

6 ZUSAMMENFASSUNG

RNA-Editing in Pflanzen führt zur Veränderung von Cytidinen zu Uridinen (C-zu-U) in mitochondrialen und plastidären Transkripten. Um dieses Phänomen besser verstehen und die an dieser Modifikationsreaktion beteiligten Faktoren identifizieren zu können, wurden bereits *in vivo*-, sowie *in organello*- und *in vitro*-Systeme entwickelt, die jedoch sehr zeitaufwendig sind oder nur geringe Editingaktivität zeigen. Von zentraler Bedeutung bei der Untersuchung des RNA-Editings *in vitro* ist daher die Sensitivität des Nachweissystems. Die in der vorliegenden Arbeit entwickelte Detektionsmethode, die Primer-Ligation, mit der ein C-zu-U-Umsatz von deutlich unter 1 % nachgewiesen werden konnte, beruht auf einer Ligationsreaktion, die zwei mit dem Editingsubstrat gepaarte Oligonucleotide bei vollständiger Komplementarität an der Editingstelle spezifisch miteinander verknüpft. Mit dieser neuen Methode gelang es, zuverlässige mitochondriale und plastidäre *in vitro*-RNA-Editingsysteme zu etablieren, die sogar bis zu 5 % RNA-Editingaktivität aufwiesen. Dabei zeigte das mitochondriale Erbsensystem ebenso heterologes RNA-Editing wie Kartoffelmitochondrien in einem zusätzlich etablierten *in organello*-System an den zwischen der Erbse und der Kartoffel konservierten Editingstellen der *atp9*-RNA. Für diese mitochondriale RNA konnte darüberhinaus in einem plastidären Erbsen-*in vitro*-System organellenheterologes Editing nachgewiesen werden, sodaß nicht nur Mitochondrien, sondern offensichtlich auch Chloroplasten über die essentiellen Komponenten des *atp9*-RNA-Editings verfügen.

Zur Analyse der genauen Sequenzanforderungen an das Editingsubstrat wurde in der vorliegenden Arbeit eine Kompetitionsanalyse entwickelt, die Desoxyoligonucleotid-Kompetitoren zur Hybridisierung an die RNA nutzt, um die Interaktion mit potentiellen Editingfaktoren zu verhindern. Mit Hilfe dieser neuen Methode ist es erstmalig gelungen, für das *atp9*-RNA-Editing ein essentielles *cis*-Element im nahen Upstreambereich der Editingstelle 1 zu identifizieren. Für das 10 Nucleotide umfassende Element konnte über „Linker Scanning“-Mutagenese nicht nur die Lage bestätigt, sondern darüberhinaus im *in vitro*- sowie im *in organello*-System erstmalig direkt gezeigt werden, daß der Abstand zur Editingstelle („Spacing“) selbst von zentraler Bedeutung für die Editingreaktion ist. Gleichzeitig zeigte die Analyse der *atp9*-Insertionsmutanten, daß die C-zu-U-Umwandlung der Editingstelle 2 unabhängig von der Editingstelle 1 determiniert wird.

Durch die vorliegende Arbeit ist nun die Grundlage geschaffen, die Regulation des RNA-Editings über die Identifizierung von *cis*-Elementen und potentieller *trans*-Faktoren aufzuklären und die Entstehung dieses enigmatischen Prozesses besser verstehen zu können.