

Biologische Zeitmessung bei Pflanzen

Dorothee Staiger

Pflanzen sind mit einer inneren Uhr ausgestattet, die ihnen eine präzise zeitliche Organisation von Stoffwechsel und Entwicklung erlaubt. In den letzten Jahren wurden wesentliche Fortschritte bei der Aufklärung des molekularen Uhrenmechanismus bei *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand) erzielt.

Viele Lebewesen besitzen eine innere Uhr

Alle Lebewesen erfahren periodische Veränderungen der Umweltbedingungen, die ihren Ursprung in der Erdumdrehung haben. Der regelmäßige Wechsel von Tageslicht zu nächtlicher Dunkelheit spiegelt sich in biologischen Rhythmen wie dem Wechsel zwischen Schlaf und Wachsein oder tagesperiodischen Schwankungen der Körpertemperatur und des Hormonhaushalts wider. Diese rhythmischen Vorgänge werden durch einen inneren Schrittmacher erzeugt, der im 24-Stunden-Takt schlägt. Man bezeichnet ihn als „innere Uhr“ [1].

Ihre Wirkung macht sich vor allem dann bemerkbar, wenn man sie durcheinanderbringt. Jeder hat schon einmal erfahren, dass die innere Uhr uns nach einem Flug über mehrere Zeitzonen nachts hellwach halten kann, dagegen sind wir während des Tages zerschlagen und müde und haben Schwierigkeiten, uns zu konzentrieren. Dieses als „Jetlag“ bezeichnete Phänomen zeigt, dass die innere Uhr einige Tage lang nachgeht. Eine wichtige Eigenschaft ist, dass sie durch äußere Bedingungen eingestellt werden kann: Lichtempfindliche Stoffe registrieren den täglichen Licht-Dunkel-Wechsel und senden Signale an den Schrittmacher. Dadurch wird er nach und nach so eingestellt, dass er im Takt mit dem neuen Tag-Nacht-Rhythmus schlägt und alle von ihm abhängigen Prozesse wieder zur günstigsten Tageszeit ablaufen.

Auch Pflanzen verfügen über eine innere Uhr. Tatsächlich war die Chronobiologie, die

Disziplin, die sich mit dem Phänomen der zeitlichen Organisation von Lebewesen beschäftigt, lange eine Domäne der Botanik.

Wie endogene Rhythmen entdeckt wurden

Endogene Rhythmen bei höheren Pflanzen sind seit dem Altertum bekannt. Der Feldherr Androsthene berichtete auf dem Zug Alexanders des Großen von tagesrhythmischen Blattbewegungen bei der Tamarinde:

Tagsüber verharren ihre Blätter maximal gespreitet in einer horizontalen Stellung, in der Nacht sind sie hingegen abgesenkt, was als Schlaf der Pflanzen bezeichnet wurde.

Es lag nahe zu vermuten, dass die Pflanzen damit auf den Übergang vom Tageslicht zur Nacht reagieren. Dass dies nicht ganz zutreffend ist, wurde 1729 von De Mairan gezeigt: Er studierte tagesperiodische Blattbewegungen der Mimose und stellte fest, dass sie die Stellung ihrer Blätter auch dann veränderte, wenn er sie in einen Schrank stellte, wo sie andauernder Dunkelheit ausgesetzt war. Das bedeutet, dass die rhythmischen Blattbewegungen endogen gesteuert werden müssen [9, 10].

Ein Jahrhundert später beobachtete De Candolle, dass die Periode – das Zeitintervall zwischen maximaler Spreitung der Blätter und dem nächsten Extrempunkt – in ununterbrochener Dunkelheit nicht mehr 24 Stunden wie im natürlichen Tag-Nacht-Rhythmus betrug, sondern nur 22 bis 23 Stunden. Wird der endogene Schrittmacher, der die rhythmischen Blattbewegungen steuert, also nicht täglich durch Sonnenauf- und Untergang oder An- und Ausschalten des Lichts im Labor eingestellt, schwingt das System frei mit einer charakteristischen, angeborenen Periodenlänge. Weil sie nur ungefähr einer Tageslänge entspricht, spricht man von „circadianen“ Rhythmen (lateinisch: circa – ungefähr, und dies – der Tag).

