



(12)

Veröffentlichung

der internationalen Anmeldung mit der
(87) Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2010/046471**
in deutscher Übersetzung (Art. III § 8 Abs. 2 IntPatÜG)
(21) Deutsches Aktenzeichen: **11 2009 002 342.8**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP2009/063979**
(86) PCT-Anmeldetag: **23.10.2009**
(87) PCT-Veröffentlichungstag: **29.04.2010**
(43) Veröffentlichungstag der PCT Anmeldung
in deutscher Übersetzung: **14.06.2012**

(51) Int Cl.: **C12N 15/82 (2006.01)**
A01H 5/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
08167450.9 **23.10.2008** **EP**

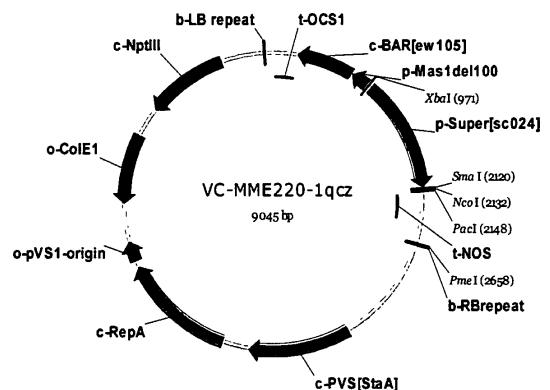
(71) Anmelder:
**BASF Plant Science GmbH, 67063, Ludwigshafen,
DE**

(74) Vertreter:
**Dres. Fitzner und Partner Rechts- und
Patentanwälte, 40878, Ratingen, DE**

(72) Erfinder:
**Hendriks, Janneke, Dr., 14548, Schwielowsee,
DE; Thimm, Oliver, Dr., 10717, Berlin, DE; Schön,
Hardy, Dr., 13156, Berlin, DE; Haake, Volker, Dr.,
13503, Berlin, DE; Plesch, Gunnar, Dr., 14482,
Potsdam, DE; Puzio, Piotr, Dr., Mariakerke, Gent,
BE; Blau, Astrid, 14532, Stahnsdorf, DE; Herold,
Michael Manfred, Dr., 10551, Berlin, DE; Wendel,
Birgit, Dr., 13437, Berlin, DE; Kamlage, Beate,
Dr., 12161, Berlin, DE; Schauwecker, Florian, Dr.,
12163, Berlin, DE**

(54) Bezeichnung: **Verfahren zum Herstellen einer transgenen Zelle mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA)**

(57) Zusammenfassung: Diese Erfindung bezieht sich allgemein auf ein Verfahren zum Herstellen transgener Zellen mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle.



Beschreibung

[0001] Diese Erfindung bezieht sich allgemein auf ein Verfahren zum Herstellen transgener Zellen mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle.

[0002] Insbesondere bezieht sich diese Erfindung auf Pflanzenzellen und Pflanzen mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp.

[0003] Die Erfindung beschäftigt sich auch mit Verfahren zum Herstellen und Screening und Züchten solcher Pflanzenzellen oder Pflanzen.

[0004] Gamma-Aminobuttersäure wird verwendet, um das Wachstum bestimmter Pflanzen zu steigern, der Entwicklung von Mehltau auf Trauben vorzubeugen und bestimmte andere Pflanzenkrankheiten zu unterdrücken. Menschen und Tiere nehmen gamma-Aminobuttersäure normalerweise in variablen Mengen auf und verstoffwechseln sie. Gamma-Aminobuttersäure wurde 1998 als wachstumssteigernder Pestizidwirkstoff registriert (zum Verkauf zugelassen). Gamma-Aminobuttersäure ist ein wichtiges Signal, das dabei hilft, die Mineralstoffverfügbarkeit in Pflanzen zu regulieren. Mineralstoffe unterstützen die biochemischen Wege, die Wachstum und Reproduktion regeln sowie die Wege, die die Reaktion der Pflanze auf eine Vielzahl biotischer und abiotischer Stresssituationen lenken. Der Mineralstoffbedarf ist während Stresszeiten und in bestimmten Stadien des Pflanzenwachstums besonders hoch. Gamma-Aminobuttersäurespiegel in Pflanzen erhöhen sich zu diesen Zeiten auf natürliche Weise.

[0005] Gamma-Aminobuttersäure (GABA), eine Nichtprotein-Aminosäure, wird in Pflanzen häufig nach Umweltreizen akkumuliert, die auch Ethylenproduktion hervorrufen können. Exogene GABA ruft nach etwa 12 Std. eine bis zu 14fache Erhöhung der Ethylenproduktionsrate hervor. GABA ruft Erhöhungen der ACC-Synthase-mRNA-Akkumulation, der ACC-Spiegel, der ACC-Oxidase-mRNA-Spiegel und der In-vitro-ACC-Oxidaseaktivität hervor. Mögliche Rollen von GABA als Signaltransducer werden vorgeschlagen, vgl. *Plant Physiol.* 115 (1): 129–35 (1997).

[0006] Gamma-Aminobuttersäure (GABA), eine Nichtprotein-Aminosäure mit vier Kohlenstoffen, ist in den meisten prokaryotischen und eukaryotischen Organismen eine wichtige Komponente des freien Aminosäurepools. Bei Pflanzen löst Stress einen Signaltransduktionsweg aus, bei dem erhöhtes cytosolisches Ca^{2+} die Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Glutamatdecarboxylaseaktivität und die GABA-Synthese aktiviert. Höhere H^+ - und Substratspiegel können die Glutamatdecarboxylaseaktivität auch stimulieren. Die GABA-Akkumulation wird möglicherweise primär durch Glutamatdecarboxylase vermittelt. Experimentelle Beweise stützen die Beteiligung der GABA-Synthese an der pH-Regulation, Stickstoffspeicherung, Pflanzenentwicklung und -abwehr sowie als kompatibler Osmolyt und alternativer Weg für die Glutamatverwertung, vgl. *Trends Plant Sci.* 4 (11) : 446–452 (1999).

[0007] Schnelle GABA-Akkumulation als Reaktion auf Verletzung kann bei der Pflanzenabwehr gegen Insekten eine Rolle spielen (Ramputh and Brown, *Plant Physiol.* 111 (1996): 1349–1352). Die Entwicklung von gamma-Aminobutyrat (GABA) als potentiell Schutzmittel in Pflanzenschutzsystemen gegen wirbellose Schädlinge wurde in Shelp et al., *Canadian Journal of Botany* (2003) 81, 11, 1045–1048, untersucht. Die Autoren beschreiben, dass verfügbare Beweise darauf hinweisen, dass GABA-Akkumulation in Pflanzen als Reaktion auf biotische und abiotische Stresssituationen über die Aktivierung von Glutamatdecarboxylase vermittelt wird. Weitere angewandte Forschung, basierend auf der Tatsache, dass GABA als inhibitorischer Neurotransmitter bei Befall durch wirbellose Schädlinge wirkt, weist darauf hin, dass aufgenommene GABA die Nervenfunktion zerstört und Schaden an *Choristoneura-rosaceana*-Larven anrichtet, und dass Wandern oder Pflanzenfraß durch Tabakeulen- und *Choristoneura-rosaceana*-Larven, die GABA-Akkumulation in Sojabohne bzw. Tabak stimulieren. Außerdem verhindern höhere Spiegel an endogener GABA in gentechnisch verändertem Tabak, Fraß durch Tabakeulenlarven und Befall durch das nördliche Wurzelgallenälchen. Daher schlussfolgerte der Autor, dass gentechnisch veränderte Nutzpflanzenarten, die ein hohes GABA-Herstellungspotential aufweisen, beim Management von Befall durch wirbellose Schädlinge eine alternative Strategie zu chemischen Pestiziden sein könnten.

[0008] Während der Angiospermenreproduktion bilden Pollenkörner einen Schlauch, der durch weibliches Gewebe zur Mikropyle navigiert, und dabei Spermia an das Ei abgibt. GABA stimuliert in vitro das Wachstum des Pollenschlauchs.

[0009] Ein Großteil der jüngsten Arbeiten zu GABA in Pflanzen konzentrierte sich auf deren Stoffwechselrolle (Fait et al., Trends in Plant Sci., Band 13, Nr. 1, S. 14–19, 2007) und auf mit Stress/Schädlingsbefall assoziierte und signalgebende Rollen (Bouche et al., Trends in Plant Sci., Band 9, Nr. 3, S. 110–115, 2004).

[0010] Die Akkumulation von GABA in Pflanzengeweben und Transportfluiden sind Reaktionen auf viele abiotische Stresssituationen (Allan et al., J Exp Bot, Band 59, Nr. 9, S. 2555–2564, 2008). Beuve et al. (in PCE, 27, 1035–1046, 2004) fanden heraus, dass Nitratinflux und GABA in Kurzzeit- und Langzeitversuchen positiv korreliert waren und dass exogene GABA-Zufuhr an den Wurzeln eine signifikante Erhöhung der BnNrt2 (Nitrattransporter) mRNA-Expression induzierte.

[0011] Ein weiterer Ansatz war die Verwendung von GABA zur Stimulation des Pflanzenwachstums durch Aufbringen von GABA auf Pflanzenblätter, -stämme und/oder -wurzeln in einer 1 bis 5.000 S.m GABA-Lösung, bevorzugt zusammen mit einer leicht zu verstoffwechselnden Kohlenstoffquelle (organische Säuren, Aminosäuren, einfache Kohlenhydrate und Gemische aus organischen Säuren, Aminosäuren und einfachen Kohlenhydraten).

[0012] Auch wenn die Rolle von GABA in der Zelle noch nicht verstanden ist und die Wirkungsmechanismen noch nicht geklärt sind, besteht aufgrund dieser physiologischen Rollen und des agro-biotechnologischen Potentials von GABA ein Bedarf, Gene von Enzymen und anderen Proteinen zu identifizieren, die am GABA-Stoffwechsel beteiligt sind.

[0013] Insbesondere besteht ein Bedarf zur Erzeugung von Mutanten oder transgenen Pflanzenlinien, mit denen der GABA-Gehalt in Pflanzen motiviert werden kann, um die Ertragsmerkmale der Pflanzen zu verbessern.

[0014] Entsprechend bezieht sich die Erfindung in einer ersten Ausführungsform auf ein Verfahren zum Herstellen einer transgenen Zelle mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle, durch Erhöhen oder Erzeugen einer oder mehrerer Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphat synthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein.

[0015] Entsprechend bezieht sich das Verfahren gemäß der Erfindung auf ein Verfahren, das Folgendes umfasst:

Bereitstellen einer nicht humanen Zelle oder eines Organismus, eines Mikroorganismus, eines nicht humanen Tiers, Tiergewebes oder Tierzelle, bevorzugt einer Pflanzenzelle, eines Pflanzengewebes einer Pflanze; und Erhöhen oder Erzeugen einer oder mehrerer Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphat synthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, die dem Organismus z. B. eine Erhöhung von GABA verleiht; und Wachsen der nicht humanen Zelle oder eines Organismus, eines Mikroorganismus, eines nicht humanen Tiers, Tiergewebes oder Tierzelle, bevorzugt einer Pflanzenzelle, eines Pflanzengewebes einer Pflanze unter Bedingungen, die die Herstellung eines erhöhten GABA-Gehalts ermöglichen, und optional wird die GABA, die von dem Organismus synthetisiert wird, gewonnen oder isoliert.

[0016] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zum Herstellen einer transgenen Zelle mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle bereit, das mindestens einen der Schritte umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- (i) Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder mindestens ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II bzw. Tabelle IV dargestellt;
- (ii) Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Expressionsprodukts eines Nukleinsäuremoleküls, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I dargestellt, und
- (iii) Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines funktionellen Äquivalents von (i) oder (ii).

[0017] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zum Herstellen einer transgenen Zelle mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle bereit, wobei die Expression mindestens eines Nukleinsäuremoleküls, das ein Nukleinsäuremolekül umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:

- a) einem Nukleinsäuremolekül, das das Polypeptid kodiert, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II gezeigt wird;
- b) einem Nukleinsäuremolekül, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird;
- c) einem Nukleinsäuremolekül, das infolge der Degeneration des genetischen Codes von einer Polypeptidsequenz abgeleitet werden kann, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II dargestellt ist, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- d) einem Nukleinsäuremolekül, das mindestens 30% Identität mit der Nukleinsäuremolekülsequenz eines Polynukleotids aufweist, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- e) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mindestens 30% Identität mit der Aminosäuresequenz des Polypeptids aufweist, das von dem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- f) einem Nukleinsäuremolekül, das mit einem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) unter stringenten Hybridisierungsbedingungen hybridisiert und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- g) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mit Hilfe monoklonaler oder polyklonaler Antikörper isoliert werden kann, die gegen ein Polypeptid hergestellt wurden, das von einem der Nukleinsäuremoleküle aus (a) bis (e) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch das Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt;
- h) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Consensus-Sequenz oder ein oder mehrere Polypeptidmotiv(e) umfasst, wie in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt, und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt;
- i) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- j) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polynukleotid umfasst, das durch Amplifizieren einer cDNA-Bibliothek oder einer Genbibliothek unter Verwendung der Primer in Spalte 7 von Tabelle III erhalten wird und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt; und
- k) einem Nukleinsäuremolekül, das durch Screening einer geeigneten Nukleinsäurebibliothek unter stringenten Hybridisierungsbedingungen mit einer Sonde erhalten werden kann, die eine komplementäre Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls aus (a) oder (b) umfasst oder mit einem Fragment davon, das mindestens 15 nt, bevorzugt 20 nt, 30 nt, 50 nt, 100 nt, 200 nt oder 500 nt eines Nukleinsäuremoleküls aufweist, das komplementär zu einer Nukleinsäuremolekülsequenz ist, die in (a) bis (e) charakterisiert wird, und ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, das ein Polypeptid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt;

erhöht oder erzeugt wird.

[0018] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zum Herstellen einer transgenen Zelle mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle, bereit, wobei die transgene Zelle eine Pflanzenzelle, eine Pflanze oder ein Teil davon mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, ist.

[0019] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zum Herstellen einer transgenen Zelle mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle, bereit, wobei die transgene Pflanzenzelle, eine Pflanze oder ein Teil davon von einer einkeimblättrigen Pflanze, einer zweikeimblättrigen Pflanze oder einer Gymnospermenpflanze abgeleitet ist.

[0020] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zum Herstellen einer transgenen Zelle mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle bereit, wobei die transgene Pflanze ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Raps, einschließlich Canola und Winterraps, Getreide, Maniok, Pfeffer, Sonnenblume, Flachs, Borretsch, Färberdistel, Lein, Primel, Rübsamen, Rübekohl, Tagetes, nachtschattenartigen Pflanzen, Kartoffel, Tabak, Aubergine, Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Luzerne, Kaffee, Kakao, Tee, Salix-Arten, Ölpalme, Kokosnuss, perennierenden Gräsern, Futterpflanzen und *Arabidopsis thaliana*.

[0021] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein isoliertes Nukleinsäuremolekül bereit, das ein Nukleinsäuremolekül umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- a. einem Nukleinsäuremolekül, das das Polypeptid kodiert, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IIB gezeigt wird;
- b. einem Nukleinsäuremolekül, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IB gezeigt wird;
- c. einem Nukleinsäuremolekül, das infolge der Degeneration des genetischen Codes von einer Polypeptidsequenz abgeleitet werden kann, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II dargestellt ist, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- d. einem Nukleinsäuremolekül, das mindestens 30% Identität mit der Nukleinsäuremolekülsequenz eines Polynukleotids aufweist, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- e. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mindestens 30% Identität mit der Aminosäuresequenz des Polypeptids aufweist, das von dem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle 1 dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- f. einem Nukleinsäuremolekül, das mit einem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) unter stringenten Hybridisierungsbedingungen hybridisiert und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- g. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mit Hilfe monoklonaler oder polyklonaler Antikörper isoliert werden kann, die gegen ein Polypeptid hergestellt wurden, das von einem der Nukleinsäuremoleküle aus (a) bis (e) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch das Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt;
- h. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Consensus-Sequenz oder ein oder mehrere Polypeptidmotiv(e) umfasst, wie in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt, und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt;
- i. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- j. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polynukleotid umfasst, das durch Amplifizieren einer cDNA-Bibliothek oder einer Genbibliothek unter Verwendung der Primer in Spalte 7 von Tabelle III, die an ihrem 5'-Ende nicht mit den Nukleotiden ATA beginnen, erhalten wird und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt; und

k. einem Nukleinsäuremolekül, das durch Screening einer geeigneten Nukleinsäurebibliothek unter stringenten Hybridisierungsbedingungen mit einer Sonde erhalten werden kann, die eine komplementäre Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls aus (a) oder (b) umfasst oder mit einem Fragment davon, das mindestens 15 nt, bevorzugt 20 nt, 30 nt, 50 nt, 100 nt, 200 nt oder 500 nt eines Nukleinsäuremoleküls aufweist, das komplementär zu einer Nukleinsäuremolekülsequenz ist, die in (a) bis (e) charakterisiert wird, und ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, das ein Polypeptid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt.

[0022] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Nukleinsäuremolekül bereit, wobei das Nukleinsäuremolekül gemäß (a) bis (k) mindestens in einem oder mehreren Nukleotiden von der Sequenz verschieden ist, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IA dargestellt ist, und bevorzugt ein Protein kodiert, das sich in mindestens einer oder mehreren Aminosäuren von den Proteinsequenzen unterscheidet, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IIA dargestellt sind.

[0023] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Nukleinsäurekonstrukt bereit, das die Expression des oben beschriebenen Nukleinsäuremoleküls verleiht, das ein oder mehrere Regulationselemente umfasst.

[0024] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung einen Vektor bereit, der das Nukleinsäuremolekül oder die Nukleinsäure umfasst.

[0025] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung eine Wirtszelle bereit, die stabil oder vorübergehend mit dem Vektor, dem Nukleinsäuremolekül oder dem Nukleinsäurekonstrukt transformiert wurde, und die aufgrund der Transformation einen erhöhten Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, zeigt.

[0026] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zum Herstellen eines Polypeptids bereit, wobei das Polypeptid, wie oben erwähnt, in dem Wirtskern oder der Wirtszelle exprimiert wird.

[0027] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Polypeptid bereit, das durch das oben erwähnte Verfahren hergestellt oder durch das Nukleinsäuremolekül, wie oben erwähnt, kodiert wird, wobei sich das Polypeptid über die Sequenz, wie in Tabelle IIA gezeigt, durch eine oder mehrere Aminosäuren unterscheidet.

[0028] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung einen Antikörper bereit, der spezifisch an das Polypeptid bindet, das durch das oben erwähnte Verfahren oder durch ein Nukleinsäuremolekül, wie oben erwähnt, kodiert wird, wobei sich das Polypeptid über die Sequenz, wie in Tabelle IIA gezeigt, durch eine oder mehrere Aminosäuren unterscheidet.

[0029] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung einen Zellkern, eine Zelle, einen Pflanzenzellkern, ein Pflanzenzellpflanzengewebe, Fortpflanzungsmaterial, Pollen, Nachkommen, geerntetes Material oder eine Pflanze bereit, der/die/das das Nukleinsäuremolekül, wie oben dargestellt, oder den Wirtskern oder die Wirtszelle, wie oben dargestellt, umfasst.

[0030] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung einen transgenen Pflanzenzellkern, eine transgene Pflanzenzelle, eine transgene Pflanze oder einen Teil davon, wie oben beschrieben, bereit, der/die von einer einkeimblättrigen Pflanze oder einer zweikeimblättrigen Pflanze abgeleitet ist.

[0031] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung den transgener Pflanzenzellnucleus, die transgene Pflanzenzelle, die transgene Pflanze oder den Teil davon bereit, wie oben erwähnt, wobei die entsprechende Pflanze ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Maiskorn (Mais), Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Raps, einschließlich Canola und Winterölraps, Maniok, Pfeffer, Sonnenblume, Flachs, Borretsch, Färberdistel, Lein, Primel, Rübsamen, Rübensamen, Tagetes, nachtschattenartigen Pflanzen, umfassend Kartoffel, Tabak, Aubergine, Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Luzerne, Kaffee, Kakao, Tee, Salix-Arten, Ölpalme, Kokosnuss, perennierenden Gräsern, Futterpflanzen und Arabidopsis thaliana.

[0032] Bevorzugt ist der transgene Pflanzenzellkern, die transgene Pflanzenzelle, die transgene Pflanze oder der Teil davon aus der Gruppe ausgewählt, bestehend aus Maiskorn, Soja, Raps (einschließlich Canola und Winterraps), Baumwolle, Weizen und Reis.

[0033] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung eine transgene Pflanze bereit, die einen oder mehrere Pflanzenzellkerne oder Pflanzenzellen, Nachkommen, Samen oder Pollen umfasst oder von einer transgenen Pflanze hergestellt wird, wie oben erwähnt.

[0034] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung eine transgene Pflanze, einen transgenen Pflanzenzellkern, eine transgene Pflanzenzelle, eine Pflanze, die/der einen oder mehrere solcher transgenen Pflanzenzellkerne oder Pflanzenzellen, Nachkommen, Samen oder Pollen, die von einer transgenen Pflanze abgeleitet sind oder durch sie hergestellt werden, wie oben beschrieben, umfasst, wobei die transgene Pflanze, der transgene Pflanzenzellkern, die transgene Pflanzenzelle, die Pflanze, die einen oder mehrere solcher transgenen Pflanzenzellkerne oder Pflanzenzellen, Nachkommen, Samen oder Pollen umfasst, für ein Transgen genetisch homozygot ist, das erhöhten Ertrag verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer transgenen Pflanze oder einem Teil davon.

[0035] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zum Identifizieren einer Verbindung, die einen erhöhten Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA) verleiht, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, bereit, das die folgenden Schritte umfasst:

- a) Kultivieren einer Pflanzenzelle; einer Pflanze oder eines Teils davon, wodurch eine Pflanze erhalten wird, die das Polypeptid der Erfindung exprimiert, das einen erhöhten Ertrag unter Stressbedingung verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon; einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze oder eines Teils davon und eines Ablesesystems, das in der Lage ist, unter geeigneten Bedingungen, die eine Wechselwirkung des Polypeptids mit diesem Ablesesystem in Gegenwart einer Verbindung oder einer Probe erlauben, die mehrere Verbindungen umfasst, mit dem Polypeptid in Wechselwirkung zu treten und dazu in der Lage ist, ein nachweisbares Signal als Reaktion auf die Bindung einer Verbindung an das Polypeptid bereitzustellen, unter Bedingungen die die Expression dieses Ablesesystems und des Polypeptids ermöglichen, das einen erhöhten Ertrag unter Stressbedingung verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon; einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze oder eines Teils davon;
- b) Identifizieren, ob die Verbindung ein wirksamer Agonist ist, indem die Gegenwart oder Abwesenheit oder die Erhöhung eines Signals, das von dem Ablesesystem hergestellt wird, nachgewiesen wird.

[0036] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung einer landwirtschaftlichen Zusammensetzung bereit, das die Schritte des oben beschriebenen Verfahrens und des Formulierens der oben identifizierten Verbindung in eine Form umfasst, die für eine Anwendung in der Landwirtschaft unbedenklich ist.

[0037] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung eine Zusammensetzung bereit, die das Nukleinsäuremolekül der Erfindung, das Polypeptid der Erfindung, das Nukleinsäurekonstrukt, den Vektor, die oben erwähnte Verbindung, den Antikörper der Erfindung und optional einen landwirtschaftlich unbedenklichen Träger umfasst.

[0038] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung ein isoliertes Polypeptid, wie in Tabelle II, bevorzugt Tabelle IIB dargestellt, bereit, das ausgewählt ist aus *Arabidopsis thaliana*, *Azotobacter vinelandii*, *Brassica napus*, *Escherichia coli*, *Physcomitrella patens*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Synechocystis* sp. und/oder *Thermus thermophilus*.

[0039] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung die Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls bereit, das ein Polypeptid kodiert, dessen Aktivität ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphat-synthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polylacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, zum Herstellen einer Zelle, bevorzugt einer Pflanzenzelle, mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp.

[0040] In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung die Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls bereit, das ein Polypeptid kodiert, dessen Aktivität ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetylhydrolase, Geranylgeranylpyrophosphat-synthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polylacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, als Marker zur Selektion von Pflanzen oder Pflanzenzellen mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp.

[0041] In einer weiteren Ausführungsform wird das Verfahren gemäß der Erfindung verwendet, um eine transgenen Pflanzenzelle, ein Pflanze oder einen Teil davon mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle, herzustellen, die/der von einer einkeimblättrigen Pflanze, einer zweikeimblättrigen Pflanze oder einer Gymnospermenpflanze abgeleitet ist.

[0042] Die vorliegende Erfindung stellt Verfahren zum Herstellen transgener Pflanzenzellen oder Pflanzen mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp bereit, die außerdem erhöhte Toleranz gegenüber Umweltstress und/oder erhöhtem Ertrag und/oder Biomasseproduktion zeigen können, verglichen mit einem entsprechenden (nicht transformierten) Wildtyp oder einer Ausgangspflanzenzelle bereit, indem eine oder mehrere der oben erwähnten Aktivitäten erhöht oder erzeugt werden.

[0043] Die vorliegende Erfindung stellt Verfahren zum Herstellen transgener Pflanzenzellen oder Pflanzen mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp und mit einer erhöhten Resistenz gegen erhöhten abiotischen Stress, verglichen mit einem entsprechenden (nicht transformierten) Wildtyp oder einer Ausgangspflanzenzelle bereit, indem eine oder mehrere der oben erwähnten Aktivitäten erhöht oder erzeugt werden.

[0044] Die vorliegende Erfindung stellt Verfahren zum Herstellen transgener Pflanzenzellen oder Pflanzen mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp und mit einem erhöhten Nitratinflux, verglichen mit einem entsprechenden (nicht transformierten) Wildtyp oder einer Ausgangspflanzenzelle bereit, indem eine oder mehrere der oben erwähnten Aktivitäten erhöht oder erzeugt werden.

[0045] Die vorliegende Erfindung stellt Verfahren zum Herstellen transgener Pflanzenzellen oder Pflanzen mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp und mit einem erhöhten Pflanzenwachstum, verglichen mit einem entsprechenden (nicht transformierten) Wildtyp oder einer Ausgangspflanzenzelle bereit, indem eine oder mehrere der oben erwähnten Aktivitäten erhöht oder erzeugt werden.

[0046] Gamma-Aminobuttersäure steigert die Nährstoffaufnahme durch Wurzeln und Blätter, so dass die Nährstoffspiegel der Pflanzen höher sind als jene, die unter Verwendung von Nährstoffen allein erzielt werden. Wenn Pflanzen gestresst sind und die Nährstoffaufnahme begrenzt ist, kann gamma-Aminobuttersäure die Nährstoffverwertung erleichtern, wodurch das Wachstum bei Stress und/oder unter suboptimalen Wachstums- und Anbaubedingungen von Pflanzen gesteigert wird.

[0047] Entsprechend stellt die vorliegende Erfindung in einer Ausführungsform ein Verfahren zum Herstellen einer Pflanze mit erhöhtem Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden Wildtyp-Pflanze, bereit, das mindestens die folgenden Schritte umfasst: Erhöhen oder Erzeugen von einer oder mehreren Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoace-

tathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolyse, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein.

[0048] „Ertrag“ wie hierin beschrieben, bezieht sich in einer Ausführungsform auf den erntefähigen Ertrag einer Pflanze. Der Ertrag einer Pflanze kann von der spezifischen interessierenden Pflanze/Nutzpflanze sowie von deren in jedem besonderen Fall interessierenden vorgesehenen Anwendung (wie etwa Nahrungsproduktion, Futterproduktion, Produktion verarbeiteter Nahrungsmittel, Biokraftstoff, Biogas oder Alkoholproduktion oder dergleichen) abhängen. Somit wird der Ertrag in einer Ausführungsform als Ernte-Index berechnet (ausgedrückt als Verhältnis des Gewichts der jeweiligen erntefähigen Teile geteilt durch die gesamte Biomasse), erntefähige Teile Gewicht pro Fläche (Morgen, Quadratmeter oder dergleichen); und dergleichen.

[0049] Bevorzugt können die bevorzugten gesteigerten oder verbesserten Ertragsmerkmale einer hierin beschriebenen Pflanze gemäß der vorliegenden Erfindung in Abwesenheit oder Gegenwart von Stressbedingungen erzielt werden.

[0050] Die Bedeutung von Ertrag“ hängt daher hauptsächlich von der interessierenden Nutzpflanze und der vorgesehenen Anwendung ab, und es versteht sich, dass der Fachmann in jedem besonderen Fall aus den Umständen der Beschreibung verstehen wird, was gemeint ist.

[0051] Zum Zweck der Beschreibung der vorliegenden Erfindung bezieht sich gesteigerter oder erhöhter Ertrag“ auf einen oder mehrere Ertragsparameter, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Biomasseertrag, Trockenbiomasseertrag, oberirdischer Trockenbiomasseertrag, unterirdischer Trockenbiomasseertrag, Frischgewichtbiomasseertrag, oberirdischer Frischgewichtbiomasseertrag, unterirdischer Frischgewichtbiomasseertrag; gesteigerter Ertrag von erntefähigen Teilen, entweder Trocken- oder Frischgewicht oder beides, entweder oberirdisch oder unterirdisch oder beides; gesteigerter Ertrag von Nutzpflanzenfrüchten, entweder Trocken- oder Frischgewicht oder beides, entweder oberirdisch oder unterirdisch oder beides; und bevorzugt dem gesteigerten Ertrag an Samen, entweder Trocken- oder Frischgewicht oder beides, entweder oberirdisch oder unterirdisch oder beides.

[0052] Der Begriff „Ertrag“, wie hierin allgemein verwendet, bezieht sich auf ein messbares Produkt von einer Pflanze, insbesondere einer Nutzpflanze.

[0053] Ertrag und Ertragszuwachs (im Vergleich zu einer Ursprungspflanze oder Wildtyp-Pflanze) können auf eine Reihe von Arten gemessen werden. Es versteht sich, dass ein Fachmann in der Lage sein wird, die korrekte Bedeutung hinsichtlich der speziellen Ausführungsformen, der jeweils betroffenen Nutzpflanze und des spezifischen Zwecks oder der spezifischen Anwendung anzuwenden.

[0054] In einer Ausführungsform bezieht sich eine Ertragserhöhung auf einen erhöhten Biomasseertrag und/oder einen erhöhten Saatertrag.

[0055] In einer Ausführungsform bezieht sich „Ertrag“ auf Biomasseertrag, z. B. auf Trockengewichtbiomasseertrag und/oder Frischgewichtbiomasseertrag. Biomasseertrag bezieht sich auf die oberirdischen oder unterirdischen Teile einer Pflanze, abhängig von den spezifischen Umständen (Testbedingungen, spezifische interessierende Nutzpflanze, interessierende Anwendung und dergleichen). In einer Ausführungsform bezieht sich Biomasseertrag auf die oberirdischen und unterirdischen Teile. Der Biomasseertrag kann als Frischgewicht, Trockengewicht oder einer hinsichtlich der Feuchtigkeit angepassten Basis berechnet werden. Der Biomasseertrag kann je Pflanze oder im Verhältnis zu einer spezifischen Fläche (z. B. Biomasseertrag pro Morgen/Quadratmeter/oder dergleichen) berechnet werden.

[0056] In einer anderen Ausführungsform bezieht sich „Ertrag“ auf den Samenertrag, der durch einen oder mehrere der folgenden Parameter gemessen werden kann: Anzahl an Samen oder Anzahl an gefüllten Samen (je Pflanze oder je Fläche (Morgen/Quadratmeter/oder dergleichen)); Samenfüllrate (Verhältnis zwischen der Anzahl an gefüllten Samen und der Gesamtanzahl an Samen); Anzahl von Blüten je Pflanze; Samenbiomasse oder Gesamtsamengewicht (je Pflanze oder je Fläche (Morgen/Quadratmeter/oder dergleichen)); Tausendkorngewicht (TKW; extrapoliert aus der Anzahl der gezählten gefüllten Samen und ihrem Gesamtgewicht; eine Zunahme des TKW kann durch eine erhöhte Samengröße, ein erhöhtes Samengewicht, eine erhöhte Embryogröße und/oder ein erhöhtes Endosperm bewirkt werden). Andere Parameter, die das Messen des Samener-

trags ermöglichen, sind dem Fachmann ebenfalls bekannt. Der Samenertrag kann auf einer Trockengewichts- oder auf einer Frischgewichtsbasis oder typischerweise auf einer hinsichtlich der Feuchtigkeit angepassten Basis, z. B. bei 15,5 Prozent Feuchtigkeit, bestimmt werden.

[0057] Der erhöhte Ertrag gemäß der vorliegenden Erfindung kann typischerweise erzielt werden, indem im Vergleich mit einer Ursprungspflanze oder Wildtyp-Pflanze ein oder mehrere ertragsbezogene Merkmale der Pflanze gesteigert oder verbessert werden. Solche ertragsbezogenen Merkmale einer Pflanze, deren Verbesserung zu einem erhöhten Ertrag führt, umfassen ohne Einschränkung die Erhöhung der intrinsischen Ertragskapazität einer Pflanze, eine verbesserte Nährstoffverwertungseffizienz und/oder eine erhöhte Stresstoleranz.

[0058] Entsprechend ist in einer Ausführungsform das ertragsbezogene Merkmal, das eine Erhöhung des Ertrags der Pflanze verleihend, eine Erhöhung der intrinsischen Ertragskapazität einer Pflanze und kann sich zum Beispiel durch Verbessern des spezifischen (intrinsischen) Samenertrags (z. B. hinsichtlich einer erhöhten Samen/Korngröße, einer erhöhten Ährenzahl, einer erhöhten Samenzahl je Ähre, einer Verbesserung der Samenfüllung, einer Verbesserung der Samenzusammensetzung, Embryo- und/oder Endosperm-Verbesserungen oder dergleichen); der Modifikation und Verbesserung von inhärenten Wachstums- und Entwicklungsmechanismen einer Pflanze (wie Pflanzenhöhe, Pflanzenwachstumsrate, Hülsenzahl, Hülsenposition auf der Pflanze, Anzahl der Internodien, Auftreten von Hülse- bzw. Schotenabwurf, Effizienz der Knötchenbildung und Stickstoffbindung, Effizienz der Kohlenstoffassimilation, Verbesserung der Sämlingsvitalität/Frühwuchskraft, gesteigerte Keimungseffizienz (unter Stress- oder Nicht-Stress-Bedingungen), Verbesserung der Pflanzenarchitektur, Zellzyklusmotivikationen, Photosynthesemotivikationen, verschiedene Signalwegmotivikationen, Motivikation der Transkriptionsregulation, Motivikation der Translationsregulation, Motivikation von Enzymaktivitäten und dergleichen); und/oder dergleichen äußern.

[0059] Entsprechend ist in einer Ausführungsform das ertragbezogene Merkmal, das eine Erhöhung des Ertrags der Pflanze verleiht, eine Verbesserung oder Erhöhung der Stresstoleranz einer Pflanze und kann sich zum Beispiel durch das Verbessern oder Erhöhen der Toleranz einer Pflanze gegen Stress, insbesondere abiotischen Stress äußern. In der vorliegenden Anmeldung bezieht sich abiotischer Stress allgemein auf abiotische Umweltbedingungen, denen eine Pflanze typischerweise ausgesetzt ist, einschließlich Bedingungen, die typischerweise als „abiotische Stress“-Bedingungen bezeichnet werden, einschließlich aber nicht beschränkt auf Dürre (Toleranz gegenüber Dürre kann infolge einer verbesserten Wassernutzungseffizienz erzielt werden), Hitze, niedrige Temperaturen und Kältebedingungen (wie Gefrier- und Abkühlungsbedingungen), Salzgehalt, osmotischer Stress, Schatten, hohe Pflanzendichte, mechanischer Stress, oxidativer Stress und dergleichen.

[0060] Entsprechend kann in einer Ausführungsform der erhöhte Ertrag gemäß der vorliegenden Erfindung typischerweise erzielt werden, indem im Vergleich mit einer nicht transformierten Ausgangspflanze oder Wildtyp-Pflanze ein oder mehrere ertragsbezogene Merkmale der Pflanze gesteigert oder verbessert werden. Solche ertragsbezogenen Merkmale einer Pflanze, die zu einem erhöhten Ertrag führen, umfassen ohne Einschränkung die Erhöhung der intrinsischen Ertragskapazität einer Pflanze, eine verbesserte Nährstoffverwertungseffizienz und/oder eine erhöhte Stresstoleranz, zum Beispiel eine erhöhte Dürretoleranz und/oder Niedertemperaturtoleranz.

[0061] In einer Ausführungsform bezieht sich die abiotische Stressresistenz und/oder -toleranz auf Wasserstressresistenz, insbesondere unter Bedingungen von vorübergehendem und sich wiederholendem abiotischem Stress, insbesondere einer zyklischen Dürre.

[0062] Somit wird in einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ein erhöhter Pflanzenertrag vermittelt, indem die „Nährstoffverwertungseffizienz einer Pflanze“, z. B. durch Verbessern der Verwertungseffizienz von Nährstoffen, einschließlich aber nicht beschränkt auf Phosphor, Kalium und Stickstoff, erhöht wird.

[0063] Eine erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz ist in einer Ausführungsform eine gesteigerte Stickstoffaufnahme, -assimilation, -akkumulation oder -nutzung. Diese komplexen Prozesse sind mit der Absorption, Translokation, Assimilation und der Weiterverteilung von Stickstoff in der Pflanze assoziiert.

[0064] Zum Beispiel besteht ein Bedarf an Pflanzen, die in der Lage sind, Stickstoff effizienter aufzunehmen, so dass weniger Stickstoff für das Wachstum erforderlich ist, und daher zu dem verbesserten Ertragsniveau unter Stickstoffmangelbedingungen oder Stickstoff begrenzenden Bedingungen führt. Ferner können höhere Erträge mit dem derzeit üblichen oder standardmäßig verwendeten Umfang der Stickstoffzufuhr oder -aufnahme erhalten werden.

[0065] Entsprechend wird in einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung der Pflanzenertrag erhöht, indem die Stickstoffaufnahme einer Pflanze oder eines Teils davon erhöht wird. Es ist daher eine weitere Aufgabe dieser Erfindung, eine Pflanze bereitzustellen, die eine gesteigerte Stickstoffaufnahme zeigt, und/oder unter Bedingungen begrenzter Stickstoffzufuhr, einen erhöhten Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden Wildtyp-Pflanze, aufweist.

[0066] Entsprechend bezieht sich die vorliegende Erfindung in einer Ausführungsform auf ein Verfahren zum Erhöhen des Ertrags, das die folgenden Schritte umfasst:

- (a) Messen des N-Gehalts in der Erde, und
- (b) Bestimmen, ob der N-Gehalt in der Erde für das Wachstum einer Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze, z. B. einer Nutzpflanze, optimal oder suboptimal ist, und
- (c1) Wachsen der Pflanze der Erfindung in der Erde, wenn der N-Gehalt für das Wachstum der Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze suboptimal ist, oder
- (c2) Wachsen der Pflanze der Erfindung in Erde und Vergleichen des Ertrags mit dem Ertrag einer Standard-, einer Ursprungs- oder einer Wildtyp-Pflanze und Selektieren und Wachsen der Pflanze, die den höchsten Ertrag zeigt, wenn der N-Gehalt für die Ausgangs- oder Wildtyp-Pflanze optimal ist.

[0067] In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung, wird der Pflanzenertrag erhöht, indem die Stresstoleranz(en) der Pflanze erhöht wird (werden).

[0068] Im Allgemeinen kann der Begriff „erhöhte Toleranz gegenüber Stress“ als Überleben von Pflanzen und/oder Produktion mit höherem Ertrag unter Stressbedingungen, verglichen mit einer nicht transformierten Wildtyp- oder Ausgangspflanze, definiert werden.

[0069] Während ihres Lebenszyklus ist eine Pflanze im Allgemeinen einer Vielfalt von Umweltbedingungen ausgesetzt. Alle solchen Bedingungen, die unter bestimmten Umständen eine Auswirkung auf den Pflanzenertrag haben können, werden hierin als „Stress“-Bedingung bezeichnet. Umweltstress lässt sich allgemein in biotische und abiotische (Umwelt-)Stressformen einteilen. Ungünstige Nährstoffbedingungen werden manchmal auch als „Umweltstress“ bezeichnet. Die vorliegende Erfindung zieht auch Lösungen für diese Art von Umweltstress in Betracht, z. B. indem sie sich auf eine erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz bezieht.

[0070] Entsprechend wird in einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung der Pflanzenertrag erhöht, indem die abiotische(n) Stresstoleranz(en) einer Pflanze oder eines Teils davon erhöht wird.

[0071] Zum Zweck der Beschreibung der vorliegenden Erfindung werden die Begriffe „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Stress“, „gesteigerte Resistenz gegenüber Umweltstress“, „gesteigerte Toleranz gegen Umweltstress“, „verbesserte Anpassung an Umweltstress“ und andere Variationen und Ausdrücke, die in ihrer Bedeutung ähnlich sind, austauschbar verwendet, und beziehen sich, ohne Beschränkung, auf eine Verbesserung der Toleranz gegenüber einer oder mehreren abiotischen Umweltstressform(en), wie hierin beschrieben, und im Vergleich mit einer entsprechenden Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze oder einem Teil davon.

[0072] Der Begriff abiotische Stresstoleranz(en) bezieht sich zum Beispiel auf Niedertemperaturtoleranz, Dürretoleranz, Hitzetoleranz, Salzstresstoleranz und andere.

[0073] Stresstoleranz bei Pflanzen, wie Niedertemperatur-, Dürre-, Hitze- und Salzstresstoleranz, kann ein gemeinsames Thema haben, das für das Pflanzenwachstum von Bedeutung ist, nämlich, die Verfügbarkeit von Wasser. Pflanzen sind während ihres Lebenszyklus typischerweise Bedingungen eines reduzierten Wassergehalts in der Umwelt ausgesetzt. Die Schutzstrategien gleichen jenen der Abkühlungstoleranz.

[0074] Entsprechend bezieht sich in einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung das ertragsbezogene Merkmal auf eine erhöhte Wassernutzungseffizienz der Pflanze der Erfindung und/oder eine erhöhte Toleranz gegenüber Dürrebedingungen der Pflanze der Erfindung.

[0075] In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung bedeutet Dürrestress jeglichen Umweltstress, der zu einem Wassermangel bei den Pflanzen oder der Verringerung der Wasserzufuhr zu Pflanzen führt, einschließlich eines sekundären Stress durch niedrige Temperatur und/oder Salz, und/oder eines primären Stress während einer Dürre oder Hitze, z. B. Austrocknung usw.

[0076] Gemäß der vorliegenden Erfindung kann in einer Ausführungsform eine erhöhte Toleranz gegenüber Dürrebedingungen gemäß dem folgenden Verfahren bestimmt und quantifiziert werden:

Transformierte Pflanzen werden einzeln in Töpfen in einer Wachstumskammer (York Industriekälte GmbH, Mannheim, Deutschland) wachsen gelassen. Die Keimung wird induziert. Wenn es sich bei den Pflanzen um *Arabidopsis thaliana* handelt, werden ausgesäte Samen 3 Tage lang im Dunkeln auf 4°C gehalten, um die Keimung zu induzieren. Anschließend werden die Bedingungen für 3 Tage auf 20°C/ 6°C Tages-/Nachttemperatur bei einem 16/8-Std.-Tag-Nacht-Zyklus bei 150 µE/m²s geändert. Anschließend werden die Pflanzen unter Standardwachstumsbedingungen wachsen gelassen. Wenn es sich bei den Pflanzen um *Arabidopsis thaliana* handelt, sind die Standardwachstumsbedingungen wie folgt: Photoperiode von 16 Std. Licht und 8 Std. Dunkelheit, 20°C, 60% relative Feuchtigkeit und eine Photonenflussdichte von 200 µE. Die Pflanzen werden gewachsen und kultiviert, bis sie Blätter entwickeln. Wenn es sich um *Arabidopsis thaliana* handelt, werden sie bis zum Alter von ungefähr 3 Wochen täglich bewässert. Beginnend mit diesem Zeitpunkt, wurde eine Dürre herbeigeführt, indem ihnen Wasser vorenthalten wurde. Nachdem die nicht transformierten Wildtyp-Pflanzen sichtbare Symptome von Schädigung zeigten, wird mit der Evaluierung begonnen und die Pflanzen werden Symptome von Dürresymptomen und Biomasseproduktion im Vergleich zu Wildtyp-Pflanzen und benachbarten Pflanzen 5 bis 6 Tage hintereinander bewertet.

[0077] In einer Ausführungsform bezieht sich die erhöhte Dürresistenz auf Dürrezyklen, das heißt, alternierende Perioden von Dürre und erneuter Bewässerung, die Pflanzen werden wiederholtem Stress ausgesetzt, der nicht zur Austrocknung führt.

[0078] In der vorliegenden Erfindung kann eine gesteigerte Toleranz gegenüber zyklischer Dürre, zum Beispiel und bevorzugt gemäß dem folgenden Verfahren bestimmt werden: Transformierte Pflanzen werden in Töpfen in einer Wachstumskammer (z. B. York, Mannheim, Deutschland) gewachsen. Wenn es sich bei den Pflanzen um *Arabidopsis thaliana* handelt, wird die Erde als 1:1(v/v)-Gemisch aus nährstoffangereicherter Erde (GS90, Tantau, Wandsdorf, Deutschland) und Quarzsand präpariert. Töpfe (6 cm Durchmesser) werden mit diesem Gemisch gefüllt und in Schalen angeordnet. Den Schalen wird Wasser zugegeben, damit das Erdgemisch eine angemessene Menge an Wasser für die Aussaat-Prozedur (Tag 1) aufnimmt, und anschließend werden Samen von transgenen A.-*thaliana*-Pflanzen und deren Wildtyp-Kontrollen in Töpfe gesät. Dann wurden die gefüllten Schalen mit einem transparenten Deckel bedeckt und in eine vorgekühlte (4°C bis 5°C) und abgedunkelte Wachstumskammer überführt. Die Stratifizierung erfolgt für einen Zeitraum von 3 Tagen im Dunkeln bei 4°C bis 5°C oder alternativ für 4 Tage im Dunkeln bei 4°C. Die Keimung der Samen und das Wachstum werden bei einer Wachstumsbedingung von 20°C, 60% relativer Feuchtigkeit, 16 Std. Photoperiode und Beleuchtung mit Fluoreszenzlicht bei 200 µmol/m²s initiiert. Die Deckel werden 7 bis 8 Tage nach dem Säen entfernt. Die BASTA-Selektion kann an Tag 10 oder Tag 11 (9 oder 10 Tage nach dem Säen) durch Besprühen der Töpfe mit Jungpflanzen von oben vorgenommen werden. In dem Standardversuch wird eine 0,07%(v/v)-Lösung aus BASTA-Konzentrat (183 g/l Glufosinatammonium) in Leitungswasser einmal oder alternativ eine 0,02%(v/v)-BASTA-Lösung drei Mal versprüht. Die Wildtyp-Kontrollpflanzen werden nur mit Leitungswasser besprüht (anstelle des Besprühens mit in Leitungswasser gelöstem BASTA), werden ansonsten jedoch gleich behandelt. Die Pflanzen wurden 13 bis 14 Tage nach dem Säen vereinzelt, indem der Setzlingsüberschuss entfernt wurde und nur ein Setzling in der Erde gelassen wurde. Transgene Ereignisse und Wildtyp-Kontrollpflanzen werden gleichmäßig in der Kammer verteilt.

[0079] Während des gesamten Versuchs ist die Wasserzufuhr begrenzt und die Pflanzen werden Zyklen von Dürre und erneuter Bewässerung unterzogen. Die Bewässerung wird an Tag 1 (vor dem Säen), Tag 14 oder Tag 15, Tag 21 oder Tag 22, und schließlich an Tag 27 oder Tag 28 durchgeführt. Zum Messen der Biomasseproduktion wurde das Pflanzenfrischgewicht einen Tag nach der letzten Bewässerung (Tag 28 oder Tag 29) durch Abschneiden von Sprossen und Wiegen derselben bestimmt. Neben dem Wiegen wird phänotypische Information hinzugefügt, wenn es sich um Pflanzen handelt, die sich von der Wildtyp-Kontrolle unterscheiden. Die Pflanzen befinden sich bei der Ernte im Stadium vor der Blütenbildung und vor dem Wachstum des Blütenstands. Signifikanzwerte für die statistische Signifikanz der Biomasseveränderungen werden durch Anwendung des t-Tests nach Student (Parameter: zweiseitige, verschiedene Varianz) berechnet.

[0080] Entsprechende äußert sich in einer Ausführungsform der Erfindung die erhöhte Kälteresistenz in einer Erhöhung der Biomasse der transgenen Pflanze der Erfindung, verglichen mit einer Wildtyp-Kontrolle unter der Stressbedingung einer zyklischen Dürre.

[0081] Entsprechend bezieht sich die vorliegende Erfindung in einer Ausführungsform auf ein Verfahren zum Erhöhen des Ertrags, das die folgenden Schritte umfasst:

- (a) Bestimmen, ob die Wasserzufuhr in der Pflanzfläche für das Wachstum einer Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze, z. B. einer Nutzpflanze, optimal oder suboptimal ist, und/oder Bestimmen der sichtbaren Symptome von Schädigung von Pflanzen, die auf der Pflanzfläche wachsen; und
- (b1) Wachsen der Pflanze der Erfindung in dieser Erde, wenn die Wasserzufuhr für das Wachstum einer Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze suboptimal ist oder sichtbare Symptome für Dürre bei einer Standard-, Ausgangs- oder Wildtyp-Pflanze, die auf der Fläche wächst, festgestellt werden können; oder
- (b2) Wachsen der Pflanze der Erfindung in der Erde und Vergleichen des Ertrags mit dem Ertrag einer Standard-, einer Ursprungs- oder einer Wildtyp-Pflanze und Selektieren und Wachsen der Pflanze, die den höchsten Ertrag zeigt, wenn die Wasserzufuhr für die Ausgangs- oder Wildtyp-Pflanze optimal ist.

[0082] Zu den sichtbaren Schädigungssymptomen gehören ein oder eine beliebige Kombination aus zwei, drei oder mehreren der folgenden Merkmale:

- a) Welken
- b) Braunfärbung der Blätter
- c) Turgorverlust, der zum Abfallen von Blättern oder Nadeln, Stängeln und Blüten führt,
- d) Abfallen und/oder Abwerfen von Blättern oder Nadeln,
- e) die Blätter sind grün, aber das Blatt ist verglichen mit Kontrollen leicht in Richtung Boden geneigt,
- f) die Blattspreiten haben begonnen, sich nach Innen zu falten (einzurollen),
- g) vorzeitige Seneszenz von Blättern oder Nadeln,
- h) Chlorophyllverlust in Blättern oder Nadeln und/oder Gelbwerden.

[0083] In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das ertragsbezogene Merkmal der Pflanze der Erfindung eine erhöhte Toleranz der Pflanze gegenüber Hitzebedingungen.

[0084] In einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das ertragsbezogene Merkmal der Pflanze der Erfindung eine erhöhte Niedertemperaturtoleranz der Pflanzen, das z. B. Gefriertoleranz und/oder Abkühlungstoleranz umfasst.

[0085] Niedrige Temperaturen wirken sich auf eine Vielzahl biologischer Prozesse aus. Sie verzögern oder inhibieren fast alle metabolischen und zellulären Vorgänge. Die Reaktion von Pflanzen auf niedrige Temperaturen ist eine wichtige Determinante ihrer ökologischen Amplitude. Das Problem, der Anpassung an niedrige Temperaturen wird durch die Notwendigkeit verschärft, die Vegetationsperiode über den in hohen geographischen Breiten oder Höhen vorkommenden kurzen Sommer hinaus zu verlängern.

[0086] Die meisten Pflanzen haben Anpassungsstrategien entwickelt, um sich vor niedrigen Temperaturen zu schützen. Im Allgemeinen kann die Anpassung an niedrige Temperaturen in Abkühlungstoleranz und Gefriertoleranz eingeteilt werden.

[0087] Abkühlungstoleranz ist bei Arten aus gemäßigten oder borealen Zonen natürlich vorhanden und ermöglicht das Überleben und ein gesteigertes Wachstum bei niedrigen, aber nicht gefrierenden Temperaturen. Arten aus tropischen oder subtropischen Zonen sind kälteempfindlich und zeigen bei Temperaturen um 10°C während einer oder mehreren Entwicklungsstadien häufig Welken, Chlorose oder Nekrose, verlangsamtes Wachstum und sogar Tod. Entsprechend bezieht sich verbesserte oder gesteigerte „Kältetoleranz“ oder Variationen davon hierin auf eine verbesserte Anpassung an niedrige, aber nicht gefrierende Temperatur um 10°C, bevorzugt Temperaturen zwischen 1 bis 18°C, stärker bevorzugt 4 bis 14°C, und am stärksten bevorzugt 8 bis 12°C; nachfolgend „Abkühlungstemperatur“ genannt.

[0088] Gefriertoleranz ermöglicht das Überleben bei Temperaturen nahe Null bis insbesondere unter Null. Man geht davon aus, dass es durch einen Kälteakklimatisierung genannten Prozess gefördert wird, der bei niedrigen, aber nicht gefrierenden Temperaturen stattfindet und eine erhöhte Gefriertoleranz bei Temperaturen unter Null bereitstellt. Außerdem haben die meisten Arten aus gemäßigten Zonen Lebenszyklen, die an die jahreszeitlichen Temperaturveränderungen angepasst sind. Für diese Pflanzen können niedrige Temperaturen durch den Stratifizierungs- und Vernalisationsvorgang auch eine wichtige Rolle bei der Pflanzenentwicklung spielen. Es wird offensichtlich, dass eine klare Unterscheidung zwischen oder eine klare Definition von Kältetoleranz und Gefriertoleranz schwierig ist, und dass die Vorgänge überlappend oder miteinander verbunden sein können.

[0089] Verbesserte oder gesteigerte „Gefriertoleranz“ oder Variationen davon, beziehen sich hierin auf eine verbesserte Anpassung an Temperaturen nahe oder unter Null, und zwar bevorzugt Temperaturen unter 4°C, stärker bevorzugt unter 3 oder 2°C und besonders bevorzugt 0°C (Null) oder darunter oder unter –4°C, oder sogar extrem niedrige Temperaturen von bis zu –10°C oder darunter; nachfolgend „Gefriertertemperatur“ genannt.

[0090] „Verbesserte Anpassung“ an Umweltstress, wie z. B. Gefrier- und/oder Abkühlungstemperaturen bezieht sich hierin auf eine verbesserte Pflanzenleistung, die zu einem erhöhten Ertrag führt, insbesondere im Hinblick auf einen oder mehrere der ertragsbezogenen Merkmale, die oben ausführlicher definiert wurden.

[0091] Entsprechend kann die Pflanze der Erfindung in einer Ausführungsform ein frühes Setzlingswachstum nach der Exposition an niedrige Temperaturen im Vergleich mit einer kälteempfindlichen Wildtyp-Pflanze oder Ursprungspflanze zeigen, wodurch in einer weiteren Ausführungsform die Samenkeimungsraten verbessert werden. Der Vorgang der Samenkeimung hängt stark von der Umgebungstemperatur ab und die Eigenschaften der Samen bestimmen das Aktivitäts- und Leistungsniveau während Keimung und Auflaufen, wenn sie einer niedrigen Temperatur ausgesetzt werden. Das Verfahren der Erfindung stellt ferner in einer Ausführungsform eine Pflanze bereit, die unter Abkühlbedingungen eine verringerte Verzögerung der Blattentwicklung zeigt.

[0092] In einer Ausführungsform bezieht sich das Verfahren der Erfindung auf eine Herstellung einer toleranten Hauptnutzpflanze, z. B. Maiskorn (Mais), Bohne, Reis, Sojabohne, Baumwolle, Tomate, Banane, Gurke oder Kartoffel, da die meisten Hauptnutzpflanzen kälteempfindlich sind.

[0093] In der vorliegenden Erfindung kann eine gesteigerte Toleranz gegenüber niedrigen Temperaturen zum Beispiel und bevorzugt gemäß dem folgenden Verfahren bestimmt werden:

Transformierte Pflanzen werden in Töpfen in einer Wachstumskammer (z. B. York, Mannheim, Deutschland) gewachsen. Wenn es sich bei den Pflanzen um *Arabidopsis thaliana* handelt, werden deren Samen in Töpfe gesät, die ein 3,5:1(v/v)-Gemisch aus nährstoffangereicherter Erde (GS90, Tantau, Wansdorf, Deutschland) und Sand enthalten. Die Pflanzen werden unter Standardwachstumsbedingungen gewachsen. Wenn es sich bei den Pflanzen um *Arabidopsis thaliana* handelt, sind die Standardwachstumsbedingungen wie folgt: Die Stratifizierung erfolgt für einen Zeitraum von 3 Tagen im Dunkeln bei 4°C bis 5°C; Keimung der Samen und Wachstum bei einer Photoperiode von 16 Std. Licht, optional Fluoreszenzlicht bei 150 bis 200 µmol/m²s, und 8 Std. Dunkelheit, 20°C, 60% relative Feuchtigkeit und eine Photonenflussdichte von 200 µmol/m²s. Die BASTA-Selektion kann an Tag 9 nach dem Säen durch Besprühen der Töpfe mit Jungpflanzen von oben vorgenommen werden. Hierfür wird eine 0,07%(v/v)-Lösung aus BASTA-Konzentrat (183 g/l Glufosinatummonium) in Leitungswasser versprüht. Die Wildtyp-Kontrollpflanzen werden nur mit Leitungswasser besprüht (anstelle des Besprühens mit in Leitungswasser gelöstem BASTA), werden ansonsten jedoch gleich behandelt. Die Pflanzen werden gewachsen und kultiviert. Wenn es sich bei den Pflanzen um *Arabidopsis thaliana* handelt, werden sie jeden zweiten Tag gegossen. Nach 9 bis 10 Tagen oder nach 12 bis 13 Tagen werden die Pflanzen vereinzelt. Kälte (z. B. Abkühlen auf 11 bis 12°C) wird für 14 Tage oder 14 bis 16 Tage nach dem Säen bis zum Ende des Versuchs angewendet. Nach einer Wachstumsperiode von insgesamt 29 bis 31 oder 35 bis 37 Tagen werden die Pflanzen geerntet und über das Frischgewicht der oberirdischen Teile der Pflanzen, wenn es sich um *Arabidopsis* handelt, bevorzugt der Rosetten, bewertet.

[0094] Entsprechend bezieht sich die vorliegende Erfindung in einer Ausführungsform auf ein Verfahren zum Erhöhen des Ertrags, das die folgenden Schritte umfasst:

- (a) Bestimmen, ob die Temperatur in der Pflanzfläche für das Wachstum einer Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze, z. B. einer Nutzpflanze, optimal oder suboptimal ist, und
- (b1) Wachsen der Pflanze der Erfindung in der Erde, wenn die Temperatur für das Wachstum einer Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze in der Fläche suboptimal ist, oder
- (b2) Wachsen der Pflanze der Erfindung in der Erde und Vergleichen des Ertrags mit dem Ertrag einer Standard-, einer Ursprungs- oder einer Wildtyp-Pflanze und Selektieren und Wachsen der Pflanze, die den höchsten Ertrag zeigt, wenn die Temperatur für die Ausgangs- oder Wildtyp-Pflanze optimal ist.

[0095] In einer Ausführungsform der Erfindung beinhaltet der Begriff „abiotischer Stress“ sogar die Abwesenheit von substantiellem abiotischem Stress. In der vorliegenden Erfindung kann die Biomasseerhöhung zum Beispiel und bevorzugt gemäß dem folgenden Verfahren bestimmt werden:

Transformierte Pflanzen werden in Töpfen in einer Wachstumskammer (z. B. York, Mannheim, Deutschland) gewachsen. Wenn es sich bei den Pflanzen um *Arabidopsis thaliana* handelt, werden deren Samen in Töpfe gesät, die ein 3,5:1(v/v)-Gemisch aus nährstoffangereicherter Erde (GS90, Tantau, Wansdorf, Deutschland) und optional Quarzsand enthalten. Die Pflanzen werden unter Standardwachstumsbedingungen gewachsen.

[0096] Die Töpfe werden mit dem Erdgemisch gefüllt und in Schalen angeordnet. Den Schalen wird Wasser zugegeben, damit das Erdgemisch eine angemessene Menge an Wasser für die Aussaatprozedur aufnehmen kann. Wenn es sich bei den Pflanzen um *Arabidopsis thaliana* handelt, werden die Samen für transgene *A. thaliana*-Pflanzen und deren nicht transgenen Wildtyp-Kontrollen in Töpfen (6 cm Durchmesser) gesät. Dann wurden die gefüllten Schalen mit einem transparenten Deckel bedeckt und in eine vorgekühlte (4°C bis 5°C) und abgedunkelte Wachstumskammer überführt. Die Stratifizierung erfolgt für einen Zeitraum von 3 bis 4 Tagen im Dunkeln bei 4°C bis 5°C. Die Keimung der Samen und das Wachstum werden bei einer Wachstumsbedingung von 20°C, 60% relativer Feuchtigkeit, 16 Std. Photoperiode und Beleuchtung mit Fluoreszenzlicht bei ungefähr 170 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ initiiert. Die Deckel werden 7 bis 8 Tage nach dem Säen entfernt. Die BASTA-Selektion wird an Tag 10 oder Tag 11 (9 oder 10 Tage nach dem Säen) durch Besprühen der Töpfe mit Jungpflanzen von oben vorgenommen. In dem Standardversuch wird eine 0,07%(v/v)-Lösung aus BASTA-Konzentrat (183 g/l Glufosinatammonium) in Leitungswasser einmal oder alternativ eine 0,02%(v/v)-BASTA-Lösung drei Mal versprüht. Die Wildtyp-Kontrollpflanzen werden nur mit Leitungswasser besprüht (anstelle des Besprühens mit in Leitungswasser gelöstem BASTA), werden ansonsten jedoch gleich behandelt. Die Pflanzen wurden 13 bis 14 Tage nach dem Säen vereinzelt, indem der Setzlingsüberschuss entfernt wurde und nur ein Setzling in der Erde gelassen wurde. Transgene Ereignisse und Wildtyp-Kontrollpflanzen werden gleichmäßig in der Kammer verteilt. Das Bewässern wird nach dem Entfernen der Deckel in einem Standardversuch jeden zweiten Tag oder alternativ jeden Tag durchgeführt. Zum Messen der Biomasseleistung wurde das Pflanzenfrischgewicht zum Zeitpunkt der Ernte (24 bis 29 Tage nach dem Säen) durch Abschneiden von Sprossen und Wiegen derselben bestimmt. Die Pflanzen befinden sich bei der Ernte im Stadium vor der Blütenbildung und vor dem Wachstum des Blütenstands. Die transgenen Pflanzen werden mit den nicht transgenen Wildtyp-Kontrollpflanzen verglichen, die am gleichen Tag geerntet werden. Signifikanzwerte für die statistische Signifikanz der Biomasseveränderungen können durch Anwendung des t-Tests nach Student (Parameter: zweiseitige, verschiedene Varianz) berechnet werden. Die Biomasseproduktion kann durch Wiegen der Pflanzenrosetten gemessen werden. Die Erhöhung der Biomasse kann als Verhältnis des Durchschnittsgewichts für transgene Pflanzen im Vergleich mit dem Durchschnittsgewicht von Wildtyp-Kontrollpflanzen für den gleichen Versuch berechnet werden.

[0097] In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung kann das ertragsbezogene Merkmal auch erhöhte Salzgehaltstoleranz (Salztoleranz), Toleranz gegenüber osmotischem Stress, erhöhte Schattentoleranz, erhöhte Toleranz gegenüber einer hohen Pflanzendichte, erhöhte Toleranz gegenüber mechanischen Stressformen und/oder erhöhte Toleranz gegenüber oxidativem Stress sein.

[0098] Entsprechend wird in einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung der Ertrag erhöht, indem ein oder mehrere der ertragsbezogenen Merkmale verbessert werden, wie hierin definiert.

[0099] Daher stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze bereit, die eine erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz zeigt, verglichen mit einer entsprechenden Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze, indem ein oder mehrere Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphat-synthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polylacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein („Aktivitäten“) erhöht oder erzeugt werden.

[0100] In anderen Ausführungsformen stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung einer Pflanze bereit, die eine erhöhte Stressresistenz, insbesondere abiotische Stressresistenz zeigt, verglichen mit einer entsprechenden Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze, indem eine oder mehrere der Aktivität erhöht oder erzeugt werden.

[0101] In einer anderen Ausführungsform wird die abiotische Stressresistenz, die gemäß den Verfahren der vorliegenden Erfindung erzielt und von der transgenen Pflanze der Erfindung gezeigt wird; erhöhte Niedertemperaturtoleranz, insbesondere erhöhte Toleranz gegenüber Abkühlung.

[0102] Daher wird in einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze; von Nachkommen, Samen und/oder Pollen, die von einer solchen Pflanze abgeleitet sind, bereitgestellt; die jeweils eine erhöhte Stickstoffaufnahme und eine erhöhte Niedertemperaturtoleranz, insbesondere Abkühlungstoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle oder -Pflanze, zeigen, indem eine oder mehrere der Aktivitäten erhöht oder erzeugt werden.

[0103] Außerdem stellt die vorliegende Erfindung in einer Ausführungsform eine transgene Pflanze bereit, die ein oder mehrere erhöhte ertragsbezogene Merkmale, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanzenzelle oder -Pflanze, zeigt, indem eine oder mehrere Aktivitäten ausgewählt aus der oben genannten Gruppe von Aktivitäten erhöht oder erzeugt werden.

[0104] Ferner bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zum Herstellen einer Pflanze mit erhöhtem Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden Wildtyp-Pflanze, das mindestens einen der Schritte umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- (i) Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder mindestens ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II bzw. Tabelle IV dargestellt;
- (ii) Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Expressionsprodukts eines Nucleinsäuremoleküls, das ein Polynucleotid umfasst, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I dargestellt, und
- (iii) Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines funktionellen Äquivalents von (i) oder (ii).

[0105] In einer Ausführungsform wird die Erhöhung oder Erzeugung der einen oder mehreren Aktivitäten durch eine oder mehrere Nucleinsäuresequenzen verliehen, die ein Polynucleotid umfassen, das aus der in Tabelle I, Spalte 5 oder 7, gezeigten Gruppe ausgewählt ist. Entsprechend wird die Erhöhung oder Erzeugung der einen oder mehreren Aktivitäten zum Beispiel durch ein oder mehrere Expressionsprodukte des Nucleinsäuremoleküls, z. B. Proteinen, verliehen. Entsprechend wird in der oben beschriebenen vorliegenden Erfindung die Erhöhung oder Erzeugung der einen oder mehreren Aktivitäten zum Beispiel durch ein oder mehrere Protein(e) verliehen, die jeweils ein Polypeptid umfassen, das aus der Gruppe ausgewählt ist, wie in Tabelle II, Spalte 5 und 7, dargestellt.

[0106] Daher stellt die vorliegende Erfindung in einer Ausführungsform ein Verfahren zum Herstellen einer transgenen Pflanze bereit, die einen erhöhten Ertrag zeigt, verglichen mit einer entsprechenden Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze, indem ein oder mehrere Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphat-synthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polylacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein erhöht oder erzeugt werden, die durch eine oder mehrere Nucleinsäuresequenzen verliehen werden, die ein Polynucleotid umfassen, das aus der in Tabelle I, Spalte 5 oder 7 gezeigten Gruppe ausgewählt ist, oder durch ein oder mehrere Proteine, die jeweils ein Polypeptid umfassen, das von einer oder mehreren Nucleinsäuresequenzen kodiert wird, ausgewählt aus der Gruppe wie in Tabelle I, Spalte 5 oder 7 gezeigt, oder durch ein oder mehrere Protein(e), die jeweils ein Polypeptid umfassen, ausgewählt aus der Gruppe, wie in Tabelle II, Spalte 5 und 7, dargestellt. Wie erwähnt kann der erhöhte Ertrag durch ein oder mehrere ertragsbezogene Merkmale vermittelt werden. Daher bezieht sich das Verfahren der Erfindung auf die Herstellung einer Pflanze, die ein oder mehrere ertragsbezogene Merkmale zeigt.

[0107] Daher stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zum Herstellen einer Pflanze bereit, die eine erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, z. B. Stickstoffaufnahme, erhöhte Stressresistenz, insbesondere abiotische Stressresistenz, erhöhte Wassernutzungseffizienz und/oder eine erhöhte Stressresistenz, insbesondere abiotische Stressresistenz, insbesondere Niedertemperaturtoleranz oder Dürretoleranz oder einen erhöhten intrinsischen Ertrag zeigt.

[0108] Ferner bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zum Herstellen einer Pflanze mit erhöhter Ausbeute, verglichen mit einer entsprechenden Ursprungs- oder transgenen Wildtyp-Pflanze, das Folgendes umfasst:

- (a) Erhöhen oder Erzeugen in einem Pflanzenzellkern, einer Pflanzenzelle einer Pflanze oder einem Teil davon einer oder mehreren Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigtkettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polylacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein; und
- (b) Kultivieren oder Wachsen der Pflanzenzelle, der Pflanze oder des Teils davon unter Bedingungen, die die Entwicklung der Pflanzenzelle, der Pflanze oder des Teils davon ermöglichen; und
- (c) Gewinnen einer Pflanze, die einen erhöhten Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Ursprungs- oder Wildtyp-Pflanze, zeigt;
- (d) und optional, Selektieren der Pflanze oder eines Teils davon, die erhöhten Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer transgenen Pflanze oder eines Teils davon, die/der sichtbare Symptome von Schädigung und/oder Tod, zeigt.

[0109] Es war ferner eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Pflanzenzelle und/oder eine Pflanze mit gesteigerter Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder unter Bedingungen von abiotischem Umweltstress einen erhöhten Ertrag zeigend, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp- oder Ausgangspflanzenzelle und/oder Pflanze, bereitzustellen.

[0110] Es wurde gefunden, dass diese Aufgabe erzielt wird, indem eine Zelle, Pflanzenzelle und/oder Pflanze gemäß der hierin beschriebenen vorliegenden Erfindung bereitgestellt wird.

[0111] In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden diese Merkmale durch ein Verfahren für eine gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress in einer Zelle, bevorzugt aus einem photosynthetisch aktiven Organismus, bevorzugt einer Pflanze, verglichen mit einem entsprechenden (nicht transformierten) photosynthetisch aktiven Wildtyp- oder Ausgangsorganismus, erzielt.

[0112] In einer weiteren Ausführungsform bedeutet „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen ausgesetzt wird, wie oben erwähnt, wie z. B. Niedertemperaturbedingungen einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen oder Dürre, einen gesteigerten Ertrag, z. B. einen Ertrag wie oben erwähnt, z. B. einen Samenertrag oder Biomasseertrag, verglichen mit einem entsprechenden (nicht transformierten) photosynthetisch aktiven Wildtyp- oder Ausgangsorganismus, aufweist.

[0113] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Trockenbiomasseertrag, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0114] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten oberirdischen Trockenbiomasseertrag, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0115] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten unterirdischen Trocken-

biomasseertrag, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0116] In einer anderen Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Frischgewichtbiomasseertrag, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0117] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten oberirdischen Frischgewichtbiomasseertrag, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0118] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten unterirdischen Frischgewichtbiomasseertrag, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0119] In einer anderen Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag an erntefähigen Teilen einer Pflanze, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0120] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag an trockenen erntefähigen Teilen einer Pflanze, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0121] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag an trockenen oberirdischen erntefähigen Teilen einer Pflanze, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0122] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag an trockenen unterirdischen erntefähigen Teilen einer Pflanze, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0123] In einer anderen Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag an erntefähigen Frischgewichtsteilen einer Pflanze, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0124] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag an oberirdischen erntefähigen Frischgewichtsteilen einer Pflanze, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0125] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag an unterirdischen erntefähigen Frischgewichtsteilen einer Pflanze, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0126] In einer weiteren Ausführungsform bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag der Nutzpflanzenfrucht, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0127] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag der frischen Nutzpflanzenfrucht, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0128] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag der trockenen Nutzpflanzenfrucht, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0129] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, ein gesteigertes Trockenkorngewicht, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0130] In einer weiteren Ausführungsform bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Samenertrag, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0131] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag an Samenfrischgewicht, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0132] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress“ in einem photosynthetisch aktiven Organismus, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, wenn er abiotischen Umweltstressbedingungen wie Niedertemperaturbedingungen, einschließlich Abkühlungs- und Gefriertemperaturen ausgesetzt ist, einen gesteigerten Ertrag an Trockensa-

men, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyporganismus, aufweist.

[0133] In einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden diese Merkmale durch ein Verfahren für einen gesteigerten Ertrag unter Umweltstressbedingungen, insbesondere abiotischem Umweltstress, in einem photosynthetisch aktiven Organismus, bevorzugt einer Pflanze, verglichen mit einem entsprechenden (nicht transformierten) beginnenden photosynthetisch aktiven Organismus, erzielt.

[0134] In einer Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „erhöhter Ertrag“, dass der photosynthetisch aktive Organismus, speziell eine Pflanze, einen erhöhten Ertrag aufweist, z. B. eine erhöhte Wachstumsrate, unter abiotischen Umweltstressbedingungen, verglichen mit dem entsprechenden photosynthetisch aktiven Wildtyp-Organismus, aufweist.

[0135] Eine erhöhte Wachstumsrate kann sich unter anderem durch eine erhöhte Biomasseproduktion der ganzen Pflanze oder eine erhöhte Biomasseproduktion der oberirdischen Teile einer Pflanze, oder durch eine erhöhte Biomasseproduktion der unterirdischen Teile oder durch eine erhöhte Biomasseproduktion von Teilen einer Pflanze, wie Stängeln, Blätter, Blüten, Früchten und/oder Samen, widerspiegeln oder verleiht diese.

[0136] In einer Ausführungsform davon beinhaltet ein erhöhter Ertrag höhere Fruchterträge, höhere Samen-erträge, höhere Frischsubstanzproduktion und/oder höhere Trockensubstanzproduktion.

[0137] In einer anderen Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „erhöhter Ertrag“, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, einen verlängertes Wachstum unter abiotischen Umweltstressbedingungen, verglichen mit dem entsprechenden nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyp-Organismus, aufweist. Ein verlängertes Wachstum umfasst das Überleben und/oder fortgesetzte Wachstum des photosynthetisch aktiven Organismus, bevorzugt einer Pflanze, in dem Moment, wenn der nicht transformierte photosynthetisch aktive Wildtyp-Organismus sichtbare Symptome von Schädigung und/oder Tod zeigt.

[0138] In einer anderen Ausführungsform davon bedeutet der Begriff „erhöhter Ertrag“, dass der photosynthetisch aktive Organismus, bevorzugt eine Pflanze, einen erhöhten Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit dem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, aufweist.

[0139] In einer anderen bevorzugten Ausführungsform zeigt ein photosynthetisch aktiver Organismus, speziell eine Pflanze, einen erhöhten Ertrag unter abiotischen Umweltstressbedingungen, z. B. zeigt eine Pflanze eine gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress oder einem anderen ertragsbezogenem Merkmal.

[0140] In einer anderen Ausführungsform erfüllt diese Erfindung den Bedarf, neue, einzigartige Gene zu identifizieren, die in der Lage sind, bei Expression oder Überexpression von endogenen und/oder exogenen Genen einem photosynthetisch aktiven Organismus, bevorzugt Pflanzen, einen erhöhten Ertrag zu verleihen, z. B. eine gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress oder einem anderen ertragsbezogenen Merkmal.

[0141] In einer anderen Ausführungsform davon erfüllt diese Erfindung den Bedarf, neue, einzigartige Gene zu identifizieren, die in der Lage sind, bei Expression oder Überexpression von endogenen Genen einem photosynthetisch aktiven Organismus, bevorzugt Pflanzen, einen erhöhten Ertrag zu verleihen, z. B. eine gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress oder einem anderen ertragsbezogenen Merkmal.

[0142] In einer anderen Ausführungsform davon erfüllt diese Erfindung den Bedarf, neue, einzigartige Gene zu identifizieren, die in der Lage sind, bei Expression oder Überexpression von exogenen Genen einem photosynthetisch aktiven Organismus, bevorzugt Pflanzen, einen erhöhten Ertrag zu verleihen, z. B. eine gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress oder einem anderen ertragsbezogenen Merkmal.

[0143] In einer anderen Ausführungsform erfüllt diese Erfindung den Bedarf, neue, einzigartige Gene zu identifizieren, die in der Lage sind, bei Expression oder Überexpression von endogenen und/oder exogenen Genen einem photosynthetisch aktiven Organismus, bevorzugt Pflanzen, eine gesteigerte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress in Kombination mit einer Erhöhung des Ertrags zu verleihen.

[0144] Entsprechend bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zum Herstellen zum Beispiel eines transgenen photosynthetisch aktiven Organismus oder eines Teils davon, oder einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder eines Teils davon, z. B. für die Erzeugung einer solchen Pflanze mit erhöhtem Ertrag, z. B. mit

einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, zum Beispiel einer erhöhten Nährstoffverwertungseffizienz, einer erhöhten intrinsischen Ertragskapazität und/oder einer erhöhten Stresstoleranz, bevorzugt Wasserstressresistenz, speziell unter Bedingungen von vorübergehendem und sich wiederholendem abiotischem Stress, bevorzugt zyklischer Dürre und/oder Niedertemperaturtoleranz und/oder einem anderen erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, verglichen mit einem entsprechenden, zum Beispiel nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyp-Organismus oder einem Teil davon, oder einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon, das Folgendes umfasst:

(a) Erhöhen oder Erzeugen von einer oder mehreren Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein in einem photosynthetisch aktiven Organismus oder einem Teil davon, z. B. einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon, und

(b) Wachsen des photosynthetisch aktiven Organismus oder eines Teils davon, z. B. einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder eines Teils davon, unter Bedingungen, die die Entwicklung eines photosynthetisch aktiven Organismus oder eines Teils davon ermöglichen, bevorzugt einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder eines Teils davon, mit erhöhtem Ertrag, z. B. mit einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, zum Beispiel gesteigerter Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress, erhöhter Nährstoffverwertungseffizienz, erhöhter Dürretoleranz und/oder einem anderen erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, verglichen mit einem entsprechenden, z. B. nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyp-Organismus oder einem Teil davon, bevorzugt einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon.

[0145] In einer Ausführungsform bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zum Herstellen eines, z. B. transgenen photosynthetisch aktiven Organismus oder eines Teils davon, bevorzugt einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder eines Teils davon mit erhöhtem Ertrag, z. B. mit einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, zum Beispiel gesteigerter Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress, erhöhter Nährstoffverwertungseffizienz, erhöhter Dürretoleranz und/oder einem anderen erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, verglichen mit einem entsprechenden, z. B. nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyp-Organismus oder einem Teil davon, bevorzugt einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon, das Folgendes umfasst:

(a) Erhöhen oder Erzeugen einer oder mehrerer Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein in einem photosynthetisch aktiven Organismus oder einem Teil davon, bevorzugt einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon, (b) Wachsen des photosynthetisch aktiven Organismus oder eines Teils davon, bevorzugt einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder eines Teils davon, zusammen mit z. B. einem nicht transformierten photosynthetisch aktiven Wildtyp-Organismus oder einem Teil davon, bevorzugt einer Pflanze, unter abiotischen Umweltstressbedingungen,

(c) Selektieren des photosynthetisch aktiven Organismus oder eines Teils davon, bevorzugt einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder eines Teils davon, mit erhöhtem Ertrag, z. B. mit einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, zum Beispiel gesteigerter Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress, erhöhter Nährstoffverwertungseffizienz, erhöhter Dürretoleranz und/oder einem anderen erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, verglichen mit einem entsprechenden, z. B. nicht transformiertem photosynthetisch aktivem Wildtyp-Organismus oder einem Teil davon, bevorzugt einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon.

nismus oder einem Teil davon, bevorzugt einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon, nachdem z. B. der nicht transformierte photosynthetisch aktive Wildtyp-Organismus oder ein Teil davon, bevorzugt eine Pflanzenzelle, eine Pflanze oder ein Teil davon, sichtbare Symptome von Schädigung und/oder Tod zeigt.

[0146] Klima- und Kulturbedingungen für Pflanzen können in Makro-Umwelten eingeteilt werden, entsprechend der Einteilung, die von der CIMMYT verwendet wird, um ihre Zuchtprogramme für Weizen und Mais zu steuern. Eine Makro-Umwelt ist ein breites, nicht unbedingt zusammenhängendes, geographisches Gebiet mit ähnlichen biotischen und abiotischen Stressformen und Anbausystemanforderungen. Tatsächlich wird eine Makro-Umwelt durch Nutzpflanzenproduktionsfaktoren (Temperatur, Regenmenge, Sonnenlicht, geographische Breite, Erhebung, Bodencharakteristika, und Krankheiten), Verbraucherpräferenzen (die Farbe des Korns und wie es verwendet wird), und der Weizenanbaugewohnheit definiert.

[0147] Für das CIMMYT identifizierten Forscher sechs Makro-Umwelten für Sommerweizen und jeweils für fakultativen Weizen und Winterweizen. Solche Makro-Umwelten können für jede Pflanzenart, einschließlich Nutzpflanzen, erstellt werden. In einer Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung eine transgene Pflanzenzelle, eine Pflanze oder einen Teil davon mit erhöhtem Ertrag unter suboptimalen Wachstumsbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon, bereit. Solche suboptimalen Wachstumsbedingungen können zum Beispiel Makro-Umwelten mit geringer Regenmenge, wie zum Beispiel die Weizen-Makro-Umwelten ME1, ME4, ME4A, ME4B, ME4C, ME5, ME5B, ME6, ME6B, ME9, ME12 oder die jeweilige Makro-Umgebung für die spezifische Pflanzenart sein.

[0148] Solche Makro-Umwelten können für jede suboptimale Wachstumsbedingung, Temperatur oder Nährstoffverfügbarkeit erstellt werden.

[0149] Um den Ertrag von Pflanzen der gleichen Art in Korrelation mit Umweltbedingungen zu vergleichen, ist der Parameter des Ertragspotentials signifikant. Das Ertragspotential wird als Ertrag einer Pflanze definiert, wenn sie in Umwelten wächst, an die sie angepasst sind, mit nicht beschränkenden Nährstoffen und Wasser und wenn Schädlingsbefall, Krankheiten, Unkraut, Umlegen und andere Stressformen effektiv kontrolliert werden. In dieser Ausführungsform bezieht sich „Ertrag“ auf die Masse an Produkt bei der letzten Ernte. Unter Freilandbedingungen wird das Ertragspotential nicht erzielt. Dennoch ist es ein Parameter, der die optimalen Anbaubedingungen in einer Mega-Umwelt definiert, weil das Ertragspotential nur unter optimalen Bedingungen erzielt werden wird.

[0150] In einer Ausführungsform ist eine suboptimale Wachstumsbedingung jede Bedingungen, die nicht der jeweiligen Bedingung entspricht, in der das Ertragspotential erzielt werden kann.

[0151] In einer Ausführungsform sind optimale Wachstumsbedingungen, einschließlich Nährstoffverfügbarkeit, Bedingungen, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: klimatische Bedingungen und Umweltbedingungen, einschließlich Nährstoffverfügbarkeit, wie sie in den letzten 50, 25, 20, 15, 10 oder 5 Jahren über einen Zeitraum von 3, 6, 12 Monaten oder eine Anbauperiode in den Makro-Umwelten vorherrschten, die als Weizengürtelregion in Westaustralien, Maisgürtel in den U.S.A. (umfassend mindestens einen der Staaten von Iowa, Indiana, Illinois, Ohio, South Dakota, Nebraska, Kansas, Minnesota, Wisconsin, Michigan, Missouri und Kentucky) bekannt sind, klimatische Bedingungen und Umwelt-Bedingungen, wie sie in den letzten 50, 25, 20, 15, 10 oder 5 Jahren über einen Zeitraum von 3, 6, 12 Monaten oder eine Anbauperiode in den Makro-Umgebungen wie sie für Mais und Weizen vom CIMMYT erwähnt wurden, vorherrschten.

