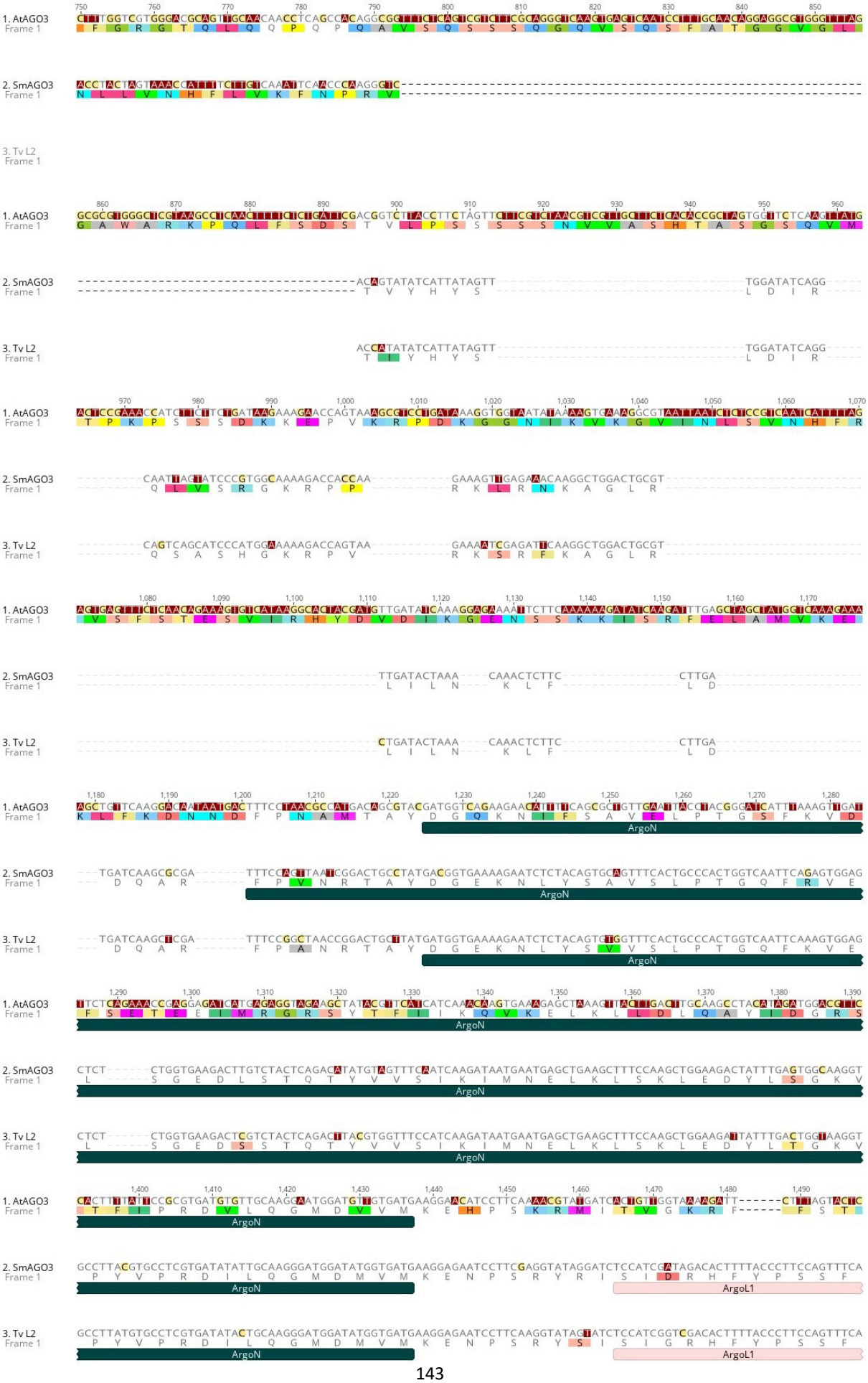
Distanzmatrix der AGO1 Active site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1	Tv L1
AtAGO1		77,24	79,15	80,32
SiAGO1 transcrVar1	77,24		86,49	84,58
SmAGO1	79,15	86,49		89,72
Tv L1	80,32	84,58	89,72	

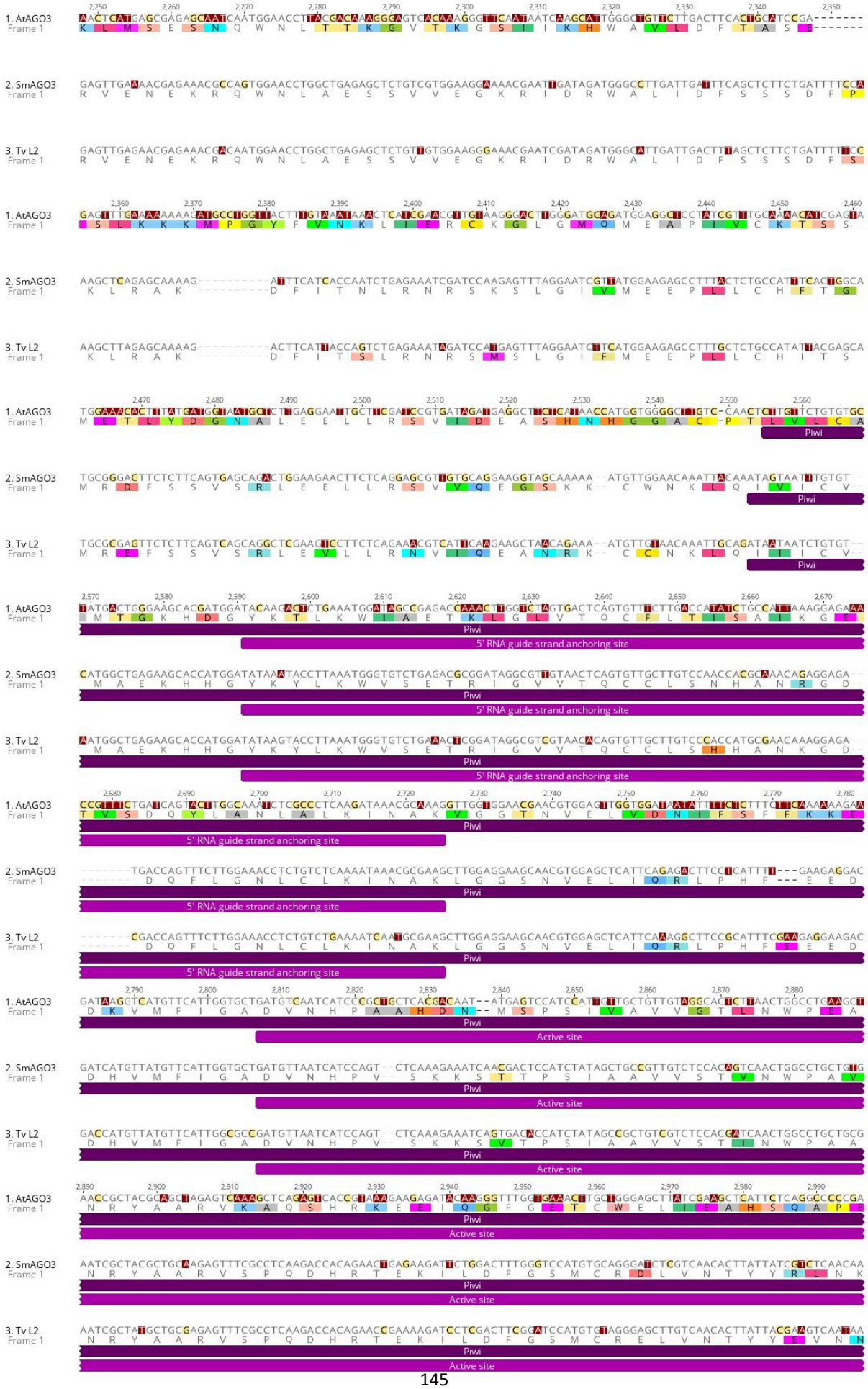
Distanzmatrix der AGO1 Active site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

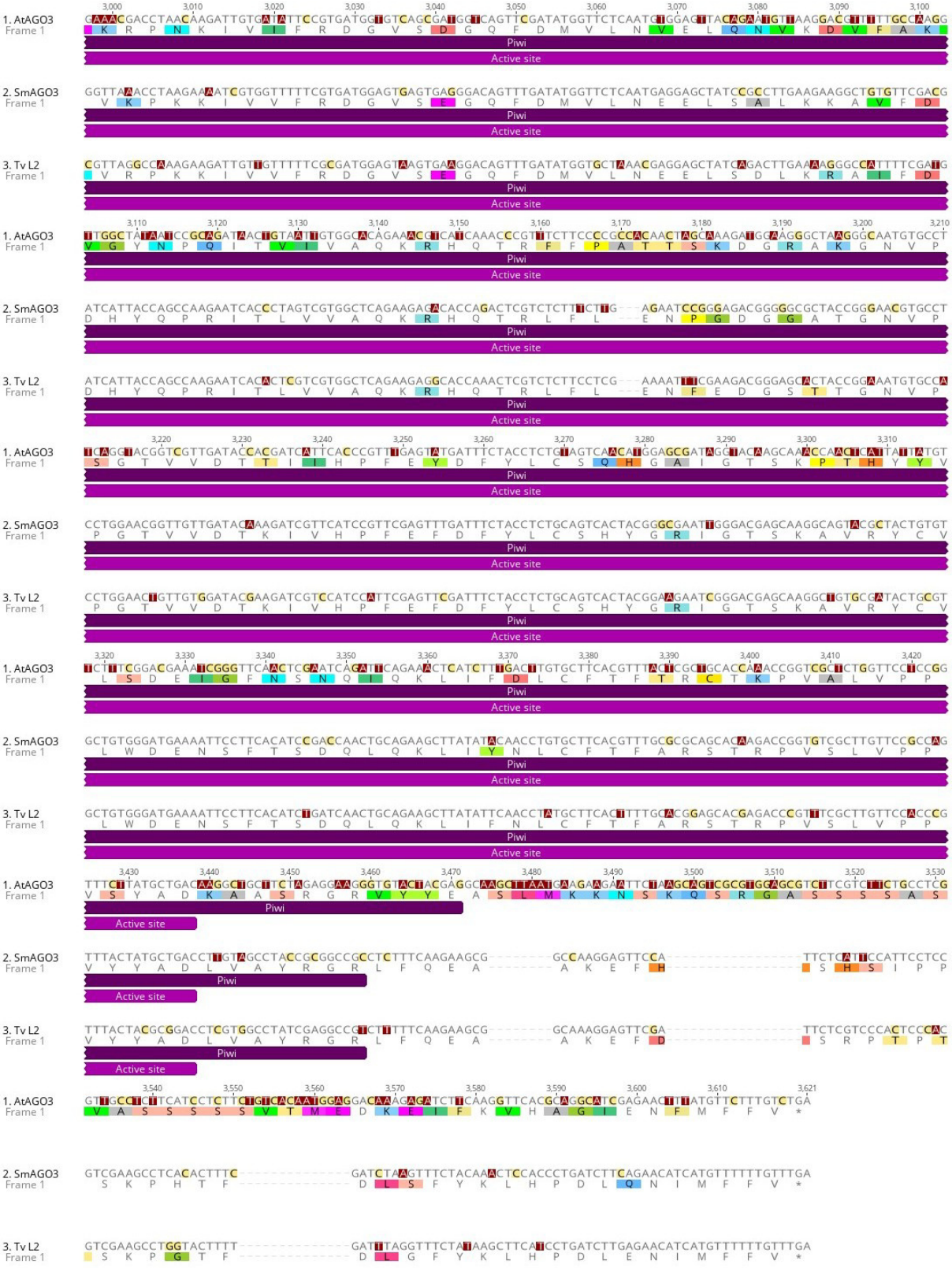
	AtAGO1	SmAGO1	SiAGO1 transcrVar1	SmAGO1
AtAGO1		91,63	90,75	90,75
Tv L1	91,63		97,36	98,68
SiAGO1 transcrVar1	90,75	97,36		98,68
SmAGO1	90,75	98,68	98,68	


1. AtAGO3
Frame 1
2. SmAGO3
Frame 1
3. Tv L2
Frame 1


1. AtAGO3
Frame 1
2. SmAGO3
Frame 1
3. Tv L2
Frame 1
ArgoN
ArgoL1


1. AtAGO3 Frame 1
2. SmAGO3 Frame 1
3. Tv L2 Frame 1
ArgoL1
PAZ argonaute-like
PAZ
Nucleic acid-binding interface
ArgoL2


1. AtAGO3
Frame 1
2. SmAGO3
Frame 1
3. Tv L2
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
Active site


1. AtAGO3
Frame 1
2. SmAGO3
Frame 1
3. Tv L2
Frame 1
Piwi
Active site

Distanzmatrix der AGO3 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		56,34	56,34
SmAGO3	56,34		93,24
Tv L2	56,34	93,24	

Distanzmatrix der AGO3 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		47,89	47,89
SmAGO3	47,89		94,20
Tv L2	47,89	94,20	

Distanzmatrix der AGO3 PAZ-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		55,72	55,22
SmAGO3	55,72		89,47
Tv L2	55,22	89,47	

Distanzmatrix der AGO3 PAZ-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		45,11	45,86
SmAGO3	45,11		88,72
Tv L2	45,86	88,72	

Distanzmatrix der AGO3 Piwi -Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		64,09	62,10
SmAGO3	64,09		86,20
Tv L2	62,10	86,20	

Distanzmatrix der AGO3 Piwi -Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		58,14	59,14
SmAGO3	58,14		93,27
Tv L2	59,14	93,27	

Distanzmatrix der AGO3 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		61,48	58,52
SmAGO3	61,48		89,68
Tv L2 m	58,52	89,68	