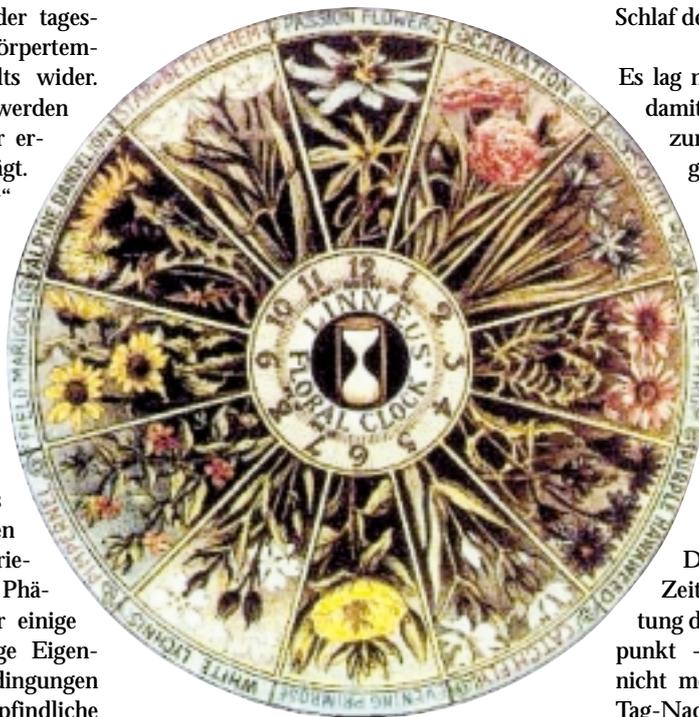


Abb. 1. Die Blumenuhr zeigt zwischen 6 Uhr morgens und 12 Uhr mittags, wann sich die Blüten verschiedener Pflanzen öffnen, und zwischen 12 Uhr und 6 Uhr nachmittags, wann sich die Blüten schließen. Carl von Linné legte um 1750 einen Garten mit einer Blumenuhr an, auf der man die Uhrzeit ablesen konnte. Quelle: www.geocities.com/RainForest/1232/floral.html

Blattbewegungen sind gleichsam Zeiger, welche die Uhrzeit der inneren Uhr angeben. Außerdem öffnen sich bei vielen Pflanzen die Blüten zu einer bestimmten Tageszeit, im Allgemeinen dann, wenn die bestäubenden Insekten ihre höchste Aktivität zeigen. Carl von Linné ordnete Pflanzen nach dem Zeitpunkt der Blütenöffnung in einer Blumenuhr an (Abbildung 1).

Die innere Uhr steuert den Blühbeginn

Licht ist ein wesentlicher Faktor, der den Übergang von vegetativem Wachstum zur Blüte und Samenbildung auslösen kann. Dabei ist weniger die Lichtintensität als die relative Länge der täglichen Lichtperiode (Photoperiode) und Dunkelphase entscheidend. Langtagpflanzen beginnen zu blühen, wenn der Tag eine bestimmte Länge überschreitet. Pflanzen in höheren Breitengraden gehören häufig zu den Langtagpflanzen. Sie beginnen im Sommer zu blühen, wenn die Tage lang sind, und haben bis zum Beginn der kalten Jahreszeit Samen gebildet. Pflanzen nutzen also zur Anpassung an den regelmäßigen Ablauf der Jahreszeiten die Tatsache, dass die Tageslänge sich mit der Jahreszeit verändert. Wie können Pflanzen messen, wie lange es am Tag hell ist? Wir haben zu Anfang gesehen, dass unsere innere Uhr durch den Licht-Dunkel-Wechsel an den Tag-Nacht-Rhythmus angepasst wird. Das gilt auch für die innere Uhr der Pflanzen. Die Feststellung, wann die Sonne auf- und untergeht, bedeutet aber, dass Pflanzen die Länge des Tages messen. Die innere Uhr wird also wie eine Stoppuhr zur Zeitmessung eingesetzt.

Der Mechanismus der inneren Uhr ist im Erbgut verankert

Der Pflanzenphysiologe Bünning beobachtete bereits in den dreißiger Jahren, dass einzelne Individuen der Bohne *Phaseolus multiflorus* unterschiedliche Periodenlängen der Blattbewegung zeigen, beispielsweise 23 Stunden und 26 Stunden. Als er diese Pflanzen miteinander kreuzte, lag die Periodenlänge der Nachkommen zwischen diesen Werten. Nachfolgende Generationen besaßen wieder die Periode der Eltern. Der Mechanismus der inneren Uhr ist also im Erbgut verankert, das bedeutet: Es gibt Gene, die für Bestandteile der inneren Uhr kodieren. Sie sind ihrerseits an der phänotypischen Ausprägung von circadianen Rhythmen ursächlich beteiligt.

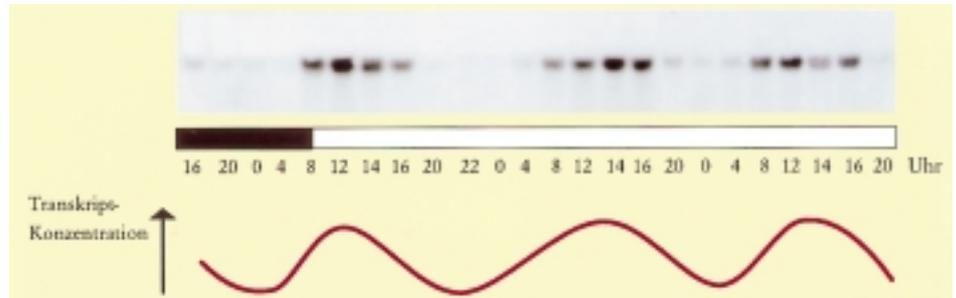


Abb. 2. Circadiane Oszillation der *LHC*-Transkripte. *Arabidopsis*-Pflanzen wachsen zunächst im normalen Tag-Nacht-Rhythmus und werden anschließend in konstantes Licht gebracht und rund um die Uhr geerntet. RNA, die alle Transkripte enthält, wird isoliert, auf einem Gel nach der Größe aufgetrennt und auf eine Membran übertragen. Mit einer spezifischen, radioaktiv markierten Sonde wird das Transkript des *LHC*-Gens nachgewiesen (oben). Schematische Darstellung der Transkriptschwankung (unten). Der schwarze Balken bedeutet „Licht aus“, der offene Balken „Licht an“.

