

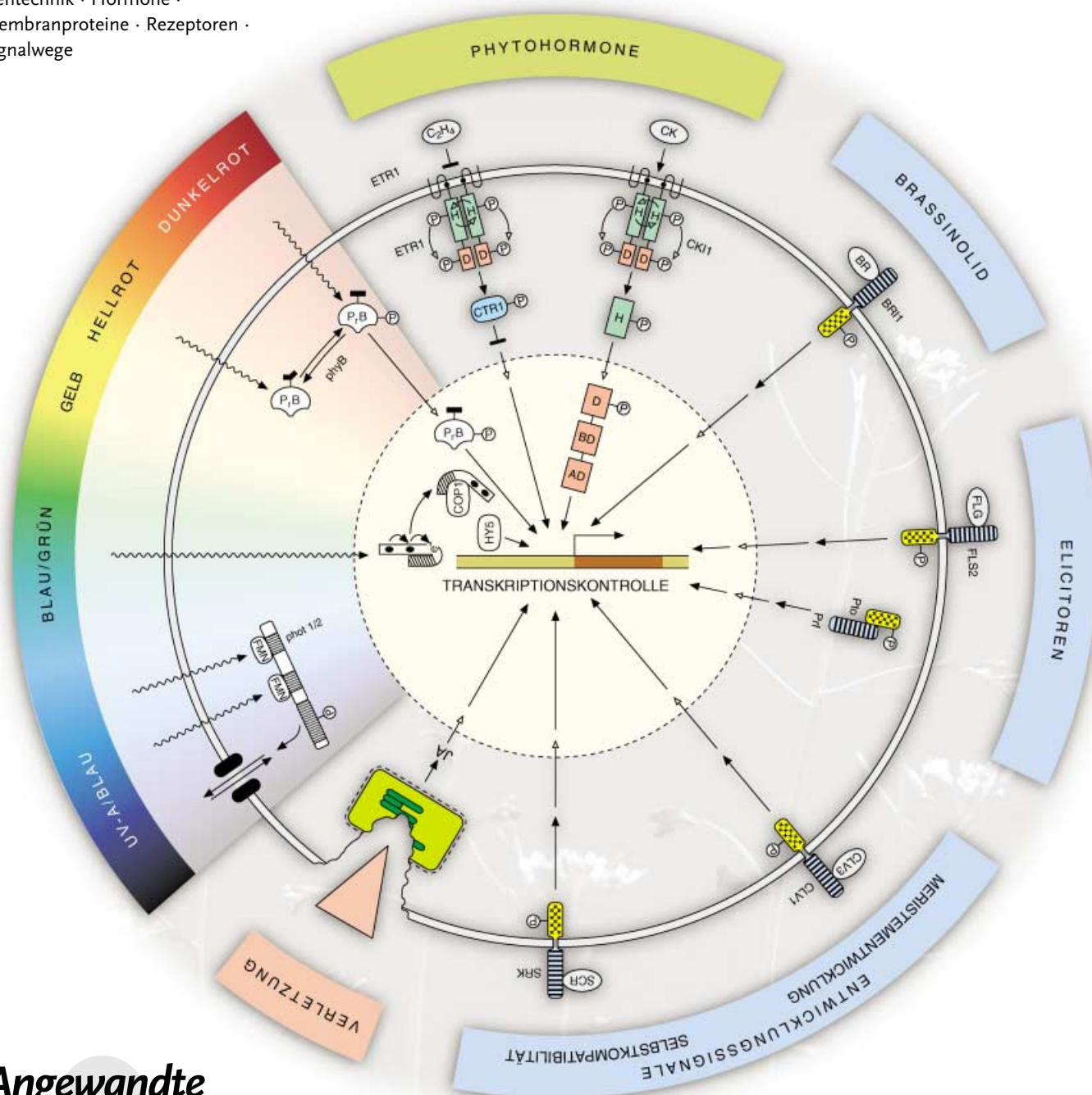
Grundzüge der Sensorik Höherer Pflanzen

Elmar W. Weiler*

Professor Meinhard H. Zenk zum 70. Geburtstag gewidmet

Stichwörter:

Gentechnik · Hormone ·
Membranproteine · Rezeptoren ·
Signalwege



Pflanzen reagieren auf eine Vielzahl unterschiedlicher Reize aus ihrem Körperinneren und ihrer Umgebung. Unser Wissen um die sensorischen Fähigkeiten von Pflanzen hat gerade in den letzten zehn Jahren enorm zugenommen. Dies liegt einerseits an dem konsequenten Einsatz molekulargenetischer Verfahren, andererseits daran, daß weltweit viele Kräfte auf eine einzige, repräsentative Höhere Pflanze konzentriert werden, auf *Arabidopsis thaliana*, die Acker-Schmalwand. Dieser Aufsatz konzentriert sich eher auf die Prinzipien als auf Details und beschränkt sich auf solche Systeme, die funktional eindeutig identifiziert sind. Höhere Pflanzen sind hinsichtlich ihrer sensorischen Fähigkeiten um nichts weniger faszinierend, nicht weniger komplex, nicht weniger empfindlich als Tiere oder sogar der Mensch. Pflanzen überwachen dauernd ihre Umgebung und den Zustand in ihrem Inneren mit Hilfe eines erstaunlichen Aufgebots sensorischer Systeme, die sich von denen der Tiere oder des Menschen unterscheiden.

1. Einleitung

Die Evolution vielzelliger Organismen aus einfachen, einzelligen Vorfahren führte zur Perfektionierung zweier bemerkenswert unterschiedlicher Baupläne: zu den frei beweglichen Tieren (und zum Menschen) einerseits und zu den sessilen Pflanzen andererseits. Um im Leben zurecht zu kommen, ist ein hochentwickeltes Tier, z.B. ein Wirbeltier, zum einen mit einer Fülle von Sinnesorganen ausgestattet, die darauf ausgerichtet sind, Information aus dem Körperinneren und mehr noch aus der Umgebung aufzunehmen, zum anderen hat es ein Gehirn von faszinierender Komplexität, das dazu dient, aus diesen eingehenden Signalen ein Abbild der äußeren Welt im Bewußtsein zu erzeugen und ein Bild des Individuums in dieser Welt, das es ihm ermöglicht, sich in ihr zu orientieren und angemessen zu verhalten.

Im Gegensatz zu den frei beweglichen Tieren sind Pflanzen im Boden verwurzelt und erscheinen uns eher passiv: Sind sie nicht lediglich Chemiefabriken, nur dazu da, CO₂ und einige weitere anorganische Verbindungen mit Hilfe von Lichtenergie in Kohlenhydrate und andere organische Moleküle umzuwandeln, die Tiere als Nahrung benötigen?



Reiz	menschlicher Sinn	pflanzliche Reaktion
Licht	Sehen	✓
flüchtige Verbindungen	Geruch	✓
nichtflüchtige Verbindungen	Geschmack	✓
mechanische Einflüsse	Gefühl	✓
Massenbeschleunigung	Gleichgewicht	✓
Schall	Gehör	–

Abbildung 1. Vergleich der menschlichen Sinne und ihrer zugeordneten Reize mit den sensorischen Fähigkeiten einer Höheren Pflanze.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	407
2. Aufnahme und Verarbeitung endogener Signale	408
3. Sensorik für die abiotische Umgebung	412
4. LRR-Rezeptorkinasen in Pathogenabwehr und Entwicklung	420
5. Cyclo-Oxylipine: Signalmoleküle aus Pflanzenmembranen	421
6. Sensorikmodulierte Pflanzen: neue Chancen für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz	424

Tatsächlich könnte keine Aussage irreführender sein! Gerade weil Pflanzen sesshaft sind, sind sie einem viel stärkeren Wechsel der auf sie einwirkenden Umweltbedingungen – einschließlich oft extremer Situationen – ausgesetzt als Tiere: Pflanzen können nicht einfach eine unwirtliche oder gefährvolle Umgebung verlassen und sich eine günstigere suchen. Um zu gedeihen, schon um zu überleben, muß eine Pflanze wahrscheinlich genauso viel Information aus der Umgebung verarbeiten wie ein Tier, und mit Ausnahme von Schall können Pflanzen tatsächlich die gleichen Reizqualitäten aufnehmen wie der Mensch (Abbildung 1).

Die sensorische Peripherie einer Pflanze, die daran beteiligten molekularen Strukturen und die Reaktionen, die ausgelöst werden, waren lange Zeit unbekannt, und viele sind es noch heute. Die letzten Jahre brachten jedoch einen ungeheuren Wissenszuwachs hinsichtlich der molekularen Abläufe vieler sensorischer Prozesse in Höheren Pflanzen. Das heutige Bild zeigt zweierlei: Die sensorischen Prozesse bei Pflanzen unterscheiden sich wesentlich von denen bei Tieren, und die Sensorik der Pflanzen ist nicht weniger komplex, leistungsfähig und empfindlich als die von Tieren. Sie erlaubt es Pflanzen, ihre Wachstums- und Differenzierungsmuster und die Ausrichtung ihrer Organe in Bezug auf subtile endogene oder umweltbedingte Änderungen anzupassen; sie ermöglicht es der Pflanze, eine riesige Zahl potentieller Pathogene und Herbivore abzuwehren. Auf rudimentäre Weise können Pflanzen sogar Signale untereinander austauschen, und sie kommunizieren sicherlich – durch chemische Interaktionen – mit anderen Organismen beim

[*] Prof. Dr. E. W. Weiler
Lehrstuhl für Pflanzenphysiologie
Fakultät für Biologie
Ruhr-Universität
44780 Bochum (Deutschland)
Fax: (+ 49) 234-322-4291
E-mail: elmar.weiler@ruhr-uni-bochum.de

