6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Rolle von DNA-Methylierung in Synechocystis 6803 charakterisiert werden. Mittels SRMT- und Bisulfit-Sequenzierung wurden fünf ^{m5}CGATCG, G^{m6}ATC, GG^{m4}CC, GA^{m6}AGGC Methylierungsmotive detektiert: GG^{m6}AN7TTGG/CCA^{m6}AN7TCC. Durch in silico Analysen konnte jedem Methylierungsmotiv eine putative DNA-Methyltransferase zugeordnet werden. Die DNA-Methyltransferasen M.Ssp6803I (slr0214) und M.Ssp6803III (slr1803) methylieren die Motive m5CGATCG und G^{m6}ATC (Scharnagl et. al., 1998). Die Bisulfit-Sequenzierung bewies, dass im Motiv m⁵CGATCG das erste C⁵ methyliert vorliegt. Weiterhin konnte eine funktionelle Bedeutung von M.Ssp6803I für DNA-Reparaturmechanismen nachgewiesen werden. Die DNA-Methyltransferase M.Ssp6803II (sll0729) methyliert das Motiv GG^{m4}CC. Deren Mutationen führte zu verringertem Wachstum. Allerdings wies die Mutante Δs//0729 einen instabilen Phänotyp auf, der anhand der Suppressormutantenklonen Δsll0729::supp_1, sowie Δsll0729::supp_15 näher charakterisiert wurde. Mittels Microarray Analysen wurde nur für zwei Gene eine veränderte Transkriptabundanzdetektiert. Das Gen sll0470 zeigte sowohl in der originalen Asll0729 Mutante als auch in den Suppressorklonen eine erhöhte RNA-Menge. Dieses Gen beinhaltet das Methylierungsmotiv GGCC in der Promotorregion. Die Daten der Microarray Analysen und der Promotoraktivitätsmessungen deuten darauf hin, dass eine Transkriptionsregulation einzelner Gene durch die Aktivität von M.Ssp6803II existiert. Weiterhin zeigten die Suppressorklone eine Verringerung in der Zellgröße, dem DNA-Gehalt und eine verringerte UV-Toleranz im Vergleich zum Wildtyp. Daher wird ein Einfluss von M.Ssp6803II auf die Chromosomenstabilität, DNA-Replikation und DNA-Reparaturmechanismen angenommen. Diese Veränderungen könnten an der registrierten verringerten Transkriptom- und Proteomanalysen Abundanz der Topoisomerase IV Untereinheit A (sll1941) in den Suppressorklonen liegen. Die Gene slr6050 und slr6095 kodieren für die Methyltransferasen M.Ssp6803IV und M.Ssp6803V. M.Ssp6803IV modifiziert das Motiv GA^{m6}AGGC, wohingegen M.Ssp6803V Motiv GG^{m6}AN7TTGG/CCA^{m6}AN7TCC methyliert. M.Ssp6803IV ist für die Vitalität von Synechocystis 6803 essentiell. Proteom Analysen der Δslr6095 Mutante ergaben eine veränderte Proteinabundanz von NrdR und NrdA, was auf einen Einfluss von M.Ssp6803V auf die Verarbeitung genetischer Informationen hinweist. Insgesamt konnte erstmals eine

umfassende funktionelle Analyse des Methyloms eines Modellcyanobakteriums erbracht werden.