[0152] In einer Ausführungsform bezieht sich die Erfindung auf ein Verfahren zum Erhöhen des Ertrags je Morgen oder je Anbaufläche, das die folgenden Schritte umfasst:
Durchführen einer Analyse der Umweltbedingungen, um den Nährstoffspiegel (einschließlich Wasser), die in der Erde verfügbar sind, oder Regenmenge je Anbauzyklus, zu messen,
Vergleichen des Ergebnisses mit dem Wert der jeweiligen Bedingung mit dem Wert unter optimalen Wachstumsbedingungen,
Kultivieren einer Pflanzen der jeweiligen Klasse/Gattungen gemäß der Erfindung, falls mindestens eine gemessene Bedingung um 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% oder mehr von dem Wert unter optimaler Wachstumsbedingung abweicht.

[0153] In einer Ausführungsform bezieht sich die Erfindung auf ein Verfahren zum Erhöhen des Ertrags je Morgen in Makro-Umwelten, das die folgenden Schritte umfasst:

Durchführen einer Erdanalyse, um den Nährstoffspiegel zu messen, der in der Erde verfügbar ist, Vergleichen des Ergebnisses mit dem Wert, der zum Erzielen des Ertragspotentials einer Klasse/Gattung einer Pflanze erforderlich ist, Kultivieren einer Pflanze der jeweiligen Klasse/Gattungen gemäß der Erfindung falls mindestens ein Nährstoff begrenzt ist.

[0154] In einer Ausführungsform bezieht sich die Erfindung auf ein Verfahren zum Erhöhen des Ertrags je Morgen in Makro-Umwelten, das die folgenden Schritte umfasst: Messen des Niederschlags über einen Zeitraum von mindestens einer Pflanzengeneration, Vergleichen mit dem Wert zum Erzielen des Ertragspotentials einer Klasse/Gattungen einer Pflanze, Kultivieren einer Pflanze der jeweiligen Klasse/Gattungen gemäß der Erfindung falls der Niederschlag vermindert ist.

[0155] In einer Ausführungsform bezieht sich die Erfindung auf ein Verfahren zum Erhöhen des Ertrags je Morgen in Makro-Umwelten, das die folgenden Schritte umfasst: Messen des Zeitraums zwischen den Regenfällen über einen Zeitraum von mindestens einer Pflanzengeneration, Vergleichen mit dem Wert zum Erzielen des Ertragspotentials einer Klasse/Gattungen einer Pflanze, und Kultivieren einer Pflanze der jeweiligen Klasse/Gattungen gemäß der Erfindung falls die Trockenzeit vermindert ist.

[0156] Umfassen/umfassend und grammatikalische Variationen davon, wenn sie in dieser Beschreibung verwendet werden, sollen das Vorliegen der angegebenen Merkmale, ganzen Zahlen, Schritte oder Komponenten oder Gruppen davon bezeichnen, aber das Vorliegen oder die Hinzufügung von einem oder mehreren anderen Merkmalen, ganzen Zahlen, Schritten, Komponenten oder Gruppen davon nicht ausschließen.

[0157] Gemäß der Erfindung bezieht sich der Begriff „Pflanzenzelle“ oder der Begriff „Organismus“, wie er hier verstanden wird, immer auf eine Pflanzenzelle oder eine Organelle davon, bevorzugt ein Plastid, stärker bevorzugt ein Chloroplast. Wie hierin verwendet soll „Pflanze“ nicht nur eine ganze Pflanze enthalten sondern auch einen Teil davon, d. h., eine oder mehrere Zellen, und Gewebe, einschließlich zum Beispiel Blätter, Stängel, Sprossen, Wurzeln, Blumen, Früchte und Samen.

[0158] Überraschenderweise wurde gefunden, dass die transgene Expression eines Proteins, wie in Tabelle II, Spalte 3 gezeigt, in einer Pflanze, wie zum Beispiel Arabidopsis thaliana C24, einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöhten GABA-Gehalt transgen verlieh, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon.

[0159] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Saccharomyces-cerevisiae-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 42 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 43 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 42 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 43, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Factor-Arrestprotein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 654 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 655 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 654 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 655, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Transkriptionsregulator“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 706 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 707 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 706 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 707, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Proteinphosphatase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer

entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 751 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 752 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 751 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 752, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Pyruvatkinase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1156 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1157 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1156 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1157, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Thioredoxin-Family-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1510 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1511 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1510 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1511, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Harpin-Induced-Family-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1598 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1599 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1598 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1599, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Glycosyltransferase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1670 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1671 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1670 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1671, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Auxin-Responsefaktor“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1874 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1875 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1874 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1875, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „At4g32480-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1936 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1937 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1936 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 1937, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „calciumabhängige Proteinkinase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Arabidopsisthaliana-

Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 2492 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 2493 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 2492 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 2493, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „At5g16650-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Azotobacter vinelandii-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 2553 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 2554 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 2553 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 2554, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Elongationsfaktor Tu“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Azotobacter vinelandii-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 3408 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 3409 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 3408 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 3409, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „ABC-Permease-Transporterprotein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Azotobacter vinelandii-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 3564 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 3565 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 3564 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 3565, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Hydrolase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Azotobacter vinelandii-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 3728 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 3729 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 3728 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 3729, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Fumarylacetoacetathydrolase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4068 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4069 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4068 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4069, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Glucosedehydrogenase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4176 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4177 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4176 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4177, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Serinprotease“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4364 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4365 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäure-

moleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4364 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4365, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „ATP-Bindungsprotein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia-coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4717 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4718 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4717 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4718, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Isochorismatsynthase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia-coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4864 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4865 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4864 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4865, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Transporterprotein des MFS-Typs“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia-coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4903 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4904 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4903 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4904, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „b1003-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia-coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4909 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4910 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4909 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4910, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „b1522-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia-coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4954 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4955 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4954 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 4955, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „b2739-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia-coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 5121 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 5122 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 5121 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 5122, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „b3646-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia-coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 5319 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 5320 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 5319

oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 5320, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „B4029-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Escherichia-coli-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 5387 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 5388 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 5387 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 5388, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Acetyltransferase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Physcomitrellapatens-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 5458 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 5459 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 5458 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 5459, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Acylcarrierprotein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Synechocystis-sp-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 6041 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 6042 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 6041 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 6042, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Geranylgeranylpyrophosphatsynthase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Thermusthermophilus-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 6469 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 6470 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 6469 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 6470, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Sec-unabhängige Proteintranslocase-Untereinheit“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Thermusthermophilus-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 6739 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 6740 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 6739 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 6740, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Homocitratsynthase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen.

[0160] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Saccharomycescerevisiae-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7510 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7511 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7510 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7511, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Polygalacturonase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Saccharomycescerevisiae-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7633 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7634 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7633 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7634, erhöht

bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Thioredoxin“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Brassica-napus-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 53 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 54 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 53 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 54, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Pyruvatkinase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Saccharomycescerevisiae-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7137 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7138 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7137 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7138, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „mikrosomale beta-keto-Reduktase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Saccharomycescerevisiae-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7208 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7209 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7208 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7209, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Saccharomycescerevisiae-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7274 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7275 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7274 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7275, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen.

[0161] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Saccharomycescerevisiae-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7489 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7490 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7489 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 7490, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „YHR213W-Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Saccharomycescerevisiae-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 8239 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 8240 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 8239 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 8240, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „60S-ribosomales Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des Saccharomycescerevisiae-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 8397 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 8398 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 8397

oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 8398, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „autophagiebezogenes Protein“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des *Saccharomyces cerevisiae*-Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 8227 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 8228 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 8227 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 8228, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen. Entsprechend wird in einer Ausführungsform, wenn die Aktivität des *Saccharomyces cerevisiae*-Nukleinsäuremoleküls bzw. ein Polypeptid, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 8423 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 8424 umfasst, erhöht bzw. erzeugt wird, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 8423 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 8424, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon erhöht oder erzeugt wird, ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder eines Teils davon, verliehen.

[0162] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 2493 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 2492 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Arabidopsis thaliana* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 2492 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 2493 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „At5g16650-Protein“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 2492 oder SEQ ID NO.: 2493, in einer Pflanze bzw. einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,075-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Niedertemperaturbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze verliehen.

[0163] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 7138 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7137 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7137 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 7138 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „mikrosomale beta-keto-Reduktase“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 7137 bzw. SEQ ID NO.: 7138, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,068-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Niedertemperaturbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze verliehen.

[0164] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 7209 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7208 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7208 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 7209 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 7208 bzw. SEQ ID NO.: 7209, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,206-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Niedertemperaturbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze verliehen.

[0165] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 8240 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8239 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8239 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 8240 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „60S-ribosomales Protein“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 8239 bzw. SEQ ID NO.: 8240, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,230-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Niedertemperaturbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze verliehen.

[0166] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 8424 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8423 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8423 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 8424 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress, insbesondere erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 8423 bzw. SEQ ID NO.: 8424, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,206-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Niedertemperaturbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze verliehen.

[0167] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 7209 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7208 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7208 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 7209 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 7208 bzw. SEQ ID NO.: 7209, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,522-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Standardbedingungen, z. B. in Abwesenheit von Nährstoffmangel und/oder Stressbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0168] Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 7208 bzw. SEQ ID NO.: 7209, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung plastidisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,232-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Standardbedingungen, z. B. in Abwesenheit von Nährstoffmangel und/oder Stressbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0169] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 8240 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8239 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8239 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 8240 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „60S-ribosomales Protein“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 8239 bzw. SEQ ID NO.: 8240, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,546-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Standardbedingungen, z. B. in Abwesenheit von Nährstoffmangel und/oder Stressbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0170] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 8398 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8397 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel

wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8397 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 8398 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „autophagiebezogenes Protein“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 8397 bzw. SEQ ID NO.: 8398, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,399-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Standardbedingungen, z. B. in Abwesenheit von Nährstoffmangel und/oder Stressbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0171] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 8424 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8423 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8423 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 8424 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 8423 bzw. SEQ ID NO.: 8424, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,522-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Standardbedingungen, z. B. in Abwesenheit von Nährstoffmangel und/oder Stressbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht motivierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, insbesondere erhöhter intrinsischer Ertrag, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 8423 bzw. SEQ ID NO.: 8424, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung plastidisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,232-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, unter Standardbedingungen, z. B. in Abwesenheit von Nährstoffmangel und/oder Stressbedingungen, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0172] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Dürresistenz, bevorzugt zyklische Dürre, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 7209 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7208 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7208 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 7209 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, insbesondere erhöhte Dürresistenz, bevorzugt zyklische Dürre, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz

oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 7208 bzw. SEQ ID NO.: 7209, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung plastidisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,351-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0173] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Dürre-resistenz, bevorzugt zyklische Dürre, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 8424 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8423 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8423 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 8424 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder einem erhöhten ertragsbezogenen Merkmal, insbesondere erhöhte Dürre-resistenz, bevorzugt zyklische Dürre, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 8423 bzw. SEQ ID NO.: 8424, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung plastidisch statt. Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,351-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0174] Für die Zwecke der Erfindung soll in der Regel der Plural den Singular einschließen und umgekehrt.

[0175] Wenn nicht anders angegeben sind im vorliegenden Zusammenhang die Begriffe „Polynukleotide“, „Nukleinsäure“ und „Nukleinsäuremolekül“ austauschbar. Wenn nicht anders angegeben sind im vorliegenden Zusammenhang die Begriffe „Peptid“, „Polypeptid“ und „Protein“ austauschbar. Der Begriff „Sequenz“ kann sich auf Polynukleotide, Nukleinsäuren, Nukleinsäuremoleküle, Peptide, Polypeptide und Proteine beziehen, je nach dem Zusammenhang, in dem der Begriff „Sequenz“ verwendet wird. Die Begriffe „Gen(e)“, „Polynukleotid“, „Nukleinsäuresequenz“, „Nukleotidsequenz“ oder „Nukleinsäuremolekül(e)“, beziehen sich, so, wie sie hier verwendet werden, auf eine polymere Form von Nukleotiden beliebiger Länge, entweder Ribonukleotide oder Desoxyribonukleotide. Die Begriffe beziehen sich nur auf die Primärstruktur des Moleküls.

[0176] Daher enthalten die Begriffe „Gen(e)“, „Polynukleotid“, „Nukleinsäuresequenz“, „Nukleotidsequenz“ oder „Nukleinsäuremolekül(e)“, so, wie sie hier verwendet werden, doppel- und einzelsträngige DNA und/oder RNA. Sie enthalten auch bekannte Arten von Modifikationen, zum Beispiel Methylierung, „caps“, Substitutionen einer oder mehrerer der natürlich vorkommenden Nukleotide mit einem Analogon. Vorzugsweise umfasst die DNA- oder RNA-Sequenz eine kodierende Sequenz, die für ein hierin definiertes Polypeptid kodiert.

[0177] Eine „kodierende Sequenz“ ist eine Nukleotidsequenz, die in eine RNA transkribiert wird, z. B. eine regulatorische RNA, wie etwa eine miRNA, eine ta-siRNA, ein Kosuppressionsmolekül, eine RNAi, ein Ribozym usw. oder in eine mRNA, die zu einem Polypeptid translatiert wird, wenn sie unter die Kontrolle geeigneter Regulationssequenzen gestellt wird. Die Grenzen der kodierenden Sequenz werden durch einen Translations-Startkodon am 5'-Terminus und einen Translations-Stoppkodon am 3'-Terminus vorgegeben. Eine kodierende Sequenz kann enthalten, ist aber nicht beschränkt auf mRNA, cDNA, rekombinante Nukleotidsequenzen oder genomische DNA, wobei unter gewissen Umständen auch Introns vorhanden sein können.

[0178] So wie im vorliegenden Zusammenhang verwendet, kann ein Nukleinsäuremolekül auch die untranslatierte Sequenz einschließen, die am 3'- und am 5'-Ende der kodierenden Genregion, zum Beispiel mindestens 500, bevorzugt 200, besonders bevorzugt 100 Nukleotide der Sequenz stromaufwärts des 5'-Endes der kodierenden Region und mindestens 100, bevorzugt 50, besonders bevorzugt 20 Nukleotide der Sequenz stromabwärts des 3'-Endes der kodierenden Genregion, liegt. Falls zum Beispiel die Antisense-, RNAi-, snRNA-, dsRNA-, siRNA-, miRNA-, ta-siRNA-, Kosuppressionsmolekül-, Ribozymtechnologie usw. verwendet wird, können vorteilhafterweise kodierende Regionen sowie die 5'- und/oder 3'-Regionen verwendet werden.

[0179] Es ist jedoch häufig vorteilhaft, nur die kodierende Region für Klonierungs- und Expressionszwecke auszuwählen.

[0180] "Polypeptid" bezieht sich auf ein Polymer einer Aminosäure (Aminosäuresequenz) und bezieht sich nicht auf eine spezifische Länge des Moleküls. Daher sind Peptide und Oligopeptide in der Definition von Polypeptid enthalten. Dieser Begriff bezieht sich auch auf oder enthält post-translationale Modifikationen des Polypeptids, zum Beispiel Glycosylierungen, Acetylierungen, Phosphorylierungen und dergleichen. Unter die Definition fallen zum Beispiel Polypeptide, die ein oder mehrere Analoga einer Aminosäure enthalten (einschließlich zum Beispiel unnatürlicher Aminosäuren usw.), Polypeptide mit substituierten Bindungen sowie andere dem Fachmann bekannte, sowohl natürlich vorkommende als auch nicht natürlich vorkommende, Modifikationen.

[0181] Der in dieser Spezifikation verwendete Begriff "Tabelle I" soll so verstanden werden, dass er den Inhalt von Tabelle IA und Tabelle IB benennt. Der in dieser Spezifikation verwendete Begriff "Tabelle II" soll so verstanden werden, dass er den Inhalt von Tabelle IIA und Tabelle IIB benennt. Der in dieser Spezifikation verwendete Begriff "Tabelle IA" soll so verstanden werden, dass er den Inhalt von Tabelle IA benennt. Der in dieser Spezifikation verwendete Begriff "Tabelle IB" soll so verstanden werden, dass er den Inhalt von Tabelle IB benennt. Der in dieser Spezifikation verwendete Begriff "Tabelle IIA" soll so verstanden werden, dass er den Inhalt von Tabelle IIA benennt. Der in dieser Spezifikation verwendete Begriff "Tabelle IIB" soll so verstanden werden, dass er den Inhalt von Tabelle IIB benennt. In einer bevorzugten Ausführungsform bedeutet der Begriff "Tabelle I" Tabelle IB. In einer bevorzugten Ausführungsform bedeutet der Begriff "Tabelle II" Tabelle IIB.

[0182] Die Begriffe „umfassen“ oder „umfassend“ und grammatikalische Variationen davon, wenn sie in dieser Beschreibung verwendet werden, sollen das Vorliegen der angegebenen Merkmale, ganzen Zahlen, Schritte oder Komponenten oder Gruppen davon bezeichnen, aber das Vorliegen oder die Hinzufügung von einem oder mehreren anderen Merkmalen, ganzen Zahlen, Schritten, Komponenten oder Gruppen davon nicht ausschließen.

[0183] Gemäß der Erfindung weist ein Protein oder Polypeptid die „Aktivität“ eines Proteins, wie in Tabelle II, Spalte 3 gezeigt auf, wenn seine de-novo-Aktivität oder seine erhöhte Expression direkt oder indirekt zu einem erhöhten GABA-Gehalt führt und diese verleiht, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp und das Protein die oben erwähnten Aktivitäten eines Proteins, wie in Tabelle II, Spalte 3, gezeigt, aufweist. In der gesamten Spezifikation ist die Aktivität oder bevorzugt die biologische Aktivität eines solchen Proteins oder Polypeptids oder eines Nukleinsäuremoleküls oder einer Sequenz, die ein solches Protein oder Polypeptid kodieren, identisch oder ähnlich, wenn es noch die biologische oder enzymatische Aktivität eines Proteins aufweist, wie in Tabelle II, Spalte 3, gezeigt, oder die mindestens 10% der ursprünglichen enzymatischen Aktivität, bevorzugt 20%, besonders bevorzugt 30%, am stärksten bevorzugt 40% im Vergleich mit einem Protein, wie in Tabelle II, Spalte 3 oder 5, gezeigt, aufweist.

[0184] Die Begriffe „erhöht“, „zugenommen“, „erweitert“, „gesteigert“, „verbessert“ oder „amplifiziert“, beziehen sich auf eine entsprechende Veränderung einer Eigenschaft in einer Pflanze, einem Organismus, einem Teil eines Organismus, wie etwa einem Gewebe, einem Samen, einer Wurzel, einem Blatt, einer Blume usw. oder in einer Zelle und sind austauschbar. Bevorzugt ist die Gesamtaktivität in dem Volumen erhöht oder gesteigert, in Fällen, in denen die Erhöhung oder Steigerung auf die Erhöhung oder Steigerung einer Aktivität eines Genprodukts bezogen ist, unabhängig davon, ob die Menge an Genprodukt oder die spezifische Aktivität des Genprodukts oder beide erhöht oder gesteigert sind, oder ob die Menge, Stabilität oder Translationseffizienz der Nukleinsäuresequenz oder des Gens, die/das für das Genprodukt kodiert, erhöht oder gesteigert ist.

[0185] Der Begriff „Erhöhung“ bezieht sich auf eine entsprechende Veränderung einer Eigenschaft in einem Organismus oder in einem Teil einer Pflanze, einem Organismus, wie etwa einem Gewebe, einem Samen, einer Wurzel, einem Blatt, einer Blume usw. oder in einer Zelle. Bevorzugt ist die Gesamtaktivität in dem Volumen erhöht, in Fällen, in denen die Erhöhung auf die Erhöhung einer Aktivität eines Genprodukts bezogen ist, unabhängig davon, ob die Menge an Genprodukt oder die spezifische Aktivität des Genprodukts oder beide erhöht ist oder erzeugt wird, oder ob die Menge, Stabilität oder Translationseffizienz der Nukleinsäuresequenz oder des Gens, die/das für das Genprodukt kodiert, erhöht ist.

[0186] Unter „Veränderung einer Eigenschaft“ ist zu verstehen, dass die Aktivität, das Expressionslevel oder die Menge eines Genprodukts oder der Metabolitengehalt in einem spezifischen Volumen im Verhältnis zu einem entsprechenden Volumen einer Kontrolle, einer Referenz oder eines Wildtyps verändert ist, einschließlich der De-novo-Erzeugung der Aktivität oder Expression.

[0187] Der Begriff „Erhöhung“ enthält die Veränderung dieser Eigenschaft nur in Teilen des Gegenstands der vorliegenden Erfindung, so zum Beispiel kann sich die Modifikation in einem Kompartiment einer Zelle, wie einer Organelle, oder in einem Teil einer Pflanze, wie Gewebe, Samen, Wurzel, Blatt, Blume usw. befinden, ist aber nicht nachweisbar, wenn der gesamte Gegenstand, d. h. die gesamte Zelle oder Pflanze, getestet wird.

[0188] Entsprechend bedeutet der Begriff „Erhöhung“, dass die spezifische Aktivität eines Enzyms sowie die Menge einer Verbindung oder eines Metaboliten, z. B. eines Polypeptids, eines Nukleinsäuremoleküls der Erfindung oder einer kodierenden mRNA oder DNA, volumenmäßig erhöht sein kann.

[0189] Die Begriffe „Wildtyp“, „Kontrolle“ oder „Referenz“ sind austauschbar und können eine Zelle oder ein Teil eines Organismus, wie etwa ein Chloroplast oder ein Gewebe oder ein Organismus, insbesondere eine Pflanze, sein, die/der nicht gemäß dem hierin beschriebenen Verfahren gemäß der Erfindung motiviert oder behandelt wurde. Entsprechend entspricht die Zelle oder ein Teil von Organismen, wie etwa eine Organelle, wie ein Chloroplast oder ein Gewebe, oder ein Organismus, insbesondere eine Pflanze, der/die als Wildtyp, Kontrolle oder Referenz verwendet wird, der Zelle, dem Organismus, der Pflanze oder dem Teil davon soweit wie möglich und ist in jeder anderen Eigenschaft mit Ausnahme des Ergebnisses des Verfahrens der Erfindung mit dem Gegenstand der Erfindung so identisch wie möglich. Daher wird der Wildtyp, die Kontrolle oder die Referenz als identisch oder so identisch wie möglich angesehen, was bedeutet, dass nur Bedingungen oder Eigenschaften verschieden sein können, die die Qualität der untersuchten Eigenschaft nicht beeinflussen.

[0190] Bevorzugt werden alle Vergleiche unter analogen Bedingungen durchgeführt. Der Begriff „analoge Bedingungen“ bedeutet, dass alle Bedingungen, wie zum Beispiel Kultur- oder Wachstumsbedingungen, Wassergehalt der Erde, Temperatur, Feuchtigkeit oder Umgebungsluft oder Erde, Assaybedingungen (wie Pufferzusammensetzung, Temperatur, Substrat, Pathogenstamm, Konzentrationen und dergleichen) zwischen den zu vergleichenden Versuchen identisch gehalten werden.

[0191] Die „Referenz“, die „Kontrolle“ oder der „Wildtyp“ ist bevorzugt ein Gegenstand, z. B. eine Organelle, eine Zelle, ein Gewebe, ein Organismus, insbesondere eine Pflanze, die/der nicht gemäß dem hierin beschriebenen Verfahren der Erfindung motiviert oder behandelt wurde und in allen anderen Eigenschaften dem Gegenstand der Erfindung so ähnlich wie möglich ist. Die Referenz, die Kontrolle oder der Wildtyp ist in ihrem/seinem Genom, Transkriptom, Proteom oder Metabolom dem Gegenstand der vorliegenden Erfindung so ähnlich wie möglich ist. Bevorzugt bezieht sich der Begriff „Referenz-“, „Kontroll-“ oder „Wildtyp-“ Organelle, -Zelle, -Gewebe oder -Organismus, insbesondere -Pflanze, auf eine Organelle, eine Zelle, ein Gewebe bzw. einen Organismus, insbesondere eine Pflanze, die/das/der mit der Organelle, der Zelle, dem Gewebe bzw. dem Gewebe dem Organismus, insbesondere der Pflanze der vorliegenden Erfindung oder einem Teil davon, nahezu, bevorzugt 95%, stärker bevorzugt 98%, noch stärker bevorzugt 99,00%, insbesondere 99,10%, 99,30%, 99,50%, 99,70%, 99,90%, 99,99%, 99,999% oder mehr genetisch identisch ist. Am stärksten bevorzugt ist die „Referenz“, „Kontrolle“, oder der „Wildtyp“ ein Gegenstand, z. B. eine Organelle, eine Zelle, ein Gewebe, ein Organismus, die/das/der mit dem Organismus, der Zelle oder der Organelle, der/die gemäß dem Verfahren der Erfindung verwendet wird, genetisch identisch ist, wobei allerdings die verantwortlichen bzw. Aktivität verleihenden Nukleinsäuremoleküle oder das Genprodukt, das durch sie kodiert wird, gemäß dem erfindungsgemäßen Verfahren ergänzt, manipuliert ausgetauscht oder eingeführt ist/sind.

[0192] Falls eine Kontrolle, eine Referenz oder ein Wildtyp, die/der sich vom Gegenstand der vorliegenden Erfindung nur dadurch unterscheidet, dass sie/er nicht Gegenstand des Verfahrens der Erfindung ist, nicht bereitgestellt werden kann, so kann eine Kontrolle, eine Referenz oder ein Wildtyp ein Organismus sein, bei dem die Ursache für die Modulation einer Aktivität, die den erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp oder Expression des Nukleinsäuremoleküls der Erfindung, wie hierin beschrieben, zurück- oder abgeschaltet worden ist, z. B. durch Knock-out der Expression des verantwortlichen Genprodukts, z. B. durch Antisense-Inhibition, durch Deaktivierung eines Aktivators oder Agonisten, durch Aktivierung eines Inhibitors oder Antagonisten, durch Inhibition durch Zugabe inhibierender Antikörper, durch Zugabe von Wirkstoffen, wie z. B. Hormonen, durch Einführung negativ dominanter Mutanten usw. Eine Genproduktion kann zum Beispiel deaktiviert (Knock-out) werden, indem deaktivierende Punktmutationen eingeführt werden, die zu einer Inhibition der enzymatischen Aktivität oder einer Destabilisierung oder einer Inhibition der Bindungsfähigkeit an Kofaktoren usw. führen.

[0193] Entsprechend ist der bevorzugte Referenzgegenstand der Ausgangsgegenstand des vorliegenden Verfahrens der Erfindung. Bevorzugt werden die Referenz und der Gegenstand der Erfindung nach Standardisierung und Normalisierung, z. B. auf die Menge an Gesamt-RNA, -DNA oder -Protein oder der Aktivität oder

Expression von Referenzgenen, wie Haushaltsgenen, wie etwa Ubiquitin, Aktin oder ribosomalen Proteinen miteinander verglichen.

[0194] Die Erhöhung bzw. Modulation gemäß der vorliegenden Erfindung kann konstitutiv sein, z. B. aufgrund einer stabilen permanenten transgenen Expression oder einer stabilen Mutation in dem entsprechenden endogenen Gen, das für das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodiert, oder einer Modulation der Expression oder des Verhaltens eines Gens, das die Expression des Polypeptids der Erfindung verleiht, oder vorübergehend, z. B. aufgrund einer vorübergehenden Transformation oder zeitweiligen Zusatzes eines Modulators wie einem Agonisten oder Antagonisten, oder induzierbar, z. B. nach einer Transformation mit einem induzierbaren Konstrukt, das das Nukleinsäuremolekül der Erfindung unter der Kontrolle eines induzierbaren Promoters trägt, und Zugabe des Induktors, z. B. Tetracyclin, oder wie hier im Folgenden beschrieben.

[0195] Die Erhöhung in der Aktivität des Polypeptids beläuft sich in einer Zelle, einem Gewebe, einer Organelle, einem Organ oder einem Organismus oder einem Teil davon bevorzugt auf mindestens 5%, bevorzugt auf mindestens 20% oder auf mindestens 50%, besonders bevorzugt auf mindestens 70%, 80%, 90% oder mehr, ganz besonders bevorzugt auf mindestens 200%, 300% oder 400%, am stärksten bevorzugt auf mindestens 500% oder mehr im Vergleich mit der Kontrolle, der Referenz oder dem Wildtyp. In einer Ausführungsform bedeutet der Begriff Erhöhung die Erhöhung der Menge in Bezug auf das Gewicht des Organismus oder eines Teils davon (w/w).

[0196] In einer Ausführungsform tritt die Aktivitätserhöhung des Polypeptids in einer Organelle, wie etwa einem Plastid, auf.

[0197] Die spezifische Aktivität eines Polypeptids, das durch ein Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung kodiert wird, oder des Polypeptids der vorliegenden Erfindung, kann getestet werden, wie in den Beispielen beschrieben. Insbesondere die Expression eines betreffenden Proteins in einer Zelle, z. B. einer Pflanzenzelle im Vergleich zu einer Kontrolle, ist ein einfacher Test und kann durchgeführt werden, wie auf dem Stand der Technik beschrieben.

[0198] Der Begriff „Erhöhung“ enthält, dass eine Verbindung oder eine Aktivität in eine Zelle oder ein subzelluläres Kompartiment oder eine Organelle de novo eingeführt wird oder dass die Verbindung oder die Aktivität zuvor nicht nachweisbar war, also anders ausgedrückt, „erzeugt“ wurde.

[0199] Entsprechend umfasst im Folgenden der Begriff „Erhöhen“ auch den Begriff „Erzeugen“ oder „Stimulieren“. Die erhöhte Aktivität äußert sich in einem erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon.

[0200] Die Sequenz von Ymr052w aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Factor-Arrestprotein, veröffentlicht.

[0201] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Factor-Arrestproteins“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ymr052w dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ymr052w dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ymr052w dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ymr052w dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0202] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "Factor-Arrestprotein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0203] Die Sequenz von At1g43850 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Transkriptionsregulator, veröffentlicht.

[0204] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Transkriptionsregulators“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At1g43850 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At1g43850 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At1g43850 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At1g43850 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0205] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als "Transkriptionsregulator" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0206] Die Sequenz von At2g28890 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Proteinphosphatase, veröffentlicht.

[0207] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Proteinphosphatase“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At2g28890 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At2g28890 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At2g28890 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At2g28890 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0208] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Proteinphosphatase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0209] Die Sequenz von At3g04050 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Pyruvatkinase, veröffentlicht.

[0210] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Pyruvatkinase“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g04050 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g04050 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g04050 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g04050 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0211] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Pyruvatkinase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0212] Die Sequenz von At3g08710 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Thioredoxin-Family-Protein, veröffentlicht.

[0213] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Thioredoxin-Family-Protein“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g08710 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g08710 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g08710 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g08710 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0214] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "Thioredoxin-Family-Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0215] Die Sequenz von At3g11650 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Harpin-Induced-Family-Protein, veröffentlicht.

[0216] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Harpin-induced family protein“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g11650 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g11650 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g11650 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g11650 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0217] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "Harpin-Induced-Family-Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0218] Die Sequenz von At3g27540 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Glycosyltransferase, veröffentlicht.

[0219] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Glycosyltransferase“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g27540 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g27540 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g27540 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g27540 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0220] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Glycosyltransferase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0221] Die Sequenz von At3g61830 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Auxin-Responsefaktor, veröffentlicht.

[0222] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Auxin-Responsefaktors“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g61830 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g61830 dargestellt, oder bevorzugt ein Genprodukt eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie Spalte 5 von Tabelle I, Zeile 42 gezeigt, und das für einen „Auxin-Transkriptionsfaktor“ kodiert; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g61830 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At3g61830 dargestellt, oder bevorzugt ein Polypeptid, das umfasst ein Polypeptid, wie in Spalte 5 von Tabelle II, Zeile 42 gezeigt, und das für einen „Auxin-Transkriptionsfaktor“ kodiert,

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0223] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als einen "Auxin-Responsefaktor" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0224] Die Sequenz von At4g32480 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als At4g32480-Protein, veröffentlicht.

[0225] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „At4g32480-Proteins“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At4g32480 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At4g32480 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At4g32480 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At4g32480 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0226] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "At4g32480-Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0227] Die Sequenz von At4g35310 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als calciumabhängige Proteinkinase, veröffentlicht.

[0228] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „calciumabhängigen Proteinkinase“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At4g35310 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At4g35310 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At4g35310 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At4g35310 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0229] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "calciumabhängige Proteinkinase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0230] Die Sequenz von At5g16650 aus *Arabidopsis thaliana*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als At5g16650-Protein, veröffentlicht.

[0231] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „At5g16650-Proteins“ aus *Arabidopsis thaliana* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At5g16650 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At5g16650 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At5g16650 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie At5g16650 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0232] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "At5g16650-Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0233] Die Sequenz von AvinDRAFT_2344 aus *Azotobacter vinelandii*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Elongationsfaktor Tu, veröffentlicht.

[0234] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Elongationsfaktor Tu“ aus *Azotobacter vinelandii* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_2344 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_2344 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_2344 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_2344 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0235] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "Elongationsfaktor Tu" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0236] Die Sequenz von AvinDRAFT_2521 aus *Azotobacter vinelandii*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als ABC-Permease-Transporterprotein, veröffentlicht.

[0237] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „ABC-Permease-Transporterprotein“ aus *Azotobacter vinelandii* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_2521 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_2521 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_2521 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_2521 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0238] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein „ABC-Permease-Transporterprotein“ beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0239] Die Sequenz von AvinDRAFT_5103 aus *Azotobacter vinelandii*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Hydrolase, veröffentlicht.

[0240] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Hydrolase“ aus *Azotobacter vinelandii* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_5103 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_5103 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_5103 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_5103 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0241] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine „Hydrolase“ beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0242] Die Sequenz von AvinDRAFT_5292 aus *Azotobacter vinelandii*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Fumarylacetoacetathydrolase, veröffentlicht.

[0243] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Fumarylacetoacetathydrolase“ aus *Azotobacter vinelandii* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_5292 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_5292 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_5292 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie AvinDRAFT_5292 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0244] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine „Fumarylacetoacetathydrolase“ beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0245] Die Sequenz von B0124 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Glucosedehydrogenase, veröffentlicht.

[0246] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Glucosedehydrogenase“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0124 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0124 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0124 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0124 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0247] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine „Glucosedehydrogenase“ beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0248] Die Sequenz von B0161 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Serinprotease, veröffentlicht.

[0249] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Serinprotease“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0161 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0161 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0161 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0161 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0250] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Serinprotease" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0251] Die Sequenz von B0449 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als ATP-Bindungsprotein, veröffentlicht.

[0252] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „ATP-Bindungsproteins“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0449 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0449 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0449 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0449 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0253] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "ATP-Bindungsprotein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0254] Die Sequenz von B0593 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Isochorismatsynthase, veröffentlicht.

[0255] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Isochorismatsynthase“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0593 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0593 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0593 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0593 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0256] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Isochorismatsynthase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0257] Die Sequenz von B0898 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Transporterprotein des MFS-Typs, veröffentlicht.

[0258] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Transporterprotein des MFS-Typs“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0898 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0898 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0898 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B0898 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0259] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "Transporterprotein des MFS-Typs" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0260] Die Sequenz von B1003 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als b1003-Protein, veröffentlicht.

[0261] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „b1003-Protein“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B1003 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B1003 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B1003 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B1003 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0262] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "b1003-Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0263] Die Sequenz von B1522 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, (Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als b1522-Protein, veröffentlicht.

[0264] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „b1522-Protein“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B1522 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B1522 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B1522 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B1522 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0265] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "b1522-Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0266] Die Sequenz von B2739 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als b2739-Protein, veröffentlicht.

[0267] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „b2739-Protein“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B2739 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B2739 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B2739 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B2739 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0268] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "b2739-Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0269] Die Sequenz von B3646 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als b3646-Protein, veröffentlicht.

[0270] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „b3646-Protein“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B3646 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B3646 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B3646 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B3646 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0271] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein „b3646-Protein“ beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0272] Die Sequenz von B4029 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als B4029-Protein, veröffentlicht.

[0273] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „B4029-Protein“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B4029 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B4029 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B4029 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B4029 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0274] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein „B4029-Protein“ beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0275] Die Sequenz von B4256 aus *Escherichia coli*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Acetyltransferase, veröffentlicht.

[0276] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Acetyltransferase“ aus *Escherichia coli* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B4256 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B4256 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B4256 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie B4256 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0277] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Acetyltransferase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0278] Die Sequenz von C_PP034008079R aus *Physcomitrella patens*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Acylcarrierprotein, veröffentlicht.

[0279] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Acylcarrierproteins“ aus *Physcomitrella patens* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie C_PP034008079R dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie C_PP034008079R dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie C_PP034008079R dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie C_PP034008079R dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0280] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "Acylcarrierprotein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0281] Die Sequenz von Slr0739 aus *Synechocystis* sp., z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Geranylgeranylpyrophosphat synthase, veröffentlicht.

[0282] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Geranylgeranylpyrophosphat synthase“ aus *Synechocystis* sp. oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Slr0739 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Slr0739 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Slr0739 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Slr0739 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0283] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Geranylgeranylpyrophosphatsynthase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0284] Die Sequenz von TTC0019 aus *Thermus thermophilus*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Sec-unabhängige Proteintranslocase-Untereinheit, veröffentlicht.

[0285] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Sec-unabhängige Proteintranslocase-Untereinheit“ aus *Thermus thermophilus* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie TTC0019 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie TTC0019 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie TTC0019 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie TTC0019 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0286] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Sec-unabhängige Proteintranslocase-Untereinheit" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0287] Die Sequenz von TTC1550 aus *Thermus thermophilus*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Homocitratsynthase, veröffentlicht.

[0288] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Homocitratsynthase“ aus *Thermus thermophilus* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie TTC1550 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie TTC1550 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie TTC1550 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie TTC1550 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0289] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Homocitratsynthase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0290] Die Sequenz von Yjr153w aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Polygalacturonase, veröffentlicht.

[0291] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Polygalacturonase“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Yjr153w dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Yjr153w dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Yjr153w dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Yjr153w dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0292] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Polygalacturonase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0293] Die Sequenz von Ylr043c aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Thioredoxin, veröffentlicht.

[0294] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Thioredoxins“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ylr043c dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ylr043c dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ylr043c dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ylr043c dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0295] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "Thioredoxin" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0296] Die Sequenz von 51340801_CANOLA aus *Brassica napus*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Pyruvatkinase, veröffentlicht.

[0297] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Pyruvatkinase“ aus *Brassica napus* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie 51340801_CANOLA dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie 51340801_CANOLA dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie 51340801_CANOLA dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie 51340801_CANOLA dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0298] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "Pyruvatkinase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0299] Die Sequenz von Ybr159w aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als mikrosomale beta-keto-Reduktase, veröffentlicht.

[0300] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „mikrosomalen beta-keto-Reduktase“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ybr159w dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ybr159w dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ybr159w dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ybr159w dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0301] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "mikrosomale beta-keto-Reduktase" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0302] Die Sequenz von YDR046C aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996

veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als verzweigt-kettige Aminosäure-Permease, veröffentlicht.

[0303] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „verzweigt-kettigen Aminosäure-Permease“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YDR046C dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YDR046C dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YDR046C dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YDR046C dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0304] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0305] Die Sequenz von YGR255C aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase, veröffentlicht.

[0306] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YGR255C dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YGR255C dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YGR255C dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YGR255C dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0307] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine „Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase“ beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0308] Die Sequenz von YHR213W aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als YHR213W-Protein, veröffentlicht.

[0309] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „YHR213W-Proteins“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YHR213W dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YHR213W dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YHR213W dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YHR213W dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0310] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem das Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "YHR213W-Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0311] Die Sequenz von YPL249C-A aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als 60S-ribosomales Protein, veröffentlicht.

[0312] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „60S-ribosomalen Proteins“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YPL249C-A dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YPL249C-A dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YPL249C-A dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YPL249C-A dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0313] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "60S-ribosomales Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0314] Die Sequenz von YPR185W aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als autophagiebezogenes Protein, veröffentlicht.

[0315] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „autophagiebezogenen Proteins“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YPR185W dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YPR185W dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YPR185W dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YPR185W dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0316] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als ein "autophagiebezogenes Protein" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0317] Die Sequenz von Ylr395c aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, veröffentlicht.

[0318] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit-VIII“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ylr395c dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ylr395c dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ylr395c dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie Ylr395c dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0319] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine „Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII“ beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0320] Die Sequenz von YDR046C_2 aus *Saccharomyces cerevisiae*, z. B. wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, [Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in Goffeau et al., *Science* 274 (5287), 546–547, 1996 veröffentlicht, Sequenzen aus *Escherichia coli* wurden in Blattner et al., *Science* 277 (5331), 1453–1474 (1997) veröffentlicht, und ihre Aktivität wurde, beschrieben als verzweigt-kettige Aminosäure-Permease, veröffentlicht.

[0321] Entsprechend umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung in einer Ausführungsform die Erhöhung oder Erzeugung der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „verzweigt-kettigen Aminosäure-Permease“ aus *Saccharomyces cerevisiae* oder einem funktionellen Äquivalent davon oder einem Homolog davon, z. B. die Erhöhung

(a) eines Genprodukts eines Gens, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YDR046C_2 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle I dargestellt gezeigt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IB dargestellt gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YDR046C_2 dargestellt; oder

(b) eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II gezeigt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YDR046C_2 dargestellt oder eines funktionellen Äquivalents oder eines Homologs davon, wie in Spalte 7 von Tabelle II oder IV dargestellt, bevorzugt eines Homologs oder eines funktionellen Äquivalents, wie in Spalte 7 von Tabelle IIB dargestellt, und in der jeweils gleichen Zeile wie YDR046C_2 dargestellt;

wie hierin erwähnt, für den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, wie erwähnt.

[0322] Entsprechend handelt es sich in einer Ausführungsform bei dem Molekül, dessen Aktivität in dem Verfahren der Erfindung zu erhöhen ist, um das Genprodukt mit einer Aktivität, die als eine "verzweigt-kettige Aminosäure-Permease" beschrieben ist, bevorzugt handelt es sich um das Molekül aus Abschnitt (a) oder (b) dieses Absatzes.

[0323] Es wurde ferner beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Gen, das in Tabelle XIII gezeigt wird, z. B. eines Nukleinsäuremoleküls, das von dem Nukleinsäuremolekül abgeleitet ist, das in Tabelle XIII gezeigt wird, in *A. thaliana* erhöhte Stresstoleranz, z. B. erhöhte Niedertemperaturtoleranz, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, verlieh. Daher wird in einer Ausführungsform ein Nukleinsäuremolekül, das in Tabelle XIII angegeben ist, oder das Homolog davon, wie in Tabelle I angegeben, oder das Expressionsprodukt in dem Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendet, um die Stresstoleranz zu erhöhen, z. B. um die Niedertemperaturtoleranz einer Pflanze, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zu erhöhen.

[0324] Es wurde ferner beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Gen, das in Tabelle XII gezeigt wird, z. B. eines Nukleinsäuremoleküls, das von dem Nukleinsäuremolekül abgeleitet ist, das in Tabelle XII gezeigt wird, in *A. thaliana* erhöhte Stresstoleranz, z. B. erhöhte zyklische Dürretoleranz, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, verlieh. Daher wird in einer Ausführungsform ein Nukleinsäuremolekül, das in Tabelle XII angegeben ist, oder das Homolog davon, wie in Tabelle I angegeben, oder das Expressionsprodukt in dem Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendet, um die Stresstoleranz zu erhöhen, z. B. um die zyklische Dürretoleranz einer Pflanze, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zu erhöhen.

[0325] Es wurde ferner beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Gen, das in Tabelle XI gezeigt wird, z. B. eines Nukleinsäuremoleküls, das von dem Nukleinsäuremolekül abgeleitet ist, das in Tabelle XI gezeigt wird, in *A. thaliana* einen erhöhten intrinsischen Ertrag, z. B. eine erhöhte Biomasse unter Standardbedingungen, z. B. eine erhöhte Biomasse unter nicht-Mangel oder nicht-Stress-Bedingungen, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, verlieh. Daher wird in einer Ausführungsform ein Nukleinsäuremolekül, das in Tabelle XI angegeben ist, oder das Homolog davon, wie in Tabelle I angegeben, oder das Expressionsprodukt in dem Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendet, um den intrinsischen Ertrag zu erhöhen, z. B. um den Ertrag unter Standardbedingungen zu erhöhen, z. B. um die Biomasse unter nicht-Mangel oder nicht-Stress-Bedingungen der Pflanze zu erhöhen, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle.

[0326] Überraschenderweise wurde beobachtet, dass eine Erhöhung oder Erzeugung mindestens eines Gens, das eine Aktivität verleiht, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetylhydrolase, Geranylgeranylpyrophosphat synthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR 213W-Protein, oder eines Gens, das eine Nukleinsäuresequenz umfasst, die in Spalte 5 von Tabelle I beschrieben wird, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verlieh.

[0327] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Factor-Arrestproteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 42 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 12,35-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0328] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Transkriptionsregulators“, der durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 654 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 5,47-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0329] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Proteinphosphatase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 706 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 12,21-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0330] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Pyruvatkinase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 751 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 26,89-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0331] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Thioredoxin-Family-Protein“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 1156 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 3,64-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0332] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Harpin induced family Protein“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 1510 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 3,21-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0333] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Glycosyltransferase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 1598 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 4,27-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0334] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Auxin-Responsefaktors“, der durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 1670 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 16,46-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0335] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „At4g32480-Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 1874 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 7,44-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0336] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „calciumabhängigen Proteinkinase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 1936 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 5,40-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0337] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „At5g16650-Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 2492 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 3,07-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0338] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Elongationsfaktors Tu“, der durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 2553 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 6,42-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0339] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „ABC-Permease-Transporterproteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz

quenz SEQ ID NO.: 3408 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 1,99-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0340] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Hydrolase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 3564 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 10,13-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0341] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Fumarylacetoacetathydrolase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 3728 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 14,56-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0342] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Glucosedehydrogenase“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 4068 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 4,07-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0343] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Serinprotease“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 4176 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 16,31-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0344] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „ATP-Bindungsproteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 4364 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 15,36-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0345] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Isochorismatsynthase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 4717 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 3,59-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0346] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Transporterproteins des MFS-Typs“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 4864 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 175,83-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0347] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „b1003-Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 4903 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 9,49-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0348] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „b1522-Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 4909 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 22,61-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0349] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „b2739-Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 4954 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 14,55-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0350] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „b3646-Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 5121 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 3,02-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0351] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „B4029-Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 5319 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 77,37-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0352] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Acetyltransferase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 5387 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 3,19-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0353] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Acylcarrierproteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 5458 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 3,02-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0354] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Geranylgeranylpyrophosphatsynthase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 6041 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 3,55-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0355] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Sec-unabhängigen Proteintranslocase-Untereinheit“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 6469 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 7,25-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0356] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Homocitratsynthase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 6739 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 2,93-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0357] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Polygalacturonase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 7510 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 6,77-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0358] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Thioredoxins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 7633 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 2,10-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0359] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „Pyruvatkinase“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 53 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 3,22-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0360] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „mikrosomalen beta-keto-Reduktase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 7137 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 2,23-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0361] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „verzweigt-kettigen Aminosäure-Permease“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 7208 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 48,39-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0362] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 7274 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 31,94-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0363] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „YHR213W-Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 7489 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 7,79-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0364] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „60S-ribosomalen Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 8239 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 6,64-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0365] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität eines „autophagiebezogenen Proteins“, das durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 8397 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 47,89-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0366] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 8227 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zwischen 1,1% und dem 131,19-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0367] Es wurde beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Genprodukts mit der Aktivität einer „verzweigt-kettigen Aminosäure-Permease“, die durch ein Gen kodiert wird, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO.: 8423 umfasst, in *Arabidopsis thaliana* einen erhöhten Ertrag, bevorzugt einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle zwischen 1,1% und dem 48,39-Fachen verlieh, wie in den Beispielen gezeigt.

[0368] Daher kann gemäß dem Verfahren der Erfindung ein erhöhter GABA-Gehalt in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon, verglichen mit einer Kontrolle oder einem Wildtyp, erzielt werden.

[0369] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 43 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 42 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 42 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 43, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Factor-Arrestprotein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0370] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 655 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 654 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 654 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 655, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Transkriptionsregulator“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0371] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 707 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID

NO.: 706 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 706 oder das Polypeptid SEQ ID NO.: 707, erhöht bzw. erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Proteinphosphatase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0372] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 752 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 751 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 751 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 752, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Pyruvatkinase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0373] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 1157 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1156 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1156 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 1157, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Thioredoxin-Family-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0374] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 1511 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1510 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1510 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 1511, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Harpin-Induced-Family-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0375] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 1599 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1598 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1598 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 1599, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Glycosyltransferase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0376] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 1671 oder bevorzugt SEQ ID NO.: 8590 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1670 oder bevorzugt SEQ ID NO.: 8589 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1670 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 1671, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Auxin-Responsefaktor“ bzw. „Auxin-Transkriptionsfaktor“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0377] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 1875 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1874 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1874 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 1875, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „At4g32480-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0378] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 1937 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 1936 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 1936 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 1937, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „calciumabhängige Proteinkinase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0379] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 2493 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 2492 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 2492 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 2493, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „At5g16650-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0380] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 2554 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 2553 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 2553 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 2554, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Elongationsfaktor Tu“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0381] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 3409 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 3408 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 3408 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 3409, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „ABC-Permease-Transporterprotein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0382] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 3565 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 3564 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 3564 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 3565, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Hydrolase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0383] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 3729 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 3728 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 3728 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 3729, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Fumarylacetoacetathydrolase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0384] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 4069 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4068 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4068 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 4069, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Glucosedehydrogenase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0385] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 4177 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4176 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4176 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 4177, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Serinprotease“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0386] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 4365 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4364 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4364 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 4365, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „ATP-Bindungsprotein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0387] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 4718 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4717 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4717 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 4718, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Isochorismatsynthase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0388] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 4865 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4864 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4864 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 4865, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Transporterprotein des MFS-Typs“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0389] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 4904 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4903 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4903 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 4904, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „b1003-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0390] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 4910 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4909 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4909 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 4910, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „b1522-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0391] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 4955 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 4954 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 4954 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 4955, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „b2739-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0392] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 5122 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 5121 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 5121 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 5122, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „b3646-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0393] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 5320 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 5319 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 5319 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 5320, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „B4029-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0394] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 5388 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 5387 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 5387 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 5388, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Acetyltransferase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0395] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 5459 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 5458 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 5458 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 5459, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Acylcarrierprotein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0396] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 6042 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 6041 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 6041 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 6042, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Geranylgeranylpyrophosphatsynthase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0397] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 6470 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 6469 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 6469 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 6470, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Sec-unabhängige Proteintranslocase-Untereinheit“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0398] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 6740 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 6739 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 6739 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 6740, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Homocitratsynthase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0399] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 7511 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7510 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7510 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 7511, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Polygalacturonase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0400] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 7634 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7633 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7633 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 7634, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Thioredoxin“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0401] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 54 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 53 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 53 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 54, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Pyruvatkinase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0402] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 7138 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7137 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7137 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 7138, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „mikrosomale beta-keto-Reduktase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0403] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 7209 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7208 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7208 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 7209, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0404] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 7275 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7274 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7274 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 7275, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0405] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 7490 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 7489 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 7489 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 7490, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „YHR213W-Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0406] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 8240 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 8239 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 8239 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 8240, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „60S-ribosomales Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0407] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 8398 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 8397 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 8397 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 8398, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „autophagiebezogenes Protein“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0408] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 8228 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 8227 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 8227 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 8228, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0409] Entsprechend wird in einer Ausführungsform, falls die Aktivität eines Polypeptids, das dem Polypeptid SEQ ID NO.: 8424 entspricht oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das die Nukleinsäure SEQ ID NO.: 8423 umfasst, oder eines Homologs dieses Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, z. B. wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv umfasst, wie in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7 in der jeweils gleichen Zeile dargestellt wie das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO.: 8423 bzw. das Polypeptid SEQ ID NO.: 8424, erhöht oder erzeugt wird, oder wenn die Aktivität „verzweigt-kettige Aminosäure-Permease“ in einem Organismus erhöht oder erzeugt wird, wird diesem Organismus bevorzugt ein erhöhter GABA-Gehalt, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen.

[0410] Der Begriff „Expression“ bezieht sich auf die Transkription und/oder Translation eines codogenen Gen-segments oder Gens. In der Regel ist das resultierende Produkt eine mRNA oder ein Protein. Allerdings können Expressionsprodukte auch funktionelle RNAs enthalten, wie zum Beispiel Antisense, Nukleinsäuren, tRNAs, snRNAs, rRNAs, RNAi, siRNAs, Ribozyme usw. Eine Expression kann systemisch, lokal oder temporal sein, zum Beispiel auf bestimmte Zelltypen, Gewebe, Organe oder Organellen oder Zeitperioden begrenzt.

[0411] In einer Ausführungsform umfasst das Verfahren der vorliegenden Erfindung einen oder mehrere der folgenden Schritte

a) Stabilisieren eines Proteins, das die erhöhte Expression eines Proteins verleiht, das durch das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodiert wird, oder des Polypeptids der Erfindung, das die hierin erwähnte Aktivität aufweist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, und die einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;

b) Stabilisieren einer mRNA, die die erhöhte Expression eines Proteins verleiht, das durch das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodiert wird, oder Homologen davon oder einer mRNA, die das Polypeptid der vorliegenden Erfindung kodiert, das die hierin erwähnte Aktivität aufweist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Ge-

ranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomale beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängige Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, und die einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;

c) Erhöhen der spezifischen Aktivität eines Proteins, das die erhöhte Expression eines Proteins verleiht, das durch das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodiert wird, oder des Polypeptids der vorliegenden Erfindung oder die inhibitorische Regulation des Polypeptids der Erfindung vermindert;

d) Erzeugen oder Erhöhen der Expression eines endogenen oder künstlichen Transkriptionsfaktors, der die Expression eines Proteins vermittelt, das die erhöhte Expression eines Protein verleiht, das durch das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodiert wird, oder des Polypeptids der Erfindung, das die hierin erwähnte Aktivität aufweist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, und die einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;

e) Stimulieren der Aktivität eines Proteins, das die erhöhte Expression eines Proteins verleiht, das durch das Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung kodiert wird, oder des Polypeptids der vorliegenden Erfindung, das die hierin erwähnte Aktivität aufweist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, und die einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht, indem dem Organismus oder Teilen davon ein oder mehrere exogene Induktionsfaktoren zugegeben werden;

f) Exprimieren eines transgenen Gens, das ein Protein kodiert, das die erhöhte Expression eines Proteins verleiht, das durch das Nukleinsäuremolekül der Erfindung vorliegenden Erfindung kodiert wird, oder eines Polypeptids der vorliegenden Erfindung, das die hierin erwähnte Aktivität aufweist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, und die einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht; und/oder

g) Erhöhen der Kopienzahl eines Gens, das die erhöhte Expression eines Nukleinsäuremoleküls verleiht, das ein Polypeptid kodiert, das durch das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodiert wird, oder des Polypeptids der Erfindung, das die hierin erwähnte Aktivität aufweist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein,

B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetylhydrolase, Geranylgeranylpyrophosphat synthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, und die einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;

h) Erhöhen der Expression des endogenen Gens, das das Polypeptid der Erfindung kodiert oder Homologe davon, indem positive Expressionselemente zugegeben oder negative Expressionselemente entfernt werden, z. B. kann homologe Rekombination verwendet werden, um entweder positive Regulationselemente, wie für Pflanzen den 35S-Enhancer, in den Promoter einzuführen oder Repressorelemente aus Regulationsregionen zu entfernen. Ferner können Genumwandlungsverfahren verwendet werden, um Repressorelemente zu disruptieren oder um die Aktivität positiver Elemente zu steigern – positive Elemente können in Pflanzen mittels T-DNA oder Transposonmutagenese ungerichtet eingeführt werden und es können Linien identifiziert werden, in denen die positiven Elemente in der Nähe eines Gens der Erfindung integriert wurden, wodurch dessen Expression gesteigert wird; und/oder

i) Modulieren der Wachstumsbedingungen der Pflanze derart, dass die Expression oder Aktivität des Gens, das das Protein der Erfindung kodiert, oder des Proteins selbst gesteigert ist;

j) Selektieren von Organismen mit besonders hoher Aktivität der Proteine der Erfindung aus natürlichen oder aus mutagenisierten Quellen und deren Züchtung in die Zielorganismen, z. B. den Elitenutzpflanzen.

[0412] Bevorzugt ist die mRNA das Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung und/oder das Protein, das die erhöhte Expression eines Proteins verleiht, das durch das Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung kodiert wird, allein oder verknüpft mit einer Transitnukleinsäuresequenz oder einem Transitpeptid, das eine Nukleinsäuresequenz oder ein Polypeptid, das die hierin erwähnte Aktivität aufweist, kodiert, z. B. einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp nach dem Erhöhen der Expression oder Aktivität des kodierten Polypeptids verleiht oder die Aktivität eines Polypeptids aufweist, das eine Aktivität wie das Protein aufweist, das in Tabelle II, Spalte 3 gezeigt wird, oder Homologen davon.

[0413] Im Allgemeinen korreliert die Menge an mRNA oder Polypeptid in einer Zelle oder einem Kompartiment eines Organismus mit der Menge an kodiertem Protein und daher mit der gesamten Aktivität des kodierten Proteins in dem Volumen. Diese Korrelation ist nicht immer linear, da die Aktivität in dem Volumen von der Stabilität der Moleküle oder der Gegenwart aktivierender oder inhibierender Kofaktoren abhängt. Produkt- und Eduktinhibitionen von Enzymen sind außerdem gut bekannt und in Lehrbüchern beschrieben, z. B. Stryer, Biochemistry.

[0414] Im Allgemeinen korreliert die Menge an mRNA, Polynukleotid oder Nukleinsäuremolekül in einer Zelle oder einem Kompartiment eines Organismus mit der Menge an kodiertem Protein und daher mit der gesamten Aktivität des kodierten Proteins in dem Volumen. Diese Korrelation ist nicht immer linear, da die Aktivität in dem Volumen von der Stabilität, dem Abbau der Moleküle oder der Gegenwart aktivierender oder inhibierender Kofaktoren abhängt. Produkt- und Eduktinhibitionen von Enzymen sind außerdem gut bekannt, z. B. Zinser et al. „Enzyminhibitoren“/Enzyme inhibitors“.

[0415] Die Aktivität der oben erwähnten Proteine und/oder Polypeptide, die durch das Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung kodiert werden, kann auf verschiedene Arten erhöht werden. So wird zum Beispiel die Aktivität in einem Organismus oder einem Teil davon, wie einer Zelle, erhöht, indem die Anzahl an Genprodukten erhöht wird, z. B. durch Erhöhen der Expressionsrate, wie der Einführung eines stärkeren Promoters, oder durch Erhöhen der Stabilität der exprimierten mRNA, wodurch die Translationsrate erhöht wird und/oder durch Erhöhen der Stabilität des Genprodukts, wodurch die Anzahl der zerfallenen Proteine reduziert wird. Ferner kann die Aktivität oder der Umsatz von Enzymen derart beeinflusst werden, dass eine Verringerung oder Erhöhung der Reaktionsrate oder eine Motivikation (Verringerung oder Erhöhung) der Affinität für die Substratergebnisse, erreicht wird. Ein Mutation im katalytischen Zentrum eines Polypeptids der Erfindung, z. B. als Enzym, kann die Umsatzrate des Enzyms modulieren, z. B. kann ein Knock-out einer essentiellen Aminosäure zu einer verringerten oder vollständig abgeschalteten Aktivität des Enzyms führen, oder die Deletion oder Mutation von Regulatorbindungsstellen kann eine negative Regulation, wie etwa eine Feedback-Inhibition (oder eine Substratinhibition, wenn die Substratkonzentration auch erhöht wird) verringern. Die spezifische Aktivität eines Enzyms der vorliegenden Erfindung kann derart erhöht werden, dass die Umsatzrate erhöht oder die Bindung eines Kofaktors verbessert ist. Das Verbessern der Stabilität der kodierenden mRNA oder

des Proteins kann die Aktivität eines Genprodukts ebenfalls erhöhen. Die Stimulation der Aktivität fällt ebenfalls unter den Umfang des Begriffs „erhöhte Aktivität“.

[0416] Außerdem kann die Regulation der oben erwähnten Nukleinsäuresequenzen derart motiviert werden, dass die Genexpression erhöht wird. Dies kann vorteilhafterweise mit Hilfe heterologer Regulationssequenzen erzielt werden, oder indem die natürlichen Regulationssequenzen, die vorhanden sind, motiviert, zum Beispiel mutiert werden. Die vorteilhaften Verfahren können auch miteinander kombiniert werden.

[0417] Im Allgemeinen kann eine Aktivität eines Genprodukts in einem Organismus oder einem Teil davon, insbesondere in einer Pflanzenzelle oder einer Organelle einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Pflanzengewebe oder einem Teil davon oder in einem Mikroorganismus erhöht werden, indem die Menge an spezifisch kodierenden mRNA oder an entsprechendem Protein in dem Organismus oder dem Teil davon erhöht wird. „Menge an Protein oder mRNA“ ist als Molekülzahl von Polypeptiden oder mRNA-Molekülen in einem Organismus, einem Gewebe, einer Zelle oder einem Zellkompartiment zu verstehen. Erhöhung der Menge eines Proteins bedeutet die quantitative Erhöhung der Molekülzahl des Proteins in einem Organismus, einem Gewebe, einer Zelle oder einem Zellkompartiment, wie etwa einer Organelle, wie einem Plastid oder Mitochondrien oder einem Teil davon – zum Beispiel durch eines der hierin nachfolgend beschriebenen Verfahren – im Vergleich mit einem Wildtyp, einer Kontrolle oder einer Referenz.

[0418] Die Erhöhung der Molekülzahl beläuft sich bevorzugt auf mindestens 1%, bevorzugt auf mehr als 10%, stärker bevorzugt auf 30% oder mehr, insbesondere bevorzugt auf 50%, 70% oder mehr, ganz besonders bevorzugt auf 100%, am stärksten bevorzugt auf 500% oder mehr. Eine de-novo-Expression wird jedoch ebenfalls als Gegenstand der vorliegenden Erfindung angesehen.

[0419] Eine Motivikation, d. h., eine Erhöhung, kann durch endogene oder exogene Faktoren verursacht werden. Zum Beispiel kann eine Erhöhung der Aktivität in einem Organismus oder einem Teil davon herbeigeführt werden, indem ein Genproduct oder ein Vorläufer oder ein Aktivator oder ein Agonist den Medien oder der Nahrung zugegeben wird, oder sie kann herbeigeführt werden, indem die Gegenstände in einen Organismus, vorübergehend oder stabil eingeführt werden. Außerdem kann eine derartige Erhöhung erreicht werden, indem die erfinderische Nukleinsäuresequenz oder das kodierte Proteinen in das korrekte Zellkompartiment, zum Beispiel in den Nucleus bzw. das Cytoplasma oder in Plastide, entweder durch Transformation und/oder Targeting, eingeführt wird.

[0420] In einer Ausführungsform wird die Erhöhung oder Verringerung der Toleranz und/oder Resistenz gegenüber Umweltstress, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle in der Pflanze oder einem Teil davon, z. B. in einer Zelle, einem Gewebe, einem Organ, einer Organelle usw., erreicht, indem die endogene Konzentration des Polypeptids der Erfindung erhöht wird. Entsprechend bezieht sich die vorliegende Erfindung in einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung auf ein Verfahren, bei dem die Genkopienzahl eines Gens, das das Polynukleotid oder das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodiert, erhöht wird. Ferner kann die endogene Konzentration des Polypeptids der Erfindung zum Beispiel erhöht werden, indem die transkriptionale oder translationale Regulation des Polypeptids motiviert wird.

[0421] In einer Ausführungsform kann der erhöhte GABA-Gehalt in der Zelle durch gerichtete oder zufallsbestimmte Mutagenese der endogenen Gene der Erfindung verändert werden. Zum Beispiel kann homologe Rekombination entweder verwendet werden, um positive Regulationselemente, wie für Pflanzen den 35S-Enhancer, in den Promoter einzuführen, oder Repressorelemente aus den Regulationsregionen zu entfernen. Außerdem kann Genkonversion verwendet werden, wie etwa Verfahren, die von Kochevenko und Willmitzer (Plant Physiol. 2003 Mai; 132 (1): 174–84) und den darin zitierten Stellen beschrieben werden, um Repressorelemente zu disruptieren oder um die Aktivität von positiven Regulationselementen zu steigern. Außerdem können positive Elemente durch T-DNA oder Transposonmutagenese ungerichtet in (Pflanzen) genome eingeführt werden und es können Linien gescreent werden, in die die positiven Elemente in der Nähe eines Gens der Erfindung integriert wurden, wodurch dessen Expression gesteigert wird. Die Aktivierung von Pflanzengen durch ungerichtete Integrationen von Enhancer-Elementen wurde von Hayashi et al., 1992 (Science 258: 1350–1353) oder Weigel et al., 2000 (Plant Physiol. 122, 1003–1013) und anderen darin zitierten Stellen beschrieben. Strategien der umgekehrten Genetik zur Identifikation von Insertionen (die gegebenenfalls Aktivierungselemente tragen) in der Nähe von interessierenden Genen, wurden für verschiedene Fälle beschrieben, z. B. Krysan et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 2283–2290); Sessions et al., 2002 (Plant Cell 2002, 14, 2985–2994); Young et al., 2001, (Plant Physiol. 2001, 125, 513–518); Koprek et al., 2000 (Plant J. 2000, 24, 253–263); Jeon et al., 2000 (Plant J. 2000, 22, 561–570); Tissier et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 1841–1852); Speulmann et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 1853–1866). Kurz gesagt wird Material von allen Pflanzen einer gro-

ßen T-DNA- oder Transposonmutagenisierten Pflanzenpopulation geerntet und genomische DNA hergestellt. Die genomische DNA wird gemäß spezifischer Architekturen gepoolt, wie zum Beispiel in Krysan et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 2283–2290) beschrieben. Die genomischen DNA-Pools werden dann durch spezifische Multiplex-PCR-Reaktionen, die die Kombination des Insertionsmutagens (z. B. T-DNA oder Transposon) mit dem interessierenden Gen nachgewiesen, gescreent. Daher werden PCR-Reaktionen mit den DNA-Pools mit spezifischen Kombinationen von T-DNA oder Transposon flankierenden Primern und genspezifischen Primern durchgeführt. Allgemeine Regeln für die Entwicklung von Primern finden sich wiederum bei Krysan et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 2283–2290). Ein erneutes Screening von DNA-Pools mit geringeren Konzentrationen führt zur Identifikation einzelner Pflanzen, bei denen das interessierende Gen durch das Insertionsmutagen aktiviert wird. Die Verstärkung positiver Regulationselemente oder die Disruption oder Schwächung negativer Regulationselemente kann durch herkömmliche Mutagenesetechniken erzielt werden: Die Produktion von chemisch oder durch Strahlung mutierter Populationen ist ein herkömmliches Verfahren, das dem Fachmann bekannt ist. Verfahren für Pflanzen werden von Koorneef et al. 1982 und den darin zitierten Stellen und von Lightner und Caspar in „Methods in Molecular Biology“ Band 82, beschrieben. Bei diesen Techniken werden gewöhnlich Punktmutationen induziert, die in jedem bekannten Gen unter Verwendung von Verfahren, wie etwa TILLING (Colbert et al. 2001), identifiziert werden können.

[0422] Entsprechend kann das Expressionslevel erhöht werden, wenn die endogenen Gene, die für ein Polypeptid kodieren, das eine erhöhte Expression des Polypeptids der vorliegenden Erfindung verleiht, insbesondere Gene, die das Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung umfassen, mittels homologer Rekombination, Tilling-Ansätzen oder Genkonversion motiviert werden. Es ist auch möglich, wie hierin erwähnt, den erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen Targeting-Sequenzen zuzugeben.

[0423] Regulationssequenzen können, bevorzugt zusätzlich zu einer Zielsequenz oder einem Teil davon, operativ mit der kodierenden Region eines endogenen Proteins verknüpft werden und dessen Transkription und Translation oder die Stabilität oder den Zerfall der kodierenden mRNA oder des exprimierten Proteins kontrollieren. Um die Expression zu modifizieren und zu kontrollieren, können Promoter, UTRs, Spleißstellen, Verarbeitungssignale, Polyadenylierungsstellen, Terminatoren, Enhancer, Repressoren, posttranskriptionale oder posttranslationale Modifikationsstellen verändert, zugegeben oder ergänzt werden. Zum Beispiel wurde die Aktivierung von Pflanzengen durch ungerichtete Integrationen von Enhancer-Elementen von Hayashi et al., 1992 (Science 258: 1350–1353) oder Weigel et al., 2000 (Plant Physiol. 122, 1003–1013) und anderen darin zitierten Stellen beschrieben. Zum Beispiel kann das Expressionslevel des endogenen Proteins moduliert werden, indem der endogene Promoter mit einem stärkeren transgenen Promoter ersetzt wird, oder indem die endogene 3'UTR mit einer 3'UTR ersetzt wird, die mehr Stabilität bereitstellt, ohne die kodierende Region zu verändern. Ferner kann die Transkriptionregulation moduliert werden, indem, wie in den Beispielen beschrieben, ein künstlicher Transkriptionsfaktor eingeführt wird. Alternative Promoter, Terminatoren und UTR werden nachfolgend beschrieben.

[0424] Die Aktivierung eines endogenen Polypeptids, das die oben erwähnte Aktivität aufweist, das z. B. die Aktivität eines Proteins aufweist, wie in Tabelle II, Spalte 3 gezeigt, oder des Polypeptids der Erfindung, das z. B. den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp nach Erhöhung der Expression oder Aktivität in dem Cytosol und/oder in einer Organelle, wie einem Plastid, verleiht, kann auch erhöht werden, indem ein synthetischer Transkriptionsfaktor eingeführt wird, der in der Nähe der kodierenden Region des Gens bindet, das das Protein kodiert, wie in Tabelle II, Spalte 3 gezeigt, und das dessen Transkription aktiviert. Es kann auch ein chimäres Zinkfingerprotein konstruiert werden, das eine spezifische DNA-Bindungsdomäne und eine Aktivierungsdomäne umfasst, wie z. B. die VP16-Domäne des Herpes-Simplex-Virus. Die spezifische Bindungsdomäne kann an die Regulationsregion des Gens binden, das das Protein kodiert, wie in Tabelle II, Spalte 3, gezeigt. Die Expression des chimären Transkriptionsfaktors in einem Organismus, insbesondere in einer Pflanze, führt zu einer spezifischen Expression des Proteins, wie in Tabelle II, Spalte 3, gezeigt, vgl. z. B. WO01/52620, Oriz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, Band 99, 13290 oder Guan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, Band 99, 13296.

[0425] In einer weiteren Ausführungsform des Verfahrens gemäß der Erfindung werden Organismen verwendet, bei denen eines der oben erwähnten Gene oder eine der oben erwähnten Nukleinsäuren derart mutiert wird, dass die Aktivität der kodierten Genprodukte im Vergleich mit den nicht mutierten Proteinen durch zelluläre Faktoren weniger oder gar nicht beeinflusst wird. Gut bekannte Mechanismen zur Regulation der enzymatischen Aktivität sind zum Beispiel Substratinhibition oder Feedback-Regulationsmechanismen. Wege und Techniken zur Einführung von Substitutionen, Deletionen und Additionen einer oder mehrerer Basen, Nukleotide oder Aminosäuren einer entsprechenden Sequenz werden hierin nachfolgend in den entsprechenden Absätzen und den dort angeführten Literaturstellen beschrieben, z. B. in Sambrook et al., Molecular Cloning, Cold

Spring Harbour, NY, 1989. Der Fachmann wird in der Lage sein, Regulationsdomänen und Bindungsstellen von Regulatoren zu identifizieren, indem er die Sequenz des Nukleinsäuremoleküls der vorliegenden Erfindung oder des Expressionsprodukts davon mit Hilfe von Computersoftware-Mitteln mit dem Stand der Technik vergleicht, die umfassen Algorithmen zum Identifizieren von Bindungsstellen und Regulationsdomänen umfassen, oder indem er systematisch Mutationen in ein Nukleinsäuremolekül oder in ein Protein einführt und auf diese Mutationen testet, die zu einer erhöhten spezifischen Aktivität oder einer erhöhten Aktivität je Volumen, insbesondere je Zelle, führen werden.

[0426] Es kann daher vorteilhaft sein, in einem Organismus ein Nukleinsäuremolekül der Erfindung oder ein Polypeptid der Erfindung zu exprimieren, das von einem evolutionär entfernt verwandten Organismus abgeleitet ist, wie z. B. unter Verwendung eines prokaryotischen Gens in einen eukaryotischen Wirt, da in diesen Fällen der Regulationsmechanismus der Wirtszelle die (zelluläre oder spezifische) Aktivität des Gens oder seines Expressionsprodukts nicht abschwächen dürfte.

[0427] Die Mutation wird so eingeführt, dass der erhöhte GABA-Gehalt nicht beeinträchtigt wird.

[0428] Unter weniger Einfluss auf die Regulation eines Gens oder seines Genprodukts ist als eine verringerte Regulation der enzymatischen oder biologischen Aktivität zu verstehen, die zu einer erhöhten spezifischen oder zellulären Aktivität des Gens oder seines Produkts führt. Unter einer Erhöhung der enzymatischen oder biologischen Aktivität ist eine enzymatische oder biologische Aktivität zu verstehen, die um mindestens 10%, vorteilhafterweise um mindestens 20, 30 oder 40%, besonders bevorzugt um mindestens 50, 60 oder 70% im Vergleich mit dem Ausgangsorganismus erhöht ist. Dies führt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, zu einem erhöhten GABA-Gehalt.

[0429] Die Erfindung sorgt dafür, dass die oben erwähnten Verfahren derart durchgeführt werden können, dass die Stresstoleranz erhöht wird. Es ist auch möglich, eine Verringerung der Stresstoleranz zu erhalten.

[0430] Die Erfindung als solche ist nicht auf spezifische Nukleinsäuren, spezifische Polypeptide, spezifische Zelltypen, spezifische Wirtszellen, spezifische Bedingungen oder spezifische Verfahren usw. beschränkt, sondern kann variieren und zahlreiche Motivierungen und Variationen davon werden für den Fachmann offensichtlich sein. Es versteht sich außerdem, dass die hierin verwendete Terminologie lediglich dem Zweck der Beschreibung spezifischer Ausführungsform dient und nicht einschränkend zu verstehen ist.

[0431] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auch auf isolierte Nukleinsäuren, die ein Nukleinsäuremolekül umfassen, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- a) einem Nukleinsäuremolekül, das das Polypeptid kodiert, das in Spalte 7 von Tabelle IIB gezeigt wird;
- b) einem Nukleinsäuremolekül, das in Spalte 7 von Tabelle IB gezeigt wird;
- c) einem Nukleinsäuremolekül, das infolge der Degeneration des genetischen Codes von einer Polypeptidsequenz abgeleitet werden kann, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II dargestellt ist, und einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;
- d) einem Nukleinsäuremolekül, das mindestens 30% Identität mit der Nukleinsäuremolekülsequenz eines Polynukleotids aufweist, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird, und einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;
- e) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mindestens 30% Identität mit der Aminosäuresequenz des Polypeptids aufweist, das von dem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- f) einem Nukleinsäuremolekül, das mit einem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) unter stringenten Hybridisierungsbedingungen hybridisiert und einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon, verleiht;
- g) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mit Hilfe monoklonaler oder polyklonaler Antikörper isoliert werden kann, die gegen ein Polypeptid hergestellt wurden, das von einem der Nukleinsäuremoleküle aus (a) bis (e) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch das Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt;
- h) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Consensus-Sequenz oder ein oder mehrere Polypeptidmotiv(e) umfasst, wie in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt, und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt;

h) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon, verleiht;

i) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polynukleotid umfasst, das durch Amplifizieren einer cDNA-Bibliothek oder einer Genbibliothek unter Verwendung der Primer in Spalte 7 von Tabelle III erhalten wird und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, das ein Polypeptid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt; und

j) einem Nukleinsäuremolekül, das durch Screening einer geeigneten Nukleinsäurebibliothek unter stringenten Hybridisierungsbedingungen mit einer Sonde erhalten werden kann, die eine komplementäre Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls aus (a) oder (b) umfasst oder mit einem Fragment davon, das mindestens 15 nt, bevorzugt 20 nt, 30 nt, 50 nt, 100 nt, 200 nt oder 500 nt eines Nukleinsäuremoleküls aufweist, das komplementär zu einer Nukleinsäuremolekülsequenz ist, die in (a) bis (e) charakterisiert wird, und ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, das ein Polypeptid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt;

wobei das Nukleinsäuremolekül gemäß (a) bis (j) mindestens in einem oder mehreren Nukleotiden von der Sequenz verschieden ist, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IA dargestellt ist, und bevorzugt ein Protein kodiert, das sich in mindestens einer oder mehreren Aminosäuren von den Proteinsequenzen unterscheidet, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IIA dargestellt sind.

[0432] In einer Ausführungsform bezieht sich die Erfindung auf Homologe der vorgenannten Sequenzen, die vorteilhafterweise aus Hefe, Pilzen, Viren, Algen, Bakterien, wie etwa *Acetobacter* (Subgen. *Acetobacter*) *acetii*; *Acidithiobacillus ferrooxidans*; *Acinetobacter* sp.; *Actinobacillus* sp.; *Aeromonas salmonicida*; *Agrobacterium tumefaciens*; *Aquifex aeolicus*; *Arcanobacterium pyogenes*; *Aster yellows phytoplasma*; *Bacillus* sp.; *Bifidobacterium* sp.; *Borrelia burgdorferi*; *Brevibacterium linens*; *Brucella melitensis*; *Buchnera* sp.; *Butyrivibrio fibrisolvens*; *Campylobacter jejuni*; *Caulobacter crescentus*; *Chlamydia* sp.; *Chlamydophila* sp.; *Chlorobium limicola*; *Citrobacter rodentium*; *Clostridium* sp.; *Comamonas testosteroni*; *Corynebacterium* sp.; *Coxiella burnetii*; *Deinococcus radiodurans*; *Dichelobacter nodosus*; *Edwardsiella ictaluri*; *Enterobacter* sp.; *Erysipelothrix rhusiopathiae*; *Escherichia coli*; *Flavobacterium* sp.; *Francisella tularensis*; *Frankia* sp. Cpl1; *Fusobacterium nucleatum*; *Geobacillus stearothermophilus*; *Gluconobacter oxydans*; *Haemophilus* sp.; *Helicobacter pylori*; *Klebsiella pneumoniae*; *Lactobacillus* sp.; *Lactococcus lactis*; *Listeria* sp.; *Mannheimia haemolytica*; *Mesorhizobium loti*; *Methylophaga thalassica*; *Microcystis aeruginosa*; *Microscilla* sp. PRE1; *Moraxella* sp. TA144; *Mycobacterium* sp.; *Mycoplasma* sp.; *Neisseria* sp.; *Nitrosomonas* sp.; *Nostoc* sp. PCC 7120; *Novosphingobium aromaticivorans*; *Oenococcus oeni*; *Pantoea citrea*; *Pasteurella multocida*; *Pediococcus pentosaceus*; *Phormidium foveolarum*; *Phytoplasma* sp.; *Plectonema boryanum*; *Prevotella ruminicola*; *Propionibacterium* sp.; *Proteus vulgaris*; *Pseudomonas* sp.; *Ralstonia* sp.; *Rhizobium* sp.; *Rhodococcus equi*; *Rhodothermus marinus*; *Rickettsia* sp.; *Riemerella anatipestifer*; *Ruminococcus flavefaciens*; *Salmonella* sp.; *Selenomonas ruminantium*; *Serratia entomophila*; *Shigella* sp.; *Sinorhizobium meliloti*; *Staphylococcus* sp.; *Streptococcus* sp.; *Streptomyces* sp.; *Synechococcus* sp.; *Synechocystis* sp. PCC 6803; *Thermotoga maritima*; *Treponema* sp.; *Ureaplasma urealyticum*; *Vibrio cholerae*; *Vibrio parahaemolyticus*; *Xylella fastidiosa*; *Yersinia* sp.; *Zymomonas mobilis*, bevorzugt *Salmonella* sp. oder *Escherichia coli* oder Pflanzen, bevorzugt aus Hefen, wie etwa aus den Gattungen *Saccharomyces*, *Pichia*, *Candida*, *Hansenula*, *Torulopsis* oder *Schizosaccharomyces* oder Pflanzen, wie etwa *Arabidopsis thaliana*, Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Borretsch, Sonnenblume, Lein, Primel, Rübsamen, Canola und Rübekohl, Maniok, Pfeffer, Sonnenblume, Tagetes, nachtschattenartigen Pflanzen, wie etwa Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Luzerne, buschartige Pflanzen, wie etwa Kaffee, Kakao, Tee, Salix-Arten, Bäume, wie etwa Ölpalme, Kokosnuss, perennierendes Gras, wie etwa Weidelgras und Schwingelgras, und Futterpflanzen, wie etwa Luzerne und Klee und zum Beispiel aus Fichte, Kiefer oder Tanne, isoliert werden können. Stärker bevorzugt können Homologe mit den oben erwähnten Sequenzen aus *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* oder Pflanzen, bevorzugt *Brassica napus*, *Glycine max*, *Zea mays*, Baumwolle oder *Oryza sativa* isoliert werden.

[0433] Die (GABA-bezogenen) Proteine der vorliegenden Erfindung werden bevorzugt mit Hilfe von DNA-Rekombinationstechniken hergestellt. Zum Beispiel wird ein Nukleinsäuremolekül, das das Proteinen kodiert, in einen Expressionsvektor, zum Beispiel in einen binären Vektor kloniert, der Expressionsvektor wird in eine Wirtszelle, zum Beispiel den *Arabidopsis-thaliana*-Wildtyp NASC N906 oder eine beliebige andere Pflanzenzelle, wie unten in den Beispielen beschrieben, eingeführt, und das stressbezogene Protein wird in der Wirtszelle exprimiert. Beispiele für binäre Vektoren sind pBIN19, pBI101, pBinAR, pGPTV, pCAMBIA, pBIB-HYG, pBecks, pGreen oder S.ZP (Hajukiewicz, P. et al., 1994, *Plant Mol. Biol.*, 25: 989–994 und Hellens et al, *Trends in Plant Science* (2000) 5, 446–451.).

[0434] In einer Ausführungsform wird das (GABA-bezogene) Protein der vorliegenden Erfindung bevorzugt in einem Kompartiment der Zelle, stärker bevorzugt in den Plastiden, hergestellt. Wege zum Einführen von Nukleinsäuren in Plastide und zum Herstellen von Proteinen in diesem Kompartiment, die dem Fachmann bekannt sind, wurden in dieser Anmeldung ebenfalls beschrieben.

[0435] Vorteilhafterweise werden die Nukleinsäuresequenzen gemäß der Erfindung oder das Genkonstrukt zusammen mit mindestens einem Reportergen in eine Expressionskassette kloniert, die in den Organismus über einen Vektor oder direkt in das Genom eingeführt wird. Dieses Reportergen sollte mittels Wachstums-Assay, Fluoreszenz-Assay, chemischen Assay, Biolumineszenz-Assay oder Resistenz-Assay oder über eine photometrische Messung einen leichten Nachweis ermöglichen. Beispiele für Reportergene, die erwähnt werden können, sind Antibiotika- oder Herbizidresistenzgene, Hydrolasegene, Fluoreszenzproteingene, Biolumineszenzgene, Zuckermetabolismus- oder Nukleotidmetabolismusgene oder Biosynthesegene, wie etwa das Ura3-Gen, das Ilv2-Gen, das Luciferasegen, das β -Galactosidasgen, das gfp-Gen, das 2-Desoxyglucose-6-phosphatphosphatasegen, das β -Glucuronidasgen, β -Lactamasegen, das Neomycin-Phosphotransferasegen, das Hygromycin-Phosphotransferasegen, eine mutierte Acetohydroxysäuresynthasegen (AHAS-Gen), auch bekannt als Acetolactatsynthasegen (ALS-Gen)], ein Gen für ein D-Aminosäure metabolisierendes Enzym oder das BASTA-Gen (= Gluphosinatresistenzgen). Diese Gene ermöglichen die einfache Messung und Quantifizierung der Transkriptionsaktivität und somit der Expression der Gene. Auf diese Weise können Genompositionen identifiziert werden, die eine abweichende Produktivität aufweisen.