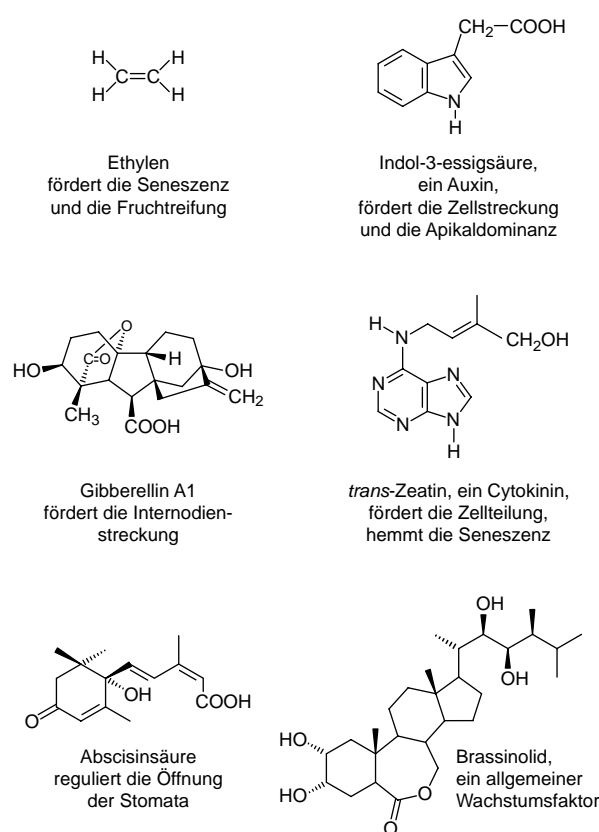
Aufbau assoziativer oder symbiotischer Beziehungen, und sie senden chemische Alarmsignale aus, wenn sie angegriffen werden.

Dieser Aufsatz soll in die Welt sensorischer Prozesse in Höheren Pflanzen einführen, wobei das Augenmerk stärker auf die Prinzipien als auf die Einzelheiten gelenkt wird. Ein Verständnis dafür, wie Pflanzen interne und externe Faktoren, darunter abiotische und biotische Reize, aufnehmen und auf sie reagieren, wird weitreichende Konsequenzen für alle haben, die sich mit angewandten Pflanzenwissenschaften befassen: Pflanzenzüchter wie Pflanzenschutzchemiker und Landwirte.

2. Aufnahme und Verarbeitung endogener Signale

Intraorganismische Kommunikation in Höheren Pflanzen geschieht zum großen Teil – in vielen Fällen sogar ausschließlich – auf chemischem Weg und dient nicht nur dazu, Wachstum zu koordinieren, sondern auch die Orientierung von Organen, den Massenfluß von Wasser, Nährstoffen und Assimilaten innerhalb des Organismus, den Stoffwechsel und den molekularen Austausch auf der Pflanzenoberfläche.

Einige der dabei beteiligten Signalmoleküle sind in Schema 1 dargestellt; sie gehören zur Gruppe der endogenen Wachstumsregulatoren und werden Phytohormone genannt. Diese, wie z.B. die Auxine, können über Entfernungen von nur einigen Zellen wirken, etwa in Meristemen oder in sich entwickelnden Embryonen, einige können aber auch mit dem Xylem- oder Phloemstrom transportiert werden und große Strecken in der Pflanze zurücklegen, um Organfunktionen zu koordinieren. Beispielsweise wird in einem Wurzelsystem bei Wassermangel Abscisinsäure (ABA) produziert und mit dem Transpirationsstrom in die Blätter zu den epidermalen Schließzellen befördert. In diesen bewirkt ABA eine Absenkung des osmotischen Drucks. Dadurch nimmt das Volumen der Schließzellen ab, was zum Schließen der stomatären Poren und damit zu einer drastischen Reduktion der Verdunstung führt. In diesem Beispiel verhält sich das Phytohormon wie ein typisches Hormon bei Tieren, das Stoffwechselfunktionen eines entwickelten Organismus reguliert. In der Regel kontrollieren Phytohormone jedoch Wachstum und Differenzierung, also den Entwicklungsprozeß selbst, sie verhalten sich also wie z.B. tierische Wach-



Schema 1. Beispiele für Phytohormone Höherer Pflanzen und für physiologische Vorgänge, die unter ihrer Kontrolle stehen. Die Auflistung der physiologischen Funktionen ist keineswegs vollständig.

tumsfaktoren. Das weist darauf hin, daß deutliche Unterschiede in der Wirkungsweise und im Wirkungsmechanismus von Phytohormonen im Vergleich zu tierischen Hormonen zu erwarten sind, was sich bereits durch die fehlenden Strukturähnlichkeiten zwischen Tier- und Pflanzenhormonen ankündigt.

Entscheidende Fortschritte bei der Aufklärung der Wirkmechanismen von Phytohormonen wurden erst in den vergangenen Jahren erzielt. Sie sind hauptsächlich der Verwendung von Mutanten und dem Fortschritt bei der Genomanalyse der wichtigsten Modellpflanze der Pflanzenentwicklungsbiologie, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Acker-Schmalwand, ein Mitglied der Brassicaceen-Familie, Abbildung 2) zuzuschreiben. Die drei Genome (Nucleom, Plastom und Chondriom) dieser Pflanze sind vollständig sequenziert,^[1] und die Nucleotidsequenzen ihrer etwa 25 500 annotierten Gene sind allgemein zugänglich, ebenso umfangreiche Sammlungen von Mutanten, Genen, cDNAs, ESTs (Expressed Sequence Tag) und anderen Hilfsmitteln (TAIR, The Arabidopsis Information Resource: <http://www.arabidopsis.org/>).

Viele, vielleicht die meisten Phytohormonwirkungen schließen eine Kontrolle der Aktivitäten von bestimmten Gruppen hormonresponsiver Gene ein. Gerade auf diesem Gebiet wurden auch die größten Erkenntnisfortschritte erzielt, wodurch einem rationalen Zugang zur Pflanzenwachstumskontrolle der Weg bereitet wurde.



Elmar W. Weiler, geboren 1949. Studium der Biologie und Chemie, 1977 Promotion bei Prof. Dr. M. H. Zenk an der Ruhr-Universität, 1982 Habilitation im Fach Botanik. 1985–1988 an der Universität Osnabrück, seit 1988 Inhaber des Lehrstuhls Pflanzenphysiologie an der Ruhr-Universität. 1995 Gottfried-Wilhelm-Leibniz-Preis der DFG. Nach Arbeiten an Naturstoffen und der immunologischen Analyse niedermolekularer Pflanzenstoffe sind entwicklungsbiologische Fragestellungen, Untersuchungen pflanzlicher Membranfunktionen und die Biosynthese der Phytohormone Schwerpunkte laufender Forschungsarbeiten.

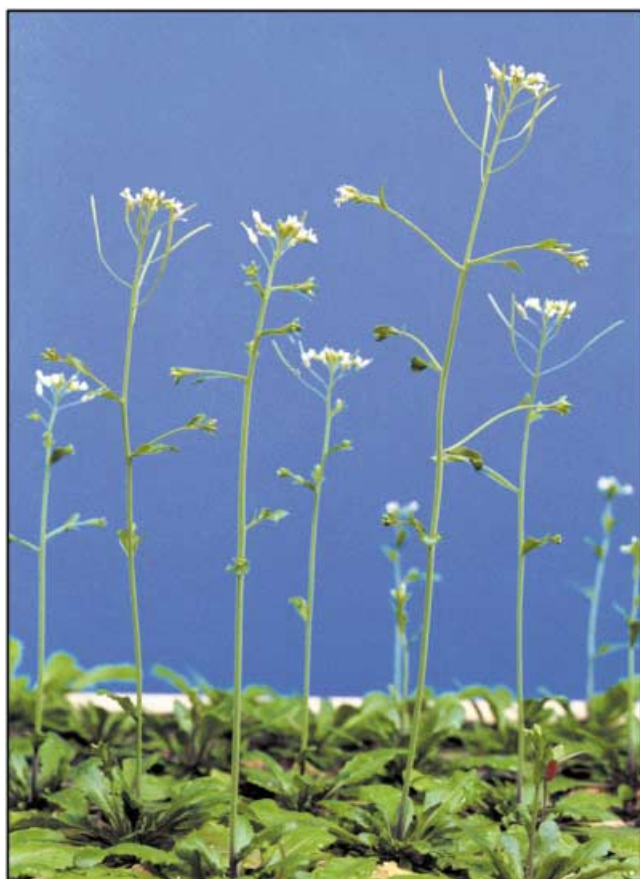


Abbildung 2. Habitus von 8 Wochen alten blühenden *Arabidopsis thaliana*. *A. thaliana* ist die einzige Höhere Pflanze, deren Genom komplett sequenziert und allgemein zugänglich gemacht worden ist. Das Kerngenom umfaßt 125 Mbp DNA, auf fünf Chromosomen (1 n) verteilt. Es enthält ungefähr 25 500 Gene, von denen bislang nur 10% eindeutig zugewiesene Funktionen codieren, während mögliche Funktionen weiterer 50% anhand von bekannten Genen anderer Organismen vermutet werden können. Für die restlichen 40% der Gene geben die Nucleotidsequenzen bisher keinerlei Hinweise auf die Funktionen der codierten Genprodukte.