Rhythmik auch bei der Genexpression

Ein wesentlicher Schritt zum Verständnis der molekularen Grundlagen circadianer Rhythmen gelang Klopstech 1985 mit der Beobachtung, dass die innere Uhr neben makroskopisch sichtbaren Prozessen auch die Aktivität bestimmter Gene steuert [5]. Das kommt darin zum Ausdruck, dass die Menge an Transkripten, die von diesen Genen abgelesen werden, im Tagesverlauf Schwankungen unterliegen. Am besten untersucht sind die *LHC*-Gene, die für die Chlorophyll-bindenden Proteine des Photosyntheseapparats, die „light harvesting chlorophyll binding proteins“, kodieren. Sie dienen der Lichtabsorption für die Photosynthese. Nachts sind die Transkripte kaum nachzuweisen. Ihre Konzentration steigt kurz vor Sonnenaufgang an und erreicht ihr Maximum gegen Mittag. Diese Schwankungen bleiben im Dauerlicht bestehen (Abbildung 2).

Was könnte der Sinn dieser Oszillationen sein? Das *LHC*-Protein wird zum Zeitpunkt höchster Sonneneinstrahlung gebraucht. Die Pflanze bereitet sich auf eine optimale Photosynthese vor, indem sie das Transkript für die *LHC*-Proteinsynthese bereits vor Sonnenaufgang anhäuft.

Die zeitliche Organisation durch die innere Uhr ermöglicht es Organismen also, nicht nur auf Veränderungen zu reagieren, wenn sie eintreten, sondern für die zu einer bestimmten Tageszeit mit der höchsten Wahrscheinlichkeit vorherrschenden Bedingungen gerüstet zu sein.

Der Uhrenmechanismus von *Arabidopsis*

Pflanzen mit veränderten Rhythmen helfen bei der Aufklärung

Anfang der neunziger Jahre wurde systematisch nach Mutanten mit Defekten im Uhrenmechanismus gesucht. Als Modellpflanze diente *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand) aus der Familie der Kreuzblütler, die sich aufgrund ihrer kurzen Generationszeit und ihres kleinen Genoms für die genetische und molekulare Charakterisierung von Mutanten sehr gut eignet. Solche Mutanten sollten sich durch veränderte Zeigerrhythmen ausweisen. Dazu erzeugten Millar und Kay einen künstlichen Zeigerrhythmus, der auf der morgenspezifischen Expression des *LHC*-Gens beruht (Abbildung 2). Sie kombinierten seine Kontrollregion, in der die Information für die rhythmische Transkription verschlüsselt ist, mit dem Gen für Luciferase [7]. Die Luciferase ist ein Protein aus Leuchtkäfern, das die Substanz Luciferin unter Freisetzung von Licht umsetzt. *Arabidopsis*-Pflanzen, in die dieses Gen eingebaut worden ist, leuchten, und zwar vor allem morgens (Abbildung 3, oben). Das lässt sich mit einer Videokamera aufzeichnen, so dass man den Lauf der inneren Uhr zu jeder Tageszeit verfolgen kann.

Für den Versuch wurden Samen der transgenen Pflanzen mit einer mutagenisierenden Chemikalie behandelt, die Veränderungen am Erbgut erzeugen kann. Unter den Nachkommen können anschließend Pflanzen herausgesucht werden, die zur „falschen“ Tageszeit

leuchten, weil ihr Luciferasegen nicht korrekt abgelesen wird (Abbildung 3, unten). Tatsächlich wurde auf diese Weise eine Mutante gefunden, bei der die maximale Lichtproduktion alle 21 Stunden stattfindet, die Luciferaseaktivität also mit einer verkürzten Periode schwingt. Sie wurde als *toc1*-Mutante für „timing of chlorophyll binding protein expression“ bezeichnet [7]. Interessanterweise ist auch die Periode des Blattbewegungsrythmus verkürzt. Das Gen, das durch die Mutation betroffen ist, scheint somit eine Schlüsselrolle bei der Erzeugung circadianer Rhythmen zu spielen. Forscher sind nun dabei, dieses Gen zu identifizieren [9].

Ein Protein reguliert über Rückkopplung

Die Langtagpflanze *Arabidopsis* kommt bei Anzucht unter Langtagbedingungen schneller zum Blühen als unter Kurztagbedingungen (Abbildung 4). Beim Durchmustern von mutagenisierten Pflanzen fiel eine dadurch auf, dass sie im Langtag genauso lange braucht um zur Blüte zu kommen wie im Kurztag, also nicht mehr zwischen verschiedenen Tageslängen unterscheiden kann [8].

