

Zusammenfassung

Rolle von miRNAs auf die Regulation der Flavonolpfad-Gen Expression in *Arabidopsis thaliana* und ihr möglicher Einfluß auf das Wechselspiel zwischen UV-B und flg22 Signaltransduktionskaskaden

Zheng Zhou

Pflanzen sind in ihrer natürlichen Umgebung verschiedenen Stressen abiotischer und biotischer Natur ausgesetzt und haben entsprechende Anpassungsstrategien entwickelt. Im Falle von UV-B Strahlung schützen sich Pflanzen durch die Produktion von Sinapoylmalat und Flavonoiden, welche als natürlicher Sonnenschutz fungieren. Seit mehr als 20 Jahren ist bekannt, dass die durch UV-B induzierte Expression der Flavonolpfad-Gene (FPGs) durch die zeitgleiche Applikation sogenannter Elizitoren, welche biotischen Stress simulieren unterdrückt wird. Zu diesen Elizitoren gehört auch das bakterielle Peptid flg22, welche die MAMP-Induzierte Immunität (engl.: MTI) in der Pflanze auslösen. Obwohl dieses Wechselspiel (Crosstalk) zwischen den abiotischen (UV-B) und biotischen (flg22) Signaltransduktionskaskaden intensiv in Zellkulturen untersucht wurden, blieben die zugrundeliegenden Mechanismen weitestgehend unbekannt. Daher ist ein tieferes Verständnis und eingehende Analyse der für den Crosstalk verantwortlichen Signal-Wege von großer wissenschaftlicher, aber auch praktischer Bedeutung. In dieser Arbeit werden zusätzlich zur allgemeinen Einleitung (Kapitel I) und Diskussion (Kapitel V), drei Kapitel vorgestellt, in denen die molekularen Mechanismen, welche dem Crosstalk unterliegen näher beleuchtet werden, mit dem Fokus auf der Rolle pflanzlicher mikro-RNAs (miRNAs).

Kapitel II ist eine Originalpublikation, in welcher die Funktionalität des Crosstalks in Arabidopsis Keimlingen dargestellt wird. In pflanzlichen Zellkulturen wurde bereits gezeigt, dass die von der Expression von FPGs abhängige Produktion der Flavonoide durch UV-B induziert, aber durch den bakteriellen Elizitor flg22. Hier erweitern wir diese Beobachtung auf Arabidopsis Keimlinge und zeigen so, dass der Crosstalk auch *in planta* funktioniert. Ein auf Keimlingen basierendes System in der Modellpflanze Arabidopsis stellt ein wertvolles Werkzeug dar, um den Mechanismus des Crosstalks aufzuklären, z.B. durch die Analyse von Überexpressions- oder Funktionsverlust-Mutanten in Kandidatengenen.

Kapitel III stellt ein Manuskript dar, in welchem wir Arabidopsis miRNAs identifizieren, die während des Crosstalks differenziell reguliert werden. Zwei miRNA-Zielgenen Regulationsmodule wurden im Crosstalk identifiziert, die eine ihren Zielgenen entgegengesetzte Regulation auf Transkriptionsebene zeigen. Außerdem wurde der erste genetische Beweis erbracht, dass die in dieser Studie identifizierten miRNAs eine wichtige Rolle in der Regulierung des Crosstalks zwischen den flg22 und UV-B induzierten Signaltransduktionskaskaden spielen.

Kapitel IV ist ein Manuskript, in welchem die Funktion von miR858 und miR828 im Crosstalk näher beleuchtet wird. Hier zeigen wir, dass beide miRNAs durch UV-B und flg22 in Abhängigkeit der zugehörigen Rezeptoren (UVR8 bzw. FLS2) und den durch diese aktivierten Signaltransduktionskaskaden reguliert werden. Ein Vergleich zwischen der Expression von miR858/MYB111-promoter-GUS Konstrukten und den nativen Transkriptmengen zeigt, dass MYB111 nicht nur transkriptional reguliert ist, sondern auch post-transkriptional durch miRNA858 in Abhängigkeit von UV-B oder flg22 Behandlung. Daraus lässt sich folgern, dass die post-transkriptionale Regulation durch pflanzliche miRNAs direkt zum Crosstalk zwischen der flg22 und UV-B vermittelten Signaltransduktion beiträgt. Dies erlaubt eine Erweiterung des Crosstalk-Modells zwischen der pflanzlichen Reaktion auf biotischen (flg22) und abiotischen (UV-B) Stress in Arabidopsis.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit neben der allgemeinen Bedeutung von miRNAs, dass einige neu identifizierte pflanzliche miRNAs eine wichtige Rolle im Crosstalk zwischen der biotischen (flg22) und abiotischen (UV-B) Stressantwort spielen, was unser Verständnis über ihre regulatorische Funktion enorm erweitert. Zusätzlich bieten diese Ergebnisse eine gute Erklärung den Mechanismus dieses Crosstalks zu verstehen und so eine praktische Anwendung zu ermöglichen, z.B. durch Manipulation des regulatorischen Netzwerkes mittels CRISPR Technologie, um so die pflanzliche Abwehr gegen verschiedene (a) biotische Stresse zu verbessern.