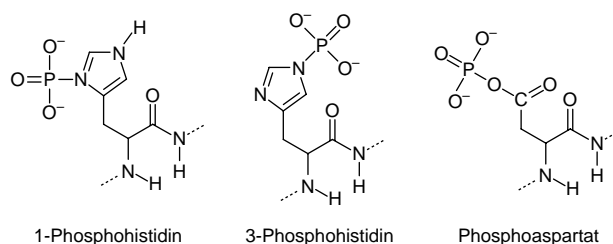
2.1. Phosphorelais-Regulatoren und Signalwege der Phytohormone

Die primären molekularen Ziele der Phytohormonwirkung ließen sich durch klassische biochemische Vorgehensweisen nicht identifizieren. Der Weg zu ihrer Aufklärung war erst geebnet, als hormoninsensitive Mutanten, hauptsächlich von *Arabidopsis thaliana*, zur Verfügung standen^[2] und Techniken zum Positionsklonieren so weit entwickelt waren, daß das mutierte Gene tatsächlich auch isoliert werden konnte. Bis zum heutigen Tag wurden die Rezeptoren sowie weitere Komponenten des Signalwegs jedoch nur für zwei der Hormonklassen – das die Seneszenz fördernde Ethylen und die den Zellzyklus aktivierenden und Alterungsprozesse verzögernden Cytokinine – eindeutig identifiziert.

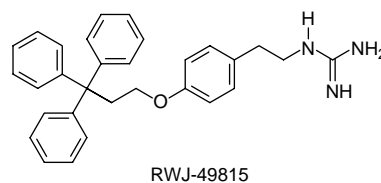
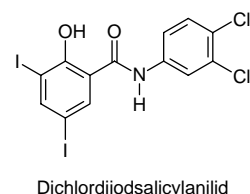
Die Ergebnisse waren überraschend, denn sie legten offen, daß die Ethylen- und die Cytokininrezeptoren Homologe der bakteriellen Histidinkinase-Phosphorelais-Systeme sind, die auch als Zwei-Komponenten-Regulatoren bezeich-

net werden, da der einfachste („klassische“) Typ aus nur zwei Proteinen besteht, einem Sensorprotein mit Histidinkinase-Aktivität (dieser Rezeptor ist typischerweise ein dimeres Transmembranprotein, doch es gibt auch Ausnahmen, siehe Abschnitt 3.1.1) und einem Antwortregulator, auf den die Phosphatgruppe vom Phosphohistidin des Sensorproteins übertragen wird.^[3] Der Antwortregulator wird an einem spezifischen Aspartylrest phosphoryliert und ist in dieser phosphorylierten Form in der Regel ein aktiver Transkriptionsfaktor, der direkt mit DNA-Promotorelementen interagiert, um die Transkriptionsaktivität der entsprechenden Gene zu ändern. In den meisten Fällen ist es nicht bekannt, welches der beiden isomeren Histidinphosphate, 1-Phosphohistidin oder 3-Phosphohistidin, durch die Histidinkinase-Aktivität des Sensorproteins gebildet wird. Durch ³¹P-NMR-Spektroskopie^[4] ließ sich zeigen, daß im Fall der an der bakteriellen Chemotaxis beteiligten Histidinkinase CheA das thermodynamisch stabilere 3-Phosphohistidin entsteht (Schema 2). Nur wenige Histidinkinase-Inhibitoren sind beschrieben worden.^[3a] Sie sind zwei Klassen zuzuordnen, Salicylaniliden wie Dichlordiiodsalicylanilid und hydrophoben Tyraminen wie RWJ-49815. Diese Inhibitoren weisen IC₅₀-Werte im niedermikromolaren Bereich auf (Schema 3).^[3a]

Phosphorelais-Regulatoren sind modular aufgebaut und sowohl bei Prokaryoten weitverbreitet (*Escherichia coli* hat 30 Sensorhistidinkinase-Gene sowie 32 Gene, die Antwortregulatoren codieren, 25 davon sind Transkriptionsfak-



Schema 2. An Phosphorelais-Signalwegen beteiligte Phosphoamino-säuren. Gezeigt sind lediglich Ausschnitte aus Polypeptidketten. Für die meisten der Histidinkinase-Reaktionen ist nicht bekannt, welches der beiden Phosphohistidin-Isomere gebildet wird.



Schema 3. Beispiele für Histidinkinase-Inhibitoren (Übersicht in Lit. [3a]).

toren^[3a,d]), als auch bei Pilzen und Pflanzen.^[3g] In den komplett sequenzierten Genomen von *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans* und Mensch wurden sie dagegen nicht gefunden, sie scheinen somit bei Tieren nicht vorzukommen.

Mehrere Arten von Phosphorelais-Systemen sind bekannt (Abbildung 3), die sich von den „klassischen“ Zwei-Komponenten-Regulatoren entweder durch das Vorkommen von Sensorhistidin-Hybridkinasen mit einer integrierten Antwortregulatordomäne (und manchmal einer zweiten Phosphohistidindomäne) unterscheiden oder durch die Beteil-

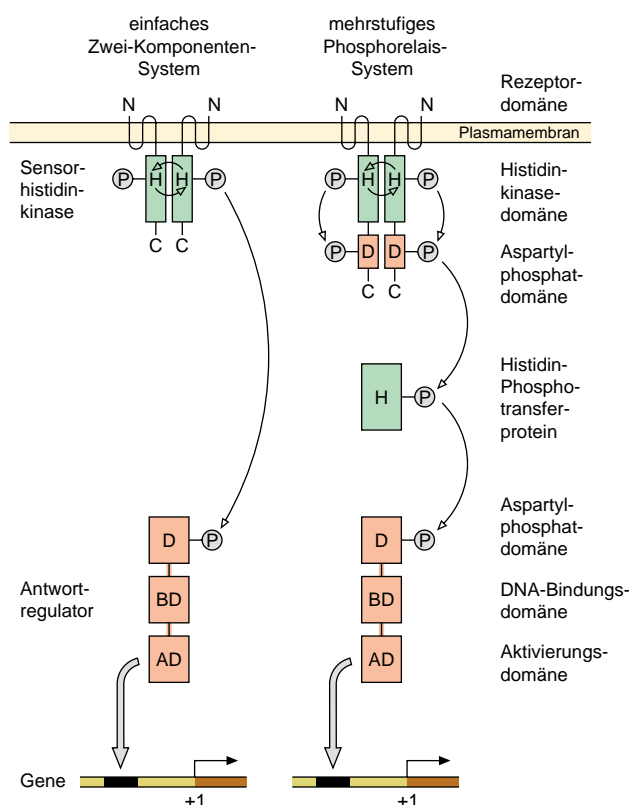


Abbildung 3. Zwei-Komponenten-Regulatoren: „Klassische“ Zwei-Komponenten-Systeme bestehen aus einer Sensorhistidinkinase (meist membrangebunden mit zwei oder mehreren Transmembransegmenten) und einem cytoplasmatischen Antwortregulator, auf den der Phosphatrest vom Phosphohistidin der Sensorhistidinkinase unter Phosphorylierung eines konservierten Aspartats übertragen wird. Die meisten – aber nicht alle – Antwortregulatoren sind Transkriptionsfaktoren. Mehrstufige Phosphorelais-Systeme bestehen in der Regel aus einer Histidin-Hybridkinase mit einer daran fusionierten Antwortregulatordomäne und einem Histidin-Phosphotransferprotein, das zwischen der Sensorkinase und dem am Ende der Signalleitung stehenden Antwortregulator vermittelt. Gekrümmte Pfeile mit offenen Pfeilspitzen zeigen Phosphotransfer an. Die Sensorkinasen sind Homodimere, die das Histidin des jeweils gegenüberliegenden Monomers mit Hilfe von ATP phosphorylieren. Die mehrstufigen Phosphorelais-Systeme ermöglichen eine flexiblere Regulation und vernetztes Zusammenwirken. Es können z. B. mehrere Sensorkinasen auf das gleiche Phosphotransferprotein oder ein Phosphotransferprotein kann auf mehr als einen Antwortregulator wirken. Ein Beispiel für ein „klassisches“ Zwei-Komponenten-System ist das EnvZ→OmpR-System von *E. coli*, das an der Osmoregulation beteiligt ist. Abkürzungen: H, Histidin; D, Aspartat; P, Phosphat; BD, DNA-Bindungsdomäne; AD, Aktivierungsdomäne; + 1, Nucleotid eins, markiert den Transkriptionsstart eines Gens.

gung von zusätzlichen Phosphorelais-Proteinen zwischen der Sensorkinase und dem Antwortregulator gekennzeichnet sind. Phosphorelais-Systeme aus mehreren Modulen erlauben eine feinere regulatorische Abstimmung, sie können im Unterschied zu einfachen Zwei-Komponenten-Systemen verschiedene Signale verarbeiten und lassen sich somit besser in das regulatorische Netzwerk der Zelle integrieren.

Mit zwei Ausnahmen (nämlich den Ethylenrezeptoren ERS1 und ERS2) bestehen die bislang bekannten eukaryotischen Phosphorelais-Systeme (Abbildung 4) aus Sensorhybridkinasen mit einer integrierten Antwortregulatordomäne, was in Prokaryoten selten vorkommt. Die phylogenetische Analyse zeigt, daß die pflanzlichen Sensorhybridkinasen mit einer einzigen Gruppe bakterieller Sensorhybridkinasen, repräsentiert durch ArcB, BarA und ResC,^[3f] verwandt sind. Demnach stammen wohl alle eukaryotischen Sensorhistidinkinasen von einem einzigen prokaryotischen Vorfahren ab, vermutlich von dem cyanobakteriellen Endosymbionten, aus dem die Plastidenorganellen hervorgegangen sind. Auch weist die Anwesenheit strukturell ähnlicher Phosphorelais-Systeme bei Pilzen und Pflanzen und ihr vollständiges Fehlen bei Tieren darauf hin, daß dieses Sensorsystem während der Evolution bereits vor der Trennung der Entwicklungslinien von Pilzen und Pflanzen entstanden ist.^[3b]

Drei Beispiele für eukaryotische Phosphorelais-Signalwege sind in Abbildung 4 gegenübergestellt, um Ähnlichkeiten und Unterschiede deutlich zu machen: die beiden bislang bekannten Phytohormon-Signalwege und der Osmoregulations-Signalweg der Hefe. Alle Sensorhistidinkinasen dieser Signalwege sind membrangebunden und haben entweder zwei oder drei N-terminale Transmembrandomänen. In allen drei Fällen liegen die Rezeptoren in der Membran als Dimere vor, wie das für membrangebundene Sensorkinasen von Phosphorelais-Systemen üblich ist. Für Cytokinine wie für Ethylen empfängt eine Rezeptorfamilie das eingehende Signal.