Das Gen, das in dieser *lhy*-Mutante (late elongated hypocotyl) betroffen ist, codiert für einen Transkriptionsfaktor. Interessanterweise zeigt das *LHY*-Transkript eine circadiane Schwingung. Um festzustellen, ob diese Schwingung für seine Funktion notwendig ist, wurden transgene Pflanzen hergestellt, in denen *LHY* nicht mehr rhythmisch, sondern den gesamten Tag mit gleichbleibend hoher Konzentration gemacht wird. Das erreicht man dadurch, dass man das Gen mit einer fremden Kontrollregion ausstattet, die unabhängig von der Tageszeit abgelesen wird. In diesen transgenen Pflanzen ist die Oszillation des endogenen *LHY*-Transkripts stark gedämpft. Das *LHY*-Protein beeinflusst also seine eigene Rhythmik durch eine negative Selbstregulation.

Diese Beobachtung stieß auf großes Interesse, weil von *Drosophila* oder Säugetieren bekannt ist, dass das Uhrwerk aus einer solchen negativen Rückkopplungsschleife besteht. Der Schrittmacher der circadianen Rhythmik ist aus circadian schwingenden Proteinen aufgebaut, welche die Transkription ihrer Gene und damit ihre eigene Produktion im 24-Stunden-Takt an- und abschalten (Abbildung 5). Transkriptionsfaktoren setzen zu einer definierten Tageszeit die Transkription der Uhr-gene in Gang. Dadurch steigt die Konzen-

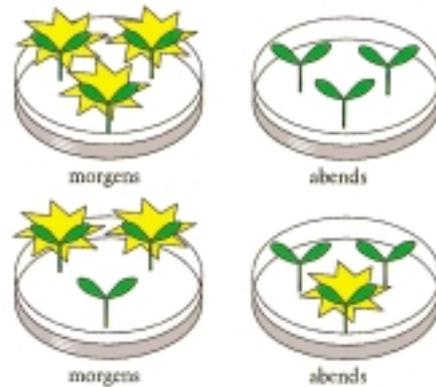


Abb. 3. Identifizierung von *Arabidopsis*-Mutanten mit veränderter circadianer Rhythmik. Ein Luciferase-Gen, das durch die circadiane Kontrollregion des *LHC*-Gens gesteuert wird, wurde in *Arabidopsis* eingeführt. Die Pflanzen leuchten, wenn das Luciferase-Gen abgelesen wird, also normalerweise morgens (oben). In Pflanzen, die von diesem Verhalten abweichen, ist die circadiane Kontrollregion nicht mehr korrekt an die innere Uhr angebunden; sie weisen also einen Defekt im Uhrenmechanismus auf (unten).



Abb. 4. Vier Wochen alte *Arabidopsis* blühen, wenn sie im Langtag (täglich 16 Stunden Licht) angezogen worden sind (rechts), während gleich alte Pflanzen im Kurztag (8 Stunden Licht) noch wachsen und Blätter bilden (links).

tration an Transkript und mit einer gewissen Verzögerung auch die der Uhrenproteine an. Ab einem bestimmten Schwellenwert erfolgt eine negative Rückkopplung: Die Uhrenproteine hemmen ihre eigene Synthese. Dadurch sinkt ihre Konzentration wieder ab, die Selbstregulation wird aufgehoben und der 24-Stunden-Zyklus kann von neuem beginnen.

Man geht heute davon aus, dass Uhrenproteine nicht nur ihre eigene Synthese, sondern auch die von anderen Proteinen regulieren. Über solche rhythmisch produzierten Proteine kann die durch den Schrittmacher er-

zeugte Rhythmik weitergeleitet werden, was schließlich zu den messbaren circadianen Vorgängen führt.

Eine weitergehende Charakterisierung der *lhy*-Mutante zeigte, dass einige circadian regulierte Prozesse nicht mehr rhythmisch verlaufen. Beispielsweise zeigt das *LHC*-Transkript keine normale Oszillation mehr, und die Blattbewegungsrythmen sind gedämpft. Die Störung des inneren Uhrenmechanismus beeinträchtigt also gleichermaßen photoperiodische Blühinduktion wie circadiane Rhythmen.

Auch CCA1 spielt eine Schlüsselrolle

Auf einen Transkriptionsfaktor, der große Ähnlichkeit mit LHY aufweist, ist man bei der Suche nach Proteinen gestoßen, die an die für das morgenspezifische Ablesen verantwortliche Kontrollregion des *LHC*-Gens binden [11]. Ein solcher Transkriptionsfaktor könnte für die Umsetzung der von der inneren Uhr erzeugten Rhythmik in die Oszillationen des *LHC*-Transkripts verantwortlich sein. Er wurde deshalb CCA1, „circadian clock associated“, genannt. Interessanterweise zeigt CCA1 selbst eine circadiane Schwingung – sowohl das Transkript als auch das Protein werden morgens produziert, kurz bevor die Transkription des *LHC*-Gens beginnt.