[0436] In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst ein Nukleinsäurekonstrukt, zum Beispiel eine Expressionskassette stromaufwärts, d. h. am 5'-Ende der kodierenden Sequenz, einen Promoter und stromabwärts, d. h. am 3'-Ende, ein Polyadenylierungssignal und optional andere Regulationselemente, die operativ mit der dazwischenliegenden kodierenden Sequenz mit einer der Nukleinsäuren der SEQ ID NO, wie in Tabelle I, Spalte 5 und 7, dargestellt, verknüpft sind. Mit einer operativen Verknüpfung ist die sequentielle Anordnung von Promoter, kodierender Sequenz, Terminator und optional anderen Regulationselementen derart gemeint, dass jedes der Regulationselemente seine Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz auf angemessene Weise erfüllen kann. Die Sequenzen, die für die operative Verknüpfung bevorzugt sind, sind Targeting-Sequenzen, die die subzelluläre Lokalisierung in Plastiden gewährleisten. Es können jedoch auch Targeting-Sequenzen zum Gewährleisten der subzellulären Lokalisierung im Mitochondrium, im endoplasmatischen Retikulum (= ER), im Nucleus, in Ölkörperchen oder anderen Kompartimenten sowie Translationspromoter, wie etwa die 5'-Leitsequenz im Tabakmosaikvirus (Gallie et al., Nucl. Acids Res. 15 (1987), 8693–8711) eingesetzt werden.

[0437] Ein Nukleinsäurekonstrukt, zum Beispiel eine Expressionskassette, kann zum Beispiel einen konstitutiven Promoter oder einen gewebespezifischen Promoter (bevorzugt den USP- oder Napin-Promoter) des zu exprimierenden Gens und das ER-Retentionssignal enthalten. Für das ER-Retentionssignal wird bevorzugt die KDEL-Aminosäuresequenz (Lysin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin) oder die KKX-Aminosäuresequenz (Lysin-Lysin-X-Stop, wobei X jede andere bekannte Aminosäure bedeutet) verwendet.

[0438] Zur Expression in einem Wirtsorganismus, zum Beispiel einer Pflanze, wird die Expressionskassette vorteilhafterweise in einen Vektor, wie beispielsweise ein Plasmid, einen Phagen oder eine andere DNA inseriert, der die optimale Expression der Gene in dem Wirtsorganismus ermöglicht. Beispiele für geeignete Plasmide sind: in *E. coli* pLG338, pACYC184, pBR-Reihe, wie z. B. pBR322, pUC-Reihe, wie etwa pUC18 oder pUC19, M113mp-Reihe, pKC30, pRep4, pHS1, pHS2, S.Lc236, pMBL24, pLG200, pUR290, pIN-III¹³-B1, lgt 11 oder pBdCl; in *Streptomyces* pIJ101, pIJ364, pIJ702 oder pIJ361; in *Bacillus* pUB110, pC194 oder pBD214; in *Corynebacterium* pSA77 oder pAJ667; in Pilzen pALS1, pIL2 oder pBB116; andere vorteilhafte Pilzvektoren werden von Romanos, M. A. et al., [(1992) „Foreign gene expression in yeast: a review“, *Yeast* 8: 423–488] und von van den Hondel, C. A. M. J. J. et al. [(1991) „Heterologous gene expression in filamentous fungi“ sowie in *More Gene Manipulations in Fungi* [J. W. Bennet & L. L. Lasure, Hrsg., S. 396–428: Academic Press: San Diego] und in „Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi“ [van den Hondel, C. A. M. J. J. & Punt, P. J. (1991) in: *Applied Molecular Genetics of Fungi*, Peberdy, J. F. et al., Hrsg., S. 1–28, Cambridge University Press: Cambridge] beschrieben. Beispiele für vorteilhafte Hefe-Promoter sind 2 μ M, pAG-1, YEp6, YEp13 oder pEMBLye23. Beispiele für Algen- oder Pflanzenpromoter sind pLGV23, pGHlac⁺, pBIN19, pAK 2004, pVKH oder pDH51 (vgl. Schmidt, R. und Willmitzer, L., 1988). Die oben genannten Vektoren oder Derivate der oben genannten Vektoren stellen eine kleine Auswahl der möglichen Plasmide dar. Weitere Plasmide sind dem Fachmann gut bekannt und sind zum Beispiel in dem Buch *Cloning Vektors* (Hrsg. Pouwels P. H. et al. Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018) zu finden. Geeignete Pflanzenvektoren werden unter anderem in „*Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*“ (CRC Press), Ch. 6/7, S.

71– 119, beschrieben. Vorteilhafte Vektoren sind als Shuttle-Vektoren oder binäre Vektoren bekannt, die sich in *E. coli* und *Agrobacterium* replizieren.

[0439] Mit Vektoren sind, abgesehen von Plasmiden, alle anderen Vektoren gemeint, die dem Fachmann bekannt sind, wie beispielsweise Phagen, Viren, wie etwa SV40, CMV, Baculovirus, Adenovirus, Transposone, IS-Elemente, Phasmide, Phagemide, Cosmide, lineare oder zirkuläre DNA. Diese Vektoren können in dem Wirtsorganismus autonom repliziert werden oder chromosomal repliziert werden, wobei die chromosomale Replikation bevorzugt ist.

[0440] In einer weiteren Ausführungsform des Vektors kann die Expressionskassette gemäß der Erfindung in die Organismen vorteilhafterweise auch in Form einer linearen DNA eingeführt werden und in das Genom des Wirtsorganismus vorteilhafterweise mittels heterologer oder homologer Rekombination integriert werden. Diese lineare DNA kann sich aus einem linearisierten Plasmid oder nur aus der Expressionskassette als Vektor oder den Nukleinsäuresequenzen gemäß der Erfindung zusammensetzen.

[0441] In einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform kann die Nukleinsäuresequenz gemäß der Erfindung auch alleine in einen Organismus eingeführt werden.

[0442] Wenn zusätzlich zu der Nukleinsäuresequenz gemäß der Erfindung weitere Gene in den Organismus eingeführt werden sollen, können alle zusammen mit einem Reportergen in einen einzigen Vektor oder jedes einzelne Gen mit einem Reportergen in jeweils einen Vektor in den Organismus eingeführt werden, wobei die verschiedenen Vektoren gleichzeitig oder nacheinander eingeführt werden können.

[0443] Der Vektor enthält vorteilhafterweise mindestens eine Kopie der Nukleinsäuresequenzen gemäß der Erfindung und/oder die Expressionskassette (= Genkonstrukt) gemäß der Erfindung.

[0444] Die Erfindung stellt ferner einen isolierten rekombinanten Expressionsvektor bereit, der eine Nukleinsäure umfasst, die ein Polypeptid kodiert, wie in Tabelle II, Spalte 5 oder 7, dargestellt, wobei die Expression des Vektors in einer Wirtszelle zu einer erhöhten Toleranz gegenüber Umweltstress, verglichen mit einer Wildtyp-Sorte der Wirtszelle, führt. Wie hierin verwendet, bezieht sich der Begriff „Vektor“ auf ein Nukleinsäuremolekül, das in der Lage ist, eine andere Nukleinsäure, mit der es verknüpft wurde, zu transportieren. Ein Vektortyp ist ein „Plasmid“, das sich auf eine zirkuläre doppelsträngige DNA-Schleife bezieht, in die zusätzliche DNA-Segmente ligiert werden können. Ein anderer Vektortyp ist ein viraler Vektor, wobei zusätzliche DNA-Segmente in das virale Genom ligiert werden können. Bestimmte Vektoren sind in der Lage, sich in einer Wirtszelle, in die sie eingeführt werden, autonom zu replizieren (z. B. bakterielle Vektoren, die einen bakteriellen Replikationsstartpunkt aufweisen und episomale Säugetiervektoren). Andere Vektoren (z. B., nicht episomale Säugetiervektoren) werden bei der Einführung in die Wirtszelle in das Genom einer Wirtszelle oder einer Organelle integriert, und werden dadurch zusammen mit dem Wirts- oder Organellengenom repliziert. Außerdem sind bestimmte Vektoren in der Lage, die Expression von Genen, mit denen sie operativ verknüpft sind, zu steuern. Solche Vektoren werden hierin als „Expressionsvektoren“ bezeichnet. Im Allgemeinen liegen Expressionsvektoren, die bei DNA-Rekombinationstechniken nützlich sind, häufig in Form von Plasmiden vor. In der vorliegenden Spezifikation können „Plasmid“ und „Vektor“ austauschbar verwendet werden, da das Plasmid die am häufigsten verwendete Vektorform ist. Die Erfindung soll jedoch auch solche anderen Formen von Expressionsvektoren, wie etwa virale Vektoren (z. B. replikationsdefektive Retroviren, Adenoviren, und adenoassoziierte Viren) enthalten, die äquivalente Funktionen liefern.

[0445] Die rekombinanten Expressionsvektoren der Erfindung umfassen eine Nukleinsäure der Erfindung in einer Form, die für die Expression der Nukleinsäure in einer Wirtszelle geeignet ist, was heißt, dass die rekombinanten Expressionsvektoren eine oder mehrere Regulationssequenzen enthalten, die auf der Basis der für die Expression zu verwendenden Wirtszellen ausgewählt werden, die operativ mit der zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz verknüpft sind. Wie hierin in Bezug auf einen rekombinanten Expressionsvektor verwendet, soll „operativ verknüpft“ bedeuten, dass die interessierende Nukleinsäuresequenz mit der (den) Regulationssequenz(en) auf eine Weise verknüpft ist, die die Expression einer Nukleotidsequenz (z. B. in eine In-vitro-Transkriptions-/Translationssystem oder in einer Wirtszelle ermöglicht, wenn der Vektor in die Wirtszelle eingeführt wird). Der Begriff „Regulationssequenz“ soll Promoter, Enhancer und andere Expressionskontroll-elemente (z. B. Polyadenylierungssignale) enthalten. Solche Regulationssequenzen werden zum Beispiel in Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA (1990) und Gruber und Crosby, in: *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Hrsg. Glick und Thompson, Kapitel 7, 89–108, CRC Press: Boca Raton, Florida, einschließlich der darin angeführten Literaturstellen, beschrieben. Regulationssequenzen enthalten diejenigen, die die konstitutive Expression einer Nukleotidse-

quenz in vielen Arten von Wirtszellen steuern und diejenigen, die die Expression der Nukleotidsequenz nur in bestimmten Wirtszellen oder unter bestimmten Bedingungen steuern. Der Fachmann wird zu schätzen wissen, dass die Entwicklung des Expressionsvektors von solchen Faktoren abhängen kann, wie der Wahl der zu transformierenden Wirtszelle, dem gesuchten Expressionslevel des Polypeptids usw. Die Expressionsvektoren der Erfindung können in Wirtszellen eingeführt werden, um so Polypeptid oder Peptide, einschließlich Fusionspolypeptide oder -peptide herzustellen, die durch Nukleinsäuren kodiert werden, wie hierin beschrieben (z. B. GABA-bezogene Proteine, mutante Formen von GABA-bezogenen Proteinen, Fusionspolypeptide usw.).

[0446] die rekombinanten Expressionsvektoren der Erfindung können für die Expression des Polypeptids der Erfindung in Pflanzenzellen entwickelt werden. Zum Beispiel können Gene, die für GABA-bezogene Proteine kodieren, in Pflanzenzellen exprimiert werden (vgl. Schmidt, R. und Willmitzer, L., 1988, High efficiency Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Arabidopsis thaliana leaf and cotyledon explants, Plant Cell Rep. 583–586; Plant Molecular Biology and Biotechnology, C Press, Boca Raton, Florida, Kapitel 6/7, S. 71–119 (1993); F. F. White, B. Jené et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg. Kung und R. Wu, 128–43, Academic Press: 1993; Potrykus, 1991, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42: 205–225 und dann angeführten Literaturstellen). Geeignete Wirtszellen werden in Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press: San Diego, CA (1990) weiter diskutiert. Alternativ dazu kann der rekombinante Expressionsvektor in vitro, zum Beispiel unter Verwendung von T7-Promoter-Regulationssequenzen und T7-Polymerase transkribiert und translatiert werden.

[0447] Die Expression von Polypeptiden in Prokaryoten wird meistens mit Vektoren durchgeführt, die konstitutive oder induzierbare Promoter enthalten, die entweder die Expression von Fusions- oder Nicht-Fusionspolypeptiden steuern. Fusionsvektoren addieren eine gewisse Anzahl an Aminosäuren an ein dadurch kodiertes Polypeptid, gewöhnlich am Aminoterminus des rekombinanten Polypeptids, jedoch auch am C-Terminus oder fusioniert in geeigneten Regionen in den Polypeptiden. Solche Fusionsvektoren dienen typischerweise drei Zwecken: 1) zur Erhöhung der Expression eines rekombinanten Polypeptids; 2) zur Erhöhung der Löslichkeit eines rekombinanten Polypeptids; und 3) zur Unterstützung der Reinigung eines rekombinanten Polypeptids, indem sie bei der Affinitätsreinigung als Ligand wirken. Häufig wird bei Fusionsexpressionsvektoren eine proteolytische Spaltstelle am Verbindungspunkt der Fusionseinheit und dem rekombinanten Polypeptid eingeführt, um die Trennung des rekombinanten Polypeptids von der Fusionseinheit im Anschluss an die Reinigung des Fusionspolypeptids zu ermöglichen. Solche Enzyme und deren entsprechende Erkennungssequenzen enthalten Factor Xa, Thrombin und Enterokinase.

[0448] Beispielsweise kann die Pflanzenexpressionskassette in den pRT-Transformationsvektor ((a) Toepfer et al., 1993, Methods Enzymol., 217: 66–78; (b) Toepfer et al. 1987, Nucl. Acids. Res. 15: 5890 ff.) installiert werden.

[0449] Alternativ kann ein rekombinanten Vektor (= Expressionsvektor) auch in vitro, z. B. unter Verwendung des T7-Promoters und der T7-RNA-Polymerase, transkribiert und translatiert werden.

[0450] In Prokaryoten eingesetzte Expressionsvektoren bedienen sich häufig induzierbarer Systeme mit und ohne Fusionsproteine oder Fusionsoligopeptide, wobei diese Fusionen sowohl N-terminal als auch C-terminal oder in andere geeigneten Domänen eines Proteins erfolgen können. Solche Fusionsvektoren weisen gewöhnlich die folgenden Zwecke auf: i.) der Erhöhung der RNA-Expressionsrate; ii.) der Erhöhung der erzielbaren Proteinsyntheserate; iii.) der Erhöhung der Löslichkeit des Proteins; iv.) oder der Vereinfachung der Reinigung mittels einer Bindungssequenz, die für die Affinitätschromatographie geeignet ist. Proteolytische Spaltstellen werden ebenfalls häufig über Fusionsproteine eingeführt, was die Spaltung eines Abschnitts des Fusionsproteins und die Reinigung ermöglicht. Solche Erkennungssequenzen für Proteasen werden erkannt, z. B. Faktor Xa, Thrombin und Enterokinase.

[0451] Typische vorteilhafte Fusions- und Expressionsvektoren sind pGEX [Pharmacia Biotech Inc; Smith, D. B. und Johnson, K. S. (1988) Gene 67: 31–40], pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) und pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, NJ), der Glutathion-S-transferase (GST), Maltose-Bindungsprotein oder Protein A enthält.

[0452] In einer Ausführungsform wird die kodierende Sequenz des Polypeptids der Erfindung in einen pGEX-Expressionsvektor kloniert, um einen Vektor zu erzeugen, der ein Fusionspolypeptid kodiert, das vom N-Terminus bis zum C-Terminus, GST-Thrombin-Spaltstelle-X-Polypeptid umfasst. Das Fusionspolypeptid kann durch Affinitätschromatographie unter Verwendung von Glutathion-Agaroseharz gereinigt werden. Rekombinante

GABA-bezogene Proteine, die nicht mit GST fusioniert sind, können durch Spalten des Fusionspolypeptids mit Thrombin gewonnen werden.

[0453] Andere Beispiele für E.-coli-Expressionsvektoren sind pTrc [Amann et al., (1988) *Gene* 69: 301–315] und pET-Vektoren [Studier et al., *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, Kalifornien (1990) 60–89; Stratagene, Amsterdam, Niederlande].

[0454] Die Zielgenexpression aus dem pTrc-Vektor beruht auf der Transkription durch Wirts-RNA-Polymerase von einem Hybrid-trp-lac-Fusionspromoter. Die Zielgenexpression aus dem pET11d-Vektor beruht auf der Transkription von einem T7-gn10-lac-Fusionspromoter, die von einer coexprimierten viralen RNA-Polymerase (T7gn1) vermittelt wird. Diese virale Polymerase wird von den Wirtsstämmen BL21(DE3) oder HMS174(DE3) von einem residenten I-Prophagen geliefert, der ein T7 gn1-Gen unter der Transkriptionskontrolle des lacUV5-Promoters birgt.

[0455] In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden die Proteine der Erfindung, die den GABA-Gehalt in einer Zelle steigern, d. h. die GABA-bezogenen Proteine, in Pflanzen und Pflanzenzellen, wie etwa einzelligen Pflanzenzellen (z. B. Algen) (vgl. Falciatore et al., 1999, *Marine Biotechnology* 1 (3): 239–251 und darin angeführte Literaturstellen) und Pflanzenzellen von höheren Pflanzen (z. B. den Spermatophyten, wie etwa Nutzpflanzen) exprimiert. Ein Nukleinsäuremolekül, das für GABA-bezogene Proteine kodiert, wie in Tabelle II, Spalte 5 oder 7 dargestellt, kann in eine Pflanzenzelle auf beliebige Weise, einschließlich Transfektion, Transformation oder Transduktion, Elektroporation, Teilchenbeschuss, Agroinfektion und dergleichen, „eingeführt“ werden. Ein Transformationsverfahren, das dem Fachmann bekannt ist, ist das Eintauchen einer blühenden Pflanze in eine Agrobacteria-Lösung, wobei das Agrobacterium die Nukleinsäure der Erfindung enthält, gefolgt vom Züchten der transformierten Gameten.

[0456] Andere geeignete Verfahren zum Transformieren oder Transfizieren von Wirtszellen, einschließlich Pflanzenzellen, sind in Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2. Ausg., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989 und anderen Laborhandbüchern, wie etwa *Methods in Molecular Biology*, 1995, Band 44, *Agrobacterium protocols*, Hrsg.: Gartland und Davey, Humane Press, Totooma, New Jersey, zu finden. Da die Toleranz gegen biotischen und abiotischen Stress ein allgemeines Merkmal ist, das in eine große Vielzahl von Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Rübsamen und Canola, Maniok, Pfeffer, Sonnenblume und Tagetes, nachtschattenartige Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Luzerne, buschartige Pflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss), perennierende Gräser und Futterpflanzen vererbt werden soll, sind diese Nutzpflanzen auch bevorzugte Zielpflanzen für eine gentechnische Veränderung als einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung. Futterpflanzen enthalten, sind aber nicht beschränkt auf Weizengras, Kanarisches Glanzgras, Trespe, Weidelgras, Rispengras, Knäuelgras, Luzerne, Salfoin, gewöhnlicher Hornklee, Schweden-Klee, Wiesenklee/Roter Klee und Honigklee.

[0457] In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die Transfektion eines Nukleinsäuremoleküls, das für GABA-bezogene Proteine, wie in Tabelle II, Spalte 5 oder 7 dargestellt, in eine Pflanze durch Agrobacterium-vermittelten Gentransfer erzielt. Die Agrobacterium-vermittelte Pflanzentransformation kann zum Beispiel unter Verwendung des GV3101(pMP90)-Stamms (Koncz und Schell, 1986, *Mol. Gen. Genet.* 204: 383–396) oder des LBA4404-Stamms (Clontech) von *Agrobacterium tumefaciens* durchgeführt werden. Die Transformation kann mittels Standardtransformations- und Regenerationstechniken durchgeführt werden (Deblaere et al., 1994, *Nucl. Acids Res.* 13: 4777–4788; Gelvin, Stanton B. und Schilperoort, Robert A, *Plant Molecular Biology Manual*, 2. Ausg. – Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1995. – in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-P ISBN 0-7923-2731-4; Glick, Bernard R.; Thompson, John E., *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Boca Raton : CRC Press, 1993 360 S., ISBN 0-8493-5164-2). Zum Beispiel kann Rübsamen durch Kotyledon- oder Hypocotyltransformation transformiert werden (Moloney et al., 1989, *Plant Cell Report* 8: 238–242; De Block et al., 1989, *Plant Physiol.* 91: 694–701). Die Verwendung von Antibiotika für Agrobacterium und Pflanzenselektion hängt von dem binären Vektor und dem Agrobacterium-Stamm ab, die für die Transformation verwendet werden. Die Rübsamen-Selektion wird normalerweise unter Verwendung von Kanamycin als selektierbarer Markerpflanze durchgeführt. Ein Agrobacterium-vermittelter Gentransfer auf Flachs kann zum Beispiel unter Verwendung einer Technik durchgeführt werden, die von Mlynarova et al., 1994, *Plant Cell Report* 13: 282–285, beschrieben wird. Darüber hinaus kann die Transformation von Sojabohne zum Beispiel unter Verwendung einer Technik durchgeführt werden, die in der europäischen Patentschrift Nr. 0424 047, der US-Patentschrift Nr. 5,322,783, der europäischen Patentschrift Nr. 0397 687, der US-Patentschrift Nr. 5,376,543 oder der US-Patentschrift Nr. 5,169,770, beschrieben wird. Die Transformation von

Mais kann durch Teilchenbeschuss, Polyethylenglycolvermittelter DNA-Aufnahme oder über die Siliciumcarbidfasertechnik erzielt werden. (vgl. zum Beispiel Freeling und Walbot „The maize handbook“ Springer Verlag: New York (1993) ISBN 3-540-97826-7). Ein spezifisches Beispiel für die Maistransformation ist in der US-Patentschrift Nr. 5,990,387 zu finden, und ein spezifisches Beispiel für die Weizentransformation kann in der PCT-Anmeldung Nr. WO 93/07256 gefunden werden.

[0458] Gemäß der vorliegenden Erfindung kann das eingeführte Nukleinsäuremolekül, das für GABA-bezogene Proteine kodiert, wie in Tabelle II, Spalte 5 oder 7 dargestellt, in der Pflanzenzelle stabil erhalten werden, wenn es in ein nicht chromosomales autonomes Replicon integriert wird oder in die Pflanzenchromosome oder das Organellengenom integriert wird. Alternativ kann das eingeführte Gen, das für GABA-bezogene Proteine kodiert, auf einem extrachromosomalen, nicht replizierenden Vektor vorhanden sein und kann vorübergehend exprimiert werden oder vorübergehend aktiv sein.

[0459] In einer Ausführungsform kann ein homologer rekombinanter Mikroorganismus erzeugt werden, wobei das Gen, das für GABA-bezogene Proteine kodiert, in ein Chromosom integriert ist, ein Vektor hergestellt wird, der mindestens einen Anteil eines Nukleinsäuremoleküls enthält, das für GABA-bezogene Proteine kodiert, wie in Tabelle II, Spalte 5 oder 7 dargestellt, in das eine Deletion, Addition oder Substitution eingeführt wurde, um dadurch das Gen für die GABA-bezogenen Proteine zu verändern, z. B. funktionell zu disruptieren. Bevorzugt ist das Gen, das GABA-bezogene Proteine kodiert, ein Hefe- oder ein E.-coli- oder ein Physcomitrella-patens- oder ein Synechocystis- oder ein Thermus-thermophilus- oder ein Brassica-napus-Gen, es kann aber auch ein Homolog aus einem verwandten Organismus, oder einer Pflanze oder sogar aus einer Säugetier- oder Insektenquelle sein. Der Vektor kann derart beschaffen sein, dass bei der homologen Rekombination das endogene Nukleinsäuremolekül, das für GABA-bezogene Proteine kodiert, wie in Tabelle II, Spalte 5 oder 7 dargestellt, mutiert oder anderweitig verändert ist, aber noch immer ein funktionelles Polypeptid kodiert (z. B. kann die stromaufwärtige Regulationsregion verändert werden, um dadurch die Expression der endogenen GABA-bezogenen Proteine zu verändern). In einer bevorzugten Ausführungsform wird die biologische Aktivität des Proteins der Erfindung bei der homologen Rekombination erhöht. Um mittels homologer Rekombination eine Punktmutation zu erzeugen, können DNA-RNA-Hybride in einer Technik verwendet werden, die als Chimeraplasty bekannt ist (Cole-Strauss et al., 1999, Nucleic Acids Research 27 (5): 1323–1330 und Kmiec, 1999 Gene therapy American Scientist. 87 (3) 240–247). Prozeduren zur homologen Rekombination in Physcomitrella patens sind dem Fachmann gut bekannt und werden für eine Verwendung hierin in Betracht gezogen.

[0460] Während in dem homologen Rekombinationsvektor der veränderte Abschnitt des Nukleinsäuremoleküls, das für die GABA-bezogenen Proteine kodiert, wie in Tabelle II, Spalte 5 oder 7 dargestellt, an seinen 5'- und 3'-Enden durch ein zusätzliches Nukleinsäuremolekül des Gens, das die GABA-bezogenen Proteine kodiert, flankiert ist, um zu ermöglichen, dass die homologe Rekombination zwischen dem exogenen GABA-bezogenen Proteinen, das von dem Vektor getragen wird, und einem endogenen Gen, das für die GABA-bezogenen Proteine kodiert, in einem Mikroorganismus oder einer Pflanze stattfindet. Das zusätzliche flankierende Nukleinsäuremolekül, das die GABA-bezogenen Proteine kodiert, weist eine für die erfolgreiche homologe Rekombination mit dem endogenen Gen ausreichende Länge auf. Typischerweise sind in dem Vektor mehrere hundert Basenpaare bis zu Kilobasen flankierender DNA (sowohl am 5'- als auch am 3'-Ende) enthalten. Vgl. z. B. Thomas, K. R., und Capecchi, M. R., 1987, Cell 51: 503 für eine Beschreibung von Vektoren für die homologe Rekombination oder Strepp et al., 1998, PNAS, 95 (8): 4368–4373 für eine cDNA-basierte Rekombination in Physcomitrella patens). Der Vektor wird in einen Mikroorganismus oder eine Pflanzenzelle eingeführt (z. B. mittels Polyethylenglycolvermittelter DNA), und Zellen, in denen das eingeführte Gen, das die GABA-bezogenen Proteine kodiert, homolog mit dem endogenen Gen, das für die GABA-bezogenen Proteine kodiert, rekombiniert hat, werden unter Verwendung von Techniken selektiert, die dem Fachmann bekannt sind.

[0461] Unabhängig davon, ob es in einem extra-chromosomalen, nicht replizierenden Vektor oder einem Vektor vorliegt, der in ein Chromosom integriert ist, befindet sich das Nukleinsäuremolekül, das für GABA-bezogene Proteine kodiert, wie in Tabelle II, Spalte 5 oder 7 dargestellt, bevorzugt in einer Pflanzenexpressionskassette. Eine Pflanzenexpressionskassette enthält bevorzugt Regulationssequenzen, die in der Lage sind, eine Genexpression in Pflanzenzellen zu steuern, die operativ verknüpft sind, so dass jede Sequenz ihre Funktion erfüllen kann, zum Beispiel die Termination der Transkription durch Polyadenylierungssignale. Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind diejenigen, die aus Agrobacteriumtumefaciens-t-DNA stammen, wie das als Octopinsynthese bekannte Gen 3 des Ti-Plasmids pTiACH5 (Gielen et al., 1984, EMBO J. 3: 835) oder funktionelle Äquivalente davon, es sind aber auch alle anderen Terminatoren geeignet, die in Pflanzen funktionell aktiv sind. Da die Expression von Pflanzengen sehr häufig nicht auf Transkriptionslevel beschränkt ist, enthält eine Pflanzenexpressionskassette bevorzugt andere operativ verknüpfte Sequenzen, wie Translationsenhancers, wie etwa die Overdrive-Sequenz, die die 5'-untranslatierte Leader-Sequenz aus dem Tabakmosaikvirus

enthält, die das Polypeptid/RNA-Verhältnis steigert (Gallie et al., 1987, Nucl. Acids Research 15: 8693–8711). Beispiele für Pflanzenexpressionsvektoren enthalten diejenigen, die in: Becker, D. et al., 1992, New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border, Plant Mol. Biol. 20: 1195–1197; und Bevan, M. W., 1984, Binary Agrobacterium vectors for plant transformation, Nucl. Acid. Res. 12: 8711–8721; und Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15–38, spezifiziert werden.

[0462] „Transformation“ wird hierin als ein Verfahren zur Einführung heterologer DNA in eine Pflanzenzelle, ein Pflanzengewebe oder eine Pflanze definiert. Sie kann unter natürlichen oder künstlichen Bedingungen unter Verwendung verschiedener Verfahren stattfinden, die dem Fachmann gut bekannt sind. Die Transformation kann auf einem beliebigen bekannten Verfahren zur Insertion fremder Nukleinsäuresequenzen in eine prokaryotische oder eukaryotische Wirtszelle beruhen. Das Verfahren wird auf der Basis der zu transformierenden Wirtszelle ausgewählt und kann enthalten, ist aber nicht beschränkt auf virale Infektion, Elektroporation, Lipofektion und Teilchenbeschuss. Solche „transformierten“ Zellen enthalten stabil transformierte Zellen, in denen die inserierte DNA entweder als ein sich autonom replizierendes Plasmid oder als Teil des Wirtschromosoms replikationsfähig ist. Sie können auch Zellen enthalten, die die inserierte DNA oder RNA für begrenzte Zeiträume vorübergehend exprimieren. Transformierte Pflanzenzellen, Pflanzengewebe oder Pflanzen sollen nicht nur das Endprodukt eines Transformationsprozess einschließen, sondern auch dessen transgene Nachkommen.

[0463] Die Begriffe „transformiert“, „transgen“ und „rekombinant“ beziehen sich auf einen Wirtsorganismus, wie etwa ein Bakterium oder eine Pflanze, in die ein heterologes Nukleinsäuremolekül eingeführt wurde. Das Nukleinsäuremolekül kann stabil in das Genom des Wirts integriert werden oder das Nukleinsäuremolekül kann auch als extrachromosomales Molekül vorhanden sein. Ein solches extrachromosomales Molekül kann autoreplizierend sein. Transformierte Zellen, Gewebe oder Pflanzen sollen nicht nur das Endprodukt eines Transformationsprozess einschließen, sondern auch dessen transgene Nachkommen. Ein „nicht transformierter“, „nicht transgener“ oder „nicht rekombinanter“ Wirt bezieht sich auf einen Wildtyp-Organismus, z. B. ein Bakterium oder eine Pflanze, die das heterologe Nukleinsäuremolekül nicht enthält.

[0464] Eine „transgene Pflanze“, wie hierin verwendet, bezieht sich auf eine Pflanze, die eine fremde Nukleotidsequenz enthält, die entweder in ihr Kerngenom oder ihr Organellengenom inseriert ist. Er schließt ferner die nachkommenden Generationen ein, d. h. die Generationen T1, T2 und die folgenden Generationen, oder BC1, BC2 und die folgenden Generationen, sowie Kreuzungen davon mit nicht transgenen oder anderen transgenen Pflanzen.

[0465] Der Wirtsorganismus (= transgene Organismus) enthält vorteilhafterweise mindestens eine Kopie der Nukleinsäure gemäß der Erfindung und/oder das Nukleinsäurekonstrukt gemäß der Erfindung.

[0466] Prinzipiell können alle Pflanzen als Wirtsorganismen verwendet werden. Bevorzugte transgene Pflanzen werden zum Beispiel ausgewählt aus den Familien Aceraceae, Anacardiaceae, Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Cactaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Nymphaeaceae, Papaveraceae, Rosaceae, Salicaceae, Solanaceae, Arecaceae, Bromeliaceae, Cyperaceae, Iridaceae, Liliaceae, Orchidaceae, Gentianaceae, Labiaceae, Magnoliaceae, Ranunculaceae, Carifolaceae, Rubiaceae, Scrophulariaceae, Caryophyllaceae, Ericaceae, Polygonaceae, Violaceae, Juncaceae oder Poaceae und bevorzugt aus einer Pflanze, ausgewählt aus der Gruppe der Familien Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Papaveraceae, Rosaceae, Solanaceae, Liliaceae oder Poaceae. Bevorzugt sind Nutzpflanzen, wie etwa Pflanzen, die vorteilhafterweise ausgewählt werden aus der Gruppe der Gattung Erdnuss, Ölrap, Canola, Sonnenblume, Färberdistel, Olive, Sesam, Haselnuss, Mandel, Avocado, Lorbeer, Gartenkürbis/Moschuskürbis, Lein, Soja, Pistazie, Borretsch, Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Sorghum und Hirse, Triticale, Reis, Gerste, Cassava, Kartoffel, Zuckerrübe, Aubergine, Luzerne und perennierende Gräser und Futterpflanzen, Ölpalme, Gemüse (Kohlgemüse, Wurzelgemüse, Knollengemüse, Hülsengemüse, Fruchtgemüse, Zwiebelgemüse, Blatt- und Stielgemüse), Buchweizen, Topinambur, Ackerbohne, Wicken, Linse, Buschbohne, Lupine, Klee und Luzerne, um nur einige von ihnen zu erwähnen.

[0467] In einer Ausführungsform der Erfindung werden transgene Pflanzen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Maiskorn, Soja, Ölrap (einschließlich Canola und Winterölrap), Baumwolle, Weizen und Reis.

[0468] In einer bevorzugt Ausführungsform wird die Wirtspflanze ausgewählt aus den Familien Aceraceae, Anacardiaceae, Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Cactaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Nymphaeaceae, Papaveraceae, Rosaceae, Salicaceae, Solanaceae, Arecaceae, Bromeliaceae, Cyperaceae, Iridaceae, Liliaceae, Orchidaceae, Gentianaceae, Labiaceae, Magnoliaceae, Ranunculaceae,

Carifolaceae, Rubiaceae, Scrophulariaceae, Caryophyllaceae, Ericaceae, Polygonaceae, Violaceae, Juncaceae oder Poaceae und bevorzugt aus einer Pflanze, ausgewählt aus der Gruppe der Familien Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Papaveraceae, Rosaceae, Solanaceae, Liliaceae oder Poaceae. Als Wirtspflanzen bevorzugt sind Nutzpflanzen und insbesondere die oben erwähnten Pflanzen, wie etwa die oben erwähnten Familien und Gattungen, zum Beispiel bevorzugt die Arten *Anacardium occidentale*, *Calendula officinalis*, *Carthamus tinctorius*, *Cichorium intybus*, *Cynara scolymus*, *Helianthus annuus*, *Tagetes lucida*, *Tagetes erecta*, *Tagetes tenuifolia*; *Daucus carota*; *Corylus avellana*, *Corylus colurna*, *Borago officinalis*; *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp., *Sinapis arvensis* *Brassica juncea*, *Brassica juncea* var. *juncea*, *Brassica juncea* var. *crispifolia*, *Brassica juncea* var. *foliosa*, *Brassica nigra*, *Brassica sinapioides*, *Melanosinapis communis*, *Brassica oleracea*, *Arabidopsis thaliana*, *Anana comosus*, *Ananas ananas*, *Bromelia comosa*, *Carica papaya*, *Cannabis sativa*, *Ipomoea batatas*, *Ipomoea pandurata*, *Convolvulus batatas*, *Convolvulus tiliaceus*, *Ipomoea fastigiata*, *Ipomoea tiliacea*, *Ipomoea triloba*, *Convolvulus panduratus*, *Beta vulgaris*, *Beta vulgaris* var. *altissima*, *Beta vulgaris* var. *vulgaris*, *Beta maritima*, *Beta vulgaris* var. *perennis*, *Beta vulgaris* var. *conditiva*, *Beta vulgaris* var. *esculenta*, *Cucurbita maxima*, *Cucurbita mixta*, *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata*, *Olea europaea*, *Manihot utilissima*, *Janipha manihot*, *Jatropha manihot*, *Manihot aipil*, *Manihot dulcis*, *Manihot manihot*, *Manihot melanobasis*, *Manihot esculenta*, *Ricinus communis*, *Pisum sativum*, *Pisum arvense*, *Pisum humile*, *Medicago sativa*, *Medicago falcata*, *Medicago varia*, *Glycine max* *Dolichos soja*, *Glycine gracilis*, *Glycine hispida*, *Phaseolus max*, *Soja hispida*, *Soja max*, *Cocos nucifera*, *Pelargonium grossularioides*, *Oleum cocoas*, *Laurus nobilis*, *Persea americana*, *Arachis hypogaea*, *Linum usitatissimum*, *Linum humile*, *Linum austriacum*, *Linum bienne*, *Linum angustifolium*, *Linum catharticum*, *Linum flavum*, *Linum grandiflorum*, *Adenolinum grandiflorum*, *Linum lewisii*, *Linum narbonense*, *Linum perenne*, *Linum perenne* var. *lewisii*, *Linum pratense*, *Linum trigynum*, *Punica granatum*, *Gossypium hirsutum*, *Gossypium arboreum*, *Gossypium barbadense*, *Gossypium herbaceum*, *Gossypium thurberi*, *Musa nana*, *Musa acuminata*, *Musa paradisiaca*, *Musa* spp., *Elaeis guineensis*, *Papaver orientale*, *Papaver rhoeas*, *Papaver dubium*, *Sesamum indicum*, *Piper aduncum*, *Piper amalago*, *Piper angustifolium*, *Piper auritum*, *Piper betel*, *Piper cubeba*, *Piper longum*, *Piper nigrum*, *Piper retrofractum*, *Artanthe adunca*, *Artanthe elongata*, *Peperomia elongata*, *Piper elongatum*, *Steffensia elongata*, *Hordeum vulgare*, *Hordeum jubatum*, *Hordeum murinum*, *Hordeum secalinum*, *Hordeum distichon* *Hordeum aegiceras*, *Hordeum hexastichon*, *Hordeum hexastichum*, *Hordeum irregulare*, *Hordeum sativum*, *Hordeum secalinum*, *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua* var. *sativa*, *Avena hybrida*, *Sorghum bicolor*, *Sorghum halepense*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum vulgare*, *Andropogon drummondii*, *Holcus bicolor*, *Holcus sorghum*, *Sorghum aethiopicum*, *Sorghum arundinaceum*, *Sorghum caffrorum*, *Sorghum cernuum*, *Sorghum dochna*, *Sorghum drummondii*, *Sorghum durra*, *Sorghum guineense*, *Sorghum lanceolatum*, *Sorghum nervosum*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum subglabrescens*, *Sorghum verticilliflorum*, *Sorghum vulgare*, *Holcus halepensis*, *Sorghum miliaceum* *millet*, *Panicum militaceum*, *Zea mays*, *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum* or *Triticum vulgare*, *Cofea* spp., *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, *Coffea liberica*, *Capsicum annuum*, *Capsicum annuum* var. *glabrusculum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum annuum*, *Nicotiana tabacum*, *Solanum tuberosum*, *Solanum melongena*, *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon pyriforme*, *Solanum integrifolium*, *Solanum lycopersicum* *Theobroma cacao* oder *Camellia sinensis*.

[0469] Anacardiaceae, wie die Gattungen *Pistacia*, *Mangifera*, *Anacardium* z. B. die Spezies *Pistacia vera* [Pistazienbaum, Pistazie], *Mangifer indica* [Mango] oder *Anacardium occidentale* [Cashew]; Asteraceae wie etwa die Gattungen *Calendula*, *Carthamus*, *Centaurea*, *Cichorium*, *Cynara*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Locusta*, *Tagetes*, *Valeriana*, z. B. die Spezies *Calendula officinalis* [Ringelblume], *Carthamus tinctorius* [Saflor], *Centaurea cyanus* [Kornblume], *Cichorium intybus* [Gemeine Wegwarte], *Cynara scolymus* [Artischocke], *Helianthus annuus* [Sonnenblume], *Lactuca sativa*, *Lactuca crispa*, *Lactuca esculenta*, *Lactuca scariola* L. ssp. *sativa*, *Lactuca scariola* L. var. *integrata*, *Lactuca scariola* L. var. *integrifolia*, *Lactuca sativa* subsp. *romana*, *Locusta communis*, *Valeriana locusta* [Salat], *Tagetes lucida*, *Tagetes erecta* oder *Tagetes tenuifolia* [Studentenblume]; Apiaceae, wie etwa die Gattungen *Daucus*, z. B. die Spezies *Daucus carota* [Karotte]; Betulaceae, wie etwa die Gattungen *Corylus*, z. B. die Spezies *Corylus avellana* oder *Corylus colurna* [Haselnuss]; Boraginaceae, wie etwa die Gattungen *Borago*, z. B. die Spezies *Borago officinalis* [Borretsch]; Brassicaceae, wie etwa die Gattungen *Brassica*, *Melanosinapis*, *Sinapis*, *Arabidopsis*, z. B. die Spezies *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [Canola, Ölrap, Rübsamen], *Sinapis arvensis* *Brassica juncea*, *Brassica juncea* var. *juncea*, *Brassica juncea* var. *crispifolia*, *Brassica juncea* var. *foliosa*, *Brassica nigra*, *Brassica sinapioides*, *Melanosinapis communis* [Senf], *Brassica oleracea* [Futtermübe] oder *Arabidopsis thaliana*; Bromeliaceae, wie etwa die Gattungen *Anana*, *Bromelia*, z. B. die Spezies *Anana comosus*, *Ananas ananas* oder *Bromelia comosa* [Ananas]; Caricaceae, wie etwa die Gattungen *Carica*, z. B. die Spezies *Carica papaya* [Papaya]; Cannabaceae, wie etwa die Gattungen *Cannabis*, z. B. die Spezies *Cannabis sativa* [Hanf], Convolvulaceae, wie etwa die Gattungen *Ipomea*, *Convolvulus*, z. B. die Spezies *Ipomoea batatas*, *Ipomoea pandurata*, *Convolvulus batatas*, *Convolvulus tiliaceus*, *Ipomoea fastigiata*, *Ipomoea tiliacea*, *Ipomoea triloba* oder *Convolvulus panduratus* [Süßkartoffel, Prunkwinde,

Wildkartoffel], Chenopodiaceae, wie etwa die Gattungen Beta, d. h. die Spezies Beta vulgaris, Beta vulgaris var. altissima, Beta vulgaris var. Vulgaris, Beta maritima, Beta vulgaris var. perennis, Beta vulgaris var. conditiva or Beta vulgaris var. esculenta [Zuckerrübe]; Cucurbitaceae, wie etwa die Gattungen Cucurbita, z. B. die Spezies Cucurbita maxima, Cucurbita mixta, Cucurbita pepo oder Cucurbita moschata [Gartenkürbis, Moschuskürbis]; Elaeagnaceae, wie etwa die Gattungen Elaeagnus, z. B. die Spezies Olea europaea [Olive]; Ericaceae, wie etwa die Gattungen Kalmia, z. B. die Spezies Kalmia latifolia, Kalmia angustifolia, Kalmia microphylla, Kalmia polifolia, Kalmia occidentalis, Cistus chamaerhodendros or Kalmia lucida [Amerikanischer Lorbeer, Breitblättrige Lorbeerrose, Berglorbeer, Calico-Busch, Berglorbeer, Schaf-Berglorbeer bzw. Schmalblättrige Lorbeerrose, Alpen-Lorbeerrose, Sumpf-Lorbeerrose, Kleinblättrige Lorbeerrose, Poleiblättrige Lorbeerrose]; Euphorbiaceae, wie etwa die Gattungen Manihot, Janipha, Jatropha, Ricinus, z. B. die Spezies Manihot utilissima, Janipha manihot., Jatropha manihot., Manihot aipil, Manihot dulcis, Manihot manihot, Manihot melanobasis, Manihot esculenta [Maniok, Pfeilwurz, Tapioka, Cassava] oder Ricinus communis [Rizinus, Rizinusbusch, Kastorölpflanze, Christuspalme, Wunderbaum]; Fabaceae, wie etwa die Gattungen Pisum, Albizia, Cathormion, Feuillea, Inga, Pithecolobium, Acacia, Mimosa, Medicago, Glycine, Dolichos, Phaseolus, Soja, z. B. die Spezies Pisum sativum, Pisum arvense, Pisum humile [Erbse], Albizia berteriana, Albizia julibrissin, Albizia lebbeck, Acacia berteriana, Acacia littoralis, Albizia berteriana, Albizzia berteriana, Cathormion berteriana, Feuillea berteriana, Inga fragrans, Pithecolobium berterianum, Pithecolobium fragrans, Pithecolobium berterianum, Pseudalbizia berteriana, Acacia julibrissin, Acacia nemu, Albizia nemu, Feuillea julibrissin, Mimosa julibrissin, Mimosa speciosa, Sericanrda julibrissin, Acacia lebbeck, Acacia macrophylla, Albizia lebbeck, Feuillea lebbeck, Mimosa lebbeck, Mimosa speciosa [Blauholzbaum, Seidenbaum, Lebekkbaum], Medicago sativa, Medicago falcata, Medicago varia [Alfalfa] Glycine max Dolichos soja, Glycine gracilis, Glycine hispida, Phaseolus max, Soja hispida or Soja max [Sojabohne]; Geraniaceae, wie etwa die Gattungen Pelargonium, Cocos, Oleum, z. B. die Spezies Cocos nucifera, Pelargonium grossularioides or Oleum cocois [Kokosnuss]; Gramineae, wie etwa die Gattungen Saccharum, z. B. die Spezies Saccharum officinarum; Juglandaceae, wie etwa die Gattungen Juglans, Wallia, z. B. die Spezies Juglans regia, Juglans ailanthifolia, Juglans sieboldiana, Juglans cinerea, Wallia cinerea, Juglans bixbyi, Juglans californica, Juglans hindsii, Juglans intermedia, Juglans jamaicensis, Juglans major, Juglans microcarpa, Juglans nigra or Wallia nigra [Walnuss, Schwarzwalnut, Echte Walnuss, Persische Walnuss, Weiße Walnuss, Butternuss, Schwarznuss]; Lauraceae, wie etwa die Gattungen Persea, Laurus, z. B. die Spezies laurel Laurus nobilis [Lorbeerbaum, Lorbeer, Echter Lorbeer, Gewürzlorbeer], Persea americana Persea americana, Persea gratissima oder Persea persea [Avocado]; Leguminosae, wie etwa die Gattungen Arachis, z. B. die Spezies Arachis hypogaea [Erdnuss]; Linaceae, wie etwa die Gattungen Linum, Adenolinum, z. B. die Spezies Linum usitatissimum, Linum humile, Linum austriacum, Linum bienne, Linum angustifolium, Linum catharticum, Linum flavum, Linum grandiflorum, Adenolinum grandiflorum, Linum lewisii, Linum narbonense, Linum perenne, Linum perenne var. lewisii, Linum pratense or Linum trigynum [Flachs, Leinsamen]; Lytharieae, wie etwa die Gattungen Punica, z. B. die Spezies Punica granatum [Granatapfel]; Malvaceae, wie etwa die Gattungen Gossypium, z. B. die Spezies Gossypium hirsutum, Gossypium arboreum, Gossypium barbadense, Gossypium herbaceum oder Gossypium thurberi [Baumwolle]; Musaceae, wie etwa die Gattungen Musa, z. B. die Spezies Musa nana, Musa acuminata, Musa paradisiaca, Musa spp. [Banane]; Onagraceae, wie etwa die Gattungen Camissonia, Oenothera, z. B. die Spezies Oenothera biennis oder Camissonia brevipes [Primel, Nachtkerze]; Palmae, wie etwa die Gattungen Elacis, z. B. die Spezies Elaeis guineensis [Ölpalme]; Papaveraceae, wie etwa die Gattungen Papaver, z. B. die Spezies Papaver Orientale, Papaver rhoeas, Papaver dubium [Mohn, Türkenmohn, Klatschmohn, Mohnblume, Feldmohn, Klatschrose, Feldmohn, Saat-Mohn, Ackermohn]; Pedaliaceae, wie etwa die Gattungen Sesamum, z. B. die Spezies Sesamum indicum [Sesam]; Piperaceae, wie etwa die Gattungen Piper, Artanthe, Peperomia, Steffensia, z. B. die Spezies Piper aduncum, Piper amalago, Piper angustifolium, Piper auritum, Piper betel, Piper cubeba, Piper longum, Piper nigrum, Piper retrofractum, Artanthe adunca, Artanthe elongata, Peperomia elongata, Piper elongatum, Steffensia elongata. [Cayenne-Pfeffer, Wilder Pfeffer]; Poaceae, wie etwa die Gattungen Hordeum, Secale, Avena, Sorghum, Andropogon, Holcus, Panicum, Oryza, Zea, Triticum, z. B. die Spezies Hordeum vulgare, Hordeum jubatum, Hordeum murinum, Hordeum secalinum, Hordeum distichon Hordeum aegiceras, Hordeum hexastichon., Hordeum hexastichum, Hordeum irregulare, Hordeum sativum, Hordeum secalinum [Gerste, Graupen, Mähnenegerste, Mäusegerste, Wiesengerste], Secale cereale [Roggen], Avena sativa, Avena fatua, Avena byzantina, Avena fatua var. sativa, Avena hybrida [Hafer], Sorghum bicolor, Sorghum halepense, Sorghum saccharatum, Sorghum vulgare, Andropogon drummondii, Holcus bicolor, Holcus sorghum, Sorghum aethiopicum, Sorghum arundinaceum, Sorghum caffrorum, Sorghum cemuum, Sorghum dochna, Sorghum drummondii, Sorghum durra, Sorghum guineense, Sorghum lanceolatum, Sorghum nervosum, Sorghum saccharatum, Sorghum subglabrescens, Sorghum verticilliflorum, Sorghum vulgare, Holcus halepensis, Sorghum miliaceum millet, Panicum militaceum [Sorghum, Hirse], Oryza sativa, Oryza latifolia [Reis], Zea mays [Corn, Mais] Triticum aestivum, Triticum durum, Triticum turgidum, Triticum hybernum, Triticum macha, Triticum sativum or Triticum vulgare [Weizen, Ackerweizen, Gemeiner Weizen], Proteaceae, wie etwa die Gattungen Macadamia, z. B. die Spezies Macadamia intergrifolia [Macadamia]; Rubiaceae, wie etwa die Gattungen Coffea, z.

B. die Spezies *Coffea* spp., *Coffea arabica*, *Coffea canephora* oder *Coffea liberica* [Kaffee]; Scrophulariaceae, wie etwa die Gattungen *Verbascum*, z. B. die Spezies *Verbascum blattaria*, *Verbascum chaixii*, *Verbascum densiflorum*, *Verbascum lagurus*, *Verbascum longifolium*, *Verbascum lychnitis*, *Verbascum nigrum*, *Verbascum olympicum*, *Verbascum phlomoides*, *Verbascum phoenicum*, *Verbascum pulverulentum* oder *Verbascum thapsus* [Königskerze, Schaben-Königskerze, Chaix-Königskerze, Großblütige Königskerze, Seidenhaar-Königskerze, Langblättrige Königskerze, Mehligke Königskerze, Schwarze Königskerze, Kandelaber-Königskerze, Windblumen-Königskerze, Violette Königskerze, Flockige Königskerze, Himmelbrand]; Solanaceae, wie etwa die Gattungen *Capsicum*, *Nicotiana*, *Solanum*, *Lycopersicon*, z. B. die Spezies *Capsicum annuum*, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, *Capsicum frutescens* [Pfeffer], *Capsicum annuum* [Paprika], *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana alata*, *Nicotiana attenuata*, *Nicotiana glauca*, *Nicotiana langsdorffii*, *Nicotiana obtusifolia*, *Nicotiana quadrivalvis*, *Nicotiana repanda*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana sylvestris* [Tabak], *Solanum tuberosum* [Kartoffel], *Solanum melongena* [Aubergine] (*Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*., *Lycopersicon pyriforme*, *Solanum integrifolium* or *Solanum lycopersicum* [Tomate]; Sterculiaceae, wie etwa die Gattungen *Theobroma*, z. B. die Spezies *Theobroma cacao* [Kakao]; Theaceae, wie etwa die Gattungen *Camellia*, z. B. die Spezies *Camellia sinensis* [Tee].

[0470] Die Einführung der Nukleinsäuren gemäß der Erfindung, der Expressionskassette oder des Vektors in Organismen, zum Beispiel Pflanzen, können im Prinzip durch alle Verfahren erfolgen, die dem Fachmann bekannt sind. Die Einführung der Nukleinsäuresequenzen führt zu rekombinanten oder transgenen Organismen.

[0471] Wenn nicht anders angegeben sind die Begriffe „Polynukleotide“, „Nukleinsäure“ und „Nukleinsäuremolekül“, wie hierin verwendet, austauschbar. Wenn nicht anders angegeben sind im vorliegenden Zusammenhang die Begriffe „Peptid“, „Polypeptid“ und „Protein“ austauschbar. Der Begriff „Sequenz“ kann sich auf Polynukleotide, Nukleinsäuren, Nukleinsäuremoleküle, Peptide, Polypeptide und Proteine beziehen, je nach dem Zusammenhang, in dem der Begriff „Sequenz“ verwendet wird. Die Begriffe „Gen(e)“, „Polynukleotid“, „Nukleinsäuresequenz“, „Nukleotidsequenz“ oder „Nukleinsäuremolekül(e)“, beziehen sich, so, wie sie hier verwendet werden, auf eine polymere Form von Nukleotiden beliebiger Länge, entweder Ribonukleotide oder Desoxyribonukleotide. Die Begriffe beziehen sich nur auf die Primärstruktur des Moleküls.

[0472] Daher schließen die Begriffe „Gen(e)“, „Polynukleotid“, „Nukleinsäuresequenz“, „Nukleotidsequenz“ oder „Nukleinsäuremolekül(e)“, so, wie sie hier verwendet werden, doppel- und einzelsträngige DNA und RNA ein. Sie enthalten auch bekannte Arten von Modifikationen, zum Beispiel Methylierung, „caps“, Substitutionen einer oder mehrerer der natürlich vorkommenden Nukleotide mit einem Analogon. Vorzugsweise umfasst die DNA- oder RNA-Sequenz der Erfindung eine kodierende Sequenz, die für ein hierin definiertes Polypeptid kodiert.

[0473] Eine „kodierende Sequenz“ ist eine Nukleotidsequenz, die in eine mRNA transkribiert wird und/oder zu einem Polypeptid translatiert wird, wenn sie unter die Kontrolle von geeigneten Regulationssequenzen gestellt wird. Die Grenzen der kodierenden Sequenz werden durch einen Translations-Startkodon am 5'-Terminus und einen Translations-Stoppkodon am 3'-Terminus vorgegeben. Eine kodierende Sequenz kann enthalten, ist aber nicht beschränkt auf mRNA, cDNA, rekombinante Nukleotidsequenzen oder genomische DNA, wobei unter gewissen Umständen auch Introns vorhanden sein können.

[0474] Der Transfer von fremden Genen in das Genom einer Pflanze wird Transformation genannt. Wird dies durchgeführt, werden die Verfahren, die für die Transformation und Regeneration von Pflanzen aus Pflanzengewebe oder Pflanzenzellen beschrieben werden, für die vorübergehende oder stabile Transformation genutzt. Geeignete Verfahren sind die Protoplastentransformation durch Poly(ethylenglycol)-induzierte DNA-Aufnahme, das „Biolistik“-Verfahren unter Verwendung der Genkanone – das als Teilchenbeschussverfahren bezeichnet wird, Elektroporation, die Inkubation von trockenen Embryonen in DNA-Lösung, Mikroinjektion und durch *Agrobacterium* vermittelter Gentransfer. Die Verfahren werden zum Beispiel in B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg. S. D. Kung and R. Wu, Academic Press (1993) 128–143 und in Potrykus Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991) 205–225) beschrieben. Die Nukleinsäuren oder das zu exprimierende Konstrukt wird/werden bevorzugt in einen Vektor kloniert, der zum Transformieren von *Agrobacterium tumefaciens* geeignet ist, zum Beispiel pBin 19 (Bevan et al., Nucl. Acids Res. 12 (1984) 8711). Durch einen solchen Vektor transformierte *Agrobacterien* können dann auf die bekannte Weise für die Transformation von Pflanzen, insbesondere von Nutzpflanzen, wie zum Beispiel Tabakpflanzen, verwendet werden, zum Beispiel durch Baden von zerstampften Blättern oder zerhackten Blättern in einer *Agrobacterien*-Lösung und danach Kultivieren derselben in geeigneten Medien. Die Transformation von Pflanzen mittels *Agrobacterium tumefaciens* wird zum Beispiel von Höfgen und Willmitzer in Nucl. Acid Res. (1988) 16, 9877 beschrieben oder ist unter anderem aus F. F. White, Vectors for Gene

Transfer in Higher Plants; in Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg. S. D. Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15–38 bekannt.

[0475] Mit einem Expressionsvektor gemäß der Erfindung transformierte Agrobakterien können auch in einer an sich bekannten Weise für die Transformation von Pflanzen, wie etwa Versuchspflanzen, wie Arabidopsis oder Nutzpflanzen, wie etwa Getreidearten, Mais, Hafer, Roggen, Gerste, Weizen, Soja, Reis, Baumwolle, Zuckerrübe, Canola, Sonnenblume, Flachs, Hanf, Kartoffeln, Tabak, Tomaten, Karotten, Paprika, Ölrap, Tapioka, Cassava, Pfeilwurz, Studentenblume, Alfalfa, Salat und die verschiedenen Baum-, Nuss- und Kletterpflanzenarten, insbesondere von ölhaltigen Nutzpflanzen, wie etwa Soja, Erdnuss, Rizinus, Sonnenblume, Mais, Baumwolle, Flachs, Ölrap, Kokosnuss, Ölpalme, Saflor (*Carthamus tinctorius*) oder Kakaobohne verwendet werden, z. B. indem zerstampfte Blätter oder zerhackte Blätter in einer in Agrobakterienlösung gebadet und anschließend in geeigneten Medien kultiviert werden.

[0476] Die gentechnisch motivierten Pflanzenzellen können durch alle Verfahren regeneriert werden, die dem Fachmann bekannt sind. Geeignete Verfahren kann man in den oben erwähnten Veröffentlichungen von S. D. Kung und R. Wu, Potrykus oder Höfgen and Willmitzer finden.

[0477] Entsprechend bezieht sich ein weiterer Aspekt der Erfindung auf transgene Organismen, die durch mindestens eine Nukleinsäuresequenz, eine Expressionskassette oder einen Vektor gemäß der Erfindung transformiert wurden sowie Zellen, Zellkulturen, Gewebe, Teile – wie zum Beispiel im Fall von Pflanzenorganismen Blätter, Wurzeln usw. – oder Fortpflanzungsmaterial, das von solchen Organismen abgeleitet ist. Die Begriffe „Wirtsorganismus“, „Wirtszelle“, „rekombinanter (Wirts)organismus“ und „transgene (Wirts)zelle“ werden hierin austauschbar verwendet. Natürlich beziehen sich diese Begriffe nicht nur auf den speziellen Wirtsorganismus oder die spezielle Zielzelle, sondern auch auf die Abkömmlinge oder potentiellen Abkömmlinge dieser Organismen oder Zellen. Da aufgrund von Mutation oder Umwelteinflüssen in nachfolgenden Generationen bestimmte Modifikationen auftreten können, müssen diese Abkömmlinge nicht unbedingt mit der Elternzelle identisch sein, fallen jedoch dennoch unter den Begriff, wie er hierin verwendet wird.

[0478] Für die Zwecke der Erfindung bedeutet „transgen“ oder „rekombinant“ zum Beispiel in Bezug auf eine Nukleinsäuresequenz, eine Expressionskassette (= Genkonstrukt, Nukleinsäurekonstrukt) oder einen Vektor, der die Nukleinsäuresequenz gemäß der Erfindung enthält, oder einen Organismus, der durch die Nukleinsäuresequenzen, die Expressionskassette oder den Vektor gemäß der Erfindung transformiert wird, alle die Konstruktionen, die durch gentechnische Verfahren hergestellt wurden, in denen entweder

- a) die Nukleinsäuresequenz, die in Tabelle I, Spalte 5 oder 7 dargestellt ist, oder deren Derivate oder Teile davon, oder
- b) eine genetische Kontrollsequenz, die funktionell mit der Nukleinsäuresequenz verknüpft ist, die unter (a) beschrieben wird, zum Beispiel eine 3'- und/oder 5'-genetische Kontrollsequenz, wie etwa ein Promoter oder Terminator, oder
- c) (a) und (b)

nicht in ihrer natürlichen genetischen Umgebung zu finden sind, oder die durch gentechnische Verfahren modifiziert wurden, wobei die Modifikation beispielsweise eine Substitution, Addition, Deletion, Inversion oder Insertion eines oder mehrerer Nukleotidreste sein kann. Natürliche genetische Umgebung bedeutet den natürlichen genomischen oder chromosomalen Locus in dem Ursprungsorganismus oder innerhalb des Wirtsorganismus oder das Vorhandensein in einer Genbibliothek. Bei einer Genbibliothek wird die natürliche genetische Umgebung der Nukleinsäuresequenz bevorzugt mindestens zum Teil erhalten. Die Umgebung grenzt mindestens an einer Seite an die Nukleinsäuresequenz und weist eine Sequenzlänge von mindestens 50 Bp, bevorzugt von mindestens 500 Bp, besonders bevorzugt von mindestens 1.000 Bp, am stärksten bevorzugt von mindestens 5.000 Bp auf. Eine natürlich vorkommende Expressionskassette – zum Beispiel die natürlich vorkommende Kombination des natürlichen Promoters der Nukleinsäuresequenz gemäß der Erfindung mit dem entsprechenden Delta-8-Desaturase-, Delta-9-Elongase- und/oder Delta-5-Desaturasegen – wird zu einer transgenen Expressionskassette, wenn die letztgenannte durch unnatürliche, synthetische („künstliche“) Verfahren, wie beispielsweise eine Mutagenation, modifiziert wird. Geeignete Verfahren werden beispielsweise in US 5,565,350 oder WO 00/15815 beschrieben.

[0479] Geeignete Organismen oder Wirtsorganismen für die Nukleinsäure, die Expressionskassette oder den Vektor gemäß der Erfindung sind vorteilhafterweise im Prinzip alle Organismen, die sich für die Expression rekombinanter Gene eignen, wie oben beschrieben. Weitere Beispiele, die erwähnt werden können, sind Pflanzen, wie etwa Arabidopsis, Asteraceae, wie etwa Calendula oder Nutzpflanzen, wie etwa Sojabohne, Erdnuss, Rizinus, Sonnenblume, Flachs, Mais, Baumwolle, Flachs, Ölrap, Kokosnuss, Ölpalme, Saflor (*Carthamus tinctorius*) oder Kakaobohne.

[0480] In einer Ausführungsform der Erfindung werden Wirtspflanzen für die Nukleinsäure, die Expressionskassette oder den Vektor gemäß der Erfindung ausgewählt aus der Gruppe umfassend Maiskorn, Soja, Ölrap (einschließlich Canola und Winterölrap), Baumwolle, Weizen und Reis.

[0481] Eine weitere Aufgabe der Erfindung bezieht sich auf die Verwendung eines Nukleinsäurekonstrukts, z. B. einer Expressionskassette, die DNA-Sequenzen umfasst, die Polypeptide kodieren, die in Tabelle II gezeigt werden, oder DNA-Sequenzen, die damit hybridisieren, für die Transformation von Pflanzenzellen, Geweben oder Teilen von Pflanzen.

[0482] Hierbei können, abhängig von der Wahl des Promoters, die Sequenzen, die in Tabelle I gezeigt werden, in den Blättern, in den Samen, den Knötchen, in Wurzeln, im Stängel oder in anderen Teilen der Pflanze spezifisch exprimiert werden. Diese transgenen Pflanzen, die Sequenzen überproduzieren, wie in Tabelle I dargestellt, das Fortpflanzungsmaterial davon, zusammen mit den Pflanzenzellen, Geweben oder Teilen davon, sind eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung.

[0483] Die Expressionskassette oder die Nukleinsäuresequenzen oder Konstrukte gemäß der Erfindung, die Sequenzen gemäß Tabelle I enthalten, können darüber hinaus auch für die Transformation der Organismen eingesetzt werden, die oben beispielhaft angeführt wurden, wie etwa Bakterien, Hefen, filamentösen Pilzen und Pflanzen.

[0484] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung bedeutet ein erhöhter GABA-Gehalt zum Beispiel das künstlich erworbene Merkmal eines erhöhten GABA-Gehalts, einer erhöhten GABA-Konzentration, einer erhöhten GABA-Aktivität aufgrund der funktionellen Überexpression von Polypeptidsequenzen von Tabelle II, die durch die entsprechenden Nukleinsäuremoleküle kodiert werden, wie in Tabelle I, Spalte 5 oder 7 dargestellt, und/oder Homologe davon in den Organismen gemäß der Erfindung, vorteilhafterweise in den transgenen Pflanzen gemäß der Erfindung, im Vergleich mit den nicht genetisch modifizierten Ausgangspflanzen mindestens für die Dauer mindestens einer Pflanzengeneration.

[0485] Außerdem ist eine konstitutive Expression der Polypeptidsequenzen von Tabelle II, die durch das entsprechende Nukleinsäuremolekül kodiert werden, wie in Tabelle I, Spalte 5 oder 7 dargestellt, und/oder Homologe, vorteilhaft. Andererseits könnte auch eine induzierbare Expression wünschenswert erscheinen. Die Expression der Polypeptidsequenzen der Erfindung kann entweder direkt in das Cytoplasma oder in die Organellen, bevorzugt die Plastide der Wirtszellen, bevorzugt der Pflanzenzellen, erfolgen.

[0486] Die Effizienz der Expression der Sequenzen von Tabelle II, die durch das entsprechende Nukleinsäuremolekül kodiert werden, wie in Tabelle I, Spalte 5 oder 7 dargestellt, und/oder Homologe, kann zum Beispiel in vitro durch Sproßmeristemvermehrung bestimmt werden. Außerdem kann eine Expression der Sequenzen von Tabelle II, die durch das entsprechende Nukleinsäuremolekül kodiert werden, wie in Tabelle I, Spalte 5 oder 7 dargestellt, und/oder Homologen, die hinsichtlich Art und Konzentration modifiziert sind, und ihre Wirkung auf die Stoffwechselfadleistung an Testpflanzen in Gewachshausversuchen getestet werden.

[0487] Eine weitere Aufgabe der Erfindung umfasst transgene Organismen, wie etwa transgene Pflanzen, die durch eine Expressionskassette transformiert wurden, die Sequenzen, wie in Tabelle I, Spalte 5 oder 7 dargestellt, gemäß der Erfindung oder DNA-Sequenzen, die damit hybridisieren, sowie transgene Zellen, Gewebe, Teile und Fortpflanzungsmaterial derartiger Pflanzen enthält. Besonders bevorzugt sind in diesem Fall transgene Nutzpflanzen wie zum Beispiel Gerste, Weizen, Roggen, Hafer, Mais, Sojabohne, Reis, Baumwolle, Zuckerrübe, Ölrap und Canola, Sonnenblume, Flachs, Hanf, Distel, Kartoffeln, Tabak, Tomaten, Tapioka, Cassava, Pfeilwurz, Luzerne, Salat und die verschiedenen Baum-Nuss- und Kletterpflanzenarten.

[0488] In einer Ausführungsform der Erfindung werden transgene Pflanzen, die durch eine Expressionskassette transformiert wurden, die Sequenzen enthält, wie in Tabelle I, Spalte 5 oder 7 dargestellt, gemäß der Erfindung, oder DNA-Sequenzen, die damit hybridisieren, ausgewählt aus der Gruppe umfassend Mais, Soja, Ölrap (einschließlich Canola und Winterölrap), Baumwolle, Weizen und Reis.

[0489] Für die Zwecke der Erfindung sind die Pflanzen ein- und zweikeimblättrige Pflanzen, Moose oder Algen.

[0490] Eine weitere Weiterentwicklung gemäß der Erfindung sind transgene Pflanzen, wie oben beschrieben, die eine Nukleinsäuresequenz oder ein Nukleinsäurekonstrukt gemäß der Erfindung oder eine Expressionskassette gemäß der Erfindung enthalten.

[0491] Transgen bedeutet jedoch auch, dass die Nukleinsäuren gemäß der Erfindung an ihrer natürlichen Position im Genom eines Organismus liegen, dass aber die Sequenz im Vergleich mit der natürlichen Sequenz modifiziert wurde, und/oder dass die Regulationssequenzen der natürlichen Sequenzen modifiziert wurden. Bevorzugt ist transgen/rekombinant so zu verstehen, dass die Transkription der in Tabelle I gezeigten Nukleinsäuren der Erfindung an einer nicht natürlichen Position in dem Genom stattfindet, das heißt, dass die Expression der Nukleinsäuren homolog oder bevorzugt heterolog ist. Diese Expression kann vorübergehend oder auf einer Sequenz stabil in das Genom integriert sein.

[0492] Der gemäß der Erfindung verwendete Begriff „transgene Pflanze“ bezieht sich auch auf die Nachkommen einer transgenen Pflanze, zum Beispiel den Generationen T_1 , T_2 , T_3 und nachfolgende Pflanzengenerationen oder die Generationen BC_1 , BC_2 , BC_3 und nachfolgende Pflanzengenerationen. Daher können die transgenen Pflanzen gemäß der Erfindung herangezogen und selbstbefruchtet oder mit anderen Individuen gekreuzt werden, um weitere transgene Pflanzen gemäß der Erfindung zu erhalten. Transgene Pflanzen können auch erhalten werden, indem transgene Pflanzenzellen vegetativ vermehrt werden. Die vorliegende Erfindung bezieht sich auch auf transgenes Pflanzenmaterial, das von einer transgenen Pflanzenpopulation gemäß der Erfindung abgeleitet werden kann. Ein solches Material enthält Pflanzenzellen und bestimmte Gewebe, Organe und Teile von Pflanzen in allen ihren Manifestationen, wie Samen, Blätter, Staubbeutel, Fasern, Knollen, Wurzeln, Wurzelhaare, Stängel, Embryo, Kalli, Kotschote, Petioli, geerntetes Material, Pflanzengewebe, reproduktives Gewebe und Zellkulturen, die von der eigentlichen transgenen Pflanzen abgeleitet sind und/oder verwendet werden können, um die transgene Pflanze zu erzeugen.

[0493] Alle transformierten Pflanzen, die gemäß der Erfindung erhalten werden, können in einem herkömmlichen Züchtungsschema oder bei der In-vitro-Pflanzenvermehrung eingesetzt werden, um mehr transformierte Pflanzen mit den gleichen Charakteristika zu produzieren und/oder können verwendet werden, um die gleichen Charakteristika in andere Sorten der gleichen oder einer verwandten Arten einzuführen. Solche Pflanzen sind ebenfalls Teil der Erfindung. Samen, die aus den transformierten Pflanzen erhalten wurden, enthalten genetisch auch das gleiche Charakteristikum und sind Teil der Erfindung. Wie bereits erwähnt, ist die vorliegende Erfindung im Prinzip auf alle Pflanzen und Nutzpflanzen anwendbar, die mit einem der Transformationsverfahren transformiert werden können, die dem Fachmann bekannt sind.

[0494] Vorteilhafte induzierbare Pflanzenpromoter sind beispielsweise der PRP1-Promoter [Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993), 361–366], ein Promoter, der durch Benzolsulfonamid induzierbar ist (EP 388 186), ein Promoter, der durch Tetracyclin induzierbar ist [Gatz et al., (1992) Plant J. 2, 397–404], ein Promoter, der durch Salicylsäure induzierbar ist (WO 95/19443), ein Promoter, der durch Abscisinsäure induzierbar ist (EP 335 528) und ein Promoter, der durch Ethanol oder Cyclohexanon induzierbar ist (WO93/21334). Andere Beispiele für Pflanzenpromoter, die vorteilhaft verwendet werden können, sind der Promoter der cytosolischen FBPase aus der Kartoffel, der ST-LSI-Promoter aus der Kartoffel (Stockhaus et al., EMBO J. 8 (1989) 2445–245), der Promoter der Phosphoribosylpyrophosphatamidotransferase aus Glycine max (vgl. auch Genbank-Zugangsnummer U87999) oder ein nodienspezifischer Promoter, wie in EP 249 676 beschrieben. Besonders vorteilhaft sind diejenigen Promoter, die die Expression beim ersten Eintreten von Umweltstress, wie zum Beispiel Dürre oder Kälte, sicherstellen.

[0495] In einer Ausführungsform können samenspezifische Promoter für einkeimblättrige oder zweikeimblättrige Pflanzen verwendet werden.

[0496] Im Prinzip können alle natürlichen Promoter mit ihren Regulationssequenzen wie jene verwendet werden, die oben für die Expressionskassette gemäß der Erfindung und das Verfahren gemäß der Erfindung genannt wurden. Darüber hinaus können auch synthetische Promoter vorteilhafterweise verwendet werden.

[0497] Bei der Herstellung einer Expressionskassette können verschiedene DNA-Fragmente derart manipuliert werden, dass eine Nukleotidsequenz erhalten wird, die brauchbar in der richtigen Richtung liest und mit einem korrekten Leserahmen ausgestattet ist. Zum Verbinden der DNA-Fragmente (= Nukleinsäuren gemäß der Erfindung) miteinander können Regulationselemente oder Adaptoren oder Linker an die Fragmente angeheftet werden.

[0498] Die Promoter- und die Terminatorregionen können zweckmäßigerweise in der Transkriptionsrichtung mit einem Linker oder Polylinker bereitgestellt werden, der eine oder mehrere Restriktionsstellen für die Insertion dieser Sequenz enthält. Im Allgemeinen weist der Linker 1 bis 10, meistens 1 bis 8, bevorzugt 2 bis 6 Restriktionsstellen auf. Im Allgemeinen beträgt die Größe des Linkers innerhalb der Regulationsregion weniger als 100 Bp, häufig weniger als 60 Bp, mindestens jedoch 5 bp. Der Promoter kann zum Wirtsorganismus, zum

Beispiel zur Wirtspflanze, sowohl nativ bzw. homolog als auch fremd bzw. heterolog sein. In der 5'-3'-Transkriptionsrichtung enthält die Expressionskassette den Promoter, eine DNA-Sequenz, die in Tabelle I gezeigt wird, und eine Region für die Transkriptionstermination. Verschiedene Terminationsregionen können in jeder gewünschten Form gegeneinander ausgetauscht werden.

[0499] Wie ebenfalls hierin verwendet, sollen die Begriffe „Nukleinsäure“ und „Nukleinsäuremolekül“ DNA-Moleküle (z. B. cDNA oder genomische DNA) und RNA-Moleküle (z. B. mRNA) und DNA- oder RNA-Analoga enthalten, die unter Verwendung von Nukleotidanaloga erzeugt wurden. Dieser Begriff schließt auch untranslatierte Sequenzen ein, die sowohl am 3'- als auch 5'-Ende der kodierenden Region des Gens liegen: mindestens etwa 1.000 Nukleotide der Sequenz stromaufwärts des 5'-Endes der kodierenden Region und mindestens etwa 200 Nukleotide der Sequenz stromabwärts des 3'-Ende der kodierenden Region des Gens.

[0500] Das Nukleinsäuremolekül kann einzelsträngig oder doppelsträngig sein, ist aber bevorzugt eine doppelsträngige DNA.

[0501] Ein „isoliertes“ Nukleinsäuremolekül ist eines, das im Wesentlichen von anderen Nukleinsäuremolekülen getrennt ist, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure vorhanden sind. Dies bedeutet, dass andere Nukleinsäuremoleküle in einer Menge von weniger als 5%, bezogen auf das Gewicht der gesuchten Nukleinsäure, bevorzugt von weniger als 2 Gew.-%, stärker bevorzugt von weniger als 1 Gew.-%, am stärksten bevorzugt von weniger als 0,5 Gew.-% vorhanden sind. Bevorzugt ist eine „isolierte“ Nukleinsäure frei von einigen der Sequenzen, die die Nukleinsäure natürlich flankieren (d. h., Sequenzen, die am 5'- und 3'-Ende der Nukleinsäure liegen) in der genomischen DNA des Organismus, von dem die Nukleinsäure abgeleitet ist. Zum Beispiel kann in verschiedenen Ausführungsformen das isolierte Stress-bezogene Protein, das das Nukleinsäuremolekül kodiert, weniger als etwa 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb oder 0,1 kb der Nukleinsäuresequenzen enthalten, die das Nukleinsäuremolekül in der genomischen DNA der Zelle, aus der die Nukleinsäure abgeleitet ist, natürlich flankieren. Darüber hinaus kann ein isoliertes“ Nukleinsäuremolekül, wie etwa ein cDNA-Molekül, frei von einigen der anderen zellulären Materialien sein, mit dem es natürlich assoziiert ist, oder frei von Kulturmedium, wenn es durch Rekombinationstechniken hergestellt wurde, oder frei von chemischen Vorläufern oder anderen Chemikalien, wenn es chemisch synthetisiert wurde.

[0502] Ein Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung, z. B. ein Nukleinsäuremolekül, das ein GABA-bezogenes Protein oder einen Abschnitt davon kodiert, das Toleranz und/oder Resistenz gegenüber Umweltstress und erhöhte Biomasseproduktion in Pflanzen verleiht, kann unter Verwendung von Standardtechniken der Molekularbiologie und der hierin bereitgestellten Sequenzinformation isoliert werden. Zum Beispiel kann eine für das Stress-bezogene Protein kodierende Arabidopsis-thaliana-cDNA aus einer A.-thaliana-cDNA-Bibliothek isoliert werden, oder eine für das Stress-bezogene Protein kodierende Synechocystis-sp.-, Brassica-napus-, Glycine-max-, Zea-mays- oder Oryza-sativa-cDNA aus seiner Synechocystis-sp.-, Brassica-napus-, Glycine-max-, Zea-mays- bzw. Oryza-sativa-c-DNA-Bibliothek isoliert werden, wobei die gesamte oder ein Abschnitt einer der in Tabelle I gezeigten Sequenzen verwendet wird. Außerdem kann ein Nukleinsäuremolekül, das die gesamte oder einen Abschnitt einer der Sequenzen von Tabelle I einschließt, durch die Polymerase-Kettenreaktion unter Verwendung von Oligonukleotidprimern isoliert werden, die basierend auf dieser Sequenz entwickelt wurden. Zum Beispiel kann mRNA aus Pflanzenzellen isoliert werden (z. B. durch das Guanidinium-Thiocyanatextraktionsverfahren von Chirgwin et al., 1979 Biochemistry 18: 5294–5299) und cDNA kann unter Verwendung von Umkehrtranskriptase hergestellt werden (z. B. Moloney MLV-Umkehrtranskriptase, erhältlich von Gibco/BRL, Bethesda, MD; oder AMV-Umkehrtranskriptase, erhältlich von Seikagaku America, Inc., St. Petersburg, FL). Synthetische Oligonukleotidprimer für die Amplifikation durch Polymerase-Kettenreaktion können auf der Basis einer der in Tabelle I gezeigten Nukleotidsequenzen entwickelt werden. Ein Nukleinsäuremolekül der Erfindung kann unter Verwendung von cDNA oder alternativ genomischer DNA als Template und geeigneten Oligonukleotidprimern gemäß Standard-PCR-Amplifikationstechniken amplifiziert werden. Das so amplifizierte Nukleinsäuremolekül kann in einen geeigneten Vektor kloniert werden und durch DNA-Sequenzanalyse charakterisiert werden. Ferner können Oligonukleotide, die GABA-bezogenen Proteinen, die die Nukleotidsequenz kodieren, entsprechen, durch Standard-Synthesetechniken, z. B. unter Verwendung eines automatischen DNA-Synthesizers, hergestellt werden.

[0503] In einer bevorzugt Ausführungsform umfasst ein isoliertes Nukleinsäuremolekül der Erfindung eine der in Tabelle I gezeigten Nukleotidsequenzen, die die GABA-bezogenen Proteine kodieren (d. h., die „kodierende Region“), sowie 5'-untranslatierte Sequenzen und 3'-untranslatierte Sequenzen.

[0504] Darüber hinaus kann das Nukleinsäuremolekül der Erfindung nur einen Abschnitt der kodierenden Region einer der Sequenzen der Nukleinsäure von Tabelle I umfassen, zum Beispiel ein Fragment, das als

eine Sonde oder Primer oder ein Fragment verwendet werden kann, das einen biologisch aktiven Abschnitt eines GABA-bezogenen Proteins kodiert.

[0505] Abschnitte von Proteinen, die durch die Nukleinsäuremoleküle der Erfindung kodiert werden, die durch die GABA-bezogenen Proteine kodiert werden, sind bevorzugt die hierin beschriebenen biologisch aktiven Abschnitte. Wie hierin verwendet, soll der Begriff „biologisch aktiver Anteil“ eines GABA-bezogenen Proteins einen Abschnitt enthalten, z. B., eine Domäne/ein Motiv eines GABA-bezogenen Proteins, das an der GABA-Erhöhung und bevorzugt an der gesteigerten Nährstoffverwertungseffizienz oder Stresstoleranz und/oder Resistenzreaktion in einer Pflanze beteiligt ist. Um zu bestimmen, ob ein GABA-bezogenes Protein oder ein biologisch aktiver Abschnitt davon zu einer GABA-Erhöhung und bevorzugt einer erhöhten Stresstoleranz oder Nährstoffverwertungseffizienz in einer Pflanze führt, kann eine Metabolitenanalyse einer Pflanze, die die GABA-bezogenen Proteine umfasst, durchgeführt werden. Solche Analyseverfahren sind dem Fachmann gut bekannt, wie in den Beispielen ausführlich dargestellt wird. Genauer gesagt können Nukleinsäurefragmente, die biologisch aktive Abschnitte eines GABA-bezogenen Proteins kodieren, hergestellt werden, indem ein Abschnitt einer der Sequenzen der Nukleinsäure von Tabelle I isoliert wird, der kodierte Abschnitt des GABA-bezogenen Proteins oder Peptids (z. B. durch rekombinante Expression *in vitro*) exprimiert wird, und die Aktivität des kodierten Abschnitts der GABA-bezogenen Proteine oder des Peptids bewertet wird.

[0506] Biologisch aktive Abschnitte eines GABA-bezogenen Proteins sind im Umfang der vorliegenden Erfindung enthalten and enthalten Peptide, die Aminosäuresequenzen umfassen, die von der Aminosäuresequenz eines das GABA-Protein kodierenden Gens abgeleitet sind, oder die Aminosäuresequenz eines Proteins, das zu einem GABA-bezogenen Protein homolog ist, das weniger Aminosäuren enthält als ein GABA-bezogenes Vollängenprotein, oder das Vollängenprotein, das zu einem GABA-bezogenen Protein homolog ist, und mindestens eine gewisse enzymatische oder biologische Aktivität eines GABA-bezogenen Proteins aufweist. Typischerweise umfassen biologisch aktive Abschnitte (z. B. Peptide mit zum Beispiel einer Länge von 5, 10, 15, 20, 30, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 50, 100 oder mehr Aminosäuren) eine Domäne oder ein Motiv mit mindestens einer Aktivität eines GABA-bezogenen Proteins. Darüber hinaus können andere biologisch aktive Abschnitte, in denen andere Regionen des Proteins deletiert sind, durch Rekombinationstechniken hergestellt werden, und für eine oder mehrere der hierin beschriebenen Aktivitäten evaluiert werden. Bevorzugt enthalten die biologisch aktiven Abschnitte eines GABA-bezogenen Proteins eine oder mehrere ausgewählte Domänen/Motive oder Abschnitte davon, die eine biologische Aktivität aufweisen.

[0507] Der Begriff „biologisch aktiver Abschnitt“ oder „biologische Aktivität“ bedeutet ein Polypeptid, wie in Tabelle II, Spalte 3 dargestellt, oder einen Abschnitt des Polypeptids, das/der noch immer mindestens 10% oder 20%, bevorzugt 20%, 30%, 40% oder 50%, besonders bevorzugt 60%, 70% oder 80% der enzymatischen oder biologischen Aktivität des natürlichen oder Ausgangsenzyms oder -proteins aufweist.