Bei *Arabidopsis thaliana* wurden 5 Ethylenrezeptoren identifiziert (die Sensorhybridkinasen ETR1, ETR2 und EIN4 sowie ERS1 und ERS2, wobei den beiden letztgenannten eine integrierte Antwortregulatordomäne fehlt).^[5] Ethylen bindet im Bereich der Transmembrandomänen.^[6] An der Ethylenbindung sind Cu^+ -Ionen beteiligt, die durch Histidin- und Cysteinliganden koordiniert werden, und zwar eines pro Monomer.^[7] Der Mechanismus der Olefin-Metall-Wechselwirkung ist noch unklar.^[3a] Die Ethylenrezeptoren interagieren mit der CTR1-Kinase, einem negativen Regulator des nachgeschalteten Signalwegs. Die reprimierende Funktion der CTR1-Kinase ist dadurch belegt, daß Mutationen, die einen Verlust der CTR1-Funktion zur Folge haben, bei Abwesenheit von Ethylen zu einer konstitutiven Ethylenantwort führen. Die meisten Hinweise sprechen für folgende Hypothese: In der Abwesenheit von Ethylen interagieren die Ethylenrezeptoren mit der CTR1-Kinase, halten sie dadurch in aktivem Zustand und reprimieren so die nachgeschalteten Schritte. Nach diesem Modell^[8] würde Ethylenbindung die Rezeptor-CTR1-Interaktion unterbrechen und somit den Weg unterhalb von CTR1 dereprimieren.

CTR1 ist ein Raf-Kinase-Homolog und entspricht somit dem MAPKKK-Mitglied einer MAP-Kinase-Kaskade. Die-

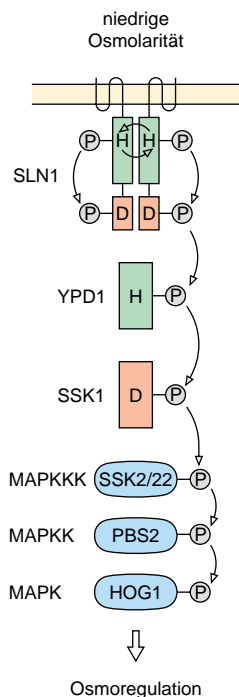
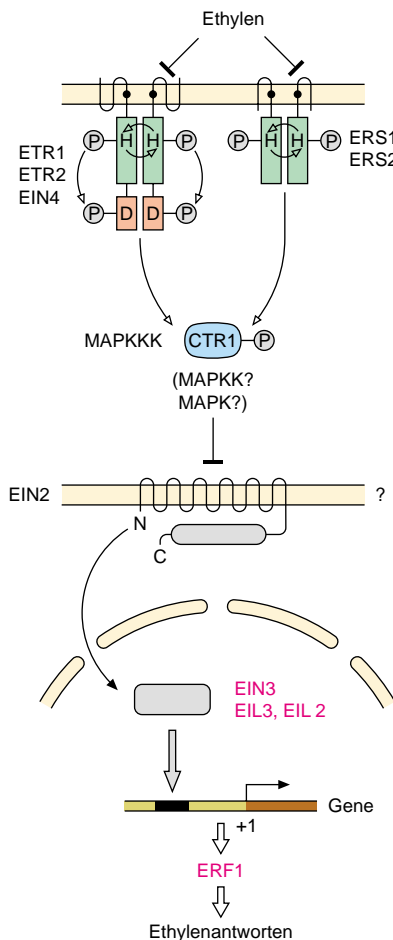
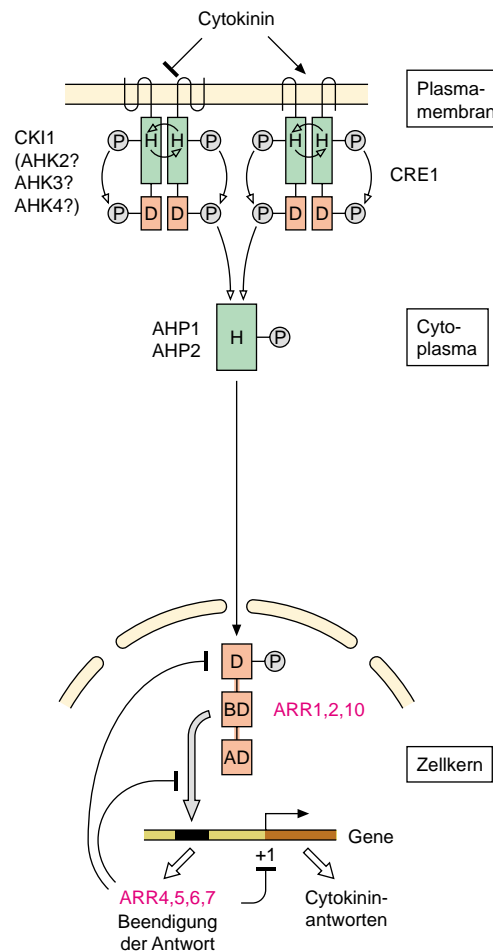
Saccharomyces cerevisiae*Arabidopsis thaliana**Arabidopsis thaliana*

Abbildung 4. Aufbau des Ethylen- und des Cytokinin-Signalwegs im Vergleich zum Osmoregulationsweg der Hefe.^[3bc, 7, 8] Phosphorelais-Komponenten sind in Rot und Grün dargestellt, Komponenten von MAP-Kinase-Wegen in Blau, die Akronyme für Transkriptionsfaktoren in Magenta. Die gekrümmten Pfeile mit den offenen Pfeilspitzen bezeichnen Phosphotransfer-Reaktionen, graue Pfeile DNA-Bindung, T-Pfeile (⊥) bedeuten Inhibition oder Repression. MAPK, mitogenaktivierte Proteinkinase; MAPKK, MAPK-Kinase; MAPKKK, MAPKK-Kinase; H, Histidin; D, Aspartat; P, Phosphat; AHP, *Arabidopsis*-Histidin-Phosphotransferprotein; ARR, *Arabidopsis*-Antwortregulator; ETR, ethylenresistent; EIN, ethyleninsensitiv; ERF, Ethylenantwort-Faktor; CKI, cytokinininsensitiv; CRE, cytokininresistent; die anderen Akronyme sind in der zitierten Literatur erklärt. Die schwarzen Punkte in den Ethylenrezeptoren repräsentieren Cu^{+} -Ionen.

ses Merkmal erinnert an den Osmoregulationsweg der Hefe unterhalb des Antwortregulators SSK1, dessen Komponenten sämtlich identifiziert werden konnten; sie bilden eine typische MAP-Kinase-Kaskade (SSK2/22→PBS2→HOG1).^[3b] Außer CTR1 wurden jedoch bislang keine weiteren Mitglieder einer solchen Kaskade im Ethylen-Signalweg entdeckt.

Für die ethylenabhängige Derepression des CTR1 nachgeschalteten Signalwegs ist die Aktivität des Transmembranproteins EIN2 notwendig. Die N-terminale Domäne von EIN2 weist Ähnlichkeit zu Transportern für divalente Kationen der Nramp-Familie auf, die in Pilzen und Tieren gefunden wurden, während die C-terminale Domäne nur bei EIN2 vorkommt. EIN2 könnte ein Metallsensor sein. Wie er nach Aufhebung der Hemmung durch CTR1 wirkt, ist unbekannt. Aktivität von EIN2 bewirkt jedoch die Aktivierung einer Gruppe kernlokalisierter dimerer Transkriptionsfaktoren wie EIN3, EIL1 und EIL2. Diese aktivieren ihrerseits die Trans-

kription des Gens, das den Ethylenantwort-Faktor ERF1 codiert, sowie weiterer Transkriptionsregulator-Gene. Die gebildeten Transkriptionsfaktoren wiederum binden an ihre Zielsequenzen (Ethylenantwort-Elemente) in einer Vielzahl von Promotoren und aktivieren so die Transkription zahlreicher indirekt ethylenregulierter Zielgene.