Distanzmatrix der AGO3 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

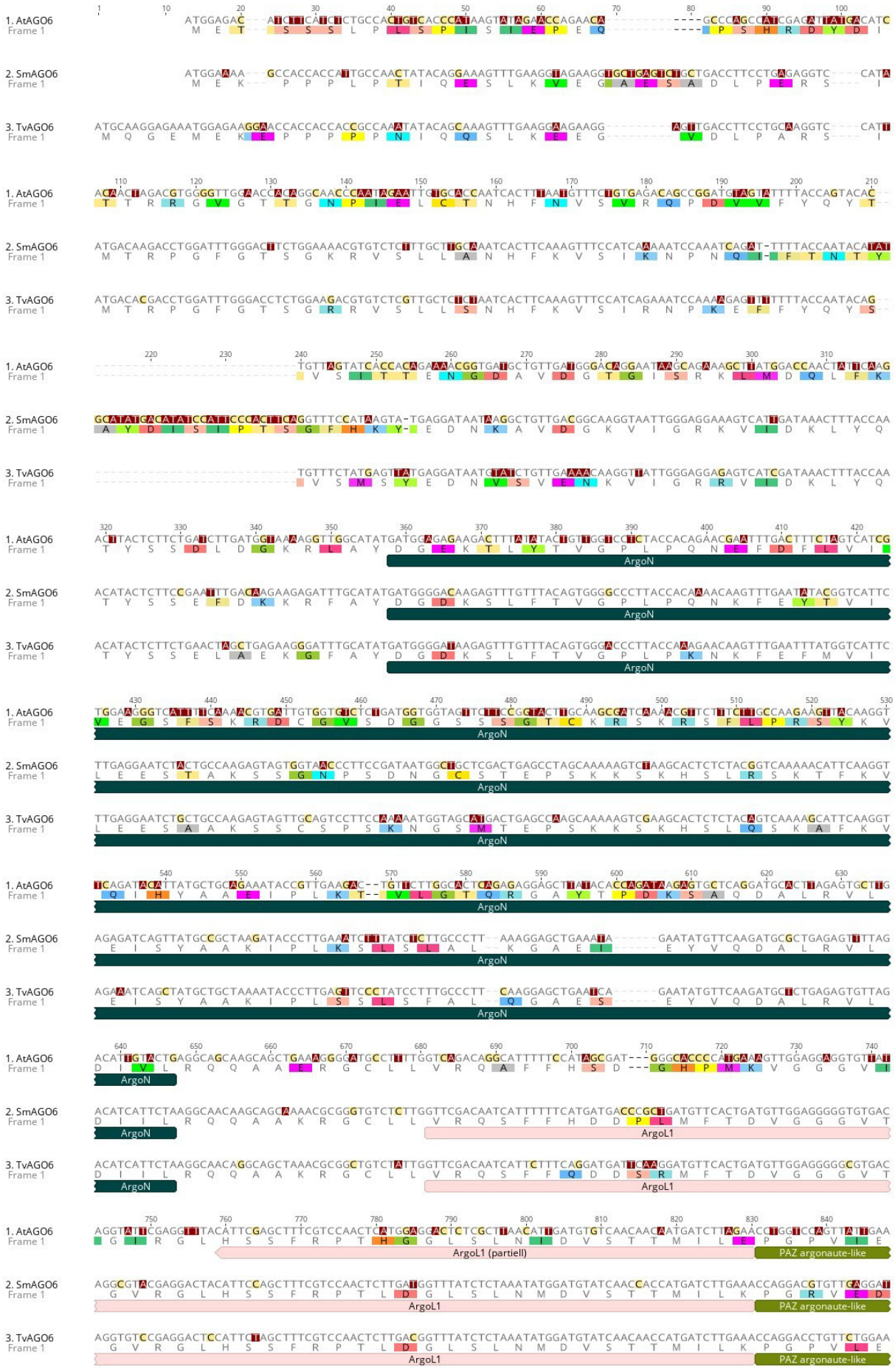
	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		57,78	60,00
SmAGO3	57,78		95,24
Tv L2	60,00	95,24	

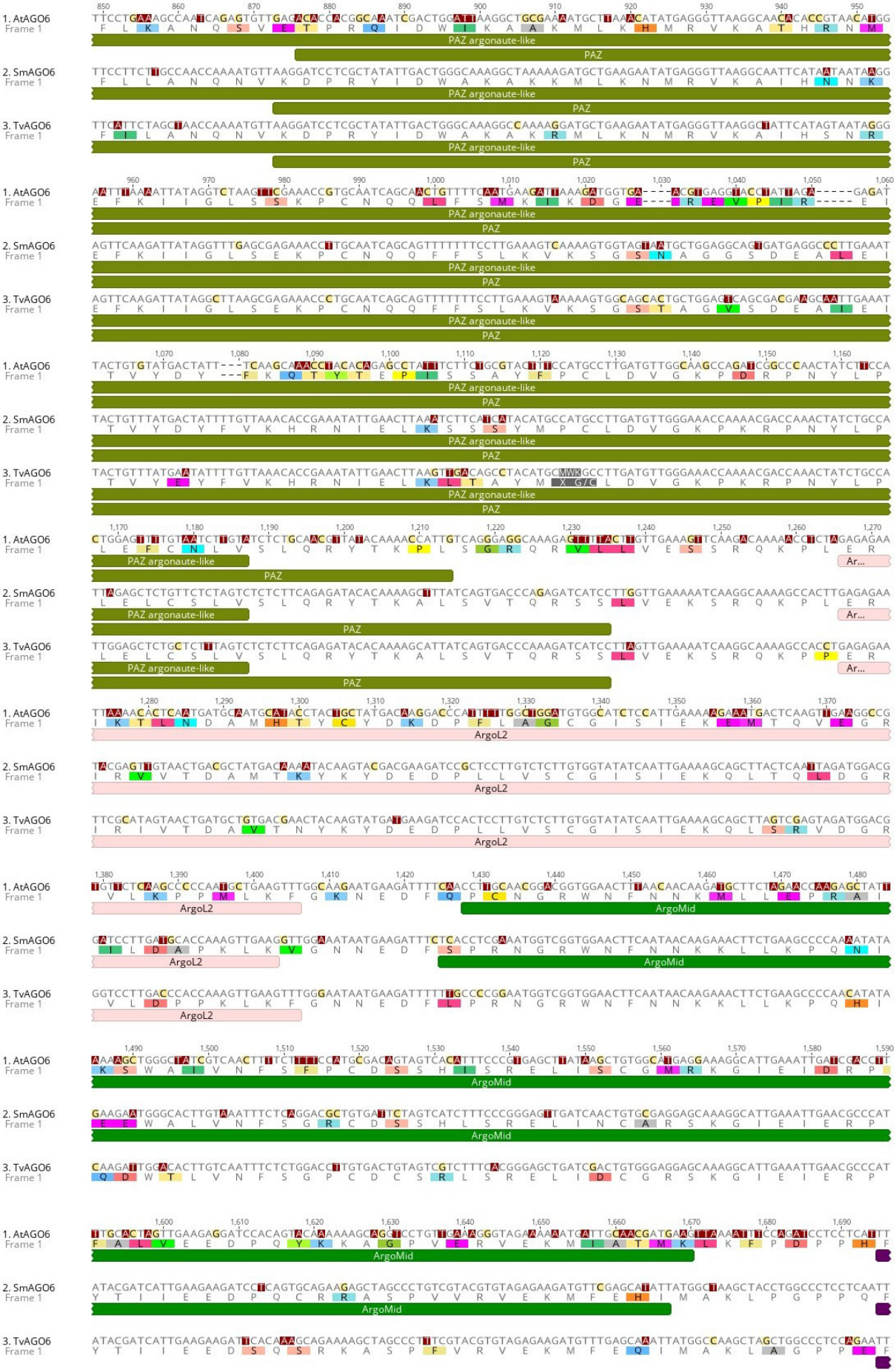
Distanzmatrix der AGO3 Active site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

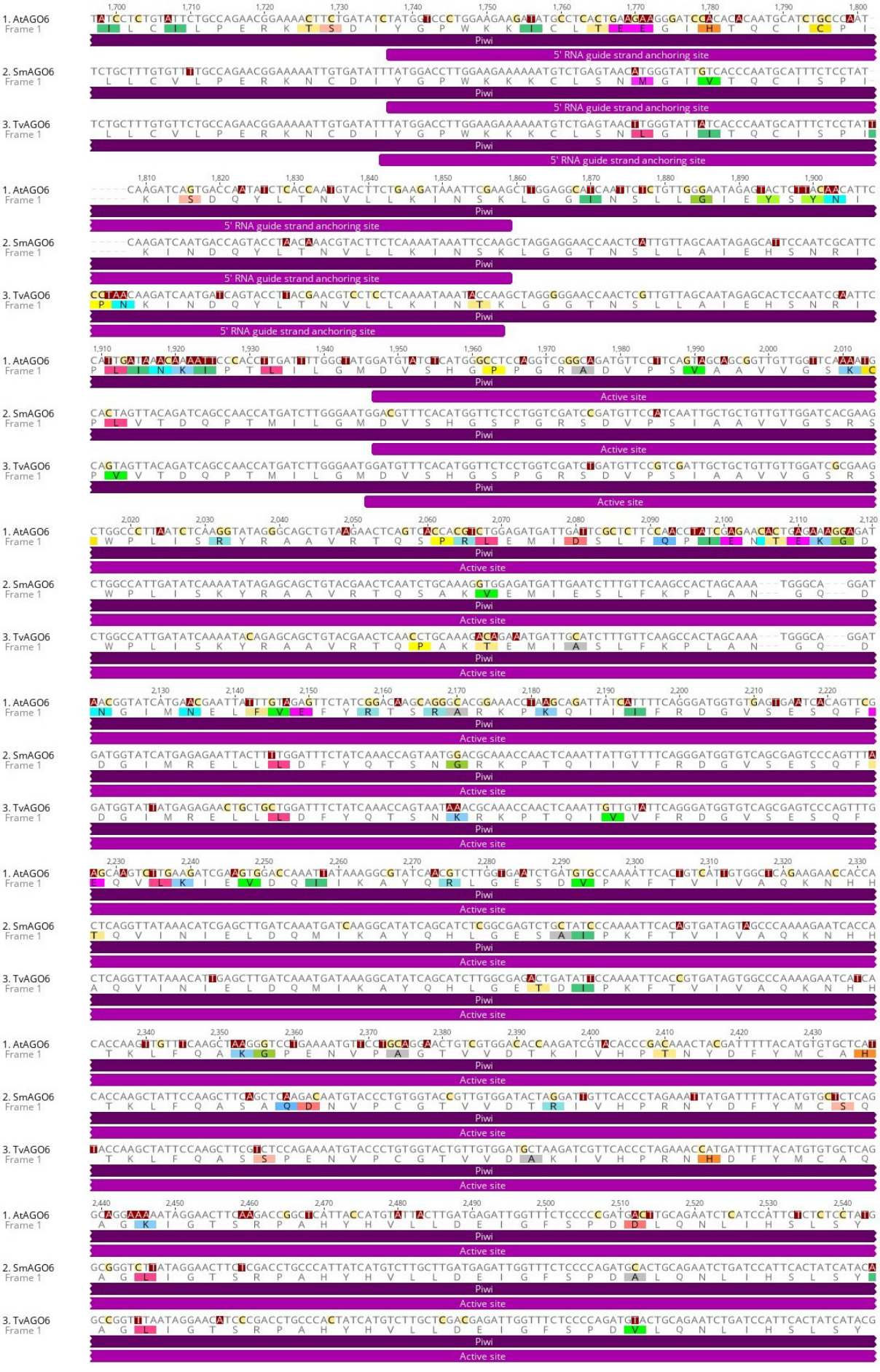
	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		65,03	62,97
SmAGO3	65,03		85,65
Tv L2	62,97	85,65	

Distanzmatrix der AGO3 Active site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO3	SmAGO3	Tv L2
AtAGO3		59,52	60,95
SmAGO3	59,52		92,34
Tv L2	60,95	92,34	


1. AtAGO6
Frame 1
2. SmAGO6
Frame 1
3. TvAGO6
Frame 1
ArgoN
ArgoL1
ArgoL1 (partiell)
PAZ argonaute-like


1. AtAGO6
Frame 1
2. SmAGO6
Frame 1
3. TvAGO6
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
ArgoL2
ArgoMid


1. AtAGO6
Frame 1
2. SmAGO6
Frame 1
3. TvAGO6
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
Active site



Distanzmatrix der AGO6 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO6	SmAGO6	TvAGO6
AtAGO6		59,31	59,66
SmAGO6	59,31		87,23
TvAGO6	59,66	87,23	

Distanzmatrix der AGO6 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO6	SmAGO6	TvAGO6
AtAGO6		50,00	48,96
SmAGO6	50,00		84,04
TvAGO6	48,96	84,04	

Distanzmatrix der AGO6 PAZ-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO6	SmAGO6	TvAGO6
AtAGO6		66,67	64,29
SmAGO6	66,67		90,42
TvAGO6	64,29	90,42	

Distanzmatrix der AGO6 PAZ-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO6	SmAGO6	TvAGO6
AtAGO6		65,55	62,26
SmAGO6	65,55		88,13
TvAGO6	62,26	88,13	

Distanzmatrix der AGO6 MID-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	SmAGO6	
SmAGO6		67,08
TvAGO6	67,08	

Distanzmatrix der AGO6 MID-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	SmAGO6	TvAGO6
SmAGO6		63,75
TvAGO6	63,75	

Distanzmatrix der AGO6 Piwi -Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO6	SmAGO6	TvAGO6
AtAGO6		72,24	70,50
SmAGO6	72,24		91,10
TvAGO6	70,50	91,10	

Distanzmatrix der AGO6 Piwi -Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO6	SmAGO6	TvAGO6
AtAGO6		76,21	75,40
SmAGO6	76,21		91,96
TvAGO6	75,40	91,96	

Distanzmatrix der AGO6 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO6	SmAGO6	TvAGO6
AtAGO6		74,36	67,48
SmAGO6	74,36		88,62
TvAGO6	67,48	88,62	

Distanzmatrix der AGO6 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO6	SmAGO6	TvAGO6
AtAGO6		82,05	75,61
SmAGO6	82,05		87,80
TvAGO6	75,61	87,80	

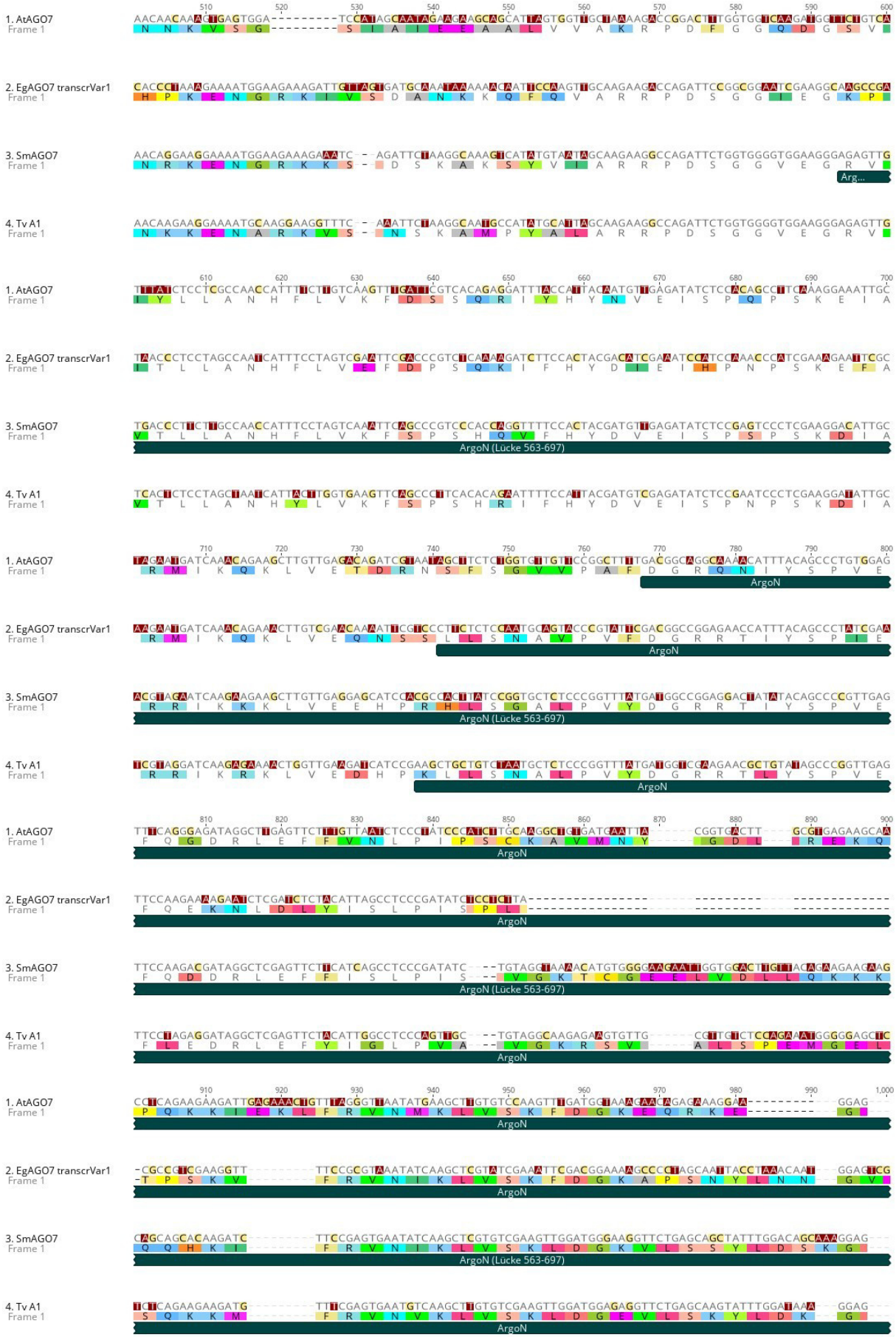
Distanzmatrix der AGO6 Active site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO6	**SmAGO6**	**TvAGO6**
AtAGO6		72,48	71,25
SmAGO6	72,48		90,74
TvAGO6	71,25	90,74	