[0508] In dem Verfahren gemäß der Erfindung können Nukleinsäuresequenzen verwendet werden, die, gegebenenfalls, synthetische, nicht natürliche oder modifizierte Nukleotidbasen enthalten, die in DNA oder RNA inkorporiert werden können. Die synthetischen, nicht natürlichen oder modifizierten Basen können zum Beispiel die Stabilität des Nukleinsäuremoleküls außerhalb oder innerhalb einer Zelle erhöhen. Die Nukleinsäuremoleküle der Erfindung können die gleichen Modifikationen enthalten, wie oben erwähnt.

[0509] So wie im vorliegenden Zusammenhang verwendet, kann der Begriff „Nukleinsäuremolekül“ auch die untranslatierte Sequenz einschließen, die am 3'- und am 5'-Ende der kodierenden Genregion, zum Beispiel mindestens 500, bevorzugt 200, besonders bevorzugt 100 Nukleotide der Sequenz stromaufwärts des 5'-Endes der kodierenden Region und mindestens 100, bevorzugt 50, besonders bevorzugt 20 Nukleotide der Sequenz stromabwärts des 3'-Endes der kodierenden Genregion, liegt. Es ist häufig vorteilhaft, nur die kodierende Region für Klonierungs- und Expressionszwecke auszuwählen.

[0510] Bevorzugt ist das Nukleinsäuremolekül, das in dem Verfahren gemäß der Erfindung verwendet wird, oder das Nukleinsäuremolekül der Erfindung ein isoliertes Nukleinsäuremolekül.

[0511] Ein „isoliertes“ Polynukleotid oder Nukleinsäuremolekül ist von anderen Polynukleotiden oder Nukleinsäuremolekülen getrennt, die in der natürlichen Quelle des Nukleinsäuremoleküls vorhanden sind. Ein isoliertes Nukleinsäuremolekül kann ein chromosomales Fragment von mehreren kb sein oder bevorzugt ein Molekül, das nur die kodierende Region des Gens umfasst. Entsprechend kann ein isoliertes Nukleinsäuremolekül der Erfindung chromosomale Regionen, die an 5' und 3' angrenzen, oder weitere angrenzende chromosomale Regionen umfassen, umfasst jedoch bevorzugt keine solchen Sequenzen, die die Nukleinsäuremolekülsequenz im genomischen oder chromosomalen Kontext in dem Organismus, aus dem das Nukleinsäuremolekül

stammt, natürlich flankieren (zum Beispiel Sequenzen, die an die Regionen angrenzen, die die 5'- und 3'-UTRs des Nukleinsäuremoleküls kodieren). In verschiedenen Ausführungsformen kann das isolierte Nukleinsäuremolekül, das in dem Verfahren gemäß der Erfindung verwendet wird, zum Beispiel weniger als etwa 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb oder 0,1 kb der Nukleinsäuresequenzen umfassen, die das Nukleinsäuremolekül in der genomischen DNA der Zelle, aus der die Nukleinsäure stammt, natürlich flankieren.

[0512] Die Nukleinsäuremoleküle, die in dem Verfahren verwendet werden, zum Beispiel das Polynukleotid der Erfindung oder ein Teil davon, kann unter Verwendung molekularbiologischer Standardtechniken und der hierin bereitgestellten Sequenzinformation isoliert werden. Zum Beispiel kann auch eine homologe Sequenz oder homologe, konservierte Sequenzregionen auf DNA- oder Aminosäureebene mit Hilfe von Vergleichsalgorithmen identifiziert werden. Letztgenannte können mit Standardhybridisierungstechniken als Hybridisierungssonden verwendet werden (zum Beispiel jene, die in Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) beschrieben werden, um weitere Nukleinsäuresequenzen zu isolieren, die in diesem Verfahren nützlich sind.

[0513] Ein Nukleinsäuremolekül, das eine vollständige Sequenz des Nukleinsäuremoleküls einschließt, das in dem Verfahren verwendet wird, zum Beispiel das Polynukleotid der Erfindung, oder ein Teil davon, kann außerdem isoliert werden durch Polymerase-Kettenreaktion, wobei Oligonukleotidprimer verwendet werden, die auf dieser Sequenz oder auf Teilen davon basieren. Zum Beispiel kann ein Nukleinsäuremolekül, das die vollständige Sequenz oder einen Teil davon umfasst, durch Polymerase-Kettenreaktion unter Verwendung von Oligonukleotidprimern isoliert werden, die auf der Basis eben dieser Sequenz erzeugt wurden. Zum Beispiel kann mRNA aus Pflanzenzellen isoliert werden (zum Beispiel durch das Guanidinium-Thiocyanatextraktionsverfahren von Chirgwin et al. (1979) *Biochemistry* 18: 5294–5299) und cDNA kann mittels Umkehrtranskriptase erzeugt werden (zum Beispiel Moloney MLV-Umkehrtranskriptase, erhältlich von Gibco/BRL, Bethesda, MD; oder AMV-Umkehrtranskriptase, erhältlich von Seikagaku America, Inc., St. Petersburg, FL).

[0514] Synthetische Oligonukleotidprimer zur Amplifikation mittels Polymerase-Kettenreaktion, wie z. B. in Tabelle III, Spalte 7 gezeigt, können auf der Basis einer hierin gezeigten Sequenz erzeugt werden, zum Beispiel der in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenz oder den Sequenzen, die aus Tabelle II, Spalten 5 und 7 abgeleitet sind.

[0515] Darüber hinaus ist es möglich, ein konserviertes Proteinmotiv oder eine Proteindomäne zu identifizieren, indem Proteinsequenzabgleichungen mit dem Polypeptid durchgeführt werden, das durch die Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung kodiert wird, insbesondere mit den Sequenzen, die durch das Nukleinsäuremolekül kodiert werden, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird, aus dem konservierte Regionen und daraus wiederum degenerierte Primer abgeleitet werden können.

[0516] Konservierte Regionen sind diejenigen, die eine sehr geringe Variation in der Aminosäure in einer bestimmten Position mehrerer Homologe verschiedenen Ursprungs zeigen. Die Consensus-Sequenz und die Polypeptidmotive, die in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt werden, sind aus diesen Abgleichungen abgeleitet. Darüber hinaus ist es möglich, konservierte Regionen verschiedener Organismen zu identifizieren, indem Proteinsequenzabgleichungen mit dem Polypeptid durchgeführt werden, das durch die Nukleinsäure der vorliegenden Erfindung kodiert wird, insbesondere mit den Sequenzen, die das Polypeptidmolekül kodieren, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II gezeigt wird, aus dem konservierte Regionen und daraus wiederum degenerierte Primer abgeleitet werden können.

[0517] In einer vorteilhaften Ausführungsform des Verfahrens der vorliegenden Erfindung wird die Aktivität eines Polypeptids erhöht, umfassend oder bestehend aus einer Consensus-Sequenz oder einem Polypeptidmotiv, das in Tabelle IV, Spalte 7 gezeigt wird, und in einer anderen Ausführungsform bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Polypeptid, umfassend oder bestehend aus einer Consensus-Sequenz oder einem Polypeptidmotiv, das in Tabelle IV, Spalte 7 gezeigt wird, wobei 20 oder weniger, bevorzugt 15 oder 10, bevorzugt 9, 8, 7 oder 6, stärker bevorzugt 5 oder 4, sogar noch stärker bevorzugt 3, noch stärker bevorzugt 2, noch stärker bevorzugt 1, am meisten bevorzugt 0 der angegebenen Aminosäurepositionen durch eine beliebige Aminosäure ersetzt werden können. In einer Ausführungsform sind nicht mehr als 15%, bevorzugt 10%, noch stärker bevorzugt 5%, 4%, 3% oder 2%, am stärksten bevorzugt 1% oder 0% der Aminosäurepositionen, die durch einen Buchstaben angegeben sind, mit einer anderen Aminosäure ersetzt. In einer Ausführungsform, sind 20 oder weniger, bevorzugt 15 oder 10, bevorzugt 9, 8, 7 oder 6, stärker bevorzugt 5 oder 4, sogar noch stärker bevorzugt 3, noch stärker bevorzugt 2, noch stärker bevorzugt 1, am stärksten bevorzugt 0 Aminosäuren in eine Consensus-Sequenz oder ein Proteinmotiv inseriert.

[0518] Die Consensus-Sequenz wurde aus einer Mehrfach-Abgleichung der in Tabelle II aufgelisteten Sequenzen abgeleitet. Die Buchstaben stellen den Ein-Buchstaben-Aminosäurekode dar und zeigen an, dass die Aminosäuren in mindestens 80% der abgeglichenen Proteine konserviert sind, während der Buchstabe X für Aminosäuren steht, die nicht in mindestens 80% der abgeglichenen Sequenzen konserviert sind. Die Consensus-Sequenz beginnt mit der ersten konservierten Aminosäure in der Abgleichung und endet mit der letzten konservierten Aminosäure in der Abgleichung der untersuchten Sequenzen. Die Anzahl an angeführten X bezeichnet die Abstände zwischen konservierten Aminosäureresten, z. B. bedeutet Y-x(21,23)-F, dass in der Abgleichung aller untersuchten Sequenzen die konservierten Tyrosin- und Phenylalaninreste in der Abgleichung voneinander durch mindestens 21 und maximal 23 Aminosäurereste getrennt sind.

[0519] Konservierte Domänen wurden aus allen Sequenzen identifiziert und werden unter Verwendung eines Untergruppe der Standard-Prosites-Notation beschrieben, wobei z. B. das Muster Y-x(21,23)-[FW] bedeutet, dass ein konserviertes Tyrosin durch mindestens 21 und maximal 23 Aminosäurereste entweder von einem Phenylalanin oder einem Tryptophan getrennt ist. Die Muster mussten mit mindestens 80% der untersuchten Proteine übereinstimmen.

[0520] Konservierte Muster wurden mit dem Softwareprogramm MEME, Version 3.5.1 oder manuell identifiziert. MEME wurde von Timothy L. Bailey und Charles Elkan, Dept. of Computer Science and Engineering, University of California, San Diego, USA entwickelt und wird von Timothy L. Bailey und Charles Elkan [Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers, Proceedings of the Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, S. 28–36, AAAI Press, Menlo Park, Kalifornien, 1994] beschrieben. Der Quellcode für das Standalone-Programm ist über das San-Diego-Supercomputer-Center frei verfügbar (<http://meme.sdsc.edu>).

[0521] Zum Identifizieren gemeinsamer Motive in allen Sequenzen mit dem Softwareprogramm MEME wurden die folgenden Einstellungen verwendet: -maxsize 500000, -nmotifs 15, -evt 0.001, -maxw 60, -distance 1e-3, -minsites, Anzahl der für die Analyse verwendeten Sequenzen. Bei den Input-Sequenzen für MEME handelt es sich um nicht abgegliche Sequenzen im Fasta-Format. Andere Parameter wurden in den in dieser Software-Version vorgegebenen Einstellungen verwendet.

[0522] Die Prosites-Muster für konservierte Domänen wurden mit dem Software-Programm Pratt, Version 2.1 oder manuell erzeugt. Pratt wurde von Inge Jonassen, Dept. of Informatics, University of Bergen, Norway und wird von Jonassen et al. [I. Jonassen, J. F. Collins und D. G. Higgins, Finding flexible patterns in unaligned protein sequences, Protein Science 4 (1995), S. 1587–1595; I. Jonassen, Efficient discovery of conserved patterns using a pattern graph, Submitted to CABIOS Febr. 1997] beschrieben. Der Quellcode (ANSI C) für das Standalone-Programm ist frei verfügbar, z. B. über etablierte Bioinformatik-Center wie EBI (European Bioinformatics Institute).

[0523] Zum Erzeugen von Mustern mit dem Software-Programm Pratt, wurden die folgenden Einstellungen verwendet: PL (max Pattern Length/maximale Länge des Musters): 100, PN (max No of Pattern Symbols/maximale Anzahl an Mustersymbolen): 100, PX (max No of consecutive x's/maximale Anzahl an aufeinanderfolgenden x): 30, FN (max No of flexible spacers/maximale Anzahl an flexiblen Spacern): 5, FL (max Flexibility/maximale Flexibilität): 30, FP (max Flex.Product/maximal Flex.Produkt): 10, ON (max number Patterns/maximale Anzahl an Mustern): 50. Bei den Input-Sequenzen für Pratt handelte es sich um bestimmte Regionen der Proteinsequenzen, die eine große Ähnlichkeit aufweisen, wie vom Software-Programm MEME identifiziert. Mindestanzahl an Sequenzen, die den erzeugten Mustern entsprechen müssen (CM, min Nr of Seqs to Match), wurde auf mindestens 80% der bereitgestellten Sequenzen eingestellt. Hier nicht angeführte Parameter wurden in ihren vorgegebenen Einstellungen verwendet.

[0524] Bei den Prosites-Mustern der konservierten Domänen kann nach Proteinsequenzen gesucht werden, die mit diesem Muster übereinstimmen. Verschiedene etablierte Bioinformationszentren bieten öffentliche Internetportale an, bei denen man mit diesen Mustern Datenbanksuchen durchführen kann (z. B. PIR [Protein Information Resource, am Georgetown University Medical Center] oder ExPASy [Expert Protein Analysis System]). Alternativ dazu steht Stand-alone-Software zur Verfügung, wie das Programm Fuzzpro, das Teil des EMBOSS-Softwarepakets ist. So erlaubt es das Programm Fuzzpro zum Beispiel nicht nur, nach einer exakten Übereinstimmung von Muster und Protein zu suchen, sondern es erlaubt auch, bei der durchgeführten Suche verschiedene Unschärfen einzustellen.

[0525] Die Abgleichung erfolgte mit der Software ClustalW (Version 1.83) und wurde von Thompson et al. [Thompson, J. D., Higgins, D. G. und Gibson, T. J. (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive

multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673–4680] beschrieben. Der Quellcode für das Standalone-Programm ist über das European Molecular Biology Laboratory; Heidelberg, Deutschland frei verfügbar. Die Analyse erfolgte mit den vorgegebenen Parameter von ClustalW v1.83 (gap open Penalty: 10,0; gap extension Penalty: 0,2; Protein matrix: Gonnet; S.rotein/DNA endgap: -1; Protein/DNA gapdist: 4).

[0526] Degenerierte Primer können dann bei der PCR zur Amplifikation von Fragmenten neuartiger Proteine genutzt werden, die die oben erwähnte Aktivität aufweisen, z. B. das Verleihen des erhöhten GABA-Gehalts, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, nach dem Erhöhen der Expression oder Aktivität, oder die die Aktivität eines Proteins aufweisen, wie in Tabelle II, Spalte 3 gezeigt, oder weiterer funktioneller Homologe des Polypeptids der Erfindung aus anderen Organismen.

[0527] Diese Fragmente können dann als Hybridisierungssonde zum Isolieren der vollständigen Gensequenz verwendet werden. Alternativ dazu kann man die fehlenden 5'- und 3'-Sequenzen mittels RACE-PCR isolieren. Ein Nukleinsäuremolekül gemäß der Erfindung kann unter Verwendung von cDNA oder alternativ genomischer DNA als Template und passenden Oligonukleotidprimern gemäß Standard-PCR-Amplifikationstechniken amplifiziert werden. Das amplifizierte Nukleinsäuremolekül kann daher in einen passenden Vektor kloniert werden und durch DNA-Sequenzanalyse charakterisiert werden. Oligonukleotide, die einem der in dem Verfahren verwendeten Nukleinsäuremoleküle entsprechen, können durch Standard-Synthesemethoden erzeugt werden, zum Beispiel unter Verwendung eines automatischen DNA-Synthesizers.

[0528] Nukleinsäuremoleküle, die für das Verfahren gemäß der Erfindung vorteilhaft sind, können auf der Basis ihrer Homologie mit den hier offenbarten Nukleinsäuremolekülen isoliert werden, unter Verwendung der Sequenzen oder eines Teils davon als Hybridisierungssonde und nach Standard-Hybridisierungstechniken unter stringenten Hybridisierungsbedingungen. In diesem Zusammenhang ist es zum Beispiel möglich, isolierte Nukleinsäuremoleküle mit einer Länge von mindestens 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 oder mehr Nukleotiden, bevorzugt mindestens 15, 20 oder 25 Nukleotiden, die unter stringenten Bedingungen mit den oben beschriebenen Nukleinsäuremolekülen hybridisieren, insbesondere mit denen, die eine Nukleotidsequenz des Nukleinsäuremoleküls, das im Verfahren der Erfindung verwendet wird oder für ein in der Erfindung verwendetes Protein kodiert, oder des Nukleinsäuremoleküls der Erfindung umfassen, einzusetzen. Nukleinsäuremoleküle mit 30, 50, 100, 250 oder mehr Nukleotiden können ebenfalls verwendet werden.

[0529] Der Begriff "Homologie" bedeutet, dass die betreffenden Nukleinsäuremoleküle oder kodierten Proteine funktionell und/oder strukturell äquivalent sind. Die Nukleinsäuremoleküle, die homolog zu den oben beschriebenen Nukleinsäuremolekülen sind und bei denen es sich um Derivate dieser Nukleinsäuremoleküle handelt, sind zum Beispiel Variationen dieser Nukleinsäuremoleküle, die Modifikationen mit der gleichen biologischen Funktion darstellen und die insbesondere für Proteine mit der gleichen oder im Wesentlichen der gleichen biologischen Funktion kodieren. Es kann sich bei ihnen um natürliche Variationen wie Sequenzen aus anderen Pflanzensorten oder -arten oder um Mutationen handeln. Diese Mutationen können natürlich auftreten oder durch Mutagenesetechniken erhalten werden. Die allelischen Variationen können natürlich auftretende allelische Varianten sowie synthetisch produzierte oder gentechnisch hergestellte Varianten sein. Strukturelle Äquivalente lassen sich zum Beispiel identifizieren, indem die Bindung des Polypeptids an Antikörper getestet wird, oder durch computergestützte Vorhersagen. Strukturelle Äquivalente haben ähnliche immunologische Charakteristika, z. B. enthalten sie ähnliche Epitope.

[0530] Mit "Hybridisieren" ist gemeint, dass solche Nukleinsäuremoleküle unter herkömmlichen Hybridisierungsbedingungen hybridisieren, vorzugsweise unter stringenten Bedingungen wie den von z. B. Sambrook (*Molecular Cloning; A Laboratory Manual*, 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989)) oder in *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1–6.3.6 beschrieben.

[0531] Gemäß der Erfindung können sowohl DNA- als auch RNA-Moleküle der Nukleinsäure der Erfindung als Sonden verwendet werden. Ferner können als Template zur Identifikation von funktionellen Homologen sowohl Northern-Blot-Assays als auch Southern-Blot-Assays durchgeführt werden. Der Northern-Blot-Assay stellt vorteilhafterweise weitere Informationen über das exprimierte Genprodukt bereit: z. B. Expressionsmuster, Auftreten der Verarbeitungsschritte wie Spleißen und Capping, usw. Der Southern-Blot-Assay liefert zusätzliche Informationen über die chromosomale Lokalisierung und Organisation des für das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodierenden Gens.

[0532] Ein bevorzugtes, nicht einschränkendes Beispiel für stringente Hybridisierungsbedingungen sind Hybridisierungen in $6 \times$ Natriumchlorid/Natriumcitrat (= SSC) bei ungefähr 45°C , gefolgt von einem oder mehreren Waschschritten in $0,2 \times$ SSC, $0,1\%$ SDS bei 50 bis 65°C , zum Beispiel bei 50°C , 55°C oder 60°C . Der Fachmann weiß, dass diese Hybridisierungsbedingungen sich in Abhängigkeit vom Typ der Nukleinsäure unterscheiden und, zum Beispiel wenn organische Lösungsmittel vorhanden sind, hinsichtlich der Temperatur und der Konzentration des Puffers. Die Temperatur unter "Standard-Hybridisierungsbedingungen" liegt zum Beispiel in Abhängigkeit vom Typ der Nukleinsäure zwischen 42°C und 58°C , bevorzugt zwischen 45°C und 50°C in einem wässrigen Puffer mit einer Konzentration von $0,1 \times$, $0,5 \times$, $1 \times$, $2 \times$, $3 \times$, $4 \times$ oder $5 \times$ SSC (pH-Wert 7,2). Sind in dem obenerwähnten Puffer ein oder mehrere organische Lösungsmittel vorhanden, zum Beispiel 50% Formamid, so beträgt die Temperatur unter Standardbedingungen ungefähr 40°C , 42°C oder 45°C . Die Hybridisierungsbedingungen für DNA: DNA-Hybride sind bevorzugt zum Beispiel $0,1 \times$ SSC und 20°C , 25°C , 30°C , 35°C , 40°C oder 45°C , bevorzugt zwischen 30°C und 45°C . Die Hybridisierungsbedingungen für DNA:RNA-Hybride sind bevorzugt zum Beispiel $0,1 \times$ SSC und 30°C , 35°C , 40°C , 45°C , 50°C oder 55°C , bevorzugt zwischen 45°C und 55°C . Die obenerwähnten Hybridisierungstemperaturen werden zum Beispiel für eine Nukleinsäure mit einer Länge von ungefähr 100 Bp (= Basenpaaren) und einem G + C-Gehalt von 50% in Abwesenheit von Formamid bestimmt. Dem Fachmann ist es mit der Hilfe von Lehrbüchern, zum Beispiel den obenerwähnten, oder aus dem folgenden Lehrbuch: Sambrook et al., "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989; Harnes und Higgins (Hrsg.) 1985, "Nucleic Acids Hybridization: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford; Brown (Hrsg.) 1991, "Essential Molecular Biology: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford, möglich, die erforderlichen Hybridisierungsbedingungen zu bestimmen.

[0533] Ein weiteres Beispiel für eine solche stringente Hybridisierungsbedingung ist die Hybridisierung bei $4 \times$ SSC bei 65°C , gefolgt von einstündigem Waschen in $0,1 \times$ SSC bei 65°C . Alternativ ist eine beispielhafte stringente Hybridisierungsbedingung in 50% Formamid, $4 \times$ SSC bei 42°C . Ferner können die Bedingungen während des Waschschriffs aus einer Reihe von Bedingungen ausgewählt werden, die sich von niederstringenten Bedingungen (ungefähr $2 \times$ SSC bei 50°C) bis zu hochstringenten Bedingungen (ungefähr $0,2 \times$ SSC bei 50°C , vorzugsweise at 65°C) ($20 \times$ SSC: $0,3$ M Natriumcitrat, 3 M NaCl, pH-Wert $7,0$) erstrecken, ausgewählt werden. Zusätzlich kann die Temperatur während des Waschschriffs von niederstringenten Bedingungen bei Raumtemperatur, ungefähr 22°C , auf höhenstringente Bedingungen bei ungefähr 65°C erhöht werden. Die Parameter Salzkonzentration und Temperatur können beide gleichzeitig variiert werden, oder ansonsten kann einer der beiden Parameter konstant gehalten werden. Bei der Hybridisierung können auch denaturierende Substanzen, wie zum Beispiel Formamid oder SDS, eingesetzt werden. In Gegenwart von 50% Formamid erfolgt die Hybridisierung vorzugsweise bei 42°C . Relevante Faktoren wie i) Dauer der Behandlung, ii) Salzbedingungen, iii) Tensidbedingungen, iv) Kompetitor-DNAs, v) Temperatur und vi) gewählte Sonde können von Fall zu Fall kombiniert werden, so dass hier nicht alle Möglichkeiten aufgeführt werden können.

[0534] Daher werden in einer bevorzugten Ausführungsform Northern-Blots mit Rothi-Hybr-Quick-Puffer (Roth, Karlsruhe) 2 h bei 68°C vorhybridisiert. Die Hybridisierung mit einer radioaktiv markierten Sonde erfolgt über Nacht bei 68°C . Anschließende Waschschriffe werden bei 68°C mit $1 \times$ SSC durchgeführt.

[0535] Bei den Southern-Blot-Assays wird die Membran 2 h bei 68°C mit Rothi-Hybr-Quick-Puffer (Roth, Karlsruhe) vorhybridisiert. Hybridisierung mit einer radioaktiv markierten Sonde erfolgt über Nacht bei 68°C . Anschließend wird der Hybridisierungspuffer verworfen und der Filter kurz mit $2 \times$ SSC; $0,1\%$ SDS gewaschen. Nachdem der Waschpuffer verworfen wurde, wird neuer $2 \times$ SSC; $0,1\%$ SDS-Puffer zugegeben, und es wird 15 Minuten lang bei 68°C inkubiert. Dieser Waschschriff wird zweimal durchgeführt, worauf sich ein zusätzlicher 10 -minütiger Waschschriff mit $1 \times$ SSC; $0,1\%$ SDS bei 68°C anschließt.

[0536] Einige Beispiel für Bedingungen zur DNA-Hybridisierung (Southern-Blot-Assays) und Waschschriffe werden im Folgenden gezeigt:

- (1) Die Hybridisierungsbedingungen können zum Beispiel unter den folgenden Bedingungen ausgewählt werden:
 - a) $4 \times$ SSC bei 65°C ,
 - b) $6 \times$ SSC bei 45°C ,
 - c) $6 \times$ SSC, 100 mg/ml DNA aus denaturiertem, fragmentiertem Fischsperma bei 68°C ,
 - d) $6 \times$ SSC, $0,5\%$ SDS, 100 mg/ml DNA aus denaturiertem Lachssperma bei 68°C ,
 - e) $6 \times$ SSC, $0,5\%$ SDS, 100 mg/ml DNA aus denaturiertem, fragmentiertem Lachssperma, 50% Formamid bei 42°C ,
 - f) 50% Formamid, $4 \times$ SSC bei 42°C ,

- g) 50% (v/v) Formamid, 0,1% Rinderserumalbumin, 0,1% Ficoll, 0,1% Polyvinylpyrrolidon, 50 mM Natriumphosphatpuffer pH 6,5, 750 mM NaCl, 75 mM Natriumcitrat bei 42°C,
 h) 2 × oder 4 × SSC bei 50°C (niederstringente Bedingung), oder
 i) 30 bis 40% Formamid, 2 × oder 4 × SSC bei 42°C (niederstringente Bedingung).
 (2) Waschschritte können zum Beispiel unter den folgenden Bedingungen ausgewählt werden:
 a) 0,015 M NaCl/0,0015 M Natriumcitrat/0,1% SDS bei 50°C.
 b) 0,1 × SSC bei 65°C.
 c) 0,1 × SSC bei 0,5%, SDS bei 68°C.
 d) 0,1 × SSC, 0,5% SDS, 50% Formamid bei 42°C.
 e) 0,2 × SSC, 0,1% SDS bei 42°C.
 f) 2 × SSC bei 65°C (niederstringente Bedingung).

[0537] Polypeptide mit der obenerwähnten Aktivität, d. h. die den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleihen, die aus anderen Organismen abgeleitet sind, können durch andere DNA-Sequenzen kodiert sein, die mit den in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenzen unter relaxierten Hybridisierungsbedingungen hybridisieren und die bei der Expression für Peptide kodieren, die den erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleihen.

[0538] Ferner müssen einige Anwendungen bei niederstringenten Hybridisierungsbedingungen durchgeführt werden, ohne dass sich dadurch irgendwelche Konsequenzen für die Spezifität der Hybridisierung ergeben. Zum Beispiel könnte für eine Southern-Blot-Analyse der Gesamt-DNA ein Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung als Sonde verwendet und niederstringent gewaschen werden (55°C in 2 × SSPE, 0,1% SDS). Die Hybridisierungsanalyse könnte ein einfaches Muster nur mit Genen zeigen, die für Polypeptide der vorliegenden Erfindung oder für im Verfahren der Erfindung verwendete Polypeptide kodieren, die z. B. die hierin erwähnte Aktivität der Erhöhung der Toleranz und/oder Resistenz gegen Umweltstress und der Erhöhung der Biomasseproduktion, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle oder -Pflanze oder einem Teil davon, aufweisen. Ein weiteres Beispiel für solche niederstringenten Hybridisierungsbedingungen ist 4 × SSC bei 50°C oder die Hybridisierung mit 30 bis 40% Formamid bei 42°C. Solche Moleküle umfassen diejenigen, bei denen es sich um Fragmente, Analoga oder Derivate des Polypeptids der Erfindung oder des im Verfahren der Erfindung verwendeten Polypeptids handelt und die sich zum Beispiel in Bezug auf eine oder mehrere Aminosäuren- und/oder Nukleotiddeletionen, -insertionen, -substitutionen, -additionen und/oder -rekombinationen oder andere im Stand der Technik bekannte Motivierungen entweder alleine oder in Kombination von den oben beschriebenen Aminosäuresequenzen oder ihrer/ihren zugrundeliegenden Nukleotidsequenz(en) unterscheiden. Bevorzugt werden jedoch hochstringente Hybridisierungsbedingungen verwendet.

[0539] Die Hybridisierung sollte vorteilhafterweise mit Fragmenten von mindestens 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 oder 40 Bp, vorteilhafterweise mindestens 50, 60, 70 oder 80 Bp, bevorzugt mindestens 90, 100 oder 110 Bp durchgeführt werden. Am stärksten bevorzugt sind Fragmente mit mindestens 15, 20, 25 oder 30 bp. Bevorzugt sind außerdem Hybridisierungen mit einer Länge von mindestens 100 Bp oder 200, ganz besonders bevorzugt von mindestens 400 bp. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform sollte die Hybridisierung mit der gesamten Nukleinsäuresequenz unter den oben beschriebenen Bedingungen durchgeführt werden.

[0540] Die Begriffe "Fragment", "Fragment einer Sequenz" oder "Teil einer Sequenz" bedeuten eine trunkierte Sequenz der betreffenden Originalsequenz. Die trunkierte Sequenz (Nukleinsäure- oder Proteinsequenz) kann in ihrer Länge stark schwanken; die Mindestgröße ist eine Sequenz mit einer Größe, die ausreicht, um eine Sequenz bereitzustellen, die mindestens eine vergleichbare Funktion und/oder Aktivität der betreffenden Originalsequenz aufweist oder mit dem Nukleinsäuremolekül der Erfindung oder dem im Verfahren der Erfindung verwendeten Nukleinsäuremolekül unter stringenten Bedingungen hybridisiert, während die Maximalgröße nicht kritisch ist. In einigen Anwendungen ist die Maximalgröße nicht wesentlich größer als die Größe, die erforderlich ist, um die gewünschte Aktivität und/oder Funktion(en) der Originalsequenz bereitzustellen.

[0541] Typischerweise weist die trunkierte Aminosäuresequenz eine Länge im Bereich von etwa 5 bis etwa 310 Aminosäuren auf. Noch typischer wird die Sequenz jedoch eine Länge von maximal etwa 250 Aminosäuren, vorzugsweise maximal etwa 200 oder 100 Aminosäuren, aufweisen. Es ist gewöhnlich wünschenswert, Sequenzen mit mindestens etwa 10, 12 oder 15 Aminosäuren, bis zu einem Maximum von etwa 20 oder 25 Aminosäuren, auszuwählen.

[0542] Der Begriff "Epitop" bezieht sich auf spezifisch immunoreaktive Stellen in einem Antigen, die auch als antigene Determinanten bekannt sind. Bei diesen Epitopen kann es sich um eine lineare Anordnung von Mo-

nomeren in einer polymeren Zusammensetzung – wie Aminosäuren in einem Protein – handeln, oder sie umfassen eine komplexere Sekundär- oder Tertiärstruktur bzw. bestehen daraus. Dem Fachmann wird ersichtlich sein, dass Immunogene (d. h. Substanzen, die eine Immunreaktion auslösen können) Antigene sind; einige Antigen wie z. B. Haptene sind jedoch nicht Immunogene, können aber durch Kuppeln mit einem Trägermolekül immunogen gemacht werden. Der Ausdruck "Antigen" enthält Verweise auf eine Substanz, gegen die ein Antikörper gebildet werden kann und/oder gegen die der Antikörper spezifisch immunoreaktiv ist.

[0543] In einer Ausführungsform bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Epitop des Polypeptids der vorliegenden Erfindung bzw. des im Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendeten Polypeptids und verleiht einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp.

[0544] Der Begriff "eine oder mehrere Aminosäuren" bezieht sich auf mindestens eine Aminosäure, jedoch auf nicht mehr als die Anzahl an Aminosäuren, die zu einer Homologie von unter 50% Identität führen würden. Bevorzugt ist die Identität mehr als 70% oder 80%, besonders bevorzugt sind 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% oder 95%, noch mehr bevorzugt sind 96%, 97%, 98% oder 99% Identität.

[0545] Ferner umfasst das Nukleinsäuremolekül der Erfindung ein Nukleinsäuremolekül, bei dem es sich um ein Komplement zu einer der Nukleotidsequenzen der obenerwähnten Nukleinsäuremoleküle oder eines Teils davon handelt. Ein Nukleinsäuremolekül, das komplementär zu einer der in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Nukleotidsequenzen ist, ist eines, das ausreichend komplementär zu einer der in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Nukleotidsequenzen ist, so dass es mit einer der in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Nukleotidsequenzen unter Bildung eines stabilen Duplex hybridisieren kann. Bevorzugt wird die Hybridisierung unter stringenten Hybridisierungsbedingungen durchgeführt. Ein Komplement einer der hier offenbarten Sequenzen ist jedoch vorzugsweise eine Sequenz, die gemäß der dem Fachmann gut bekannten Basenpaarung der Nukleinsäuremoleküle komplementär dazu ist. Zum Beispiel paaren sich die Basen A und G mit den Basen T und U bzw. C, und umgekehrt. Modifikationen der Basen können einen Einfluss auf die Partner für die Basenpaarung haben.

[0546] Das Nukleinsäuremolekül der Erfindung umfasst eine Nukleotidsequenz, die mindestens etwa 30%, 35%, 40% oder 45%, bevorzugt mindestens etwa 50%, 55%, 60% oder 65%, besonders bevorzugt mindestens etwa 70%, 80%, oder 90%, und ganz besonders bevorzugt mindestens etwa 95%, 97%, 98%, 99% oder mehr homolog zu einer in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Nukleotidsequenz oder einem Teil davon ist und bevorzugt die obenerwähnte Aktivität aufweist, insbesondere eine Toleranz und/oder Resistenz gegen Umweltstress und eine die Biomasseproduktion erhöhende Aktivität nach der Erhöhung der Aktivität oder einer Aktivität eines wie in Tabelle II, Spalte 3 gezeigten Genprodukts, zum Beispiel durch Expression entweder im Cytosol oder in einer Organelle, wie einem Plastid oder Mitochondrien oder beiden, vorzugsweise in Plastiden.

[0547] Das Nukleinsäuremolekül der Erfindung umfasst eine Nukleotidsequenz, die mit einer der in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Nukleotidsequenzen oder einem Teil davon vorzugsweise unter wie hier definierten stringenten Bedingungen hybridisiert, und für ein Protein mit der obenerwähnten Aktivität kodiert, z. B. das Verleihen eines erhöhten GABA-Gehalts, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, zum Beispiel durch Expression entweder im Zytosol oder in einer Organelle, wie einem Plastid oder Mitochondrien oder beiden, vorzugsweise in Plastiden, und gegebenenfalls die Aktivität, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Factor-Arrest-Protein, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-ke-to-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein.

[0548] Im gesamten Kontext dieser Anmeldung ist die Expression der Nukleotidsequenzen, die die in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Nukleotidsequenzen umfassen, oder die Nukleotidsequenzen, die ein Protein, das die Polypeptidsequenzen umfasst, wie in Tabelle II Spalten 5 oder 7 gezeigt in Plastide kodieren, besonders bevorzugt, wenn diese Sequenzen in Tabelle I oder II in der gleichen Zeile wie ein ORF (Spalte 3) gezeigt werden, für den Tabelle I, II, III oder IV „plastidisch“ in der Spalte „Ziel“ zeigt.

[0549] Außerdem kann das Nukleinsäuremolekül der Erfindung nur einen Teil der kodierenden Region einer der in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenzen aufweisen, zum Beispiel ein Fragment, das als Sonde oder Primer verwendet werden kann oder ein Fragment, das für einen biologisch aktiven Teil des Polypeptids der vorliegenden Erfindung oder eines im Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendeten Polypeptids kodiert, d. h. das die obenerwähnte Aktivität aufweist, z. B. eine Erhöhung der Toleranz und/oder Resistenz gegen Umweltstress und Biomasseproduktion verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle oder -Pflanze oder einem Teil davon verleiht, wenn dessen Aktivität erhöht wird, zum Beispiel durch Expression entweder im Zytosol oder in einer Organelle, wie einem Plastid oder Mitochondrien oder beiden, vorzugsweise in Plastiden. Die durch Klonieren des für das vorliegende, für das erfindungsgemäße Protein kodierenden Gens bestimmten Nukleotidsequenzen ermöglichen die Herstellung von Sonden und Primern, die auf die Identifikation und/oder Klonierung ihrer Homologe in anderen Zelltypen und Organismen zugeschnitten sind. Die Sonde/der Primer umfasst typischerweise im Wesentlichen gereinigte Oligonukleotide. Das Oligonukleotid umfasst typischerweise eine Region einer Nukleotidsequenz, die unter stringenten Bedingungen mit mindestens etwa 12, 15 vorzugsweise etwa 20 oder 25, besonders bevorzugt etwa 40, 50 oder 75 aufeinanderfolgenden Nukleotiden eines Sense-Strangs einer der z. B. in Tabelle I, Spalte 5 und 7 angeführten Sequenzen, einer Antisense-Sequenz einer der z. B. in Tabelle I, Spalte 5 und 7 angeführten Sequenzen oder natürlich vorkommenden Mutanten davon hybridisiert. Auf einem Nukleotid der Erfindung basierende Primer können in PCR-Reaktionen zum Klonen von Homologen des Polypeptids der Erfindung oder des im Verfahren der Erfindung verwendeten Polypeptids verwendet werden, z. B. als die in den Beispielen der vorliegenden Erfindung beschriebenen Primer, z. B. wie in den Beispielen gezeigt. Eine PCR mit den in Tabelle III, Spalte 7 gezeigten Primern führt zu einem Fragment des wie in Tabelle II, Spalte 3 gezeigten Genprodukts.

[0550] Die Primersets sind austauschbar. Dem Fachmann ist bekannt, wie man diese Primer kombiniert, um zu dem gewünschten Produkt zu gelangen, z. B. in einem Vollängen-Klon oder einer Teilsequenz. Sonden, die auf den Sequenzen des Nukleinsäuremoleküls der Erfindung oder des im Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendeten Nukleinsäuremoleküls basieren, können eingesetzt werden, um Transkripte oder für diese kodierende genomische Sequenzen oder homologe Proteine nachzuweisen. Die Sonde kann ferner eine daran angeheftet Markergruppe umfassen, z. B. kann die Markergruppe ein Radioisotop, eine fluoreszierende Verbindung, ein Enzym oder einen Enzymkofaktor sein. Solche Sonden können als Teil eines Testkits für genomische Marker zur Identifikation von Zellen, die ein Polypeptid der Erfindung oder ein im Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendetes Polypeptid exprimieren, verwendet werden, wie z. B. durch die Messung einer Konzentration eines kodierenden Nukleinsäuremoleküls in einer Probe von Zellen, z. B. indem man mRNA-Konzentrationen nachweist oder bestimmt, ob ein die Sequenz des Polynukleotids der Erfindung oder des im Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendeten Polynukleotids enthaltendes genomisches Gen mutiert oder deletiert worden ist.

[0551] Das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodiert für ein Polypeptid oder einen Teil davon, der eine Aminosäuresequenz einschließt, die ausreichend homolog mit der in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Aminosäuresequenz ist, so dass das Protein oder der Teil davon die Fähigkeit beibehält, zur Erhöhung des GABA-Gehalts und bevorzugt zur Erhöhung weiterer ertragsbezogener Merkmale, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle oder -Pflanze oder einem Teil davon, beizutragen, wobei insbesondere die Erhöhung der Aktivität, wie oben erwähnt oder wie in den Beispielen beschriebenen, in Pflanzen umfasst ist.

[0552] Wie hierin verwendet, bezieht sich der Ausdruck "ausreichend homolog" auf Proteine oder Teile davon, die Aminosäuresequenzen aufweisen, die eine Mindestzahl an mit einer in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Aminosäuresequenz identischen oder äquivalenten Aminosäureresten (z. B. einen Aminosäurerest mit einer ähnlichen Seitenkette wie ein Aminosäurerest in einer der Sequenzen des Polypeptids der vorliegenden Erfindung) enthalten, so dass das Protein oder der Teil davon dazu fähig ist, zur Erhöhung des GABA-Gehalts, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, beizutragen. Für Beispiele, die die Aktivität eines Proteins ausweisen, wie in Tabelle II, Spalte 3 gezeigt und wie hier beschrieben.

[0553] In einer Ausführungsform umfasst das Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung eine Nukleinsäure, die für einen Teil des Proteins der vorliegenden Erfindung kodiert. Das Protein ist mindestens etwa 30%, 35%, 40%, 45% oder 50%, bevorzugt mindestens etwa 55%, 60%, 65% oder 70%, und besonders bevorzugt mindestens etwa 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93% oder 94% und ganz besonders bevorzugt mindestens etwa 95%, 97%, 98%, 99% oder mehr homolog zu einer vollständigen Aminosäuresequenz aus Tabelle II, Spalte 5 und 7 und weist die obenerwähnte Aktivität auf, die z. B. das Verleihen eines erhöhten GABA-Gehalts, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, zum Beispiel durch Expression

entweder im Zytosol oder in einer Organelle, wie einem Plastid oder Mitochondrien oder beiden, vorzugsweise in Plastiden.

[0554] Teile von Proteinen, die durch das Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodiert sind, sind bevorzugt biologisch aktiv, weisen bevorzugt die obenerwähnte kommentierte Aktivität auf, z. B. Verleihen eines erhöhten GABA-Gehalts, verglichen mit einem entsprechenden, nicht transformierten Wildtyp.

[0555] Wie hierin erwähnt, soll der Begriff "biologisch aktiver Abschnitt" einen Abschnitt, z. B. eine Domäne/ ein Motiv, enthalten, der einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht, oder eine immunologische Aktivität aufweist, so dass er an einen Antikörper bindet, der spezifisch an das Polypeptid der vorliegenden Erfindung oder Polypeptid bindet, das im Verfahren der vorliegenden Erfindung für einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verwendetet wird.

[0556] Die Erfindung betrifft ferner Nukleinsäuremoleküle, die sich aufgrund der Degeneration des genetischen Kodes von einer der in Tabelle IA, Spalten 5 und 7 gezeigten Nukleotidsequenzen (und Abschnitten davon) unterscheiden und daher für ein Polypeptid der vorliegenden Erfindung, insbesondere ein Polypeptid mit der obenerwähnten Aktivität, z. B. wie die durch die in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigte Sequenz dargestellten Polypeptide oder die funktionellen Homologe kodieren. Vorteilhafterweise umfasst oder (gemäß einer anderen Ausführungsform) hat das Nukleinsäuremolekül der Erfindung eine Nukleotidsequenz, die für ein Protein kodiert, das eine in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigte Aminosäuresequenz umfasst oder (gemäß einer anderen Ausführungsform) aufweist oder die funktionellen Homologe kodiert. In noch einer weiteren Ausführungsform kodiert das Nukleinsäuremolekül der Erfindung für ein Vollängen-Protein, das im Wesentlichen homolog zu einer in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Aminosäuresequenz oder den funktionellen Homologen ist. In einer bevorzugten Ausführungsform besteht das Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung jedoch nicht aus der in Tabelle I, vorzugsweise Tabelle IA, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenz.

[0557] Darüber hinaus wird dem Fachmann klar sein, dass es in einer Population zu DNA-Sequenzpolymorphismus kommen kann, der Änderungen bei den Aminosäuresequenzen zur Folge hat. Solche genetischen Polymorphismen in dem für das Polypeptid der Erfindung kodierenden oder das Nukleinsäuremolekül der Erfindung enthaltenden Gen können aufgrund der natürlichen Variation zwischen Individuen innerhalb einer Population vorhanden sein.

[0558] Wie hierin verwendet, beziehen sich die Ausdrücke "Gen" und "rekombinantes Gen" auf Nukleinsäuremoleküle, die einen offenen Leserahmen enthalten, der für das Polypeptid der Erfindung kodiert, oder die das Nukleinsäuremolekül der Erfindung umfassen oder die für das im Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendete Polypeptid kodieren, vorzugsweise aus einer Kulturpflanze oder aus einem Mikroorganismus, der sich für das Verfahren der Erfindung eignet. Solche natürlichen Variationen können typischerweise zu einer 1–5%ige Varianz in der Nukleotidsequenz des Gens führen. Alle diese Nukleotidvariationen und die resultierenden Aminosäurepolymorphismen in Genen, die für ein Polypeptid der Erfindung kodieren oder ein Nukleinsäuremolekül der Erfindung umfassen, die auf die natürliche Variation zurückzuführen sind und die die beschriebene funktionelle Aktivität nicht verändern, sollen mit in den Umfang der Erfindung fallen.

[0559] Nukleinsäuremoleküle, die den natürlichen Variantenhomologen eines Nukleinsäuremoleküls der Erfindung entsprechen, die auch eine cDNA sein kann, können auf Basis ihrer Homologie mit den hierin offenbarten Nukleinsäuremolekülen isoliert werden, wobei das Nukleinsäuremolekül der Erfindung oder einen Teil davon als eine Hybridisierungssonde gemäß den Standard-Hybridisierungstechniken unter stringenten Hybridisierungsbedingungen verwendet wird.

[0560] Entsprechend weist gemäß einer anderen Ausführungsform ein Nukleinsäuremolekül der Erfindung eine Länge von mindestens 15, 20, 25 oder 30 Nukleotiden auf. Bevorzugt hybridisiert es unter stringenten Bedingungen mit einem Nukleinsäuremolekül, das eine Nukleotidsequenz des Nukleinsäuremoleküls der vorliegenden Erfindung oder des im Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendeten Nukleinsäuremoleküls, z. B. vorzugsweise die in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigte Sequenz, umfasst. Das Nukleinsäuremolekül weist bevorzugt eine Länge von mindestens 20, 30, 50, 100, 250 oder mehr Nukleotide auf.

[0561] Der Begriff "hybridisiert unter stringenten Bedingungen" ist oben definiert. In einer Ausführungsform soll der Begriff "hybridisiert unter stringenten Bedingungen" Hybridisierungs- und Waschbedingungen beschreiben, bei denen Nukleotidsequenzen, die mindestens 30%, 40%, 50% oder 65% identisch zueinander sind, typischerweise miteinander hybridisiert bleiben. Bevorzugt sind die Bedingungen derart, dass die Sequenzen,

die mindestens etwa 70%, mehr bevorzugt mindestens etwa 75% oder 80%, und ganz besonders bevorzugt mindestens etwa 85%, 90% oder 95% oder mehr identisch zueinander sind, typischerweise miteinander hybridisiert bleiben.

[0562] Bevorzugt entspricht das Nukleinsäuremolekül der Erfindung, das unter stringenten Bedingungen mit einer in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenz hybridisiert, einem natürlich vorkommenden Nukleinsäuremolekül der Erfindung. Wie hierin verwendet, bezieht sich "natürlich vorkommendes" Nukleinsäuremolekül auf ein RNA- oder DNA-Molekül mit einer in der Natur vorkommenden Nukleotidsequenz (die z. B. für ein natürliches Protein kodiert). Bevorzugt kodiert das Nukleinsäuremolekül für ein natürliches Protein, das die obenerwähnten Aktivität aufweist, z. B. Verleihen der Toleranz und/oder Resistenz gegen Umweltstress und eine erhöhte Biomasseproduktion, nach der Erhöhung der Expression oder Aktivität davon oder der Aktivität eines Proteins der Erfindung oder eines im Verfahren der Erfindung verwendeten Proteins, zum Beispiel durch Expression der Nukleinsäuresequenz des Genprodukts im Zytosol und/oder in einer Organelle, wie einem Plastid oder Mitochondrien, vorzugsweise in Plastiden.

[0563] Der Fachmann wird ferner zu schätzen wissen, dass zusätzlich zu den natürlich vorkommenden Varianten der Sequenzen des Polypeptids oder Nukleinsäuremoleküls der Erfindung sowie des im Verfahren der Erfindung verwendeten Polypeptids oder Nukleinsäuremoleküls, die in der Population vorhanden sein können, Veränderungen durch Mutation in eine Nukleotidsequenz des Nukleinsäuremoleküls, das für das Polypeptid der Erfindung oder das im Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendete Polypeptid kodiert, eingeführt werden können, wodurch es zu Veränderungen in der Aminosäuresequenz des kodierten Polypeptids kommt, ohne dass die funktionelle Fähigkeit des Polypeptids beeinträchtigt wird und vorzugsweise die Aktivität nicht abnimmt.

[0564] So kann man zum Beispiel in einer Sequenz des Nukleinsäuremoleküls der Erfindung oder eines im Verfahren der Erfindung verwendeten Nukleinsäuremoleküls, z. B. wie in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigt, Nukleotidsubstitutionen vornehmen, die zu Aminosäuresubstitutionen bei "nicht essentiellen" Aminosäureresten führen.

[0565] Ein "nicht essentieller" Aminosäurerest ist ein Rest, der in der Wildtyp-Sequenz geändert werden kann, ohne dass sich die Aktivität des Polypeptids ändert, während ein "essentieller" Aminosäurerest für eine wie obenerwähnte Aktivität benötigt wird, was z. B. zu einer Erhöhung der Toleranz und/oder Resistenz gegen Umweltstress und der Biomasseproduktion, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle oder -Pflanze oder einem Teil davon in einem Organismus führt, nachdem die Aktivität des Polypeptids erhöht wurde. Andere Aminosäurereste jedoch (z. B. die, die in der Domäne mit der besagten Aktivität nicht konserviert oder nur teilweise konserviert sind) können nicht essentiell für die Aktivität sein und sind daher wahrscheinlich Veränderungen zugänglich, ohne dass dabei die Aktivität verändert wird.

[0566] Weiterhin ist dem Fachmann bekannt, dass sich die Kodon-Verwendung zwischen Organismen unterscheiden kann. Daher kann er die Kodon-Verwendung im Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung an die Verwendung des Organismus oder des Zellkompartiments, zum Beispiel des Plastids oder Mitochondrien, in dem/in denen das Polynukleotid bzw. Polypeptid exprimiert wird, anpassen.

[0567] Entsprechend betrifft die Erfindung Nukleinsäuremoleküle, die für ein Polypeptid mit der obenerwähnten Aktivität kodieren, in einem Organismus oder Teilen davon, zum Beispiel durch Expression entweder im Zytosol oder in einer Organelle wie einem Plastid oder Mitochondrien oder beiden, vorzugsweise in Plastiden, die Veränderungen bei den Aminosäureresten enthalten, die nicht essentiell für diese Aktivität sind. Solche Polypeptide unterscheiden sich in der Aminosäuresequenz von einer in den in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenzen enthaltenen Sequenz, haben aber immer noch die hier beschriebene Aktivität. Das Nukleinsäuremolekül kann eine für ein Polypeptid kodierende Nukleotidsequenz umfassen, wobei das Polypeptid eine Aminosäuresequenz umfasst, die mindestens etwa 50% identisch zu einer in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Aminosäuresequenz ist und nach der Erhöhung ihrer Aktivität in der Lage ist, zu einer erhöhten GA-BA-Gehalt-Produktion, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle oder -Pflanze oder einem Teil davon, beizutragen, z. B. dessen Expression zum Beispiel durch Expression entweder im Zytosol und/oder in einer Organelle, wie einem Plastid oder Mitochondrien oder beiden, vorzugsweise in Plastiden. Vorzugsweise ist das durch das Nukleinsäuremolekül kodierte Protein mindestens etwa 60% identisch mit der in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenz, besonders bevorzugt mindestens etwa 70% identisch mit der in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenz, noch mehr bevorzugt mindestens etwa 80%, 90%, 95% homolog zu der in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenz, und ganz besonders bevorzugt mindestens etwa 96%, 97%, 98% oder 99% identisch mit der in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenz.

[0568] Zur Bestimmung der prozentualen Homologie (= Identität, hierin austauschbar verwendet) von zwei Aminosäuresequenzen oder von zwei Nukleinsäuremolekülen werden die Sequenzen für einen optimalen Vergleich untereinander geschrieben (man kann zum Beispiel Lücken in die Sequenz eines Proteins oder einer Nukleinsäure einfügen, um eine optimale Ausrichtung mit dem anderen Protein bzw. der anderen Nukleinsäure zu erzielen).

[0569] Dann werden die Aminosäurereste oder Nukleinsäuremoleküle an den entsprechenden Aminosäurepositionen bzw. Nukleotidpositionen verglichen. Wenn eine Position in einer Sequenz durch den gleichen Aminosäurerest bzw. das gleiche Nukleinsäuremolekül wie die entsprechende Position in der anderen Sequenz belegt, so sind die Moleküle in dieser Position homolog (i. e. Aminosäure- oder Nukleinsäure"homologie" wie im vorliegenden Zusammenhang verwendet entspricht einer Aminosäure- bzw. Nukleinsäure "identität"). Die prozentuale Homologie zwischen den beiden Sequenzen ist eine Funktion der Zahl an identischen Positionen, die von den Sequenzen geteilt werden (d. h. % Homologie = Anzahl an identischen Positionen/Gesamtanzahl an Positionen × 100). Die Begriffe "Homologie" und "Identität" sind daher als Synonyme anzusehen.

[0570] Zur Bestimmung der prozentualen Homologie (= Identität) von zwei oder mehr Aminosäuren oder von zwei oder mehr Nukleotidsequenzen wurden mehrere Computersoftware-Programme entwickelt. Homologie von zwei oder mehr Sequenzen lässt sich zum Beispiel mit der fasta-Software berechnen, die in der vorliegenden Erfindung in Version fasta 3 verwendet wurde (W. R. Pearson und D. J. Lipman (1988), Improved Tools for Biological Sequence Comparison. PNAS 85: 2444–2448; W. R. Pearson (1990) Rapid and Sensitive Sequence Comparison with FASTP and FASTA, Methods in Enzymology 183: 63–98; W. R. Pearson und D. J. Lipman (1988) Improved Tools for Biological Sequence Comparison. PNAS 85: 2444–2448; W. R. Pearson (1990); Rapid and Sensitive Sequence Comparison with FASTP and FASTA Methods in Enzymology 183: 63–98). Ein anderes nützliches Programm für die Berechnung von Homologien verschiedener Sequenzen ist das Standardprogramm blast, das in der Biomax-Pedant-Software enthalten ist (Biomax, München, Bundesrepublik Deutschland). Dieses führt leider manchmal zu suboptimalen Ergebnissen, da blast nicht immer vollständige Sequenzen von Gegenstand und Abfrage einschließt. Da dieses Programm jedoch sehr effizient ist, kann es zum Vergleich einer gewaltigen Anzahl an Sequenzen verwendet werden. Die folgenden Einstellungen werden typischerweise für solche Sequenzvergleiche verwendet: -p Program Name [String]; -d Database [String]; default = nr; -i Query File [File In]; default = stdin; -e Expectation value (E) [Real]; default = 10.0; -m alignment view options: 0 = pairwise; 1 = query-anchored showing identities; 2 = query-anchored no identities; 3 = flat query-anchored, show identities; 4 = flat query-anchored, no identities; 5 = query-anchored no identities and blunt ends; 6 = flat query-anchored, no identities and blunt ends; 7 = XML Blast Output; 8 = tabular; 9 tabular with comment lines [Integer]; default = 0; -o BLAST report Output File [File Out] Optional; default = stdout; -F Filter query sequence (DUST with blastn, SEG with others) [String]; default = T; -G Cost to open a gap (zero invokes default behavior) [Integer]; default = 0; -E Cost to extend a gap (zero invokes default behavior) [Integer]; default = 0; -X X dropoff value for gapped alignment (in bits) (zero invokes default behavior); blastn 30, megablast 20, tblastx 0, all others 15 [Integer]; default = 0; -I Show GI's in deflines [T/F]; default = F; -q Penalty for a nukleotide mismatch (blastn only) [Integer]; default = -3; -r Reward for a nukleotide match (blastn only) [Integer]; default = 1; -v Number of database sequences to show one-line descriptions for (V) [Integer]; default = 500; -b Number of database sequence to show alignments for (B) [Integer]; default = 250; -f Threshold for extending hits, default if zero; blastp 11, blastn 0, blastx 12, tblastn 13; tblastx 13, megablast 0 [Integer]; default = 0; -g Perform gapped alignment (not available with tblastx) [T/F]; default = T; -Q Query Genetic Kode to use [Integer]; default = 1; -D DB Genetic Kode (for tblast[nx] only) [Integer]; default = 1; -a Number of processors to use [Integer]; default = 1; -O SeqAlign file [File Out] Optional; -J Believe the query defline [T/F]; default = F; -M Matrix [String]; default = BLOSUM62; -W Word size, default if zero (blastn 11, megablast 28, all others 3) [Integer]; default = 0; -z Effective length of the database (use zero for the real size) [Real]; default = 0; -K Number of best hits from a region to keep (off by default, if used a value of 100 is recommended) [Integer]; default = 0; -P 0 for multiple hit, 1 for single hit [Integer]; default = 0; -Y Effective length of the search space (use zero for the real size) [Real]; default = 0; -S Query strands to search against database (for blast[nx], and tblastx); 3 is both, 1 is top, 2 is bottom [Integer]; default = 3; -T Produce HTML Output [T/F]; default = F; -I Restrict search of database to list of GI's [String] Optional; -U Use lower case filtering of FASTA sequence [T/F] Optional; default = F; -y X dropoff value for ungapped extensions in bits (0.0 invokes default behavior); blastn 20, megablast 10, all others 7 [Real]; default = 0.0; -Z X dropoff value for final gapped alignment in bits (0.0 invokes default behavior); blastn/megablast 50, tblastx 0, all others 25 [Integer]; default = 0; -R PSI-TBLASTN checkpoint file [File In] Optional; -n MegaBlast search [T/F]; default = F; -L Location an query sequence [String] Optional; -A Multiple Hits window size, default if zero (blastn/megablast 0, all others 40 [Integer]; default = 0; -w Frame shift penalty (OOF algorithm for blastx) [Integer]; default = 0; -t Length of the largest intron allowed in tblastn for linking HSPs (0 disables linking) [Integer]; default = 0.

[0571] Ergebnisse guter Qualität erhält man, wenn man den Algorithmus von Needleman und Wunsch oder Smith und Waterman anwendet. Programme, die auf diesen Algorithmen basieren, sind daher bevorzugt. Vorteilhaft werden die Sequenzvergleiche mit dem Programm PileUp (J. Mol. Evolution., 25, 351 (1987), Higgins et al., CABIOS 5, 151 (1989)) oder bevorzugt mit den Programmen "Gap" und "Needle", die beide auf den Algorithmen von Needleman und Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443 (1970)) basieren, und "BestFit", das auf dem Algorithmus von Smith und Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482 (1981)) basiert, durchgeführt. "Gap" und "BestFit" sind Teil des GCG-Softwarepakets (Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991); Altschul et al., (Nucleic Acids Res. 25, 3389 (1997)), "Needle" ist Teil der The European Molecular Biology Open Software Suite (EMBOSS) (Trends in Genetics 16 (6), 276 (2000)). Daher werden die Berechnungen zur Bestimmung der prozentualen Sequenzhomologie über den ganzen Bereich der Sequenzen vorzugsweise mit den Programmen "Gap" oder "Needle" durchgeführt. Beim Vergleich von Nukleinsäuresequenzen wurden für "Needle" die folgenden Standardeinstellungen verwendet: matrix: EDNAFULL, Gap_penalty: 10,0, Extend_penalty: 0,5. Beim Vergleich von Nukleinsäuresequenzen wurden für "Gap" die folgenden Standardeinstellungen verwendet: gap weight: 50, length weight: 3, average match: 10,000, average mismatch: 0,000.

[0572] So ist zum Beispiel unter einer Sequenz, die 80% Homologie mit der Sequenz SEQ ID NO: 42 auf der Nukleinsäureebene aufweist, eine Sequenz gemeint ist, die beim Vergleich mit der Sequenz SEQ ID NO: 42 mittels des obigen Programms "Needle" mit dem obigen Parametersatz 80% Identität aufweist.

[0573] Homologie zwischen zwei Polypeptiden ist als die Identität der Aminosäuresequenz über jeweils die gesamte Sequenzlänge zu verstehen, die durch Vergleich mit Hilfe des obigen "Needle"-Programms unter Verwendung von Matrix: EBLOSUM62, Gap_penalty: 8.0, Exten_penalty: 2.0 berechnet wird.

[0574] So ist zum Beispiel unter einer Sequenz, die 80% Homologie mit der Sequenz SEQ ID NO: 43 auf der Proteinebene aufweist, eine Sequenz gemeint ist, die beim Vergleich mit der Sequenz SEQ ID NO: 43 mittels des obigen Programms "Needle" mit dem obigen Parametersatz 80% Identität aufweist.

[0575] Funktionelle Äquivalente, die sich durch Substitution, Insertion oder Deletion von einem der wie in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten erfindungsgemäßen Polypeptide ableiten, haben eine Homologie von mindestens 30%, 35%, 40%, 45% oder 50%, vorzugsweise mindestens 55%, 60%, 65% oder 70%, bevorzugt mindestens 80%, besonders bevorzugt mindestens 85% oder 90%, 91%, 92%, 93% oder 94%, ganz besonders bevorzugt mindestens 95%, 97%, 98% oder 99% mit einem der wie in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten erfindungsgemäßen Polypeptide und zeichnen sich durch im Wesentlichen die gleichen Eigenschaften wie das wie in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigte Polypeptid aus.

[0576] Funktionelle Äquivalente, die sich durch Substitution, Insertion oder Deletion von der wie in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz ableiten, haben eine Homologie von mindestens 30%, 35%, 40%, 45% oder 50%, vorzugsweise mindestens 55%, 60%, 65% oder 70%, bevorzugt mindestens 80%, besonders bevorzugt mindestens 85% oder 90%, 91%, 92%, 93% oder 94%, ganz besonders bevorzugt mindestens 95%, 97%, 98% oder 99% mit einem der wie in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten erfindungsgemäßen Polypeptide und kodieren Polypeptid, die im Wesentlichen die gleichen Eigenschaften aufweisen, wie das wie in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigte Polypeptid.

[0577] „Im Wesentlichen die gleichen Eigenschaften“ eines funktionellen Äquivalents ist vor allem so zu verstehen, dass das funktionelle Äquivalent die obenerwähnte Aktivität aufweist, zum Beispiel bei der Expression entweder im Zytosol oder in einer Organelle, wie einem Plastid oder Mitochondrien oder beiden, vorzugsweise in Plastiden, und dabei die Menge an Protein, die Aktivität oder die Funktion dieses funktionellen Äquivalents in einem Organismus, z. B. einem Mikroorganismus, einer Pflanze oder pflanzlichem oder tierischem Gewebe, Pflanzen- oder Tierzellen oder einem Teil davon erhöht.

[0578] Ein Nukleinsäuremolekül, das eine zu einer Proteinsequenz aus Tabelle II, Spalte 5 und 7 homologen Sequenz kodiert, kann erzeugt werden, indem eine oder mehrere Nukleotidsubstitutionen, -additionen oder -deletionen in eine Nukleotidsequenz des Nukleinsäuremoleküls der vorliegenden Erfindung einführt, insbesondere aus Tabelle I, Spalten 5 und 7, eingeführt werden, so dass eine oder mehrere Aminosäuresubstitutionen, -additionen oder -deletionen in das kodierte Protein eingeführt werden. Mutationen können durch Standardtechniken wie ortgerichtete Mutagenese und PCR-vermittelte Mutagenese in die kodierenden Sequenzen von Tabelle I, Spalten 5 und 7 einführen.

[0579] Bevorzugt werden konservative Aminosäuresubstitutionen bei einem oder mehreren der vorhergesagten nicht essentiellen Aminosäurereste durchgeführt. Eine "konservative Aminosäuresubstitution" ist eine Substitution, bei der der Aminosäurerest durch einen Aminosäurerest mit einer ähnlichen Seitenkette ersetzt wird. Familien von Aminosäureresten mit ähnlichen Seitenketten sind im Stand der Technik definiert. Diese Familien enthalten Aminosäuren mit basischen Seitenketten (z. B. Lysin, Arginin, Histidin), sauren Seitenketten (z. B. Asparaginsäure, Glutaminsäure), ungeladenen polaren Seitenketten (z. B. Glycin, Asparagin, Glutamin, Serin, Threonin, Tyrosin, Cystein), nicht polaren Seitenketten (z. B. Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Phenylalanin, Methionin, Tryptophan), beta-verzweigten Seitenketten (z. B. Threonin, Valin, Isoleucin) und aromatischen Seitenketten (z. B. Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan, Histidin) ein.

[0580] Daher wird ein vorhergesagter nicht essentieller Aminosäurerest in einem Polypeptid der Erfindung oder einem im Verfahren der Erfindung verwendeten Polypeptid vorzugsweise durch einen anderen Aminosäurerest aus der gleichen Familie ersetzt. Alternativ können in einer anderen Ausführungsform Mutationen zufällig entlang einer vollständigen oder einem Teil einer kodierenden Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls der Erfindung oder eines im Verfahren der Erfindung verwendeten Nukleinsäuremoleküls eingeführt werden, etwa durch Sättigungsmutagenese, und die erhaltenen Mutanten können auf die hierin beschriebene Aktivität gescreent werden, um Mutanten zu identifizieren, die die obenerwähnte Aktivität beibehalten oder sogar erhöht haben, z. B. das Verleihen eines erhöhten GABA-Gehalts, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp.

[0581] Nach der Mutagenese einer der hierin gezeigten Sequenzen kann das kodierte Protein rekombinant exprimiert werden, und die Aktivität des Proteins kann zum Beispiel unter Verwendung von hierin beschriebenen Assays (siehe Beispiele) bestimmt werden.

[0582] Eine große Homologie des im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuremoleküls wurde für die folgenden Dateieinträge durch eine Gap-Suche gefunden.

[0583] Homologe der verwendeten Nukleinsäuresequenzen mit der in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenz umfassen auch allelische Varianten mit mindestens ungefähr 30%, 35%, 40% oder 45% Homologie, bevorzugt mindestens ungefähr 50%, 60% oder 70%, besonders bevorzugt mindestens ungefähr 90%, 91%, 92%, 93%, 94% oder 95% und besonders bevorzugt mindestens ungefähr 96%, 97%, 98%, 99% oder mehr Homologie mit einer der gezeigten Nukleotidsequenzen oder der obenerwähnten abgeleiteten Nukleinsäuresequenzen oder ihren Homologen, Derivaten oder Analoga oder Teilen von diesen. Allelische Varianten schließen insbesondere funktionelle Varianten ein, die durch Deletion, Insertion oder Substitution von Nukleotiden der gezeigten Sequenzen, vorzugsweise aus Tabelle I, Spalte 5 und 7, oder von den abgeleiteten Nukleinsäuresequenzen erhalten werden können, wobei jedoch die Enzymaktivität oder die biologische Aktivität der resultierenden synthetisierten Proteine vorteilhafterweise erhalten oder erhöht werden sollte.

[0584] In einer anderen Ausführungsform umfasst das Nukleinsäuremolekül der Erfindung oder das im Verfahren der Erfindung verwendete Nukleinsäuremolekül die in einer der Tabelle I, Spalten 5 oder 7 gezeigten Sequenzen und außerdem die natürlichen 5'- und/oder 3'-untranslatierten Sequenzen oder Teile davon.

[0585] In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst das Nukleinsäuremolekül der Erfindung oder das im Verfahren der Erfindung verwendete Nukleinsäuremolekül die in einer der Spalten 5 und 7 von Tabelle I gezeigten Sequenzen. Es ist bevorzugt, dass das Nukleinsäuremolekül so wenig wie möglich andere, nicht in einer der Spalten 5 und 7 von Tabelle I gezeigte Nukleotide umfasst. In einer Ausführungsform umfasst das Nukleinsäuremolekül weniger als 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50 oder 40 weitere Nukleotide. In einer weiteren Ausführungsform umfasst das Nukleinsäuremolekül weniger als 30, 20 oder 10 weitere Nukleotide. In einer Ausführungsform ist das im Verfahren der Erfindung verwendete Nukleinsäuremolekül identisch mit den in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenzen.

[0586] Ebenfalls bevorzugt ist, dass das im Verfahren der Erfindung verwendete Nukleinsäuremolekül für ein Polypeptid kodiert, das die in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigte Sequenz umfasst. In einer Ausführungsform kodiert das Nukleinsäuremolekül weniger als 150, 130, 100, 80, 60, 50, 40 oder 30 weitere Nukleotide. In einer weiteren Ausführungsform umfasst das kodierte Polypeptid weniger als 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6 oder 5 weitere Aminosäuren. In einer Ausführungsform ist das im erfindungsgemäßen Verfahren verwendete Nukleinsäuremolekül identisch mit den in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenzen.

[0587] In einer Ausführungsform kodiert das Nukleinsäuremolekül der Erfindung oder das im Verfahren verwendete Nukleinsäuremolekül für ein Polypeptid, das die in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigte Sequenz um-

fasst, mit weniger als 100 weiteren Nukleotiden. In einer weiteren Ausführungsform umfasst das Nukleinsäuremolekül weniger als 30 weitere Nukleotide. In einer Ausführungsform ist das im Verfahren der Erfindung verwendete Nukleinsäuremolekül identisch mit einer kodierenden Sequenz der in Tabelle I, Spalten 5 und 7 gezeigten Sequenzen.

[0588] Polypeptide (= Proteine), die noch über die essentielle biologische oder enzymatische Aktivität des Polypeptids der vorliegenden Erfindung verfügen und eine erhöhte GABA-Gehalt-Produktion, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle oder -Pflanze oder einem Teil davon verleihen, d. h. deren Aktivität im Wesentlichen nicht reduziert ist, sind Polypeptide mit mindestens 10% oder 20%, vorzugsweise 30% oder 40%, besonders bevorzugt 50% oder 60%, ganz besonders bevorzugt 80% oder 90% oder mehr der biologischen Aktivität bzw. Enzymaktivität des Wildtyps; vorteilhafterweise ist die Aktivität im Vergleich mit der Aktivität eines in Tabelle II, Spalten 5 und 7 gezeigten Polypeptids, exprimiert unter identischen Bedingungen, im Wesentlichen nicht reduziert.

[0589] Homologe von Tabelle I, Spalten 5 und 7 oder von den abgeleiteten Sequenzen von Tabelle II, Spalten 5 und 7 schließen auch trunkierte Sequenzen, cDNA, einzelsträngige DNA oder RNA der kodierenden und nicht kodierenden DNA-Sequenz ein. Mit Homologen dieser Sequenzen sind auch Derivate gemeint, die nicht kodierende Regionen umfassen, wie zum Beispiel UTRs, Terminatoren, Enhancer oder Promotervarianten. Die Promoter stromaufwärts der angegebenen Nukleotidsequenzen können durch eine oder mehrere Nukleotidsubstitutionen, -insertionen und/oder -deletionen motiviert sein, ohne dass jedoch die Funktionalität oder Aktivität der Promoter, der offenen Leserahmen (= ORF) oder der 3'-Regulationsregion, wie Terminatoren oder andere 3'-Regulationsregionen, die weit von ORF entfernt sind, beeinträchtigt ist. Es ist ferner möglich, dass die Aktivität der Promoter durch die Modifikation ihrer Sequenz erhöht ist, oder dass sie vollständig durch aktivere Promoter ersetzt sind, sogar Promoter aus heterologen Organismen. Geeignete Promoter sind dem Fachmann bekannt und werden hierin im Folgenden erwähnt.

[0590] Neben den für die oben beschriebenen GABA-bezogenen Proteine kodierenden Nukleinsäuremolekülen betrifft ein anderer Aspekt der Erfindung negative Regulatoren der Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls, ausgewählt aus der Gruppe gemäß Tabelle I, Spalte 5 und/oder 7, vorzugsweise Spalte 7. Es wird angenommen, dass Antisense-Polynukleotide dazu die herunterregulierende Aktivität dieser negativen Regulatoren inhibieren, indem sie spezifisch an das Zielpolynukleotid binden und Transkription, Spleißen, Transport, Translation und/oder Stabilität des Zielpolynukleotids stören. Verfahren zum Targeting des Antisense-Polynukleotids auf die chromosomale DNA, auf ein primäres RNA-Transkript oder auf eine gereifte mRNA sind im Stand der Technik beschrieben. Bevorzugt enthalten die Zielregionen Spleißstellen, Translationsinitiationskodons, Translationsterminationskodons und anderen Sequenzen innerhalb des offenen Leserahmens.

[0591] Der Begriff "antisense" bezieht sich für die Zwecke der Erfindung auf eine Nukleinsäure, die ein Polynukleotid umfasst, das ausreichend komplementär zu einem ganzen oder einem Abschnitt eines Gens, primären Transkripts oder gereifter mRNA ist, so dass die Expression des endogenen Gens gestört wird. "Komplementäre" Polynukleotide sind solche, die zur Basenpaarung gemäß den Standard-Komplementaritätsregeln von Watson-Crick in der Lage sind. Spezifisch bilden Purine Basepaare mit Pyrimidinen unter Bildung einer Kombination von Guanin gepaart mit Cytosin (G:C) und Adenin gepaart mit entweder Thymin (A:T) im Fall von DNA oder Adenin gepaart mit Uracil (A:U) im Fall von RNA. Es versteht sich, dass zwei Polynukleotide miteinander hybridisieren können, selbst wenn sie nicht vollständig komplementär zueinander sind, vorausgesetzt, dass jedes mindestens eine Region aufweist, die im Wesentlichen komplementär zu der anderen ist. Der Begriff "Antisense-Nukleinsäure" schließt einzelsträngige RNA- sowie doppelsträngige DNA-Expressionskassetten ein, die transkribiert werden können, um eine Antisense-RNA zu produzieren. Aktive Antisense-Nukleinsäuren sind Antisense-RNA-Moleküle, die dazu in der Lage sind, selektiv mit einem negativen Regulator der Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls, das für ein Polypeptid mit mindestens 80% Sequenzidentität mit dem aus der Gruppe gemäß Tabelle II, Spalte 5 und/oder 7, bevorzugt Spalte 7, ausgewählten Polypeptid kodiert, zu hybridisieren.

[0592] Die Antisense-Nukleinsäure kann komplementär zu einem ganzen negativen Regulatorstrang oder zu nur einem Teil davon sein. In einer Ausführungsform ist das Antisense-Nukleinsäuremolekül antisense zu einer "nicht kodierenden Region" des kodierenden Strangs einer für ein GABA-bezogenes Protein kodierenden Nukleotidsequenz. Der Begriff "nicht kodierende Region" bezieht sich auf 5'- und 3'-Sequenzen, die die kodierende Region flankieren, die nicht in Aminosäuren translatiert werden (d. h. die auch als 5'- und 3'-untranslatierte Regionen bezeichnet werden). Das Antisense-Nukleinsäuremolekül kann komplementär zu nur einem Abschnitt der nicht kodierenden Region der mRNA des GABA-bezogenen Proteins sein. Zum Beispiel kann das Antisense-Oligonukleotid komplementär zur der Region sein, die die Translationsstartstelle der mRNA des GABA-

bezogenen Proteins umgibt. Ein Antisense-Oligonukleotid kann zum Beispiel eine Länge von etwa 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 oder 50 Nukleotiden aufweisen. Typischerweise umfassen die Antisense-Moleküle der vorliegenden Erfindung eine RNA, die 60 bis 100% Sequenzidentität mit mindestens 14 aufeinanderfolgenden Nukleotiden einer nicht kodierenden Region einer der Nukleinsäuren aus Tabelle I aufweist. Bevorzugt beträgt die Sequenzidentität mindestens 70%, besonders bevorzugt mindestens 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% und ganz besonders bevorzugt 99%.

[0593] Eine Antisense-Nukleinsäure der Erfindung kann durch chemische Synthese- und enzymatische Ligationsreaktionen unter Verwendung von im Stand der Technik bekannten Prozeduren konstruieren. Zum Beispiel kann eine Antisense-Nukleinsäure (z. B. ein Antisense-Oligonukleotid) unter Verwendung von natürlich vorkommenden Nukleotiden oder verschiedenen modifizierten Nukleotiden, die so beschaffen sind, dass sie die biologische Stabilität der Moleküle erhöhen oder die physikalische Stabilität der zwischen den Antisense- und Sense-Nukleinsäuren gebildeten Duplex erhöhen, chemisch synthetisiert werden; es können z. B. Phosphorothioatderivate und acridinsubstituierte Nukleotide verwendet werden. Beispiele für motivierte Nukleotide, die zur Bildung der Antisense-Nukleinsäure verwendet werden können, enthalten 5-Fluorouracil, 5-Bromuracil, 5-Chloruracil, 5-Ioduracil, Hypoxanthin, Xanthin, 4-Acetylcytosin, 5-(Carboxyhydroxymethyl) Uracil, 5-Carboxymethylaminomethyl-2-thiouridin, 5-Carboxymethylaminomethyluracil, Dihydrouracil, beta-D-Galactosylcheosin, Inosin, N6-Isopentenyladenin, 1-Methylguanin, 1-Methylinosin, 2,2-Dimethylguanin, 2-Methyladenin, 2-Methylguanin, 3-Methylcytosin, 5-Methylcytosin, N6-Adenin, 7-Methylguanin, 5-Methylaminomethyluracil, 5-Methoxyaminomethyl-2-thiouracil, beta-D-Mannosylcheosin, 5'-Methoxycarboxymethyluracil, 5-Methoxyuracil, 2-Methylthio-N6-isopentenyladenin, Uracil-5-oxysesigsäure (v), Wybutoxosin, Pseudouracil, Cheosin, 2-Thiocytosin, 5-Methyl-2-thiouracil, 2-Thiouracil, 4-Thiouracil, 5-Methyluracil, Uracil-5-oxysesigsäuremethylester, Uracil-5-oxysesigsäure (v), 5-Methyl-2-thiouracil, 3-(3-Amino-3-N-2-carboxypropyl)uracil, (acp3)w und 2,6-Diaminopurin. Alternativ dazu kann die Antisense-Nukleinsäure biologisch unter Verwendung eines Expressionsvektors hergestellt werden, in den eine Nukleinsäure in einer Antisense-Richtung subkloniert wurde (d. h. die von der insertierten Nukleinsäure transkribierte RNA hat eine Antisense-Orientierung zu einer interessierenden Zielnukleinsäure, im nächsten Unterabschnitt eingehender beschrieben).

[0594] In noch einer anderen Ausführungsform ist das Antisense-Nukleinsäuremolekül der Erfindung ein alpha-anomeres Nukleinsäuremolekül. Ein alpha-anomeres Nukleinsäuremolekül bildet spezifisch doppelsträngige Hybride mit komplementärer RNA, bei denen, im Gegensatz zu den gewöhnlichen b-Einheiten, die Stränge parallel zueinander verlaufen (Gaultier et al., 1987, *Nucleic Acids Res.* 15: 6625–6641). Das Antisense-Nukleinsäuremolekül kann auch ein 2'-o-Methylribonukleotid (Inoue et al., 1987, *Nucleic Acids Res.* 15: 6131–6148) oder ein chimäres RNA-DNA-Analogon (Inoue et al., 1987, *FERS Lett.* 215: 327–330) enthalten.

[0595] Die Antisense-Nukleinsäuremoleküle der Erfindung werden typischerweise an eine Zelle verabreicht oder in situ erzeugt, so dass sie mit zellulärer mRNA und/oder genomischer DNA hybridisieren oder daran binden. Die Hybridisierung kann durch herkömmliche Nukleotidkomplementarität unter Bildung eines stabilen Duplex erfolgen oder, zum Beispiel im Fall eines Antisense-Nukleinsäuremolekül das an DNA-Duplexe bindet, über spezifische Wechselwirkungen in der großen Furche der Doppelhelix. Das Antisense-Molekül kann so modifiziert sein, dass es spezifisch an einen Rezeptor oder ein auf einer ausgewählten Zelloberfläche exprimiertes Antigen bindet, z. B. indem das Antisense-Nukleinsäuremolekül mit einem Peptid oder einen Antikörper verknüpft wird, das/der an einen Zelloberflächenrezeptor oder -antigen bindet. Das Antisense-Nukleinsäuremolekül kann auch unter Verwendung der hierin beschriebenen Vektoren an Zellen verabreicht werden. Um ausreichende intrazelluläre Konzentrationen der Antisense-Moleküle zu erreichen, sind Vektorkonstrukte, in denen sich das Antisense-Nukleinsäuremolekül unter der Kontrolle eines starken prokaryotischen, viralen oder eukaryotischen (einschließlich Pflanzen-)Promoters befindet, bevorzugt.

[0596] Als Alternative zu Antisense-Polynukleotiden können Ribozyme, Sense-Polynukleotide oder doppelsträngige RNA (dsRNA) verwendet werden, um die Expression eines GABA-erhöhenden Polypeptids der Erfindung zu reduzieren. Mit "Ribozym" ist ein katalytisches Enzym auf RNA-Basis mit Ribonukleaseaktivität gemeint, das in der Lage ist, eine einzelsträngige Nukleinsäure, wie etwa eine mRNA, mit der es eine komplementäre Region aufweist, zu spalten. Ribozyme (z. B. in Haselhoff und Gerlach, 1988, *Nature* 334: 585–591, beschriebene Hammerkopf-Ribozyme) können verwendet werden, um Transkripte des GABA-erhöhenden Polypeptids der Erfindung katalytisch zu spalten, um dadurch die Translation von mRNA von GABA-erhöhendem Polypeptid der Erfindung zu inhibieren. Ein Ribozym, das eine Spezifität für eine für das GABA-erhöhende Polypeptid der Erfindung kodierende Nukleinsäure aufweist, kann auf der Basis der Nukleotidsequenz einer cDNA eines GABA-erhöhenden Polypeptids der Erfindung, wie hierin offenbart, oder auf der Basis einer heterologen Sequenz entwickelt werden, die gemäß den der vorliegenden Erfindung gelehrt Verfahren zu isolieren ist. Zum Beispiel kann ein Derivat einer Tetrahymena L-19 IVS-RNA konstruiert werden, bei der die

Nukleotidsequenz des aktiven Zentrums komplementär zur zu spaltenden Nukleotidsequenz in einer für das GABA-bezogene Protein kodierenden mRNA ist. Vgl. z. B. die US-Patentschriften Nr. 4,987,071 und 5,116,742 zu Cech et al. Alternativ kann mRNA des GABA-erhöhenden Polypeptids der Erfindung verwendet werden, um eine katalytisch RNA, die eine spezifische Ribonukleaseaktivität aufweist, aus einem Pool von RNA-Molekülen zu selektieren. Vgl. z. B. Bartel, D. und Szostak, J. W., 1993, *Science* 261: 1411–1418. In bevorzugten Ausführungsformen wird das Ribozym einen Abschnitt enthalten, der mindestens 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18 oder 20 Nukleotide und besonders bevorzugt 7 oder 8 Nukleotide aufweist, die eine 100%ige Komplementarität zu einem Abschnitt der Ziel-RNA aufweisen. Verfahren zur Herstellung von Ribozymen sind dem Fachmann bekannt. Vgl. z. B. die US-Patentschriften Nr. 6,025,167; 5,773,260 und 5,496,698.

[0597] Der Begriff „dsRNA,“ wie hierin verwendet, bezieht sich auf RNA-Hybride, die zwei RNA-Stränge umfassen. Die Struktur der dsRNAs kann linear oder zirkulär sein. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die dsRNA spezifisch für ein Polynukleotid, das entweder für das Polypeptid gemäß Tabelle II oder ein Polypeptid kodiert, das mindestens 70% Sequenzidentität mit einem Polypeptid gemäß Tabelle II aufweist. Die hybridisierenden RNAs können im Wesentlichen oder vollständig komplementär sein. Mit „im Wesentlichen komplementär“ ist gemeint, dass, wenn die beiden hybridisierenden RNAs unter Verwendung des BLAST-Programms, wie oben beschrieben, optimal ausgerichtet sind, die hybridisierenden Abschnitte mindestens 95% komplementär sind. Bevorzugt hat die dsRNA eine Länge von mindestens 100 Basenpaaren. Typischerweise haben die hybridisierenden RNAs die gleiche Länge, ohne überhängende 5'- oder 3'-Enden und ohne Lücken. In den Verfahren der Erfindung können jedoch dsRNAs verwendet werden, die 5'- oder 3'-Überhänge von bis zu 100 Nukleotiden aufweisen.