Die Phosphorelais-Signalleitung der Cytokininrezeptoren^[9] erinnert sogar noch mehr an die bakteriellen Phosphorelais-Signalwege als der Ethylen-Signalweg, in dem, wie im Osmoregulations-Signalweg der Hefe, neue Elemente im Lauf der Evolution rekrutiert und zwischen den Antwortregulator und die Promotoren der regulierten Gene eingeschoben worden sind (Abbildung 4). An der Cytokinin-Signalgebung sind wenigstens zwei transmembrane Sensorhistidinkinasen vom Typ der Hybridkinasen beteiligt (CKI1^[10] und CRE1,^[11] weitere Kandidaten sind AHK2, AHK3 und AHK4^[12]). CKI1 ist wahrscheinlich in Abwesenheit von Cytokinin aktiv und wird durch Cytokinine inaktiviert,

während Cytokininbindung CRE1 aktiviert. Die Signalleitung verläuft über die Histidinkinasedomänen zu den in die Rezeptoren integrierten Antwortregulator-domänen unter Bildung des charakteristischen Aspartylphosphats. Von dort wird die Phosphatgruppe auf die Histidin-Phosphorelais-Proteine AHP1 und AHP2 übertragen. Im phosphorylierten Zustand wandern diese in den Zellkern und interagieren dort mit mehreren konstitutiv vorhandenen Antwortregulatoren (ARR1, ARR10 und besonders ARR2). Die Interaktion mit AHP aktiviert die ARR-Proteine, wahrscheinlich durch Entfernen eines noch nicht identifizierten Repressorproteins. Aktive (phosphorylierte) ARR-Proteine binden schließlich an Zielsequenzen in den Promotoren zahlreicher cytokinin-regulierter Gene, deren Genprodukte an der Transkriptionskontrolle, am Zellzyklus, an der Sproßbildung und der Seneszenzverzögerung beteiligt sind. Phosphorylierte ARR-Proteine aktivieren zusätzlich eine zweite Gengruppe, die für weitere Antwortregulatoren (ARR4, 5, 6, 7) codiert. Diese letztgenannte Gruppe von Transkriptionsregulatoren bewirkt die Beendigung der Cytokininantwort an multiplen Regulationsorten. Der gesamte Cytokinin-Signalweg besteht demnach aus einer Phosphorelais-Schaltung, wie sie für prokaryotische Systeme typisch ist.

Nahezu nichts ist darüber bekannt, wie die übrigen Pflanzenhormone, z.B. die Auxine, Gibberelline, Abscissinsäure oder die Jasmonate wirken. Im Genom von *Arabidopsis thaliana* wurden bisher über 40 Gene gefunden, die Sensorhistidinkinasen, Phosphorelais-Proteine und Antwortregulatoren codieren;^[1,3g] dies läßt viel Raum für weitere Entdeckungen. Zusätzlich zu den Phosphorelais-Systemen wurde jedoch vor wenigen Jahren in Pflanzen eine zweite große Familie von Chemosensoren von vollständig anderer Struktur und Funktionsweise entdeckt, und diese werden zur Zeit intensiv im Hinblick auf ihre vielfältigen Rollen in der Pathogenerkennung, der Brassinosteroidwirkung und ihre Rolle bei Entwicklungsprozessen untersucht. Diesen rezeptorähnlichen Kinasen mit leucinreichen Sequenzwiederholungen ist Abschnitt 4 gewidmet.

3. Sensorik für die abiotische Umgebung

Die physikalischen und die chemischen Faktoren in der Umgebung einer Pflanze können sich schnell und unvorhersehbar verändern; sich dem anzupassen erfordert womöglich sofortiges Reagieren. Beispiele dafür sind Schattierung durch ein Blätterdach, mechanische Belastung durch Windkräfte oder eine Verlagerung der Wachstumsachse aus ihrer normalen Position. Hinzu kommen in den meisten Regionen der Erde regelmäßige jahreszeitliche Veränderungen der Klimabedingungen, und ungünstige Phasen wie Dürreperioden oder kalte Winter erfordern eine Anpassung des Entwicklungsprogramms. Beispielsweise müssen Blüten oder Früchten, der Blattfall oder das Auffüllen der vegetativen Speichergewebe mit Assimilatreserven zeitlich koordiniert werden. Physikochemische Reize, die Anpassungen bei Pflanzen hervorrufen, sind u.a. Licht, Temperatur, Feuchtigkeit, sogar das Nährstoffangebot, darüber hinaus mechanische Kräfte und die Massenbeschleunigung im Gravita-

tionsfeld der Erde. In vielen Fällen kennt man die sensorischen Mechanismen noch nicht. Eine bemerkenswerte Ausnahme ist die Lichtperzeption, die bei Pflanzen außerordentlich komplex ist: Eine Höhere Pflanze hat eine größere Anzahl an Photorezeptoren als der Mensch.

3.1. Pflanzliche Photorezeptoren und ihre Evolution

Drei Klassen von Photorezeptoren wurden bei Höheren Pflanzen mit Hilfe von physiologischen, biochemischen, photochemischen sowie genetischen Methoden identifiziert: die Phytochrome, die Cryptochrome und die Phototropine. Die typischen Retinyliden-Photorezeptoren^[13] der Tiere und des Menschen (z.B. Rhodopsin) kommen bei Pflanzen nicht vor, abgesehen von einigen begeißelten Niederen Algen, bei denen Sensorrhodopsine als Phototaxisrezeptoren dienen.^[13,14] Der evolutionäre Ursprung dieser letztgenannten Klasse von Photorezeptoren ist bei Vorfahren der heutigen Archaeen zu suchen. Zu den Retinyliden-Photorezeptoren gehören die lichtgetriebenen Ionenpumpen Bakteriorhodopsin und Halorhodopsin sowie Sensorrhodopsin und Phoborhodopsin, die Phototaxisrezeptoren der heutigen Halobakterien.^[13,15] Da *Arabidopsis thaliana* die am besten untersuchte Höhere Pflanze ist, basiert die folgende Diskussion der molekularen Eigenschaften von Photorezeptoren Höherer Pflanzen und die verwendete Klassifizierung auf Ergebnissen an dieser Species. Es sei aber darauf hingewiesen, daß gerade die Physiologie der Photoperzeption in den Pflanzenwissenschaften eine lange Tradition hat und viele Species sehr eingehend untersucht worden sind.

Phytochrome sind rotabsorbierende, Phototropine blauabsorbierende und Cryptochrome blau- und UV-A-absorbierende Chromoproteine. Sie bewirken entweder allein oder im Verbund die Regulation einer großen Anzahl physiologischer Prozesse (Tabelle 1). *A. thaliana* hat fünf Phytochrome (phyA, B, C, D, E), zwei Cryptochrome (cry1, 2) und zwei Phototropine (phot 1, 2). Innerhalb jeder Photorezeptorklasse sind die Chromophore identisch, die Apoproteine unterscheiden sich hingegen, sind aber eindeutig zueinander homolog. Auch wenn die Anzahl der Photorezeptorisoformen innerhalb jeder Klasse bei den einzelnen Species etwas unterschiedlich sein kann, so ist wohl nach heutigem Kenntnisstand die Situation, wie sie bei *A. thaliana* vorgefunden wird, typisch für die Angiospermen. Obwohl erhebliche funktionale Redundanz bei den Photorezeptorisoformen innerhalb einer Gruppe besteht, spielt doch jeder der Photorezeptoren auch eine eigene Rolle beim Auslösen bestimmter pflanzlicher Antworten. Ein weiteres Charakteristikum pflanzlicher Photosensorik ist der hohe Grad an Kooperation zwischen den verschiedenen Photorezeptoren (Tabelle 1).

3.1.1. Die Phytochrome

Phytochrome, von denen man zunächst dachte, daß sie nur in Pflanzen vorkämen, sind mittlerweile bei allen photoautotrophen Eukaryoten und Prokaryoten und auch bei einigen nichtphototrophen Bakterien wie *Deinococcus*

Tabelle 1: Allgemeine und physiologische Charakteristika lichtregulierter Vorgänge in Höheren Pflanzen und daran beteiligte Photorezeptoren. Die Rezeptorterminologie gilt für *Arabidopsis thaliana*. Die Auflistung physiologischer Antworten ist lediglich beispielhaft und die der beteiligten Photorezeptoren vereinfacht. Hauptreaktionspartner sind unterstrichen.

Photorezeptor(en)	Chromophor(e)	Beispiele für beeinflusste physiologische Vorgänge	weitere beteiligte Photorezeptoren
Phytochrome:			
Klasse I (phyA)	Phytochromobilin	<ul style="list-style-type: none"> ● Photomorphogenese des etiolierten Keimlings ● Kontrolle der circadianen Uhr im Schwachlicht 	<u>cry1</u> , cry2
Klasse II (<u>phyB</u> , C, D, E)	Phytochromobilin	<ul style="list-style-type: none"> ● photomorphogenetische Prozesse im Licht ● Lichtinduktion der Samenkeimung ● photoperiodische Vorgänge (z. B. Blühinduktion) ● Schattenvermeidungsreaktion und „Nachbarererkennung“ ● Photomodulationen (z. B. Blattbewegungen) 	<u>cry2</u> , cry1
Cryptochrome:			
cry1 (Starklichtrezeptor)	Pterin, FAD	<ul style="list-style-type: none"> ● Kontrolle der circadianen Uhr 	phyA (im Schwachlicht)
cry2 (Schwachlichtrezeptor)	Pterin, FAD	<ul style="list-style-type: none"> ● Photomorphogenese des etiolierten Keimlings ● photoperiodische Vorgänge 	<u>phyA</u> , cry2
Phototropine:			
phot1 (Schwachlichtrezeptor)	FMN	<ul style="list-style-type: none"> ● Phototropismus bei niedrigen Lichtintensitäten ● Chloroplastenbewegung im Schwachlicht ● blaulichtabhängige Stomataöffnung 	<u>phyB</u> , cry1
phot2 (Starklichtrezeptor)	FMN	<ul style="list-style-type: none"> ● wie phot1, vermittelt jedoch Starklichtantworten 	

radiourans und *Pseudomonas aeruginosa* gefunden worden.^[16] Phytochrome sind relativ große Proteine aus über 1000 Aminosäuren und weisen eine zweiteilige Struktur auf: eine N-terminale Photoperzeptionsdomäne und eine C-terminale Reaktionsdomäne (Abbildung 5).^[16,17] Alle Phytochrome tragen als chromophore Gruppe ein kovalent gebundenes lineares Tetrapyrrol, das aus Häm synthetisiert wird, und sind demnach Biliproteine. Die Bindung des Chromophors erfolgt autokatalytisch durch die Bilinlyase-Aktivität der N-terminalen Domänen der Phytochrom-Apoproteine. Pflanzen verwenden Phytochromobilin (P Φ B) als Chromophor, cyanobakterielle Phytochrome Phycocyanobilin (PCB), und die Bakteriophytochrome der nichtphototropen Bakterien nutzen Biliverdin (Schema 4).^[18] Bei Pflanzen und Cyanobakterien reagieren die (3*E*)-Isomere von P Φ B bzw. PCB mit der Thiolgruppe eines konservierten Cysteins,

Bakteriophytochromen dagegen fehlt dieses Acceptor-Cystein. Die Biliverdin-Chromophore werden an einen Histidinrest addiert (vermutlich eine Schiff-Base-Reaktion), der am C-Terminus direkt neben dem für die Chromophorbindung verwendeten Cystein der pflanzlichen und cyanobakteriellen Phytochrome liegt (Abbildung 6).^[18] Sequenzvergleiche lieferten kürzlich Anhaltspunkte für das Vorkommen bakteriophytochromartiger Polypeptide bei vielen anderen Arten nichtphototropher Bakterien, Cyanobakterien und sogar Pilzen (Abbildung 6).^[18] Ihre physiologischen Funktionen müssen noch aufgeklärt werden.