Distanzmatrix der AGO6 Active site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

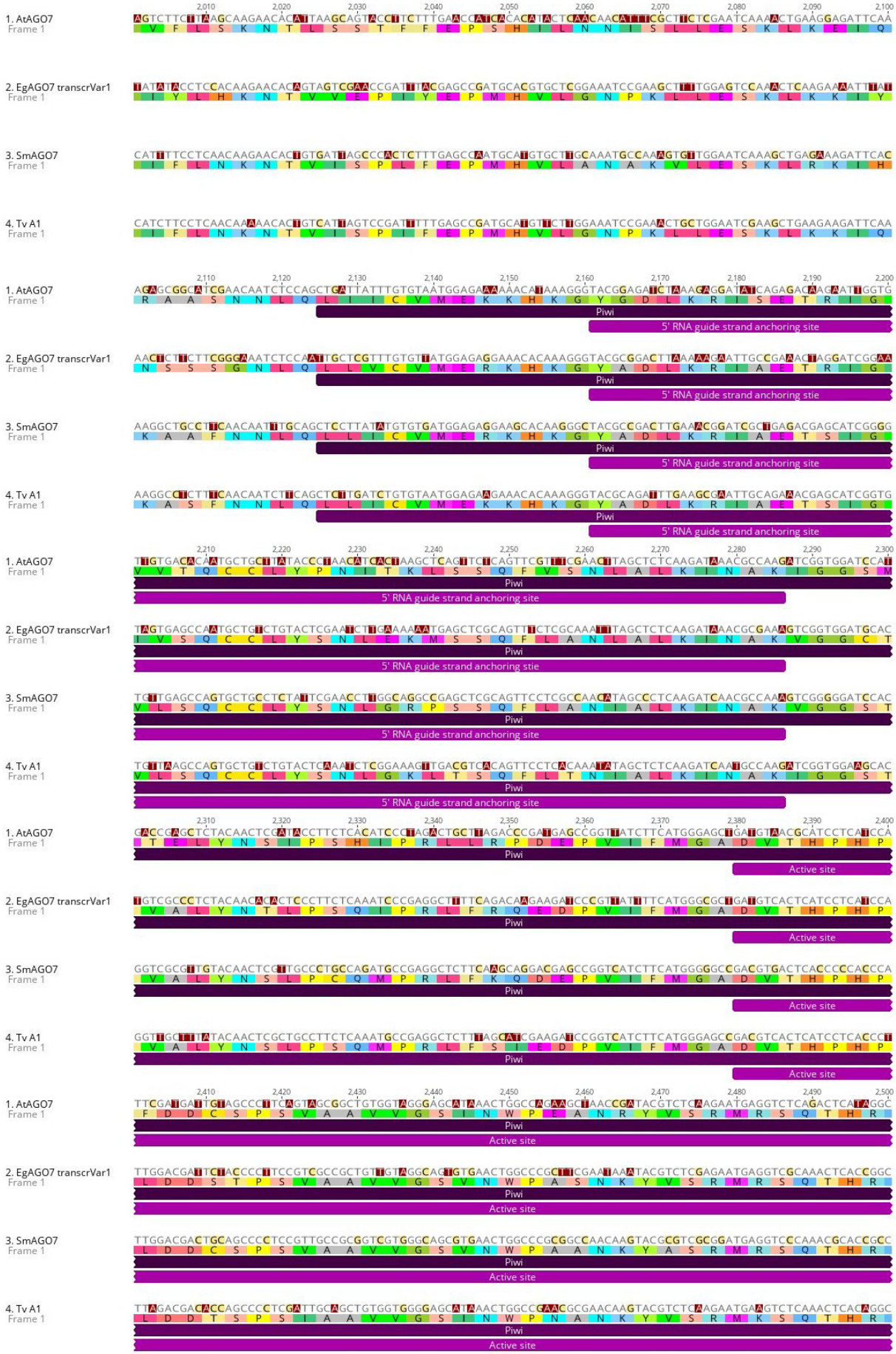
	AtAGO6	**SmAGO6**	**TvAGO6**
AtAGO6		77,06	77,52
SmAGO6	77,06		91,67
TvAGO6	77,52	91,67	

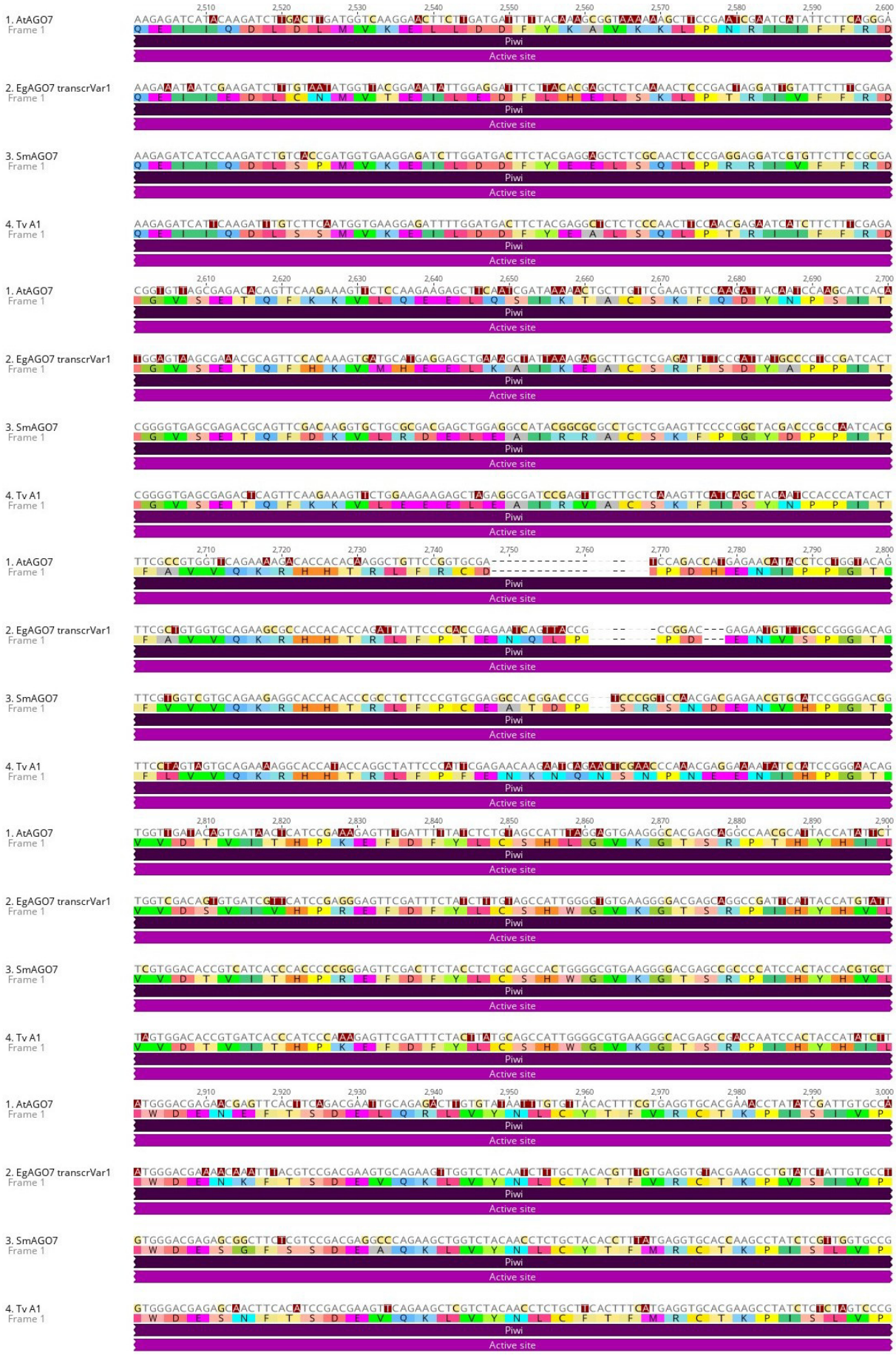

1. AtAGO7
Frame 1
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO7
Frame 1
4. Tv A1
Frame 1

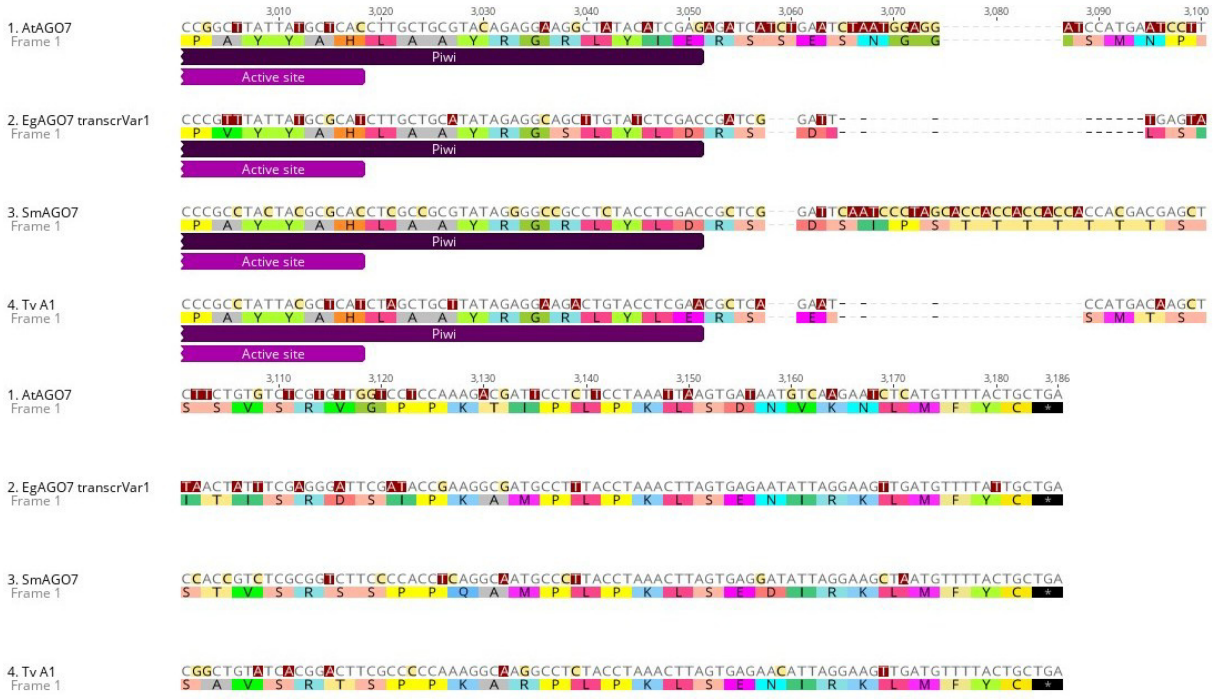

1. AtAGO7
Frame 1
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO7
Frame 1
Arg...
4. Tv A1
Frame 1
ArgoN (Lücke 563-697)
ArgoN


1. AtAGO7
Frame 1
ArgoN
ArgoL1
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
ArgoN
ArgoL1
3. SmAGO7
Frame 1
ArgoN (Lücke 563-697)
ArgoL1
4. Tv A1
Frame 1
ArgoN
ArgoL1
1. AtAGO7
Frame 1
ArgoL1
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
ArgoL1
3. SmAGO7
Frame 1
ArgoL1
4. Tv A1
Frame 1
ArgoL1
1. AtAGO7
Frame 1
ArgoL1
PAZ argonaute-like
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
ArgoL1
PAZ argonaute-like
3. SmAGO7
Frame 1
ArgoL1
PAZ argonaute-like
4. Tv A1
Frame 1
ArgoL1
PAZ_argonaute-like
1. AtAGO7
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
N
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
N
3. SmAGO7
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
N
4. Tv A1
Frame 1
PAZ_argonaute-like
PAZ
1. AtAGO7
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
Nucleic acid-binding interface
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
Nucleic acid-binding interface
3. SmAGO7
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
Nucleic acid-binding interface
4. Tv A1
Frame 1
PAZ_argonaute-like
PAZ


1. AtAGO7
Frame 1
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO7
Frame 1
4. Tv A1
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
Nucleic acid-binding interface
PAZ_argonaute-like
ArgoL2
A...