In transgenen Pflanzen, die CCA1 ständig in großen Mengen produzieren, ist die Oszillation des endogenen CCA1-Transkripts stark gedämpft. CCA1 beeinflusst also ebenfalls seine eigene Rhythmik durch eine negative Selbstregulation, ist somit wie LHY Teil einer circadian regulierten Rückkopplungsschleife.

Die gleichbleibend hohe CCA1-Konzentration wirkt sich auch auf die *LHC*-Rhythmik aus: Das *LHC*-Transkript schwingt im Dauerlicht nicht mehr, und die Blattbewegungsrhythmen sind gestört. CCA1 scheint also eine Schlüsselfunktion im Uhrenmechanismus einzunehmen.

Das zeigt sich auch bei Pflanzen, die ein Stück fremde DNA in das CCA1-Gen eingebaut haben und es deswegen nicht mehr exprimieren können [2]. *LHC* zeigt trotz Verlust des CCA1-Proteins noch eine circadiane Schwingung, die Periode ist aber um 3 Stunden kürzer. CCA1 ist also wichtig für die normale Rhythmik. Es gibt aber offensichtlich noch andere Faktoren, die Einfluss auf die *LHC*-Oszillationen haben.

Weder LHY noch CCA1 zeigen eine Sequenzähnlichkeit zu den Uhrenproteinen aus *Drosophila* oder Säugetieren. Doch scheinen Pflanzen das gleiche Prinzip von Rückkopplungsschleifen, über die Proteine ihre eigenen Gene regulieren, zur Erzeugung von Rhythmik zu nützen [6].

Ein RNA-Bindungsprotein wird circadian reguliert

Bei einer gezielten Suche nach circadian regulierten Genen in Senf und *Arabidopsis* wurde ein RNA-Bindungsprotein, GRP, gefunden,

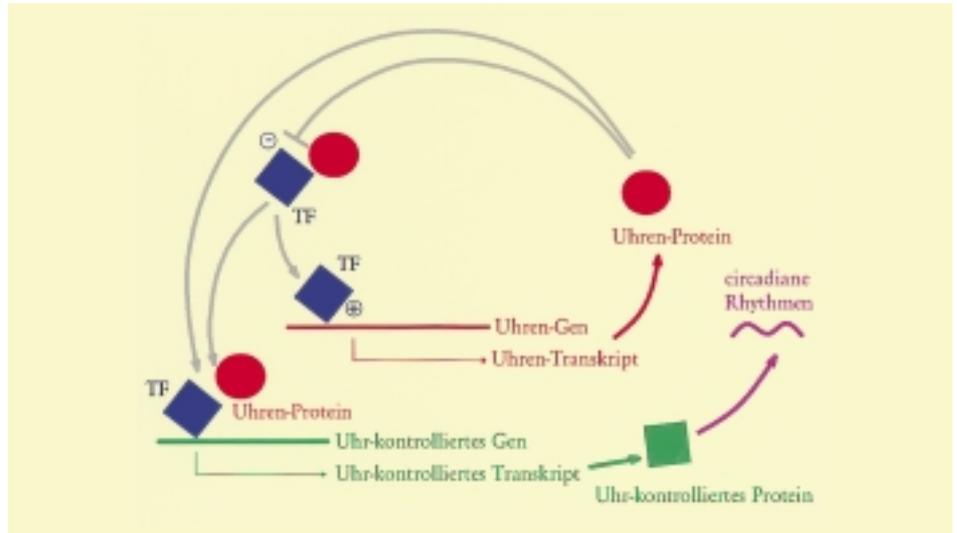


Abb. 5. Modell des circadianen Schrittmachers, basierend auf experimentellen Daten von *Drosophila* und Säugetieren. Die Expression der Uhrengene wird durch Transkriptionsfaktoren (TF) zu einer bestimmten Tageszeit in Gang gebracht. Ist eine bestimmte Menge an Uhrenproteinen gebildet, schalten sie ihre eigene Synthese wieder ab. Die Bestandteile des Schrittmachers regulieren auch die Expression anderer Proteine, die letztendlich am Zustandekommen circadianer Rhythmen beteiligt sind.

das eine Oszillation zeigt [3]. Im Gegensatz zu den *LHC*-Transkripten erreicht das *GRP*-Transkript seine höchste Konzentration erst am Abend. Auf Gewebeschnitten durch den

Stängel von Senfpflanzen findet man das Transkript in einer ringförmigen, teilungsaktiven Zellschicht, dem Kambium, und zwar ausschließlich abends (Abbildung 6).

Glossar

Mutation: molekulare Veränderung im Erbgut. Bei einer Genmutation ist die Sequenz einzelner Gene betroffen, was zu Veränderung oder Verlust des Proteins führen kann. Das hat phänotypische Auswirkungen auf Stoffwechsel oder Entwicklung eines Organismus.

Circadiane Rhythmen: biologische Prozesse, die im Tag-Nacht-Wechsel rhythmisch ablaufen, und auch unter konstanten Umweltbedingungen eine ungefähr 24-stündige Rhythmik beibehalten.