Phytochrome und Bakteriophytochrome sind reversible, rotlichtbetriebene Schalter (Schema 5). Im Dunkeln gebildete Apophytochrome binden ihre Chromophore als (15*Z*)-Isomere. Dieses Isomer absorbiert rotes Licht (die Absorptionsmaxima der Chromoproteine liegen im Bereich zwischen

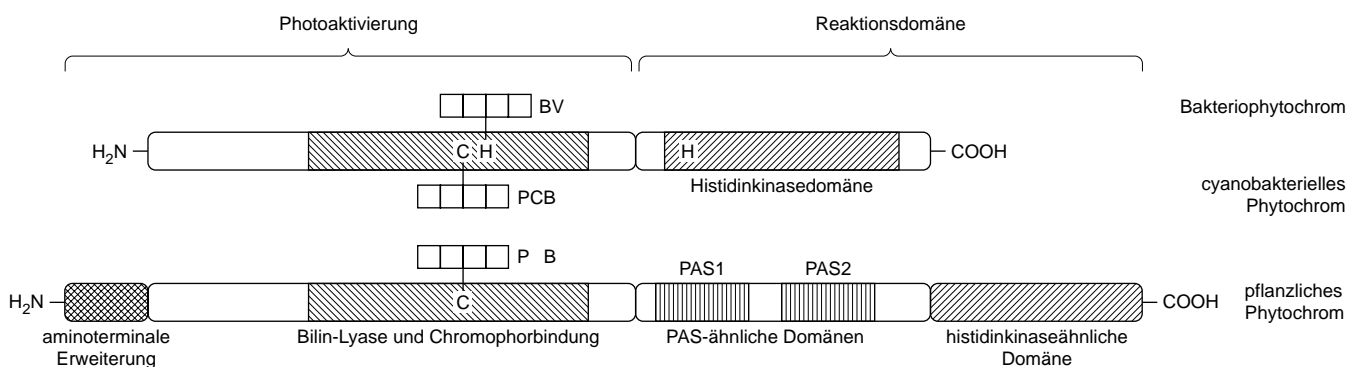
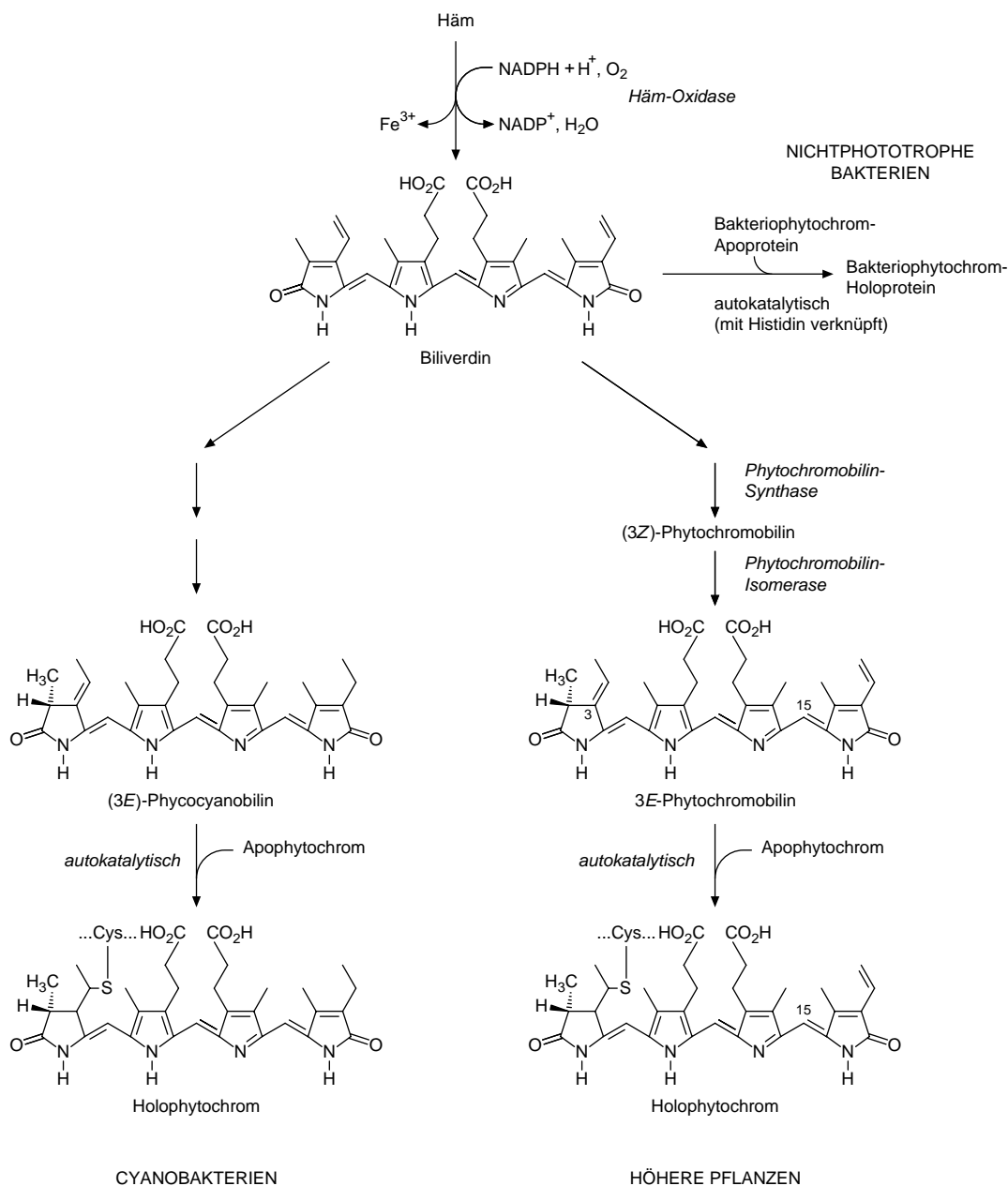


Abbildung 5. Vergleich des modularen Aufbaus von Bakteriophytochrom mit den Phytochromen von Cyanobakterien und Pflanzen. BV, Biliverdin; PCB, Phycocyanobilin; P Φ B, Phytochromobilin; C, Cystein; H, Histidin.



Schema 4. Strukturen und Bindung der chromophoren Gruppen an die Bakteriophytochrom- oder Phytochrom-Apoproteine.

660 und 667 nm) und isomerisiert dabei zum *E*-Isomer, das durch Bestrahlung mit dunkelrotem Licht wieder in das (15*Z*)-Isomer überführt werden kann (Absorptionsmaxima von (15*E*)-Phytochromen liegen im Bereich von 730 nm). In den weitaus meisten Fällen – aber nicht in allen – sind die (15*E*)-Phytochrome (wegen ihrer Absorptionsmaxima im Dunkelroten, engl. far red, auch als P_{fr} bezeichnet) die aktiven Photorezeptoren und die (15*Z*)-Isomere (P_r-Formen) sind inaktiv. Photoreversibilität ist ein charakteristisches Merkmal aller Phytochrome. Wegen der beträchtlichen Überlappung der Absorptionsspektren von P_r und P_{fr} wird immer ein Photogleichgewicht zwischen den beiden Formen aufgebaut, das von der spektralen Qualität des auf die Pflanze einwirkenden Lichts abhängt. Das hat mehrere physiologi-

sche Auswirkungen: 1. Einige Prozesse (z.B. die Samenkeimung verschiedener Species) erfordern nur eine sehr geringe Menge an aktivem P_{fr}, sie werden somit bereits durch Verwendung von dunkelrotem Licht ausgelöst (im Photogleichgewicht liegen ungefähr 2.5% P_{fr} vor). Diese Prozesse können nicht durch Dunkelrotbestrahlung nach einem Hellrotpuls revertiert werden. 2. Veränderungen im Hellrot/Dunkelrot-Verhältnis haben drastische Auswirkungen auf den Aktivierungszustand von Phytochrom. Solche Veränderungen kommen in der natürlichen Umgebung einer Pflanze vor: bei Sonnenuntergang und Tagesanbruch (das Verhältnis nimmt ab, d.h., gegenüber voller Sonneneinstrahlung gibt es mehr dunkelrotes Licht), im Schatten eines Laubdaches (das Verhältnis nimmt infolge der großen Überlappung der Ab-

