

7 Zusammenfassung

7.1 Zusammenfassung

Die Umsetzung von Phosphatidylserin (PS) zu Phosphatidylethanolamin (PE), einem bedeutenden Membranlipid, über die Phosphatidylserin Decarboxylase stellt einen an Hefe und *E. coli* gut untersuchten und wichtigen Stoffwechselweg dar. In diesem Projekt wurde die Bedeutung dieses Stoffwechselweges für die Phospholipidsynthese der Pflanze *Arabidopsis thaliana* untersucht. Dazu wurden drei Gene für die Phosphatidylserin Decarboxylase (PSD) in *Arabidopsis thaliana* identifiziert und kloniert. Für *atPSD1* und *atPSD2* wurden Mutanten aus einer T-DNA-Insertionsmutantenpopulation isoliert und gekreuzt. Die Einzel- wie die Doppelmutanten wurden molekulargenetisch überprüft sowie physiologisch und biochemisch charakterisiert. Die Lokalisation beider Gene wurde über die Expression von GFP-Fusionsproteinen in transient transformierten Blattepidermiszellen von *Arabidopsis thaliana* untersucht. Es konnte gezeigt werden, daß die PSD-Gesamtaktivität im wesentlichen durch die am ER/ Tonoplasten lokalisierte und stark exprimierte *atPSD1* bestimmt wird. Die *psd1/psd2*-Mutante und die *psd1*-Mutante von *Arabidopsis thaliana* zeigt eine stark reduzierte PSD-Aktivität bei gleichzeitig unverändertem Lipidphänotyp. Der unveränderte Lipidphänotyp weist auf eine offenbar strikte Regulation des PE- und PS-Gehaltes hin. Noch offen bleibt, wie bedeutsam dieser Weg in Bezug auf alternative Wege wie die PE-Synthese über den CDP-Ethanolamin-Weg ist. Offenbar ist zumindest eine ausreichende Kompensation bei Ausfall der PSD möglich. Die mitochondriale PSD, die bei der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* für den Hauptteil der PSD-Aktivität verantwortlich ist, hat in *Arabidopsis thaliana* offenbar nur einen sehr geringen Anteil an der Gesamt-PSD-Aktivität. Ihre Existenz läßt jedoch vermuten, daß die mitochondriale PE-Versorgung nicht oder nicht ausreichend durch Import aus dem extramitochondrialen PE-Pool sichergestellt werden kann.

7.2 Summary

The major phospholipid in cell membranes of plants and many other organisms is Phosphatidylethanolamine (PE). This important component can be synthesized by at least four different pathways. Decarboxylation of Phosphatidylserine (PS) is one of these pathways which had been shown as the most important pathway in *E. coli* and yeast. This project focused on the genes for Phosphatidylserine Decarboxylase (PSD) in plants to address the importance of this pathway in higher eucaryotes. Three PSD-genes from *Arabdiopsis thaliana* were identified and subcloned. T-DNA-Insertion mutants for *atPSD1* and *atPSD2* were identified and crossed. The mutants were analyzed and the proteins localized by expression of GFP labeled fusion proteins in transient transformed epidermal cells of *Arabidopsis thaliana*. It was shown that the strongly expressed and ER/Tonoplast-based *atPSD1* is the most active PSD. *psd1* has a strongly reduced PSD-Activity but there was no detectable phenotype in growth or lipid composition. The unchanged PE-PS ratio shows that this pathway is not a major source of PE-production under normal conditions or its failing production can be easily compensated by others like the Kennedy pathway. Surprisingly, in contrast to *Saccharomyces cerevisiae* mitochondrial PSD-activity doesn't seem to play a major role for PE-synthesis in *A. thaliana* but its conservation leads to the assumption, that the mitochondrial PE-Pool depends on mitochondrial PSD-activity.