1. AtAGO7
Frame 1
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO7
Frame 1
4. Tv A1
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
5' RNA guide strand anchoring stie
Active site


1. AtAGO7
Frame 1
2. EgAGO7 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO7
Frame 1
4. Tv A1
Frame 1
Piwi
Active site



Distanzmatrix der AGO7 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO7	EgAGO7 transcrVar1	SiAGO7 transcrVar1	SmAGO7	Tv A1
AtAGO7		50,72	60,00	59,51	55,67
EgAGO7 transcrVar1	50,72		55,56	55,25	56,52
SiAGO7 transcrVar1	60,00	55,56		73,51	66,25
SmAGO7	59,51	55,25	73,51		69,91
Tv A1	55,67	56,52	66,25	69,91	

Distanzmatrix der AGO7 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO7	Tv A1	SmAGO7	EgAGO7 transcrVar1	SiAGO7 transcrVar1
AtAGO7		47.78	56,52	45,65	51,11
Tv A1	47,78		64,65	55,67	68,00
SmAGO7	56,52	64,65		57,43	71,33
EgAGO7 transcrVar1	45,65	55,67	57,43		63,37
SiAGO7 transcrVar1	51,11	68,00	71,33	63,37	

Distanzmatrix der AGO7 PAZ-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO7	EgAGO7 transcrVar1	SiAGO7 transcrVar1	SmAGO7	Tv A1
AtAGO7		70,63	71,51	72,32	73,28
EgAGO7 transcrVar1	70,63		83,75	74,32	78,46
SiAGO7 transcrVar1	71,51	83,75		76,31	77,69
SmAGO7	72,32	74,32	76,31		78,69
Tv A1	73,28	78,46	77,69	78,69	

Distanzmatrix der AGO7 PAZ-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO7	EgAGO7 transcrVar1	SiAGO7 transcrVar1	SmAGO7	Tv A1
AtAGO7		72,88	73,81	73,02	74,36
EgAGO7 transcrVar 1	72,88		77,87	74,59	74,38
SiAGO7 transcrVar1	73,81	77,87		81,54	79,34
SmAGO7	73,02	74,59	81,54		87,60
Tv A1	74,36	74,38	79,34	87,60	

Distanzmatrix der AGO7 Piwi -Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO7	EgAGO7 transcrVar1	SiAGO7 transcrVar1	SmAGO7	Tv A1
AtAGO7		70,03	69,95	67,42	71,95
EgAGO7 transcrVar1	70,03		76,18	72,94	72,82
SiAGO7 transcrVar1	69,95	76,18		73,80	74,84
SmAGO7	67,42	72,94	73,80		77,89
Tv A1	71,95	72,82	74,84	77,89	

Distanzmatrix der AGO7 Piwi -Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO7	SmAGO7	Tv A1	EgAGO7 transcrVar1	SiAGO7 transcrVar1
AtAGO7	0	74,03	77,02	74,10	77,17
SmAGO7	74,03		85,11	79,87	84,24
Tv A1	77,02	85,11		77,67	81,99
EgAGO7 transcrVar1	74,10	79,87	77,67		83,28
SiAGO7 transcrVar1	77,17	84,24	81,99	83,28	

Distanzmatrix der AGO7 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO7	EgAGO7 transcrVar1	SmAGO7	SiAGO7 transcrVar1	Tv A1
AtAGO7		66,67	66,67	65,87	68,25
EgAGO7 transcrVar1	66,67		75,40	76,98	76,98
SmAGO7 mRNA	66,67	75,40		73,81	77,78
SiAGO7 transcrVar1	65,87	76,98	73,81		82,54
Tv A1	68,25	76,98	77,78	82,54	

Distanzmatrix der AGO7 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

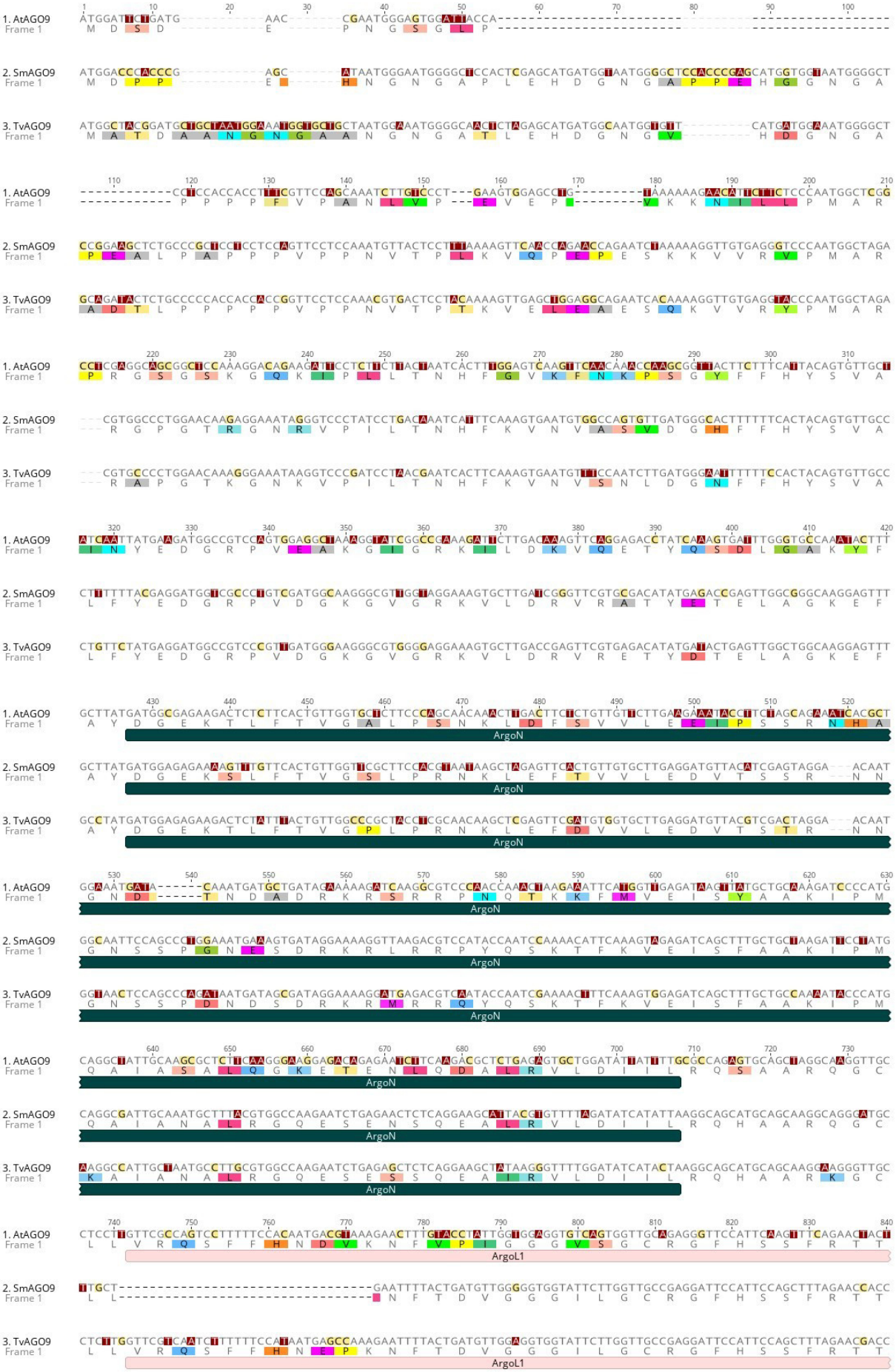
	AtAGO7	SiAGO7 transcrVar1	EgAGO7 transcrVar1	SmAGO7	Tv A1
AtAGO7	0	78,57	76,19	69,05	71,43
SiAGO7 transcrVar1	78,57		90,48	83,33	83,33
EgAGO7 transcrVar1	76,19	90,48		83,33	80,95
SmAGO7	69,05	83,33	83,33		90,48
Tv A1	71,43	83,33	80,95	90,48	

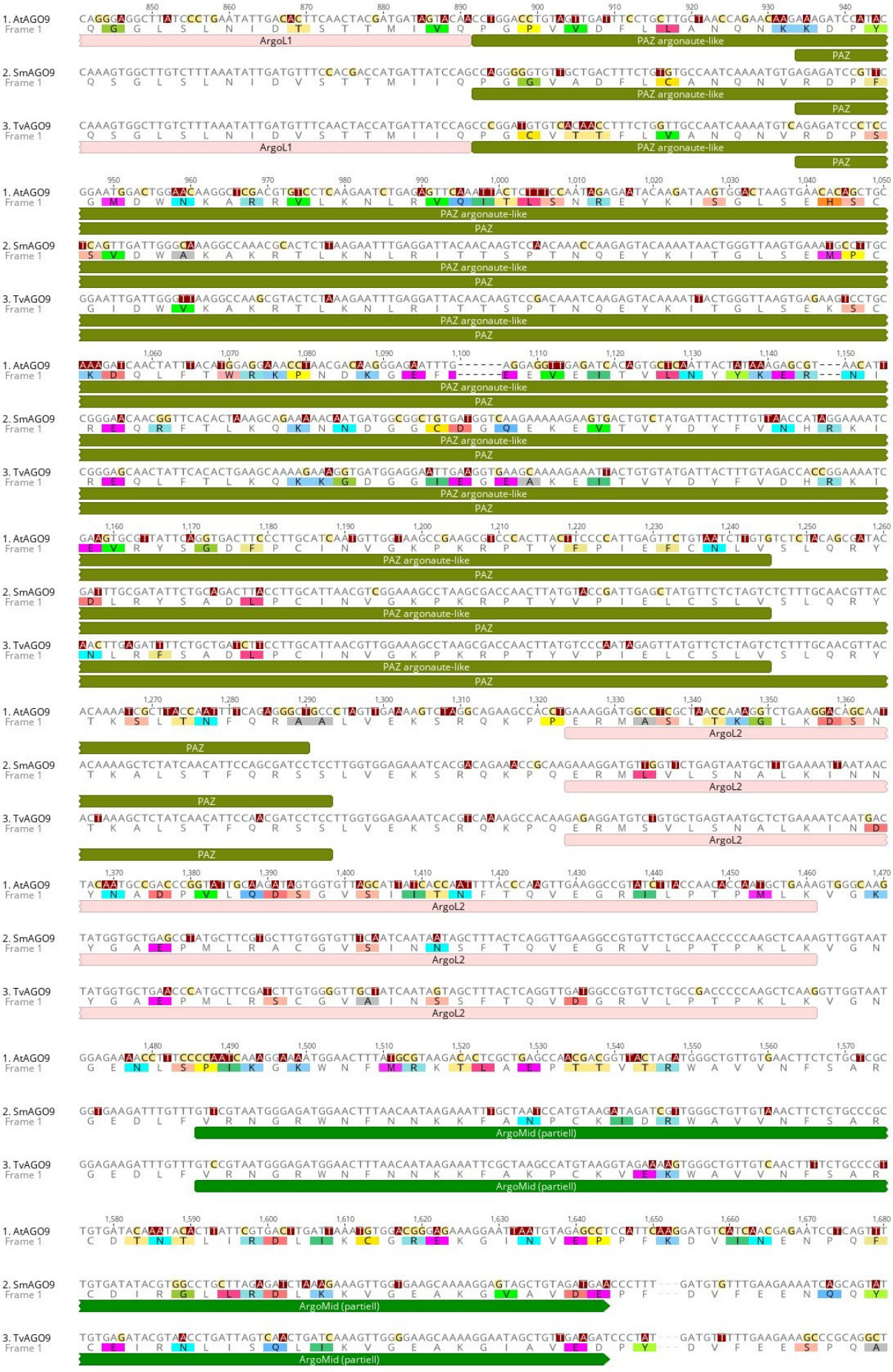
Distanzmatrix der AGO7 Active site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

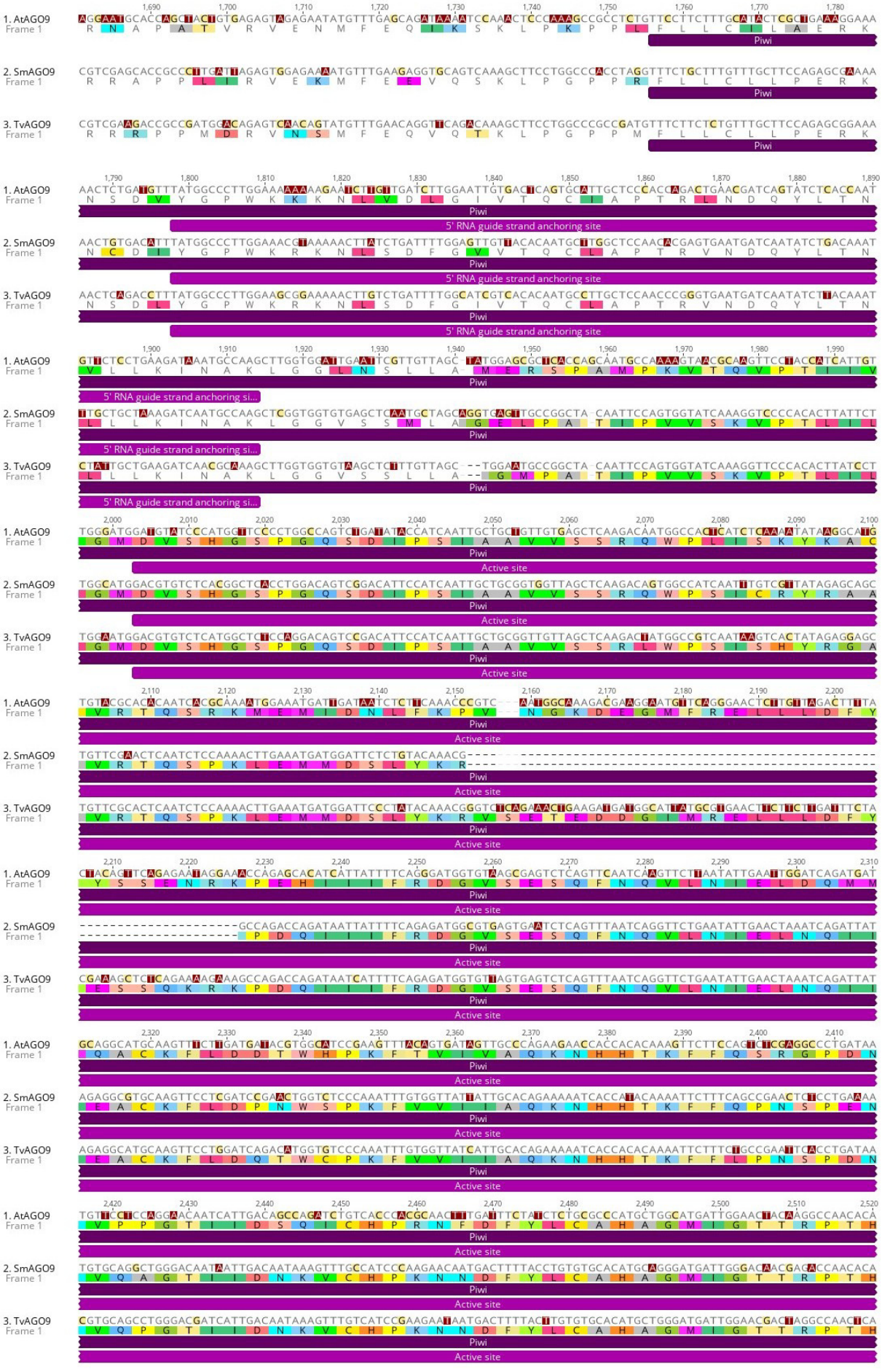
	AtAGO7	EgAGO7 transcrVar1	SmAGO7	SiAGO7 transcrVar1	Tv A1
AtAGO7		66,82	71,52	69,67	69,44
EgAGO7 transcrVar1	66,82		78,25	72,33	73,12
SmAGO7	71,52	78,25		70,89	72,17
SiAGO7 transcrVar1	69,67	72,33	70,89		74,38
Tv A1	69,44	73,12	72,17	74,38	

Distanzmatrix der AGO7 Active site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO7	EgAGO7 transcrVar1	SiAGO7 transcrVar1	SmAGO7	Tv A1
AtAGO7		75,12	77,21	75,94	78,40
EgAGO7 transcrVar1	75,12		79,53	79,25	76,06
SiAGO7 transcrVar1	77,21	79,53		82,79	81,86
SmAGO7	75,94	79,25	82,79		83,57
Tv A1	78,40	76,06	81,86	83,57	


