

## Zusammenfassung

Innerhalb der Thioredoxin-Familie sind Glutaredoxine eine Gruppe kleiner Glutathion-abhängiger Oxidoreduktasen. Sie üben eine wichtige Funktion in der Redoxregulation und in der Stressantwort aus, indem sie Zielproteine posttranslational, über die Reduktion von Disulfidbrücken, modifizieren. Eine Einteilung in verschiedene Glutaredoxin-Familien erfolgt anhand ihrer aktiven Motive vom CGFS-, CPYC- oder CC-Typ. Mitglieder des CGFS- und CPYC-Typs sind ubiquitär in allen Lebewesen vorhanden, wohingegen der CC-Typ spezifisch für Landpflanzen ist. Im Laufe der Evolution stieg die Anzahl der Mitglieder der CC-Typ-Glutaredoxine von 2 in *Physcomitrella patens* auf 21 in *Arabidopsis thaliana* an, während die Anzahl der CGFS- und CPYC-Glutaredoxine relativ konstant blieb. Die Zunahme des CC-Typs korreliert mit der Entwicklung von komplexen Pflanzenorganen. Für 2 in *Arabidopsis* charakterisierte CC-Typ-Glutaredoxine, *AtROXY1* und *AtROXY2*, wurde eine vollkommen neue Funktion, neben der Redoxregulation, in der Blütenentwicklung gezeigt. Die *Arabidopsis*-Mutante *Atroxyl* bildet eine reduzierte Anzahl an Petalen und zeigt auch während späterer Differenzierungsstadien weitere Defekte. Die *Atroxylroxy2*-Mutante ist zusätzlich in der Antheren-Bildung gestört. Wahrscheinlich werden Proteine, die für eine normale Blütenorganogenese notwendig sind, beispielsweise TGA-Transkriptionsfaktoren, von *AtROXY1/2* posttranslational modifiziert. In *Arabidopsis* haben CC-Typ-Glutaredoxine wie *AtROXY19* eine weitere Funktion in der Pathogenabwehr.

Das Ziel dieser Arbeit war, die ursprüngliche Funktion der CC-Typ-Glutaredoxine *PpROXY1* und *PpROXY2* in dem Modell für basale Landpflanzen, *Physcomitrella patens*, zu untersuchen. Komplementationsuntersuchungen mit *PpROXY1/2* in der *Atroxyl*-Mutante in *Arabidopsis* zeigten überraschenderweise eine konservierte Funktion von *PpROXY1/2* und *AtROXY1*. Sowohl *PpROXY1*, als auch *PpROXY2* konnten den *Atroxyl*-Phänotyp vollständig aufheben. Dreidimensionale Strukturvorhersagen ergaben, dass *PpROXY1/2* eine ähnliche Struktur wie *AtROXY1* haben könnten. Überexpressionsexperimente wiesen auf konservierte und auch unterschiedliche Funktionen bei der ektopischen Expression von *PpROXY1* und *PpROXY2* im heterologen System *Arabidopsis* hin. Sie zeigten eine gemeinsame Beeinflussung des Blühzeitpunktes und lieferten Hinweise auf eine erhöhte Pathogen-Sensitivität *PpROXY2*-überexpmierender Pflanzen.

In RT-PCR-Untersuchungen wurde für *PpROXY1/2* eine starke Expressionsdynamik während des *Physcomitrella*-Lebenszyklus festgestellt, wie sie auch schon für die homologen *ROXY*-Gene in der Blütenentwicklung von *Arabidopsis* und *Oryza* gezeigt wurde. Die Detektion der Expression von *PpROXY1/2* in jungen Geweben wurde durch die Ergebnisse aus GUS-Untersuchungen unterstützt. Die transiente und dynamische Expression in jungen, gerade gebildeten Organen und Geweben scheint ein gemeinsames Merkmal der bislang untersuchten *ROXY*-Gene zu sein.

Für eine Funktionsanalyse der Gene in *Physcomitrella* wurden *Ppoxyl1*- und *Ppoxyl2*-knock-

*out*-Linien hergestellt. Durch zelleigene homologe Rekombination wurden *PpROXY1* und *PpROXY2* durch eine Reportergen-Resistenzgen-Kassette am Wildtyp-Lokus in *Physcomitrella* ausgetauscht.

Von den erhaltenen und mit unabhängigen Methoden verifizierten *Pproxy1/2-knock-out*-Linien wurden je 2 Linien phänotypisch charakterisiert. Bei diesen Untersuchungen wurde festgestellt, dass die Gametophoren-Bildung in *Pproxy1*- und *Pproxy2-knock-out*-Linien unterschiedlich stark beschleunigt ist und dass *Pproxy1*-Linien, vermutlich auf Grund der schnelleren Initiierung von Gametophoren, längere Gametophoren entwickeln. Die Bildung längerer Gametophoren kann durch eine frühzeitige Induktion von reproduktiven Organen unterbunden werden.

CC-Typ-Glutaredoxine könnten im Verlauf der Evolution kooptiert worden sein und neben der gezeigten Redoxregulation bei der Initiierung neuer morphologischer Strukturen in basalen und höheren Pflanzen, als auch in der Pathogen-Abwehr in *Arabidopsis*, mitwirken.