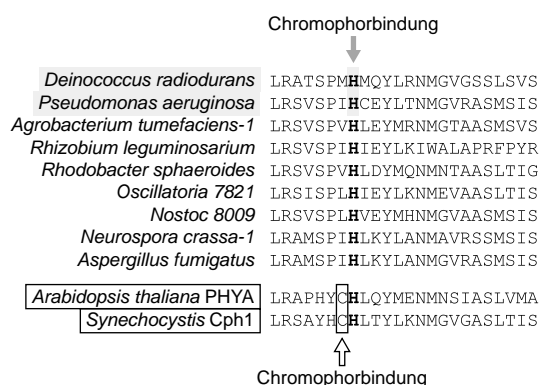
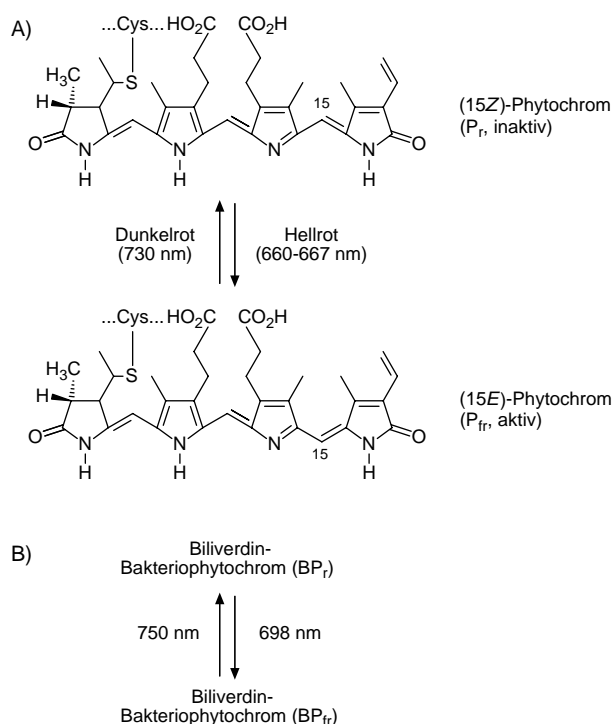


Abbildung 6. Vergleich von Aminosäuresequenzen in der Nähe der Chromophor-Bindestellen (Pfeile), Cystein(C)-Reste bei den Phytochromen und Histidin(H)-Reste bei den Bakteriophytochromen. Aufgrund von Sequenzanalysen wurden Polypeptide mit Sequenzähnlichkeiten zu Bakteriophytochromen in vielen weiteren nichtphototrophen Organismen einschließlich der Pilze, aber auch in Cyanobakterien identifiziert.^[18]



Schema 5. Photoreversible Isomerisierung von Phytochromobilin (A) und Bakteriophytochrom (B) mit Biliverdin als chromophorer Gruppe.^[18]

sorption der Phytochrome und des Chlorophylls drastisch ab) und – aus demselben Grund – im Licht, das von einer nahen grünen Pflanze reflektiert wird. Somit ist Phytochrom ein idealer Photorezeptor, um die Tageslänge, Grünschaten, Pflanzennachbarn und – in Verbindung mit der circadianen Uhr – sogar Jahreszeiten (durch Ermittlung von Veränderungen in der Länge der Photoperiode) zu bestimmen.

Auch die Bakteriophytochrome sind reversible Hellrot-Dunkelrot-Schalter, aber ihre Absorptionsspektren weisen, im Vergleich zu den Phytochromen der Photoautotrophen,

eine deutliche Rotverschiebung auf (Schema 5). Sie würden unter den soeben beschriebenen Umgebungsbedingungen nicht optimal funktionieren. Das mag der Grund sein für die Evolution der „blauverschobenen“ Phytochrome in den photoautotrophen Organismen, deren Spektren sich mit denen der Chlorophylle deutlich überschneiden. Somit sind Phytochrome möglicherweise ursprünglich entstanden, um photoautotrophen Organismen zu helfen, optimale Photosynthesebedingungen zu finden (als Chemotaxisrezeptoren und/oder um bei Lichtüberschuß Schutzreaktionen wie die Synthese von Schattenpigmenten auszulösen).^[19] Im Verlauf der Evolution der Landpflanzen übernahmen die Phytochrome dann später zusätzliche Aufgaben. Die letzte Erweiterung des Funktionsumfangs der Phytochrome fand während der Evolution der Angiospermen statt. Diese Gruppe verfügt zusätzlich zu den bei allen photoautotrophen Organismen vorkommenden Klasse-II-Phytochromen noch über Klasse-I-Phytochrom.^[17] Klasse-I-Phytochrom (in *A. thaliana* durch eine einzige Isoform, phyA, vertreten) wird, im Unterschied zu den lichtstabilen Klasse-II-Photorezeptoren, im Licht schnell durch das Ubiquitin-Proteasom-System abgebaut. Hinzu kommt, daß die Transkriptionsaktivität des *PHYA*-Gens im Licht stark reduziert wird. An dieser Transkriptionskontrolle ist neben phyA auch das Klasse-II-Phytochrom phyB beteiligt.

Die Evolution von Klasse-I-Phytochrom fand bei den Angiospermen in Verbindung mit der Evolution der Skotomorphogenese statt, eines charakteristischen Entwicklungsprogramms dieser Pflanzengruppe, bei dem die normale Entwicklung von Keimlingen in Abwesenheit von Licht reprimiert wird. Im Dunkeln angezogene Angiospermenkeimlinge unterscheiden sich sehr von im Licht gewachsenen (man denke an Kartoffeltriebe, die im Dunkeln oder im Licht herangezogen wurden): ihnen fehlt Chlorophyll, die Blatexpansion bleibt aus und sie zeigen ein stark beschleunigtes Längenwachstum – alles Vorgänge, die dem im Boden bei Abwesenheit von Licht heranwachsenden Keimling helfen, das Tageslicht so schnell und effektiv wie möglich zu erreichen, bevor seine Speicherreserven aufgebraucht sind. Licht bewirkt über phyA (das bei dieser Hochintensitätsreaktion zusammen mit dem Blaulichtrezeptor Cryptochrom wirkt, Tabelle 1) die Beseitigung des Repressorkomplexes und induziert so die Transkription der dereprimierten Gene. Damit kann die Photomorphogenese beginnen, z.B. die Differenzierung der Chloroplasten, um die Photosynthese zu ermöglichen. Im Licht wird phyA rasch abgebaut und die Transkription des *PHYA*-Gens wird herunterreguliert, so daß die phyA-Menge auf unter 10% der Menge im Dunkeln abnimmt. Die Klasse-II-Phytochrome übernehmen nun in der im Licht wachsenden Pflanze die Regulation der meisten phytochromabhängigen Prozesse. phyA ist im Licht aber immer noch aktiv, z.B. um zusammen mit dem Blaulichtrezeptor cry1 ein Hellrotsignal geringer Intensität auf die circadiane Uhr zu übertragen. Dabei komplementiert es phyB, das, zusammen mit cry2, die circadiane Uhr bei hoher Lichtintensität reguliert.

Die Darstellung des modularen Aufbaus der Phytochrome und der Bakteriophytochrome (Abbildung 5) zeigt, daß während der Evolution dieser Photorezeptorklasse die Reak-

tionsdomänen (und somit wahrscheinlich auch der Phytochrom-Signalweg) signifikante Veränderungen durchlaufen haben. Die cyanobakteriellen Phytochrome und die Bakteriophytochrome sind typische, aber cytoplasmatische, also lösliche Komponenten eines Zwei-Komponenten-Phosphorelais-Systems (Abbildung 3); ihre Reaktionsdomänen enthalten die Histidinkinase-Funktion (Abbildung 5). In einigen Fällen sind die Antwortregulatoren dieser direkt lichtregulierten Sensorhistidinkinasen identifiziert worden (z. B. Rcp im Fall des cyanobakteriellen Phytochroms Cph1).^[20] Pflanzenphytochrome haben dagegen eine zweigeteilte Reaktionsdomäne aus einem C-terminalen Abschnitt mit nur schwacher Sequenzähnlichkeit zu Histidinkinasedomänen aber ohne nachweisbare Histidinkinase-Aktivität und einem zweiten Abschnitt, der zwei charakteristische PAS-ähnliche Sequenzmotive enthält. PAS-Domänen können verschiedene Funktionen haben und vermitteln z. B. Protein-Protein-Wechselwirkungen; sie könnten an der Phytochrom-Dimerisierung beteiligt sein. Die Bezeichnung PAS ist ein Akronym, das von den Namen dreier Proteine, die solche Domänen tragen, abgeleitet ist: 1. dem bei *Drosophila* an der circadianen Uhr beteiligten Protein PERIOD (PER), 2. dem Vertebratenprotein ARNT (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator) und 3. dem *Drosophila*-Protein SINGLE-MINDED (SIM). Pflanzenphytochrome sind keine Histidinkinasen, sondern zeigen Ser-/Thr-Kinase-Aktivität, und sie übertragen ihr Signal nicht über einen Phosphorelais-Mechanismus. Stattdessen greifen sie direkt in die Transkriptionskontrolle ein, wie kürzlich für phyB bei *A. thaliana* gezeigt wurde (Abbildung 7).^[21] Die P_r-Form von phyB ist im Cytoplasma lokalisiert, die P_{fr}-Form dagegen wird schnell in den Zellkern transportiert, wo sie mit dem G-Box-bindenden Protein PIF3 (phytochrominteragierender Faktor 3) interagiert, was zur Aktivierung der Transkription der entsprechenden Gene führt. Es gibt Hinweise darauf, daß auch phyA nach Belichtung in den Kern transportiert wird, wo es entweder allein

oder zusammen mit den kernlokalisierten Cryptochromen wirkt. Denkbar ist, daß auch die Interaktion von phyB mit Cryptochromen (z. B. bei der Kontrolle der circadianen Prozesse, Tabelle 1) über eine physikalische Wechselwirkung der beiden Photorezeptoren verläuft.^[17] Cryptochrome sind jedenfalls in vitro Substrate der Ser-/Thr-Kinase-Aktivität der Phytochrome. Es ist somit vorstellbar, daß die Phytochrom-Cryptochrom-Interaktion unter Phosphorylierung von Cryptochrom durch lichtaktiviertes Phytochrom verläuft. Phytochrome (und Cryptochrome) können somit als direkt lichtgeschaltete Transkriptionsregulatoren bezeichnet werden, die eine sehr direkte Weiterleitung eines Lichtsignals in den Zellkern gewährleisten, um die Aktivität lichtregulierter Gene zu ändern.