1. AtAGO9
Frame 1
2. SmAGO9
Frame 1
3. TvAGO9
Frame 1
ArgoN
ArgoL1


1. AtAGO9
Frame 1
2. SmAGO9
Frame 1
3. TvAGO9
Frame 1
ArgoL1
PAZ argonaute-like
PAZ
ArgoL2
ArgoMid (partiell)


1. AtAGO9
Frame 1
2. SmAGO9
Frame 1
3. TvAGO9
Frame 1
Piwi
5' RNA guide strand anchoring site
5' RNA guide strand anchoring si...
Active site



Distanzmatrix der AGO9 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		67,38	64,18
SmAGO9	67,38		83,51
TvAGO9	64,18	83,51	

Distanzmatrix der AGO9 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		68,82	65,59
SmAGO9	68,82		88,17
TvAGO9	65,59	88,17	

Distanzmatrix der AGO9 PAZ-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		60,65	61,65
SmAGO9	60,65		83,58
TvAGO9	61,65	83,58	

Distanzmatrix der AGO9 PAZ-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		58,65	60,15
SmAGO9	58,65		84,33
TvAGO9	60,15	84,33	

Distanzmatrix der AGO9 MID-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	SmAGO9	TvAGO9
SmAGO9		83,65
TvAGO9	83,65	

Distanzmatrix der AGO9 MID-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	SmAGO9	TvAGO9
SmAGO9		75,47
TvAGO9	75,47	

Distanzmatrix der AGO9 Piwi -Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		67,38	64,18
SmAGO9	65,51		83,51
TvAGO9	70,55	81,12	

Distanzmatrix der AGO9 Piwi -Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		70,13	76,38
SmAGO9	70,13		85,76
TvAGO9	76,38	85,76	

Distanzmatrix der AGO9 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		75,21	72,65
SmAGO9	75,21		84,62
TvAGO9	72,65	84,62	

Distanzmatrix der AGO9 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

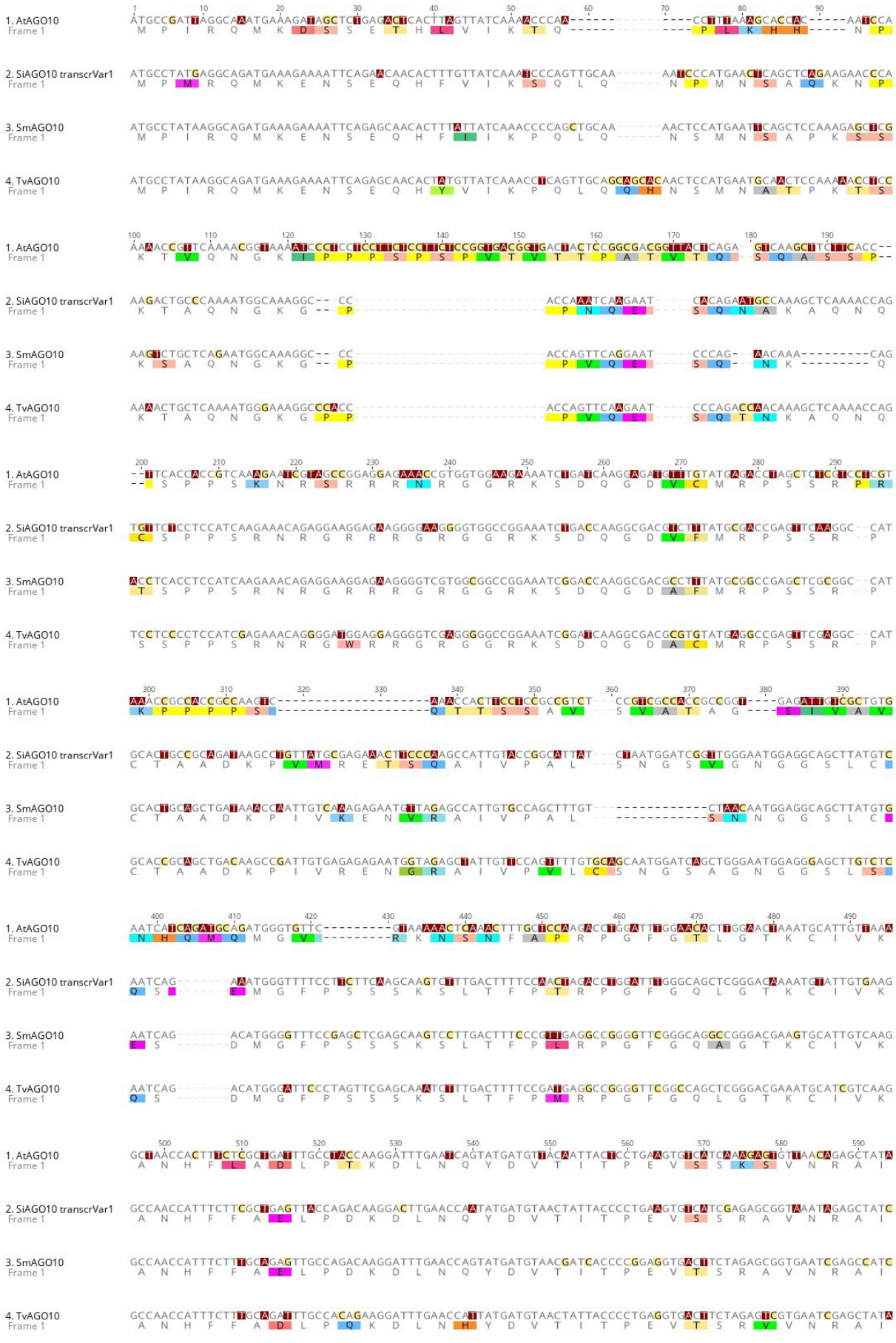
	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		82,05	84,62
SmAGO9	82,05		97,44
TvAGO9	84,62	97,44	

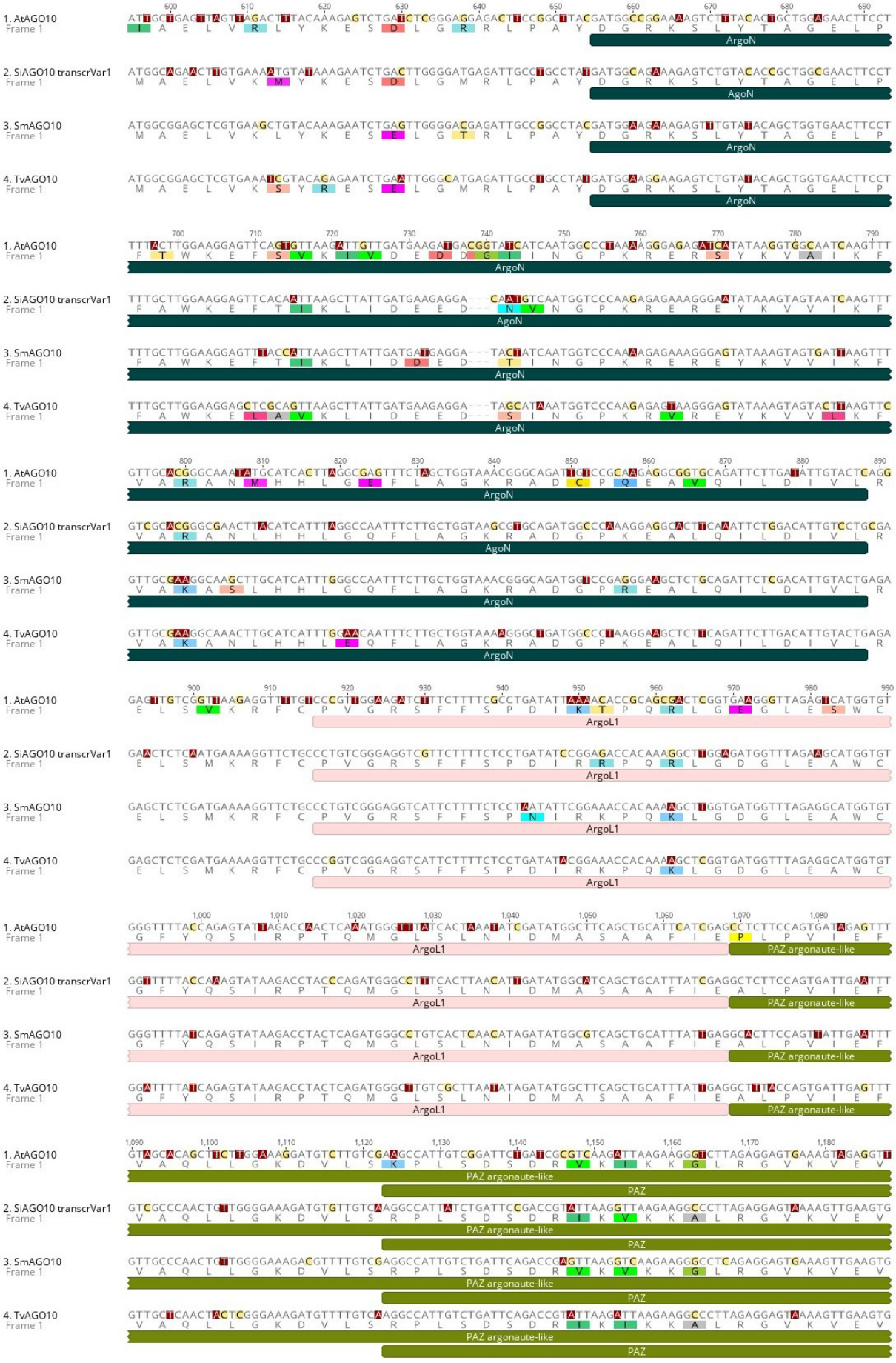
Distanzmatrix der AGO9 Active site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

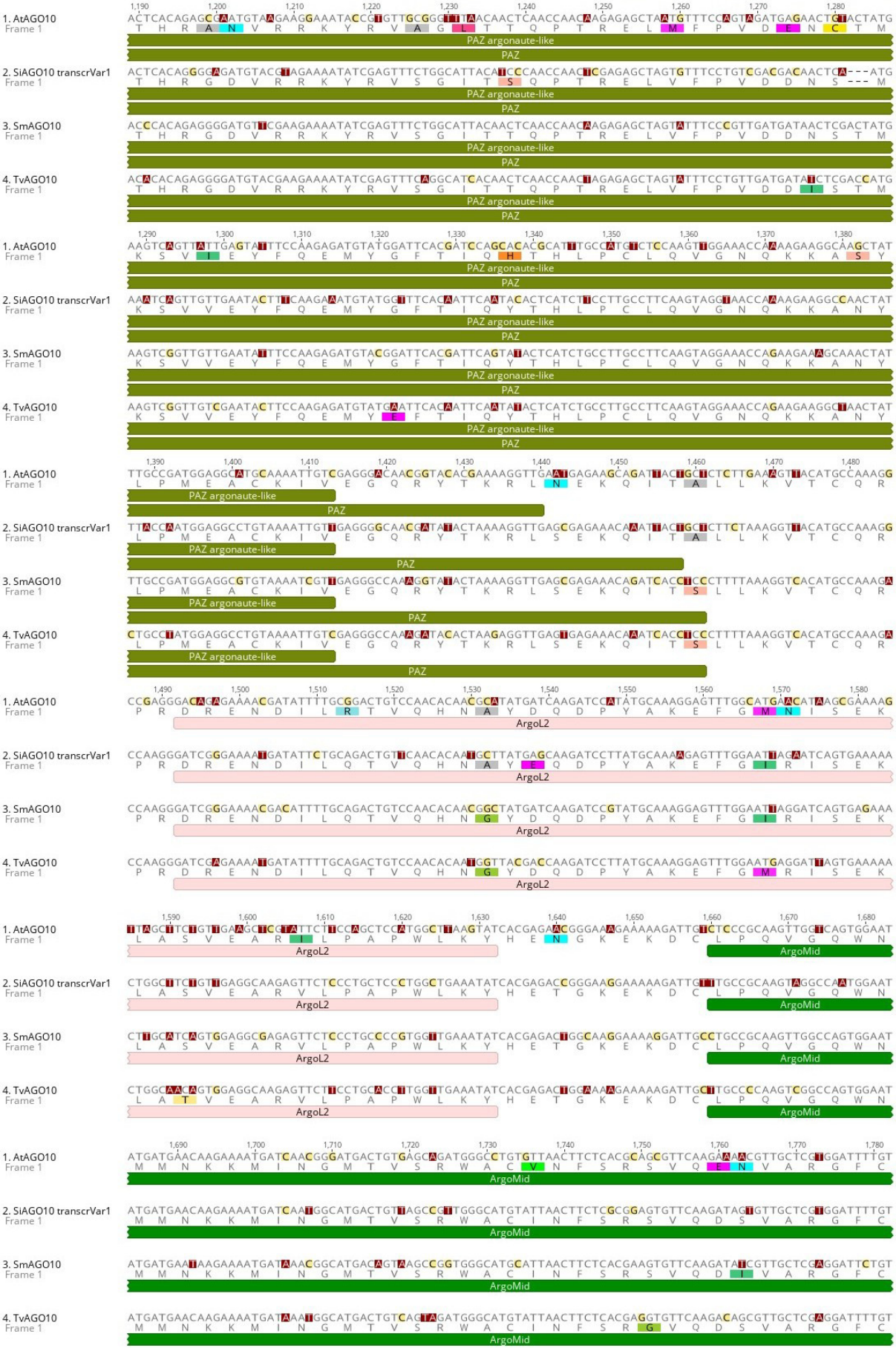
	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		64,34	71,14
SmAGO9	64,34		79,32
TvAGO9	71,14	79,32	