[0598] Die dsRNA kann Ribonukleotide oder Ribonukleotidanaloga umfassen, wie etwa 2'-O-Methyl-ribosylreste oder Kombinationen davon. Vgl. z. B. die US-Patentschriften Nr. 4,130,641 und 4,024,222. Eine dsRNA-Polyriboinosinsäure:Polyribocytidylsäure wird in der US-Patentschrift 4,283,393 beschrieben. Verfahren zur Herstellung und Anwendung von dsRNA sind im Stand der Technik bekannt. Ein Verfahren umfasst die gleichzeitige Transkription von zwei komplementären DNA-Strängen entweder in vivo oder in einem einzigen In-vitro-Reaktionsgemisch. Vgl. z. B. US-Patentschrift Nr. 5,795,715. In einer Ausführungsform kann dsRNA direkt durch Standard-Transformationsvorschriften in eine Pflanze oder Pflanzenzelle eingeführt werden. Alternativ kann dsRNA in einer Pflanzenzelle exprimiert werden, indem zwei komplementäre RNAs transkribiert werden.

[0599] Andere Methoden zur Inhibition der endogenen Genexpression, wie etwa der Tripelhelixbildung (Moser et al., 1987, *Science* 238: 645–650 und Cooney et al., 1988, *Science* 241: 456–459) und Kosuppression (Napoli et al., 1990, *The Plant Cell* 2: 279–289) sind im Stand der Technik bekannt. Partial-cDNAs und VollängencDNAs wurden für die Kosuppression von endogenen Pflanzengen verwendet. Vgl. z. B., die US-Patentschriften Nr. 4,801,340, 5,034,323, 5,231,020, und 5,283,184; Van der Kroll et al., 1990, *The Plant Cell* 2: 291–299; Smith et al., 1990, *Mol. Gen. Genetics* 224: 477–481 und Napoli et al., 1990, *The Plant Cell* 2: 279–289.

[0600] Man nimmt an, dass bei der Sense-Suppression durch die Einführung eines Sense-Polynukleotids die Transkription des entsprechenden Zielgens blockiert wird. Das Sense-Polynukleotid hat eine Sequenzidentität von mindestens 65% mit dem Gen oder der RNA der Zielpflanze. Bevorzugt beträgt die prozentuale Identität mindestens 80%, 90%, 95% oder mehr. Das eingeführte Sense-Polynukleotid muss, bezogen auf das Zielgen oder -transkript, nicht die volle Länge aufweisen. Bevorzugt wird das Sense-Polynukleotid eine Sequenzidentität von mindestens 65% mit mindestens 100 aufeinanderfolgenden Nukleotiden einer der Nukleinsäuren, wie in Tabelle I gezeigt, aufweisen. Die Identitätsregionen können Introns und/oder Exons und nicht translatierte Regionen umfassen. Das eingeführte Sense-Polynukleotid kann in der Pflanzenzelle vorübergehend vorhanden sein oder stabil in ein Pflanzenchromosom oder ein extrachromosomales Replikon integriert sein.

[0601] Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist ferner ein Expressionsvektor, der ein Nukleinsäuremolekül umfasst, das ein Nukleinsäuremolekül umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- a) einem Nukleinsäuremolekül, das das Polypeptid kodiert, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II gezeigt wird;
- b) einem Nukleinsäuremolekül, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird;
- c) einem Nukleinsäuremolekül, das infolge der Degeneration des genetischen Codes von einer Polypeptidsequenz abgeleitet werden kann, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II dargestellt ist, und einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;
- d) einem Nukleinsäuremolekül, das mindestens 30% Identität mit der Nukleinsäuremolekülsequenz eines Polynukleotids aufweist, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird, und einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;

- e) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mindestens 30% Identität mit der Aminosäuresequenz des Polypeptids aufweist, das von dem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- f) einem Nukleinsäuremolekül, das mit einem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) unter stringenten Hybridisierungsbedingungen hybridisiert und einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;
- g) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mit Hilfe monoklonaler oder polyklonaler Antikörper isoliert werden kann, die gegen ein Polypeptid hergestellt wurden, das von einem der Nukleinsäuremoleküle aus (a) bis (e) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch das Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt;
- h) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Consensus-Sequenz oder ein oder mehrere Polypeptidmotiv(e) umfasst, wie in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt, und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt;
- h) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht;
- i) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polynukleotid umfasst, das durch Amplifizieren einer cDNA-Bibliothek oder einer Genbibliothek unter Verwendung der Primer in Spalte 7 von Tabelle III erhalten wird und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, das ein Polypeptid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt; und
- j) einem Nukleinsäuremolekül, das durch Screening einer geeigneten Nukleinsäurebibliothek unter stringenten Hybridisierungsbedingungen mit einer Sonde erhalten werden kann, die eine komplementäre Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls aus (a) oder (b) umfasst oder mit einem Fragment davon, das mindestens 15 nt, bevorzugt 20 nt, 30 nt, 50 nt, 100 nt, 200 nt oder 500 nt eines Nukleinsäuremoleküls aufweist, das komplementär zu einer Nukleinsäuremolekülsequenz ist, die in (a) bis (e) charakterisiert wird, und ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, das ein Polypeptid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt;

[0602] Die Erfindung stellt ferner einen isolierten rekombinanten Expressionsvektor bereit, der eine, für das Stress-bezogene Protein kodierende Nukleinsäure umfasst, wie oben beschrieben, wobei die Expression des Vektors bzw. der für das Stress-Protein kodierenden Nukleinsäure in einer Wirtszelle zu einem erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit dem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp der Wirtszelle, führt. Wie hierin verwendet, bezieht sich der Begriff „Vektor“ auf ein Nukleinsäuremolekül, das in der Lage ist, eine andere Nukleinsäure, mit der es verknüpft wurde, zu transportieren. Ein Vektortyp ist ein „Plasmid“, das sich auf eine zirkuläre doppelsträngige DNA-Schleife bezieht, in die zusätzliche DNA-Segmente ligiert werden können. Ein anderer Vektortyp ist ein viraler Vektor, wobei zusätzliche DNA-Segmente in das virale Genom ligiert werden können. Weitere Vektortypen können linearisierte Nukleinsäuresequenzen, wie etwa Transposone, sein, die Teile von DNA sind, die sich selbst kopieren und inserieren können. Es wurden 2 Typen von Transposonen gefunden: einfache Transposone, die als Insertionssequenzen bekannt sind, und zusammengesetzte Transposone, die mehrere Gene zusätzlich zu den für die Transposition erforderlichen Genen aufweisen können.

[0603] Bestimmte Vektoren sind in der Lage, sich in einer Wirtszelle, in die sie eingeführt werden, autonom zu replizieren (z. B. bakterielle Vektoren, die einen bakteriellen Replikationsstartpunkt aufweisen und episomale Säugetiervektoren). Andere Vektoren (z. B., nicht episomale Säugetiervektoren) werden bei der Einführung in die Wirtszelle in das Genom einer Wirtszelle integriert, und werden dadurch zusammen mit dem Wirtsgenom repliziert. Außerdem sind bestimmte Vektoren in der Lage, die Expression von Genen, mit denen sie operativ verknüpft sind, zu steuern. Solche Vektoren werden hierin als „Expressionsvektoren“ bezeichnet. Im Allgemeinen liegen Expressionsvektoren, die bei DNA-Rekombinationstechniken nützlich sind, häufig in Form von Plasmiden vor. In der vorliegenden Spezifikation können „Plasmid“ und „Vektor“ austauschbar verwendet werden, da das Plasmid die am häufigsten verwendete Vektorform ist. Die Erfindung soll jedoch auch solche anderen Formen von Expressionsvektoren, wie etwa virale Vektoren (z. B. replikationsdefektive Retroviren, Adenoviren, und adenoassoziierte Viren) enthalten, die äquivalente Funktionen liefern.

[0604] Eine Pflanzenexpressionskassette enthält bevorzugt Regulationssequenzen, die in der Lage sind, eine Genexpression in Pflanzenzellen zu steuern, die operativ verknüpft sind, so dass jede Sequenz ihre Funktion erfüllen kann, zum Beispiel die Termination der Transkription durch Polyadenylierungssignale. Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind diejenigen, die aus *Agrobacterium tumefaciens*-t-DNA stammen, wie das als Oc-

topinsynthese bekannt Gen 3 des Ti-Plasmids pTiACH5 (Gielen et al., 1984, EMBO J. 3: 835) oder funktionelle Äquivalente davon, es sind aber auch alle anderen Terminatoren geeignet, die in Pflanzen funktionell aktiv sind.

[0605] Da die Expression von Pflanzengen sehr häufig nicht auf Transkriptionslevel beschränkt ist, enthält eine Pflanzenexpressionskassette bevorzugt andere funktionsfähig verknüpfte Sequenzen, wie Translationsenhancers, wie etwa die Overdrive-Sequenz, die die 5'-untranslatierte Leader-Sequenz aus dem Tabakmosaikvirus enthält, die das Protein/RNA-Verhältnis steigert (Gallie et al., 1987, Nucl. Acids Research 15: 8693–8711).

[0606] Die Pflanzengenexpression muss operativ mit einem geeigneten Promoter verknüpft sein, der die Genexpression auf zeit-, zell oder gewebespezifischen Weise herbeiführt. Bevorzugt sind Promoter, die für eine konstitutive Expression sorgen (Benfey et al., 1989 EMBO J. 8: 2195–2202), wie diejenigen, die von Pflanzenviren abgeleitet sind, wie 35S CaMV (Franck et al., 1980 Cell 21: 285–294), 19S CaMV (vgl. auch US-Patentschrift Nr. 5352605 und PCT-Anmeldung Nr. WO 8402913) oder Pflanzenpromoter, wie diejenigen aus der kleinen Rubisco-Untereinheit, die in der US-Patentschrift Nr. 4,962,028 beschrieben werden.

[0607] Weitere vorteilhafte Regulationssequenzen sind zum Beispiel in den Pflanzenpromotern, wie etwa CaMV/35S [Franck et al., Cell 21 (1980) 285–294], PRP1 [Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993)], SSU, OCS, lib4, usp, STLS1, B33, LEB4, nos oder in dem Ubiquitin-, Napin- oder Phaseolin-Promoter enthalten. Ebenfalls vorteilhaft sind in diesem Zusammenhang induzierbare Promoter, wie die Promoter, die in EP-A-0 388 186 (benzylsulfonamidinduzierbar), Plant J. 2, 1992: 397–404 (Gatz et al., tetracyclininduzierbar), EP-A-0 335 528 (abszisinsäureinduzierbar) oder WO 93/21334 (ethanol- oder cyclohexenolinduzierbar) beschrieben werden. Weitere nützliche Pflanzenpromoter sind der zytosolische FBPase-Promoter oder der ST-LSI-Promoter der Kartoffel (Stockhaus et al., EMBO J. 8, 1989, 2445), der Phosphoribosylpyrophosphatamidotransferase-Promoter von Glycine max (Genbank-Zugangs-Nr. U87999) oder der in EP-A-0 249 676 beschriebene knotenspezifische Promoter. Weitere besonders vorteilhafte Promoter sind samenspezifische Promoter, die für Einkeimblütler oder Zweikeimblütler verwendet werden können und in US 5,608,152 (Napin-Promoter aus Raps), WO 98/45461 (Phaseolin-Promoter aus Arabidopsis), US 5,504,200 (Phaseolin-Promoter aus Phaseolus vulgaris), WO 91/13980 (Bce4-Promoter aus Brassica) und Baeumlein et al., Plant J., 2, 2, 1992: 233–239 (LEB4-Promoter aus Leguminosen) beschrieben sind. Diese Promoter eignen sich für Zweikeimblütler. Die folgenden Promoter eignen sich zum Beispiel für Einkeimblütler: der lpt-2- oder lpt-1-Promoter aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230) oder der Hordein-Promoter aus Gerste. Andere nützliche Promoter sind in WO 99/16890 beschrieben.

[0608] Es ist im Prinzip möglich, alle natürlichen Promoter mit ihren Regulationssequenzen, wie die oben für das neue Verfahren erwähnten, zu verwenden. Es ist auch möglich und vorteilhaft, außerdem synthetische Promoter zu verwenden.

[0609] Das Genkonstrukt kann ferner auch Gene umfassen, die in den Organismus inseriert werden müssen, und die zum Beispiel an der Stress-Resistenz und der Erhöhung der Biomasseproduktion beteiligt sind. Es ist möglich und vorteilhaft, Regulationsgene, wie etwa Gene für Induktoren, Repressoren oder Enzyme, die durch ihre enzymatische Aktivität in die Regulation eingreifen, oder eines oder mehrere oder alle Gene eines Biosynthesepfades in Wirtsorganismen zu inserieren und zu exprimieren. Diese Gene können heterologen oder homologen Ursprungs sein. Die inserierten Gene können ihren eigenen Promoter haben oder sich ansonsten unter die Kontrolle des gleichen Promoters wie die Sequenzen der Nukleinsäure von Tabelle I oder ihrer Homologe gestellt sein.

[0610] Das Genkonstrukt umfasst vorteilhafterweise, für die Expression der anderen vorhandenen Gene, zur Steigerung der Expression, zusätzlich 3'- und/oder 5'-terminale Regulationssequenzen, die in Abhängigkeit vom ausgewählten Wirtsorganismus und dem Gen oder den Genen für eine optimale Expression ausgewählt sind.

[0611] Diese Regulationssequenzen sollen wie oben erwähnt eine spezifische Expression der Gene und die Proteinexpression ermöglichen. Dies kann je nach Wirtsorganismus zum Beispiel bedeuten, dass das Gen erst nach einer Induktion exprimiert oder überexprimiert wird, oder dass es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird.

[0612] Die Regulationssequenzen oder -faktoren können außerdem bevorzugt eine günstige Wirkung auf die Expression der eingeführten Gene haben und sie somit erhöhen. Es ist auf diese Weise möglich, die Regulationselemente auf Transkriptionslevel vorteilhaft zu verstärken, indem starke Transkriptionssignale, wie etwa

Promoter und/oder Enhancer verwendet werden. Zusätzlich ist es jedoch auch möglich, die Translation zu verstärken, indem zum Beispiel die Stabilität der mRNA verbessert wird.

[0613] Andere bevorzugte Sequenzen für eine Verwendung in Pflanzengen-Expressions-kassetten sind Targeting-Sequenzen, die benötigt werden, um das Genprodukt in sein entsprechendes Zellkompartiment (ein Übersichtsartikel findet sich bei Kermode, 1996 Crit. Rev. Plant Sci. 15 (4): 285–423 und den darin angeführten Literaturstellen) wie die Vakuole, den Kern, alle Typen von Plastiden wie Amyloplaste, Chloroplaste, Chromoplaste, den extrazellulären Raum, Mitochondrien, das endoplasmatische Retikulum, Ölkörperchen, Peroxisome und andere Kompartimente von Pflanzenzellen, zu lenken.

[0614] Die Pflanzengenexpression kann auch durch einen induzierbaren Promoter (ein Übersichtsartikel findet sich bei Gatz, 1997 Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 48: 89–108) begünstigt werden. Chemisch induzierbare Promoter sind dann insbesondere geeignet, wenn die Genexpression auf eine zeitspezifische Weise erfolgen soll.

[0615] In Tabelle VI sind mehrere Beispiele für Promoter aufgeführt, die zur Regulation der Transkription der für das Stress-bezogene Protein kodierenden Nukleinsäuresequenzen verwendet werden können.

Tab. VI: Beispiele für gewebespezifische und stressinduzierbare Promoter in Pflanzen

Expression	Literaturstelle
Cor78-kälte-, dürre-, salz-,	Ishitani, et al., Plant Cell 9: 1935–1949 (1997).
ABA-, verletzungsinduzierbar	Yamaguchi-Shinozaki und Shinozaki, Plant Cell 6: 251–264 (1994).
Rci2A-kälte-, dehydratationsinduzierbar	Capel et al., Plant Physiol 115: 569–576 (1997)
Rd22-Dürre, Salz	Yamaguchi-Shinozaki und Shinozaki, Mol Gen Genet 238: 17–25 (1993).
Cor15A-Kälte, Dehydratation, ABA	Baker et al., Plant Mol. Biol. 24: 701–713 (1994).
GH3-auxininduzierbar	Liu et al., Plant Cell 6: 645–657 (1994)
ARSK1-Wurzel, salzinduzierbar	Hwang und Goodman, Plant J 8: 37–43 (1995).
PtxA-Wurzel, salzinduzierbar	GenBank accession X67427
SbHRGP3-wurzelspezifisch	Ahn et al., Plant Cell 8: 1477–1490 (1998).
KST1-wächterzellenspezifisch	Plesch et al., Plant Journal. 28 (4): 455–64, (2001)
KAT1-wächterzellenspezifisch	Plesch et al., Gene 249: 83–89 (2000) Nakamura et al., Plant Physiol. 109: 371–374 (1995)
salicylsäure-induzierbar	PCT-Anmeldung Nr. WO 95/19443
tetracyclininduzierbar	Gatz et al. Plant J. 2: 397–404 (1992)
ethanolinduzierbar	PCT-Anmeldung Nr. WO 93/21334
pathogeninduzierbar PRP1	Ward et al., 1993 Plant. Mol. Biol. 22: 361–366
hitzeinduzierbar hsp80	US-Patentschrift Nr. 5,187,267
kälteinduzierbar alpha-Amylase	PCT-Anmeldung Nr. WO 96/12814
verletzungsinduzierbar pinII	europäische Patentschrift Nr. 375091
RD29A-salzinduzierbar	Yamaguchi-Shinozaki et al. (1993) Mol. Gen. Genet. 236: 331–340
plastidspezifische virale RNA-Polymerase	PCT-Anmeldung Nr. WO 95/16783 und WO 97/06250

[0616] Andere Promoter, z. B. der Superpromoter (Ni et al., Plant Journal 7, 1995: 661–676), Ubiquitin-Promoter (Callis et al., J. Biol. Chem., 1990, 265: 12486–12493; US 5,510,474; US 6,020,190; Kawalleck et al., Plant. Molecular Biology, 1993, 21: 673–684) oder 34S-Promoter (GenBank-Zugangsnummern M59930 und X16673) waren für die vorliegende Erfindung ähnlich nützlich und sind dem Fachmann bekannt.

[0617] Entwicklungsstadienbevorzugte Promoter werden vorzugsweise in bestimmten Entwicklungsstadien exprimiert. Gewebe- und organbevorzugte Promoter schließen die ein, die vorzugsweise in bestimmten Geweben oder Organen wie Blättern, Wurzeln, Samen oder Xylem exprimiert werden. Beispiele für gewebebevorzugte und organbevorzugte Promoter enthalten, sind aber nicht beschränkt auf fruchtbevorzugte, samenanlagenbevorzugte, in männlichen Geweben bevorzugte, samenbevorzugte, integumentbevorzugte, knollenbevorzugte, stielbevorzugte, perikarpbevorzugte, und blattbevorzugte, stigmabevorzugte, pollenbevorzugte, staubbeutelbevorzugte, petalbevorzugte, sepalumbevorzugte, blütenstielbevorzugte, schotenbevorzugte, stängelbevorzugte, wurzelbevorzugte Promoter und dergleichen ein. Samenbevorzugte Promoter werden vorzugsweise während der Samenentwicklung und/oder Keimung exprimiert. Samenbevorzugte Promoter können zum Beispiel embryobevorzugte, endospermbevorzugte und samenmantelbevorzugte sein. Vgl. Thompson et al., 1989, BioEssays 10: 108. Beispiele für samenbevorzugte Promoter enthalten, sind aber nicht beschränkt auf Cellulosesynthase (celA), Cim1, gamma-Zein, Globulin-1, Mais 19 kD-Zein (cZ19B1), und dergleichen.

[0618] Andere für die Expressionskassetten der Erfindung nützliche Promoter enthalten, sind aber nicht beschränkt auf den Promoter des Major Chlorophyll a/b Binding Protein, die Histon-Promoter, den Ap3-Promoter, den β -Conglycin-Promoter, den Napin-Promoter, den Lectin-Promoter aus der Sojabohne, aus Mais den 15 kD-Zein-Promoter, den 22 kD-Zein-Promoter, den 27 kD-Zein-Promoter, den g-Zein-Promoter, die Waxy-, Shrunken-1-, Shrunken-2- und Bronze-Promoter, den Zm13-Promoter (US-Patentschrift Nr. 5,086,169), die Polygalacturonase-Promoter (PG) aus Mais (US-Patentschrift Nos. 5,412,085 und 5,545,546), und den SGB6-Promoter (US-Patentschrift Nr. 5,470,359), sowie synthetische oder andere natürliche Promoter.

[0619] Eine zusätzliche Flexibilität bei der Kontrolle der heterologen Genexpression in Pflanzen kann durch die Verwendung von DNA-Bindungsdomänen und Reaktionselementen aus heterologen Quellen (d. h. DNA-Bindungsdomänen aus nicht pflanzlichen Quellen) erzielt werden. Ein Beispiel für eine solche heterologe DNA-Bindungsdomäne ist die LexA-DNA-Bindungsdomäne (Brent und Ptashne, 1985, Cell 43: 729–736).

[0620] Die Erfindung stellt ferner einen rekombinanten Expressionsvektor bereit, der ein DNA-Molekül umfasst, das in einer Antisense-Orientierung in den Expressionsvektor kloniert ist. Das heißt, das DNA-Molekül ist operativ mit einer Regulationssequenz auf eine Weise verknüpft, die die Expression (durch Transkription des DNA-Moleküls) eines RNA-Moleküls erlaubt, das antisense zu einer mRNA des GABA erhöhenden Polypeptids der Erfindung ist. Es können Regulationssequenzen ausgewählt werden, die operativ mit einem Nukleinsäuremolekül verknüpft sind, das in der Antisense-Orientierung kloniert wurde, und die die kontinuierliche Expression des Antisense-RNA-Moleküls in verschiedenen Zelltypen steuern. Zum Beispiel können virale Promoter und/oder Enhancer oder Regulationssequenzen ausgewählt werden, die die konstitutive, gewebespezifische oder zelltypspezifische Expression von Antisense-RNA steuern. Der Antisense-Expressionsvektor kann in Form eines rekombinanten Plasmids, Phagemids oder eines abgeschwächten Virus vorliegen, in welchem Antisense-Nukleinsäuren unter der Kontrolle einer hocheffizienten Regulationsregion produziert werden. Aktivität der Regulationsregion kann durch den Zelltyp bestimmt werden, in den der Vektor eingeführt wird. Eine Diskussion der Regulation der Genexpression unter Verwendung von Antisense-Genen findet sich bei Weintraub, H. et al., 1986, Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis, Reviews-Trends in Genetics, Band 1 (1), und Mol et al., 1990, FEBS Letters 268: 427–430.

[0621] Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft isolierte GABA-erhöhende Polypeptid der Erfindung und biologisch aktive Teile davon. Ein "isoliertes" oder "gereinigtes" Polypeptid oder ein biologisch aktiver Abschnitt davon ist frei von einigem des zellulären Materials, wenn es durch rekombinante DNA-Techniken hergestellt wurde, oder frei von chemischen Vorläufern oder anderen Chemikalien, wenn es chemisch synthetisiert wurde. Der Ausdruck "im Wesentlichen frei von zellulärem Material" enthält Zubereitungen von GABA-erhöhendem Polypeptid der Erfindung, bei denen das Polypeptid von einigen der zellulären Komponenten der Zellen, in denen es natürlich oder rekombinant hergestellt wird, abgetrennt ist. In einer Ausführungsform enthält der Ausdruck "im Wesentlichen frei von zellulärem Material" Zubereitungen eines GABA erhöhenden Polypeptids der Erfindung, das weniger als etwa 30% (Trockengewicht) an Nicht-GABA-erhöhendem Polypeptidmaterial der Erfindung (hier auch als ein "kontaminierendes Polypeptid" bezeichnet), besonders bevorzugt weniger als etwa 20% an Nicht-GABA-erhöhendem Polypeptidmaterial der Erfindung, noch stärker bevorzugt weniger als etwa 10% an Nicht-GABA-erhöhendem Polypeptidmaterial der Erfindung und am stärksten bevorzugt weniger als etwa 5% an Nicht-GABA-erhöhendem Polypeptidmaterial der Erfindung aufweist.

[0622] Wird das GABA erhöhende Polypeptid der Erfindung oder der biologisch aktive Abschnitt davon rekombinant hergestellt, so ist es ebenfalls bevorzugt frei von Kulturmedium, d. h. das Kulturmedium macht weniger als etwa 20%, besonders bevorzugt weniger als etwa 10%, und ganz besonders bevorzugt weniger als etwa 5% des Volumens der Polypeptidzubereitung aus. Der Ausdruck "im Wesentlichen frei von chemischen Vor-

läufern oder anderen Chemikalien" enthält Zubereitungen von GABA erhöhendem Polypeptid der Erfindung, in denen das Polypeptid von chemischen Vorläufern oder anderen an der Synthese des Polypeptids beteiligten Chemikalien abgetrennt ist. In einer Ausführungsform enthält der Ausdruck "im Wesentlichen frei von chemischen Vorläufern oder anderen Chemikalien" Zubereitungen eines GABA erhöhenden Polypeptids der Erfindung, das weniger als etwa 30% (Trockengewicht) an chemischen Vorläufern oder nicht-GABA-erhöhenden Polypeptidchemikalien der Erfindung, besonders bevorzugt weniger als etwa 20% an chemischen Vorläufern oder Nicht-GABA-erhöhenden Polypeptidchemikalien der Erfindung, noch stärker bevorzugt weniger als etwa 10% an chemischen Vorläufern und Nicht-GABA-erhöhenden Polypeptidchemikalien der Erfindung und am stärksten bevorzugt weniger als etwa 5% an chemischen Vorläufern und Nicht-GABA-erhöhenden Polypeptidchemikalien der Erfindung aufweist. In bevorzugten Ausführungsformen sind in den isolierten Polypeptiden oder biologisch aktiven Abschnitten davon keine kontaminierenden Polypeptide aus dem gleichen Organismus vorhanden, aus dem das GABA-erhöhende Polypeptid der Erfindung abgeleitet ist. Typischerweise werden derartige Polypeptide durch rekombinante Expression von zum Beispiel einem *Saccharomyces cerevisiae*-, *E. coli*- oder *Brassica-napus*-, *Glycine-max*-, *Zea-mays*- oder *Oryza-sativa*-GABA-erhöhenden Polypeptid der Erfindung in Pflanzen, die nicht *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* sind, oder Mikroorganismen, wie etwa *C. glutamicum*, Wimpertierchen, Algen oder Pilzen hergestellt.

[0623] Die hierin beschriebenen Nukleinsäuremoleküle, Polypeptide, Polypeptidhomologe, Fusionspolypeptide, Primer, Vektoren und Wirtszellen können in einem oder mehreren der folgenden Verfahren zur verwendet werden: Identifikation von *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* oder *Brassica napus*, *Glycine max*, *Zea mays* oder *Oryza sativa* und verwandten Organismen; Kartierung von Genomen von mit *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* verwandten Organismen; Identifikation und Lokalisierung von interessierenden *Saccharomyces-cerevisiae*-, *E. coli*- oder *Brassica-napus*-, *Glycine-max*-, *Zea-mays*- oder *Oryza-sativa*-Sequenzen; Evolutionsstudien; Bestimmung der Regionen, die für die Funktion in dem die GABA erhöhenden Polypeptid der Erfindung erforderlich ist; Modulation einer GABA-erhöhendes Polypeptid-Aktivität; Modulation des Metabolismus einer oder mehrerer Zellfunktionen; Modulation des transmembranen Transports einer oder mehrerer Verbindungen; Modulation der Stressresistenz und Modulation der Expression von GABA erhöhenden Polypeptid-Nukleinsäuren:

Die Nukleinsäuremoleküle der Erfindung eignen sich auch für Evolutionsstudien und Polypeptidstrukturuntersuchungen. Die metabolischen Vorgänge und Transportprozesse, an denen die Moleküle der Erfindung beteiligt sind, werden von einer großen Vielzahl prokaryotischer und eukaryotischer Zellen genutzt; durch einen Vergleich der Sequenzen der Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung mit denen, die für ähnliche Enzyme aus anderen Organismen kodieren, können die evolutionären Verwandtschaftsbeziehungen der Organismen bewertet werden. In ähnlicher Weise erlaubt ein solcher Vergleich eine Bewertung, welche Regionen der Sequenz konserviert sind und welche nicht, was dabei helfen kann, diejenigen Regionen des Polypeptids zu bestimmen, die für die Funktion des Enzyms wesentlich sind. Diese Art von Bestimmung ist bei Polypeptidentwicklungsstudien von Nutzen und kann einen Hinweis darauf geben, was das Polypeptid hinsichtlich einer Mutagenese tolerieren kann, ohne die Funktionsfähigkeit zu verlieren.

[0624] Eine Manipulation der Nukleinsäuremoleküle der Erfindung kann dazu führen, dass Nukleinsäuremoleküle hergestellt werden, die sich funktionell vom Wildtyp unterscheiden. Diese Polypeptide können eine verbesserte Effizienz oder Aktivität aufweisen, in einer größeren Anzahl als gewöhnlich in der Zelle vorhanden sein oder eine verminderte Effizienz oder Aktivität aufweisen.

[0625] Es gibt eine Reihe von Mechanismen, durch die eine Veränderung eines GABA-erhöhenden Polypeptids der Erfindung einen direkten Einfluss auf die Stressreaktion und/oder Stresstoleranz haben kann. Bei Pflanzen, die das GABA-erhöhende Polypeptid der Erfindung exprimieren, kann ein erhöhter Transport zu einer verbesserten Aufteilung von Salz und/oder gelösten Stoffen im Pflanzengewebe und den Pflanzenorganen führen. Indem entweder die Anzahl oder die Aktivität von Transportermolekülen, die ionische Moleküle aus der Zelle transportieren, erhöht wird, kann es möglich sein, die Salz- und Kältetoleranz der Zelle zu beeinflussen.

[0626] Die Auswirkung der genetischen Modifikation in Pflanzen auf die Stresstoleranz kann bewertet werden, indem die modifizierte Pflanze unter allen anderen als geeigneten Bedingungen herangezogen wird und dann die Wachstumscharakteristika und/oder den Metabolismus der Pflanze analysiert. Solche Analysetechniken sind dem Fachmann gut bekannt und enthalten Trockengewicht, Feuchtgewicht, Polypeptidsynthese, Kohlenhydratsynthese, Lipidsynthese, Evapotranspirationsraten, allgemeine Erträge an Pflanze und/oder Erntegut, Blühleistung, Reproduktion, Samenansatz, Wurzelwachstum, Respirationsraten, Photosyntheseraten usw. (Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Band 17; Rehm et al., 1993 Biotechnology, Band 3, Kapitel III: Product recovery and purification, Seite 469–714, VCH: Weinheim; Belter, P. A. et al., 1988, Bioseparations: downstream processing for biotechnology, John Wiley

and Sons; Kennedy, J. F. und Cabral, J. M. S., 1992, Recovery processes for biological materials, John Wiley and Sons; Shaeiwitz, J. A. und Henry, J. D., 1988, Biochemical separations, in: Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Band B3, Kapitel 11, Seite 1–27, VCH: Weinheim; und Dechow, F. J., 1989, Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications).

[0627] Zum Beispiel können Hefe-Expressionsvektoren, die die hierin offenbarten Nukleinsäuren oder Fragmente davon umfassen, unter Verwendung von Standardprotokollen konstruiert und in *Saccharomyces cerevisiae* transformiert werden. Die resultierenden transgenen Zellen können dann auf Fehlen oder Veränderung ihrer Toleranz gegen Dürre-, Salz- und Kältestress untersucht werden. In ähnlicher Weise können Pflanzen-Expressionsvektoren, die die hier offenbarten Nukleinsäuren oder Fragmente davon umfassen, unter Verwendung von Standardprotokollen konstruiert und in einer geeigneten Pflanzenzelle wie *Arabidopsis*, Soja, Raps, Mais, Baumwolle, Reis, Weizen, *Medicago truncatula* usw. transformiert werden. Die resultierenden transgenen Zellen und/oder daraus abgeleiteten Pflanzen können dann auf Fehlen oder Veränderung ihrer Toleranz gegen Dürre-, Salz- und Kältestress untersucht werden.

[0628] Die gentechnische Veränderung eines oder mehrerer Gene gemäß Tabelle I, die für das GABA-erhöhende Polypeptid der Erfindung von Tabelle II der Erfindung kodieren, kann auch zu einem GABA-erhöhenden Polypeptid der Erfindung führen, das veränderte Aktivitäten aufweist, was eine indirekte Auswirkung auf die Stressreaktion und/oder Stresstoleranz von Algen, Pflanzen, Wimpertierchen oder Pilzen oder anderen Mikroorganismen wie *C. glutamicum* hat.

[0629] Außerdem können die hier offenbarten Sequenzen oder Fragmente davon zur Erzeugung von Knock-out-Mutationen in den Genomen verschiedener Organismen wie Bakterien, Säugetierzellen, Hefezellen und Pflanzenzellen verwendet werden (Girke, T., 1998, *The Plant Journal* 15: 39–48). Die resultierenden Knock-out-Zellen können dann auf ihre Fähigkeit bzw. Kapazität, verschiedene Stressbedingungen zu tolerieren, ihre Reaktion auf verschiedene Stressbedingungen und die Auswirkung auf den Phänotyp und/oder Genotyp der Mutation untersucht werden. Für andere Verfahren der Geninaktivierung, vgl. US-Patentschrift Nr. 6,004,804 "Non-Chimeric Mutational Vectors" und Puttaraju et al., 1999, Spliceosomemediated RNA trans-splicing as a tool for gene therapy, *Nature Biotechnology* 17: 246–252.

[0630] Die obenerwähnten Mutagenesestrategien für GABA-bezogene Proteine, die zu einer erhöhten Stressresistenz führen, sollen nicht einschränkend wirken; Variationen dieser Strategien werden für den Fachmann offensichtlich sein. Unter Anwendung derartiger Strategien und unter Einbau der hierin offenbarten Mechanismen können die Nukleinsäure- und Polypeptidmoleküle der Erfindung eingesetzt werden, um Algen, Wimpertierchen, Pflanzen, Pilze oder andere Mikroorganismen wie *C. glutamicum* zu erzeugen, die mutierte GABA-bezogene Protein-Nukleinsäure- und Polypeptidmoleküle exprimieren, so dass die Stresstoleranz verbessert wird.

[0631] Die vorliegende Erfindung stellt außerdem Antikörper bereit, die spezifisch an eine durch eine hier beschriebene Nukleinsäure kodierte GABA-erhöhendes Polypeptid der Erfindung oder einen Abschnitt davon binden. Antikörper können mit vielen gut bekannten Verfahren hergestellt werden (vgl. z. B. Harlow und Lane, "Antibodies; A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, (1988)). Kurz gesagt, kann gereinigtes Antigen in ein Tier in einer Menge und in zeitlichen Abständen injiziert werden, die ausreichen, um eine Immunreaktion auszulösen. Antikörper können entweder direkt gereinigt werden, oder es können Milzzellen aus dem Tier gewonnen werden. Die Zellen können dann mit einer unsterblichen Zelllinie fusioniert und auf Antikörpersekretion gescreent werden. Die Antikörper können verwendet werden, um Nukleinsäureklon-Bibliotheken auf das Antigen sekretierende Zellen zu screenen. Diese positiven Klone können dann sequenziert werden. Vgl. zum Beispiel Kelly et al., 1992, *Bio/Technology* 10: 163–167; Bebbington et al., 1992, *Bio/Technology* 10: 169–175.

[0632] Die Wendungen "selektiv binden" und "spezifisch binden" beziehen sich beim Polypeptid auf eine Bindungsreaktion, die in Gegenwart des Polypeptid in einer heterogenen Population von Polypeptiden und anderen Biologika determinativ ist. Daher binden unter festgelegten Immunoassaybedingungen die spezifizierten, an ein bestimmtes Polypeptid gebundenen Antikörper nicht in signifikanter Menge an andere in der Probe vorhandene Polypeptide. Für eine selektive Bindung eines Antikörpers unter solchen Bedingungen kann ein Antikörper erforderlich sein, der auf Basis seiner Spezifität für ein bestimmtes Polypeptid ausgewählt wird. Für die Auswahl von selektiv an ein bestimmtes Polypeptid bindenden Antikörpern stehen verschiedene Immunoassayformate zur Verfügung. Zum Beispiel werden Festphasen-ELISA-Immunoassays routinemäßig zur Selektion von mit einem Polypeptid selektiv immunoreaktiven Antikörpern verwendet. Vgl. Harlow und Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Publications, New York, (1988), für eine Beschreibung

von Immunoassayformaten und Bedingungen, die angewendet werden können, um eine selektive Bindung zu bestimmen.

[0633] In einigen Fällen ist es wünschenswert, monoklonale Antikörper aus verschiedenen Wirten herzustellen. Eine Beschreibung von Techniken zur Herstellung solcher monoklonalen Antikörper findet sich in Stites et al., Hrsg., "Basic and Clinical Immunology," (Lange Medical Publications, Los Altos, Kalif., 4. Auflage) und den darin angeführten Literaturstellen, und in Harlow und Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Publications, New York, (1988).

[0634] Die Genexpression in Pflanzen wird reguliert durch die Wechselwirkung von Proteintranskriptionsfaktoren mit spezifischen Nukleotidsequenzen innerhalb der Regulationsregion eines Gens. Ein Beispiel für Transkriptionsfaktoren sind Polypeptide, die Zinkfinger motive (ZF-Motive) enthalten. Jedes ZF-Modul ist ungefähr 30 Aminosäuren lang und um ein Zinkion herum gefaltet. Die DNA-Erkennungsdomäne eines ZF-Proteins ist eine α -helikale Struktur, die sich in die große Furche der DNA-Doppelhelix einschleibt. Das Modul enthält drei Aminosäuren, die an die DNA binden, wobei jede Aminosäure mit einem einzelnen Basenpaar in der Ziel-DNA-Sequenz in Kontakt steht. ZF-Motive sind in einer modular wiederholten Weise unter Ausbildung eines Satzes von Fingern, der eine benachbarte DNA-Sequenz erkennt, angeordnet. So erkennt zum Beispiel ein dreifingriges ZF-Motiv 9 Bp an DNA. Es wurde gezeigt, dass Hunderte von Proteinen ZF-Motive enthalten, mit zwischen 2 und 37 ZF-Modulen in jedem Protein (Isalan M, et al., 1998 Biochemistry 37 (35): 12026–33; Moore M, et al., 2001 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98 (4): 1432–1436 und 1437–1441; US-Patentschriften US 6007988 und US 6013453).

[0635] Die Regulationsregion eines Pflanzengens enthält viele kurze DNA-Sequenzen (cis-acting elements), die als Erkennungsdomänen für Transkriptionsfaktoren einschließlich ZF-Proteinen dienen. Ähnliche Erkennungsdomänen in verschiedenen Genen ermöglichen die koordinierte Expression mehrerer für Enzyme in einem metabolischen Pfad kodierender Gene durch gemeinsame Transkriptionsfaktoren. Durch Variationen bei den Erkennungsdomänen zwischen Mitgliedern einer Genfamilie kommt es zu Unterschieden bei der Genexpression in der gleichen Genfamilie, zum Beispiel zwischen Geweben und Entwicklungsstadien und als Reaktion auf Umwelteinflüsse.

[0636] Typische ZF-Proteine enthalten nicht nur eine DNA-Erkennungsdomäne, sondern auch eine funktionelle Domäne, die es dem ZF-Protein ermöglicht, die Transkription eines spezifischen Gens zu aktivieren oder zu unterdrücken. Experimentell wurde mit einer Aktivierungsdomäne die Transkription des Zielgens aktiviert (US-Patentschrift 5789538 und Patentanmeldung WO 9519431), es ist jedoch auch möglich, eine Transkriptionsrepressordomäne an den ZF anzubinden und somit die Transkription zu inhibieren (Patentanmeldungen WO00/47754 und WO2001002019). Es wurde beschrieben, dass eine enzymatische Funktion wie Nukleinsäure-spaltung an den ZF gebunden werden kann (Patentanmeldung WO00120622).

[0637] Die Erfindung stellt ein Verfahren bereit, die es dem Fachmann ermöglicht, die Regulationsregion eines oder mehrerer für das Stress-bezogene Protein kodierender Gene aus dem Genom einer Pflanzenzelle zu isolieren und an eine funktionelle Domäne, die mit der Regulationsregion des Gens in Wechselwirkung tritt, gebundene Zinkfinger-Transkriptionsfaktoren zu entwickeln. Die Wechselwirkung des Zinkfingerproteins mit dem Pflanzengen kann so zugeschnitten sein, dass die Expression des Gens geändert ist, wodurch ein erhöhter GABA-Gehalt verliehen wird.

[0638] Die Erfindung stellt insbesondere ein Verfahren zur Herstellung einer transgenen Pflanze einer für ein Stress-bezogenes Protein kodierender Nukleinsäure bereit, wobei die Expression der Nukleinsäure(n) in der Pflanze zu einer erhöhten Toleranz gegen Umweltstress verglichen mit einer Wildtyp-Pflanze führt, umfassend: (a) Transformieren einer Pflanzenzelle mit einem Expressionsvektor, der eine für ein Stress-bezogenes Protein kodierende Nukleinsäure umfasst, und (b) Erzeugen aus der Pflanzenzelle eine transgene Pflanze mit einem erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einer Wildtyp-Pflanze. Für eine derartige Pflanzentransformation kann ein binärer Vektor, wie pBinAR verwendet werden (Höfgen und Willmitzer, 1990 Plant Science 66: 221–230). Geeignete binäre Vektoren sind außerdem zum Beispiel pBIN19, pB1101, pGPTV oder S.ZP (Hajukiewicz, P. et al., 1994, Plant Mol. Biol., 25: 989–994).

[0639] Die Konstruktion der binären Vektoren kann durch Ligation der cDNA in die t-DNA erfolgen. 5' zur cDNA aktiviert ein Pflanzen Promoter die Transkription der cDNA. Eine Polyadenylierungssequenz befindet sich 3' zur cDNA. Eine gewebespezifische Expression kann unter Verwendung eines wie oben angeführten gewebespezifischen Promoters erreicht werden. Darüber hinaus kann man auch alle anderen Promoterelemente verwenden. Für eine konstitutive Expression in der gesamten Pflanze kann man sich des CaMV 35S-

Promoters bedienen. Das exprimierte Protein kann mit einem Signalpeptid gezielt in einem zellulären Kompartiment exprimiert werden, zum Beispiel in Plastiden, Mitochondrien oder dem endoplasmatischen Retikulum (Kermode, 1996 Crit. Rev. Plant Sci. 4 (15): 285–423). Das Signalpeptid wird 5' im Leserahmen in die cDNA kloniert, um eine subzelluläre Lokalisierung des Fusionsproteins zu erreichen. Zusätzlich können Promoter verwendet werden, die auf abiotische Stressfaktoren reagieren, wie den Arabidopsis-Promoter RD29A. Der Fachmann wird erkennen, dass der verwendete Promoter operativ mit der Nukleinsäure verknüpft sein sollte, so dass der Promoter die Transkription der Nukleinsäure bewirkt, was zur Synthese einer mRNA führt, die für ein Polypeptid kodiert.

[0640] Alternative Methoden zur Transfektion enthalten den direkten Transfer von DNA in sich entwickelnde Blumen mittels Elektroporation oder durch Agrobacterium vermittelten Gentransfer. Die Agrobacterium-vermittelte Pflanzentransformation kann zum Beispiel unter Verwendung des GV3101(pMP90)-Stamms (Koncz and Schell, 1986, Mol. Gen. Genet. 204: 383–396) oder des LBA4404-Stamms (Ooms et al., Plasmid, 1982, 7: 15–29; Hoekema et al., Nature, 1983, 303: 179–180) von Agrobacterium tumefaciens durchgeführt werden. Die Transformation kann mittels Standardtransformations- und Regenerationstechniken durchgeführt werden (Deblaere et al., 1994, Nucl. Acids Res. 13: 4777–4788; Gelvin und Schilperoort, Plant Molecular Biology Manual, 2. Aufl. – Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1995. – in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-P ISBN 0-7923-2731-4; Glick, B R und Thompson, J E, Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, Boca Raton: CRC Press, 1993. – 360 S., ISBN 0-8493-5164-2). Zum Beispiel kann Raps durch Kotyledon- oder Hypocotyltransformation transformiert werden (Moloney et al., 1989, Plant Cell Reports 8: 238–242; De Block et al., 1989, Plant Physiol. 91: 694–701). Die Verwendung von Antibiotika für Agrobacterium und Pflanzenselektion hängt von dem binären Vektor und dem für die Transformation verwendeten Agrobacterium-Stamm ab. Die Rübsamen-Selektion wird normalerweise unter Verwendung von Kanamycin als selektierbarer Markerpflanze durchgeführt. Ein Agrobacteriumvermittelter Gentransfer auf Flachs kann zum Beispiel unter Verwendung einer Technik durchgeführt werden, die von Mlynarova et al., 1994, Plant Cell Report 13: 282–285, beschrieben wird. Darüber hinaus kann die Transformation von Sojabohne zum Beispiel unter Verwendung einer Technik durchgeführt werden, die in der europäischen Patentschrift Nr. 0424 047, der US-Patentschrift Nr. 5,322,783, der europäischen Patentschrift Nr. 0397 687, der US-Patentschrift Nr. 5,376,543 oder der US-Patentschrift Nr. 5,169,770, beschrieben wird. Die Transformation von Mais kann durch Teilchenbeschuss, Polyethylenglycol-vermittelter DNA-Aufnahme oder über die Siliciumcarbidfasertechnik erzielt werden (vgl. zum Beispiel Freeling and Walbot „The maize handbook“ Springer Verlag: New York (1993) ISBN 3-540-97826-7). Ein spezifisches Beispiel für die Maistransformation ist in der US-Patentschrift Nr. 5,990,387 zu finden, und ein spezifisches Beispiel für die Weizentransformation kann in der PCT-Anmeldung Nr. WO 93/07256 gefunden werden.

[0641] Durch Heranziehen der modifizierten Pflanzen unter Stressbedingungen und anschließendes Screening und Analysieren der Wachstumscharakteristika und/oder der metabolischen Aktivität kann die Wirkung der genetischen Modifikation in Pflanzen auf erhöhten GABA-Gehalt untersucht werden. Solche Analysetechniken sind dem Fachmann gut bekannt. Sie enthalten neben Screening (Römpp Lexikon Biotechnologie, Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag 1992, „screening“ S. 701) Trockengewicht, Feuchtgewicht, Proteinsynthese, Kohlenhydratsynthese, Lipidsynthese, Evapotranspirationsraten, allgemeine Erträge an Pflanze und/oder Erntegut, Blühleistung, Reproduktion, Samenansatz, Wurzelwachstum, Respirationsraten, Photosyntheseraten usw. ein (Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Band 17; Rehm et al., 1993 Biotechnology, Band 3, Kapitel III: Product recovery and purification, Seite 469–714, VCH: Weinheim; Belter, P. A. et al., 1988 Bioseparations: downstream processing for biotechnology, John Wiley and Sons; Kennedy, J. F. und Cabral, J. M. S., 1992 Recovery processes for biological materials, John Wiley and Sons; Shaeiwitz, J. A. und Henry, J. D., 1988 Biochemical separations, in: Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Band B3, Kapitel 11, Seite 1–27, VCH: Weinheim; und Dechow, F. J. (1989) Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications).

[0642] In einer Ausführungsform bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zur Identifikation eines Genprodukts, das einer Zelle eines Organismus, zum Beispiel einer Pflanze, erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht, das die folgenden Schritte umfasst:

- In-Kontakt-Bringen, z. B. Hybridisieren, einiger oder aller Nukleinsäuremoleküle einer Probe, z. B. Zellen, Gewebe, Pflanzen oder Mikroorganismen oder einer Nukleinsäurebibliothek, welche ein Kandidatengen enthalten kann, das für ein Genprodukt kodiert, das erhöhte GABA-Gehalt verleiht, mit einem wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IA oder B gezeigten Nukleinsäuremolekül oder einem funktionellen Homolog davon;
- Identifizieren der Nukleinsäuremoleküle, die unter relaxiert-stringenten Bedingungen mit diesem Nukleinsäuremolekül, insbesondere der wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigten Nukleinsäuremolekülsequenz, hybridisieren, und gegebenenfalls Isolieren des Vollängen-cDNA-Klons oder des vollständigen genomischen Klons;

- c) Identifizieren der Kandidaten-Nukleinsäuremoleküle oder eines Fragments davon in Wirtszellen, bevorzugt in einer Pflanzenzelle
- d) Erhöhen der Expression der identifizierten Nukleinsäuremoleküle in den Wirtszellen, für die ein erhöhter GABA-Gehalt gewünscht wird
- e) Untersuchen des erhöhten GABA-Gehalt-Levels der Wirtszellen; und
- f) Identifizieren des Nukleinsäuremoleküls und seines Genprodukts, durch dessen erhöhter Expression ein erhöhter GABA-Gehalt in der Wirtszelle, verglichen mit dem Wildtyp, verliehen wird.

[0643] Relaxierte Hybridisierungsbedingungen sind: Nach den Standard-Hybridisierungsprozeduren können Waschschriffe bei nieder- bis mittelstringenten Bedingungen, gewöhnlich mit Waschbedingungen von 40°–55°C und Salzbedingungen zwischen $2 \times \text{SSC}$ und $0,2 \times \text{SSC}$ mit 0,1% SDS im Vergleich zu stringenten Waschbedingungen wie z. B. 60° bis 68°C mit 0,1% SDS durchgeführt werden. Weitere Beispiele finden sich in den oben für die stringenten Hybridisierungsbedingungen angeführten Literaturstellen. Gewöhnlich werden Waschschriffe mit zunehmender Stringenz und Dauer wiederholt, bis ein brauchbares Signal:Rausch-Verhältnis festgestellt wird, und sie hängen von vielen Faktoren ab, wie dem Ziel, z. B. dessen Reinheit, GC-Gehalt, Größe usw., der Sonde, z. B. deren Länge, ob es eine RNA- oder eine DNA-Sonde ist, den Salzbedingungen, der Wasch- oder Hybridisierungstemperatur, der Wasch- oder Hybridisierungsdauer usw. ab.

[0644] In einer anderen Ausführungsform bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zur Identifikation eines Genprodukts, dessen Expression einen erhöhten GABA-Gehalt in einer Zelle verleiht, das die folgenden Schritte umfasst:

- a) Identifizieren eines Nukleinsäuremoleküls in einem Organismus, das mindestens 20%, bevorzugt 25%, besonders bevorzugt 30%, noch mehr bevorzugt sind 35%, 40% oder 50%, noch mehr bevorzugt sind 60%, 70% oder 80%, am meisten bevorzugt sind 90% oder 95% oder mehr homolog zu dem Nukleinsäuremolekül ist, das für ein Protein kodiert, das das Polypeptidmolekül umfasst, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II gezeigt, oder eine Konsensussequenz oder ein Polypeptidmotiv wie in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt, umfasst oder durch ein Nukleinsäuremolekül, das ein Polynukleotid, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt, oder ein Homolog davon, wie hierin beschrieben, umfasst, kodiert wird, zum Beispiel mittels Homologiesuche in einer Datenbank;
- b) Steigern der Expression der identifizierten Nukleinsäuremoleküle in den Wirtszellen;
- c) Untersuchen des erhöhten GABA-Gehalt-Levels in den Wirtszellen; und
- d) Identifikation der Wirtszelle, in der die gesteigerte Expression einen erhöhten GABA-Gehalt in der Wirtszelle, verglichen mit einem Wildtyp, verleiht.

[0645] Ferner kann das hier offenbarte Nukleinsäuremolekül, insbesondere das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IA oder B gezeigte Nukleinsäuremolekül, ausreichend homolog zu den Sequenzen verwandter Arten sein, so dass diese Nukleinsäuremoleküle als Marker für die Konstruktion einer Genomkarte in einem verwandten Organismus oder zur Assoziationskartierung dienen können. Ferner kann natürliche Variationen in den genomischen Regionen, die den hier offenbarten Nukleinsäuren, insbesondere dem in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IA oder B gezeigten Nukleinsäuremolekül, oder Homologen davon, entsprechen, zu Variation bei der Aktivität der hier offenbarten Proteine, insbesondere den Proteinen, die Polypeptide umfassen, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IIA oder B gezeigt, oder die Konsensussequenz oder das Polypeptidmotiv wie in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt, umfassen, und ihren Homologe, und folglich zu natürlicher Variation beim GABA-Gehalt führen.

[0646] Als Folge kommt es gegebenenfalls auch zu natürlicher Variation in Form aktiverer allelischer Varianten, die bereits zu einer relativen Erhöhung beim GABA-Gehalt führen. Verschiedene Varianten des hier offenbarten Nukleinsäuremoleküls, insbesondere der Nukleinsäure, die das Nukleinsäuremolekül, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IA oder B gezeigt, umfasst, die verschiedenen GABA-Konzentrationsleveln entsprechen, können identifiziert und für die markerunterstützte Züchtung auf erhöhten GABA-Gehalt verwendet werden.

[0647] Entsprechend bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zur Züchtung von Pflanzen auf erhöhten GABA-Gehalt, umfassend:

- a) Auswählen einer ersten Pflanzensorte mit erhöhtem GABA-Gehalt, basierend auf einer erhöhten Expression einer Nukleinsäure der Erfindung, wie hierin offenbart, insbesondere eines Nukleinsäuremoleküls, das ein Nukleinsäuremolekül, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IA oder B gezeigt, umfasst oder eines Polypeptids, das ein Polypeptid, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IIA oder B gezeigt, umfasst oder eine Konsensussequenz oder ein Polypeptidmotiv, wie in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt umfasst, oder ein Homolog davon, wie hierin beschrieben;
- b) Assoziieren des GABA-Konzentrationslevels mit dem Expressionslevel oder der genomischen Struktur eines Gens, das das Polypeptid oder das Nukleinsäuremolekül kodiert;

- c) Kreuzen der ersten Pflanzensorte mit einer zweiten Pflanzensorte, die sich in ihrem GABA-Konzentrationslevel signifikant unterscheidet, und
- e) Identifizieren, anhand des Expressionslevels des Polypeptids oder Nukleinsäuremoleküls oder der genomischen Struktur der Gene, die für das Polypeptid oder Nukleinsäuremolekül der Erfindung kodieren, welche der Nachkommensorten ein erhöhtes GABA-Konzentrationslevel aufweist.

[0648] In einer Ausführungsform ist das Expressionslevel des Gens gemäß Schritt (b) erhöht.

[0649] Noch eine andere Ausführungsform der Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Identifikation einer Verbindung, die erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp in einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder einem Teil davon, einer Pflanze oder einem Teil davon, verleiht, das die folgenden Schritte umfasst:

- a) Kultivieren einer Pflanzenzelle, einer Pflanze oder eines Teils davon, wodurch eine Pflanze erhalten wird, die das wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II gezeigte oder durch ein das wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigte Polynukleotid umfassendes Nukleinsäuremolekül oder ein Homolog davon, wie hierin beschrieben, kodierte Polypeptid oder ein für dieses Polypeptid kodierendes Polynukleotid exprimiert und einen erhöhten GABA-Gehalt, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, verleiht, und Bereitstellen eines Ablesesystems, das in der Lage ist, unter geeigneten Bedingungen, die eine Wechselwirkung des Polypeptids mit diesem Ablesesystem in Gegenwart einer chemischen Verbindung oder einer Probe erlauben, die mehrere chemischen Verbindungen umfasst, mit dem Polypeptid in Wechselwirkung zu treten und dazu in der Lage ist, ein nachweisbares Signal als Reaktion auf die Bindung einer chemischen Verbindung an das Polypeptid bereitzustellen, unter Bedingungen, die die Expression dieses Ablesesystems und des wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II gezeigten oder durch ein Nukleinsäuremolekül, welches ein wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigtes Polynukleotid umfasst, oder eines Homologen davon, wie hierin beschrieben, kodierten Proteins ermöglichen; und
- b) Identifizieren, ob die chemische Verbindung ein wirksamer Agonist ist, indem die Gegenwart oder Abwesenheit oder die Erhöhung oder Verringerung eines Signals, das von dem Ablesesystem hergestellt wird, nachgewiesen wird.

[0650] Die Verbindung kann chemisch synthetisiert oder mikrobiologisch produziert werden und/oder zum Beispiel in Proben, z. B. Zellextrakten von z. B. Pflanzen, Tieren oder Mikroorganismen, z. B. Pathogenen, enthalten sein. Ferner kann/können diese Verbindung(en) im Stand der Technik bekannt sein, wobei allerdings bisher nicht bekannt war, dass sie dazu fähig ist/sind, das Polypeptid der vorliegenden Erfindung zu supprimieren. Das Reaktionsgemisch kann ein zellfreier Extrakt sein oder kann eine Zell- oder Gewebekultur umfassen. Geeignete Ansätze für das Verfahren zur Identifikation einer Verbindung der Erfindung sind dem Fachmann bekannt und werden zum Beispiel allgemein in Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 3. Auflage (1994), insbesondere Kapitel 17, beschrieben. Die Verbindungen können z. B. dem Reaktionsgemisch oder dem Kulturmedium zugegeben, in die Zelle injiziert oder auf die Pflanze gesprüht werden.

[0651] Wird in dem Verfahren eine Probe identifiziert, die eine Verbindung enthält, so ist es entweder möglich, die Verbindung aus der Originalprobe, von der festgestellt wurde, dass sie die Verbindung enthält, die in der Lage ist, die Ertragsproduktion unter der Bedingung von vorübergehendem und wiederholtem abiotischem Stress zu aktivieren oder zu erhöhen, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, zu isolieren, oder man kann die Originalprobe weiter unterteilen, zum Beispiel, wenn sie aus mehreren verschiedenen Verbindungen besteht, um die Anzahl verschiedener Substanzen pro Probe zu verringern, und das Verfahren mit den Unterteilungen der Originalprobe wiederholen. Je nach Komplexität der Proben können die oben beschriebenen Schritte mehrmals durchgeführt werden, bevorzugt bis die gemäß dem Verfahren identifizierte Probe nur noch eine begrenzte Anzahl an Substanzen oder nur noch eine Substanz enthält. Bevorzugt enthält die Probe Substanzen ähnlicher chemischer und/oder physikalischer Eigenschaften, und ganz besonders bevorzugt sind diese Substanzen identisch. Bevorzugt wird die gemäß dem oben beschriebenen Verfahren identifizierte Verbindung oder ihr Derivat weiter in einer für die Anwendung in der Pflanzenzucht oder Pflanzenzelle und Gewebekultur geeigneten Form formuliert.

[0652] Die Verbindungen, die gemäß diesem Verfahren getestet und identifiziert werden können, kann Expressionsbibliotheken sein, z. B. cDNA-Expressionsbibliotheken, Peptide, Proteine, Nukleinsäuren, Antikörper, kleine organische Verbindungen, Hormone, Peptidomimetika, PNAs oder dergleichen (Milner, *Nature Medicine* 1 (1995), 879–880; Hupp, *Cell* 83 (1995), 237–245; Gibbs, *Cell* 79 (1994), 193–198 und oben angeführte Literaturstellen). Diese Verbindungen können auch funktionelle Derivate oder Analoge bekannter Inhibitoren oder Aktivatoren sein. Verfahren zur Herstellung chemischer Derivate und Analoga sind dem Fachmann gut bekannt und zum Beispiel in Beilstein, *Handbook of Organic Chemistry*, Springer Auflage New York Inc., 175

Fifth Avenue, New York, N. Y. 10010 U.S.A. und Organic Synthesis, Wiley, New York, USA, beschrieben. Ferner können diese Derivate und Analoga gemäß im Stand der Technik bekannter Verfahren auf ihre Wirkungen getestet werden. Ferner können Peptidomimetika und/oder computerunterstütztes Design von geeigneten Derivaten und Analoga verwendet werden, zum Beispiel gemäß den oben beschriebenen Methoden. Die Zelle oder das Gewebe, die/das in dem Verfahren eingesetzt werden kann, ist bevorzugt eine/ein in den Ausführungsformen oben beschriebene(s) Wirtszelle, Pflanzenzelle oder Pflanzengewebe der Erfindung.

[0653] Daher bezieht sich die Erfindung gemäß einer weiteren Ausführungsform auf eine gemäß dem Verfahren zur Identifikation eines Agonisten der Erfindung erhaltene oder isolierte Verbindung, wobei diese Verbindung ein Antagonist des Polypeptids der vorliegenden Erfindung ist.

[0654] Entsprechend bezieht sich die vorliegende Erfindung gemäß einer Ausführungsform ferner auf eine Verbindung, die durch das Verfahren zur Identifikation einer Verbindung der vorliegenden Erfindung identifiziert wurde.

[0655] In einer Ausführungsform bezieht sich die Erfindung auf einen Antikörper, der spezifisch die Verbindung oder den Agonisten der vorliegenden Erfindung erkennt.

[0656] Die Erfindung bezieht sich außerdem auf eine diagnostische Zusammensetzung, die mindestens eines der obenerwähnten Nukleinsäuremoleküle, Antisense-Nukleinsäuremoleküle, RNAs, snRNAs, dsRNAs, siRNAs, miRNAs, ta-siRNAs, Kosuppressionsmoleküle, Ribozyme, Vektoren, Proteine, Antikörper oder Verbindungen der Erfindung und gegebenenfalls für den Nachweis geeignete Mittel umfasst.

[0657] Die diagnostische Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung ist für die Isolation von mRNA aus einer Zelle und In-Kontakt-Bringen der so erhaltenen mRNA mit einer Sonde, die eine wie oben beschriebene Nukleinsäuresonde umfasst, unter Hybridisierungsbedingungen, Nachweis des Vorliegens von mit der Sonde hybridisierter mRNA und dadurch Nachweis der Expression des Proteins in der Zelle geeignet. Weitere Verfahren zum Nachweis des Vorhandenseins eines Proteins gemäß der vorliegenden Erfindung umfassen im Stand der Technik gut bekannte immunologische Techniken, zum Beispiel den enzymgekoppelten Immunsorptions-Assay. Ferner ist es möglich, erfindungsgemäße Nukleinsäuremoleküle als molekulare Marker oder Primer in der Pflanzenzüchtung einzusetzen. Geeignete Mittel für den Nachweis sind dem Fachmann gut bekannt, z. B. Puffer und Lösungen für Hybridisierungsassays, z. B. die obenerwähnten Lösungen und Puffer, ferner sind Mittel für Southern-, Western-, Northern- usw. Blots bekannt, wie z. B. in Sambrook et al. beschrieben. In einer Ausführungsform wird eine diagnostische Zusammensetzung mit PCR-Primern zum spezifischen Nachweis des Vorhandenseins oder des Expressionslevels des in den Verfahren der Erfindung zu vermindern- den Nukleinsäuremoleküls, z. B. des Nukleinsäuremoleküls der Erfindung, oder zur Unterscheidung zwischen verschiedenen Varianten oder Allelen des Nukleinsäuremoleküls der Erfindung, oder zur Feststellung, welche Aktivität im Verfahren der Erfindung zu vermindern ist, entwickelt.

[0658] In einer anderen Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung einen Kit, der das Nukleinsäuremolekül, den Vektor, die Wirtszelle, das Polypeptid, oder das Antisense, die RNAi, die snRNA, die dsRNA, die siRNA, die miRNA, die ta-siRNA, das Kosuppressionsmolekül oder das Ribozymmolekül, oder das virale Nukleinsäuremolekül, den Antikörper, die Pflanzenzelle, die Pflanze oder das Pflanzengewebe, den erntefähigen Teil, das Fortpflanzungsmaterial und/oder die Verbindung und/oder den Agonisten, die gemäß dem Verfahren der Erfindung identifiziert wurden, umfasst.

[0659] Die Verbindungen des Kits der vorliegenden Erfindung können in Behältnissen wie Ampullen abgepackt sein, gegebenenfalls mit/in Puffern und/oder in Lösung. Gegebenenfalls können eine oder mehrere dieser Komponenten in ein und demselben Behältnis abgepackt sein. Zusätzlich oder alternativ können eine oder mehrere dieser Komponenten auf einem festen Träger wie z. B. einem Nitrocellulosefilter, einer Glasplatte, einem Chip oder einer Nylonmembran oder der Vertiefung einer Mikrotiterplatte adsorbiert sein. Der Kit kann für eine der hier beschriebenen Verfahren und Ausführungsformen, z. B. zur Herstellung der Wirtszellen, transgenen Pflanzen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen, zum Nachweis homologer Sequenzen, zur Identifikation von Antagonisten oder Agonisten, als Nahrungsmittel oder Futter oder als Ergänzungsstoff dafür oder als Ergänzungsstoff zur Behandlung von Pflanzen usw. verwendet werden.

[0660] Ferner kann der Kit Anweisungen zur Anwendung des Kits für jede der Ausführungsformen enthalten.

[0661] In einer Ausführungsform umfasst der Kit ferner ein Nukleinsäuremolekül, das für ein oder mehrere der obenerwähnten Proteine kodiert, und/oder einen Antikörper, einen Vektor, eine Wirtszelle, eine Antisense-

Nukleinsäure, eine Pflanzenzelle oder ein Pflanzengewebe oder eine Pflanze. In einer anderen Ausführungsform umfasst der Kit PCR-Primer zum Nachweis und zur Unterscheidung des im Verfahren der Erfindung zu vermindernden Nukleinsäuremoleküls, z. B. des Nukleinsäuremoleküls der Erfindung.

[0662] In einer weiteren Ausführungsform bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zur Herstellung einer landwirtschaftlichen Zusammensetzung, die das Nukleinsäuremolekül zur Verwendung gemäß dem Verfahren der Erfindung, das Nukleinsäuremolekül der Erfindung, den Vektor der Erfindung, das Antisense, die RNAi, die snRNA, die dsRNA, die siRNA, die miRNA, die ta-siRNA, das Kosuppressionsmolekül, das Ribozym oder den Antikörper der Erfindung, das virale Nukleinsäuremolekül der Erfindung oder das Polypeptid der Erfindung bereitstellt oder die die Schritte des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Identifikation dieser Verbindung oder dieses Agonisten umfasst; und die Formulierung des Nukleinsäuremoleküls, des Vektors oder des Polypeptids der Erfindung oder des Agonisten, oder der gemäß den Verfahren bzw. Prozessen der vorliegenden Erfindung oder unter Verwendung des Gegenstands der vorliegenden Erfindung identifizierten Verbindung in einer als landwirtschaftliche Zusammensetzung für Pflanzen anwendbaren Form bereitstellt.

[0663] In einer anderen Ausführungsform bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zur Herstellung der Kulturzusammensetzung für Pflanzen, das die Schritte des Verfahrens der vorliegenden Erfindung umfasst; und die Formulierung der identifizierten Verbindung in einer als landwirtschaftlicher Zusammensetzung annehmbaren Form.

[0664] Unter "als landwirtschaftliche Zusammensetzung annehmbar" ist zu verstehen, dass eine derartige Zusammensetzung den Gehalt von Fungiziden, Pflanzennährstoffen, Herbiziden, usw. regulierenden Gesetzen entspricht. Bevorzugt ist eine derartige Zusammensetzung für die geschützten Pflanzen und die Tiere (einschließlich des Menschen), die damit gefüttert werden, harmlos.

[0665] Die Wirkung der genetischen Modifikation in der Wirtszelle auf die Herstellung von gamma-Aminobuttersäure kann bestimmt werden, indem die modifizierten Mikroorganismen oder die motivierte Pflanze unter geeigneten Bedingungen (wie den oben beschriebenen) herangezogen werden und indem das Medium und/oder die zellulären Komponenten auf die erhöhte Produktion von gamma-Aminobuttersäure analysiert werden. Diese Analysetechniken sind dem Fachmann bekannt und umfassen Spektroskopie, Dünnschichtchromatographie, verschiedene Arten von Färbeverfahren, enzymatische und mikrobiologische Verfahren und analytische Chromatographie, wie etwa Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (vgl. zum Beispiel Ullman, Encyclopedia of Industrial Chemistry, Band A2, S. 89–90 und S. 443–613, VCH: Weinheim (1985); Fallon, A., et al., (1987) "Applications of HPLC in Biochemistry" in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Band 17; Rehm et al. (1993) Biotechnology, Band. 3, Kapitel III: „Product recovery and purification“, p. 469–714, VCH: Weinheim; Belter, P. A., et al. (1988) Bioseparations: downstream processing for Biotechnology, John Wiley and Sons; Kennedy, J. F., and Cabral, J. M. S. (1992) Recovery processes for biological Materials, John Wiley and Sons; Shaeiwitz, J. A., und Henry, J. D. (1988) Biochemical Separations, in: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Band B3; Kapitel 11, S. 1–27, VCH: Weinheim; und Dechow, F. J. (1989) Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications).

[0666] Gamma-Aminobuttersäure kann zum Beispiel vorteilhafterweise mittels HPLC-, LC- oder GC-Trennungsverfahren nachgewiesen werden. Der unzweideutige Nachweis für das Vorhandensein von gamma-Aminobuttersäure enthaltenden Produkten kann erhalten werden, indem rekombinante Organismen unter Verwendung analytischer Standardverfahren: LC, LC-MS, MS oder TLC analysiert werden. Das zu analysierende Material kann durch Beschallung, Mahlen in einer Glasmühle, Flüssigstickstoff und Mahlen, Kochen oder mittels anderer geeigneter Verfahren disruptiert werden.

[0667] Die GABA kann isoliert und gereinigt werden.

[0668] Der unzweideutige Nachweis für das Vorhandensein von gamma-Aminobuttersäure kann erhalten werden, indem rekombinante Organismen unter Verwendung analytischer Standardverfahren: LC, LC-MS, MS oder TLC analysiert werden, wie beschrieben. Die Gesamtmenge, die in dem Organismus, zum Beispiel in Hefen, die in dem erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden, hergestellt wird, kann zum Beispiel gemäß der folgenden Prozedur analysiert werden:

Das zu analysierende Material, wie etwa Hefen, E. coli oder Pflanzen, kann durch Beschallung, Mahlen in einer Glasmühle, Flüssigstickstoff und Mahlen oder mittels anderer geeigneter Verfahren disruptiert werden.

[0669] Das Pflanzematerial wird zunächst mechanisch homogenisiert, indem es in einem Mörser mit einem Stößel zerstoßen wird, um es für die Extraktion zugänglich zu machen.

[0670] Eine typische Probenvorbehandlung besteht aus einer Gesamtlipidextraktion unter Verwendung solcher polarer organischer Lösemittel, wie etwa Aceton, oder Alkohole, wie Methanol oder Ether, Verseifung, Verteilung zwischen Phasen, Trennung von nicht polarer Epiphase von stärker polaren hypophasischen Derivaten und Chromatographie.

[0671] Zur Analyse kann die Lösemittelabgabe und Aliquotentfernung mit einem automatisierten System erreicht werden, das ein einziges Injektionsventil, Gilson 232XL und einen 402 2S1-Verdüner [Gilson, Inc. USA, 3000 W. Beltline Highway, Middleton, WI] umfasst. Zur Verseifung können jeder Ampulle 3 ml 50%ige Kaliumhydroxid-hydro-ethanolische Lösung (4 Wasser – 1 Ethanol) zugegeben werden, gefolgt von der Zugabe von 3 ml Octanol. Die Verseifungsbehandlung kann bei Raumtemperatur durchgeführt werden, wobei die Ampullen auf einem IKA HS 501 Horizontalschüttler [Labworld-online, Inc., Wilmington, NC] für fünfzehn Stunden bei 250 Umdrehungen/Minute gehalten werden, gefolgt von einer stationären Phase von ungefähr einer Stunde.

[0672] Nach der Verseifung kann der Überstand mit 0,17 ml Methanol verdünnt werden. Die Zugabe von Methanol kann unter Druck durchgeführt werden, um die Homogenität der Probe zu gewährleisten. Unter Verwendung einer 0,25-ml-Spritze kann ein 0,1-ml-Aliquot entfernt und zur Analyse auf HPLC-Ampullen überführt werden.

[0673] Zur HPLC-Analyse kann eine Hewlett Packard 1100 HPLC, komplett mit quaternärer Pumpe, Vakuum-entgasungssystem, Sechs-Wege-Injektionsventil, temperaturgeregeltem Autosampler, Säulenofen und Photodiodenarraydetektor, verwendet werden [Agilent Technologies, verfügbar über Ultra Scientific Inc., 250 Smith Street, North Kingstown, RI]. Die Säule kann eine Waters-Säule YMC30, 5-micron, 4,6 × 250 mm mit einer Vorsäule aus dem gleichen Material sein [Waters, 34 Maple Street, Milford, MA]. Die Lösemittel für die mobile Phase können 81 Methanol:4 Wasser:15 Tetrahydrofuran (THF), stabilisiert mit 0,2% BHT (2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol). Injektionen waren 20 µl: Die Trennung kann bei 30°C mit einer Flussrate von 1,7 ml/Minute isokratisch erfolgen. Die Peak-Reaktionen können durch Absorbanz bei 447 nm gemessen werden.

[0674] Falls erforderlich und gewünscht können weitere Chromatographieschritte mit einem geeigneten Harz folgen. Vorteilhafterweise kann die gamma-Aminobuttersäure mit einer sogenannten RTHPLC weiter gereinigt werden. Als Elutionsmittel können Acetonitril/Wasser- oder Chloroform/Acetonitril-Gemische verwendet werden. Falls erforderlich können diese Chromatographieschritte unter Verwendung identischer oder anderer Chromatographieharze wiederholt werden. Der Fachmann kennt die Auswahl geeigneter Chromatographieharze und die wirksamste Anwendung für ein bestimmtes zu reinigendes Molekül.

[0675] Abkürzungen; GC-MS, Gas-Flüssigkeits-Chromatographie/Massenspektrometrie; TLC, Dünnschichtchromatographie.

[0676] Die Identität und Reinheit der isolierten Verbindung(en) kann mit Techniken des Stands der Technik bestimmt werden. Sie schließen Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC), Gas-Chromatographie (GC), spektroskopische Verfahren, Massenspektrometrie (MS), Färbeverfahren, Dünnschicht-Chromatographie, NIRS, Enzymassays oder mikrobiologische Assays ein. Diese Analyseverfahren sind zusammengefasst in: Patek et al. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60: 133–140; Malakhova et al. (1996) Biotekhnologiya 11 27–32; und Schmidt et al. (1998) Bioprocess Engineer. 19: 67–70. Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH Weinheim, S. 89–90, S. 521–540, S. 540–547, S. 559–566, 575–581 und S. 581–587; Michal, G (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley and Sons; Fallon, A. et al. (1987) Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Band 17.

[0677] Die in dem Verfahren erhaltenen gamma-Aminobuttersäuren sind als Ausgangsmaterial für die Synthese weiterer wertvoller Produkte geeignet. Sie können zum Beispiel in Kombination miteinander oder allein für die Herstellung von Pharmazeutika, Nahrungsmitteln, Tierfutter oder Kosmetika verwendet werden. Entsprechend bezieht sich die vorliegende Erfindung auf ein Verfahren zur Herstellung von Pharmazeutika, Nahrungsmitteln, Tierfutter, Nährstoffen und oder Kosmetika, das die Schritte des Verfahrens gemäß der Erfindung umfasst, einschließlich der Isolation der hergestellten gamma-Aminobuttersäurezusammensetzung oder der produzierten GABA, falls gewünscht, und Formulieren des Produkts mit einem pharmazeutisch unbedenklichen Träger oder Formulieren des Produkts in einer Form, die für eine Anwendung in der Landwirtschaft unbedenklich ist. Eine weitere Ausführungsform gemäß der Erfindung ist die Verwendung der in dem Verfahren hergestellten gamma-Aminobuttersäure oder der transgenen Organismen in Tierfutter, Nahrungsmitteln, Medikamenten, Nahrungsergänzungsmitteln, Kosmetika und Pharmazeutika oder für die Herstellung von gamma-

Aminobuttersäure, z. B. nach der Isolation der GABA oder ohne Isolation, z. B. in situ, z. B. in dem Organismus, der für das Verfahren zur Herstellung der GABA verwendet wurde.

[0678] Die Pflanzen der Erfindung, die z. B. einen erhöhten GABA-Gehalt aufweisen, weisen eine erhöhte Stickstoffaufnahme auf. Außerdem weisen diese Pflanzen eine erhöhte Stickstoffassimilation und -nutzung auf, bevorzugt bei geringer Stickstoffbeseitigung und/oder geringem Stickstoffentzug.

[0679] In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung führt eine gesteigerte Stickstoffaufnahme zu einer erhöhten Stickstoffverwertungseffizienz. Eine erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz ist in einer Ausführungsform eine gesteigerte Stickstoffaufnahme, -assimilation, oder -nutzung.

[0680] In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung führt eine gesteigerte Stickstoffaufnahme zu einem erhöhten Pflanzenertrag. Also wird ein erhöhter Ertrag durch die Erhöhung der „Stickstoffverwertungseffizienz einer Pflanze“ vermittelt.

[0681] In einer Ausführungsform zeigen die Pflanzen der Erfindung einen erhöhten GABA-Gehalt und eine erhöhte Stickstoffaufnahme. In einer Ausführungsform weisen diese Pflanzen eine außerdem eine erhöhte Stickstoffassimilation und -nutzung auf, bevorzugt bei geringer Stickstoffbeseitigung und/oder geringem Stickstoffentzug.

[0682] In einer Ausführungsform zeigen die Pflanzen der Erfindung einen erhöhten GABA-Gehalt und eine erhöhte Stickstoffverwertungseffizienz

[0683] In einer Ausführungsform weisen die Pflanzen der Erfindung einen erhöhten GABA-Gehalt und einen erhöhten Pflanzenertrag auf.

[0684] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 43 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 42 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 42 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 43 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „Factor-Arrestprotein“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 42 bzw. SEQ ID NO.: 43, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt.

[0685] Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,28-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0686] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 7138 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7137 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 7137 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 7138 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modi-

fizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „mikrosomale beta-keto-Reduktase“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 7137 bzw. SEQ ID NO.: 7138, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt.

[0687] Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,38-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0688] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 8240 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8239 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8239 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 8240 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „60S-ribosomales Protein“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 8239 bzw. SEQ ID NO.: 8240, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt.

[0689] Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,223-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0690] In einer weiteren Ausführungsform wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit einer entsprechenden nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität eines Polypeptids, das das Polypeptid umfasst, das in SEQ ID NO. 8228 gezeigt wird, oder durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert wird, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8227 gezeigt wird, oder ein Homolog des Nukleinsäuremoleküls oder Polypeptids, erhöht oder erzeugt wird. Zum Beispiel wird die Aktivität eines entsprechenden Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das von *Saccharomyces cerevisiae* abgeleitet ist, erhöht oder erzeugt, das bevorzugt das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in SEQ ID NO. 8227 gezeigt wird, bzw. das Polypeptid, das in SEQ ID NO. 8228 gezeigt wird, oder ein Homolog davon. Z. B. wird eine erhöhte Toleranz gegenüber abiotischem Umweltstress und/oder ein erhöhtes ertragsbezogenes Merkmal, insbesondere erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit einer entsprechenden, nicht modifizierten, z. B. einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen, wenn die Aktivität „Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII“ oder wenn die Aktivität eines Nukleinsäuremoleküls oder eines Polypeptids, das die Nukleinsäure oder das Polypeptid oder die Consensus-Sequenz oder das Polypeptidmotiv, das in Tabelle I, II oder IV, Spalte 7, jeweils in der gleichen Zeile wie SEQ ID NO.: 8227 bzw. SEQ ID NO.: 8228, in einer Pflanze oder einem Teil davon, erhöht oder erzeugt wird. Bevorzugt findet die Erhöhung cytoplasmatisch statt.

[0691] Insbesondere wird eine Erhöhung des Ertrags um das 1,05-Fache bis 1,56-Fache, zum Beispiel plus mindestens 100% davon, verglichen mit einer entsprechenden Kontrolle, Z. B. einer nicht modifizierten, z. B. nicht transformierten Wildtyp-Pflanze, verliehen.

[0692] Es wurde ferner beobachtet, dass das Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Gen, das in Tabelle X gezeigt wird, z. B. eines Nukleinsäuremoleküls, das von dem Nukleinsäuremolekül abgeleitet ist, das in Tabelle X gezeigt wird, in *A. thaliana* erhöhte Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, verlieh. Daher wird in einer Ausführungsform ein Nukleinsäuremolekül, das in Tabelle X angegeben ist, oder das Homolog davon, wie in Tabelle I angegeben, oder das Expressi-

onsprodukt in dem Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendet, um die Nährstoffverwertungseffizienz, bevorzugt die Stickstoffverwertungseffizienz, verglichen mit der Wildtyp-Kontrolle, zu erhöhen.

[0693] In einer Ausführungsform der Erfindung, wird die erhöhte NUE gemäß den folgenden Verfahren bestimmt und quantifiziert:

Prozedur 1:

Biomasseproduktion auf Agarplatten:

[0694] Für das Screening transgener Pflanzen wird eine spezifische Kulturanlage verwendet. Um einen hohen Durchsatz zu erzielen, werden Pflanzen auf Agarplatten mit einer begrenzten Stickstoffzufuhr (adaptiert von Estelle und Somerville, 1987) auf Biomasseproduktion gescreent. Diese Screening-Pipeline besteht aus zwei Ebenen. Transgene Linien werden auf einer nächsten Ebene getestet, wenn die Produktion von Biomasse im Vergleich zu Wildtyp-Pflanzen signifikant verbessert ist. Bei jeder Ebene wird die Anzahl an Wiederholungstests und die statistische Stringenz erhöht.

[0695] Beim Aussäen werden die Samen, die im Gefrierschrank (bei -20°C) aufbewahrt werden können, mit Hilfe eines Zahnstochers aus den Eppendorf-Röhrchen entnommen und auf die obenerwähnten Agarplatten mit begrenztem Stickstoffvorrat ($0,05\text{ mM KNO}_3$) gegeben. Insgesamt können ungefähr 15–30 Samen horizontal auf jeder Platte ($12 \times 12\text{ cm}$) verteilt werden.

[0696] Nach dem Säen der Samen werden die Platten 2–4 Tage lang im Dunkeln bei 4°C stratifiziert. Nach dem Stratifizieren werden die Testpflanzen 22 bis 25 Tage lang bei einem 16-h-Licht, 8-h-Dunkel-Rhythmus bei 20°C , einer Luftfeuchtigkeit von 60% und einer CO_2 -Konzentration von ungefähr 400S.m herangezogen. Die verwendeten Lichtquellen erzeugen ein Licht, das dem Farbspektrum der Sonne ähnelt, mit einer Lichtintensität von ungefähr $100\text{ }\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$. Nach 10 bis 11 Tagen werden die Pflanzen vereinzelt. Ein verbessertes Wachstum unter Stickstoffmangelbedingungen wird nach 20–25 Tagen Wachstum anhand der Biomasseproduktion von Sprossen und Wurzeln der transgenen Pflanzen im Vergleich zu Wildtyp-Kontrollpflanzen bewertet.