Innere Uhr: endogener Oszillator, der mit einer Periodenlänge von ungefähr 24 Stunden schwingt und rhythmische biologische Prozesse kontrolliert. Er wird durch äußere Faktoren wie Licht und Temperatur eingestellt. Dadurch werden die inneren Rhythmen mit dem periodischen Wechsel von Tag und Nacht synchronisiert. Der circadiane

Schrittmacher ist ein Regulationskreis aus Uhrenproteinen, die ihre eigene Genaktivität negativ regulieren.

Periode: Zeitintervall zwischen zwei vergleichbaren Punkten einer Schwingung, etwa zwei aufeinander folgenden Maxima.

Photoperiode: Dauer der täglichen Lichtphase.

Transkription: Die genetische Information, die in der DNA-Sequenz verschlüsselt ist, wird durch den Prozess der Transkription abgelesen. Sie wird in eine RNA umgeschrieben, das Transkript des Gens. Dieses Transkript dient als Matrize für die Übersetzung in Protein. Transkriptionsfaktoren sind Proteine, die an die Kontrollregion der Gene binden. Dadurch steuern sie deren Aktivität, d. h. wann, wo und wie häufig das Gen transkribiert wird.

Nicht nur die Konzentration des Transkripts, sondern auch die des GRP-Proteins selbst unterliegt einer circadianen Schwankung. Seine Oszillation ist etwas verschoben gegenüber der des Transkripts: Steigt die Konzentration des Proteins an, sinkt die Konzentration seines Transkripts [4]. Das legt die Vermutung nahe, dass das RNA-Bindungsprotein sein eigenes Transkript negativ regulieren könnte. In transgenen Pflanzen, in denen die circadian regulierte Kontrollregion des Gens durch eine konstant abgelesene ersetzt wurde und die deswegen ständig große Mengen des Proteins herstellen, ist die Oszillation des endogenen *GRP*-Transkripts nur noch ganz schwach ausgeprägt. Transkript und Protein bilden also tatsächlich eine negative Rückkopplungsschleife [4].

Lässt sich dieser circadian regulierte Rückkopplungskreis mit denen vergleichen, über die Uhrenproteine in *Drosophila* oder *CCA1* und *LHY* bei *Arabidopsis* im 24-Stunden-Takt die Transkription ihrer eigenen Gene regulieren? In Pflanzen, die das RNA-Bindungsprotein überproduzieren, wird sein Transkript immer noch rhythmisch produziert. Da das Protein an RNA bindet, könnte es die Konzentration seiner eigenen RNA aber dadurch verringern, dass es in regelmäßigen Abständen an diese bindet und dadurch ihren Abbau bewirkt [10].

Das RNA-Bindungsprotein ist damit wahrscheinlich Teil eines untergeordneten Schwingkreises, der von einem Schrittmacher im 24-Stunden-Rhythmus aktiviert wird und sich anschließend selbst wieder abschaltet. Unterstützt wird dies durch die Beobachtung, dass in Pflanzen, die *CCA1* oder *LHY* konstant überproduzieren, die Oszillation des RNA-Bindungsproteins gedämpft ist. Außerdem hat die *GRP*-Oszillation in der *toc1*-Mutante eine verkürzte Periode. *CCA1*, *LHY* und *TOC1* regulieren also *GRP*. Weitere Experimente müssen zeigen, ob *GRP* seinerseits andere rhythmische Prozesse reguliert.

Abbildung 7 zeigt ein Modell, wie diese Komponenten zusammenwirken könnten [6, 9, 10]. Die Transkriptionsfaktoren *CCA1* und *LHY* sind Bestandteile von miteinander verknüpften negativen Rückkopplungskreisen, die eine Reihe von Zeigerrhythmen regulieren: die Oszillation der *LHC*-Transkripte, die Blattbewegungsrhythmen und die Blühinduktion in Abhängigkeit von der Tageslänge. *TOC1*, dessen molekulare Eigenschaften

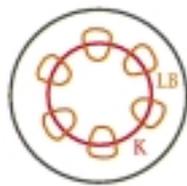
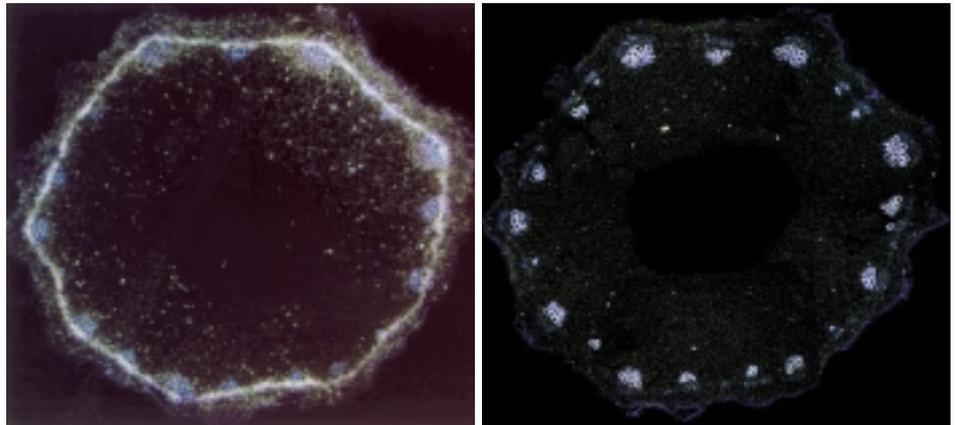