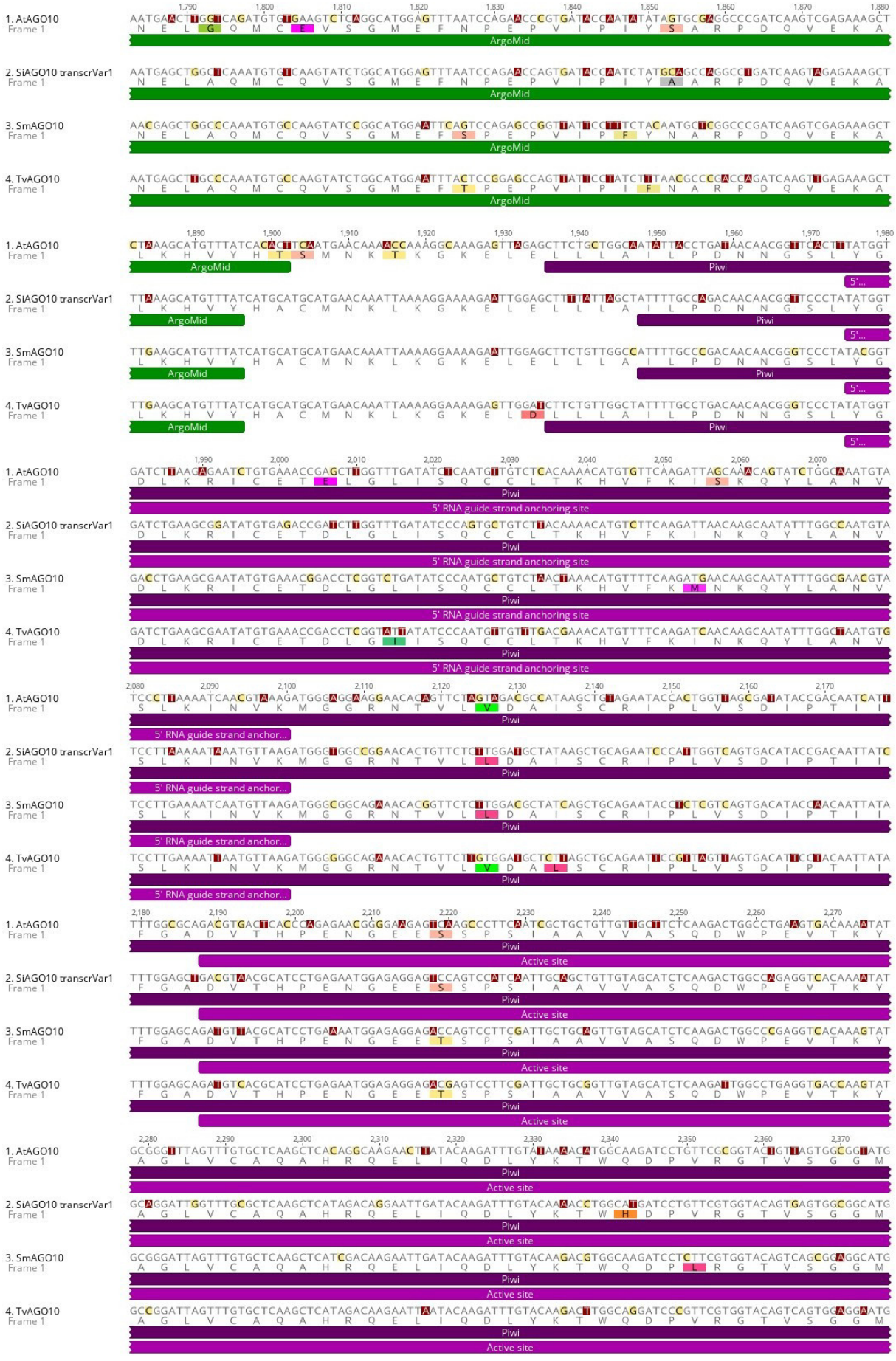
Distanzmatrix der AGO9 Active site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

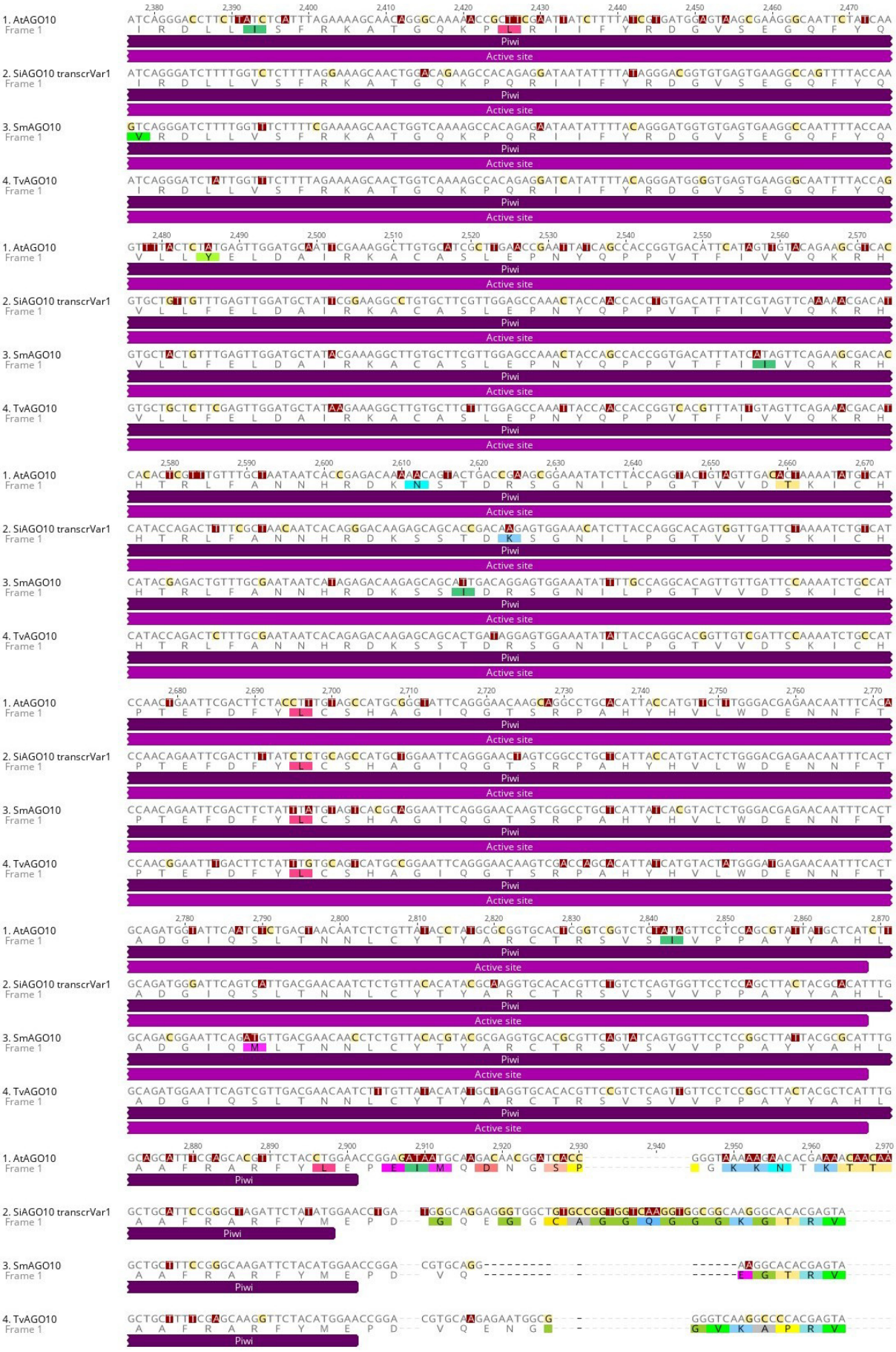
	AtAGO9	SmAGO9	TvAGO9
AtAGO9		70,70	78,70
SmAGO9	70,70		82,41
TvAGO9	78,70	82,41	

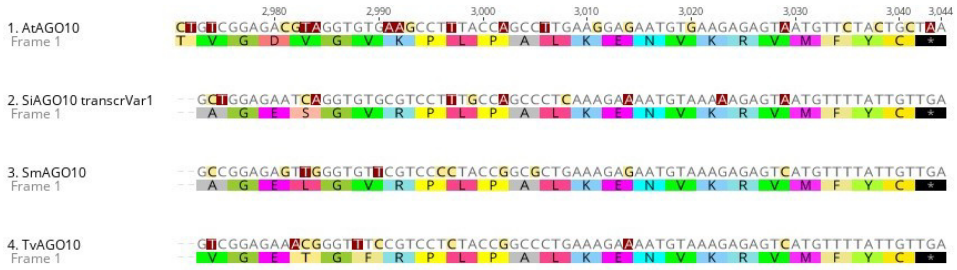

1. AtAGO10
Frame 1
2. SiAGO10 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO10
Frame 1
4. TvAGO10
Frame 1


1. AtAGO10
Frame 1
2. SiAGO10 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO10
Frame 1
4. TvAGO10
Frame 1
ArgoN
ArgoL1
PAZ argonaute-like
PAZ


1. AtAGO10
Frame 1
2. SiAGO10 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO10
Frame 1
4. TvAGO10
Frame 1
PAZ argonaute-like
PAZ
ArgoL2
ArgoMid


1. AtAGO10
Frame 1
2. SiAGO10 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO10
Frame 1
4. TvAGO10
Frame 1
ArgoMid
Piwi
5'...
5' RNA guide strand anchoring site
5' RNA guide strand anchor...
Active site


1. AtAGO10
Frame 1
2. SiAGO10 transcrVar1
Frame 1
3. SmAGO10
Frame 1
4. TvAGO10
Frame 1
Piwi
Active site



Distanzmatrix der AGO10 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10	TvAGO10
AtAGO10		76,50	75,64	73,93
SiAGO10 transcrVar1	76,50		85,28	83,98
SmAGO10	75,64	85,28		88,74
TvAGO10	73,93	83,98	88,74	

Distanzmatrix der AGO10 ArgoN-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO10	TvAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10
AtAGO10		75,64	79,49	76,92
TvAGO10	75,64		88,31	87,01
SiAGO10 transcrVar1	79,49	88,31		92,21
SmAGO10	76,92	87,01	92,21	

Distanzmatrix der AGO10 PAZ-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10	TvAGO10
AtAGO10		77,15	80,65	79,30
SiAGO10 transcrVar1	77,15		85,38	86,41
SmAGO10	80,65	85,38		88,80
TvAGO10	79,30	86,41	88,80	

Distanzmatrix der AGO10 PAZ-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO10	TvAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10
AtAGO10		87,10	86,29	89,52
TvAGO10	87,10		96,15	96,18
SiAGO10 transcrVar1	86,29	96,15		96,92
SmAGO10	89,52	96,18	96,92	

Distanzmatrix der AGO10 MID-Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10	TvAGO10
AtAGO10		85,65	81,43	81,01
SiAGO10 transcrVar1	85,65		83,97	86,08
SmAGO10	81,43	83,97		87,34
TvAGO10	81,01	86,08	87,34	

Distanzmatrix der AGO10 MID-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO10	TvAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10
AtAGO10		87,34	91,14	88,61
TvAGO10	87,34		94,94	93,67
SiAGO10 transcrVar1	91,14	94,94		94,94
SmAGO10	88,61	93,67	94,94	

Distanzmatrix der AGO10 Piwi -Domäne, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10	TvAGO10
AtAGO10		78,86	78,30	78,26
SiAGO10 transcrVar1	78,86		87,59	86,33
SmAGO10	78,30	87,59		88,89
TvAGO10	78,26	86,33	88,89	

Distanzmatrix der AGO10 Piwi-Domäne, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO10	TvAGO10	SiAGO10	SmAGO10
AtAGO10		94,65	96,21	96,27
SmAGO10	94,65		97,16	97,17
SiAGO10	96,21	97,16		98,11
TvAGO10	96,27	97,17	98,11	

Distanzmatrix der AGO10 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

	AtAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10	TvAGO10
AtAGO10		83,33	80,16	80,95
SiAGO10 transcrVar1	83,33		86,51	86,51
SmAGO10	80,16	86,51		88,89
TvAGO10	80,95	86,51	88,89	

Distanzmatrix der AGO10 5‘ RNA guide strand anchoring site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

	AtAGO10	SiAGO10	SmAGO10	TvAGO10
AtAGO10		95,24	92,86	92,86
SiAGO10	95,24		97,62	97,62
SmAGO10	92,86	97,62		95,24
TvAGO10	92,86	97,62	95,24	

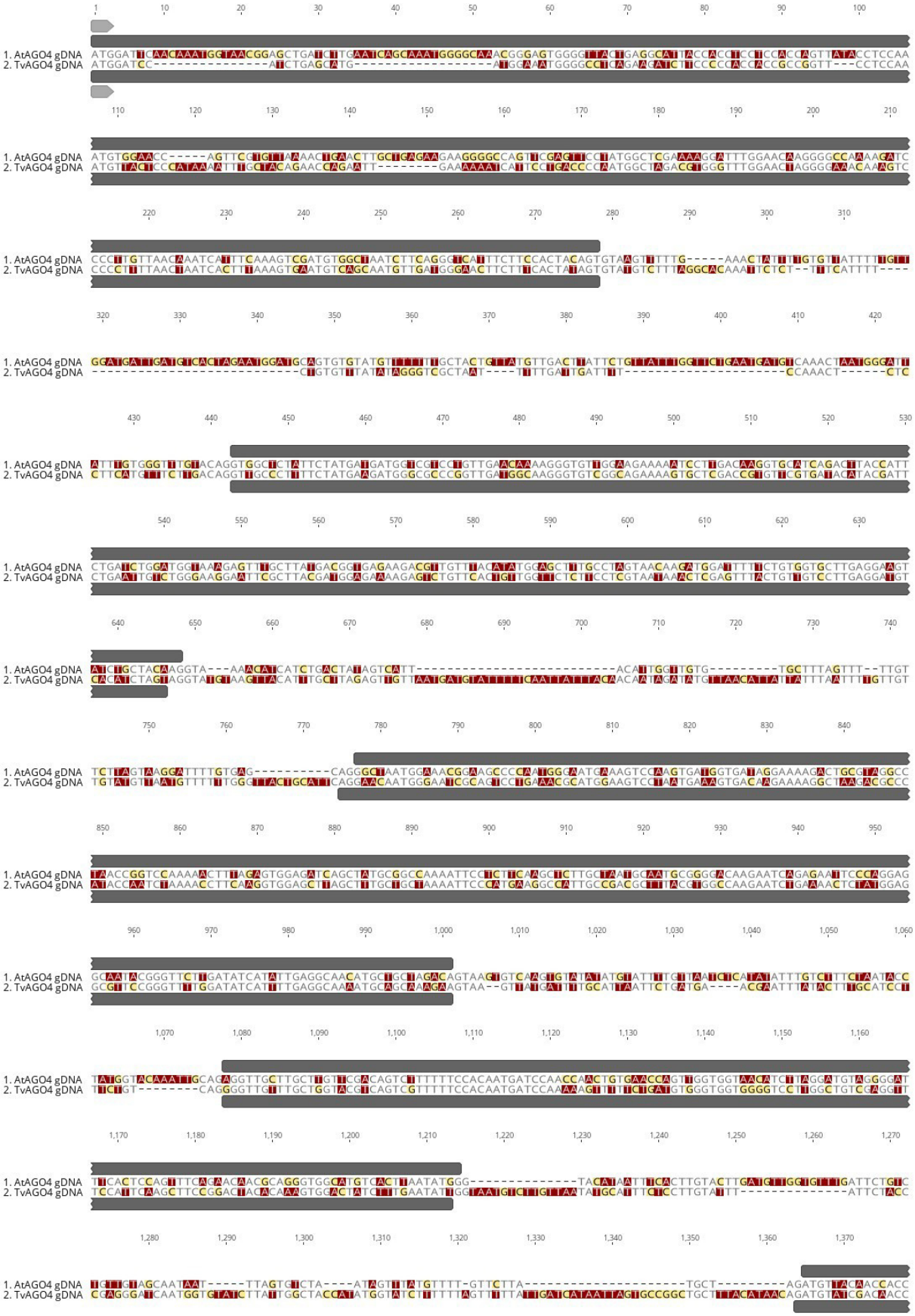
Distanzmatrix der AGO10 Active site, bezogen auf die Nukleotidsequenz.

