

5. Zusammenfassung

Im Verlauf der Evolution eukaryotischer Zellen wurde das mitochondriale Genom zunehmend reduziert und mitochondriale Gene wurden in das Kerngenom transferiert. Ein solcher Transfer kann bei der Untereinheit 2 der Cytochrom *c* Oxidase (*COX2*) nachvollzogen werden. *COX2* ist bei den meisten Organismen ein mitochondriales Gen, die *Chlamydomonacea*, die *Apicomplexa* und einige *Fabaceae* wie die Sojabohne *Glycine max* L. besitzen jedoch Kopien des *COX2* Gens im Zellkern.

Das *COX2* Kerngen (*GmCOX2*) wird bei der Sojabohne aktiv transkribiert und das Protein nach seiner Synthese im Zytoplasma der Zelle post-translational in die Mitochondrien importiert. Für den Import besitzt das *GmCox2* Protein eine 136 Aminosäurereste lange N-terminale Leitsequenz, die während des Importes in drei Schritten proteolytisch abgespalten wird. Eine solche Drei-Stufen-Prozessierung konnte bisher für kein weiteres Protein nachgewiesen werden. Der Importweg des *GmCox2* Proteins und die Proteasen, die die Abspaltung der Leitsequenz katalysieren, sollten in dieser Arbeit identifiziert werden.

Die meisten Proteine, die am mitochondrialen Proteintransport und der proteolytischen Prozessierung beteiligt sind, besitzen in Pflanzen und Pilzen homologe Sequenzen. Daher wurde geprüft, ob der gut charakterisierte Modellorganismus *Saccharomyces cerevisiae* eingesetzt werden kann, um den Importweg von *GmCox2* näher zu charakterisieren.

Wie in der Sojabohne wird auch in Hefe die Leitsequenz des *GmCox2* Proteins in drei Schritten abgespalten und es entstehen in beiden Organismen identische Prozessierungsintermediate.

Mit Hilfe von verschiedenen Leitsequenz-GFP Konstrukten konnte der erste Prozessierungsschritt in der mitochondrialen Matrix und der zum reifen Protein im Intermembranraum lokalisiert werden. Die mitochondriale Prozessierungspeptidase (MPP) bzw. die Innermembran Peptidase (IMP) wurden als die Enzyme identifiziert, die diese Prozessierungen katalysieren. In der *GmCox2* Leitsequenz konnten mögliche Schnittstellen für beide Peptidasen nachgewiesen werden.

Ohne das Transportprotein *Oxa1p* wurde kein reifes Protein gebildet. Dies verdeutlicht, dass *Oxa1p* für die Insertion des *GmCox2* Proteins in die innere Membran notwendig ist.

Auch die erste Transmembrandomäne des *GmCox2* Proteins erwies sich als essentiell für die Prozessierung zum reifen Protein.

Insgesamt konnte durch Verwendung der Hefe als Untersuchungsorganismus ein detaillierter Ablauf für den Import des kernkodierte Cox2 Proteins der Sojabohne nachgezeichnet werden und eine Reihe von Faktoren identifiziert werden, die diesen Ablauf beeinflussen.