[0697] Transgene Linien, die im Vergleich zu Wildtyp-Pflanzen eine signifikant verbesserte Biomasseproduktion zeigen, werden auf der nächsten Ebene dem folgenden Versuch unterzogen:

Biomasseproduktion auf Erde:

[0698] Arabidopsis-thaliana-Samen werden in Töpfe ausgesät, die ein 1:1 (v:v) Gemisch aus nährstoffarmer Erde (Einheitserde Typ 0", 30% Lehm, Tantau, Wansdorf Deutschland) und Sand enthalten. Die Keimung wird durch eine 4-tägige Dunkelperiode bei 4°C induziert. Anschließend werden die Pflanzen unter Standardwachstumsbedingungen (Photoperiode mit 16 h Licht und 8 h Dunkelheit, 20°C , 60% relative Feuchtigkeit, und eine Photonenflussdichte von $200\text{ }\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$) herangezogen. Die Pflanzen werden herangezogen und kultiviert, unter anderem werden sie jeden zweiten Tag mit einer N-armen Nährstofflösung gegossen. Die Narme Nährstofflösung enthält z. B. neben Wasser

Mineralnährstoff	Endkonzentration
KCl	3,00 mM
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 mM
$\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	1,5 mM
K_2SO_4	1,5 mM
NaH_2PO_4	1,5 mM
Fe-EDTA	40 μM
H_3BO_3	25 μM
$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	1 μM
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 μM
$\text{Cu}_2\text{SO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,3 μM
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,05 μM

[0699] Nach 9 bis 10 Tagen werden die Pflanzen vereinzelt. Nach einer Gesamtzeit von 29 bis 31 Tagen werden die Pflanzen geerntet und anhand des Frischgewichts der oberirdischen Teile der Pflanzen eingestuft. Die Zunahme an Biomasse kann als Verhältnis des Frischgewichts der oberirdischen Teile der betreffenden transgenen Pflanze und der nicht transgenen Wildtyp-Pflanze gemessen werden.

Prozedur 2:

[0700] Prozedur 2 kann wie Prozedur 1 durchgeführt werden, wobei jedoch das Screening auf Agarplatten entfällt und ein Ein-Ebenen-Screening auf Erde durchgeführt wird.

[0701] In der gesamten Anmeldung wird auf verschiedene Veröffentlichungen verwiesen. Die Offenbarungen aller dieser Veröffentlichungen und diejenigen Literaturhinweise, die in diesen Veröffentlichungen in ihrer Gänze zitiert werden, sind hier der Anmeldung als Bezugsdokumente beigelegt, um den Stand der Technik vollständig zu beschreiben, auf den sich diese Erfindung bezieht.

[0702] Es sollte sich auch verstehen, dass sich das oben genannte auf die bevorzugten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung bezieht und dass zahlreiche Veränderungen und Variationen darin vorgenommen werden können, ohne den Umfang der Erfindung zu verlassen. Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele näher erläutert, wobei diese in keiner Weise als einschränkend ausgelegt werden sollen. Es versteht sich vielmehr im Gegenteil, dass verschiedene andere Ausführungsformen, Modifikationen und Äquivalente davon, die für den Fachmann nach dem Lesen der vorliegenden Beschreibung naheliegend sind, nicht vom Geist der vorliegenden Erfindung und/oder dem Umfang der Ansprüche abweichen.

Beispiel 1

[0703] Gentechnische Herstellung von Arabidopsis-Pflanzen durch Expression der Gene der vorliegenden Erfindung.

Beispiel 1a

[0704] Klonierung der in der Tabelle I, Spalte 5 und 7, gezeigten erfindungsgemäßen Sequenzen für die Expression in Pflanzen.

[0705] Wenn nicht anders angegeben, werden die in Sambrook et al., Molecular Cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, beschriebenen Standardverfahren verwendet.

[0706] Die in der Tabelle I, Spalte 5 und 7, gezeigten erfindungsgemäßen Sequenzen wurden mittels PCR amplifiziert, wie in dem Protokoll für die Pfu Ultra-, Pfu Turbo- oder Herculase-DNA-Polymerase (Stratagene) beschrieben.

[0707] Die Zusammensetzung für das Protokoll der Pfu Ultra-, Pfu Turbo- oder Herculase-DNA-Polymerase war wie folgt: 1 × PCR-Puffer (Stratagene), jeweils 0,2 mM der dNTP, 100 ng genomische DNA von *Saccharomyces cerevisiae* (Stamm S288C; Research Genetics, Inc., jetzt Invitrogen), *Escherichia coli* (Stamm MG 1655; E. coli Genetic Stock Center) *Synechocystis* sp. (Stamm PCC6803), *Azotobacter vinelandii* (Stamm N. R. Smith, 16), *Thermus thermophilus* (HB8) oder 50 ng cDNA aus verschiedenen Geweben und verschiedenen Entwicklungsstadien von *Arabidopsis thaliana* (Ecotype Columbia), *Physcomitrella patens*, *Glycine max* (Sorte Resnick), oder *Zea mays* (Sorte 673, Mo17, A188), 50 pmol Vorwärts-Primer, 50 pmol Revers-Primer, mit oder ohne 1 M Betain, 2,5 u Pfu Ultra-, Pfu Turbo- oder Herculase-DNA-Polymerase:

[0708] Die Amplifikationszyklen waren wie folgt:

1 Zyklus von 2–3 Minuten bei 94–95°C, gefolgt von 25–36 Zyklen mit jeweils 30–60 Sekunden bei 94–95°C, 30–45 Sekunden bei 50–60°C und 210–480 Sekunden bei 72°C, gefolgt von 1 Zyklus von 5–10 Minuten bei 72°C, gefolgt von 4–16°C – bevorzugt für *Saccharomyces cerevisiae*; *Escherichia coli*, *Synechocystis* sp., *Azotobacter vinelandii*, *Thermus thermophilus*.

[0709] Bei *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Glycine max*, *Oryza sativa*, *Physcomitrella patens*, *Zea mays* waren die Amplifikationszyklen wie folgt:

1 Zyklus mit 30 Sekunden bei 94°C, 30 Sekunden bei 61°C, 15 Minuten bei 72°C, gefolgt von 2 Zyklen mit 30 Sekunden bei 94°C, 30 Sekunden bei 60°C, 15 Minuten bei 72°C, gefolgt von 3 Zyklen mit 30 Sekunden bei 94°C, 30 Sekunden bei 59°C, 15 Minuten bei 72°C,

gefolgt von 4 Zyklen mit 30 Sekunden bei 94°C, 30 Sekunden bei 58°C, 15 Minuten bei 72°C, gefolgt von 25 Zyklen mit 30 Sekunden bei 94°C, 30 Sekunden bei 57°C, 15 Minuten bei 72°C, dann 1 Zyklus mit 10 Minuten bei 72°C, dann schließlich 4–16°C.

[0710] RNAs wurden mit dem RNeasy Plant Kit gemäß dem Standardprotokoll (Qiagen) erzeugt, und Superscript II Reverse Transkriptase wurde verwendet, um doppelsträngige cDNA gemäß dem Standardprotokoll (Invitrogen) herzustellen.

[0711] ORF-spezifische Primerpaare für die zu exprimierenden Gene werden in Tabelle III, Spalte 7 gezeigt. Die folgenden Adaptersequenzen wurden für Klonierungszwecke zu Primern, die *Saccharomyces-cerevisiae*-ORF-spezifisch waren, hinzugefügt:

i) **Vorwärts-Primer: 5'-GGAATTCAGCTGACCACC-3'**

SEQ ID NO: 1

ii) **Rückwärts-Primer: 5'-GATCCCCGGAATTGCCATG-3'**

SEQ ID NO: 2

[0712] Diese Adaptersequenzen ermöglichen die Klonierung des ORF in verschiedene Vektoren, die die Resgen-Adapter enthalten, vgl. Spalte E von Tabelle VII.

[0713] Die folgenden Adaptersequenzen wurden für Klonierungszwecke zu Primern, die *Saccharomyces-cerevisiae*-, *Escherichia-coli*-, *Synechocystis-sp.*-, *Azotobacter vinelandii*-, *Thermus-thermophilus*-, *Arabidopsis-thaliana*-, *Brassica-napus*- oder *Physcomitrella-patens*-ORF-spezifisch waren, hinzugefügt:

iii) **Vorwärts-Primer: 5'-TTGCTCTTCC- 3'**

SEQ ID NO: 3

iiii) **Rückwärts-Primer: 5'-TTGCTCTTCG-3'**

SEQ ID NO: 4

[0714] Die Adaptersequenzen ermöglichen die Klonierung des ORF in verschiedene Vektoren, die die Colic-Adapter enthalten, vgl. Spalte E von Tabelle VII.

[0715] Daher wurden zur Amplifikation und Klonierung von *Saccharomyces cerevisiae* SEQ ID NO: 42 ein Primer, bestehend aus der Adaptersequenz i) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 48, und ein zweiter Primer, bestehend aus der Adaptersequenz ii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 49, oder ein Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 48 und ein zweites Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iiiii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 49 verwendet.

[0716] Zur Amplifikation und Klonierung von *Escherichia coli* SEQ ID NO: 4068 wurden ein Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 4160, und ein zweiter Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iiiii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 4161, verwendet.

[0717] Zur Amplifikation und Klonierung von *Synechocystis sp* SEQ ID NO: 6041 wurden ein Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 6461, und ein zweiter Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iiiii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 6462, verwendet.

[0718] Zur Amplifikation und Klonierung von *Azotobacter vinelandii* SEQ ID NO: 2553 wurden ein Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 3397, und ein zweiter Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iiiii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 3398, verwendet.

[0719] Zur Amplifikation und Klonierung von *Thermus thermophilus* SEQ ID NO: 6469 wurden ein Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 6735, und ein zwei-

ter Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 6736, verwendet.

[0720] Zur Amplifikation und Klonierung von *Arabidopsis thaliana* SEQ ID NO: 654 wurden ein Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 694, und ein zweiter Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iiiii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 695, verwendet.

[0721] Zur Amplifikation und Klonierung von *Brassica napus* SEQ ID NO: 53 wurden ein Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 649, und ein zweiter Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iiiii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 650, verwendet.

[0722] Zur Amplifikation und Klonierung von *Physcomitrella patens* SEQ ID NO: 5458 wurden ein Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 6038, und ein zweiter Primer, bestehend aus der Adaptersequenz iiiii) und der ORF-spezifischen Sequenz SEQ ID NO: 6039, verwendet.

[0723] Anhand dieser Beispiele kann jede in Tabelle I, bevorzugt Spalte 5, offenbarte Sequenz durch Fusionieren der Adaptersequenzen mit den in der Tabelle III, Spalte 7, aufgeführten entsprechenden spezifischen Primersequenzen unter Verwendung der in Tabelle VII gezeigten entsprechenden Vektoren kloniert werden.

[0724] Tabelle VII. Überblick über die verschiedenen zur Klonierung der ORFs verwendeten Vektoren, ihre SEQIDs (Spalte A), ihre Vektornamen (Spalte B), die Promoter, die sie zur Expression der ORFs (Spalte C) enthalten, die zusätzliche künstliche Targeting-Sequenz (Spalte D), die Adaptersequenz (Spalte E), den Expressionstyp, der durch den in Spalte C (Spalte F) erwähnten Promoter verliehen wird, sowie die Nummer der Figur (Spalte G).

A ID	B	C	D	E	F	G
Seq.	Vektorname	Promoter	Zielseq.	Adapterseq.	Art der Expression	Fig.
30	pMTX155	Big35S		Resgen	nicht zielgesteuerte konstitutive Expression vorzugsweise in grünen Geweben	5
31	VC-MME 354-1QCZ	Super	FNR	Resgen	plastidische zielgesteuerte konstitutive Expression vorzugsweise in grünen Geweben	3
35	VC-MME 220-1qcz	Super		Colic	nicht zielgesteuerte konstitutive Expression vorzugsweise in grünen Geweben	1

36	VC-MME 432-1qcz	Super	FNR	Colic	plastidische zielgesteuerte konstitutive Expression vorzugsweise in grünen Gewe- ben	4
38	VC-MME 221-1qcz	PcUbi		Colic	nicht ziel- gesteuerte konstitutive Expression vorzugswei- se in grünen Gewe- ben	2
39	pMTX447k orr	PcUbi	FNR	Colic	plastidische zielgesteuerte konstitutive Expression vorzugswei- se in grünen Gewe- ben	6
41	VC-MME 489-1QCZ	Super		Resgen	nicht ziel- gesteuerte konstitutive Expression vorzugswei- se in grünen Gewe- ben	7

Beispiel 1b)

[0725] Konstruktion binärer Vektoren für die nicht zielgesteuerte Expression von Proteinen.

[0726] „Nicht zielgesteuerte“ Expression bedeutet in diesem Zusammenhang, dass keine zusätzliche Targeting-Sequenz zu dem zu exprimierenden ORF zugefügt wurde.

[0727] Für die nicht zielgesteuerte Expression in vorzugsweise grünen Geweben wurden die folgenden binären Vektoren zur Klonierung verwendet: pMTX155, VC-MME220-1qcz und VC-MME221-1qcz.

[0728] Für die konstitutive Expression von ORF von *Saccharomyces cerevisiae* in vorzugsweise grünen Geweben wurden der Enhanced-35S-Promoter (Big35S) (Comai et al., Plant Mol Biol 15, 373–383 (1990)) im Zusammenhang mit dem Vektor pMTX155 verwendet.

[0729] Zur konstitutiven Expression von ORFs aus *Escherichia coli* in vorzugsweise grünen Geweben wurde ein künstlicher Promoter A(ocs)3AmasPmas-Promoter (Superpromoter) (Ni et al., Plant Journal 7, 661 (1995), WO 95/14098) im Zusammenhang mit dem Vektor VC-MME220-1qcz verwendet.

[0730] Zur konstitutiven Expression in vorzugsweise grünen Geweben und Samen wurde der PcUbi-Promoter aus Petersilie (Kawalleck et al., Plant. Molecular Biology, 21, 673 (1993), WO 2003/102198) im Zusammenhang mit dem Vektor VC-MME221-1qcz für ORFs aus *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Synechocystis* sp., *Azotobacter vinelandii*, *Thermus thermophilus*, *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Glycine max*, *Oryza sativa*, *Physcomitrella patens* oder *Zea mays* verwendet.

Beispiel 1c)

Konstruktion binärer Vektoren für die plastidische zielgesteuerte Expression von Proteinen.

[0731] Amplifikation der plastidischen Targeting-Sequenz des Gens FNR aus *Spinacia oleracea* und Konstruktion des Vektors für die plastidisch-zielgesteuerte Expression vorzugsweise in grünen Geweben oder vorzugsweise in Samen.

[0732] Zur Amplifikation der Targeting-Sequenz des FNR-Gens aus *S. oleracea* wurde genomische DNA aus Blättern von 4 Wochen alten *S. oleracea*-Pflanzen extrahiert (DNeasy Plant Mini Kit, Qiagen, Hilden). Die gDNA wurde als Template für die PCR verwendet.

[0733] Zur Ermöglichung der Klonierung der Transitsequenz in den VC-MME489-1QCZ wurde eine EcoRI-Restriktionsenzym-Erkennungssequenz sowohl zu dem Vorwärts- als auch zu dem Rückwärts-Primer hinzugefügt, wohingegen zur Klonierung in die Vektoren VC-MME220-1qcz and VC-MME221-1qcz eine PmeI-Restriktionsenzym-Erkennungssequenz zu dem Vorwärts-Primer und eine NcoI-Stelle zu dem Rückwärts-Primer hinzugefügt wurde.

FNR5EcoResgen ATA gAA TTC gCA TAA ACT TAT CTT CAT AgT TgC C

SEQ ID NO: 5

FNR3EcoResgen ATA gAA TTC AgA ggC gAT CTg ggC CCT

SEQ ID NO: 6

FNR5PmeColic ATA gTT TAA ACg CAT AAA CTT ATC TTC ATA gTT gCC

SEQ ID NO: 7

FNR3NcoColic ATA CCA Tgg AAg AgC AAg Agg CgA TCT ggg CCC T

SEQ ID NO: 8

[0734] Die aus genomischer DNA von Spinat amplifizierte, resultierende Sequenz SEQ ID NO: 28 umfasste eine 5'UTR (bp 1–165) und die codierende Region (bp 166–273 und 351–419). Die codierende Sequenz ist durch eine Intronsequenz von Bp 274 bis Bp 350 unterbrochen:

```
gcataaacttatctcatagttgccactccaatttgctccttgaatctcctccaccaatacataatccactcctccatcacc
actcactactaaatcaaacttaactctgtttttctctcctcttcatttcttctccaatcatcgtactccgcatgaccac
cgctgtcaccgccgctgtttcttcccctctaccaaaccacctctctcgcgccgaagctcctccgtcatttcccctgaca
aaatcagctacaaaaagggtgattccaatttcactgtgtttttattaataattgttattttgatgatgagatgattaattgggt
gctgcaggttctttgtactacaggaatgtatctgcaactgggaaaatgggacccatcagggcccagatcgctct
```

(SEQ ID NO: 28)

[0735] Das mit den Primern FNR5EcoResgen und FNR3EcoResgen hergeleitete PCR-Fragment wurde mit EcoRI gespalten und in den Vektor VC-MME489-1QCZ ligiert, der mit EcoRI gespalten wurde. Die korrekte Orientierung der FNR-Targeting-Sequenz wurde durch Sequenzierung überprüft. Der in diesem Ligationsschritt erzeugte Vektor war VC-MME354-1QCZ.

[0736] Das mit den Primern FNR5PmeColic und FNR3NcoColic hergeleitete PCR-Fragment wurde mit PmeI und NcoI gespalten und in die Vektoren VC-MME220-1qcz und VC-MME221-1qcz ligiert, die mit SmaI und NcoI gespalten wurden. Der in diesem Ligationsschritt erzeugte Vektor war VC-MME432-1qcz und pMTX447korrp.

[0737] Für die plastidische zielgesteuerte konstitutive Expression in vorzugsweise grünen Geweben wurde ein künstlicher Promoter A(ocs)3AmasPmas-Promoter (Superpromoter) (Ni et al., Plant Journal 7, 661 (1995), WO 95/14098) im Zusammenhang mit dem Vektor VC-MME354-1QCZ für ORFs aus *Saccharomyces cerevi-*

siae und im Zusammenhang mit dem Vektor VC-MME432-1qcz für ORFs aus *Escherichia coli* verwendet, was eine Fusion "im Leseraster" der FNR-Targeting-Sequenz mit den ORFs ergibt.

[0738] Für die plastidisch zielgesteuerte konstitutive Expression in vorzugsweise grünen Geweben und Samen wurde PcUbi-Promoter im Zusammenhang mit dem Vektor pMTX447korrp für ORFs aus *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Synechocystis* sp., *Azotobacter vinelandii*, *Thermus thermophilus*, *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Glycine max*, *Oryza sativa*, *Physcomitrella patens* oder *Zea mays* verwendet, was eine Fusion "im Leseraster" der FNR-Targeting-Sequenz mit den ORFs ergibt.

Beispiel 1d)

Klonierung der in der Tabelle I, Spalte 5 und 7, gezeigten erfindungsgemäßen Sequenzen in verschiedenen Expressionsvektoren.

[0739] Zur Klonierung des ORF aus *S. cerevisiae* in Vektoren, die die Resgen-Adaptersequenz enthalten, wurde die entsprechende Vektor-DNA mit dem Restriktionsenzym NcoI behandelt. Zur Klonierung der ORFs aus *Saccharomyces cerevisiae* in Vektoren, die die Colic-Adaptersequenz enthalten, wurde die jeweilige Vektor-DNA mit den Restriktionsenzymen PacI und NcoI gemäß dem Standardprotokoll (MBI Fermentas) behandelt. Zur Klonierung von ORFs aus *Escherichia coli*, *Synechocystis* sp., *Azotobacter vinelandii*, *Thermus thermophilus*, *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Glycine max*, *Oryza sativa*, *Physcomitrella patens* oder *Zea mays* wurde die Vektor-DNA mit den Restriktionsenzymen PacI und NcoI gemäß dem Standardprotokoll (MBI Fermentas) behandelt. In sämtlichen Fällen wurde die Reaktion durch Inaktivierung bei 70°C für 20 Minuten gestoppt und über QIAquick- oder NucleoSpin Extract II-Säulen gemäß dem Standardprotokoll gereinigt (Qiagen oder Macherey-Nagel).

[0740] Dann wurde das PCR-Produkt, das den amplifizierten ORF mit den entsprechenden Adaptersequenzen und der Vektor-DNA darstellt, mit T4 DNA-Polymerase gemäß dem Standardprotokoll (MBI Fermentas) behandelt, so dass Einzelstrangüberhänge erhalten wurden, und zwar mit den Parametern 1 Unit T4 DNA-Polymerase bei 37°C für 2–10 Minuten für den Vektor und 1–2 u T4 DNA-Polymerase bei 15–17°C für 10–60 Minuten für das PCR-Produkt.

[0741] Die Reaktion durch Zugabe von Hochsalzpuffer wurde abgestoppt und über QIAquick- oder NucleoSpin Extract II-Säulen gemäß dem Standardprotokoll (Qiagen oder Macherey-Nagel) gereinigt.

[0742] Der Fachmann kann nach diesem Beispiel sämtliche in Tabelle I, bevorzugt Spalte 5, aufgeführten Sequenzen klonieren.

Beispiel 1e)

Pflanzentransformation

[0743] Etwa 30–60 ng präparierter Vektor und eine definierte Menge des präparierten Amplifikats wurden gemischt und bei 65°C für 15 Minuten hybridisiert, gefolgt von 37°C 0,1°C/1 Sekunde, gefolgt von 37°C 10 Minuten, gefolgt von 0,1°C/1 Sekunde, dann 4–10°C.

[0744] Die ligierten Konstrukte wurden in dem gleichen Reaktionsgefäß durch Zugabe kompetenter *E. coli*-Zellen (Stamm DH5alpha) und Inkubation für 20 Minuten bei 1°C, und einem anschließenden Hitzeschock für 90 Sekunden bei 42°C sowie Köhlen auf 1–4°C transformiert. Dann wurde Vollmedium (SOC) zugegeben und das Gemisch wurde für 45 Minuten bei 37°C inkubiert. Das gesamte Gemisch wurde anschließend auf eine Agarplatte mit 0,05 mg/ml Kanamycin plattiert und über Nacht bei 37°C inkubiert.

[0745] Das Ergebnis des Klonierungsschritts wurde durch Amplifikation mit Hilfe der Primer verifiziert, die stromaufwärts und stromabwärts der Integrationsstelle binden, so dass die Amplifikation der Insertion ermöglicht wurde. Die Amplifikationen wurden durchgeführt, wie in dem Protokoll der Taq DNA-Polymerase (Gibco-BRL) beschrieben.

[0746] Die Amplifikationszyklen waren wie folgt:

1 Zyklus von 1–5 Minuten bei 94°C, gefolgt von 35 Zyklen von jeweils 15–60 Sekunden bei 94°C, 15–60 Sekunden bei 50–66°C und 5–15 Minuten bei 72°C, gefolgt von 1 Zyklus von 10 Minuten bei 72°C, dann 4–16°C.

- [0747]** Mehrere Kolonien wurden überprüft, jedoch wurde nur die Kolonie, für die ein PCR-Produkt mit der erwarteten Größe nachgewiesen wurde, in den folgenden Schritten verwendet.
- [0748]** Ein Teil dieser positiven Kolonie wurde in ein Reaktionsgefäß überführt, das mit Vollmedium (LB), das mit Kanamycin angereichert war, gefüllt war, und über Nacht bei 37°C inkubiert.
- [0749]** Plasmidpräparation wurde durchgeführt, wie im Qiaprep- oder NucleoSpin Multi-96 Plus-Standardprotokoll (Qiagen oder Macherey-Nagel) beschrieben.
- [0750]** Erzeugung transgener Pflanzen, die SEQ ID NO: 42 oder eine andere, in Tabelle I, bevorzugt Spalte 5, offenbarte Sequenz exprimieren:
1–5 ng isolierte Plasmid-DNA wurde durch Elektroporation oder Transformation in kompetente Zellen von *Agrobacterium tumefaciens*, Stamm GV 3101 pMP90 (Koncz und Schell, Mol. Gen. Gent. 204, 383 1986), transformiert. Danach wurde Vollmedium (YEP) zugegeben und das Gemisch wurde für 3 Std. bei 28°C in ein frisches Reaktionsgefäß überführt. Anschließend wurde das gesamte Reaktionsgemisch auf YEP-Agarplatten plattiert, die mit den entsprechenden Antibiotika, beispielsweise Rifampicin (0,1 mg/ml), Gentamycin (0,025 mg/ml und Kanamycin (0,05 mg/ml), angereichert waren, und für 48 Std. bei 28°C inkubiert.
- [0751]** Die Agrobakterien, die das Plasmidkonstrukt enthielten, wurden dann zur Transformation der Pflanzen verwendet.
- [0752]** Mit Hilfe einer Pipettenspitze wurde eine Kolonie von der Agarplatte gepickt und in 3 ml flüssigem TB-Medium aufgenommen, das auch geeignete Antibiotika, wie oben beschrieben, enthielt. Die Vorkultur wurde 48 Std. bei 28°C und 120 U/min gezüchtet.
- [0753]** 400 ml LB-Medium, das die gleichen Antibiotika wie oben enthielt, wurde für die Hauptkultur verwendet. Die Vorkultur wurde in die Hauptkultur überführt. Sie wurde 18 Std. bei 28°C und 120 U/min kultiviert. Nach Zentrifugation bei 4.000 U/min wurde das Pellet in Infiltrationsmedium (MS-Medium, 10% Saccharose) resuspendiert.
- [0754]** Zum Anziehen der Pflanzen für die Transformation wurden Schalen (Piki Saat 80, grün, mit Siebboden versehen, 30 × 20 × 4,5 cm, von Wiesauplast, Kunststofftechnik, Deutschland) bis zur Hälfte mit einem GS90-Substrat (Standardboden, Werkverband E. V., Deutschland) gefüllt. Die Schalen wurden über Nacht mit 0,05% Proplant-Lösung (Chimac-Apriphar, Belgien) gegossen. Samen von *Arabidopsis thaliana* C24 (Nottingham Arabidopsis Stock Centre, UK; NASC Stock N906) wurden über die Schale verteilt, und zwar etwa 1.000 Samen pro Schale. Die Schalen wurden mit einer Haube bedeckt und in der Stratifikationseinheit (8 Std., 110 µmol/m²/s⁻¹, 22°C; 16 Std., Dunkelheit, 6°C) untergebracht. Nach 5 Tagen wurden die Schalen in einer Kammer mit kurztaggesteuerter Umgebung (8 Std. 130 µmol/m²/s⁻¹, 22°C; 16 Std., Dunkelheit 20°C) untergebracht, wo sie etwa 10 Tage verblieben, bis sich die ersten echten Blätter gebildet hatten.
- [0755]** Die Keimlinge wurden in Töpfe überführt, die das gleiche Substrat enthielten (Teku Töpfe, 7 cm, LC Serie, hergestellt von Pöppelmann GmbH & Co, Deutschland). Für jeden Topf wurden fünf Pflanzen ausgestochen. Die Töpfe wurden dann in die Kammer mit kurztaggesteuerter Umgebung zurückgestellt, damit die Pflanzen weiter wachsen konnten.
- [0756]** Nach 10 Tagen wurden die Pflanzen in das Gewächshaus (ergänzende Beleuchtung 16 Std., 340 µE/m²s, 22°C; 8 Std., Dunkelheit, 20°C) überführt, wo sie weitere 17 Tage wachsen konnten.
- [0757]** Für die Transformation wurden 6 Wochen alte *Arabidopsis*-Pflanzen, die gerade zu blühen begonnen hatten, für 10 Sekunden in die vorstehend beschriebene Agrobaktériensuspension getaucht, die vorher mit 10 µl Silwett 177 (Crompton S. A., Osi Specialties, Schweiz) behandelt worden war. Das entsprechende Verfahren durch Clough J. C. und Bent A. F. (Plant J. 16, 735 (1998)) beschrieben.
- [0758]** Die Pflanzen wurden anschließend für 18 Std. in einer Feuchtkammer untergebracht. Danach wurden die Töpfe zurück in das Gewächshaus gestellt, damit die Pflanzen weiter wachsen konnten. Die Pflanzen verblieben weiteren 10 Wochen im Gewächshaus, bis die Samen erntereif waren.
- [0759]** Je nach dem Resistenzmarker, der zur Selektion der transformierten Pflanzen verwendet wurde, wurden die geernteten Samen im Gewächshaus ausgepflanzt und einer Sprühselektion unterzogen oder ansonsten zuerst sterilisiert und dann auf Agarplatten kultiviert, die mit dem entsprechenden Selektionsmittel ange-

reichert waren. Da der Vektor das Bar-Gen als Resistenzmarker enthielt, wurden die Jungpflanzen viermal in einem Abstand von 2 bis 3 Tagen mit 0,02% BASTA® besprüht, und man ließ die transformierten Pflanzen Samen bilden.

[0760] Die Samen transgener *A. thaliana*-Pflanzen wurden in einem Gefrierschrank (bei -20°C) aufbewahrt.

Beispiel 2

Pflanzenmaterial für bioanalytische Analysen

[0761] Für die bioanalytischen Analysen der transgenen Pflanzen, wurden letztgenannte gleichmäßig in einer spezifischen Kulturanlage gezüchtet. Zu diesem Zweck wurde das GS-90-Substrat in die Topfmaschine (Laible System GmbH, Singen, Deutschland) eingeführt und in die Töpfe gefüllt. Danach wurden 35 Töpfe in einer Schale zusammengestellt und mit Proplant behandelt. Für die Behandlung wurden 15 ml Proplant in 10 l Leitungswasser (0,15%ige Lösung) aufgenommen. Diese Menge reichte aus, um ca. 280 Töpfe zu behandeln. Die Töpfe wurden in die Proplant-Lösung gestellt und von oben zusätzlich gegossen. 3 l Proplant-Lösung (0,15%) für 210 Töpfe. Sie wurde innerhalb von fünf Tagen verbraucht.

[0762] Für die Aussaat wurden die im Kühlschrank (bei -20°C) aufbewahrten Samen aus den Eppendorfröhrchen in die Töpfe verteilt. Insgesamt wurden ungefähr 5 bis 10 Samen in dem Topf mittig verteilt.

[0763] Nach der Aussaat wurden die Schalen mit den Töpfen mit einer dazu passenden Plastikhaube bedeckt und in die Stratifizierungskammer für 4 Tage bei Dunkelheit und 4°C gestellt. Die Feuchtigkeit betrug ungefähr 90%. Nach der Stratifizierung werden die Testpflanzen 22 bis 23 Tage lang bei einem 16-h-Licht und 8-h-Dunkelrhythmus bei 20°C , einer Luftfeuchtigkeit von 60% und einer CO_2 -Konzentration von ungefähr 400 S.m kultiviert. Als Lichtquelle dienten Powerstar HQI-T 250 W/D Daylight Lampen von Osram, die ein dem Sonnenfarbspektrum ähnelndes Licht mit einer Lichtintensität von ungefähr $220 \text{ E/m}^2/\text{s}$ erzeugen.

[0764] Die Selektion der transgenen Pflanzen hing vom verwendeten Resistenzmarker ab. Bei der Verwendung des Bar-Gens als Resistenzmarker, wurden die Jungpflanzen drei Mal an Tag 8 bis Tag 10 nach dem Säen mit 0,02% BASTA®, Bayer CropScience, Deutschland, Leverkusen, besprüht. Die Resistenzpflanzen wurden ausgedünnt, als sie das Alter von 14 Tagen erreichten. Die in der Mitte des Topfes am besten gewachsenen Pflanzen wurden als Zielpflanzen betrachtet. Mit Hilfe von Metallpinzetten wurden alle übrigen Pflanzen vorsichtig entfernt und verworfen.

[0765] Während des Wachstums wurden die Pflanzen mit destilliertem Wasser von oben (auf die Erde) und von unten in die Aufstellrinnen gegossen. Als die gewachsenen Pflanzen das Alter von 23 oder 24 Tagen erreichten, wurden sie geerntet.

Beispiel 3

Metabolische Analyse von transformierten Pflanzen

[0766] Die erfindungsgemäß identifizierten Änderungen in dem Inhalt an beschriebenen Metaboliten wurden durch folgende Prozedur identifiziert.

a) Probennahme und Lagerung der Proben

[0767] Die Probennahme fand direkt in der Phytotronkammer statt. Die Pflanzen wurden mit einer kleinen Laborschere abgeschnitten, rasch auf einer Laborwaage gewogen, in eine vorgekühlte Extraktionshülse überführt und in ein Aluminiumrack, das mit Flüssigstickstoff gekühlt ist, gesteckt. Wenn erforderlich, können die Extraktionshülsen bei -80°C im Gefrierschrank gelagert werden. Die Zeit vom Abschneiden der Pflanze bis zum Einfrieren in Flüssigstickstoff betrug nicht mehr als 10–20 s.

b) Gefriertrocknung

[0768] Es wurde darauf geachtet, dass während des Versuches die Pflanzen bis zum ersten Kontakt mit Lösemitteln entweder in tiefkalttem Zustand blieben (Temperaturen $< -40^{\circ}\text{C}$) oder durch Gefriertrocknen vom Wasser befreit wurden.

[0769] Das Aluminiumrack mit den Pflanzenproben in den Extraktionshülsen wurde in die vorgekühlte (-40°C) Gefriertrocknungsanlage gestellt. Die Anfangstemperatur während der Haupttrocknung betrug -35°C , der Druck betrug 0,120 mbar. Während der Trocknungsphase wurden die Parameter entsprechend eines Druck- und Temperaturprogrammes verändert. Die Endtemperatur nach 12 Stunden betrug $+30^{\circ}\text{C}$, und der Enddruck lag bei 0,001 bis 0,004 mbar. Nach dem Abschalten der Vakuumpumpe und der Kältemaschine wurde das System mit Luft (durch ein Trockenrohr getrocknet) oder Argon belüftet.

c) Extraktion

[0770] Die Extraktionshülsen mit dem gefriergetrockneten Pflanzenmaterial wurden unmittelbar nach der Belüftung des Gefriertrocknungsgerätes in die 5-mL-Extraktionskartuschen eines ASE-Gerätes (Accelerated Solvent Extractor ASE 200 mit Solvent Controller und AutoASE-Software (Firma DIONEX)) überführt.

[0771] Die 24 Probenpositionen des ASE-Gerätes (Accelerated Solvent Extractor ASE 200 mit Solvent Controller und AutoASE-Software (DIONEX)) wurden mit Pflanzenproben gefüllt, einschließlich einiger Proben für Qualitätskontrolltests.

[0772] Die polaren Substanzen wurden mit ungefähr 10 ml Methanol/Wasser (80/20, v/v) bei $T = 70^{\circ}\text{C}$ und $p = 140$ bar, 5 Minuten Aufheizphase, 1 Minute statische Extraktion, extrahiert. Die lipophileren Substanzen wurden mit ungefähr 10 ml Methanol/Dichlormethan (40/60, v/v) bei $T = 70^{\circ}\text{C}$ und $p = 140$ bar, 5 Minuten Aufheizphase, 1 Minute statische Extraktion, extrahiert. Beide Lösemittelgemische wurden in dasselbe Probengläschen (Zentrifugengläser, 50 ml mit Schraubkappe und durchstechbarem Septum für die ASE (DIONEX)) extrahiert.

[0773] Die Lösung wurde mit handelsüblichen internen Standards versetzt, wie etwa Ribitol, L-Glycin-2, 2-d₂, L-Alanin-2, 3,3, 3-d₄, Methionin-methyl-d₃, Arginin_(13C), Tryptophan-d₅ und α -Methylglucopyranosid und Nonadecansäure-Methylester, Undecansäure-Methylester, Tridecansäure-Methylester, Pentadecansäure-Methylester, Nonacosansäure-Methylester.

[0774] Der Gesamtextrakt wurde mit 8 ml Wasser versetzt. Der feste Rückstand der Pflanzenprobe und die Extraktionshülse wurden verworfen.

[0775] Der Extrakt wurde geschüttelt und dann bei mindestens 1.400 g für 5 bis 10 Minuten zentrifugiert, um die Phasentrennung zu beschleunigen. 1 ml der überstehenden Methanol/Wasser-Phase („polare Phase“, farblos) wurde für die weitere GC-Analyse abgenommen, 1 ml wurde für die LC-Analyse entnommen. Der Rest der Methanol/Wasser-Phase wurde verworfen. 0,5 ml der organischen Phase („Lipidphase“, dunkelgrün) wurde für die weitere GC-Analyse entnommen, 0,5 ml wurden für die LC-Analyse entnommen. Alle entnommenen Aliquoten wurden mit dem IR-Dancer Infrarot-Vakuum-Evaporator (Rettich) zur Trockne eingedampft. Die maximale Temperatur während des Eindampf-Vorgangs überschritt dabei nicht 40°C . Der Druck im Gerät betrug nicht weniger als 10 mbar.

d) Weiterverarbeitung der Lipidphase und der polaren Phase für die LC/MS- oder IC/MS/MS-Analyse

[0776] Der zur Trockne eingedampfte Lipidextrakt wurde in Laufmittel aufgenommen. Der zur Trockne eingedampfte polare Extrakt wurde in Laufmittel aufgenommen.

e) IC-MS-Analyse

[0777] Der LC-Teil wurde auf einem handelsüblichen LCMS-System von Agilent Technologies, USA, durchgeführt. Für polare Extrakte wurden 10 μl bei einer Flussrate von 200 $\mu\text{l}/\text{Minute}$ in das System injiziert. Die Trennungssäule (Reversed Phase C18) wurde während der Chromatographie auf 15°C gehalten. Für Lipidextrakte wurden 5 μl bei einer Flussrate von 200 $\mu\text{l}/\text{Minute}$ in das System injiziert. Die Trennungssäule (Reversed Phase C18) wurde auf 30°C gehalten. Der HPLC-Lauf wurde mit Gradientenelution durchgeführt.

[0778] Die massenspektrometrische Analyse wurden auf einem API 4000 Triple-Quadrupol-Instrument (Applied Biosystems) mit Turboionspray-Quelle durchgeführt. Für polare Extrakte misst das Instrument im Negativionenmodus in MRM-Modus und Fullscan-Modus von 100–1000 amu. Für Lipidextrakte misst das Instrument im Positivionenmodus in MRM-Modus und Fullscan-Modus von 100–1000 amu. Die MS-Analyse wird ausführlicher in der Patentveröffentlichung Nummer WO 03/073464 (Walk und Dostler) beschrieben.

f) Derivatisierung der Lipidphase für die GC/MS-Analyse

[0779] Zur Transmethanolyse wurde ein Gemisch aus 140 µl Chloroform, 37 µl Salzsäure (37 Gew.-% HCl in Wasser), 320 µl Methanol und 20 µl Toluol zu dem eingedampften Extrakt zugefügt. Das Gefäß wurde dicht verschlossen und unter Schütteln 2 Stunden bei 100°C erhitzt. Anschließend wurde die Lösung zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde vollständig getrocknet.

[0780] Die Methoximierung der Carbonylgruppen erfolgte durch Reaktion mit Methoxyamin-Hydrochlorid (5 mg/mL in Pyridin, 100 µL für 1,5 h bei 60°C) im dicht verschlossenen Gefäß. 20 µL einer Lösung von ungeradzahigen, geradkettigen Fettsäuren (je 0,3 mg/mL von Fettsäuren mit 7 bis 25 Kohlenstoffatomen und je 0,6 mg/mL von Fettsäuren mit 27, 29 und 31 Kohlenstoffatomen gelöst in einem 3/7-Pyridin/Toluol-Gemisch (v/v)) wurden als Zeitstandards zugesetzt. Schließlich wurde mit 100 µL N-Methyl-N-(trimethylsilyl)-2,2,2-trifluoracetamid (MSTFA) für 30 min bei 60°C im wieder dicht verschlossenen Gefäß derivatisiert. Das Endvolumen vor der GC-Injektion war 220 µl.

g) Derivatisierung der polaren Phase für die GC/MS-Analyse

[0781] Die Methoximierung der Carbonylgruppen erfolgte durch Reaktion mit Methoxyamin-Hydrochlorid (5 mg/mL in Pyridin, 50 µL für 1,5 h bei 60°C) im dicht verschlossenen Gefäß. 10 µL einer Lösung von ungeradzahigen, geradkettigen Fettsäuren (je 0,3 mg/mL von Fettsäuren mit 7 bis 25 Kohlenstoffatomen und je 0,6 mg/ml von Fettsäuren mit 27, 29 und 31 Kohlenstoffatomen gelöst in einem 3/7-Pyridin/Toluol-Gemisch (v/v)) wurden als Zeitstandards zugesetzt. Schließlich wurde mit 50 µL N-Methyl-N-(trimethylsilyl)-2,2,2-trifluoracetamid (MSTFA) für 30 min bei 60°C im wieder dicht verschlossenen Gefäß derivatisiert. Das Endvolumen vor der GC-Injektion war 110 µl.

h) GC-MS Analyse

[0782] Die GC-MS-Systeme bestehen aus einem Agilent 6890 GC, gekoppelt mit einem Agilent 5973 MSD. Die Autosampler sind CompiPal oder GCPal von CTC. Für die Analyse werden handelsübliche Kapillar-Trennungssäulen (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) mit verschiedenen stationären Poly-Methyl-Siloxan-Phasen, die 0% bis zu 35% aromatische Anteile aufweisen, je nach den analysierten Probenmaterialien und Fraktionen aus dem Phasentrennungsschritt, verwendet (zum Beispiel: DB-1 ms, HP-5ms, DB-XLB, DB-35ms, Agilent Technologies). Bis zu 1 µl des Endvolumens werden splitlos injiziert und das Ofentemperaturprogramm wird bei 70°C gestartet und bei 340°C beendet, mit verschiedenen Erhitzungsgeschwindigkeiten je nach dem Probenmaterial und der Fraktion aus dem Phasentrennungsschritt, um eine ausreichende chromatographische Trennung und eine Anzahl von Scans innerhalb jedes Analysensignals zu erzielen. Es wurden übliche GC-MS-Standardbedingungen, zum Beispiel konstanter Fluss mit nominal 1 bis 1,7 ml/Minute und Helium als Laufmittelgas verwendet. Die Ionisierung erfolgt durch Elektronenstoß mit 70 eV, Scannen in einem m/z-Bereich von 15 bis 600 mit Scangeschwindigkeiten von 2,5 bis 3 Scans/Sek. und standardmäßigen „Tune“-Bedingungen.

Beispiel 4 Datenanalyse aus der metabolischen Analyse von transformierten Pflanzen

i) Die Proben wurden in einzelnen Serien zu jeweils 20 bis 21 Pflanzen- oder Samenproben (sogenannte Sequenzen) gemessen, wobei jede Sequenz mindestens 5 Wildtyp-Pflanzen als Kontrolle enthält. Die Samenproben stammten aus einzelnen Pflanzen. Die Peakfläche jedes Analyten wurde durch die Peakfläche des jeweiligen internen Standards dividiert. Die Daten wurden auf das für die Pflanze eingewogene Frischgewicht normiert. Die so berechneten Werte wurden auf die Wildtyp-Kontrollgruppe bezogen, indem sie durch den Mittelwert der entsprechenden Daten der Wildtypkontrollgruppe derselben Sequenz dividiert wurden. Die erhaltenen Werte wurden als `ratio_by_WT` bezeichnet, sind sequenzübergreifend vergleichbar und geben an, wie vielfach sich die Analytkonzentration in der Mutante relativ zur Wildtyp-Kontrolle unterscheidet. Es wurden geeignete Kontrollen durchgeführt, um zu beweisen, dass der Vektor und das Transformationsverfahren selbst keinen signifikanten Einfluss auf die metabolische Zusammensetzung der Pflanzen hat. Daher wurden die beschriebenen Veränderungen im Vergleich mit Wildtypen durch die eingeführten Genkonstrukte verursacht. Für jedes Konstrukt wurde mindestens 3–5 unabhängige Linien in zwei unabhängigen Versuchen analysiert.

Tabelle VIII GABA-Erhöhung (ratio_by_WT) in transgener A. thaliana.

SeqID	Locus	Ziel	Min und Max Ratio by WT	Verfahren
42	Ymr052w	cytoplasmatisch	1,12 - 12,35	GC
654	At1g43850	cytoplasmatisch	1,95 - 5,47	GC
706	At2g28890	cytoplasmatisch	3,31 - 12,21	GC
751	At3g04050	plastidisch	1,01 - 26,89	GC
1156	At3g08710	cytoplasmatisch	3,02 - 3,64	GC
1510	At3g11650	cytoplasmatisch	1,91 - 3,21	GC
1598	At3g27540	cytoplasmatisch	2,66 - 4,27	GC
1670	At3g61830	cytoplasmatisch	2,06 - 16,46	GC
1874	At4g32480	cytoplasmatisch	2,21 - 7,44	GC
1936	At4g35310	cytoplasmatisch	2,53 - 5,40	GC
2492	At5g16650	cytoplasmatisch	1,82 - 3,07	GC
2553	AvinDRAFT_2344	cytoplasmatisch	2,11 - 6,42	GC
3408	AvinDRAFT_2521	cytoplasmatisch	1,91 - 1,99	GC
3564	AvinDRAFT_5103	cytoplasmatisch	2,04 - 10,13	GC
3728	AvinDRAFT_5292	cytoplasmatisch	5,83 - 14,56	GC
4068	B0124	cytoplasmatisch	1,85 - 4,07	GC
4176	B0161	cytoplasmatisch	3,33 - 16,31	GC
4364	B0449	cytoplasmatisch	3,00 - 15,36	GC
4717	B0593	plastidisch	2,10 - 3,59	GC
4864	B0898	cytoplasmatisch	4,10 - 175,83	GC
4903	B1003	cytoplasmatisch	4,16 - 9,49	GC
4909	B1522	cytoplasmatisch	2,00 - 22,61	GC
4954	B2739	cytoplasmatisch	3,39 - 14,55	GC
5121	B3646	cytoplasmatisch	2,07 - 3,02	GC
5319	B4029	cytoplasmatisch	2,10 - 77,37	GC
5387	B4256	cytoplasmatisch	1,88 - 3,19	GC
5458	C_PP034008079R	cytoplasmatisch	1,39 - 3,02	GC
6041	Slr0739	plastidisch	1,83 - 3,55	GC
6469	TTC0019	cytoplasmatisch	1,93 - 7,25	GC
6739	TTC1550	cytoplasmatisch	2,01 - 2,93	GC
7510	Yjr153w	cytoplasmatisch	1,82 - 6,77	GC
7633	Ylr043c	plastidisch	1,83 - 2,10	GC

53	51340801_CANOLA	plastidisch	2,10 - 3,22	GC
7137	Ybr159w	cytoplasmatisch	1,67 - 2,23	GC
7208	YDR046C	cytoplasmatisch	1,03 - 48,39	GC
7274	YGR255C	cytoplasmatisch	2,63 - 31,94	GC
7489	YHR213W	cytoplasmatisch	3,74 - 7,79	GC
8239	YPL249C-A	cytoplasmatisch	1,53 - 6,64	GC
8397	YPR185W	cytoplasmatisch	4,13 - 47,89	GC
8227	Ylr395c	cytoplasmatisch	1,08 - 131,19	GC
8423	YDR046C_2	cytoplasmatisch	1,03 - 48,39	GC

Beispiel 5

[0783] Gentechnische Herstellung von Luzernepflanzen mit einer erhöhten feinchemischen Produktion durch Expression von Nukleinsäuren der Erfindung aus *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* oder anderen Organismen.

[0784] Ein regenerierender Luzerne-Klon (*Medicago sativa*) wird unter Verwendung des Verfahrens von (McKersie et al., *Plant Physiol.* 119, 839 (1999)) transformiert. Die Regeneration and Transformation von Luzerne ist genotypabhängig und daher wird eine regenerierende Pflanze benötigt. Verfahren zur Gewinnung regenerierender Pflanzen wurden beschrieben. Zum Beispiel können diese aus der Sorte Rangelender (*Agriculture Canada*) oder jeder anderen im Handel erhältlichen Luzernesorte, wie von Brown, D. C. W., und Atanassov, A. (*Plant Cell Tissue Organ Culture* 4, 111 (1985)) beschrieben, erhalten werden. Alternativ hat man die Sorte RA3 (*University of Wisconsin*) für die Verwendung in Gewebekultur ausgewählt (Walker et al., *Am. J. Bot.* 65, 654 (1978)).

[0785] Petiolenexplantate werden mit einer Übernachtkultur von *Agrobacterium tumefaciens* C58C1 pMP90 (McKersie et al., *Plant Physiol.* 119: 839 (1990)) oder LBA4404, die einen binären Vektor enthalten, cokultiiviert. Es wurden viele verschiedene binäre Vektorsysteme für die Pflanzentransformation beschrieben (z. B. An, G. in *Agrobacterium Protocols. Methods in Molecular Biology* Bd. 44, S. 47–62, Gartland KMA und MR Davey Hrsg. Humana Press, Totowa, New Jersey). Viele basieren auf dem von Bevan (*Nucleic Acid Research.* 12, 8711 (1984)) beschriebenen Vektor pBIN19, der eine Pflanzengenexpressionskassette, flankiert von der rechten und linken Grenzsequenz aus dem Ti-Plasmid von *Agrobacterium tumefaciens*, enthält. Eine Pflanzengenexpressionskassette besteht aus mindestens zwei Genen – einem Selektionsmarkergen und einem Pflanzenpromoter, der die Transkription der cDNA oder der genomischen DNA des Merkmalsgens reguliert. Man kann verschiedene Selektionsmarkergene verwenden, darunter das Arabidopsis-Gen, das ein mutiertes Acetohydroxysäure-Synthase-(AHAS-)Enzym kodiert (US-Patentschriften 57673666 und 6225105). Ebenso können verschiedene Promoter zur Regulation des Merkmalsgens verwendet werden, wodurch eine konstitutive, entwicklungsgesteuerte, Gewebe- oder Umwelt-Regulation der Gentranskription bereitgestellt wird. In diesem Beispiel wird der 34S-Promoter (Gen-Bank-Zugangsnummern M59930 und X16673) dazu verwendet, eine konstitutive Expression des Merkmalsgens bereitzustellen.

[0786] Die Explantate werden für 3 Tage im Dunkeln auf SH-Induktionsmedium, das 288 mg/l Pro, 53 mg/l Thioprolin, 4,35 g/l K_2SO_4 und 100 μ m Acetosyringinon enthält, gezüchtet. Die Explantate werden in Murashige-Skoog-Medium (Murashige und Skoog, 1962) der halben Stärke gewaschen und auf demselben SH-Induktionsmedium ohne Acetosyringinon, aber mit einem geeigneten Selektionsmittel und einem geeigneten Antibiotikum für die Hemmung des *Agrobacterium*-Wachstums herangezogen. Nach mehreren Wochen werden somatische Embryonen auf BOi2Y-Entwicklungsmedium umgesetzt, das keine Wachstumsregulatoren, keine Antibiotika und 50 g/l Saccharose enthält. Die somatischen Embryonen lässt man anschließend auf Murashige-Skoog-Medium der halben Stärke keimen. Bewurzelte Keimlinge werden in Töpfe umgesetzt und im Gewächshaus herangezogen.

[0787] Pflanzen aus Samen der Generation T1 oder T2 werden hergestellt und ähnlichen Versuchen unterzogen, wie den oben beschriebenen, um ihren feinchemischen Gehalt im Vergleich mit einem entsprechenden Kontrollmaterial zu bestimmen.

Beispiel 6

[0788] Gentechnische Herstellung von Weidelgraspflanzen mit einer erhöhten feinchemischen Produktion durch Expression von Nukleinsäuren der Erfindung aus *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* oder anderen Organismen.

[0789] Samen verschiedener Weidelgras-Sorten können als Quellen von Explantaten für die Transformation verwendet werden, einschließlich der handelsüblichen Sorte Gunne, die von Svalof Weibull Seed Company erhältlich ist, oder der Sorte Affinity. Die Oberflächensterilisation der Samen erfolgt nacheinander mit 1% Tween-20 für 1 Minute, 100% Bleichmittel für 60 Minuten, 3-maligem Spülen für jeweils 5 Minuten mit deionisiertem und destilliertem H₂O und anschließend werden sie für 3–4 Tage auf feuchtem, sterilem Filterpapier im Dunkeln gekeimt. Die Sterilisation der Keimlinge erfolgt ferner für 1 Minute mit 1% Tween-20, für 5 Minuten mit 75% Bleichmittel und durch 3-maliges Spülen für jeweils 5 min mit ddH₂O.

[0790] Die oberflächensterilisierten Samen werden auf das Kallusinduktionsmedium umgesetzt, das Murashige und Skoog-Basalsalze und Vitamine, 20 g/l Saccharose, 150 mg/l Asparagin, 500 mg/l Casein-Hydrolysat, 3 g/l Phytigel, 10 mg/L BAP und 5 mg/l Dicamba enthält. Die Platten werden für die Samenkeimung und die Induktion embryogener Kalli im Dunkeln bei 25°C für 4 Wochen inkubiert.

[0791] Nach 4 Wochen auf dem Kallusinduktionsmedium werden die Sprosse und Wurzeln der Keimlinge abgeschnitten, der Kallus wird auf frisches Medium umgesetzt, weitere 4 Wochen kultiviert und dann für 2 Wochen auf MSO-Medium ins Licht umgesetzt. Mehrere (11–17 Wochen alte) Kallusstückchen werden entweder durch ein 10-Mesh-Sieb gesiebt und auf Kallusinduktionsmedium gesetzt oder in 100 ml flüssiges Weidelgras-Kallusinduktionsmedium (dasselbe Medium wie für die Kallusinduktion mit Agar) in einem 250 ml-Kolben gezüchtet. Der Kolben wird in Folie eingewickelt und bei 175 U/min im Dunkeln und bei 23°C für 1 Woche geschüttelt. Durch Sieben der Flüssigkultur durch ein 40-Mesh-Sieb wurden die Zellen gesammelt. Die auf dem Sieb gesammelte Fraktion wird auf festem Weidelgras-Kallusinduktionsmedium ausplattiert und darauf 1 Woche im Dunkeln bei 25°C kultiviert. Der Kallus wird dann auf MS-Medium mit 1% Saccharose umgesetzt und darauf für 2 Wochen gezüchtet.

[0792] Die Transformation kann entweder mit *Agrobacterium* oder mit Teilchenbeschussverfahren durchgeführt werden. Es wird ein Expressionsvektor hergestellt, der einen konstitutiven PflanzenPromoter und die cDNA des Gens in einem pUC-Vektor enthält. Die Plasmid-DNA wird aus *E. coli*-Zellen unter Verwendung eines Qiagen-Kits entsprechend den Anweisungen des Herstellers präpariert. Etwa 2 g des embryogenen Kallus werden in die Mitte eines sterilen Filterpapiers in einer Petrischale gegeben. Ein Aliquot flüssiges MSO mit 10 g/l Saccharose wird auf das Filterpapier gegeben. Goldpartikel (Größe 1,0 µm) werden mit der Plasmid-DNA entsprechend dem Verfahren von Sanford et al., 1993, beschichtet und in den embryogenen Kallus unter Verwendung der folgenden Parameter eingebracht: 500 µg Partikel und 2 µg DNA pro Beschuss, 1300 psi und Zielabstand von 8,5 cm von der Stopp-Platte bis zur Kallus-Platte und 1 Schuss pro Kallus-Platte.

[0793] Nach dem Beschuss werden die Kalli wieder auf frisches Kallusentwicklungsmedium gesetzt und für einen Zeitraum von 1 Woche im Dunkeln bei Raumtemperatur gehalten. Der Kallus wird dann nach Wachstumsbedingungen im Licht bei 25°C mit dem geeigneten Selektionsmittel, z. B. 250 nM Arsenal, 5 mg/L PPT oder 50 mg/l Kanamycin, umgestellt, so dass die Differenzierung des Embryos eingeleitet wird. Sprosse, die gegen das Selektionsmittel resistent sind, erscheinen und werden nach der Bewurzelung auf Erde umgesetzt.

[0794] Proben der primären transgenen Pflanzen (T0) werden mittels PCR analysiert, um das Vorliegen der T-DNA zu bestätigen. Diese Ergebnisse werden durch Southern-Hybridisierung verifiziert, wobei die DNA auf einem 1%igen Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt und auf eine positiv geladene Nylon-Membran (Roche Diagnostics) überführt wird. Das PCR DIG Probe Synthesis-Kit (Roche Diagnostics) wird dazu verwendet, eine Digoxigenin-markierte Sonde mittels PCR herzustellen, und wird wie vom Hersteller empfohlen verwendet.

[0795] Transgene T0-Weidelgras-Pflanzen werden vegetativ durch Abschneiden von Ausläufern vermehrt. Die transplantierten Ausläufer werden 2 Monate im Gewächshaus gehalten, bis sie gut herangewachsen sind. Die Sprosse werden entlaubt und man lässt sie 2 Wochen lang wachsen.

[0796] Pflanzen aus Samen der Generation T1 oder T2 werden hergestellt und ähnlichen Versuchen unterzogen, wie den oben beschriebenen, um ihren feinchemischen Gehalt im Vergleich mit einem entsprechenden Kontrollmaterial zu bestimmen.

Beispiel 7

[0797] Gentechnische Herstellung von Sojapflanzen mit einer erhöhten feinchemischen Produktion durch Expression von Nukleinsäuren der Erfindung aus *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* oder anderen Organismen.

[0798] Soja wird entsprechend der folgenden Modifikation des Verfahrens, das im Texas A&M-Patent US 5,164,310 beschrieben ist, transformiert. Es sind mehrere im Handel erhältliche Soja-Sorten für die Transformation durch dieses Verfahren verfügbar. Die (von der Illinois Seed Foundation erhältliche) Sorte Jack wird üblicherweise für die Transformation verwendet. Samen werden sterilisiert, indem sie in 70% (v/v) Ethanol für 6 min und in 25%ige handelsübliche Bleiche (NaOCl), die mit 0,1% (v/v) Tween angereichert ist, für 20 min eingetaucht werden, worauf sie 4 Mal mit sterilem doppelt destilliertem Wasser gespült werden. Sieben Tage alte Keimlinge werden vermehrt, indem die Keimwurzel, das Hypokotyl und ein Keimblatt von jedem Keimling entfernt werden. Dann wird das Epikotyl mit einem Keimblatt auf frisches Keimungsmedium in Petrischalen überführt und bei 25°C für drei Wochen unter einer 16-stündigen Photoperiode (ca. 100 µE/m²s) inkubiert. Die Achselknoten (mit einer Länge von etwa 4 mm) wurden von 3–4 Wochen alten Pflanzen abgeschnitten. Die Achselknoten werden herauspräpariert und in einer Kultur von *Agrobacterium LBA4404* inkubiert.

[0799] Es wurden viele verschiedene binäre Vektorsysteme für die Pflanzentransformation beschrieben (z. B. An, G. in *Agrobacterium Protocols. Methods in Molecular Biology* Bd. 44, S. 47–62, Gartland K.M.A. und M.R. Davey Hrsg. Humana Press, Totowa, New Jersey). Viele basieren auf dem von Bevan (Nucleic Acid Research. 12, 8711 (1984)) beschriebenen Vektor pBIN19, der eine Pflanzengenexpressionskassette, flankiert von der rechten und linken Grenzsequenz aus dem Ti-Plasmid von *Agrobacterium tumefaciens*, enthält. Eine Pflanzengenexpressionskassette besteht aus mindestens zwei Genen – einem Selektionsmarkergen und einem Pflanzenpromoter, der die Transkription der cDNA oder der genomischen DNA des Merkmalsgens reguliert. Man kann verschiedene Selektionsmarkergene verwenden, darunter das Arabidopsis-Gen, das ein mutiertes Acetohydroxysäure-Synthase-(AHAS-)Enzym kodiert (US-Patente 5,7673,666 und 6,225,105). Ebenso lassen sich verschiedene Promoter zur Regulation des Merkmalsgens einsetzen, wodurch eine konstitutive, entwicklungsgesteuerte, Gewebe- oder Umwelt-Regulation der Gentranskription bereitgestellt wird. In diesem Beispiel kann der 34S-Promoter (GenBank-Zugangsnummern M59930 und X16673) verwendet werden, so dass eine konstitutive Expression des Merkmalsgens bereitgestellt wird.

[0800] Nach der Cokultivierungsbehandlung werden die Explantate gewaschen und auf Selektionsmedien umgesetzt, die mit 500 mg/l Timentin angereichert sind. Die Sprosse werden herauspräpariert und auf Sprossverlängerungsmedium umgesetzt. Sprosse mit mehr als 1 cm Länge werden vor dem Umsetzen auf Erde zwei bis vier Wochen auf Wurzelmedium gesetzt.

[0801] Die primären transgenen Pflanzen (T0) werden mittels PCR analysiert, um das Vorliegen der T-DNA zu bestätigen. Diese Ergebnisse werden durch Southern-Hybridisierung verifiziert, wobei die DNA auf einem 1%igen Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt und auf eine positiv geladene Nylon-Membran (Roche Diagnostics) überführt wird. Das PCR DIG Probe Synthesis-Kit (Roche Diagnostics) wird dazu verwendet, eine Digoxigenin-markierte Sonde mittels PCR herzustellen, und wird wie vom Hersteller empfohlen verwendet.

[0802] Pflanzen aus Samen der Generation T1 oder T2 werden hergestellt und ähnlichen Versuchen unterzogen, wie den oben beschriebenen, um ihren feinchemischen Gehalt im Vergleich mit einem entsprechenden Kontrollmaterial zu bestimmen.

Beispiel 8

[0803] Gentechnische Herstellung von Raps-/Canolapflanzen mit einer erhöhten feinchemischen Produktion durch Expression von Nukleinsäuren der Erfindung aus *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* oder anderen Organismen.

[0804] Keimblattpetiolen und -hypokotyle von 5–6 Tage alten jungen Keimlingen werden als Explantate für die Gewebekultur verwendet und gemäß Babic et al. (1998, Plant Cell Rep 17: 183–188) transformiert. Die im Handel erhältliche Sorte Westar (Agriculture Canada) ist die für die Transformation eingesetzte Standardsorte, aber es können auch andere Sorten verwendet werden.

[0805] Für die Transformation von Canola kann *Agrobacterium tumefaciens LBA4404* verwendet werden, das einen binären Vektor enthält. Man hat viele verschiedene binäre Vektorsysteme für die Pflanzentransformation beschrieben (z. B. An, G. in *Agrobacterium Protocols. Methods in Molecular Biology* Bd. 44, S. 47–62, Gartland

K.M.A. und M. R. Davey Hrsg. Humana Press, Totowa, New Jersey). Viele basieren auf dem von Bevan beschriebenen Vektor pBIN19 (Nucleic Acid Research. 12: 8711 (1984)), der eine Pflanzengenexpressionskassette, flankiert von der rechten und linken Grenzsequenz aus dem Ti-Plasmid von *Agrobacterium tumefaciens*, enthält. Eine Pflanzengenexpressionskassette besteht aus mindestens zwei Genen – einem Selektionsmarkergen und einem PflanzenPromoter, der die Transkription der cDNA oder der genomischen DNA des Merkmalsgens reguliert. Man kann verschiedene Selektionsmarkergene verwenden, darunter das Arabidopsis-Gen, das ein mutiertes Acetohydroxysäure-Synthase-(AHAS-)Enzym kodiert (US-Patente 5,7673,666 und 6,225,105). Ebenso lassen sich verschiedene Promoter zur Regulation des Merkmalsgens einsetzen, wodurch eine konstitutive, entwicklungsgesteuerte, Gewebe- oder Umwelt-Regulation der Gentranskription bereitgestellt wird. In diesem Beispiel kann der 34S-Promoter (Gen-Bank-Zugangsnummern M59930 und X16673) verwendet werden, so dass eine konstitutive Expression des Merkmalsgens bereitgestellt.

[0806] Die Oberflächensterilisation von Canola-Samen erfolgt in 70%igem Ethanol für 2 min und dann in 30% Clorox mit einem Tropfen Tween-20 für 10 min, anschließend werden sie dreimal mit sterilem destilliertem Wasser gespült. Die Samen werden dann in vitro für 5 Tage auf MS-Medium der halben Stärke ohne Hormone, 1% Saccharose, 0,7% Phytagar bei 23°C, 16 Std. Licht gekeimt. Die Kotyledonenpetiolenexplantate mit dem daran befindlichen Keimblatt werden aus den In-vitro-Keimlingen herauspräpariert und mit *Agrobacterium* beimpft, indem das abgeschnittene Ende des Petiolenexplantats in die Bakterienlösung getaucht wird. Die Explantate werden dann für 2 Tage auf MSBAP-3-Medium, das 3 mg/l BAP, 3% Saccharose, 0,7% Phytagar enthält, bei 23°C, 16 Std. Licht gezüchtet. Nach zweitägiger Cokultur mit *Agrobacterium* werden die Petiolenexplantate für 7 Tage auf MSBAP-3-Medium umgesetzt, das 3 mg/L BAP, Cefotaxim, Carbenicillin oder Timentin (300 mg/l) enthält, und dann auf MSBAP-3-Medium mit Cefotaxim, Carbenicillin oder Timentin und Selektionsmittel bis zur Sprossregeneration gezüchtet. Als die Sprosse eine Länge von 5–10 mm hatten, wurden sie abgeschnitten und auf Sprossverlängerungsmedium (MSBAP-0,5 mit 0,5 mg/L BAP) umgesetzt. Sprosse mit einer Länge von etwa 2 cm werden für die Wurzelinduktion auf Wurzelmedium (MSO) umgesetzt.

[0807] Proben der primären transgenen Pflanzen (T0) werden mittels PCR analysiert, um das Vorliegen der T-DNA zu bestätigen. Diese Ergebnisse werden durch Southern-Hybridisierung verifiziert, wobei die DNA auf einem 1%igen Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt und auf eine positiv geladene Nylon-Membran (Roche Diagnostics) überführt wird. Das PCR DIG Probe Synthesis-Kit (Roche Diagnostics) wird dazu verwendet, eine Digoxigenin-markierte Sonde mittels PCR herzustellen, und wird wie vom Hersteller empfohlen verwendet.

[0808] Pflanzen aus Samen der Generation T1 oder T2 werden hergestellt und ähnlichen Versuchen unterzogen, wie den oben beschriebenen, um ihren feinchemischen Gehalt im Vergleich mit einem entsprechenden Kontrollmaterial zu bestimmen.

Beispiel 9

[0809] Gentechnische Herstellung von Maispflanzen mit einer erhöhten feinchemischen Produktion durch Expression von Nukleinsäuren der Erfindung aus *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* oder anderen Organismen.

[0810] Die Transformation von Mais (*Zea mays*.) erfolgt durch eine Modifikation des von Ishida et al. (Nature Biotech 14745 (1990)) beschriebenen Verfahrens. Die Transformation in Mais ist genotypabhängig und nur spezifische Genotypen sind für eine Transformation und Regeneration zugänglich. Die Inzuchtlinie A188 (University of Minnesota) oder Hybride mit A188 als einem Elter sind gute Quellen für Donormaterial für die Transformation (Fromm et al. Biotech 8: 833 (1990)), aber es können auch andere Genotypen erfolgreich verwendet werden. Die Ähren werden von Maispflanzen etwa 11 Tage nach der Bestäubung (days after pollination, DAP) geerntet, wenn die Länge des unreifen Embryos etwa 1 bis 1,2 mm beträgt. Unreife Embryonen werden mit *Agrobacterium tumefaciens* kokultiviert, die "super-binäre" Vektoren enthalten, und transgene Pflanzen werden mittels Organogenese gewonnen. Das super-binäre Vektorsystem von Japan Tobacco ist in den WO-Patenten WO94/00977 und WO95/06722 beschrieben. Die Vektoren wurden konstruiert, wie beschrieben. Man kann verschiedene Selektionsmarkergene verwenden, darunter das Mais-Gen, das ein mutiertes Acetohydroxysäure-Synthase-(AHAS-)Enzym kodiert (US-Patent 6025541). Ebenso lassen sich verschiedene Promoter zur Regulation des Merkmalsgens einsetzen, wodurch eine konstitutive, entwicklungsgesteuerte, Gewebe- oder Umwelt-Regulation der Gentranskription bereitgestellt wird. In diesem Beispiel wurde der 34S-Promoter (Gen-Bank-Zugangsnummern M59930 und X16673) verwendet, so dass eine konstitutive Expression des Merkmalsgens bereitgestellt wurde.

[0811] Herauspräparierte Embryonen werden auf Kallusinduktionsmedium, dann auf Mais-Regenerationsmedium mit Imidazolinon als Selektionsmittel herangezogen. Die Petrischalen werden im Licht bei 25°C für 2–3

Wochen oder, bis sich Sprosse entwickeln, inkubiert. Die grünen Sprosse werden von jedem Embryo auf Mais-Wurzelmedium überführt und bei 25°C für 2–3 Wochen inkubiert, bis sich Wurzeln entwickeln. Die bewurzelten Sprosse werden dann auf Erde im Gewächshaus umgesetzt. T1-Samen werden von Pflanzen gewonnen, die eine Toleranz gegen die Imidazolinon-Herbizide aufweisen und in der PCR positiv für die Transgene sind.

[0812] Die transgenen T1-Pflanzen werden dann entsprechend den im Beispiel 3 beschriebenen Verfahren auf ihre verbesserte NUE- und/oder erhöhte Biomasseproduktion hin untersucht. T1-Generation von Pflanzen mit Insertionen der T-DNA an einem einzigen Locus segregiert für das Transgen in einem Verhältnis von 3:1. Diejenigen Nachkommen, die eine oder zwei Kopien des Transgens enthalten, sind tolerant gegenüber dem Imidazolinon-Herbizid und zeigen eine größere Toleranz Verbesserung der NUE und/oder eine Erhöhung der Biomasseproduktion als diejenigen Nachkommen, die die Transgene nicht enthalten.

[0813] Pflanzen aus Samen der Generation T1 oder T2 werden hergestellt und ähnlichen Versuchen unterzogen, wie in WO 2006092449, Beispiel 15c beschriebenen, um ihren feinchemischen Gehalt im Vergleich mit einem entsprechenden Kontrollmaterial zu bestimmen.

Beispiel 10

Gentechnische Herstellung von Weizenpflanzen mit einer erhöhten feinchemischen Produktion durch Expression von Nukleinsäuren der Erfindung aus *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* oder anderen Organismen.

[0814] Die Transformation von Weizen erfolgt mit dem von Ishida et al. (Nature Biotech 14745 (1996)) beschriebenen Verfahren. Die Sorte Bobwhite (von CIMMYT, Mexiko, erhältlich) wird üblicherweise zur Transformation verwendet. Unreife Embryonen werden mit *Agrobacterium tumefaciens* kokultiviert, die "super-binäre" Vektoren enthalten, und transgene Pflanzen werden mittels Organogenese gewonnen. Das super-binäre Vektorsystem von Japan Tobacco ist in den WO-Patenten WO94/00977 und WO95/06722 beschrieben. Die Vektoren wurden konstruiert, wie beschrieben. Man kann verschiedene Selektionsmarkergene verwenden, darunter das Mais-Gen, das ein mutiertes Acetohydroxysäure-Synthase-(AHAS-)Enzym kodiert (US-Patent 6,025,541). Ebenso lassen sich verschiedene Promoter zur Regulation des Merkmalsgens einsetzen, wodurch eine konstitutive, entwicklungsgesteuerte, Gewebe- oder Umwelt-Regulation der Gentranskription bereitgestellt wird. In diesem Beispiel wurde der 34S-Promoter (Gen-Bank-Zugangsnummern M59930 und X16673) verwendet, so dass eine konstitutive Expression des Merkmalsgens bereitgestellt wurde.

[0815] Nach der Inkubation mit *Agrobacterium* werden die Embryonen auf Kallusinduktionsmedium, dann auf Regenerationsmedium mit Imidazolinon als Selektionsmittel herangezogen. Die Petrischalen werden im Licht bei 25°C für 2–3 Wochen oder, bis sich Sprosse entwickeln, inkubiert. Die grünen Sprosse werden von jedem Embryo auf Wurzelmedium überführt und bei 25°C für 2–3 Wochen inkubiert, bis sich Wurzeln entwickeln. Die bewurzelten Sprosse werden auf Erde im Gewächshaus umgesetzt. T1-Samen werden von Pflanzen gewonnen, die eine Toleranz gegen die Imidazolinon-Herbizide aufweisen und in der PCR positiv für die Transgene sind.

[0816] Pflanzen aus Samen der Generation T1 oder T2 werden hergestellt und ähnlichen Versuchen unterzogen, wie den oben beschriebenen, um ihren feinchemischen Gehalt im Vergleich mit einem entsprechenden Kontrollmaterial zu bestimmen.

Beispiel 11

Gentechnische Herstellung von Reispflanzen mit einer erhöhten feinchemischen Produktion durch Expression von Nukleinsäuren der Erfindung aus *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* oder anderen Organismen.

Reistransformation:

[0817] Die beiden *Agrobacterium*-Stämme, die jeweils einen Expressionsvektor enthalten, werden unabhängig verwendet, um *Oryza-sativa*-Pflanzen zu transformieren. Reife Trockensamen der rice-japonica-Reissorte Nipponbare werden geschält. Die Sterilisation wird durchgeführt, indem für eine Minute in 70% Ethanol, gefolgt von 30 Minuten in 0,2% HgCl₂ inkubiert wird, gefolgt von 6-maliger Wäsche für 15 min mit sterilem, destilliertem Wasser. Die sterilen Samen werden dann auf einem Medium gekeimt, das 2,4-D (Kallusinduktionsmedium) enthält. Nach Inkubation im Dunkeln für vier Wochen, werden die embryonalen Scutellum-abgeleiteten Kalli

herauspräpariert und auf dem gleichen Medium vermehrt. Nach zwei Wochen werden die Kalli durch Subkultur auf dem gleichen Medium für weitere 2 Wochen vervielfältigt oder vermehrt. Embryonale Kallusteile werden auf frischem Medium 3 Tage vor der Cokultivierung subkultiviert.

[0818] Der Agrobacterium-Stamm LB4404 oder ein anderer, je nach dem gewählten Expressionsvektor geeigneter Agrobacterium-Stamm, der den Expressionsvektor enthält, wird für die Co-Kultivierung verwendet. Agrobacterium wird auf AB-Medium (EXPLAIN) mit den geeigneten Antibiotika inokuliert und für 3 Tage bei 28°C kultiviert. Die Bakterien werden dann gesammelt und in flüssigem Co-Kultivierungsmedium bei einer Dichte OD₆₀₀ von etwa 1 suspendiert. Die Suspension wird dann auf eine Petrischale überführt und die Kalli werden für 15 Minuten in die Suspension getaucht. Das Kallusgewebe wurde dann auf einem Filterpapier trockengetupft und auf verfestigtes Co-Kultivierungsmedium überführt und 3 Tage lang im Dunkeln bei 25°C inkubiert. Die Co-Kultivierungskalli werden auf 2,4-D-enthaltendem Medium 4 Wochen lang im Dunkeln bei 28°C in Gegenwart eines Selektionsmittel kultiviert, das vom Resistenzmarker des verwendeten Vektors abhängt. Während dieses Zeitraums entwickelt sich ein schnell wachsender resistenter Kallus. Nach der Überführung dieses Materials auf ein Regenerationsmedium und Inkubation im Licht, wird das embryonale Potential freigesetzt und in nächsten vier bis fünf Wochen entwickeln sich Sprosse. Die Sprosse werden aus den Kalli herauspräpariert und 2 bis 3 Wochen lang auf einem Auxin-enthaltenden Medium inkubiert, aus dem sie auf Erde überführt werden. Gehärtete Sprosse werden unter hoher Feuchtigkeit und kurzen Tagen in einem Gewächshaus kultiviert.

[0819] Nach einer quantitativen PCR-Analyse, um die Kopienzahl und das T-DNA-Insert zu verifizieren, wurden nur transgene Einzelkopie-Pflanzen, die Toleranz gegenüber dem Selektionsmittel zeigen, behalten, um T1-Samen zu ernten. Sie Samen werden dann drei bis fünf Monate nach dem Umsetzen geerntet. Die Samen oder Pflanzen aus verschiedenen unabhängigen Linien werden dann zur Analyse des Feinchemikaliengehalts verwendet.

Beispiel 12

Identifikation identischer und heterologer Gene

[0820] Gensequenzen können dazu verwendet werden, identische oder heterologe Gene aus cDNA- oder genomischen Banken zu identifizieren. Identische Gene (z. B. VollängencDNA-Klone) können über Nukleinsäurehybridisierung isoliert werden, wobei zum Beispiel cDNA-Banken eingesetzt werden. Je nach der Häufigkeit des interessierenden Gens werden 100 000 bis zu 1 000 000 rekombinante Bakteriophagen ausplattiert und auf Nylonmembranen überführt. Nach Denaturierung mit Alkali wird die DNA auf der Membran immobilisiert, z. B. durch UV-Vernetzung. Die Hybridisierung erfolgt unter hochstringenten Bedingungen. In wässriger Lösung werden Hybridisierung und Waschen bei einer Ionenstärke von 1 M NaCl und einer Temperatur von 68°C durchgeführt. Die Hybridisierungssonden werden z. B. durch radioaktive (³²P) Nick-Translationsmarkierung (High Prime, Roche, Mannheim, Deutschland) hergestellt. Die Signale werden durch Autoradiographie ermittelt.

[0821] Teilweise identische oder heterologe Gene, die verwandt, aber nicht identisch sind, können analog zu dem vorstehend beschriebenen Verfahren unter Verwendung von Hybridisierungs- und Waschbedingungen mit niedriger Stringenz identifiziert werden. Für die wässrige Hybridisierung wird die Ionenstärke in der Regel bei 1M NaCl gehalten, während die Temperatur nach und nach von 68°C auf 42°C gesenkt wird.

[0822] Die Isolation von Gensequenzen mit einer Homologie (oder Sequenzidentität/-ähnlichkeit) in nur einer bestimmten Domäne (zum Beispiel 10–20 Aminosäuren) kann unter Verwendung synthetischer radioaktiv markierter Oligonukleotidsonden erfolgen. Radioaktiv markierte Oligonukleotide werden durch Phosphorylierung des 5'-Endes zweier komplementärer Oligonukleotide mit T4-Polynukleotidkinase hergestellt. Die komplementären Oligonukleotide werden aneinander hybridisiert und unter Bildung von Konkatemeren ligiert. Die doppelsträngigen Konkatemere werden dann beispielsweise mittels Nick-Translation radioaktiv markiert. Die Hybridisierung erfolgt gewöhnlich bei Bedingungen einer niedrigen Stringenz mit hohen Oligonukleotidkonzentrationen.

[0823] Oligonukleotid-Hybridisierungslösung:

6 × SSC
0,01 M Natriumphosphat
1 mM EDTA (pH 8)
0,5% SDS

100 µg/ml denaturierte Lachssperma-DNA
0,1% fettfreie Trockenmilch

[0824] Während der Hybridisierung wird die Temperatur schrittweise bis auf 5–10°C unter die errechnete T_m des Oligonukleotids oder bis auf Raumtemperatur gesenkt, worauf die Waschschrte und die Autoradiographie durchgeführt werden. Das Waschen erfolgt mit niedriger Stringenz, beispielsweise durch 3 Waschschrte mit 4 × SSC. Weitere Einzelheiten sind in Sambrook, J. et al., 1989, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory Press, oder Ausubel, F. M. et al., 1994, "Current Protocols in Molecular Biology," John Wiley & Sons, beschrieben.

Beispiel 13

Identifikation identischer Gene durch Screening von Expressionsbanken mit Antikörpern

[0825] Man kann cDNA-Klone dazu verwenden, rekombinantes Polypeptid zum Beispiel in *E. coli* herzustellen (z. B. Qiagen QIAexpress pQE-System). Die rekombinanten Polypeptide werden dann gewöhnlich über Ni-NTA-Affinitätschromatographie (Qiagen) affinitätsgereinigt. Die rekombinanten Polypeptide werden dann für die Herstellung spezifischer Antikörper verwendet, indem zum Beispiel Standardtechniken für die Immunisierung von Kaninchen eingesetzt werden. Die Antikörper werden unter Verwendung einer Ni-NTA-Säule, die mit dem rekombinanten Antigen gesättigt wurde, affinitätsgereinigt, wie von Gu et al., *BioTechniques* 17: 257 (1994), beschrieben. Der Antikörper kann dann für das Screening von Expressions-cDNA-Banken verwendet werden, so dass identische oder heterologe Gene über ein immunologisches Screening identifiziert werden (Sambrook, J. et al., 1989, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory Press, oder Ausubel, F. M. et al., 1994, "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons).

Beispiel 14

In-vivo-Mutagenese

[0826] Die In-vivo-Mutagenese von Mikroorganismen kann durch Passage von Plasmid-DNA (oder einer anderen Vektor-DNA) durch *E. coli* oder andere Mikroorganismen (z. B. *Bacillus* spp. oder Hefen, wie *Saccharomyces cerevisiae*) erfolgen, bei denen die Fähigkeiten, die Unversehrtheit ihrer genetischen Information aufrecht zu erhalten, gestört sind. Übliche Mutator-Stämme haben Mutationen in den Genen für das DNA-Reparatursystem (z. B. *mutHLS*, *mutD*, *mutT* usw.; als Literaturstelle siehe Rupp, W. D., DNA repair mechanisms, in: *Escherichia coli and Salmonella*, S. 2277–2294, ASM, 1996, Washington). Solche Stämme sind dem Fachmann bekannt. Die Verwendung solcher Stämme ist zum Beispiel in Greener, A. und Callahan, M., *Strategies* 7, 32 (1994), veranschaulicht. Der Transfer mutierter DNA-Moleküle in Pflanzen erfolgt vorzugsweise nach einer Selektion und nach Testen in Mikroorganismen. Transgene Pflanzen werden anhand verschiedener Beispiele im Beispielteil dieses Dokuments hergestellt.

Beispiel 15

Screening von Pflanzen (*Arabidopsis*) auf Wachstum unter begrenzter Stickstoffzufuhr

[0827] Pflanzen mit einer erhöhten Aktivität eines in Tabelle IX und X unter der Spalte SEQ ID NO: oder Locus erwähnten Polypeptids wurden verwendet.

[0828] Für das Screening wurden zwei verschiedene Verfahren verwendet:

Prozedur 1:

Biomasseproduktion auf Agarplatten:

[0829] Für das Screening transgener Pflanzen wurde eine spezifische Kulturanlage verwendet. Um einen hohen Durchsatz zu erzielen, wurden die Pflanzen auf Agarplatten unter einer begrenzten Stickstoffzufuhr (adaptiert nach Estelle und Somerville, 1987) auf Biomasseproduktion hin gescreent. Diese Screening-Pipeline besteht aus zwei Ebenen. Die transgenen Linien wurden auf einer nächsten Ebene getestet, wenn die Produktion von Biomasse im Vergleich zu Wildtyp-Pflanzen signifikant verbessert war. Bei jeder Ebene wird die Anzahl an Wiederholungstests und die statistische Stringenz erhöht.

[0830] Für die Aussaat wurden die Samen mit Hilfe eines Zahnstochers aus den Eppendorf-Röhrchen entnommen und auf die oben erwähnten Agarplatten unter begrenzter Stickstoffzufuhr (0,05 mM KNO₃) gegeben. Insgesamt wurden ungefähr 15–30 Samen horizontal auf jeder Platte (12 × 12 cm) verteilt.

[0831] Nach der Aussaat der Samen wurden die Platten 2–4 Tage lang im Dunkeln bei 4°C einer Stratifizierung unterzogen. Nach der Stratifizierung wurden die Testpflanzen 22 bis 25 Tage lang bei einem 16-h-Licht und 8-h-Dunkelrhythmus bei 20°C, einer Luftfeuchtigkeit von 60% und einer CO₂-Konzentration von ungefähr 400 S.m kultiviert. Die verwendeten Lichtquellen erzeugen ein Licht, das dem Farbspektrum der Sonne ähnelt, mit einer Lichtintensität von ungefähr 100 µE/m²s. Nach 10 bis 11 Tagen werden die Pflanzen vereinzelt. Ein verbessertes Wachstum unter Stickstoffmangelbedingungen wurde nach 20–25 Tagen Wachstum anhand der Biomasseproduktion von Sprossen und Wurzeln der transgenen Pflanzen im Vergleich zu Wildtyp-Kontrollpflanzen bewertet.