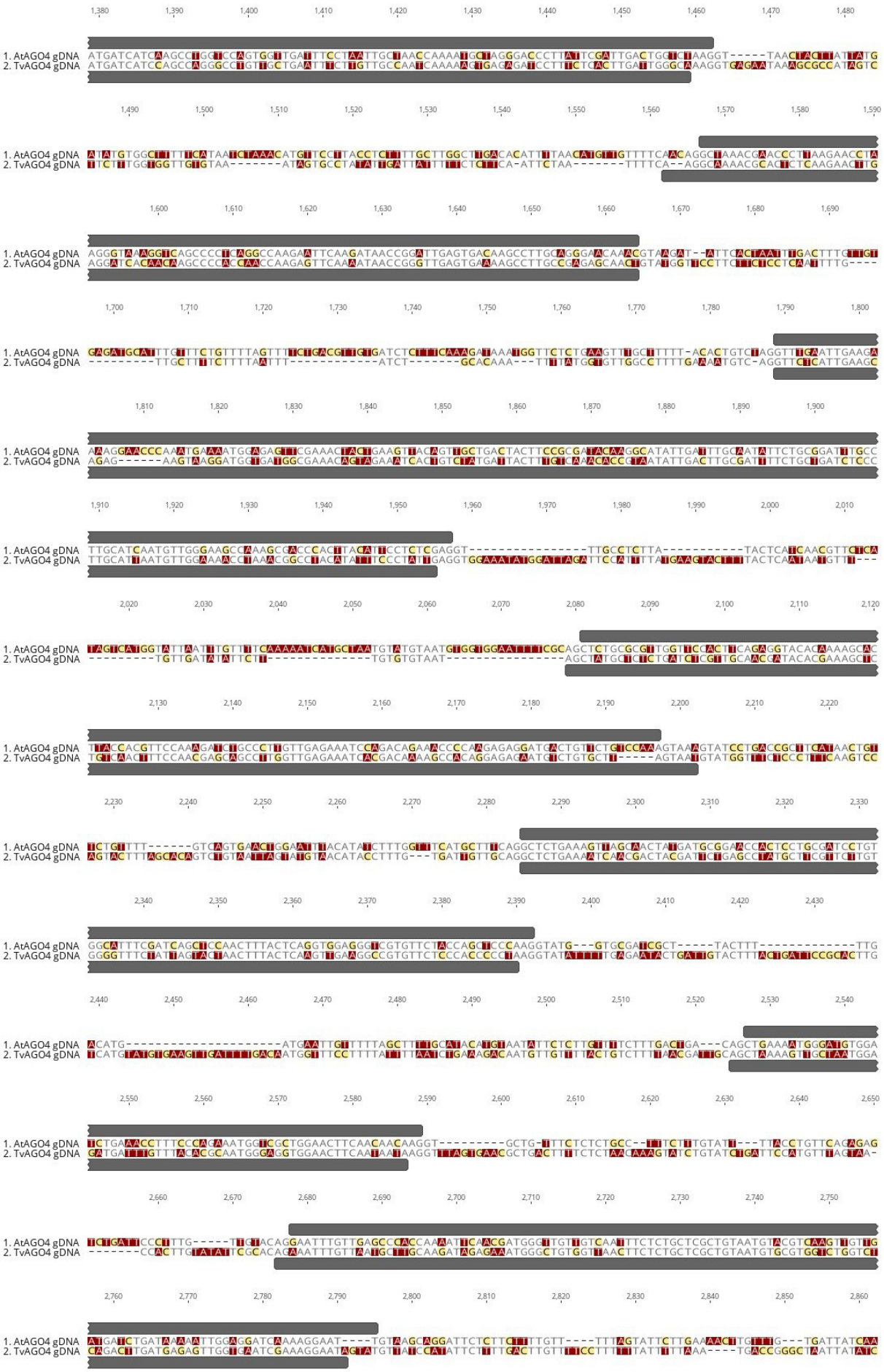
	AtAGO10	SiAGO10 transcrVar1	SmAGO10	TvAGO10
AtAGO10		78,71	78,41	78,12
SiAGO10 transcrVar1	78,71		87,81	86,78
SmAGO10	78,41	87,81		89,13
TvAGO10	78,12	86,78	89,13	

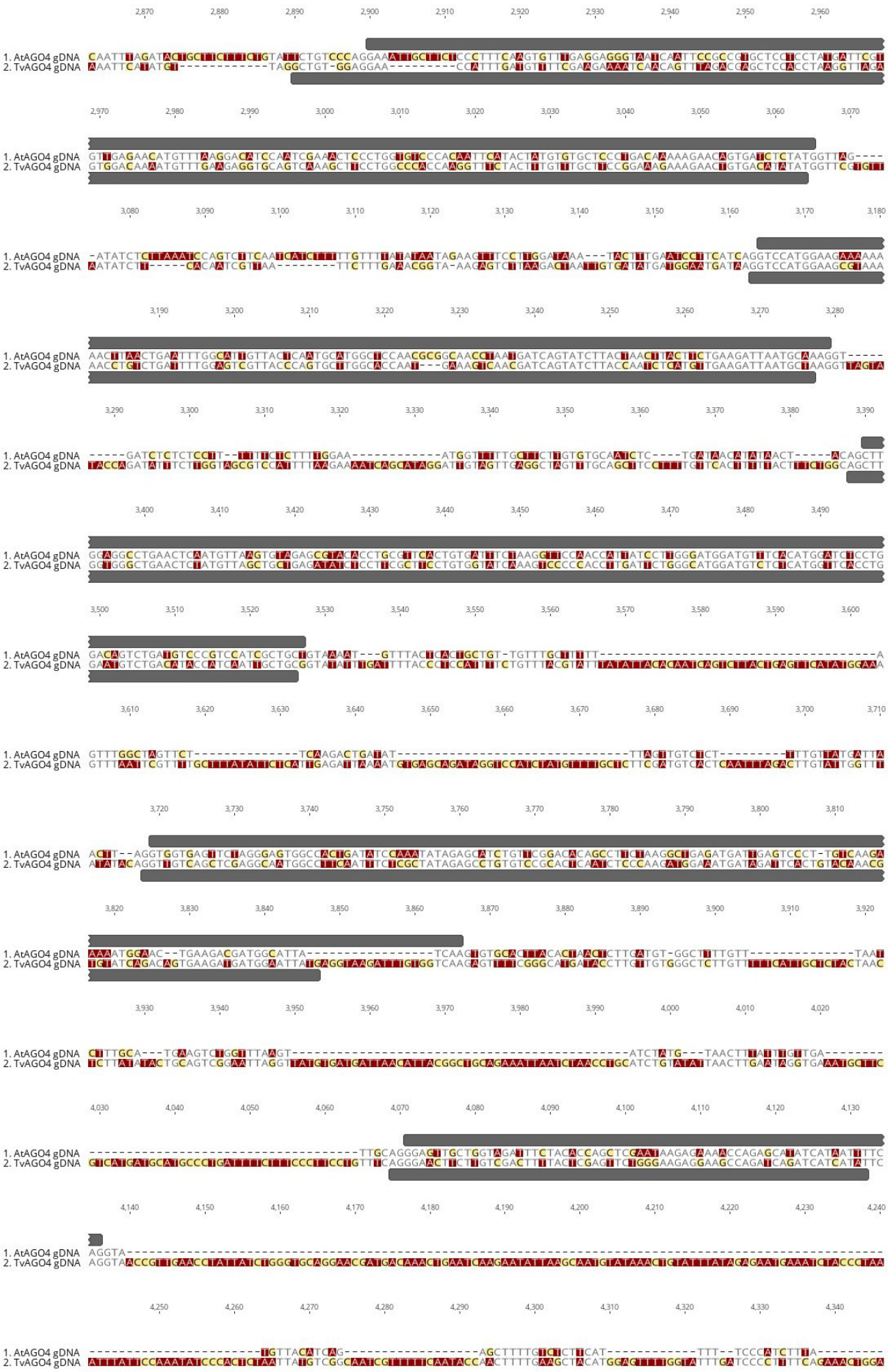
Distanzmatrix der AGO10 Active site, bezogen auf die Aminosäuresequenz.

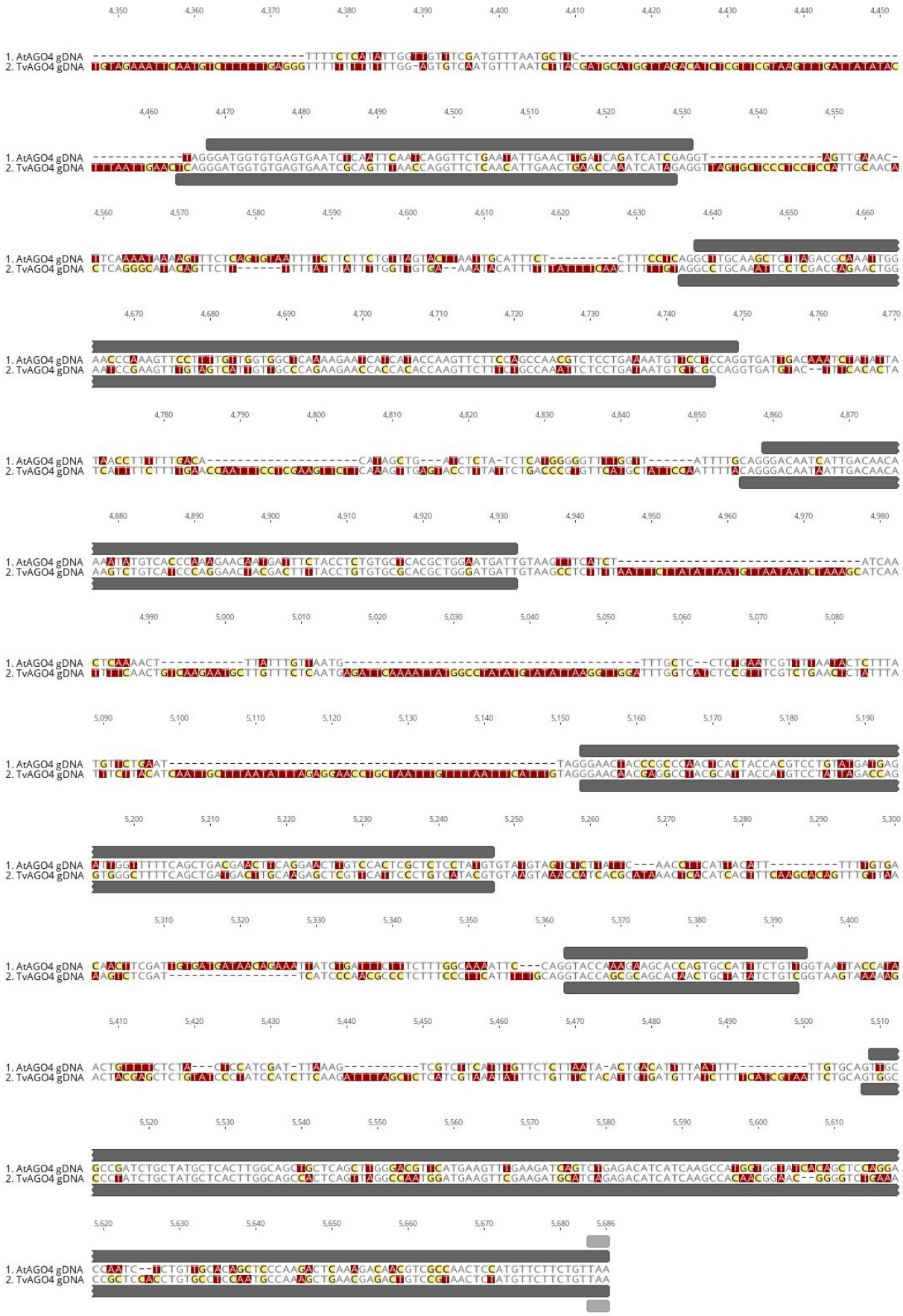
	AtAGO10	SmAGO10	SiAGO10	TvAGO10
AtAGO10		94,71	96,48	96,92
SmAGO10	94,71		96,48	97,80
SiAGO10	96,48	96,48		98,68
TvAGO10	96,92	97,80	98,68	

