

5 Zusammenfassung

Die hier vorgestellten Arbeiten haben zum ersten Mal die rezeptorvermittelte Aktivierung pflanzlicher MAPKs gezeigt. Nach Bindung eines Elicitorpeptids an einen Rezeptor der Plasmamembran von Petersiliezellen werden über einen weitgehend unbekanntem Signalweg drei verschiedene MAPKs (40, 44 und 46 kDa) aktiviert. Die Aktivierung der MAPKs erfolgt durch Phosphorylierung des konservierten TEY-Motivs auf der MAPK-Aktivierungsschleife. In In-Gel-MBP-Kinasenachweisen zeigte die elicitorresponsive 40-kDa-MAPK deutliche Unterschiede zu der 44- und der 46-kDa-MAPK und gehört möglicherweise einer bisher nicht bekannten Unterfamilie pflanzlicher MAPKs an.

Es wurde gezeigt, daß elicitorstimulierte Ionenströme über die Plasmamembran hinreichend und notwendig für die Aktivierung der elicitorresponsiven MAPKs sind. Der "oxidative burst", der ebenfalls eine wichtige Signalkomponente in der Petersilie-Elicitorantwort darstellt, liegt dahingegen unterhalb der MAPK-Induktion oder in einem parallelen Signalweg. Es konnten 5 verschiedene Petersilie-MAPK-cDNAs aus 3 unterschiedlichen Untergruppen kloniert werden (*MPK1-5*), von denen vier funktionell in Bakterien exprimiert wurden. Durch die Verwendung von Peptiden aus heterologen Sequenzbereichen konnten trotz der hohen Homologie der klonierten Petersilie-MAPKs Antiseren gewonnen werden, die spezifisch zwischen den verschiedenen Untergruppen diskriminieren. Mit ihnen und mit Seren gegen Medicago-MAPKs wurden die elicitorresponsiven MAPKs immunologisch charakterisiert. Dabei konnte nachgewiesen werden, daß die größte der elicitorresponsiven MAPKs (46 kDa) identisch mit MPK3 ist und daß MPK1, 4 und 5 nicht elicitorresponsiv sind.

Durch Immunlokalisierungsstudien wurde demonstriert, daß MPK3 nach Elicitierung im Zellkern akkumuliert. Dieser schnelle elicitorstimulierte Kernttransport läßt vermuten, daß MPK3 unmittelbar an der Regulation von Transkriptionsfaktoren beteiligt ist, die die Transkription elicitorresponsiver Gene aktivieren. Um diese Hypothese zu verifizieren, wurde ein Protoplasten-Kotransformationsexperiment etabliert, mit dem die Beteiligung der MAPKs an der transkriptionellen Regulation elicitorresponsiver Gene analysiert werden konnte. Dieses System erlaubte es, den Einfluß der Überexpression aktiver und inaktiver Varianten der MAPKs auf die Expression eines Reportergens zu untersuchen, dessen Transkription durch ein elicitorresponsives Promotorfragment des Petersilie-*PR1.1*- bzw. -*PR2*-Gens reguliert wurde. Mit Hilfe der Kotransformationen konnten Hinweise gewonnen werden, daß MPK3 und eine Kinase aus der MPK1/2-Gruppe an der elicitorstimulierten Aktivierung der Transkription des *PR1.1*- und des *PR2*-Gens beteiligt sind. MPK4 scheint dahingegen nicht in die Regulation dieser Gene involviert zu sein.

Um Regulatoren und Substrate der elicitorresponsiven MAPKs in Petersilie zu isolieren, wurde unter Verwendung von Poly(A)⁺-RNA aus elicitierten und nicht-elicitierten Petersiliezellen eine cDNA-Bank für das Hefe-Zwei-Hybrid-System konstruiert. Diese Bank wurde mit MPK1 durchsucht, wobei zwei potentielle Interaktionspartner dieser MAPK identifiziert werden konnten.