[0832] Transgene Linien, die im Vergleich zu Wildtyp-Pflanzen eine signifikant verbesserte Biomasseproduktion zeigen, wurden auf der nächsten Ebene dem folgenden Versuch unterzogen:

Arabidopsis-thaliana-Samen wurden in Töpfe ausgesät, die ein 1:1 (v:v) Gemisch aus nährstoffarmer Erde ("Einheitserde Typ 0", 30% Lehm, Tantau, Wansdorf Deutschland) und Sand enthalten. Die Keimung wurde durch eine 4-tägige Dunkelperiode bei 4°C induziert. Anschließend wurden die Pflanzen unter Standardwachstumsbedingungen (Photoperiode mit 16 h Licht und 8 h Dunkelheit, 20°C, 60% relative Feuchtigkeit, und eine Photonenflussdichte von 200 µE/m²s) herangezogen. Die Pflanzen wurden herangezogen und kultiviert, unter anderem wurden sie jeden zweiten Tag mit einer N-armen Nährstofflösung gegossen. Die N-arme Nährstofflösung enthält z. B. neben Wasser

Mineralnährstoff	Endkonzentration
KCl	3,00 mM
MgSO ₄ × 7 H ₂ O	0,5 mM
CaCl ₂ × 6 H ₂ O	1,5 mM
K ₂ SO ₄	1,5 mM
NaH ₂ PO ₄	1,5 mM
Fe-EDTA	40 µM
H ₃ BO ₃	25 µM
MnSO ₄ × H ₂ O	1 µM
ZnSO ₄ × 7H ₂ O	0,5 µM
Cu ₂ SO ₄ × 5H ₂ O	0,3 µM
Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O	0,05 µM

[0833] Nach 9 bis 10 Tagen werden die Pflanzen vereinzelt. Nach einer Gesamtzeit von 29 bis 31 Tagen wurden die Pflanzen geerntet und anhand des Frischgewichts der oberirdischen Teile der Pflanzen eingestuft. Die Ergebnisse werden in Tabelle IX zusammengefasst. Die Zunahme an Biomasse wurde als Verhältnis des Frischgewichts der oberirdischen Teile der betreffenden transgenen Pflanze und der nicht transgenen Wildtyp-Pflanze gemessen.

Tabelle IX: Biomasseproduktion von transgenen Arabidopsis thaliana, die unter begrenzter Stickstoffzufuhr (erhöhte NUE) kultiviert werden:

SeqID	Ziel	Locus	Biomasseerhöhung
42	cytoplasmatisch	YMR052W	1,24
7137	cytoplasmatisch	YBR159W	1,38
8227	cytoplasmatisch	YLR395C	1,56

Prozedur 2:

[0834] Prozedur 2 wurde wie Prozedur 1 durchgeführt, wobei jedoch das Screening auf Agarplatten entfällt und ein Ein-Ebenen-Screening auf Erde durchgeführt wird. Pro transgenen Konstrukt wurden 4 unabhängige transgene Linien (=Ereignisse) getestet (16 Pflanzen pro Konstrukt). Die Ergebnisse werden in Tabelle X zusammengefasst.

Tabelle X: Biomasseproduktion von transgenen *Arabidopsis thaliana*, die unter begrenzter Stickstoffzufuhr (erhöhte NUE) kultiviert werden. Die Zunahme an Biomasse wurde als Verhältnis des Frischgewichts der oberirdischen Teile der betreffenden transgenen Pflanzen und der nicht transgenen Wildtyp-Pflanzen gemessen.

SeqID	Locus	Ziel	Min und Max Gewichtsverhältnis
8239	YPL249C-A	cytoplasmatisch	1,223

Beispiel 16

Screening von Pflanzen auf Ertragserhöhung unter standardisierten Wachstumsbedingungen

[0835] In diesem Versuch wurde ein Screening von Pflanzen auf Ertragserhöhung (in diesem Fall: Biomassenertragserhöhung) unter standardisierten Wachstumsbedingungen in Abwesenheit von erheblichem abiotischem Stress durchgeführt. In einem Standardversuch wird die Erde als 3,5:1(v/v)-Gemisch aus nährstoffangereicherter Erde (GS90, Tantau, Wansdorf, Deutschland) und Quarzsand präpariert. Alternativ wurden die Pflanzen auf nährstoffangereicherter Erde (GS90, Tantau, Deutschland) ausgesät. Die Töpfe wurden mit dem Erdgemisch gefüllt und in Schalen angeordnet.

[0836] Den Schalen wurde Wasser zugegeben, damit das Erdgemisch eine angemessene Menge an Wasser für die Aussaatprozedur aufnehmen kann. Die Samen für transgene *A. thaliana*-Pflanzen und deren nicht transgenen Wildtyp-Kontrollen wurden in Töpfe (6 cm Durchmesser) ausgesät. Dann wurden die gefüllten Schalen mit einem transparenten Deckel bedeckt und in eine vorgekühlte (4°C bis 5°C) und abgedunkelte Wachstumskammer überführt. Die Stratifikation erfolgte für einen Zeitraum von 3 bis 4 Tagen im Dunkeln bei 4°C bis 5°C. Die Keimung der Samen und das Wachstum wurden bei einer Wachstumsbedingung von 20°C, 60% relativer Feuchtigkeit, 16 Std. Photoperiode und Beleuchtung bei ungefähr 200 µmol/m²s initiiert. Die Deckel wurden 7 bis 8 Tage nach dem Säen entfernt. Die BASTA-Selektion wurde an Tag 10 oder Tag 11 (9 oder 10 Tage nach dem Säen) durch Besprühen der Töpfe mit Pflänzchen von oben vorgenommen. In dem Standardversuch wurde eine 0,07%(v/v)-Lösung aus BASTA-Konzentrat (183 g/l Glufosinamatmonium) in Leitungswasser einmal oder alternativ eine 0,02%(v/v)-BASTA-Lösung drei Mal versprüht. Die Wildtyp-Kontrollpflanzen wurden nur mit Leitungswasser besprüht (anstelle des Besprühens mit in Leitungswasser gelöstem BASTA), wurden ansonsten jedoch gleich behandelt. Die Pflanzen wurden 13 bis 15 Tage nach der Aussaat vereinzelt, indem der Setzlingsüberschuss entfernt wurde und nur ein Setzling in der Erde gelassen wurde.

[0837] Das Bewässern wurde nach dem Entfernen der Deckel in einem Standardversuch jeden zweiten Tag oder alternativ jeden Tag durchgeführt. Zum Messen der Biomasseleistung wurde das Pflanzenfrischgewicht zum Zeitpunkt der Ernte (24 bis 29 Tage nach der Aussaat; 20 bis 26 Tage nach der Stratifikation) durch Abschneiden von Sprossen und Wiegen derselben bestimmt. Üblicherweise befanden sich die Pflanzen bei der Ernte im Stadium vor der Blütenbildung und vor dem Wachstum des Blütenstands. Die transgenen Pflanzen wurden mit den nicht transgenen Wildtyp-Kontrollpflanzen gleichen Alters verglichen, die in der gleichen Kulturanlage kultiviert und am gleichen Tag geerntet wurden.

[0838] Tabelle XI: Biomasseproduktion transgener *A. thaliana*, die unter standardisierten Wachstumsbedingungen kultiviert wurden.

[0839] Die Biomasseproduktion wurde durch Wiegen der Pflanzenrosetten gemessen. Die Erhöhung der Biomasse wurde als Verhältnis des Durchschnittsgewichts transgener Pflanzen im Vergleich mit dem Durchschnittsgewicht von Wildtyp-Kontrollpflanzen aus dem gleichen Versuch berechnet. Alternativ wurde die Biomasseerhöhung als Verhältnis des Durchschnittsgewichts transgener Pflanzen im Vergleich mit dem Durchschnittsgewicht von Wildtyp-Kontrollpflanzen berechnet.

[0840] Transgene Pflanzen, die die angegebenen SeqIDs enthalten, zeigten eine Biomasseerhöhung von 10% oder mehr im Vergleich mit Kontrollpflanzen mit einem p-Wert eines zweiseitigen T-Test unter 0,1.

SeqID	Locus	Ziel	Min und Max Gewichtsverhältnis
7208	YDR046C	cytoplasmatisch	1,522
7208	YDR046C	plastidisch	1,232
8239	YPL249C-A	cytoplasmatisch	1,546
8397	YPR185W	cytoplasmatisch	1,399
8423	YDR046C_2	cytoplasmatisch	1,522
8423	YDR046C_2	cytoplasmatisch	1,232

Beispiel 17

Screening von Pflanzen auf Wachstum unter zyklischen Dürrebedingungen

[0841] In dem zyklischen Dürreassay werden Pflanzen einem wiederholter Stress ausgesetzt, der nicht zur Austrocknung führt. In einem Standardversuch wird Erde als 1:1(v/v)-Gemisch aus nährstoffangereicherter Erde (GS90, Tantau, Wansdorf, Deutschland) und Quarzsand präpariert. Töpfe (6 cm Durchmesser) wurden mit diesem Gemisch gefüllt und in Schalen angeordnet. Den Schalen wurde Wasser zugegeben, damit das Erdgemisch eine angemessene Menge an Wasser für die Aussaat-Prozedur (Tag 1) aufnimmt, und anschließend wurden Samen von transgenen *A. thaliana*-Pflanzen und deren Wildtyp-Kontrollen in Töpfe gesät. Dann wurden die gefüllten Schalen mit einem transparenten Deckel bedeckt und in eine vorgekühlte (4°C bis 5°C) und abgedunkelte Wachstumskammer überführt. Die Stratifikation erfolgte für einen Zeitraum von 3 Tagen im Dunkeln bei 4°C bis 5°C oder alternativ für 4 Tage im Dunkeln bei 4°C. Die Keimung der Samen und das Wachstum wurden bei einer Wachstumsbedingung von 20°C, 60% relativer Feuchtigkeit, 16 Std. Photoperiode und Beleuchtung mit Fluoreszenzlicht bei ungefähr 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ initiiert. Die Deckel wurden 7 bis 8 Tage nach dem Säen entfernt. Die BASTA-Selektion wurde an Tag 10 oder Tag 11 (9 oder 10 Tage nach der Aussaat) durch Besprühen der Töpfe mit Pflänzchen von oben vorgenommen. In dem Standardversuch wurde eine 0,07%(v/v)-Lösung aus BASTA-Konzentrat (183 g/l Glufosinatammonium) in Leitungswasser einmal oder alternativ eine 0,02%(v/v)-BASTA-Lösung drei Mal versprüht. Die Wildtyp-Kontrollpflanzen wurden nur mit Leitungswasser besprüht (anstelle des Besprühens mit in Leitungswasser gelöstem BASTA), wurden ansonsten jedoch gleich behandelt. Die Pflanzen wurden 13 bis 14 Tage nach der Aussaat vereinzelt, indem der Setzlingsüberschuss entfernt wurde und nur ein Setzling in der Erde gelassen wurde. Transgene Ereignisse und Wildtyp-Kontrollpflanzen wurden gleichmäßig in der Kammer verteilt.

[0842] Während des gesamten Versuchs war die Wasserzufuhr begrenzt und die Pflanzen wurden Zyklen von Dürre und erneuter Bewässerung unterzogen. Die Bewässerung wurde an Tag 1 (vor der Aussaat), Tag 14 oder Tag 15, Tag 21 oder Tag 22, und schließlich an Tag 27 oder Tag 28 durchgeführt. Zum Messen der Biomasseproduktion wurde das Pflanzenfrischgewicht einen Tag nach der letzten Bewässerung (Tag 28 oder Tag 29) durch Abschneiden von Sprossen und Wiegen derselben bestimmt. Die Pflanzen befanden sich bei der Ernte im Stadium vor der Blütenbildung und vor dem Wachstum des Blütenstands. Signifikanzwerte für die statistische Signifikanz der Biomasseveränderungen wurden durch Anwendung des t-Tests nach Student (Parameter: zweiseitige, verschiedene Varianz) berechnet.

[0843] Bis zu fünf Linien (Ereignisse) pro transgenem Konstrukt wurden in aufeinander folgenden Versuchsebenen getestet. Transgene Linien, die eine erhöhte Biomasseproduktion, verglichen mit Wildtyp-Pflanzen zeigten, wurden der nächsten Versuchsebene unterzogen. Üblicherweise wurden in der ersten Ebene fünf Pflanzen pro Konstrukt getestet und in den nachfolgenden Ebenen wurden 14 bis 40 Pflanzen getestet. Die Biomasseleistung wurde wie oben beschrieben bewertet. Die Daten aus Ebene 3 werden in Tabelle XII gezeigt.

Tabelle XII: Biomasseproduktion transgener *A. thaliana*, die unter Wachstumsbedingungen zyklischer Dürre entwickelt wurden.

SeqID	Locus	Ziel	Min und Max Gewichtsverhältnis
7208	YDR046C	plastidisch	1,351
8423	YDR046C_2	plastidisch	1,351

[0844] Die Biomasseproduktion wurde durch Wiegen der Pflanzenrosetten gemessen. Die Erhöhung der Biomasse wurde als Verhältnis des Durchschnittsgewichts für transgene Pflanzen im Vergleich mit dem Durchschnittsgewicht von Wildtyp-Kontrollpflanzen aus dem gleichen Versuch berechnet. Die mittlere Biomasseerhöhung transgener Konstrukte ist angegeben (Signifikanzwert < 0,05).

Beispiel 18

Screening von Pflanzen auf Wachstum unter Niedertemperaturbedingungen

[0845] In einem Standardversuch wurde Erde als 3,5:1(v/v)-Gemisch aus nährstoffangereicherter Erde (GS 90, Tantau, Wansdorf, Deutschland) und Sand präpariert. Die Töpfe wurden mit dem Erdgemisch gefüllt und in Schalen angeordnet. Den Schalen wurde Wasser zugegeben, damit das Erdgemisch eine angemessene Menge an Wasser für die Aussaatprozedur aufnehmen kann. Die Samen für transgene *A. thaliana*-Pflanzen wurden in Töpfe (6 cm Durchmesser) ausgesät. Die Stratifikation erfolgte für einen Zeitraum von 3 Tagen im Dunkeln bei 4°C bis 5°C. Die Keimung der Samen und das Wachstum wurden bei einer Wachstumsbedingung von 20°C, ungefähr 60% relativer Feuchtigkeit, 16 Std. Photoperiode und Beleuchtung mit Fluoreszenzlicht bei 150–200 µmol/m²s initiiert. Die BASTA-Selektion wurde an Tag 9 nach der Aussaat durch Besprühen der Töpfe mit Jungpflanzen von oben vorgenommen. Hierfür wurde eine 0,07%(v/v)-Lösung aus BASTA-Konzentrat (183 g/l Glufosinatammonium) in Leitungswasser versprüht. Die Wildtyp-Kontrollpflanzen wurden nur mit Leitungswasser besprüht (anstelle des Besprühens mit in Leitungswasser gelöstem BASTA), wurden ansonsten jedoch gleich behandelt. Das Bewässern erfolgte alle zwei Tage, nachdem die Hauben von den Schalen entfernt worden waren. Die Pflanzen wurden 12–13 Tage nach der Aussaat vereinzelt, indem der Setzlingsüberschuss entfernt wurde und nur ein Setzling in einem Topf gelassen wurde. Kälte (Abkühlen auf 11°C bis 12°C) wurde 14 bis 16 Tage nach der Aussaat bis zum Ende des Versuchs angewendet. Zum Messen der Biomasseleistung wurde das Pflanzenfrischgewicht zum Zeitpunkt der Ernte (35 bis 37 Tage nach der Aussaat) durch Abschneiden von Sprossen und Wiegen derselben bestimmt. Die Pflanzen befanden sich bei der Ernte im Stadium vor der Blütenbildung und vor dem Wachstum des Blütenstands. Die transgenen Pflanzen wurden mit den nicht transgenen Wildtyp-Kontrollpflanzen verglichen, die am gleichen Tag geerntet wurden. Signifikanzwerte für die statistische Signifikanz der Biomasseveränderungen wurden durch Anwendung des t-Tests nach Student (Parameter: zweiseitige, verschiedene Varianz) berechnet.

[0846] Bis zu fünf Linien pro transgenem Konstrukt wurden in 2 bis 3 aufeinanderfolgenden Versuchsebenen getestet. Nur Konstrukte, die eine positive Leistung zeigten, wurden der nächsten Versuchsebene unterzogen. In der letzten Versuchsebene wurden 20 bis 28 Pflanzen getestet. Die Biomasseleistung wurde wie oben beschrieben bewertet. Die Daten werden für Konstrukte angegeben, die eine erhöhte Biomasseleistung in mindestens zwei aufeinanderfolgenden Versuchsebenen aufwiesen.

[0847] Tabelle XIII: Biomasseproduktion transgener *A. thaliana* nach Herbeiführung von Abkühlungsstress.

[0848] Die Biomasseproduktion wurde durch Wiegen der Pflanzenrosetten gemessen. Die Erhöhung der Biomasse wurde als Verhältnis des Durchschnittsgewichts transgener Pflanzen im Vergleich mit dem Durchschnittsgewicht von Wildtyp-Kontrollpflanzen aus den gleichen Versuch berechnet. Die mittlere Biomasseerhöhung transgener Konstrukte ist angegeben (Signifikanzwert < 0,3 und Biomasseerhöhung > 5% (Verhältnis > 1,05)).

SeqID	Locus	Ziel	Min und Max Gewichtsverhältnis
2492	At5g16650	cytoplasmatisch	1,075
7137	Ybr159w	cytoplasmatisch	1,068

7208	YDR046C	cytoplasmatisch	1,206
8239	YPL249C-A	cytoplasmatisch	1,230
8423	YDR046C_2	cytoplasmatisch	1,206

Figuren

[0849] [Fig. 1](#) Vektor VC-MME220-1qcz (SEQ ID NO: 35), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die nicht zielgerichtete Expression verwendet wird.

[0850] [Fig. 2](#) Vektor VC-MME221-1qcz (SEQ ID NO: 38), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die nicht zielgerichtete Expression verwendet wird.

[0851] [Fig. 3](#) Vektor VC-MME354-1QCZ (SEQ ID NO: 31), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die plastidisch zielgesteuerte Expression verwendet wird.

[0852] [Fig. 4](#) Vektor VC-MME432-1qcz (SEQ ID NO: 36), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die plastidisch zielgesteuerte Expression verwendet wird.

[0853] [Fig. 5](#) Vektor pMTX155 (SEQ ID NO: 30), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die nicht zielgerichtete Expression verwendet wird.

[0854] [Fig. 6](#) Vektor pMTX447korr (SEQ ID NO: 39), der für die plastidische zielgesteuerte Expression verwendet wird.

[0855] [Fig. 7](#) Vektor VC-MME489-1QCZ (SEQ ID NO: 41), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die nicht zielgerichtete Expression und die Klonierung einer Targeting-Sequenz verwendet wird.

1.		2.		3.		4.		5.		6.		7.	
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe						
							1238, 1240, 1242, 1244, 1246, 1248, 1250, 1252, 1254, 1256, 1258, 1260, 1262, 1264, 1266, 1268, 1270, 1272, 1274, 1276, 1278, 1280, 1282, 1284, 1286, 1288, 1290, 1292, 1294, 1296, 1298, 1300, 1302, 1304, 1306, 1308, 1310, 1312, 1314, 1316, 1318, 1320, 1322, 1324, 1326, 1328, 1330, 1332, 1334, 1336, 1338, 1340, 1342, 1344, 1346, 1348, 1350, 1352, 1354, 1356, 1358, 1360, 1362, 1364, 1366, 1368, 1370, 1372, 1374, 1376, 1378						
1	6	GABA	AT3G11650	A. th.	1510	cytoplasmatisch	1512, 1514, 1516, 1518, 1520, 1522, 1524, 1526, 1528, 1530, 1532, 1534, 1536, 1538, 1540, 1542, 1544, 1546, 1548						
1	7	GABA	AT3G27540	A. th.	1598	cytoplasmatisch	1600, 1602, 1604, 1606, 1608, 1610, 1612, 1614, 1616, 1618, 1620, 1622, 1624, 1626, 1628, 1630, 1632, 1634, 1636, 1638, 1640, 1642, 1644						
							1672, 1674, 1676, 1678, 1680, 1682, 1684, 1686, 1688, 1690, 1692, 1694, 1696, 1698, 1700, 1702, 1704, 1706, 1708, 1710, 1712, 1714, 1716, 1718, 1720, 1722, 1724, 1726, 1728, 1730, 1732, 1734, 1736, 1738, 1740, 1742, 1744, 1746, 1748, 1750, 1752, 1754, 1756, 1758, 1760, 1762, 1764, 1766, 1768, 1770, 1772, 1774, 1776, 1778, 1780, 1782, 1784, 1786, 1788, 1790, 1792, 1794, 1796, 1798, 1800, 1802, 1804, 1806, 1808, 1810, 1812, 1814, 1816, 1818, 1820, 1822, 1824, 1826, 1828, 1830, 1832, 1834, 1836, 1838, 1840, 1842						
1	8	GABA	AT3G61830	A. th.	1670	cytoplasmatisch							
1	9	GABA	AT4G32480	A. th.	1874	cytoplasmatisch	1876, 1878, 1880, 1882, 1884, 1886, 1888, 1890, 1892, 1894, 1896, 1898, 1900, 1902, 1904, 1906, 1908						
1	10	GABA	AT4G35310	A. th.	1936	cytoplasmatisch	1938, 1940, 1942, 1944, 1946, 1948, 1950, 1952, 1954, 1956, 1958, 1960, 1962, 1964, 1966, 1968, 1970, 1972, 1974, 1976,						

		7.				
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel
						SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
						1978, 1980, 1982, 1984, 1986, 1988, 1990, 1992, 1994, 1996, 1998, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010, 2012, 2014, 2016, 2018, 2020, 2022, 2024, 2026, 2028, 2030, 2032, 2034, 2036, 2038, 2040, 2042, 2044, 2046, 2048, 2050, 2052, 2054, 2056, 2058, 2060, 2062, 2064, 2066, 2068, 2070, 2072, 2074, 2076, 2078, 2080, 2082, 2084, 2086, 2088, 2090, 2092, 2094, 2096, 2098, 2100, 2102, 2104, 2106, 2108, 2110, 2112, 2114, 2116, 2118, 2120, 2122, 2124, 2126, 2128, 2130, 2132, 2134, 2136, 2138, 2140, 2142, 2144, 2146, 2148, 2150, 2152, 2154, 2156, 2158, 2160, 2162, 2164, 2166, 2168, 2170, 2172, 2174, 2176, 2178, 2180, 2182, 2184, 2186, 2188, 2190, 2192, 2194, 2196, 2198, 2200, 2202, 2204, 2206, 2208, 2210, 2212, 2214, 2216, 2218, 2220, 2222, 2224, 2226, 2228, 2230, 2232, 2234, 2236, 2238, 2240, 2242, 2244, 2246, 2248, 2250, 2252, 2254, 2256, 2258, 2260, 2262, 2264, 2266, 2268, 2270, 2272, 2274, 2276, 2278, 2280, 2282, 2284, 2286, 2288, 2290, 2292, 2294, 2296, 2298, 2300, 2302, 2304, 2306, 2308, 2310, 2312, 2314, 2316, 2318, 2320, 2322, 2324, 2326, 2328, 2330, 2332, 2334, 2336, 2338, 2340
1	11	GABA	AT5G16650	A th.	2492	cytoplasmatisch
1	12	GABA	AVINDRAF_T_2344	A. vinelandii	2553	cytoplasmatisch

Anwendung	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
							2655, 2657, 2659, 2661, 2663, 2665, 2667, 2669, 2671, 2673, 2675, 2677, 2679, 2681, 2683, 2685, 2687, 2689, 2691, 2693, 2695, 2697, 2699, 2701, 2703, 2705, 2707, 2709, 2711, 2713, 2715, 2717, 2719, 2721, 2723, 2725, 2727, 2729, 2731, 2733, 2735, 2737, 2739, 2741, 2743, 2745, 2747, 2749, 2751, 2753, 2755, 2757, 2759, 2761, 2763, 2765, 2767, 2769, 2771, 2773, 2775, 2777, 2779, 2781, 2783, 2785, 2787, 2789, 2791, 2793, 2795, 2797, 2799, 2801, 2803, 2805, 2807, 2809, 2811, 2813, 2815, 2817, 2819, 2821, 2823, 2825, 2827, 2829, 2831, 2833, 2835, 2837, 2839, 2841, 2843, 2845, 2847, 2849, 2851, 2853, 2855, 2857, 2859, 2861, 2863, 2865, 2867, 2869, 2871, 2873, 2875, 2877, 2879, 2881, 2883, 2885, 2887, 2889, 2891, 2893, 2895, 2897, 2899, 2901, 2903, 2905, 2907, 2909, 2911, 2913, 2915, 2917, 2919, 2921, 2923, 2925, 2927, 2929, 2931, 2933, 2935, 2937, 2939, 2941, 2943, 2945, 2947, 2949, 2951, 2953, 2955, 2957, 2959, 2961, 2963, 2965, 2967, 2969, 2971, 2973, 2975, 2977, 2979, 2981, 2983, 2985, 2987, 2989, 2991, 2993, 2995, 2997, 2999, 3001, 3003, 3005, 3007, 3009, 3011, 3013, 3015, 3017, 3019, 3021, 3023, 3025, 3027, 3029, 3031, 3033, 3035, 3037, 3039, 3041, 3043, 3045, 3047, 3049, 3051, 3053, 3055, 3057, 3059, 3061, 3063, 3065, 3067, 3069, 3071, 3073, 3075, 3077, 3079, 3081, 3083, 3085, 3087, 3089, 3091, 3093, 3095, 3097, 3099, 3101, 3103, 3105, 3107, 3109, 3111, 3113, 3115, 3117, 3119, 3121, 3123, 3125, 3127, 3129, 3131, 3133, 3135, 3137, 3139, 3141, 3143, 3145, 3147, 3149, 3151, 3153, 3155, 3157, 3159, 3161, 3163, 3165, 3167, 3169, 3171, 3173,

		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe	
							3175, 3177, 3179, 3181, 3183, 3185, 3187, 3189, 3191, 3193, 3195, 3197, 3199, 3201, 3203, 3205, 3207, 3209, 3211, 3213, 3215, 3217, 3219, 3221, 3223, 3225, 3227, 3229, 3231, 3233, 3235, 3237, 3239, 3241, 3243, 3245, 3247, 3249, 3251, 3253, 3255, 3257, 3259, 3261, 3263, 3265, 3267, 3269, 3271, 3273, 3275, 3277, 3279, 3281, 3283, 3285, 3287, 3289, 3291, 3293, 3295	
1	13	GABA	AVINDRAF T_2521	A.vinel andii	3408	cytoplasmatisch	3410, 3412, 3414, 3416, 3418, 3420, 3422, 3424, 3426, 3428, 3430, 3432, 3434, 3436, 3438, 3440, 3442, 3444, 3446, 3448, 3450, 3452, 3454, 3456, 3458, 3460, 3462, 3464, 3466, 3468, 3470, 3472, 3474, 3476, 3478, 3480, 3482, 3484, 3486, 3488, 3490, 3492, 3494, 3496, 3498, 3500, 3502, 3504, 3506, 3508, 3510, 3512, 3514, 3516, 3518, 3520, 3522, 3524, 3526, 3528, 3530, 3532, 3534, 3536, 3538, 3540, 3542, 3544, 3546, 3548, 3550, 3552, 3554, 3556, 3558	
1	14	GABA	AVINDRAF T_5103	A.vinel andii	3564	cytoplasmatisch	3566, 3568, 3570, 3572, 3574, 3576, 3578, 3580, 3582, 3584, 3586, 3588, 3590, 3592, 3594, 3596, 3598, 3600, 3602, 3604, 3606, 3608, 3610, 3612, 3614, 3616, 3618, 3620, 3622, 3624, 3626, 3628, 3630, 3632, 3634, 3636, 3638, 3640, 3642, 3644, 3646, 3648, 3650, 3652, 3654, 3656, 3658, 3660, 3662, 3664, 3666, 3668, 3670, 3672, 3674, 3676, 3678, 3680, 3682, 3684, 3686, 3688, 3690, 3692, 3694, 3696, 3698, 3700, 3702, 3704, 3706, 3708, 3710, 3712, 3714, 3716, 3718, 3720, 3722	
1	15	GABA	AVINDRAF T_5292	A.vinel andii	3728	cytoplasmatisch	3730, 3732, 3734, 3736, 3738, 3740, 3742, 3744, 3746, 3748, 3750, 3752, 3754, 3756, 3758, 3760, 3762, 3764, 3766, 3768, 3770, 3772, 3774, 3776, 3778, 3780, 3782, 3784, 3786, 3788,	

		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe	
							3790, 3792, 3794, 3796, 3798, 3800, 3802, 3804, 3806, 3808, 3810, 3812, 3814, 3816, 3818, 3820, 3822, 3824, 3826, 3828, 3830, 3832, 3834, 3836, 3838, 3840, 3842, 3844, 3846, 3848, 3850, 3852, 3854, 3856, 3858, 3860, 3862, 3864, 3866, 3868, 3870, 3872, 3874, 3876, 3878, 3880, 3882, 3884, 3886, 3888, 3890, 3892, 3894, 3896, 3898, 3900, 3902, 3904, 3906, 3908, 3910, 3912, 3914, 3916, 3918, 3920, 3922, 3924, 3926, 3928, 3930, 3932, 3934, 3936, 3938, 3940, 3942, 3944, 3946, 3948, 3950, 3952, 3954, 3956, 3958, 3960, 3962, 3964, 3966, 3968, 3970, 3972, 3974, 3976, 3978, 3980, 3982, 3984, 3986, 3988, 3990, 3992, 3994, 3996, 3998, 4000, 4002, 4004, 4006, 4008, 4010, 4012, 4014, 4016, 4018, 4020, 4022, 4024, 4026, 4028, 4030, 4032, 4034, 4036, 4038, 4040	
1	16	GABA	B0124	E. coli	4068	cytoplasmatisch	4070, 4072, 4074, 4076, 4078, 4080, 4082, 4084, 4086, 4088, 4090, 4092, 4094, 4096, 4098, 4100, 4102, 4104, 4106, 4108, 4110, 4112, 4114, 4116, 4118, 4120, 4122, 4124, 4126, 4128, 4130, 4132, 4134, 4136, 4138, 4140, 4142, 4144, 4146, 4148, 4150, 4152, 4154, 4156, 4158	
1	17	GABA	B0161	E. coli	4176	cytoplasmatisch	4178, 4180, 4182, 4184, 4186, 4188, 4190, 4192, 4194, 4196, 4198, 4200, 4202, 4204, 4206, 4208, 4210, 4212, 4214, 4216, 4218, 4220, 4222, 4224, 4226, 4228, 4230, 4232, 4234, 4236, 4238, 4240, 4242, 4244, 4246, 4248, 4250, 4252, 4254, 4256, 4258, 4260, 4262, 4264, 4266, 4268, 4270, 4272, 4274, 4276, 4278, 4280, 4282, 4284, 4286, 4288, 4290, 4292, 4294, 4296, 4298, 4300, 4302, 4304, 4306, 4308, 4310, 4312, 4314, 4316, 4318, 4320, 4322, 4324, 4326, 4328, 4330, 4332, 4334, 4336,	

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
							4338, 4340, 4342, 4344, 4346, 4348, 4350, 4352, 4354 4366, 4368, 4370, 4372, 4374, 4376, 4378, 4380, 4382, 4384, 4386, 4388, 4390, 4392, 4394, 4396, 4398, 4400, 4402, 4404, 4406, 4408, 4410, 4412, 4414, 4416, 4418, 4420, 4422, 4424, 4426, 4428, 4430, 4432, 4434, 4436, 4438, 4440, 4442, 4444, 4446, 4448, 4450, 4452, 4454, 4456, 4458, 4460, 4462, 4464, 4466, 4468, 4470, 4472, 4474, 4476, 4478, 4480, 4482, 4484, 4486, 4488, 4490, 4492, 4494, 4496, 4498, 4500, 4502, 4504, 4506, 4508, 4510, 4512, 4514, 4516, 4518, 4520, 4522, 4524, 4526, 4528, 4530, 4532, 4534, 4536, 4538, 4540, 4542, 4544, 4546, 4548, 4550, 4552, 4554, 4556, 4558, 4560, 4562, 4564, 4566, 4568, 4570, 4572, 4574, 4576, 4578, 4580, 4582, 4584, 4586, 4588, 4590, 4592, 4594, 4596, 4598, 4600, 4602, 4604, 4606, 4608, 4610, 4612, 4614, 4616, 4618, 4620, 4622, 4624, 4626, 4628, 4630, 4632, 4634, 4636, 4638, 4640, 4642, 4644, 4646, 4648, 4650, 4652, 4654, 4656, 4658, 4660, 4662, 4664, 4666, 4668, 4670, 4672, 4674, 4676, 4678, 4680, 4682, 4684, 4686, 4688, 4690, 4692, 4694
1	18	GABA	B0449	E. coli	4364	cytoplasmatisch	
							4719, 4721, 4723, 4725, 4727, 4729, 4731, 4733, 4735, 4737, 4739, 4741, 4743, 4745, 4747, 4749, 4751, 4753, 4755, 4757, 4759, 4761, 4763, 4765, 4767, 4769, 4771, 4773, 4775, 4777, 4779, 4781, 4783, 4785, 4787, 4789, 4791, 4793, 4795, 4797, 4799, 4801, 4803, 4805, 4807, 4809, 4811, 4813, 4815, 4817, 4819, 4821, 4823, 4825, 4827, 4829, 4831, 4833, 4835, 4837, 4839, 4841, 4843, 4845, 4847, 4849, 4851, 4853
1	19	GABA	B0593	E. coli	4717	plastidisch	
							4866, 4868, 4870, 4872, 4874, 4876, 4878, 4880, 4882, 4884,
1	20	GABA	B0898	E. coli	4864	cytoplasmatisch	

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
1	21	GABA	B1003	E coli	4903	cytoplasmatisch	4886, 4888, 4890 4905
1	22	GABA	B1522	E. coli	4909	cytoplasmatisch	4911, 4913, 4915, 4917, 4919, 4921, 4923, 4925, 4927, 4929, 4931, 4933, 4935, 4937, 4939, 4941, 4943, 4945, 4947
1	23	GABA	B2739	E. coli	4954	cytoplasmatisch	4956, 4958, 4960, 4962, 4964, 4966, 4968, 4970, 4972, 4974, 4976, 4978, 4980, 4982, 4984, 4986, 4988, 4990, 4992, 4994, 4996, 4998, 5000, 5002, 5004, 5006, 5008, 5010, 5012, 5014, 5016, 5018, 5020, 5022, 5024, 5026, 5028, 5030, 5032, 5034, 5036, 5038, 5040, 5042, 5044, 5046, 5048, 5050, 5052, 5054, 5056, 5058, 5060, 5062, 5064, 5066, 5068, 5070, 5072, 5074, 5076, 5078, 5080, 5082, 5084, 5086, 5088, 5090, 5092, 5094, 5096, 5098, 5100, 5102, 5104, 5106, 5108, 5110, 5112, 5114
1	24	GABA	B3646	E. coli	5121	cytoplasmatisch	5123, 5125, 5127, 5129, 5131, 5133, 5135, 5137, 5139, 5141, 5143, 5145, 5147, 5149, 5151, 5153, 5155, 5157, 5159, 5161, 5163, 5165, 5167, 5169, 5171, 5173, 5175, 5177, 5179, 5181, 5183, 5185, 5187, 5189, 5191, 5193, 5195, 5197, 5199, 5201, 5203, 5205, 5207, 5209, 5211, 5213, 5215, 5217, 5219, 5221, 5223, 5225, 5227, 5229, 5231, 5233, 5235, 5237, 5239, 5241, 5243, 5245, 5247, 5249, 5251, 5253, 5255, 5257, 5259, 5261, 5263, 5265, 5267, 5269, 5271, 5273, 5275, 5277, 5279, 5281, 5283, 5285, 5287, 5289, 5291, 5293, 5295, 5297, 5299, 5301, 5303, 5305, 5307, 5309, 5311
1	25	GABA	B4029	E. coli	5319	cytoplasmatisch	5321, 5323, 5325, 5327, 5329, 5331, 5333, 5335, 5337, 5339, 5341, 5343, 5345, 5347, 5349, 5351, 5353, 5355, 5357, 5359, 5361, 5363, 5365, 5367, 5369, 5371
1	26	GABA	B4256	E. coli	5387	cytoplasmatisch	5389, 5391, 5393, 5395, 5397, 5399, 5401, 5403, 5405, 5407,

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
							5409, 5411, 5413, 5415, 5417, 5419, 5421, 5423, 5425, 5427, 5429, 5431, 5433, 5435, 5437, 5439, 5441, 5443, 5445, 5447, 5449, 5451
1	27	GABA	C_PP0340 08079R	P. patens	5458	cytoplasmatisch	5460, 5462, 5464, 5466, 5468, 5470, 5472, 5474, 5476, 5478, 5480, 5482, 5484, 5486, 5488, 5490, 5492, 5494, 5496, 5498, 5500, 5502, 5504, 5506, 5508, 5510, 5512, 5514, 5516, 5518, 5520, 5522, 5524, 5526, 5528, 5530, 5532, 5534, 5536, 5538, 5540, 5542, 5544, 5546, 5548, 5550, 5552, 5554, 5556, 5558, 5560, 5562, 5564, 5566, 5568, 5570, 5572, 5574, 5576, 5578, 5580, 5582, 5584, 5586, 5588, 5590, 5592, 5594, 5596, 5598, 5600, 5602, 5604, 5606, 5608, 5610, 5612, 5614, 5616, 5618, 5620, 5622, 5624, 5626, 5628, 5630, 5632, 5634, 5636, 5638, 5640, 5642, 5644, 5646, 5648, 5650, 5652, 5654, 5656, 5658, 5660, 5662, 5664, 5666, 5668, 5670, 5672, 5674, 5676, 5678, 5680, 5682, 5684, 5686, 5688, 5690, 5692, 5694, 5696, 5698, 5700, 5702, 5704, 5706, 5708, 5710, 5712, 5714, 5716, 5718, 5720, 5722, 5724, 5726, 5728, 5730, 5732, 5734, 5736, 5738, 5740, 5742, 5744, 5746, 5748, 5750, 5752, 5754, 5756, 5758, 5760, 5762, 5764, 5766, 5768, 5770, 5772, 5774, 5776, 5778, 5780, 5782, 5784, 5786, 5788, 5790, 5792, 5794, 5796, 5798, 5800, 5802, 5804, 5806, 5808, 5810, 5812, 5814, 5816, 5818, 5820, 5822, 5824, 5826, 5828, 5830, 5832, 5834, 5836, 5838, 5840, 5842, 5844, 5846, 5848, 5850, 5852, 5854, 5856, 5858, 5860, 5862, 5864, 5866, 5868, 5870, 5872, 5874, 5876, 5878, 5880, 5882, 5884, 5886, 5888, 5890, 5892, 5894, 5896, 5898, 5900, 5902, 5904, 5906, 5908, 5910, 5912, 5914, 5916, 5918,

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
							5920, 5922, 5924, 5926, 5928, 5930, 5932, 5934, 5936, 5938, 5940, 5942, 5944, 5946, 5948, 5950, 5952, 5954, 5956, 5958, 5960, 5962, 5964, 5966, 5968, 5970, 5972, 5974, 5976, 5978, 5980, 5982, 5984, 5986, 5988, 5990, 5992, 5994, 5996, 5998, 6000, 6002, 6004
1	28	GABA	SLR0739	Synec hocysti s sp.	6041	plastidisch	6043, 6045, 6047, 6049, 6051, 6053, 6055, 6057, 6059, 6061, 6063, 6065, 6067, 6069, 6071, 6073, 6075, 6077, 6079, 6081, 6083, 6085, 6087, 6089, 6091, 6093, 6095, 6097, 6099, 6101, 6103, 6105, 6107, 6109, 6111, 6113, 6115, 6117, 6119, 6121, 6123, 6125, 6127, 6129, 6131, 6133, 6135, 6137, 6139, 6141, 6143, 6145, 6147, 6149, 6151, 6153, 6155, 6157, 6159, 6161, 6163, 6165, 6167, 6169, 6171, 6173, 6175, 6177, 6179, 6181, 6183, 6185, 6187, 6189, 6191, 6193, 6195, 6197, 6199, 6201, 6203, 6205, 6207, 6209, 6211, 6213, 6215, 6217, 6219, 6221, 6223, 6225, 6227, 6229, 6231, 6233, 6235, 6237, 6239, 6241, 6243, 6245, 6247, 6249, 6251, 6253, 6255, 6257, 6259, 6261, 6263, 6265, 6267, 6269, 6271, 6273, 6275, 6277, 6279, 6281, 6283, 6285, 6287, 6289, 6291, 6293, 6295, 6297, 6299, 6301, 6303, 6305, 6307, 6309, 6311, 6313, 6315, 6317, 6319, 6321, 6323, 6325, 6327, 6329, 6331, 6333, 6335, 6337, 6339, 6341, 6343, 6345, 6347, 6349, 6351, 6353, 6355, 6357, 6359, 6361, 6363, 6365, 6367, 6369, 6371, 6373, 6375, 6377, 6379, 6381, 6383, 6385, 6387, 6389, 6391, 6393, 6395, 6397, 6399, 6401, 6403, 6405, 6407, 6409, 6411, 6413, 6415, 6417, 6419, 6421, 6423, 6425, 6427, 6429, 6431, 6433, 6435, 6437, 6439, 6441, 6443, 6445

		7.				
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
1	GABA	TTC0019	T. thermophilus	6469	cytoplasmatisch	6471, 6473, 6475, 6477, 6479, 6481, 6483, 6485, 6487, 6489, 6491, 6493, 6495, 6497, 6499, 6501, 6503, 6505, 6507, 6509, 6511, 6513, 6515, 6517, 6519, 6521, 6523, 6525, 6527, 6529, 6531, 6533, 6535, 6537, 6539, 6541, 6543, 6545, 6547, 6549, 6551, 6553, 6555, 6557, 6559, 6561, 6563, 6565, 6567, 6569, 6571, 6573, 6575, 6577, 6579, 6581, 6583, 6585, 6587, 6589, 6591, 6593, 6595, 6597, 6599, 6601, 6603, 6605, 6607, 6609, 6611, 6613, 6615, 6617, 6619, 6621, 6623, 6625, 6627, 6629, 6631, 6633, 6635, 6637, 6639, 6641, 6643, 6645, 6647, 6649, 6651, 6653, 6655, 6657, 6659, 6661, 6663, 6665, 6667, 6669, 6671, 6673, 6675, 6677, 6679, 6681, 6683, 6685, 6687, 6689, 6691, 6693, 6695, 6697, 6699, 6701, 6703, 6705, 6707, 6709, 6711, 6713, 6715, 6717, 6719, 6721, 6723, 6725, 6727
1	GABA	TTC1550	T. thermophilus	6739	cytoplasmatisch	6741, 6743, 6745, 6747, 6749, 6751, 6753, 6755, 6757, 6759, 6761, 6763, 6765, 6767, 6769, 6771, 6773, 6775, 6777, 6779, 6781, 6783, 6785, 6787, 6789, 6791, 6793, 6795, 6797, 6799, 6801, 6803, 6805, 6807, 6809, 6811, 6813, 6815, 6817, 6819, 6821, 6823, 6825, 6827, 6829, 6831, 6833, 6835, 6837, 6839, 6841, 6843, 6845, 6847, 6849, 6851, 6853, 6855, 6857, 6859, 6861, 6863, 6865, 6867, 6869, 6871, 6873, 6875, 6877, 6879, 6881, 6883, 6885, 6887, 6889, 6891, 6893, 6895, 6897, 6899, 6901, 6903, 6905, 6907, 6909, 6911, 6913, 6915, 6917, 6919, 6921, 6923, 6925, 6927, 6929, 6931, 6933, 6935, 6937, 6939, 6941, 6943, 6945, 6947, 6949, 6951, 6953, 6955, 6957, 6959, 6961, 6963, 6965, 6967, 6969, 6971, 6973, 6975, 6977, 6979, 6981, 6983, 6985, 6987, 6989, 6991, 6993, 6995, 6997, 6999,

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
							7001, 7003, 7005, 7007, 7009, 7011, 7013, 7015, 7017, 7019, 7021, 7023, 7025, 7027, 7029, 7031, 7033, 7035, 7037, 7039, 7041, 7043, 7045, 7047, 7049, 7051, 7053, 7055, 7057, 7059, 7061, 7063, 7065, 7067, 7069, 7071, 7073, 7075, 7077, 7079, 7081, 7083, 7085, 7087, 7089, 7091, 7093, 7095, 7097, 7099, 7101, 7103, 7105, 7107, 7109
1	31	GABA	YJR153W	<i>S. cerevisiae</i>	7510	cytoplasmatisch	7512, 7514, 7516, 7518, 7520, 7522, 7524, 7526, 7528, 7530, 7532, 7534, 7536, 7538, 7540, 7542, 7544, 7546, 7548, 7550, 7552, 7554, 7556, 7558, 7560, 7562, 7564, 7566, 7568, 7570, 7572, 7574, 7576, 7578, 7580, 7582, 7584, 7586, 7588, 7590, 7592, 7594, 7596, 7598, 7600, 7602, 7604, 7606, 7608
1	32	GABA	YLR043C	<i>S. cerevisiae</i>	7633	plastidisch	7635, 7637, 7639, 7641, 7643, 7645, 7647, 7649, 7651, 7653, 7655, 7657, 7659, 7661, 7663, 7665, 7667, 7669, 7671, 7673, 7675, 7677, 7679, 7681, 7683, 7685, 7687, 7689, 7691, 7693, 7695, 7697, 7699, 7701, 7703, 7705, 7707, 7709, 7711, 7713, 7715, 7717, 7719, 7721, 7723, 7725, 7727, 7729, 7731, 7733, 7735, 7737, 7739, 7741, 7743, 7745, 7747, 7749, 7751, 7753, 7755, 7757, 7759, 7761, 7763, 7765, 7767, 7769, 7771, 7773, 7775, 7777, 7779, 7781, 7783, 7785, 7787, 7789, 7791, 7793, 7795, 7797, 7799, 7801, 7803, 7805, 7807, 7809, 7811, 7813, 7815, 7817, 7819, 7821, 7823, 7825, 7827, 7829, 7831, 7833, 7835, 7837, 7839, 7841, 7843, 7845, 7847, 7849, 7851, 7853, 7855, 7857, 7859, 7861, 7863, 7865, 7867, 7869, 7871, 7873, 7875, 7877, 7879, 7881, 7883, 7885, 7887, 7889, 7891, 7893, 7895, 7897, 7899, 7901, 7903, 7905, 7907, 7909, 7911, 7913, 7915, 7917, 7919, 7921, 7923, 7925, 7927, 7929, 7931, 7933,

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
							7935, 7937, 7939, 7941, 7943, 7945, 7947, 7949, 7951, 7953, 7955, 7957, 7959, 7961, 7963, 7965, 7967, 7969, 7971, 7973, 7975, 7977, 7979, 7981, 7983
1	33	GABA	51340801_ CANOLA	B. napus	53	plastidisch	55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 377, 379, 381, 383, 385, 387, 389, 391, 393, 395, 397, 399, 401, 403, 405, 407, 409, 411, 413, 415, 417, 419, 421, 423, 425, 427, 429, 431, 433, 435, 437, 439, 441, 443, 445, 447, 449, 451, 453, 455, 457, 459, 461, 463, 465, 467, 469, 471, 473, 475, 477, 479, 481, 483, 485, 487, 489, 491, 493, 495, 497, 499, 501, 503, 505, 507, 509, 511, 513, 515, 517, 519, 521, 523, 525, 527, 529, 531, 533, 535, 537, 539, 541, 543, 545, 547, 549, 551, 553, 555, 557, 559, 561, 563, 565
1	34	GABA	YBR159W	S. cerevisiae	7137	cytoplasmatisch	7139, 7141, 7143, 7145, 7147, 7149, 7151, 7153, 7155, 7157, 7159, 7161, 7163, 7165, 7167, 7169, 7171, 7173, 7175, 7177, 7179, 7181, 7183, 7185

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
1	35	GABA	YDR046C	S. cerevisiae	7208	cytoplasmatisch	7210, 7212, 7214, 7216, 7218, 7220, 7222, 7224, 7226, 7228, 7230, 7232, 7234, 7236, 7238, 7240, 7242, 7244, 7246, 7248, 7250, 7252, 7254, 7256, 7258, 7260, 7262 7276, 7278, 7280, 7282, 7284, 7286, 7288, 7290, 7292, 7294, 7296, 7298, 7300, 7302, 7304, 7306, 7308, 7310, 7312, 7314, 7316, 7318, 7320, 7322, 7324, 7326, 7328, 7330, 7332, 7334, 7336, 7338, 7340, 7342, 7344, 7346, 7348, 7350, 7352, 7354, 7356, 7358, 7360, 7362, 7364, 7366, 7368, 7370, 7372, 7374, 7376, 7378, 7380, 7382, 7384, 7386, 7388, 7390, 7392, 7394, 7396, 7398, 7400, 7402, 7404, 7406, 7408, 7410, 7412, 7414, 7416, 7418, 7420, 7422, 7424, 7426, 7428, 7430, 7432, 7434, 7436, 7438, 7440, 7442, 7444, 7446, 7448, 7450, 7452, 7454, 7456, 7458, 7460, 7462, 7464, 7466, 7468, 7470, 7472, 7474, 7476, 7478
1	36	GABA	YGR255C	S. cerevisiae	7274	cytoplasmatisch	
1	37	GABA	YHR213W	S. cerevisiae	7489	cytoplasmatisch	7491, 7493, 7495, 7497, 7499, 7501, 7503
1	38	GABA	YPL249C-A	S cerevisiae	8239	cytoplasmatisch	8241, 8243, 8245, 8247, 8249, 8251, 8253, 8255, 8257, 8259, 8261, 8263, 8265, 8267, 8269, 8271, 8273, 8275, 8277, 8279, 8281, 8283, 8285, 8287, 8289, 8291, 8293, 8295, 8297, 8299, 8301, 8303, 8305, 8307, 8309, 8311, 8313, 8315, 8317, 8319, 8321, 8323, 8325, 8327, 8329, 8331, 8333, 8335, 8337, 8339, 8341, 8343, 8345, 8347, 8349, 8351, 8353, 8355, 8357, 8359
1	39	GABA	YPR185W	S cerevisiae	8397	cytoplasmatisch	8399, 8401, 8403, 8405, 8407, 8409

1.		2.		3.		4.		5.		6.		7.	
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe						
1	40	GABA	YLR395C	S. cerevisiae	8227	cytoplasmatisch	8229, 8231, 8233						
1	41	GABA	YDR046C_2	S. cerevisiae	8423	cytoplasmatisch	8425, 8427, 8429, 8431, 8433, 8435, 8437, 8439, 8441, 8443, 8445, 8447, 8449, 8451, 8453, 8455, 8457, 8459, 8461, 8463, 8465, 8467, 8469, 8471, 8473, 8475, 8477						
1	42	GABA		Oryza sativa	8589	cytoplasmatisch	1672, 1674, 1676, 1678, 1680, 1682, 1684, 1686, 1688, 1690, 1692, 1694, 1696, 1698, 1700, 1702, 1704, 1706, 1708, 1710, 1712, 1714, 1716, 1718, 1720, 1722, 1724, 1726, 1728, 1730, 1732, 1734, 1736, 1738, 1740, 1742, 1744, 1746, 1748, 1750, 1752, 1754, 1756, 1758, 1760, 1762, 1764, 1766, 1768, 1770, 1772, 1774, 1776, 1778, 1780, 1782, 1784, 1786, 1788, 1790, 1792, 1794, 1796, 1798, 1800, 1802, 1804, 1806, 1808, 1810, 1812, 1814, 1816, 1818, 1820, 1822, 1824, 1826, 1828, 1830, 1832, 1834, 1836, 1838, 1840, 1842						

Tabelle IB. Nukleinsäuresequenz ID-Nummern

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
1	1	GABA	YMR052W	S. cerevisiae	42	cytoplasmatisch	-
1	2	GABA	AT1G43850	A. th.	654	cytoplasmatisch	690, 692
1	3	GABA	AT2G28890	A. th.	706	cytoplasmatisch	-
1	4	GABA	AT3G04050	A. th.	751	plastidisch	1055, 1057, 1059, 1061, 1063, 1065, 1067, 1069, 1071, 1073, 1075, 1077, 1079, 1081, 1083, 1085, 1087, 1089, 1091, 1093, 1095, 1097, 1099, 1101, 1103, 1105, 1107, 1109, 1111, 1113, 1115, 1117, 1119, 1121, 1123, 1125, 1127, 1129, 1131, 1133, 1135, 1137, 1139, 1141, 1143, 1145, 8499, 8501, 8503
1	5	GABA	AT3G08710	A. th.	1156	cytoplasmatisch	1360, 1382, 1384, 1386, 1388, 1390, 1392, 1394, 1396, 1398, 1400, 1402, 1404, 1406, 1408, 1410, 1412, 1414, 1416, 1418, 1420, 1422, 1424, 1426, 1428, 1430, 1432, 1434, 1436, 1438, 1440, 1442, 1444, 1446, 1448, 1450, 1452, 1454, 1456, 1458, 1460, 1462, 1464, 1466, 1468, 1470, 1472, 1474, 1476, 1478, 1480, 1482, 1484, 1486, 1488, 1490, 1492, 1494, 1496, 1498, 1500, 1502, 1504, 8507, 8509, 8511, 8513
1	6	GABA	AT3G11650	A. th.	1510	cytoplasmatisch	1550, 1552, 1554, 1556, 1558, 1560, 1562, 1564, 1566, 1568, 1570, 1572, 1574, 1576, 1578, 1580, 1582, 1584, 1586, 1588, 1590, 8517, 8519, 8521, 8523
1	7	GABA	AT3G27540	A. th.	1598	cytoplasmatisch	1646, 1648, 1650, 1652, 1654, 1656, 1658, 8527, 8529, 8531

		1.		2.		3.		4.		5.		6.		7.	
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe								
1	8	GABA	AT3G61830	A. th.	1670	cytoplasmatisch	1844, 1846, 1848, 1850, 1852, 1854, 1856, 1858, 1860								
1	9	GABA	AT4G32480	A. th.	1874	cytoplasmatisch	1910, 1912, 1914, 1916, 1918, 1920, 1922, 1924, 1926, 1928								
1	10	GABA	AT4G35310	A. th.	1936	cytoplasmatisch	2342, 2344, 2346, 2348, 2350, 2352, 2354, 2356, 2358, 2360, 2362, 2364, 2366, 2368, 2370, 2372, 2374, 2376, 2378, 2380, 2382, 2384, 2386, 2388, 2390, 2392, 2394, 2396, 2398, 2400, 2402, 2404, 2406, 2408, 2410, 2412, 2414, 2416, 2418, 2420, 2422, 2424, 2426, 2428, 2430, 2432, 2434, 2436, 2438, 2440, 2442, 2444, 2446, 2448, 2450, 2452, 2454, 2456, 2458, 2460, 2462, 2464, 2466, 2468, 2470, 2472, 2474, 2476, 2478, 8535								
1	11	GABA	AT5G16650	A. th.	2492	cytoplasmatisch	2524, 2526, 2528, 2530, 2532, 2534, 2536, 2538, 2540, 2542, 2544, 2546, 8539								
1	12	GABA	AVINDRAF_T_2344	A. vinelan dii	2553	cytoplasmatisch	3297, 3299, 3301, 3303, 3305, 3307, 3309, 3311, 3313, 3315, 3317, 3319, 3321, 3323, 3325, 3327, 3329, 3331, 3333, 3335, 3337, 3339, 3341, 3343, 3345, 3347, 3349, 3351, 3353, 3355, 3357, 3359, 3361, 3363, 3365, 3367, 3369, 3371, 3373, 3375, 3377, 3379, 3381, 3383, 3385, 3387, 3389, 3391, 3393, 3395								
1	13	GABA	AVINDRAF_T_2521	A. vinelan dii	3408	cytoplasmatisch	-								
1	14	GABA	AVINDRAF_T_5103	A. vinelan dii	3564	cytoplasmatisch	-								
1	15	GABA	AVINDRAF_T_5292	A. vinelan	3728	cytoplasmatisch	4042, 4044, 4046, 4048, 4050, 4052, 4054, 4056, 4058, 4060, 4062								

1.		2.		3.		4.		5.		6.		7.	
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe						
				dli									
1	16	GABA	B0124	E. coli	4068	cytoplasmatisch	-						
1	17	GABA	B0161	E. coli	4176	cytoplasmatisch	-						
1	18	GABA	B0449	E. coli	4364	cytoplasmatisch	4696, 4698, 4700, 4702, 4704, 4706, 4708						
1	19	GABA	B0593	E. coli	4717	plastidisch	-						
1	20	GABA	B0898	E. coli	4864	cytoplasmatisch	-						
1	21	GABA	B1003	E. coli	4903	cytoplasmatisch	-						
1	22	GABA	B1522	E. coli	4909	cytoplasmatisch	-						
1	23	GABA	B2739	E. coli	4954	cytoplasmatisch	-						
1	24	GABA	B3646	E. coli	5121	cytoplasmatisch	-						
1	25	GABA	B4029	E. coli	5319	cytoplasmatisch	-						
1	26	GABA	B4256	E. coli	5387	cytoplasmatisch	-						
1	27	GABA	C_PP0340 08079R	P. patens	5458	cytoplasmatisch	6006, 6008, 6010, 6012, 6014, 6016, 6018, 6020, 6022, 6024, 6026, 6028, 6030, 6032, 6034, 6036						
1	28	GABA	SLR0739	Synec hocysti s sp.	6041	plastidisch	6447, 6449, 6451, 6453, 6455, 6457, 6459, 8543						
1	29	GABA	TTC0019	T. thermo philus	6469	cytoplasmatisch	6729, 6731, 6733						
1	30	GABA	TTC1550	T. thermo philus	6739	cytoplasmatisch	7111, 7113, 7115, 7117, 7119, 7121, 7123, 7125, 7127, 7129, 7131						
1	31	GABA	YJR153W	S. cerevis	7510	cytoplasmatisch	7610, 7612, 7614, 7616, 7618, 7620, 7622, 7624, 7626						

Anwendung		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Hit		Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe	
1	32	GABA	YLR043C	S. cerevisiae	7633	plastidisch	7985, 7987, 7989, 7991, 7993, 7995, 7997, 7999, 8001, 8003, 8005, 8007, 8009, 8011, 8013, 8015, 8017, 8019, 8021, 8023, 8025, 8027, 8029, 8031, 8033, 8035, 8037, 8039, 8041, 8043, 8045, 8047, 8049, 8051, 8053, 8055, 8057, 8059, 8061, 8063, 8065, 8067, 8069, 8071, 8073, 8075, 8077, 8079, 8081, 8083, 8085, 8087, 8089, 8091, 8093, 8095, 8097, 8099, 8101, 8103, 8105, 8107, 8109, 8111, 8113, 8115, 8117, 8119, 8121, 8123, 8125, 8127, 8129, 8131, 8133, 8135, 8137, 8139, 8141, 8143, 8145, 8147, 8149, 8151, 8153, 8155, 8157, 8159, 8161, 8163, 8165, 8167, 8169, 8171, 8173, 8175, 8177, 8179, 8181, 8183, 8185, 8187, 8189, 8191, 8193, 8195, 8197, 8199, 8201, 8203, 8205, 8207, 8209, 8211, 8213, 8215, 8217, 8219, 8221, 8547, 8549, 8551, 8553, 8555, 8557, 8559, 8561	
1	33	GABA	51340801_ CANOLA	B. napus	53	plastidisch	567, 569, 571, 573, 575, 577, 579, 581, 583, 585, 587, 589, 591, 593, 595, 597, 599, 601, 603, 605, 607, 609, 611, 613, 615, 617, 619, 621, 623, 625, 627, 629, 631, 633, 635, 637, 639, 641, 643, 645, 647, 8491, 8493, 8495	
1	34	GABA	YBR159W	S. cerevisiae	7137	cytoplasmatisch	7187, 7189, 7191, 7193, 7195, 7197, 7199	
1	35	GABA	YDR046C	S. cerevisiae	7208	cytoplasmatisch	-	
1	36	GABA	YGR255C	S. cerevis	7274	cytoplasmatisch	7480, 7482	

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Nukleinsäurehomologe
1	37	GABA	YHR213W	S. cerevisiae	7489	cytoplasmatisch	-
1	38	GABA	YPL249C-A	S. cerevisiae	8239	cytoplasmatisch	8361, 8363, 8365, 8367, 8369, 8371, 8373, 8375, 8377, 8379, 8381, 8383, 8385, 8387, 8389, 8391, 8565, 8567, 8569, 8571, 8573, 8575, 8577, 8579, 8581, 8583, 8585, 8587
1	39	GABA	YPR185W	S. cerevisiae	8397	cytoplasmatisch	-
1	40	GABA	YLR395C	S. cerevisiae	8227	cytoplasmatisch	-
1	41	GABA	YDR046C_2	S. cerevisiae	8423	cytoplasmatisch	-
1	42	GABA		Oryza sativa	8589	cytoplasmatisch	1844, 1846, 1848, 1850, 1852, 1854, 1856, 1858, 1860

Tabelle II A: Aminosäuresequenz ID-Nummern

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
1	1	GABA	YMR052W	S. cerevisiae	43	cytoplasmatisch	45, 47
1	2	GABA	AT1G43850	A. th.	655	cytoplasmatisch	657, 659, 661, 663, 665, 667, 669, 671, 673, 675, 677, 679, 681, 683, 685, 687, 689
1	3	GABA	AT2G28890	A. th.	707	cytoplasmatisch	709, 711, 713, 715, 717, 719, 721, 723, 725, 727, 729, 731, 733, 735, 737
1	4	GABA	AT3G04050	A. th.	752	plastidisch	754, 756, 758, 760, 762, 764, 766, 768, 770, 772, 774, 776, 778, 780, 782, 784, 786, 788, 790, 792, 794, 796, 798, 800, 802, 804, 806, 808, 810, 812, 814, 816, 818, 820, 822, 824, 826, 828, 830, 832, 834, 836, 838, 840, 842, 844, 846, 848, 850, 852, 854, 856, 858, 860, 862, 864, 866, 868, 870, 872, 874, 876, 878, 880, 882, 884, 886, 888, 890, 892, 894, 896, 898, 900, 902, 904, 906, 908, 910, 912, 914, 916, 918, 920, 922, 924, 926, 928, 930, 932, 934, 936, 938, 940, 942, 944, 946, 948, 950, 952, 954, 956, 958, 960, 962, 964, 966, 968, 970, 972, 974, 976, 978, 980, 982, 984, 986, 988, 990, 992, 994, 996, 998, 1000, 1002, 1004, 1006, 1008, 1010, 1012, 1014, 1016, 1018, 1020, 1022, 1024, 1026, 1028, 1030, 1032, 1034, 1036, 1038, 1040, 1042, 1044, 1046, 1048, 1050, 1052, 1054
1	5	GABA	AT3G08710	A. th.	1157	cytoplasmatisch	1159, 1161, 1163, 1165, 1167, 1169, 1171, 1173, 1175, 1177, 1179, 1181, 1183, 1185, 1187, 1189, 1191, 1193, 1195, 1197, 1199, 1201, 1203, 1205, 1207, 1209, 1211, 1213, 1215, 1217, 1219, 1221, 1223, 1225, 1227, 1229, 1231, 1233, 1235, 1237,

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
							1239, 1241, 1243, 1245, 1247, 1249, 1251, 1253, 1255, 1257, 1259, 1261, 1263, 1265, 1267, 1269, 1271, 1273, 1275, 1277, 1279, 1281, 1283, 1285, 1287, 1289, 1291, 1293, 1295, 1297, 1299, 1301, 1303, 1305, 1307, 1309, 1311, 1313, 1315, 1317, 1319, 1321, 1323, 1325, 1327, 1329, 1331, 1333, 1335, 1337, 1339, 1341, 1343, 1345, 1347, 1349, 1351, 1353, 1355, 1357, 1359, 1361, 1363, 1365, 1367, 1369, 1371, 1373, 1375, 1377, 1379
1	6	GABA	AT3G11650	A. th.	1511	cytoplasmatisch	1513, 1515, 1517, 1519, 1521, 1523, 1525, 1527, 1529, 1531, 1533, 1535, 1537, 1539, 1541, 1543, 1545, 1547, 1549
1	7	GABA	AT3G27540	A. th.	1599	cytoplasmatisch	1601, 1603, 1605, 1607, 1609, 1611, 1613, 1615, 1617, 1619, 1621, 1623, 1625, 1627, 1629, 1631, 1633, 1635, 1637, 1639, 1641, 1643, 1645
1	8	GABA	AT3G61830	A. th.	1671	cytoplasmatisch	1673, 1675, 1677, 1679, 1681, 1683, 1685, 1687, 1689, 1691, 1693, 1695, 1697, 1699, 1701, 1703, 1705, 1707, 1709, 1711, 1713, 1715, 1717, 1719, 1721, 1723, 1725, 1727, 1729, 1731, 1733, 1735, 1737, 1739, 1741, 1743, 1745, 1747, 1749, 1751, 1753, 1755, 1757, 1759, 1761, 1763, 1765, 1767, 1769, 1771, 1773, 1775, 1777, 1779, 1781, 1783, 1785, 1787, 1789, 1791, 1793, 1795, 1797, 1799, 1801, 1803, 1805, 1807, 1809, 1811, 1813, 1815, 1817, 1819, 1821, 1823, 1825, 1827, 1829, 1831, 1833, 1835, 1837, 1839, 1841, 1843
1	9	GABA	AT4G32480	A. th.	1875	cytoplasmatisch	1877, 1879, 1881, 1883, 1885, 1887, 1889, 1891, 1893, 1895, 1897, 1899, 1901, 1903, 1905, 1907, 1909
1	10	GABA	AT4G35310	A. th.	1937	cytoplasmatisch	1939, 1941, 1943, 1945, 1947, 1949, 1951, 1953, 1955, 1957, 1959, 1961, 1963, 1965, 1967, 1969, 1971, 1973, 1975, 1977,

Anwendung		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.						
Hit		Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe							
							1779, 1981, 1983, 1985, 1987, 1989, 1991, 1993, 1995, 1997, 1999, 2001, 2003, 2005, 2007, 2009, 2011, 2013, 2015, 2017, 2019, 2021, 2023, 2025, 2027, 2029, 2031, 2033, 2035, 2037, 2039, 2041, 2043, 2045, 2047, 2049, 2051, 2053, 2055, 2057, 2059, 2061, 2063, 2065, 2067, 2069, 2071, 2073, 2075, 2077, 2079, 2081, 2083, 2085, 2087, 2089, 2091, 2093, 2095, 2097, 2099, 2101, 2103, 2105, 2107, 2109, 2111, 2113, 2115, 2117, 2119, 2121, 2123, 2125, 2127, 2129, 2131, 2133, 2135, 2137, 2139, 2141, 2143, 2145, 2147, 2149, 2151, 2153, 2155, 2157, 2159, 2161, 2163, 2165, 2167, 2169, 2171, 2173, 2175, 2177, 2179, 2181, 2183, 2185, 2187, 2189, 2191, 2193, 2195, 2197, 2199, 2201, 2203, 2205, 2207, 2209, 2211, 2213, 2215, 2217, 2219, 2221, 2223, 2225, 2227, 2229, 2231, 2233, 2235, 2237, 2239, 2241, 2243, 2245, 2247, 2249, 2251, 2253, 2255, 2257, 2259, 2261, 2263, 2265, 2267, 2269, 2271, 2273, 2275, 2277, 2279, 2281, 2283, 2285, 2287, 2289, 2291, 2293, 2295, 2297, 2299, 2301, 2303, 2305, 2307, 2309, 2311, 2313, 2315, 2317, 2319, 2321, 2323, 2325, 2327, 2329, 2331, 2333, 2335, 2337, 2339, 2341							
1	11	GABA	AT5G16650	A. th.	2493	cytoplasmatisch	2495, 2497, 2499, 2501, 2503, 2505, 2507, 2509, 2511, 2513, 2515, 2517, 2519, 2521, 2523							
1	12	GABA	AVINDRAF_T_2344	A. vinelandii	2554	cytoplasmatisch	2556, 2558, 2560, 2562, 2564, 2566, 2568, 2570, 2572, 2574, 2576, 2578, 2580, 2582, 2584, 2586, 2588, 2590, 2592, 2594, 2596, 2598, 2600, 2602, 2604, 2606, 2608, 2610, 2612, 2614, 2616, 2618, 2620, 2622, 2624, 2626, 2628, 2630, 2632, 2634, 2636, 2638, 2640, 2642, 2644, 2646, 2648, 2650, 2652, 2654,							

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
							2656, 2658, 2660, 2662, 2664, 2666, 2668, 2670, 2672, 2674, 2676, 2678, 2680, 2682, 2684, 2686, 2688, 2690, 2692, 2694, 2696, 2698, 2700, 2702, 2704, 2706, 2708, 2710, 2712, 2714, 2716, 2718, 2720, 2722, 2724, 2726, 2728, 2730, 2732, 2734, 2736, 2738, 2740, 2742, 2744, 2746, 2748, 2750, 2752, 2754, 2756, 2758, 2760, 2762, 2764, 2766, 2768, 2770, 2772, 2774, 2776, 2778, 2780, 2782, 2784, 2786, 2788, 2790, 2792, 2794, 2796, 2798, 2800, 2802, 2804, 2806, 2808, 2810, 2812, 2814, 2816, 2818, 2820, 2822, 2824, 2826, 2828, 2830, 2832, 2834, 2836, 2838, 2840, 2842, 2844, 2846, 2848, 2850, 2852, 2854, 2856, 2858, 2860, 2862, 2864, 2866, 2868, 2870, 2872, 2874, 2876, 2878, 2880, 2882, 2884, 2886, 2888, 2890, 2892, 2894, 2896, 2898, 2900, 2902, 2904, 2906, 2908, 2910, 2912, 2914, 2916, 2918, 2920, 2922, 2924, 2926, 2928, 2930, 2932, 2934, 2936, 2938, 2940, 2942, 2944, 2946, 2948, 2950, 2952, 2954, 2956, 2958, 2960, 2962, 2964, 2966, 2968, 2970, 2972, 2974, 2976, 2978, 2980, 2982, 2984, 2986, 2988, 2990, 2992, 2994, 2996, 2998, 3000, 3002, 3004, 3006, 3008, 3010, 3012, 3014, 3016, 3018, 3020, 3022, 3024, 3026, 3028, 3030, 3032, 3034, 3036, 3038, 3040, 3042, 3044, 3046, 3048, 3050, 3052, 3054, 3056, 3058, 3060, 3062, 3064, 3066, 3068, 3070, 3072, 3074, 3076, 3078, 3080, 3082, 3084, 3086, 3088, 3090, 3092, 3094, 3096, 3098, 3100, 3102, 3104, 3106, 3108, 3110, 3112, 3114, 3116, 3118, 3120, 3122, 3124, 3126, 3128, 3130, 3132, 3134, 3136, 3138, 3140, 3142, 3144, 3146, 3148, 3150, 3152, 3154, 3156, 3158, 3160, 3162, 3164, 3166, 3168, 3170, 3172, 3174,

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
							3176, 3178, 3180, 3182, 3184, 3186, 3188, 3190, 3192, 3194, 3196, 3198, 3200, 3202, 3204, 3206, 3208, 3210, 3212, 3214, 3216, 3218, 3220, 3222, 3224, 3226, 3228, 3230, 3232, 3234, 3236, 3238, 3240, 3242, 3244, 3246, 3248, 3250, 3252, 3254, 3256, 3258, 3260, 3262, 3264, 3266, 3268, 3270, 3272, 3274, 3276, 3278, 3280, 3282, 3284, 3286, 3288, 3290, 3292, 3294, 3296
1	13	GABA	AVINDRAF T_2521	A. vinelan dii	3409	cytoplasmatisch	3411, 3413, 3415, 3417, 3419, 3421, 3423, 3425, 3427, 3429, 3431, 3433, 3435, 3437, 3439, 3441, 3443, 3445, 3447, 3449, 3451, 3453, 3455, 3457, 3459, 3461, 3463, 3465, 3467, 3469, 3471, 3473, 3475, 3477, 3479, 3481, 3483, 3485, 3487, 3489, 3491, 3493, 3495, 3497, 3499, 3501, 3503, 3505, 3507, 3509, 3511, 3513, 3515, 3517, 3519, 3521, 3523, 3525, 3527, 3529, 3531, 3533, 3535, 3537, 3539, 3541, 3543, 3545, 3547, 3549, 3551, 3553, 3555, 3557, 3559
1	14	GABA	AVINDRAF T_5103	A. vinelan dii	3565	cytoplasmatisch	3567, 3569, 3571, 3573, 3575, 3577, 3579, 3581, 3583, 3585, 3587, 3589, 3591, 3593, 3595, 3597, 3599, 3601, 3603, 3605, 3607, 3609, 3611, 3613, 3615, 3617, 3619, 3621, 3623, 3625, 3627, 3629, 3631, 3633, 3635, 3637, 3639, 3641, 3643, 3645, 3647, 3649, 3651, 3653, 3655, 3657, 3659, 3661, 3663, 3665, 3667, 3669, 3671, 3673, 3675, 3677, 3679, 3681, 3683, 3685, 3687, 3689, 3691, 3693, 3695, 3697, 3699, 3701, 3703, 3705, 3707, 3709, 3711, 3713, 3715, 3717, 3719, 3721, 3723
1	15	GABA	AVINDRAF T_5292	A vinelan dii	3729	cytoplasmatisch	3731, 3733, 3735, 3737, 3739, 3741, 3743, 3745, 3747, 3749, 3751, 3753, 3755, 3757, 3759, 3761, 3763, 3765, 3767, 3769, 3771, 3773, 3775, 3777, 3779, 3781, 3783, 3785, 3787, 3789,

		7.				
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
						3791, 3793, 3795, 3797, 3799, 3801, 3803, 3805, 3807, 3809, 3811, 3813, 3815, 3817, 3819, 3821, 3823, 3825, 3827, 3829, 3831, 3833, 3835, 3837, 3839, 3841, 3843, 3845, 3847, 3849, 3851, 3853, 3855, 3857, 3859, 3861, 3863, 3865, 3867, 3869, 3871, 3873, 3875, 3877, 3879, 3881, 3883, 3885, 3887, 3889, 3891, 3893, 3895, 3897, 3899, 3901, 3903, 3905, 3907, 3909, 3911, 3913, 3915, 3917, 3919, 3921, 3923, 3925, 3927, 3929, 3931, 3933, 3935, 3937, 3939, 3941, 3943, 3945, 3947, 3949, 3951, 3953, 3955, 3957, 3959, 3961, 3963, 3965, 3967, 3969, 3971, 3973, 3975, 3977, 3979, 3981, 3983, 3985, 3987, 3989, 3991, 3993, 3995, 3997, 3999, 4001, 4003, 4005, 4007, 4009, 4011, 4013, 4015, 4017, 4019, 4021, 4023, 4025, 4027, 4029, 4031, 4033, 4035, 4037, 4039, 4041
1	GABA	B0124	E. coli	4069	cytoplasmatisch	4071, 4073, 4075, 4077, 4079, 4081, 4083, 4085, 4087, 4089, 4091, 4093, 4095, 4097, 4099, 4101, 4103, 4105, 4107, 4109, 4111, 4113, 4115, 4117, 4119, 4121, 4123, 4125, 4127, 4129, 4131, 4133, 4135, 4137, 4139, 4141, 4143, 4145, 4147, 4149, 4151, 4153, 4155, 4157, 4159
1	GABA	B0161	E. coli	4177	cytoplasmatisch	4179, 4181, 4183, 4185, 4187, 4189, 4191, 4193, 4195, 4197, 4199, 4201, 4203, 4205, 4207, 4209, 4211, 4213, 4215, 4217, 4219, 4221, 4223, 4225, 4227, 4229, 4231, 4233, 4235, 4237, 4239, 4241, 4243, 4245, 4247, 4249, 4251, 4253, 4255, 4257, 4259, 4261, 4263, 4265, 4267, 4269, 4271, 4273, 4275, 4277, 4279, 4281, 4283, 4285, 4287, 4289, 4291, 4293, 4295, 4297, 4299, 4301, 4303, 4305, 4307, 4309, 4311, 4313, 4315, 4317, 4319, 4321, 4323, 4325, 4327, 4329, 4331, 4333, 4335, 4337,

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
							4339, 4341, 4343, 4345, 4347, 4349, 4351, 4353, 4355 4367, 4369, 4371, 4373, 4375, 4377, 4379, 4381, 4383, 4385, 4387, 4389, 4391, 4393, 4395, 4397, 4399, 4401, 4403, 4405, 4407, 4409, 4411, 4413, 4415, 4417, 4419, 4421, 4423, 4425, 4427, 4429, 4431, 4433, 4435, 4437, 4439, 4441, 4443, 4445, 4447, 4449, 4451, 4453, 4455, 4457, 4459, 4461, 4463, 4465, 4467, 4469, 4471, 4473, 4475, 4477, 4479, 4481, 4483, 4485, 4487, 4489, 4491, 4493, 4495, 4497, 4499, 4501, 4503, 4505, 4507, 4509, 4511, 4513, 4515, 4517, 4519, 4521, 4523, 4525, 4527, 4529, 4531, 4533, 4535, 4537, 4539, 4541, 4543, 4545, 4547, 4549, 4551, 4553, 4555, 4557, 4559, 4561, 4563, 4565, 4567, 4569, 4571, 4573, 4575, 4577, 4579, 4581, 4583, 4585, 4587, 4589, 4591, 4593, 4595, 4597, 4599, 4601, 4603, 4605, 4607, 4609, 4611, 4613, 4615, 4617, 4619, 4621, 4623, 4625, 4627, 4629, 4631, 4633, 4635, 4637, 4639, 4641, 4643, 4645, 4647, 4649, 4651, 4653, 4655, 4657, 4659, 4661, 4663, 4665, 4667, 4669, 4671, 4673, 4675, 4677, 4679, 4681, 4683, 4685, 4687, 4689, 4691, 4693, 4695
1	18	GABA	B0449	E coli	4365	cytoplasmatisch	
							4720, 4722, 4724, 4726, 4728, 4730, 4732, 4734, 4736, 4738, 4740, 4742, 4744, 4746, 4748, 4750, 4752, 4754, 4756, 4758, 4760, 4762, 4764, 4766, 4768, 4770, 4772, 4774, 4776, 4778, 4780, 4782, 4784, 4786, 4788, 4790, 4792, 4794, 4796, 4798, 4800, 4802, 4804, 4806, 4808, 4810, 4812, 4814, 4816, 4818, 4820, 4822, 4824, 4826, 4828, 4830, 4832, 4834, 4836, 4838, 4840, 4842, 4844, 4846, 4848, 4850, 4852, 4854
1	19	GABA	B0593	E. coli	4718	plastidisch	
							4867, 4869, 4871, 4873, 4875, 4877, 4879, 4881, 4883, 4885,
1	20	GABA	B0698	E. coli	4865	cytoplasmatisch	

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
1	21	GABA	B1003	E. coli	4904	cytoplasmatisch	4887, 4889, 4891 4906
1	22	GABA	B1522	E. coli	4910	cytoplasmatisch	4912, 4914, 4916, 4918, 4920, 4922, 4924, 4926, 4928, 4930, 4932, 4934, 4936, 4938, 4940, 4942, 4944, 4946, 4948
1	23	GABA	B2739	E. coli	4955	cytoplasmatisch	4957, 4959, 4961, 4963, 4965, 4967, 4969, 4971, 4973, 4975, 4977, 4979, 4981, 4983, 4985, 4987, 4989, 4991, 4993, 4995, 4997, 4999, 5001, 5003, 5005, 5007, 5009, 5011, 5013, 5015, 5017, 5019, 5021, 5023, 5025, 5027, 5029, 5031, 5033, 5035, 5037, 5039, 5041, 5043, 5045, 5047, 5049, 5051, 5053, 5055, 5057, 5059, 5061, 5063, 5065, 5067, 5069, 5071, 5073, 5075, 5077, 5079, 5081, 5083, 5085, 5087, 5089, 5091, 5093, 5095, 5097, 5099, 5101, 5103, 5105, 5107, 5109, 5111, 5113, 5115
1	24	GABA	B3646	E. coli	5122	cytoplasmatisch	5124, 5126, 5128, 5130, 5132, 5134, 5136, 5138, 5140, 5142, 5144, 5146, 5148, 5150, 5152, 5154, 5156, 5158, 5160, 5162, 5164, 5166, 5168, 5170, 5172, 5174, 5176, 5178, 5180, 5182, 5184, 5186, 5188, 5190, 5192, 5194, 5196, 5198, 5200, 5202, 5204, 5206, 5208, 5210, 5212, 5214, 5216, 5218, 5220, 5222, 5224, 5226, 5228, 5230, 5232, 5234, 5236, 5238, 5240, 5242, 5244, 5246, 5248, 5250, 5252, 5254, 5256, 5258, 5260, 5262, 5264, 5266, 5268, 5270, 5272, 5274, 5276, 5278, 5280, 5282, 5284, 5286, 5288, 5290, 5292, 5294, 5296, 5298, 5300, 5302, 5304, 5306, 5308, 5310, 5312
1	25	GABA	B4029	E. coli	5320	cytoplasmatisch	5322, 5324, 5326, 5328, 5330, 5332, 5334, 5336, 5338, 5340, 5342, 5344, 5346, 5348, 5350, 5352, 5354, 5356, 5358, 5360, 5362, 5364, 5366, 5368, 5370, 5372
1	26	GABA	B4256	E. coli	5388	cytoplasmatisch	5390, 5392, 5394, 5396, 5398, 5400, 5402, 5404, 5406, 5408,

Anwendung	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
							5410, 5412, 5414, 5416, 5418, 5420, 5422, 5424, 5426, 5428, 5430, 5432, 5434, 5436, 5438, 5440, 5442, 5444, 5446, 5448, 5450, 5452
1	27	GABA	C_PP0340 08079R	P. patens	5459	cytoplasmatisch	5461, 5463, 5465, 5467, 5469, 5471, 5473, 5475, 5477, 5479, 5481, 5483, 5485, 5487, 5489, 5491, 5493, 5495, 5497, 5499, 5501, 5503, 5505, 5507, 5509, 5511, 5513, 5515, 5517, 5519, 5521, 5523, 5525, 5527, 5529, 5531, 5533, 5535, 5537, 5539, 5541, 5543, 5545, 5547, 5549, 5551, 5553, 5555, 5557, 5559, 5561, 5563, 5565, 5567, 5569, 5571, 5573, 5575, 5577, 5579, 5581, 5583, 5585, 5587, 5589, 5591, 5593, 5595, 5597, 5599, 5601, 5603, 5605, 5607, 5609, 5611, 5613, 5615, 5617, 5619, 5621, 5623, 5625, 5627, 5629, 5631, 5633, 5635, 5637, 5639, 5641, 5643, 5645, 5647, 5649, 5651, 5653, 5655, 5657, 5659, 5661, 5663, 5665, 5667, 5669, 5671, 5673, 5675, 5677, 5679, 5681, 5683, 5685, 5687, 5689, 5691, 5693, 5695, 5697, 5699, 5701, 5703, 5705, 5707, 5709, 5711, 5713, 5715, 5717, 5719, 5721, 5723, 5725, 5727, 5729, 5731, 5733, 5735, 5737, 5739, 5741, 5743, 5745, 5747, 5749, 5751, 5753, 5755, 5757, 5759, 5761, 5763, 5765, 5767, 5769, 5771, 5773, 5775, 5777, 5779, 5781, 5783, 5785, 5787, 5789, 5791, 5793, 5795, 5797, 5799, 5801, 5803, 5805, 5807, 5809, 5811, 5813, 5815, 5817, 5819, 5821, 5823, 5825, 5827, 5829, 5831, 5833, 5835, 5837, 5839, 5841, 5843, 5845, 5847, 5849, 5851, 5853, 5855, 5857, 5859, 5861, 5863, 5865, 5867, 5869, 5871, 5873, 5875, 5877, 5879, 5881, 5883, 5885, 5887, 5889, 5891, 5893, 5895, 5897, 5899, 5901, 5903, 5905, 5907, 5909, 5911, 5913, 5915, 5917, 5919,