6.7. SEQUENZVERGLEICH DER GENOMISCHEN DNA VON AGO4 AUS *A. THALIANA* UND *T. VULGARIS*



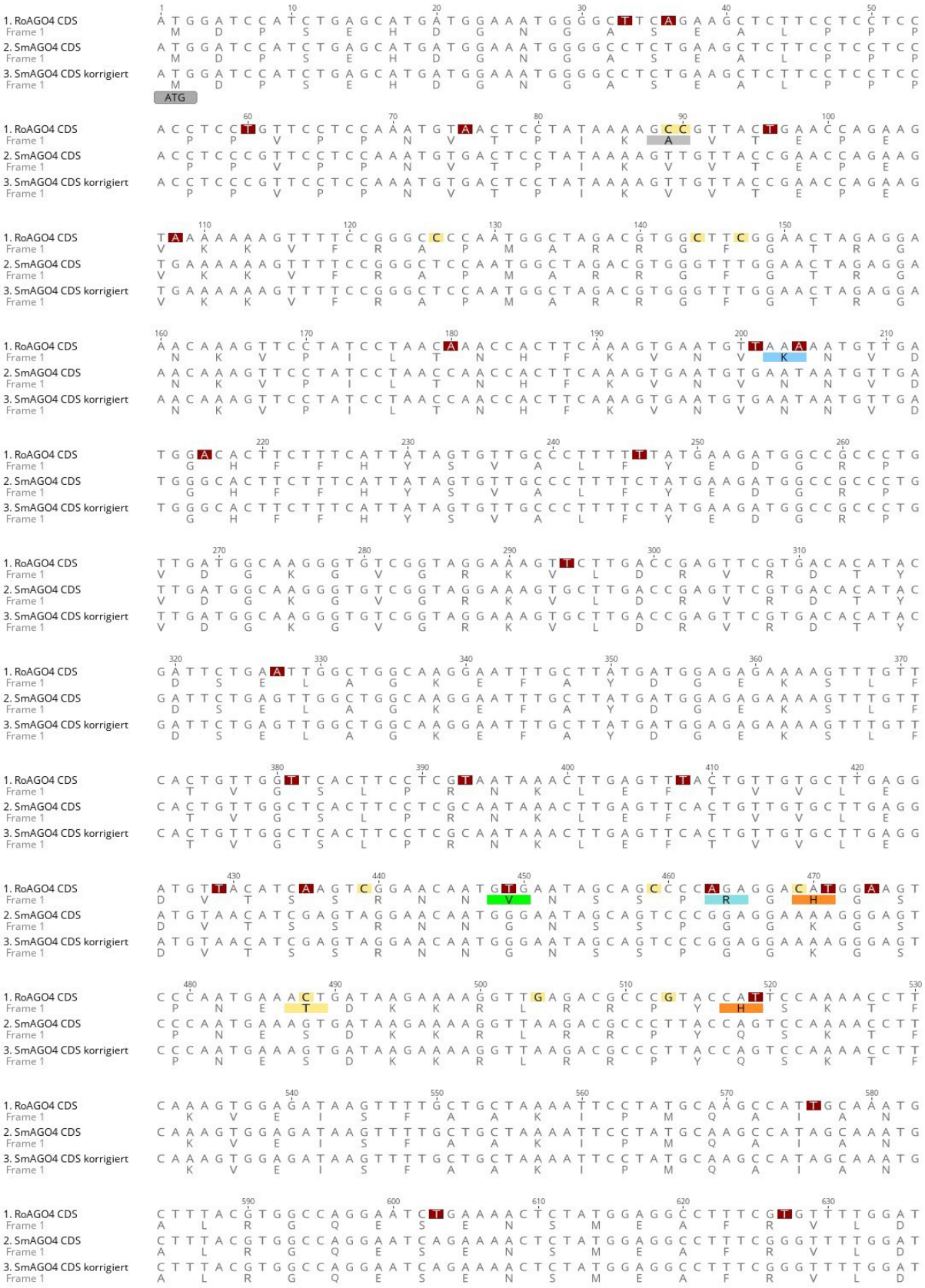

1. AtAGO4 gDNA
2. TvAGO4 gDNA

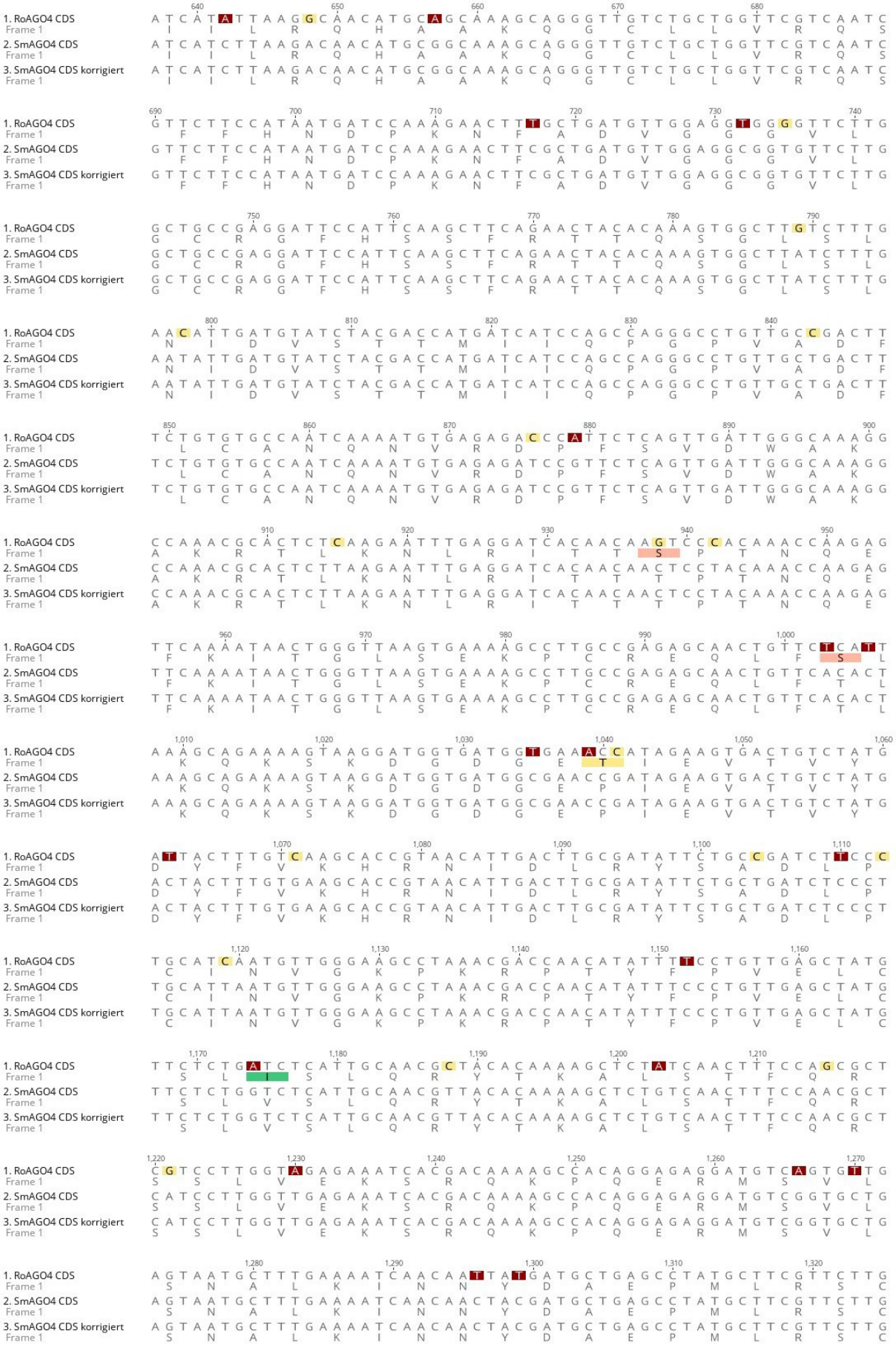

1. AtAGO4 gDNA
2. TvAGO4 gDNA

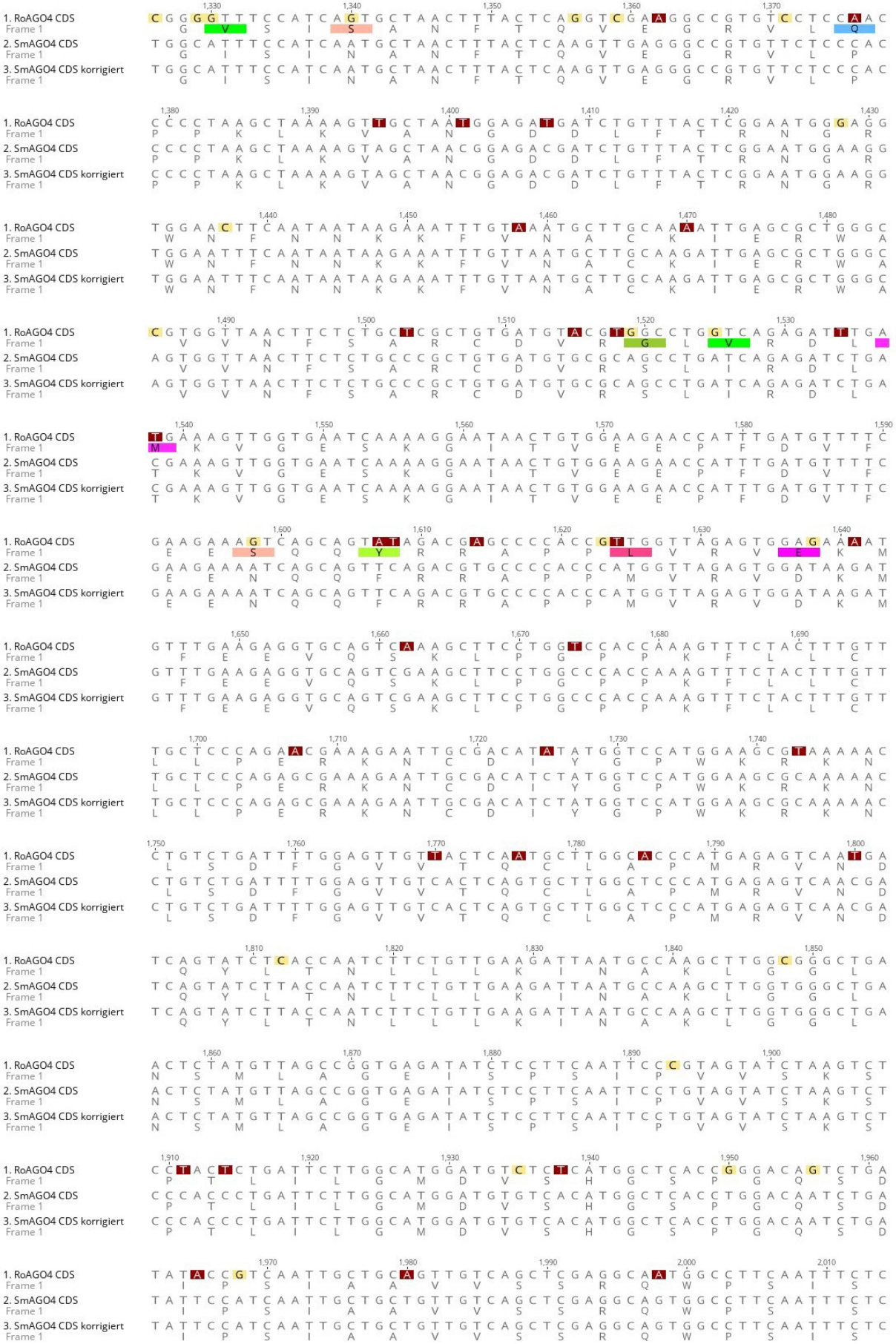


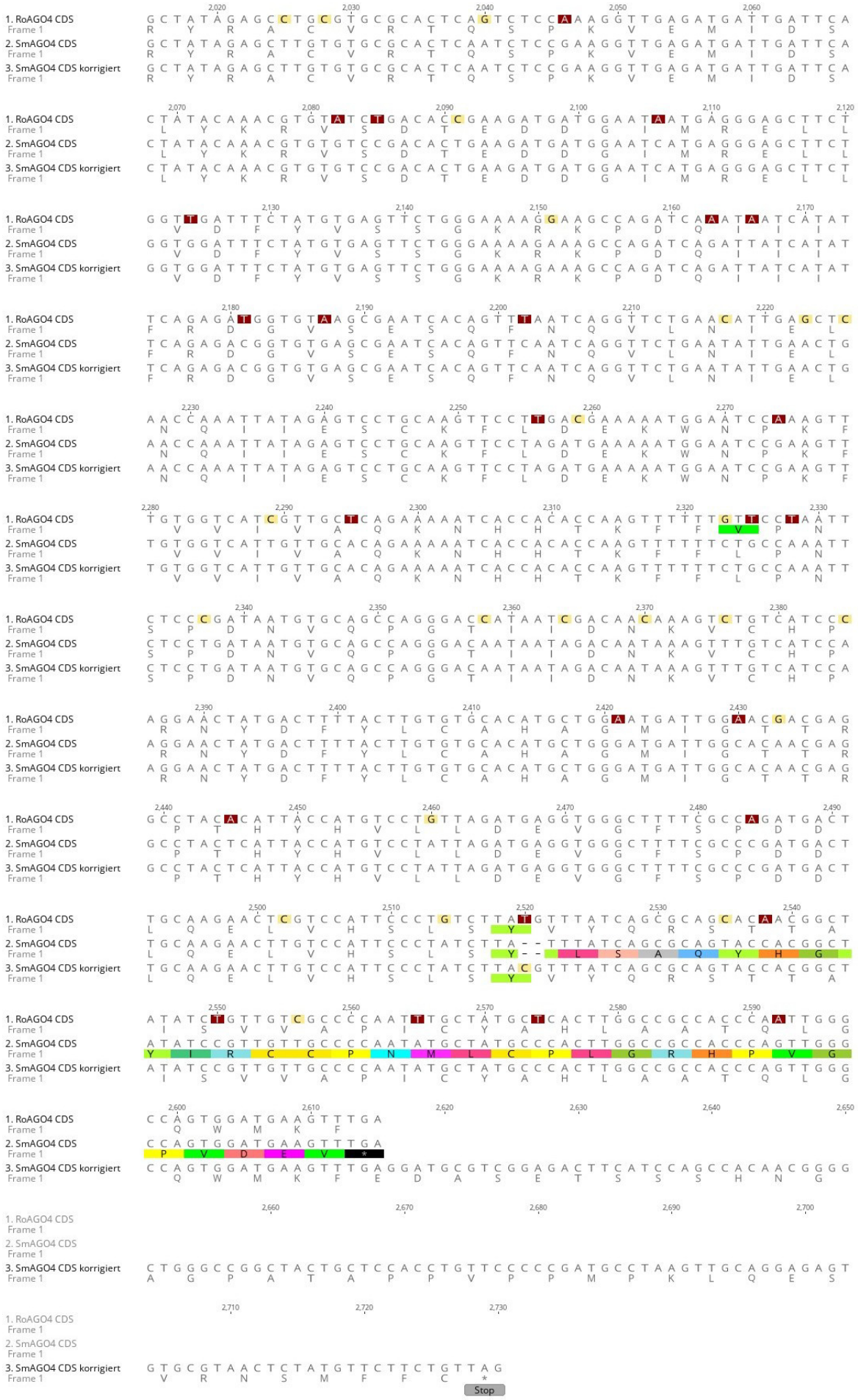
Die dunkelgrauen Markierungen repräsentieren die Exons, die hellgrauen das Start- bzw.-Stop-Codon.

6.8. VOLLSTÄNDIGER SEQUENZVERGLEICH *RoAGO4* CDS UND *SmAGO4* CDS (MIT SEQUENZLÜCKE).




1. RoAGO4 CDS
Frame 1
2. SmAGO4 CDS
Frame 1
3. SmAGO4 CDS korrigiert
Frame 1


1. RoAGO4 CDS
Frame 1
2. SmAGO4 CDS
Frame 1
3. SmAGO4 CDS korrigiert
Frame 1


1. RoAGO4 CDS
Frame 1
2. SmAGO4 CDS
Frame 1
3. SmAGO4 CDS korrigiert
Frame 1
Stop

9. LEBENSLAUF

Persönliche Informationen

Name	Franziska Elisabeth Leidecker, geb, Schäfer
Geburtsdatum	17. April 1988
Geburtsort	Weilburg a. d. Lahn
Nationalität	Deutsch

Akademische und schulische Bildung

06/2016 bis 05/2021	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Abt. Pharmazeutische Biotechnologie Wissenschaftliche Mitarbeiterin und Doktorandin Dissertation: „Analyse der Argonauten-Proteinfamilie als Kandidaten für die Regulation der Chemotypbildung in *Thymus vulgaris*“
10/2013 bis 09/2015	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg Studium Zell- und Molekularbiologie *Thesis:*„Funktionelle Charakterisierung von CTLs (Cholin transporter-like proteins) in *Arabidopsis thaliana*“ – Lehrstuhl für Zellbiologie *Abschluss:* Master of Science
10/2010 bis 09/2013	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg Studium Biologie *Thesis:*„Identifikation neuer Interaktionspartner der Kinase Nek1 (NIMA-related kinase1) mittels TAP-*Tag* (Tandem Affinity Purification)“ – Lehrstuhl für Tierphysiologie *Abschluss:* Bachelor of Science
10/2007 bis 03/2010	Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg Studium Chemie- und Bioingenieurwesen
09/1998 bis 07/2007	Marienschule Limburg, Limburg a, d, Lahn Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

10. EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre hiermit, gemäß §5 der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I – Biowissenschaften der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe. Ausführungen, die wörtlich oder sinngemäß aus anderen Arbeiten oder Veröffentlichungen übernommen wurden, sind als solche gekennzeichnet. Desweiteren versichere ich, dass die Arbeit in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde zur Erlangung des Doktorgrades vorgelegt wurde.

Halle (Saale), den 27.06.2022

Franziska Leidecker