Abb. 6. Nachweis eines circadian regulierten Transkripts für ein RNA-Bindungsprotein im Stängel von Senfpflanzen [3]. Auf Gewebeschnitte wird eine radioaktive Sonde für das RNA-Bindungsprotein aufgetragen. Nach einer photographischen Entwicklung zeigen die weißen Silberkörnchen auf einem Schnitt, der abends angefertigt wurde, eine starke Anhäufung des Transkripts im Kambium an (links). Auf einem morgens angefertigten Schnitt ist das Transkript

nicht nachzuweisen (rechts). Die ringförmigen Strukturen sind die Leitbündel, deren Zellwände im Mikroskop aufleuchten (vgl. Schema des Stängelquerschnitts: K, Kambium; LB, Leitbündel). (Die Aufnahmen wurden freundlicherweise von Dr. Christian Heintzen zur Verfügung gestellt.)

noch nicht bekannt sind, spielt ebenfalls eine wichtige Rolle beim Zustandekommen dieser Rhythmen.

Die Lichtsignale, welche die innere Uhr täglich aufs Neue mit dem Tag-Nacht-Rhythmus synchronisieren, werden über die Phytochrom-Photorezeptoren, die rotes Licht absorbieren, und den Blaulichtrezeptor Cryptochrom wahrgenommen.

Weitere Untersuchungen werden Aufschluss darüber geben, ob *TOC1*, *CCA1* und *LHY* die Bestandteile des Uhrwerks sind. Der Verlust eines Uhrenproteins sollte beispielsweise die Rhythmik zum Erliegen bringen; ein Verlust von *CCA1* führt aber lediglich zu einer verkürzten Periode der von ihm regulierten *LHC*-Transkriptschwingungen. Möglicherweise ist die innere Uhr bei Pflanzen noch aus anderen Molekülen aufgebaut, die es zu identifizieren gilt.

Zusammenfassung

In den letzten Jahren sind verschiedene Bestandteile des Uhrenmechanismus bei *Arabidopsis thaliana* identifiziert worden. In der *toc1*-Mutante sind die circadiane Oszillation der *LHC*-Expression und die Blattbewe-

gungsrhythmen gestört. *CCA1* und *LHY* sind zwei Transkriptionsfaktoren, die andere circadian regulierte Transkripte, Blattbewegungsrhythmen und die Messung der Tageslänge zur Blühinduktion kontrollieren. Sie sind Bestandteil von negativen Rückkopplungskreisen, durch die sie ihre eigene Rhythmik regulieren. Damit zeigen sie eine funktionelle Analogie zu Bestandteilen der inneren Uhr bei *Drosophila*, Maus oder Mensch, obwohl die Proteine keine Sequenzähnlichkeit aufweisen.

The endogeneous clock in plants

Numerous physiological processes in higher plants show circadian rhythms, i.e. they occur regularly at 24-hour-intervals. Several proteins involved in the generation of circadian rhythms have been identified in *Arabidopsis thaliana* and provide some clue as to the molecular basis of the endogeneous clock in this model plant: The *toc1* mutation shortens promoter activity of the *LHC* genes encoding the light harvesting proteins of the photosystems as well as other rhythmic processes. The transcription factors *CCA1* and *LHY* are part of circadianly regulated negative feedback loops through which they con-