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
							5921, 5923, 5925, 5927, 5929, 5931, 5933, 5935, 5937, 5939, 5941, 5943, 5945, 5947, 5949, 5951, 5953, 5955, 5957, 5959, 5961, 5963, 5965, 5967, 5969, 5971, 5973, 5975, 5977, 5979, 5981, 5983, 5985, 5987, 5989, 5991, 5993, 5995, 5997, 5999, 6001, 6003, 6005
1	28	GABA	SLR0739	Synechocystis sp.	6042	plastidisch	6044, 6046, 6048, 6050, 6052, 6054, 6056, 6058, 6060, 6062, 6064, 6066, 6068, 6070, 6072, 6074, 6076, 6078, 6080, 6082, 6084, 6086, 6088, 6090, 6092, 6094, 6096, 6098, 6100, 6102, 6104, 6106, 6108, 6110, 6112, 6114, 6116, 6118, 6120, 6122, 6124, 6126, 6128, 6130, 6132, 6134, 6136, 6138, 6140, 6142, 6144, 6146, 6148, 6150, 6152, 6154, 6156, 6158, 6160, 6162, 6164, 6166, 6168, 6170, 6172, 6174, 6176, 6178, 6180, 6182, 6184, 6186, 6188, 6190, 6192, 6194, 6196, 6198, 6200, 6202, 6204, 6206, 6208, 6210, 6212, 6214, 6216, 6218, 6220, 6222, 6224, 6226, 6228, 6230, 6232, 6234, 6236, 6238, 6240, 6242, 6244, 6246, 6248, 6250, 6252, 6254, 6256, 6258, 6260, 6262, 6264, 6266, 6268, 6270, 6272, 6274, 6276, 6278, 6280, 6282, 6284, 6286, 6288, 6290, 6292, 6294, 6296, 6298, 6300, 6302, 6304, 6306, 6308, 6310, 6312, 6314, 6316, 6318, 6320, 6322, 6324, 6326, 6328, 6330, 6332, 6334, 6336, 6338, 6340, 6342, 6344, 6346, 6348, 6350, 6352, 6354, 6356, 6358, 6360, 6362, 6364, 6366, 6368, 6370, 6372, 6374, 6376, 6378, 6380, 6382, 6384, 6386, 6388, 6390, 6392, 6394, 6396, 6398, 6400, 6402, 6404, 6406, 6408, 6410, 6412, 6414, 6416, 6418, 6420, 6422, 6424, 6426, 6428, 6430, 6432, 6434, 6436, 6438, 6440, 6442, 6444, 6446

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
1	29	GABA	TTC0019	T. thermo philus	6470	cytoplasmatisch	6472, 6474, 6476, 6478, 6480, 6482, 6484, 6486, 6488, 6490, 6492, 6494, 6496, 6498, 6500, 6502, 6504, 6506, 6508, 6510, 6512, 6514, 6516, 6518, 6520, 6522, 6524, 6526, 6528, 6530, 6532, 6534, 6536, 6538, 6540, 6542, 6544, 6546, 6548, 6550, 6552, 6554, 6556, 6558, 6560, 6562, 6564, 6566, 6568, 6570, 6572, 6574, 6576, 6578, 6580, 6582, 6584, 6586, 6588, 6590, 6592, 6594, 6596, 6598, 6600, 6602, 6604, 6606, 6608, 6610, 6612, 6614, 6616, 6618, 6620, 6622, 6624, 6626, 6628, 6630, 6632, 6634, 6636, 6638, 6640, 6642, 6644, 6646, 6648, 6650, 6652, 6654, 6656, 6658, 6660, 6662, 6664, 6666, 6668, 6670, 6672, 6674, 6676, 6678, 6680, 6682, 6684, 6686, 6688, 6690, 6692, 6694, 6696, 6698, 6700, 6702, 6704, 6706, 6708, 6710, 6712, 6714, 6716, 6718, 6720, 6722, 6724, 6726, 6728
1	30	GABA	TTC1550	T. thermo philus	6740	cytoplasmatisch	6742, 6744, 6746, 6748, 6750, 6752, 6754, 6756, 6758, 6760, 6762, 6764, 6766, 6768, 6770, 6772, 6774, 6776, 6778, 6780, 6782, 6784, 6786, 6788, 6790, 6792, 6794, 6796, 6798, 6800, 6802, 6804, 6806, 6808, 6810, 6812, 6814, 6816, 6818, 6820, 6822, 6824, 6826, 6828, 6830, 6832, 6834, 6836, 6838, 6840, 6842, 6844, 6846, 6848, 6850, 6852, 6854, 6856, 6858, 6860, 6862, 6864, 6866, 6868, 6870, 6872, 6874, 6876, 6878, 6880, 6882, 6884, 6886, 6888, 6890, 6892, 6894, 6896, 6898, 6900, 6902, 6904, 6906, 6908, 6910, 6912, 6914, 6916, 6918, 6920, 6922, 6924, 6926, 6928, 6930, 6932, 6934, 6936, 6938, 6940, 6942, 6944, 6946, 6948, 6950, 6952, 6954, 6956, 6958, 6960, 6962, 6964, 6966, 6968, 6970, 6972, 6974, 6976, 6978, 6980, 6982, 6984, 6986, 6988, 6990, 6992, 6994, 6996, 6998, 7000,

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
							7002, 7004, 7006, 7008, 7010, 7012, 7014, 7016, 7018, 7020, 7022, 7024, 7026, 7028, 7030, 7032, 7034, 7036, 7038, 7040, 7042, 7044, 7046, 7048, 7050, 7052, 7054, 7056, 7058, 7060, 7062, 7064, 7066, 7068, 7070, 7072, 7074, 7076, 7078, 7080, 7082, 7084, 7086, 7088, 7090, 7092, 7094, 7096, 7098, 7100, 7102, 7104, 7106, 7108, 7110
1	31	GABA	YJR153W	S <i>cerevisia</i>	7511	cytoplasmatisch	7513, 7515, 7517, 7519, 7521, 7523, 7525, 7527, 7529, 7531, 7533, 7535, 7537, 7539, 7541, 7543, 7545, 7547, 7549, 7551, 7553, 7555, 7557, 7559, 7561, 7563, 7565, 7567, 7569, 7571, 7573, 7575, 7577, 7579, 7581, 7583, 7585, 7587, 7589, 7591, 7593, 7595, 7597, 7599, 7601, 7603, 7605, 7607, 7609
1	32	GABA	YLR043C	S. <i>cerevisia</i>	7634	plastidisch	7636, 7638, 7640, 7642, 7644, 7646, 7648, 7650, 7652, 7654, 7656, 7658, 7660, 7662, 7664, 7666, 7668, 7670, 7672, 7674, 7676, 7678, 7680, 7682, 7684, 7686, 7688, 7690, 7692, 7694, 7696, 7698, 7700, 7702, 7704, 7706, 7708, 7710, 7712, 7714, 7716, 7718, 7720, 7722, 7724, 7726, 7728, 7730, 7732, 7734, 7736, 7738, 7740, 7742, 7744, 7746, 7748, 7750, 7752, 7754, 7756, 7758, 7760, 7762, 7764, 7766, 7768, 7770, 7772, 7774, 7776, 7778, 7780, 7782, 7784, 7786, 7788, 7790, 7792, 7794, 7796, 7798, 7800, 7802, 7804, 7806, 7808, 7810, 7812, 7814, 7816, 7818, 7820, 7822, 7824, 7826, 7828, 7830, 7832, 7834, 7836, 7838, 7840, 7842, 7844, 7846, 7848, 7850, 7852, 7854, 7856, 7858, 7860, 7862, 7864, 7866, 7868, 7870, 7872, 7874, 7876, 7878, 7880, 7882, 7884, 7886, 7888, 7890, 7892, 7894, 7896, 7898, 7900, 7902, 7904, 7906, 7908, 7910, 7912, 7914, 7916, 7918, 7920, 7922, 7924, 7926, 7928, 7930, 7932, 7934,

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
							7936, 7938, 7940, 7942, 7944, 7946, 7948, 7950, 7952, 7954, 7956, 7958, 7960, 7962, 7964, 7966, 7968, 7970, 7972, 7974, 7976, 7978, 7980, 7982, 7984
1	33	GABA	51340801_ CANOLA	B. napus	54	plastidisch	56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 378, 380, 382, 384, 386, 388, 390, 392, 394, 396, 398, 400, 402, 404, 406, 408, 410, 412, 414, 416, 418, 420, 422, 424, 426, 428, 430, 432, 434, 436, 438, 440, 442, 444, 446, 448, 450, 452, 454, 456, 458, 460, 462, 464, 466, 468, 470, 472, 474, 476, 478, 480, 482, 484, 486, 488, 490, 492, 494, 496, 498, 500, 502, 504, 506, 508, 510, 512, 514, 516, 518, 520, 522, 524, 526, 528, 530, 532, 534, 536, 538, 540, 542, 544, 546, 548, 550, 552, 554, 556, 558, 560, 562, 564, 566
1	34	GABA	YBR159W	S. cerevisiae	7138	cytoplasmatisch	7140, 7142, 7144, 7146, 7148, 7150, 7152, 7154, 7156, 7158, 7160, 7162, 7164, 7166, 7168, 7170, 7172, 7174, 7176, 7178, 7180, 7182, 7184, 7186

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe
1	35	GABA	YDR046C	S. cerevis iae	7209	cytoplasmatisch	7211, 7213, 7215, 7217, 7219, 7221, 7223, 7225, 7227, 7229, 7231, 7233, 7235, 7237, 7239, 7241, 7243, 7245, 7247, 7249, 7251, 7253, 7255, 7257, 7259, 7261, 7263 7277, 7279, 7281, 7283, 7285, 7287, 7289, 7291, 7293, 7295, 7297, 7299, 7301, 7303, 7305, 7307, 7309, 7311, 7313, 7315, 7317, 7319, 7321, 7323, 7325, 7327, 7329, 7331, 7333, 7335, 7337, 7339, 7341, 7343, 7345, 7347, 7349, 7351, 7353, 7355, 7357, 7359, 7361, 7363, 7365, 7367, 7369, 7371, 7373, 7375, 7377, 7379, 7381, 7383, 7385, 7387, 7389, 7391, 7393, 7395, 7397, 7399, 7401, 7403, 7405, 7407, 7409, 7411, 7413, 7415, 7417, 7419, 7421, 7423, 7425, 7427, 7429, 7431, 7433, 7435, 7437, 7439, 7441, 7443, 7445, 7447, 7449, 7451, 7453, 7455, 7457, 7459, 7461, 7463, 7465, 7467, 7469, 7471, 7473, 7475, 7477, 7479
1	36	GABA	YGR255C	S. cerevis iae	7275	cytoplasmatisch	
1	37	GABA	YHR213W	S. cerevis iae	7490	cytoplasmatisch	7492, 7494, 7496, 7498, 7500, 7502, 7504
1	38	GABA	YPL249C- A	S. cerevis iae	8240	cytoplasmatisch	8242, 8244, 8246, 8248, 8250, 8252, 8254, 8256, 8258, 8260, 8262, 8264, 8266, 8268, 8270, 8272, 8274, 8276, 8278, 8280, 8282, 8284, 8286, 8288, 8290, 8292, 8294, 8296, 8298, 8300, 8302, 8304, 8306, 8308, 8310, 8312, 8314, 8316, 8318, 8320, 8322, 8324, 8326, 8328, 8330, 8332, 8334, 8336, 8338, 8340, 8342, 8344, 8346, 8348, 8350, 8352, 8354, 8356, 8358, 8360
1	39	GABA	YPR185W	S. cerevis iae	8398	cytoplasmatisch	8400, 8402, 8404, 8406, 8408, 8410

		7.		6.		5.		4.		3.		2.		1.	
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs der Polypeptidhomologe								
1	40	GABA	YLR395C	S. cerevisiae	8228	cytoplasmatisch	8230, 8232, 8234								
1	41	GABA	YDR046C_2	S. cerevisiae	8424	cytoplasmatisch	8426, 8428, 8430, 8432, 8434, 8436, 8438, 8440, 8442, 8444, 8446, 8448, 8450, 8452, 8454, 8456, 8458, 8460, 8462, 8464, 8466, 8468, 8470, 8472, 8474, 8476, 8478								
1	42	GABA		Oryza sativa	8590	cytoplasmatisch	1673, 1675, 1677, 1679, 1681, 1683, 1685, 1687, 1689, 1691, 1693, 1695, 1697, 1699, 1701, 1703, 1705, 1707, 1709, 1711, 1713, 1715, 1717, 1719, 1721, 1723, 1725, 1727, 1729, 1731, 1733, 1735, 1737, 1739, 1741, 1743, 1745, 1747, 1749, 1751, 1753, 1755, 1757, 1759, 1761, 1763, 1765, 1767, 1769, 1771, 1773, 1775, 1777, 1779, 1781, 1783, 1785, 1787, 1789, 1791, 1793, 1795, 1797, 1799, 1801, 1803, 1805, 1807, 1809, 1811, 1813, 1815, 1817, 1819, 1821, 1823, 1825, 1827, 1829, 1831, 1833, 1835, 1837, 1839, 1841, 1843								

Tabelle IIB: Aminosäuresequenz ID-Nummern

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Polypeptidhomologen
1	1	GABA	YMR052W	S. cerevisiae	43	cytoplasmatisch	-
1	2	GABA	AT1G43850	A. th.	655	cytoplasmatisch	691, 693
1	3	GABA	AT2G28890	A. th.	707	cytoplasmatisch	-
1	4	GABA	AT3G04050	A. th.	752	plastidisch	1056, 1058, 1060, 1062, 1064, 1066, 1068, 1070, 1072, 1074, 1076, 1078, 1080, 1082, 1084, 1086, 1088, 1090, 1092, 1094, 1096, 1098, 1100, 1102, 1104, 1106, 1108, 1110, 1112, 1114, 1116, 1118, 1120, 1122, 1124, 1126, 1128, 1130, 1132, 1134, 1136, 1138, 1140, 1142, 1144, 1146, 8500, 8502, 8504
1	5	GABA	AT3G08710	A. th.	1157	cytoplasmatisch	1381, 1383, 1385, 1387, 1389, 1391, 1393, 1395, 1397, 1399, 1401, 1403, 1405, 1407, 1409, 1411, 1413, 1415, 1417, 1419, 1421, 1423, 1425, 1427, 1429, 1431, 1433, 1435, 1437, 1439, 1441, 1443, 1445, 1447, 1449, 1451, 1453, 1455, 1457, 1459, 1461, 1463, 1465, 1467, 1469, 1471, 1473, 1475, 1477, 1479, 1481, 1483, 1485, 1487, 1489, 1491, 1493, 1495, 1497, 1499, 1501, 1503, 1505, 8508, 8510, 8512, 8514
1	6	GABA	AT3G11650	A. th.	1511	cytoplasmatisch	1551, 1553, 1555, 1557, 1559, 1561, 1563, 1565, 1567, 1569, 1571, 1573, 1575, 1577, 1579, 1581, 1583, 1585, 1587, 1589, 1591, 8518, 8520, 8522, 8524
1	7	GABA	AT3G27540	A. th.	1599	cytoplasmatisch	1647, 1649, 1651, 1653, 1655, 1657, 1659, 8528, 8530, 8532

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Polypeptidhomologen
1	8	GABA	AT3G61830	A. th.	1671	cytoplasmatisch	1845, 1847, 1849, 1851, 1853, 1855, 1857, 1859, 1861
1	9	GABA	AT4G32480	A. th.	1875	cytoplasmatisch	1911, 1913, 1915, 1917, 1919, 1921, 1923, 1925, 1927, 1929
1	10	GABA	AT4G35310	A. th.	1937	cytoplasmatisch	2343, 2345, 2347, 2349, 2351, 2353, 2355, 2357, 2359, 2361, 2363, 2365, 2367, 2369, 2371, 2373, 2375, 2377, 2379, 2381, 2383, 2385, 2387, 2389, 2391, 2393, 2395, 2397, 2399, 2401, 2403, 2405, 2407, 2409, 2411, 2413, 2415, 2417, 2419, 2421, 2423, 2425, 2427, 2429, 2431, 2433, 2435, 2437, 2439, 2441, 2443, 2445, 2447, 2449, 2451, 2453, 2455, 2457, 2459, 2461, 2463, 2465, 2467, 2469, 2471, 2473, 2475, 2477, 2479, 8536
1	11	GABA	AT5G16650	A. th.	2493	cytoplasmatisch	2525, 2527, 2529, 2531, 2533, 2535, 2537, 2539, 2541, 2543, 2545, 2547, 8540
1	12	GABA	AVINDRAF_T_2344	A. vinelan dli	2554	cytoplasmatisch	3298, 3300, 3302, 3304, 3306, 3308, 3310, 3312, 3314, 3316, 3318, 3320, 3322, 3324, 3326, 3328, 3330, 3332, 3334, 3336, 3338, 3340, 3342, 3344, 3346, 3348, 3350, 3352, 3354, 3356, 3358, 3360, 3362, 3364, 3366, 3368, 3370, 3372, 3374, 3376, 3378, 3380, 3382, 3384, 3386, 3388, 3390, 3392, 3394, 3396
1	13	GABA	AVINDRAF_T_2521	A. vinelan dli	3409	cytoplasmatisch	-
1	14	GABA	AVINDRAF_T_5103	A. vinelan dli	3565	cytoplasmatisch	-
1	15	GABA	AVINDRAF_T_5292	A. vinelan	3729	cytoplasmatisch	4043, 4045, 4047, 4049, 4051, 4053, 4055, 4057, 4059, 4061, 4063

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Polypeptidhomologen
				dii			
1	16	GABA	B0124	E. coli	4069	cytoplasmatisch	-
1	17	GABA	B0161	E. coli	4177	cytoplasmatisch	-
1	18	GABA	B0449	E. coli	4365	cytoplasmatisch	4697, 4699, 4701, 4703, 4705, 4707, 4709
1	19	GABA	B0593	E. coli	4718	plastidisch	-
1	20	GABA	B0898	E. coli	4865	cytoplasmatisch	-
1	21	GABA	B1003	E. coli	4904	cytoplasmatisch	-
1	22	GABA	B1522	E. coli	4910	cytoplasmatisch	-
1	23	GABA	B2739	E. coli	4955	cytoplasmatisch	-
1	24	GABA	B3646	E. coli	5122	cytoplasmatisch	-
1	25	GABA	B4029	E. coli	5320	cytoplasmatisch	-
1	26	GABA	B4256	E. coli	5388	cytoplasmatisch	-
1	27	GABA	C_PP0340 08079R	P. patens	5459	cytoplasmatisch	6007, 6009, 6011, 6013, 6015, 6017, 6019, 6021, 6023, 6025, 6027, 6029, 6031, 6033, 6035, 6037
1	28	GABA	SLR0739	Synechocystis sp.	6042	plastidisch	6448, 6450, 6452, 6454, 6456, 6458, 6460, 8544
1	29	GABA	TTC0019	T. thermophilus	6470	cytoplasmatisch	6730, 6732, 6734
1	30	GABA	TTC1550	T. thermophilus	6740	cytoplasmatisch	7112, 7114, 7116, 7118, 7120, 7122, 7124, 7126, 7128, 7130, 7132
1	31	GABA	YJR153W	S. cerevisiae	7511	cytoplasmatisch	7611, 7613, 7615, 7617, 7619, 7621, 7623, 7625, 7627

		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Polypeptidhomologen	
				iae				7986, 7988, 7990, 7992, 7994, 7996, 7998, 8000, 8002, 8004, 8006, 8008, 8010, 8012, 8014, 8016, 8018, 8020, 8022, 8024, 8026, 8028, 8030, 8032, 8034, 8036, 8038, 8040, 8042, 8044, 8046, 8048, 8050, 8052, 8054, 8056, 8058, 8060, 8062, 8064, 8066, 8068, 8070, 8072, 8074, 8076, 8078, 8080, 8082, 8084, 8086, 8088, 8090, 8092, 8094, 8096, 8098, 8100, 8102, 8104, 8106, 8108, 8110, 8112, 8114, 8116, 8118, 8120, 8122, 8124, 8126, 8128, 8130, 8132, 8134, 8136, 8138, 8140, 8142, 8144, 8146, 8148, 8150, 8152, 8154, 8156, 8158, 8160, 8162, 8164, 8166, 8168, 8170, 8172, 8174, 8176, 8178, 8180, 8182, 8184, 8186, 8188, 8190, 8192, 8194, 8196, 8198, 8200, 8202, 8204, 8206, 8208, 8210, 8212, 8214, 8216, 8218, 8220, 8222, 8548, 8550, 8552, 8554, 8556, 8558, 8560, 8562
1	32	GABA	YLR043C	S. cerevisiae	7634	plastidisch		
1	33	GABA	51340801_CANOLA	B. napus	54	plastidisch	568, 570, 572, 574, 576, 578, 580, 582, 584, 586, 588, 590, 592, 594, 596, 598, 600, 602, 604, 606, 608, 610, 612, 614, 616, 618, 620, 622, 624, 626, 628, 630, 632, 634, 636, 638, 640, 642, 644, 646, 648, 8492, 8494, 8496	
1	34	GABA	YBR159W	S. cerevisiae	7138	cytoplasmatisch	7188, 7190, 7192, 7194, 7196, 7198, 7200	
1	35	GABA	YDR046C	S. cerevisiae	7209	cytoplasmatisch	-	
1	36	GABA	YGR255C	S. cerevisiae	7275	cytoplasmatisch	7481, 7483	

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Polypeptidhomologen
1	37	GABA	YHR213W	S. cerevisiae	7490	cytoplasmatisch	-
1	38	GABA	YPL249C-A	S. cerevisiae	8240	cytoplasmatisch	8362, 8364, 8366, 8368, 8370, 8372, 8374, 8376, 8378, 8380, 8382, 8384, 8386, 8388, 8390, 8392, 8566, 8568, 8570, 8572, 8574, 8576, 8578, 8580, 8582, 8584, 8586, 8588
1	39	GABA	YPR185W	S. cerevisiae	8398	cytoplasmatisch	-
1	40	GABA	YLR395C	S. cerevisiae	8228	cytoplasmatisch	-
1	41	GABA	YDR046C_2	S. cerevisiae	8424	cytoplasmatisch	-
1	42	GABA		Oryza sativa	8590	cytoplasmatisch	1845, 1847, 1849, 1851, 1853, 1855, 1857, 1859, 1861

Tabelle III: Primer-Nukleinsäuresequenz ID-Nummern

Anwendung	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Primern
1	1	GABA	YMR052W	S. cerevisiae	42	cytoplasmatisch	48, 49
1	2	GABA	AT1G43850	A. th.	654	cytoplasmatisch	694, 695
1	3	GABA	AT2G28890	A. th.	706	cytoplasmatisch	738, 739
1	4	GABA	AT3G04050	A. th.	751	plastidisch	1147, 1148
1	5	GABA	AT3G08710	A. th.	1156	cytoplasmatisch	1506, 1507
1	6	GABA	AT3G11650	A. th.	1510	cytoplasmatisch	1592, 1593
1	7	GABA	AT3G27540	A. th.	1598	cytoplasmatisch	1660, 1661
1	8	GABA	AT3G61830	A. th.	1670	cytoplasmatisch	1862, 1863
1	9	GABA	AT4G32480	A. th.	1874	cytoplasmatisch	1930, 1931
1	10	GABA	AT4G35310	A. th.	1936	cytoplasmatisch	2480, 2481
1	11	GABA	AT5G16650	A. th.	2492	cytoplasmatisch	2548, 2549
1	12	GABA	AVINDRAF	A.	2553	cytoplasmatisch	3397, 3398

1.		2.		3.		4.		5.		6.		7.	
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Primern						
			T_2344	vinelan dii									
1	13	GABA	AVINDRAF T_2521	A. vinelan dii	3408	cytoplasmatisch	3560, 3561						
1	14	GABA	AVINDRAF T_5103	A. vinelan dii	3564	cytoplasmatisch	3724, 3725						
1	15	GABA	AVINDRAF T_5292	A. vinelan dii	3728	cytoplasmatisch	4064, 4065						
1	16	GABA	B0124	E. coli	4068	cytoplasmatisch	4160, 4161						
1	17	GABA	B0161	E. coli	4176	cytoplasmatisch	4356, 4357						
1	18	GABA	B0449	E. coli	4364	cytoplasmatisch	4710, 4711						
1	19	GABA	B0593	E. coli	4717	plastidisch	4855, 4856						
1	20	GABA	B0898	E. coli	4864	cytoplasmatisch	4892, 4893						
1	21	GABA	B1003	E. coli	4903	cytoplasmatisch	4907, 4908						
1	22	GABA	B1522	E. coli	4909	cytoplasmatisch	4949, 4950						
1	23	GABA	B2739	E. coli	4954	cytoplasmatisch	5116, 5117						
1	24	GABA	B3646	E. coli	5121	cytoplasmatisch	5313, 5314						
1	25	GABA	B4029	E. coli	5319	cytoplasmatisch	5373, 5374						
1	26	GABA	B4256	E. coli	5387	cytoplasmatisch	5453, 5454						
1	27	GABA	C_PP0340 08079R	P. patens	5458	cytoplasmatisch	6038, 6039						
1	28	GABA	SLR0739	Sy nec	6041	plastidisch	6461, 6462						

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Primern
				<i>hocystis</i> <i>s. sp.</i>			
1	29	GABA	TTC0019	<i>T. thermo- philus</i>	6469	cytoplasmatisch	6735, 6736
1	30	GABA	TTC1550	<i>T. thermo- philus</i>	6739	cytoplasmatisch	7133, 7134
1	31	GABA	YJR153W	<i>S. cerevis</i> <i>iae</i>	7510	cytoplasmatisch	7628, 7629
1	32	GABA	YLR043C	<i>S. cerevis</i> <i>iae</i>	7633	plastidisch	8223, 8224
1	33	GABA	51340801_ CANOLA	<i>B. napus</i>	53	plastidisch	649, 650
1	34	GABA	YBR159W	<i>S. cerevis</i> <i>iae</i>	7137	cytoplasmatisch	7201, 7202
1	35	GABA	YDR046C	<i>S. cerevis</i> <i>iae</i>	7208	cytoplasmatisch	7264, 7265
1	36	GABA	YGR255C	<i>S. cerevis</i> <i>iae</i>	7274	cytoplasmatisch	7484, 7485
1	37	GABA	YHR213W	<i>S.</i>	7489	cytoplasmatisch	7505, 7506

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwen- dung	Hit	Projekt	Locus	Orga- nismus	Leit- SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Primern
1	38	GABA	YPL249C- A	S. cerevis iae	8239	cytoplasmatisch	8393, 8394
1	39	GABA	YPR185W	S. cerevis iae	8397	cytoplasmatisch	8411, 8412
1	40	GABA	YLR395C	S. cerevis iae	8227	cytoplasmatisch	8235, 8236
1	41	GABA	YDR046C- 2	S. cerevis iae	8423	cytoplasmatisch	8479, 8480
1	42	GABA		Oryza sativa	8589	cytoplasmatisch	1862, 1863

Tabelle IV: Consensus-Aminosäuresequenz ID-Nummern

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Consensus-/ Mustersequenzen
1	1	GABA	YMR052W	S. cerevisiae	43	cytoplasmatisch	50, 51, 52
1	2	GABA	AT1G43850	A. th.	655	cytoplasmatisch	696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705
1	3	GABA	AT2G28890	A. th.	707	cytoplasmatisch	740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750
1	4	GABA	AT3G04050	A. th.	752	plastidisch	1149, 1150, 1151, 1152, 1153, 1154, 1155
1	5	GABA	AT3G08710	A. th.	1157	cytoplasmatisch	1508, 1509
1	6	GABA	AT3G11650	A. th.	1511	cytoplasmatisch	1594, 1595, 1596, 1597
1	7	GABA	AT3G27540	A. th.	1599	cytoplasmatisch	1662, 1663, 1664, 1665, 1666, 1667, 1668, 1669
1	8	GABA	AT3G61830	A. th.	1671	cytoplasmatisch	1864, 1865, 1866, 1867, 1868, 1869, 1870, 1871, 1872, 1873
1	9	GABA	AT4G32480	A. th.	1875	cytoplasmatisch	1932, 1933, 1934, 1935
1	10	GABA	AT4G35310	A. th.	1937	cytoplasmatisch	2482, 2483, 2484, 2485, 2486, 2487, 2488, 2489, 2490, 2491
1	11	GABA	AT5G16650	A. th.	2493	cytoplasmatisch	2550, 2551, 2552
1	12	GABA	AVINDRAF	A.	2554	cytoplasmatisch	3399, 3400, 3401, 3402, 3403, 3404, 3405, 3406, 3407

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Consensus-/ Mustersequenzen
			T_2344	vinelan dii			
1	13	GABA	AVINDRAF T_2521	A. vinelan dii	3409	cytoplasmatisch	3562, 3563
1	14	GABA	AVINDRAF T_5103	A. vinelan dii	3565	cytoplasmatisch	3726, 3727
1	15	GABA	AVINDRAF T_5292	A. vinelan dii	3729	cytoplasmatisch	4066, 4067
1	16	GABA	B0124	E coli	4069	cytoplasmatisch	4162, 4163, 4164, 4165, 4166, 4167, 4168, 4169, 4170, 4171, 4172, 4173, 4174, 4175
1	17	GABA	B0161	E. coli	4177	cytoplasmatisch	4358, 4359, 4360, 4361, 4362, 4363
1	18	GABA	B0449	E. coli	4365	cytoplasmatisch	4712, 4713, 4714, 4715, 4716
1	19	GABA	B0593	E. coli	4718	plastidisch	4857, 4858, 4859, 4860, 4861, 4862, 4863
1	20	GABA	B0898	E. coli	4865	cytoplasmatisch	4894, 4895, 4896, 4897, 4898, 4899, 4900, 4901, 4902
1	21	GABA	B1003	E. coli	4904	cytoplasmatisch	-
1	22	GABA	B1522	E. coli	4910	cytoplasmatisch	4951, 4952, 4953
1	23	GABA	B2739	E. coli	4955	cytoplasmatisch	5118, 5119, 5120
1	24	GABA	B3646	E. coli	5122	cytoplasmatisch	5315, 5316, 5317, 5318
1	25	GABA	B4029	E. coli	5320	cytoplasmatisch	5375, 5376, 5377, 5378, 5379, 5380, 5381, 5382, 5383, 5384, 5385, 5386
1	26	GABA	B4256	E. coli	5388	cytoplasmatisch	5455, 5456, 5457
1	27	GABA	C_PP0340	P.	5459	cytoplasmatisch	6040

Anwendung	1.		2.		3.		4.		5.		6.		7.	
	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Consensus-/ Mustersequenzen							
1	28	GABA	SLR0739	Synechocystis sp.	6042	plastidisch	6463, 6464, 6465, 6466, 6467, 6468							
1	29	GABA	TTC0019	Thermophilus	6470	cytoplasmatisch	6737, 6738							
1	30	GABA	TTC1550	Thermophilus	6740	cytoplasmatisch	7135, 7136							
1	31	GABA	YJR153W	Saccharomyces cerevisiae	7511	cytoplasmatisch	7630, 7631, 7632							
1	32	GABA	YLR043C	Saccharomyces cerevisiae	7634	plastidisch	8225, 8226							
1	33	GABA	51340801_CANOLA	Beta napus	54	plastidisch	651, 652, 653							
1	34	GABA	YBR159W	Saccharomyces cerevisiae	7138	cytoplasmatisch	7203, 7204, 7205, 7206, 7207							
1	35	GABA	YDR046C	Saccharomyces cerevisiae	7209	cytoplasmatisch	7266, 7267, 7268, 7269, 7270, 7271, 7272, 7273							
1	36	GABA	YGR255C	Saccharomyces cerevisiae	7275	cytoplasmatisch	7486, 7487, 7488							

1.		2.	3.	4.	5.	6.	7.
Anwendung	Hit	Projekt	Locus	Organismus	Leit-SEQ ID	Ziel	SEQ IDs von Consensus-/ Mustersequenzen
1	37	GABA	YHR213W	S. cerevisiae	7490	cytoplasmatisch	7507, 7508, 7509
1	38	GABA	YPL249C-A	S. cerevisiae	8240	cytoplasmatisch	8395, 8396
1	39	GABA	YPR185W	S. cerevisiae	8398	cytoplasmatisch	8413, 8414, 8415, 8416, 8417, 8418, 8419, 8420, 8421, 8422
1	40	GABA	YLR395C	S. cerevisiae	8228	cytoplasmatisch	8237, 8238
1	41	GABA	YDR046C_2	S. cerevisiae	8424	cytoplasmatisch	8481, 8482, 8483, 8484, 8485, 8486, 8487, 8488
1	42	GABA		Onyza saliva	8589	cytoplasmatisch	1864, 1865, 1866, 1867, 1868, 1869, 1870, 1871, 1872, 1873

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Patentliteratur

- WO 01/52620 [0424]
- EP 0424047 [0457, 0640]
- US 5322783 [0457, 0640]
- EP 0397687 [0457, 0640]
- US 5376543 [0457, 0640]
- US 5169770 [0457, 0640]
- US 5990387 [0457, 0640]
- WO 93/07256 [0457, 0640]
- US 5565350 [0478]
- WO 00/15815 [0478]
- EP 388186 [0494]
- WO 95/19443 [0494, 0615]
- EP 335528 [0494]
- WO 93/21334 [0494, 0607, 0615]
- EP 249676 [0494]
- US 4987071 [0596]
- US 5116742 [0596]
- US 6025167 [0596]
- US 5773260 [0596]
- US 5496698 [0596]
- US 4130641 [0598]
- US 4024222 [0598]
- US 4283393 [0598]
- US 5795715 [0598]
- US 4801340 [0599]
- US 5034323 [0599]
- US 5231020 [0599]
- US 5283184 [0599]
- US 5352605 [0606]
- WO 8402913 [0606]
- US 4962028 [0606]
- EP 0388186 A [0607]
- EP 0335528 A [0607]
- EP 0249676 A [0607]
- US 5608152 [0607]
- WO 98/45461 [0607]
- US 5504200 [0607]
- WO 91/13980 [0607]
- WO 95/15389 [0607]
- WO 95/23230 [0607]
- WO 99/16890 [0607]
- US 5187267 [0615]
- WO 96/12814 [0615]
- EP 375091 [0615]
- WO 95/16783 [0615]
- WO 97/06250 [0615]
- US 5510474 [0616]
- US 6020190 [0616]
- US 5086169 [0618]
- US 5412085 [0618]
- US 5545546 [0618]
- US 5470359 [0618]
- US 6004804 [0629]
- US 6007988 [0634]
- US 6013453 [0634]
- US 5789538 [0636]
- WO 9519431 [0636]
- WO 00/47754 [0636]
- WO 2001002019 [0636]
- WO 00120622 [0636]
- WO 95/14098 [0729, 0737]
- WO 2003/102198 [0730]
- WO 03/073464 [0778]
- US 57673666 [0785, 0799, 0805]
- US 6225105 [0785, 0799, 0805]
- US 5164310 [0798]
- WO 94/00977 [0810, 0814]
- WO 95/06722 [0810, 0814]
- US 6025541 [0810, 0814]
- WO 2006092449 [0813]

Zitierte Nicht-Patentliteratur

- Plant Physiol. 115 (1): 129–35 (1997) [0005]
- Trends Plant Sci. 4 (11): 446–452 (1999) [0006]
- Ramputh and Brown, Plant Physiol. 111 (1996): 1349–1352 [0007]
- Shelp et al., Canadian Journal of Botany (2003) 81, 11, 1045–1048 [0007]
- Fait et al., Trends in Plant Sci., Band 13, Nr. 1, S. 14–19, 2007 [0009]
- Bouche et al., Trends in Plant Sci., Band 9, Nr. 3, S. 110–115, 2004 [0009]
- Allan et al., J Exp Bot, Band 59, Nr. 9, S. 2555–2564, 2008 [0010]
- Beuve et al. (in PCE, 27, 1035–1046, 2004) [0010]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0200]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0200]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0203]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0203]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0206]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0206]

- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0299]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0299]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0302]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0302]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0305]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0305]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0308]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0308]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0311]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0311]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0314]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0314]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0317]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0317]
- Goffeau et al., Science 274 (5287), 546–547, 1996 [0320]
- Blattner et al., Science 277 (5331), 1453–1474 (1997) [0320]
- Kochevenko und Willmitzer (Plant Physiol. 2003 Mai; 132 (1): 174–84) [0421]
- Hayashi et al., 1992 (Science 258: 1350–1353) [0421]
- Weigel et al., 2000 (Plant Physiol. 122, 1003–1013) [0421]
- Krysan et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 2283–2290) [0421]
- Sessions et al., 2002 (Plant Cell 2002, 14, 2985–2994) [0421]
- Young et al., 2001, (Plant Physiol. 2001, 125, 513–518) [0421]
- Koprek et al., 2000 (Plant J. 2000, 24, 253–263) [0421]
- Jeon et al., 2000 (Plant J. 2000, 22, 561–570) [0421]
- Tissier et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 1841–1852) [0421]
- Speulmann et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 1853–1866) [0421]
- Krysan et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 2283–2290) [0421]
- Krysan et al., 1999 (Plant Cell 1999, 11, 2283–2290) [0421]
- Koorneef et al. 1982 [0421]
- Lightner und Caspar in „Methods in Molecular Biology“ Band 82 [0421]
- Colbert et al. 2001 [0421]
- Hayashi et al., 1992 (Science 258: 1350–1353) [0423]
- Weigel et al., 2000 (Plant Physiol. 122, 1003–1013) [0423]
- Oriz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, Band 99, 13290 [0424]
- Guan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, Band 99, 13296 [0424]
- Sambrook et al., Molecular Cloning, Cold Spring Harbour, NY, 1989 [0425]
- Hajukiewicz, P. et al., 1994, Plant Mol. Biol., 25: 989–994 [0433]
- Hellens et al, Trends in Plant Science (2000) 5, 446–451 [0433]
- Gallie et al., Nucl. Acids Res. 15 (1987), 8693–8711 [0436]
- Romanos, M. A. et al., [(1992) „Foreign gene expression in yeast: a review“, Yeast 8: 423–488] [0438]
- van den Hondel, C. A. M. J. J. et al. [(1991) „Heterologous gene expression in filamentous fungi“] [0438]
- More Gene Manipulations in Fungi [J. W. Bennet & L. L. Lasure, Hrsg., S. 396–428: Academic Press: San Diego] [0438]
- „Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi“ [van den Hondel, C. A. M. J. J. & Punt, P. J. (1991) in: Applied Molecular Genetics of Fungi, Peberdy, J. F. et al., Hrsg., S. 1–28, Cambridge University Press: Cambridge] [0438]
- Schmidt, R. und Willmitzer, L., 1988 [0438]
- Cloning Vektors (Hrsg. Pouwels P. H. et al. Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018) [0438]
- „Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology“ (CRC Press), Ch. 6/7, S. 71–119 [0438]
- Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990) [0445]
- Gruber und Crosby, in: Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, Hrsg. Glick und Thompson, Kapitel 7, 89–108 [0445]
- Schmidt, R. und Willmitzer, L., 1988, High efficiency Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Arabidopsis thaliana leaf and cotyledon explants, Plant Cell Rep. 583–586 [0446]
- Plant Molecular Biology and Biotechnology, C Press, Boca Raton, Florida, Kapitel 6/7, S. 71–119 (1993) [0446]
- F. F. White, B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg. Kung und R. Wu, 128–43, Academic Press: 1993 [0446]
- Potrykus, 1991, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42: 205–225 [0446]

- Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press: San Diego, CA (1990) [0446]
- Toepfer et al., 1993, Methods Enzymol., 217: 66–78 [0448]
- Toepfer et al. 1987, Nucl. Acids. Res. 15: 5890 ff. [0448]
- Pharmacia Biotech Inc; Smith, D. B. und Johnson, K. S. (1988) Gene 67: 31–40 [0451]
- Amann et al., (1988) Gene 69: 301–315 [0453]
- Studier et al., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Kalifornien (1990) 60–89; Stratagene, Amsterdam, Niederlande [0453]
- Falciatore et al., 1999, Marine Biotechnology 1(3): 239–251 [0455]
- Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2. Ausg., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989 [0456]
- Methods in Molecular Biology, 1995, Band 44, Agrobacterium protocols, Hrsg.: Gartland und Davey, Humane Press, Totooma, New Jersey [0456]
- Koncz und Schell, 1986, Mol. Gen. Genet. 204: 383–396 [0457]
- Deblaere et al., 1994, Nucl. Acids Res. 13: 4777–4788 [0457]
- Gelvin, Stanton B. und Schilperoort, Robert A, Plant Molecular Biology Manual, 2. Ausg. – Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1995. – in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-P ISBN 0-7923-2731-4 [0457]
- Glick, Bernard R.; Thompson, John E., Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, Boca Raton : CRC Press, 1993 360 S., ISBN 0-8493-5164-2 [0457]
- Moloney et al., 1989, Plant cell Report 8: 238–242; De Block et al., 1989, Plant Physiol. 91: 694–701 [0457]
- Mlynarova et al., 1994, Plant Cell Report 13: 282–285 [0457]
- Freeling und Walbot „The maize handbook“ Springer Verlag: New York (1993) ISBN 3-540-97826-7 [0457]
- Cole-Strauss et al., 1999, Nucleic Acids Research 27 (5): 1323–1330 [0459]
- Kmiec, 1999 Gene therapy American Scientist. 87 (3) 240–247 [0459]
- Thomas, K. R., und Capecchi, M. R., 1987, Cell 51: 503 [0460]
- Strepp et al., 1998, PNAS, 95 (8): 4368–4373 [0460]
- Gielen et al., 1984, EMBO J. 3: 835 [0461]
- Gallie et al., 1987, Nucl. Acids Research 15: 8693–8711 [0461]
- Becker, D. et al., 1992, New plant binary vectors with selecTabelle markers located proximal to the left border, Plant Mol. Biol. 20: 1195–1197 [0461]
- Bevan, M. W., 1984, Binary Agrobacterium vectors for plant transformation, Nucl. Acid. Res. 12: 8711–8721 [0461]
- Higher Plants; in: Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15–38 [0461]
- B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg. S. D. Kung und R. Wu, Academic Press (1993) 128–143 [0474]
- Potrykus Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991) 205–225 [0474]
- Bevan et al., Nucl. Acids Res. 12 (1984) 8711 [0474]
- Höfgen und Willmitzer in Nucl. Acid Res. (1988) 16, 9877 [0474]
- F. F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in Transgenic Plants, Band 1, Engineering and Utilization, Hrsg. S. D. Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15–38 [0474]
- S. D. Kung und R. Wu, Potrykus [0476]
- Höfgen and Willmitzer [0476]
- Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993), 361–366 [0494]
- Gatz et al., (1992) Plant J. 2, 397–404 [0494]
- Stockhaus et al., EMBO J. 8 (1989) 2445–245 [0494]
- Chirgwin et al., 1979 Biochemistry 18: 5294–5299 [0502]
- Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989 [0512]
- Chirgwin et al. (1979) Biochemistry 18: 5294–5299 [0513]
- Timothy L. Bailey und Charles Elkan, Dept. of Computer Science and Engineering, University of California, San Diego, USA entwickelt und wird von Timothy L. Bailey und Charles Elkan [Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers, Proceedings of the Second International Conference an Intelligent Systems for Molecular Biology, S. 28–36, AAAI Press, Menlo Park, Kalifornien, 1994 [0520]
- Inge Jonassen, Dept. of Informatics, University of Bergen, Norway und wird von Jonassen et al. [I. Jonassen, J. F. Collins und D. G. Higgins, Finding flexible patterns in unaligned protein sequences, Protein Science 4 (1995), S. 1587–1595 [0522]
- I. Jonassen, Efficient discovery of conserved patterns using a pattern graph, Submitted to CABIOS Febr. 1997 [0522]
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. und Gibson, T. J. (1994) CLUSTAL W: improving the sen-

- sitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673–4680 [0525]
- Sambrook (Molecular Cloning; A Laboratory Manual, 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989)) [0530]
 - Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1–6.3.6 [0530]
 - Sambrook et al., "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989 [0532]
 - Harnes und Higgins (Hrsg.) 1985, "Nucleic Acids Hybridization: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford [0532]
 - Brown (Hrsg.) 1991, "Essential Molecular Biology: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford [0532]
 - W. R. Pearson und D. J. Lipman (1988), Improved Tools for Biological Sequence Comparison. *PNAS* 85: 2444–2448 [0570]
 - W. R. Pearson (1990) Rapid and Sensitive Sequence Comparison with FASTP and FASTA, *Methods in Enzymology* 183: 63–98 [0570]
 - W. R. Pearson und D. J. Lipman (1988) Improved Tools for Biological Sequence Comparison. *PNAS* 85: 2444–2448 [0570]
 - W. R. Pearson (1990); Rapid and Sensitive Sequence Comparison with FASTP and FASTA *Methods in Enzymology* 183: 63–98 [0570]
 - *J. Mol. Evolution.*, 25, 351 (1987), Higgins et al., *CABIOS* 5, 151 (1989) [0571]
 - Needleman und Wunsch (*J. Mol. Biol.* 48; 443 (1970)) [0571]
 - Smith und Waterman (*Adv. Appl. Math.* 2; 482 (1981)) [0571]
 - Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991) [0571]
 - Altschul et al., (*Nucleic Acids Res.* 25, 3389 (1997) [0571]
 - "Needle" ist Teil der The European Molecular Biology Open Software Suite (EMBOSS) (*Trends in Genetics* 16 (6), 276 (2000)) [0571]
 - Gaultier et al., 1987, *Nucleic Acids. Res.* 15: 6625–6641 [0594]
 - Inoue et al., 1987, *Nucleic Acids Res.* 15: 6131–6148 [0594]
 - Inoue et al., 1987, *FERS Lett.* 215: 327–330 [0594]
 - Haselhoff und Gerlach, 1988, *Nature* 334: 585–591 [0596]
 - Bartel, D. und Szostak, J. W., 1993, *Science* 261: 1411–1418 [0596]
 - Moser et al., 1987, *Science* 238: 645–650 [0599]
 - Cooney et al., 1988, *Science* 241: 456–459 [0599]
 - Napoli et al., 1990, *The Plant Cell* 2: 279–289 [0599]
 - Van der Kroll et al., 1990, *The Plant Cell* 2: 291–299 [0599]
 - Smith et al., 1990, *Mol. Gen. Genetics* 224: 477–481 [0599]
 - Napoli et al., 1990, *The Plant Cell* 2: 279–289 [0599]
 - Gielen et al., 1984, *EMBO J.* 3: 835 [0604]
 - Gallie et al., 1987, *Nucl. Acids Research* 15: 8693–8711 [0605]
 - Benfey et al., 1989 *EMBO J.* 8: 2195–2202 [0606]
 - Franck et al., 1980 *Cell* 21: 285–294 [0606]
 - Franck et al., *Cell* 21 (1980) 285–294 [0607]
 - Ward et al., *Plant. Mol. Biol.* 22 (1993) [0607]
 - *Plant J.* 2, 1992: 397–404 (Gatz et al., tetracyclininduzierbar [0607]
 - Stockhaus et al., *EMBO J.* 8, 1989, 2445 [0607]
 - Baeumlein et al., *Plant J.*, 2, 2, 1992: 233–239 [0607]
 - Kermode, 1996 *Crit. Rev. Plant Sci.* 15 (4): 285–423 [0613]
 - Gatz, 1997 *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 89–108 [0614]
 - Ishitani, et al., *Plant Cell* 9: 1935–1949 (1997) [0615]
 - Yamaguchi-Shinozaki und Shinozaki, *Plant Cell* 6: 251–264 (1994) [0615]
 - Capel et al., *Plant Physiol* 115: 569–576 (1997) [0615]
 - Yamaguchi-Shinozaki und Shinozaki, *Mol Gen Genet* 238: 17–25 (1993) [0615]
 - Baker et al., *Plant Mol. Biol.* 24: 701–713 (1994) [0615]
 - Liu et al., *Plant Cell* 6: 645–657 (1994) [0615]
 - Hwang und Goodman, *Plant J* 8: 37–43 (1995) [0615]
 - Ahn et al., *Plant Cell* 8: 1477–1490 (1998) [0615]
 - Plesch et al., *Plant Journal.* 28 (4): 455–64, (2001) [0615]
 - Plesch et al., *Gene* 249: 83–89 (2000) [0615]
 - Nakamura et al., *Plant Physiol.* 109: 371–374 (1995) [0615]
 - Gatz et al. *Plant J.* 2: 397–404 (1992) [0615]
 - Ward et al., 1993 *Plant. Mol. Biol.* 22: 361–366 [0615]
 - Yamaguchi-Shinozaki et al. (1993) *Mol. Gen. Genet.* 236: 331–340 [0615]
 - Ni et al., *Plant Journal* 7, 1995: 661–676 [0616]
 - Callis et al., *J. Biol. Chem.*, 1990, 265: 12486–12493 [0616]

- Kawalleck et al., *Plant. Molecular Biology*, 1993, 21: 673–684 [0616]
- Thompson et al., 1989, *BioEssays* 10: 108 [0617]
- Brent und Ptashne, 1985, *Cell* 43: 729–736 [0619]
- Weintraub, H. et al., 1986, Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis, *Reviews-Trends in Genetics*, Band 1 (1), und Mol et al., 1990, *FEBS Letters* 268: 427–430 [0620]
- *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Band 17 [0626]
- Rehm et al., 1993 *Biotechnology*, Band 3, Kapitel III: Product recovery and purification, Seite 469–714, VCH: Weinheim [0626]
- Belter, P. A. et al., 1988, *Bioseparations: downstream processing for biotechnology*, John Wiley and Sons [0626]
- Kennedy, J. F. und Cabral, J. M. S., 1992, *Recovery processes for biological materials*, John Wiley and Sons [0626]
- Shaeiwitz, J. A. und Henry, J. D., 1988, *Biochemical separations*, in: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Band B3, Kapitel 11, Seite 1–27, VCH: Weinheim [0626]
- und Dechow, F. J., 1989, *Separation and purification techniques in biotechnology*, Noyes Publications [0626]
- Girke, T., 1998, *The Plant Journal* 15: 39–48 [0629]
- Puttaraju et al., 1999, Spliceosomemediated RNA trans-splicing as a tool for gene therapy, *Nature Biotechnology* 17: 246–252 [0629]
- Harlow und Lane, "Antibodies; A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, (1988) [0631]
- Kelly et al., 1992, *Bio/Technology* 10: 163–167 [0631]
- Bebbington et al., 1992, *Bio/Technology* 10: 169–175 [0631]
- Harlow und Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Publications, New York, (1988) [0632]
- Stites et al., Hrsg., "Basic and Clinical Immunology," (Lange Medical Publications, Los Altos, Kalif., 4. Auflage) und den darin angeführten Literaturstellen, und in Harlow und Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Publications, New York, (1988) [0633]
- Isalan M, et al., 1998 *Biochemistry* 37 (35): 12026–33 [0634]
- Moore M, et al., 2001 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (4): 1432–1436 und 1437–1441 [0634]
- Höfgen und Willmitzer, 1990 *Plant Science* 66: 221–230 [0638]
- Hajukiewicz, P. et al., 1994, *Plant Mol. Biol.*, 25: 989–994 [0638]
- Kermode, 1996 *Crit. Rev. Plant Sci.* 4 (15): 285–423 [0639]
- Koncz and Schell, 1986, *Mol. Gen. Genet.* 204: 383–396 [0640]
- Ooms et al., *Plasmid*, 1982, 7: 15–29 [0640]
- Hoekema et al., *Nature*, 1983, 303: 179–180 [0640]
- Deblaere et al., 1994, *Nucl. Acids Res.* 13: 4777–4788 [0640]
- Gelvin und Schilperoort, *Plant Molecular Biology Manual*, 2. Aufl. – Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1995. – in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-P ISBN 0-7923-2731-4 [0640]
- Glick, B R und Thompson, J E, *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Boca Raton: CRC Press, 1993. – 360 S., ISBN 0-8493-5164-2 [0640]
- (Moloney et al., 1989, *Plant Cell Reports* 8: 238–242 [0640]
- De Block et al., 1989, *Plant Physiol.* 91: 694–701 [0640]
- Mlynarova et al., 1994, *Plant Cell Report* 13: 282–285 [0640]
- Freeling and Walbot „The maize handbook“ Springer Verlag: New York (1993) ISBN 3-540-97826-7 [0640]
- Römpp Lexikon Biotechnologie, Stuttgart/ New York: Georg Thieme Verlag 1992, „screening“ S. 701 [0641]
- *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Band 17; Rehm et al., 1993 *Biotechnology*, Band 3, Kapitel III: Product recovery and purification, Seite 469–714, VCH: Weinheim [0641]
- Belter, P. A. et al., 1988 *Bioseparations: downstream processing for biotechnology*, John Wiley and Sons [0641]
- Kennedy, J. F. und Cabral, J. M. S., 1992 *Recovery processes for biological materials*, John Wiley and Sons [0641]
- Shaeiwitz, J. A. und Henry, J. D., 1988 *Biochemical separations*, in: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Band B3, Kapitel 11, Seite 1–27, VCH: Weinheim [0641]
- Dechow, F. J. (1989) *Separation and purification techniques in biotechnology*, Noyes Publications [0641]
- Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 3. Auflage (1994), insbesondere Kapitel 17 [0650]
- Milner, *Nature Medicine* 1 (1995), 879–880 [0652]
- Hupp, *Cell* 83 (1995), 237–245 [0652]
- Gibbs, *Cell* 79 (1994), 193–198 [0652]
- Beilstein, *Handbook of Organic Chemistry*, Springer Auflage New York Inc., 175 Fifth Avenue, New York, N. Y. 10010 U.S.A. und *Organic Synthesis*, Wiley, New York, USA [0652]

- Sambrook et al. [0657]
- Ullman, Encyclopedia of Industrial Chemistry, Band A2, S. 89–90 und S. 443–613, VCH: Weinheim (1985) [0665]
- Fallon, A., et al., (1987) "Applications of HPLC in Biochemistry" in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Band 17 [0665]
- Rehm et al. (1993) Biotechnology, Band. 3, Kapitel III: „Product recovery and purification“, p. 469–714, VCH: Weinheim [0665]
- Belter, P. A., et al. (1988) Bioseparations: downstream processing for Biotechnology, John Wiley and Sons [0665]
- Kennedy, J. F., and Cabral, J. M. S. (1992) Recovery processes for biological Materials, John Wiley and Sons [0665]
- Shaeiwitz, J. A., und Henry, J. D. (1988) Biochemical Separations, in: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Band B3; Kapitel 11, S. 1–27, VCH: Weinheim [0665]
- Dechow, F. J. (1989) Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications [0665]
- Patek et al. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60: 133–140 [0676]
- Malakhova et al. (1996) Biotekhnologiya 11 27–32 [0676]
- Schmidt et al. (1998) Bioprocess Engineer. 19: 67–70. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH Weinheim, S. 89–90, S. 521–540, S. 540–547, S. 559–566, 575–581 und S. 581–587 [0676]
- Michal, G (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley and Sons [0676]
- Fallon, A. et al. (1987) Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Band 17 [0676]
- Sambrook et al., Molecular Cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press [0705]
- Comai et al., Plant Mol Biol 15, 373–383 (1990) [0728]
- Ni et al., Plant Journal 7, 661 (1995) [0729]
- Kawalleck et al., Plant. Molecular Biology, 21, 673 (1993) [0730]
- Ni et al., Plant Journal 7, 661 (1995) [0737]
- Koncz und Schell, Mol. Gen. Gent. 204, 383 1986 [0750]
- Clough J. C. und Bent A. F. (Plant J. 16, 735 (1998) [0757]
- McKersie et al., Plant Physiol. 119, 839 (1999) [0784]
- Plant Cell Tissue Organ Culture 4, 111 (1985) [0784]
- Walker et al., Am. J. Bot. 65, 654 (1978) [0784]
- McKersie et al., Plant Physiol 119: 839 (1990) [0785]
- An, G. in Agrobacterium Protocols. Methods in Molecular Biology Bd. 44, S. 47–62, Garland KMA und MR Davey Hrsg. Humana Press, Totowa, New Jersey [0785]
- Nucleic Acid Research. 12, 8711 (1984) [0785]
- Murashige und Skoog, 1962 [0786]
- Sanford et al., 1993 [0792]
- An, G. in Agrobacterium Protocols. Methods in Molecular Biology Bd. 44, S. 47–62, Garland K.M.A. und M.R. Davey Hrsg. Humana Press, Totowa, New Jersey [0799]
- Nucleic Acid Research. 12, 8711 (1984) [0799]
- Babic et al. (1998, Plant Cell Rep 17: 183–188) [0804]
- An, G. in Agrobacterium Protocols. Methods in Molecular Biology Bd. 44, S. 47–62, Garland K.M.A. und M. R. Davey Hrsg. Humana Press, Totowa, New Jersey [0805]
- Nucleic Acid Research. 12: 8711 (1984) [0805]
- Ishida et al. (Nature Biotech 14745 (1990) [0810]
- Fromm et al. Biotech 8: 833 (1990) [0810]
- Ishida et al. (Nature Biotech 14745 (1996) [0814]
- Sambrook, J. et al., 1989, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual, „Cold Spring Harbor Laboratory Press [0824]
- Ausubel, F. M. et al., 1994, "Current Protocols in Molecular Biology," John Wiley & Sons [0824]
- Gu et al., BioTechniques 17: 257 (1994) [0825]
- Sambrook, J. et al., 1989, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual," Cold Spring Harbor Laboratory Press [0825]
- Ausubel, F. M. et al., 1994, "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons [0825]
- Rupp, W. D., DNA repair mechanisms, in: Escherichia coli and Salmonella, S. 2277–2294, ASM, 1996, Washington [0826]
- Greener, A. und Callahan, M., Strategies 7, 32 (1994) [0826]
- Estelle und Somerville, 1987 [0829]

Patentansprüche

1. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Zelle mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle, durch Erhöhen oder Erzeugen einer oder mehrerer Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus: Factor-Arrest-Protein, 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transporterprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismat-synthase, Transporterprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein.

2. Verfahren zum Herstellen einer transgenen Zelle mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Zelle, das mindestens einen der Schritte umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- (i) Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Polypeptids, das ein Polypeptid, eine Consensus-Sequenz oder mindestens ein Polypeptidmotiv umfasst, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II bzw. Tabelle IV dargestellt;
- (ii) Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines Expressionsprodukts eines Nukleinsäuremoleküls, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I dargestellt, und
- (iii) Erhöhen oder Erzeugen der Aktivität eines funktionellen Äquivalents von (i) oder (ii).

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Expression mindestens eines Nukleinsäuremoleküls, das ein Nukleinsäuremolekül umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- a) einem Nukleinsäuremolekül, das das Polypeptid kodiert, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II gezeigt wird;
- b) einem Nukleinsäuremolekül, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird;
- c) einem Nukleinsäuremolekül, das infolge der Degeneration des genetischen Codes von einer Polypeptidsequenz abgeleitet werden kann, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II dargestellt ist, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- d) einem Nukleinsäuremolekül, das mindestens 30% Identität mit der Nukleinsäuremolekülsequenz eines Polynukleotids aufweist, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- e) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mindestens 30% Identität mit der Aminosäuresequenz des Polypeptids aufweist, das von dem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- f) einem Nukleinsäuremolekül, das mit einem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) unter stringenten Hybridisierungsbedingungen hybridisiert und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- g) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mit Hilfe monoklonaler oder polyklonaler Antikörper isoliert werden kann, die gegen ein Polypeptid hergestellt wurden, das von einem der Nukleinsäuremoleküle aus (a) bis (e) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch das Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt;
- h) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Consensus-Sequenz oder ein oder mehrere Polypeptidmotiv(e) umfasst, wie in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt, und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt;
- i) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- j) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polynukleotid umfasst, das durch Amplifizieren einer cDNA-Bibliothek oder einer Genbibliothek unter Verwendung der Primer in Spalte 7 von Tabelle III erhalten wird und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt; und

k) einem Nukleinsäuremolekül, das durch Screening einer geeigneten Nukleinsäurebibliothek unter stringenten Hybridisierungsbedingungen mit einer Sonde erhalten werden kann, die eine komplementäre Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls aus (a) oder (b) umfasst oder mit einem Fragment davon, das mindestens 15 nt, bevorzugt 20 nt, 30 nt, 50 nt, 100 nt, 200 nt oder 500 nt eines Nukleinsäuremoleküls aufweist, das komplementär zu einer Nukleinsäuremolekülsequenz ist, die in (a) bis (e) charakterisiert wird, und ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, das ein Polypeptid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt; erhöht oder erzeugt wird.

4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, wobei die eine oder die mehreren Aktivitäten, die erhöht oder erzeugt werden, Factor-Arrest-Protein, 60S-ribosomales Protein, ABC-Permease-Transportprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenes Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettige Aminosäure-Permease, calciumabhängige Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transportprotein des MFS-Typs, mikrosomale beta-keto-Reduktase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängige Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin-Family-Protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase bzw. YHR213W-Protein ist (sind).

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die transgene Zelle eine Pflanzenzelle, eine Pflanze oder ein Teil davon mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, ist.

6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei die transgene Pflanzenzelle, eine Pflanze oder ein Teil davon von einer einkeimblättrigen Pflanze, einer zweikeimblättrigen Pflanze oder einer Gymnospermenpflanze abgeleitet ist.

7. Verfahren nach Anspruch 5, wobei die transgene Pflanze ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Ölraps, einschließlich Canola und Winterölraps, Maiskorn, Maniok, Pfeffer, Sonnenblume, Flachs, Borretsch, Färberdistel, Lein, Primel, Rübsamen, Rübennohl, Tagetes, nachtschattenartigen Pflanzen, Kartoffel, Tabak, Aubergine, Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Luzerne, Kaffee, Kakao, Tee, Salix-Arten, Ölpalme, Kokosnuss, perennierenden Gräsern, Futterpflanzen und *Arabidopsis thaliana*.

8. Isoliertes Nukleinsäuremolekül, das ein Nukleinsäuremolekül umfasst, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- a. einem Nukleinsäuremolekül, das das Polypeptid kodiert, das in Spalte 5 oder 7 von Table IIB gezeigt wird;
- b. einem Nukleinsäuremolekül, das in Spalte 5 oder 7 von Table IB gezeigt wird;
- c. einem Nukleinsäuremolekül, das infolge der Degeneration des genetischen Codes von einer Polypeptidsequenz abgeleitet werden kann, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle II dargestellt ist, und einen erhöhten Ertrag unter Stressbedingung verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- d. einem Nukleinsäuremolekül, das mindestens 30% Identität mit der Nukleinsäuremolekülsequenz eines Polynukleotids aufweist, das das Nukleinsäuremolekül umfasst, das in Spalte 5 oder 7 von Tabelle I gezeigt wird, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- e. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mindestens 30% Identität mit der Aminosäuresequenz des Polypeptids aufweist, das von dem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt, und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- f. einem Nukleinsäuremolekül, das mit einem Nukleinsäuremolekül aus (a) bis (c) unter stringenten Hybridisierungsbedingungen hybridisiert und einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;
- g. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das mit Hilfe monoklonaler oder polyklonaler Antikörper isoliert werden kann, die gegen ein Polypeptid hergestellt wurden, das von einem der Nukleinsäuremoleküle aus (a) bis (e) kodiert wird und die Aktivität aufweist, die durch das Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle I dargestellt;

h. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Consensus-Sequenz oder ein oder mehrere Polypeptidmotiv(e) umfasst, wie in Spalte 7 von Tabelle IV gezeigt, und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt;

i. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, wie in Spalte 5 von Table II dargestellt, und einen erhöhten Ertrag unter der Bedingung von vorübergehendem und sich wiederholendem abiotischem Stress verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon;

j. einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polynukleotid umfasst, das durch Amplifizieren einer cDNA-Bibliothek oder einer Genbibliothek unter Verwendung der Primer in Spalte 7 von Tabelle III, die an ihrem 5'-Ende nicht mit den Nukleotiden ATA beginnen, erhalten wird und bevorzugt die Aktivität aufweist, die durch ein Nukleinsäuremolekül repräsentiert wird, das ein Polynukleotid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II oder IV dargestellt; und

k. einem Nukleinsäuremolekül, das durch Screening einer geeigneten Nukleinsäurebibliothek unter stringenten Hybridisierungsbedingungen mit einer Sonde erhalten werden kann, die eine komplementäre Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls aus (a) oder (b) umfasst oder mit einem Fragment davon, das mindestens 15 nt, bevorzugt 20 nt, 30 nt, 50 nt, 100 nt, 200 nt oder 500 nt eines Nukleinsäuremoleküls aufweist, das komplementär zu einer Nukleinsäuremolekülsequenz ist, die in (a) bis (e) charakterisiert wird, und ein Polypeptid kodiert, das die Aktivität aufweist, die durch ein Protein repräsentiert wird, das ein Polypeptid umfasst, wie in Spalte 5 von Tabelle II dargestellt.

9. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 8, wobei das Nukleinsäuremolekül gemäß (a) bis (k) mindestens in einem oder mehreren Nukleotiden von der Sequenz verschieden ist, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IA dargestellt ist, und bevorzugt ein Protein kodiert, das sich in mindestens einer oder mehreren Aminosäuren von den Proteinsequenzen unterscheidet, die in Spalte 5 oder 7 von Tabelle IIA dargestellt sind.

10. Nukleinsäurekonstrukt, das die Expression des Nukleinsäuremoleküls aus Anspruch 8 oder 9 verleiht, das ein oder mehrere Regulationselemente umfasst.

11. Vektor, der das Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 8 oder 9 oder das Nukleinsäurekonstrukt nach Anspruch 10 umfasst.

12. Wirtszelle, die stabil oder vorübergehend mit dem Vektor nach Anspruch 11 oder dem Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 8 oder 9 oder dem Nukleinsäurekonstrukt nach Anspruch 10 transformiert wurde, und die aufgrund der Transformation einen erhöhten Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, zeigt.

13. Verfahren zum Herstellen eines Polypeptids, wobei das Polypeptid in dem Wirtskern oder in der Wirtszelle nach Anspruch 12 exprimiert wird.

14. Polypeptid, das durch das Verfahren nach Anspruch 13 hergestellt oder durch das Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 8 oder 9 kodiert wird, wobei das Polypeptid sich über die Sequenz, wie in Tabelle IIA gezeigt, durch eine oder mehrere Aminosäuren unterscheidet.

15. Antikörper, der spezifisch an das Polypeptid nach Anspruch 14 bindet.

16. Zellkern, Zelle, Pflanzenzellkern, Pflanzenzellpflanzengewebe, Fortpflanzungsmaterial, Pollen, Nachkommen, geerntetes Material oder eine Pflanze, der/die/das das Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 8 oder 9 oder den Wirtskern oder die Wirtszelle nach Anspruch 12 umfasst.

17. Transgener Pflanzenzellkern, transgene Pflanzenzelle, transgene Pflanze oder Teil davon nach Anspruch 16, der/die von einer einkeimblättrigen Pflanze abgeleitet ist.

18. Transgener Pflanzenzellkern, transgene Pflanzenzelle, transgene Pflanze oder Teil davon nach Anspruch 16, der/die von einer zweikeimblättrigen Pflanze abgeleitet ist.

19. Transgener Pflanzenzellkern, transgene Pflanzenzelle, transgene Pflanze oder Teil davon nach Anspruch 16, wobei die entsprechende Pflanze ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Maiskorn (Mais), Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Ölraps, einschließlich Canola und Winterölraps, Maniok, Pfeffer, Sonnenblume, Flachs, Borretsch, Färberdistel, Lein, Primel, Rübsamen, Rübenkohl, Tagetes, nachtschattenartigen Pflanzen, umfassend Kartoffel, Tabak, Aubergine, Tomate, Vicia-

Arten, Erbse, Luzerne, Kaffee, Kakao, Tee, Salix-Arten, Ölpalme, Kokosnuss, perennierenden Gräsern, Futterpflanzen und *Arabidopsis thaliana*.

20. Transgener Pflanzenzellkern, transgene Pflanzenzelle, transgene Pflanze oder Teil davon nach Anspruch 16, wobei die Pflanze ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Maiskorn, Soja, Raps (einschließlich Canola und Winterölraps), Baumwolle, Weizen und Reis.

21. Transgene Pflanze, die einen oder mehrere Pflanzenzellkerne oder Pflanzenzellen, Nachkommen, Samen oder Pollen umfasst oder durch eine transgene Pflanze nach einem der Ansprüche 16 bis 20 hergestellt wird.

22. Transgene Pflanze, transgener Pflanzenzellkern, transgene Pflanzenzelle, Pflanze, die/der einen oder mehrere solcher transgenen Pflanzenzellkerne oder Pflanzenzellen, Nachkommen, Samen oder Pollen, die von einer transgenen Pflanze nach einem der Ansprüche 16 bis 20 abgeleitet sind oder durch sie hergestellt werden, umfasst, wobei die transgene Pflanze, der transgene Pflanzenzellkern, die transgene Pflanzenzelle, die Pflanze, die einen oder mehrere solcher transgenen Pflanzenzellkerne oder Pflanzenzellen, Nachkommen, Samen oder Pollen umfasst, für ein Transgen genetisch homozygot ist, das erhöhten Ertrag verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer transgenen Pflanze oder einem Teil davon.

23. Verfahren zum Identifizieren einer Verbindung, die einen erhöhten Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA) verleiht, verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp, das die folgenden Schritte umfasst:

- a) Kultivieren einer Pflanzenzelle; einer Pflanze oder eines Teils davon, wodurch eine Pflanze erhalten wird, die das Polypeptid nach Anspruch 14 exprimiert, das einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon; einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze oder eines Teils davon und eines Ablesesystems, das in der Lage ist, unter geeigneten Bedingungen, die eine Wechselwirkung des Polypeptids mit diesem Ablesesystem in Gegenwart einer Verbindung oder einer Probe erlauben, die mehrere Verbindungen umfasst, mit dem Polypeptid in Wechselwirkung zu treten und dazu in der Lage ist, ein nachweisbares Signal als Reaktion auf die Bindung einer Verbindung an das Polypeptid unter Bedingungen bereitzustellen, die die Expression des Ablesesystems und des Polypeptids nach Anspruch 14 ermöglichen, das einen erhöhten GABA-Gehalt verleiht, verglichen mit einer entsprechenden nicht transformierten Wildtyp-Pflanzenzelle, einer -Pflanze oder einem Teil davon; einer nicht transformierten Wildtyp-Pflanze oder eines Teils davon;
- b) Identifizieren, ob die Verbindung ein wirksamer Agonist ist, indem die Gegenwart oder Abwesenheit oder die Erhöhung eines Signals, das von dem Ablesesystem hergestellt wird, nachgewiesen wird.

24. Verfahren zur Herstellung einer landwirtschaftlichen Zusammensetzung, das die Schritte des Verfahrens nach Anspruch 22 und des Formulierens der Verbindung, die in Anspruch 22 identifiziert wird, in einer Form umfasst, die für eine Anwendung in der Landwirtschaft unbedenklich ist.

25. Zusammensetzung, die das Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 8 oder 9, das Polypeptid nach Anspruch 16, das Nukleinsäurekonstrukt nach Anspruch 10, den Vektor nach Anspruch 11, die Verbindung nach Anspruch 22, den Antikörper nach Anspruch 15 und optional einen landwirtschaftlich unbedenklichen Träger umfasst.

26. Isoliertes Polypeptid, wie in Tabelle II, bevorzugt Tabelle IIB dargestellt, das ausgewählt ist aus *Escherichia coli*, *Arabidopsis thaliana*, *Azotobacter vinelandii*, *Brassica napus*, *Physcomitrella patens*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Synechocystis* sp. und/oder *Thermus thermophilus*.

27. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, das ein Polypeptid kodiert, dessen Aktivität ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Factor-Arrest-Protein, 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transportprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigtkettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Fumarylacetoacetathydrolase, Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin induced family Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transportprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reductase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin family protein, Transkriptionsregulator,

Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein, zum Herstellen einer Zelle, bevorzugt einer Pflanzenzelle, mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp.

28. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, das ein Polypeptid kodiert, dessen Aktivität ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Factor-Arrest-Protein, 60S-ribosomalem Protein, ABC-Permease-Transportprotein, Acetyltransferase, Acylcarrierprotein, At4g32480-Protein, At5g16650-Protein, ATP-Bindungsprotein, autophagiebezogenem Protein, Auxin-Responsefaktor, Auxin-Transkriptionsfaktor, b1003-Protein, b1522-Protein, b2739-Protein, b3646-Protein, B4029-Protein, verzweigt-kettiger Aminosäure-Permease, calciumabhängiger Proteinkinase, Cytochrom-c-Oxidase-Untereinheit VIII, Elongationsfaktor Tu, Fumarylacetoacetylhydrolase, Geranylgeranylpyrophosphat synthase, Glucosedehydrogenase, Glycosyltransferase, Harpin-Induced-Family-Protein, Homocitratsynthase, Hydrolase, Isochorismatsynthase, Transportprotein des MFS-Typs, mikrosomaler beta-keto-Reductase, Polygalacturonase, Proteinphosphatase, Pyruvatkinase, Sec-unabhängiger Proteintranslocase-Untereinheit, Serinprotease, Thioredoxin, Thioredoxin family protein, Transkriptionsregulator, Ubichinon-Biosynthesemonooxygenase und YHR213W-Protein als Marker zur Selektion von Pflanzen oder Pflanzenzellen mit erhöhtem Gehalt an gamma-Aminobuttersäure (GABA), verglichen mit einem entsprechenden nicht transformierten Wildtyp.

Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Plasmidfiguren

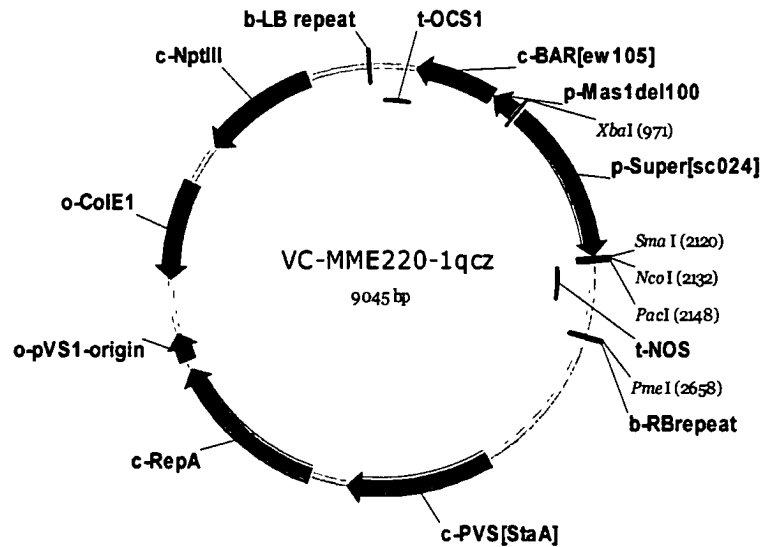


Fig. 1 Vektor VC-MME220-1qcz (SEQ ID NO: 35), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die nicht zielgesteuerte Expression verwendet wird.

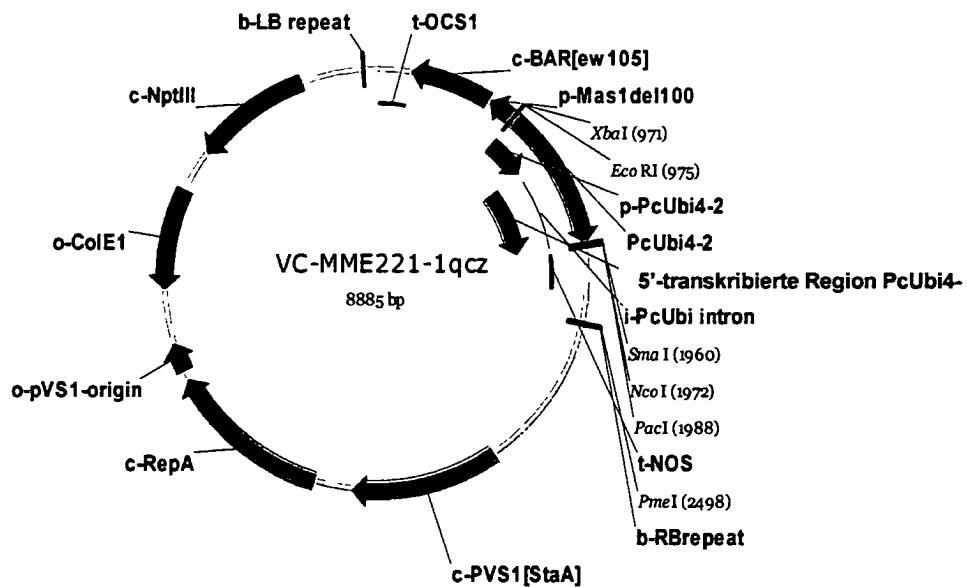


Fig. 2 Vektor VC-MME221-1qcz (SEQ ID NO: 38), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die nicht zielgesteuerte Expression verwendet wird.

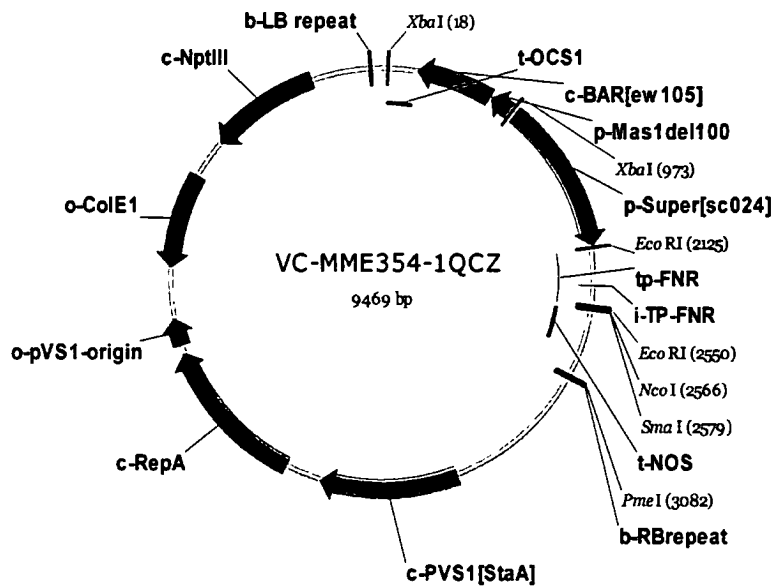


Fig. 3 Vektor VC-MME354-1QCZ (SEQ ID NO: 31), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die plastidische, zielgesteuerte Expression verwendet wird.

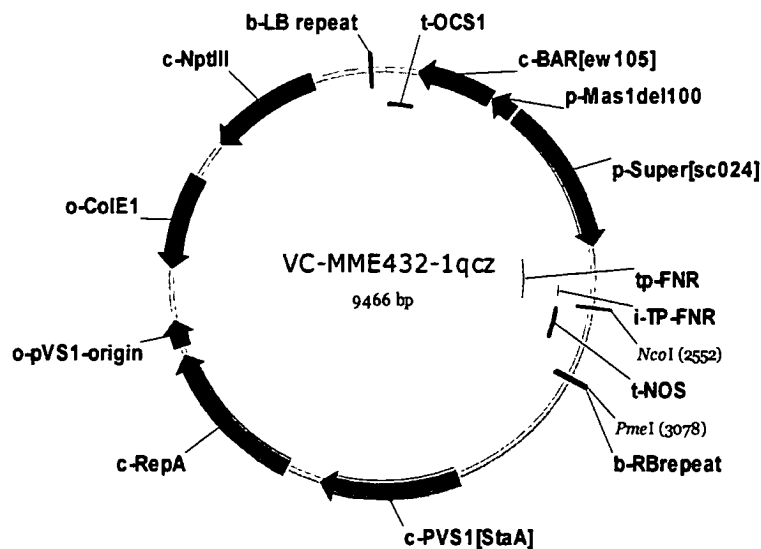


Fig. 4 Vektor VC-MME432-1qcz (SEQ ID NO: 36), der zur Klonierung des interessierenden Gens für die plastidische zielgesteuerte Expression verwendet wird.

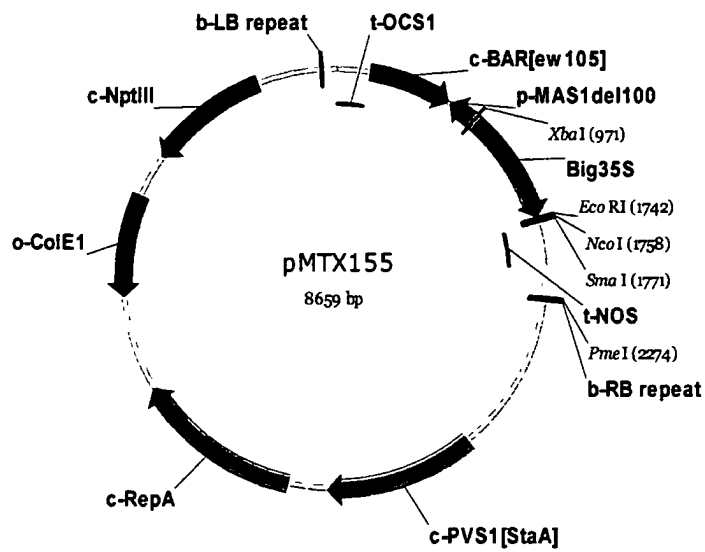


Fig. 5 Vektor pMTX155 (SEQ ID NO: 30) der zur Klonierung des interessierenden Gens für die nicht zielgesteuerte Expression verwendet wird.

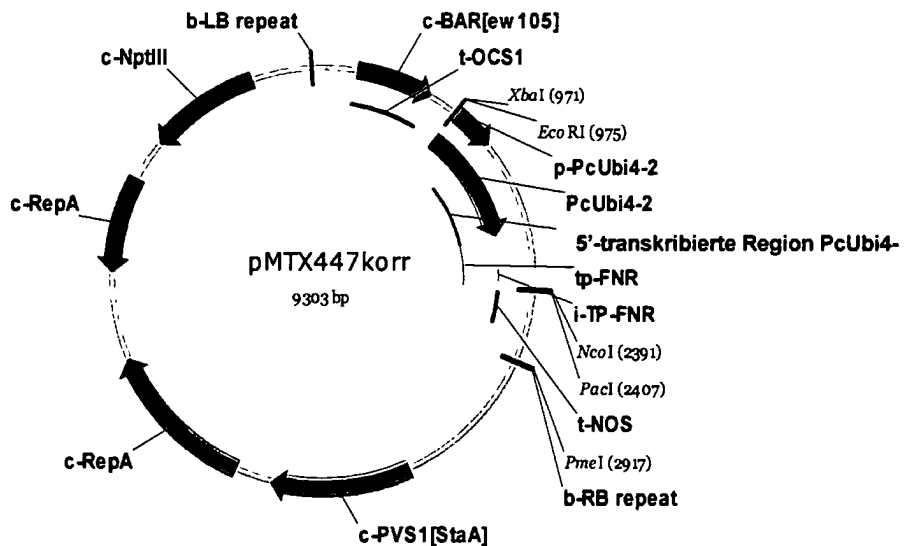


Fig. 6 Vektor pMTX447korr (SEQ ID NO: 39), der für die plastidische zielgesteuerte Expression verwendet wird.

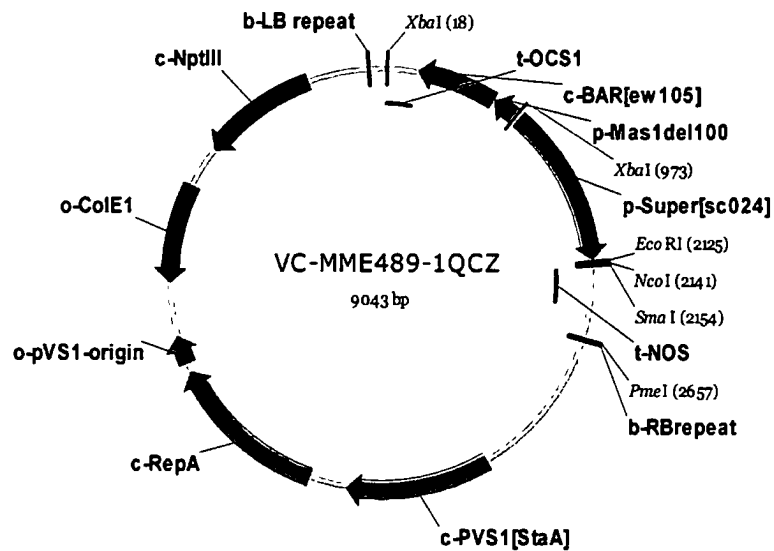


Fig. 7 Vektor VC-MME489-1QCZ (SEQ ID NO: 41), der der zur Klonierung des interessierenden Gens für die nicht zielgesteuerte Expression und zur Klonierung einer Targeting-Sequenz verwendet wird.