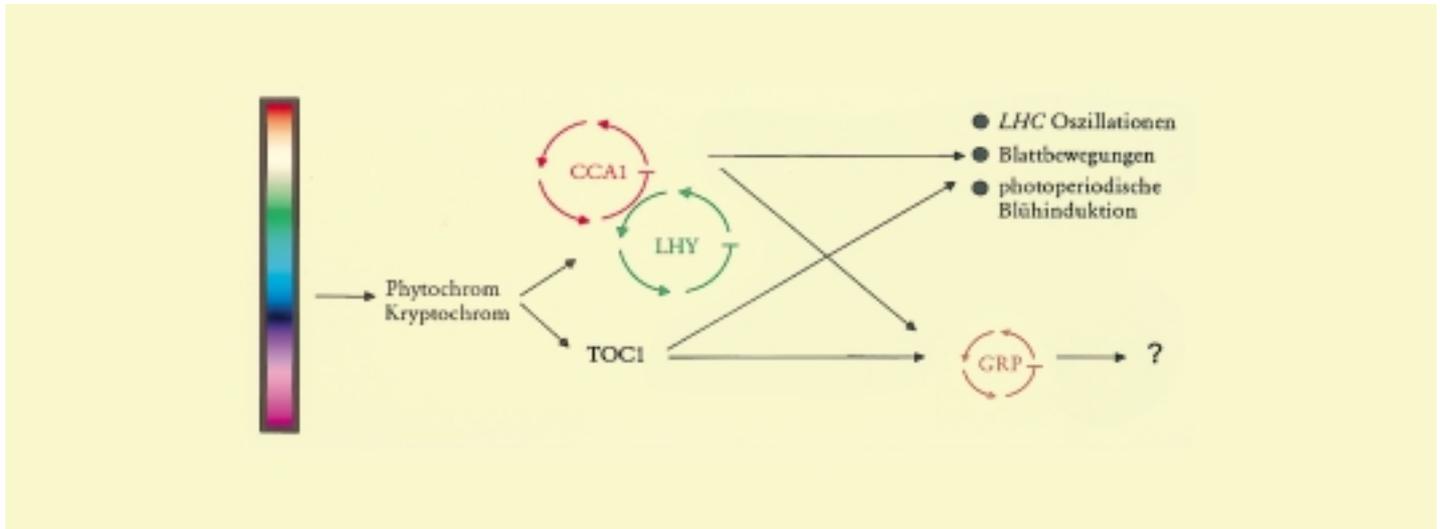


Abb. 7. Modell des circadianen Systems in *Arabidopsis*. Die Transkriptionsfaktoren CCA1 und LHY sind Bestandteile von miteinander verwandten negativen Rückkopplungskreisen, welche die Oszillation der *LHC*-Transkripte, Blattbewegungsrhythmen und Blühinduktion in Abhängigkeit von der Tageslänge regulieren. TOC1, dessen molekulare Eigenschaften noch nicht bekannt sind, beeinflusst diese Rhythmen ebenfalls. Das RNA-Bindungsprotein GRP ist Bestandteil eines Rückkopplungskreislaufs, der von allen dreien kontrolliert wird. Die Photorezeptoren Phytochrom und Cryptochrom registrieren und verarbeiten die Lichtsignale, welche die innere Uhr täglich aufs Neue mit dem Tag-Nacht-Rhythmus synchronisieren [6, 10].

control oscillations of their own as well as those of other genes and ultimately rhythms of leaf movement and photoperiodic flower induction.

Literatur

- [1] J. Dunlap (1998) Circadian rhythms. An end in the beginning. *Science* **280**, 1548–1549.
- [2] R. Green, E. Tobin (1999) Loss of the circadian clock-associated protein 1 in *Arabidopsis* results in altered clock-regulated gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 4176–4179.
- [3] C. Heintzen, S. Melzer, R. Fischer, S. Kappeler, K. Apel, D. Staiger (1994) A light- and temperature-entrained circadian clock controls expression of transcripts encoding nuclear proteins with homology to RNA-binding proteins in meristematic tissue. *The Plant J* **5**, 799–813.
- [4] C. Heintzen, M. Nater, K. Apel, D. Staiger (1997) *AtGRP7*, a nuclear RNA-binding protein as a component of a circadian-regulated negative feedback loop in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**, 8515–8520.
- [5] K. Kloppstech (1985) Diurnal and circadian rhythmicity in the expression of light-induced plant nuclear messenger RNAs. *Planta* **165**, 502–506.
- [6] C. R. McClung (1999) It's about time. Putative components of an *Arabidopsis* circadian clock. *Trends in Plant Sciences* **3**, 454–456.
- [7] A. J. Millar, I. A. Carré, C. A. Strayer, N. H. Chua, S. A. Kay (1995) Circadian clock mutants in *Arabidopsis* identified by luciferase imaging. *Science* **267**, 1161–1163.
- [8] R. Schaffer, N. Ramsay, A. Samach, S. Corden, J. Putterill, I. A. Carré, G. Coupland (1998) The *late elongated hypocotyl* mutation of *Arabidopsis* disrupts circadian rhythms and the photoperiodic control of flowering. *Cell* **93**, 1219–1229.
- [9] D. E. Somers (1999) The physiology and molecular bases of the plant circadian clock. *Plant Physiology* **121**, 9–19.
- [10] D. Staiger, C. Heintzen (1999) The circadian system of *Arabidopsis thaliana*. *Chronobiology International* **16**, 1–16.
- [11] Z. Y. Wang, E. M. Tobin (1998) Constitutive expression of the Circadian clock associated 1 (*CCA1*) gene disrupts circadian rhythms and suppresses its own expression. *Cell* **93**, 1207–1217.

Zur Autorin



Dorothee Staiger, geboren 1960 in Stuttgart. 1978–1984 Studium der Biochemie in Tübingen und München. Diplomarbeit am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried. Dissertation am Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln über lichtregulierte Genexpression bei höheren Pflanzen; anschließend Tätigkeit als Postdoc. Seit 1990 am Institut für Pflanzenwissenschaften der ETH Zürich beschäftigt. Thema: Molekulare Grundlagen des circadianen Systems von *Arabidopsis*.

Anschrift

Dr. Dorothee Staiger, Institut für Pflanzenwissenschaften, ETH-Zentrum, Universitätsstr. 2, CH-8092 Zürich.