Nicht alle phytochromabhängigen Antworten erfolgen jedoch über eine Genregulation. Vollkommen reversible, photomodulierte Prozesse, wie die phytochromabhängigen Veränderungen der Blattposition (Tag-/Nachtstellung) oder aber Chloroplastenbewegungen bei einigen Niederen Pflanzen (Schwachlicht- bzw. Starklichtstellung einiger Algen-Chloroplasten, z. B. bei der Gattung *Mougeotia*) treten innerhalb von Minuten ein und verweisen auf wahrscheinlich andere – unbekannte – Wirkmechanismen der Phytochrome.

3.1.2. Die Cryptochrome

Die Evolution der Cryptochrom-Photorezeptoren kann bis zu den Vorfahren der prokaryotischen DNA-Reparaturenzyme, den Photolyasen (Desoxyribocyclobutadipyrimidin-Pyrimidin-Lyase, EC 4.1.99.3), zurückverfolgt werden, die bei den Archaea, Bacteria und bei Eukaryoten zu finden sind. Photolyasen katalysieren die blau-/UV-A-abhängige Reparatur UV-B-geschädigter DNA. Die Klasse-I- und Klasse-II-Photolyasen reparieren Cyclobutan-Pyrimidin-Dimere, während die (6-4)-Photolyasen die Reparatur von Pyrimidin-(6-4)-Pyrimidon-Addukten katalysieren.^[22] Lichtenergie wird, je nach Enzym, entweder von einem 5,10-Methenyltetrahydrofolatpoly($n=3-8$)glutamat (MTHF) oder einem 8-Hydroxy-7,8-didesmethyl-5-desazariboflavin absorbiert (Schema 6). Diese Chromophore sind fest, aber nicht kovalent an ihre jeweiligen Apoenzyme gebunden. Die absorbierte Lichtenergie (im Blau-/UV-A-Bereich) wird auf einen zweiten Cofaktor, halbreduziertes Flavinadenindinucleotid (FADH⁻), übertragen, das ebenfalls nicht kovalent, aber sehr fest ($K_D < 10^{-11}$ M) an das Apoprotein gebunden ist. Angeregtes FADH⁻ (*FADH⁻) überträgt dann ein Elektron auf das Pyrimidin-Dimer (pyr-pyr), was die Spaltung der 5-5- und 6-6-Bindungen des Cyclobutanrings unter Bildung von pyr + pyr⁻ zur Folge hat. Durch die Rückübertragung eines Elektrons von pyr⁻ auf das Flavin wird FADH⁻ im Grundzustand regeneriert, und das Enzym dissoziiert von der DNA (Schema 7).^[22]

Cryptochrome^[23,24] sind mittlerweile in allen Gruppen grüner Pflanzen gefunden worden, von den Algen bis hin zu den Angiospermen. Erst danach wurden sie auch bei Tieren und dem Menschen nachgewiesen. Die Apoproteine der Tier-/Mensch-Cryptochrome haben mehr Ähnlichkeit mit den (6-4)-Photolyasen, die pflanzlichen Cryptochrome sind den Photolyasen der Klasse-I ähnlicher. Cryptochrome sind

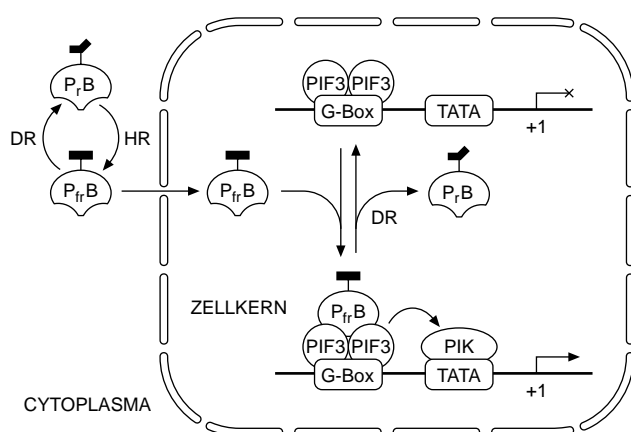
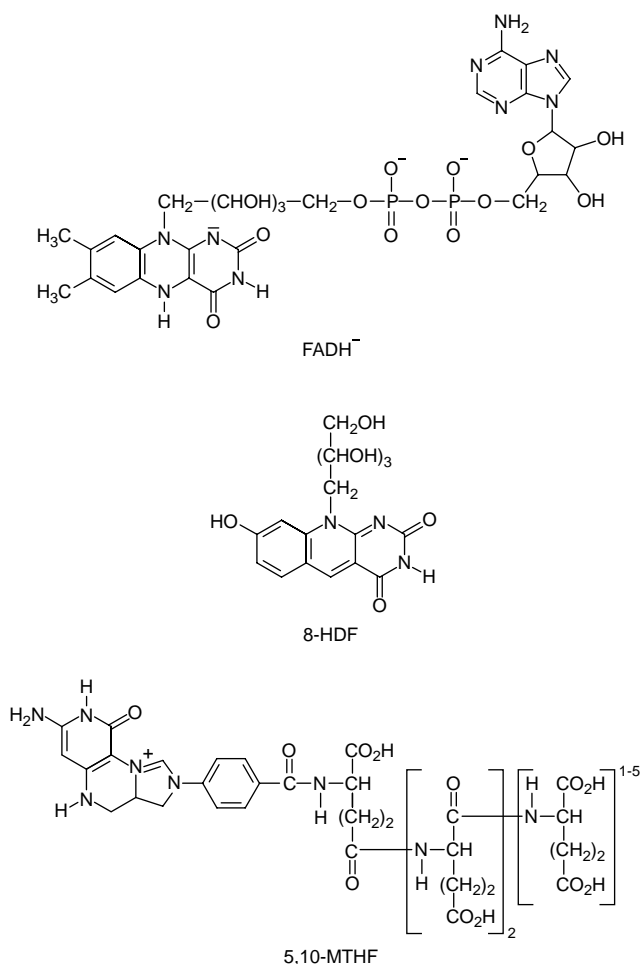


Abbildung 7. Kontrolle der Genaktivität durch phyB. P_rB, Dunkelrot-absorbierende, aktive Form von phyB; P_{fr}B, Hellrot-absorbierende, inaktive Form von phyB; PIF3, phytochrominteragierender Faktor 3, ein mit P_{fr}B interagierendes G-Box-Bindeprotein. Diese Interaktion bewirkt die Aktivierung der von den entsprechenden Promotoren kontrollierten Gene. PIK, transkriptioneller Präinitiationskomplex; TATA, TATA-Box, die Nucleotidsequenz, an der der Präinitiationskomplex assembliert wird; +1, Nucleotid, an dem die Transkription beginnt.



Schema 6. Strukturen von Photolyase-Cofaktoren.^[22] Alle Photolyasen enthalten FADH⁻ als Elektronendonator und entweder 8-HDF (8-Hydroxy-7,8-didesmethyl-5-desazariboflavin) oder 5,10-Methenyltetrahydrofolatpolyglutamat (5,10-MTHF) als lichtabsorbierende Gruppe.

somit im Tier- und im Pflanzenreich unabhängig voneinander aus verschiedenen Photolyase-Vorläufern entstanden.

Keines der bislang analysierten Pflanzen- wie Tier-Cryptochrome hat meßbare Photolyase-Aktivität, alle dagegen weisen eine den Photolyasen fehlende, zusätzliche C-terminale Domäne auf, die zur Auslösung der physiologischen Antworten erforderlich ist (Abbildung 8). Ihre N-terminalen, photolyaseverwandten Domänen binden – wie die Photolyasen – in vitro zwei Chromophore: MTHF und FADH⁻. Auch wenn die meisten Experimente mit rekombinanten, in *Escherichia coli* exprimierten Apoproteinen durchgeführt worden sind, so weisen die Aktionsspektren der cryptochrom-abhängigen physiologischen Antworten der Pflanzen doch darauf hin, daß dieses Cofaktor-Komplement auch für die In-vivo-Situation charakteristisch ist.

Arabidopsis thaliana hat zwei Cryptochrome, cry1 und cry2, mit einem beachtlichen Überlappungsbereich in ihren physiologischen Aufgaben, aber auch jeweils eigenen Funktionen in der Pflanze (Tabelle 1). Während die N-terminalen photolyaseähnlichen Chromophorbindungsdomänen von cry1 und cry2 homolog sind, unterscheiden sich ihre C-terminalen Effektdomänen (CLR-Domänen, Abbildung 8)

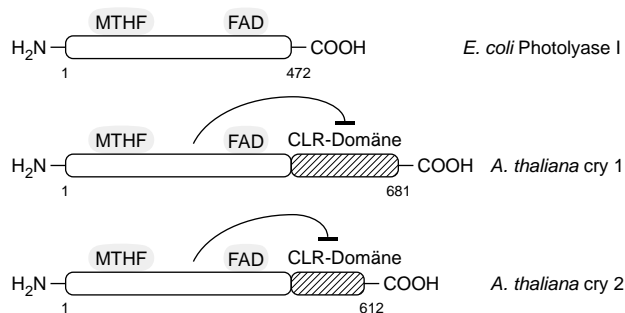
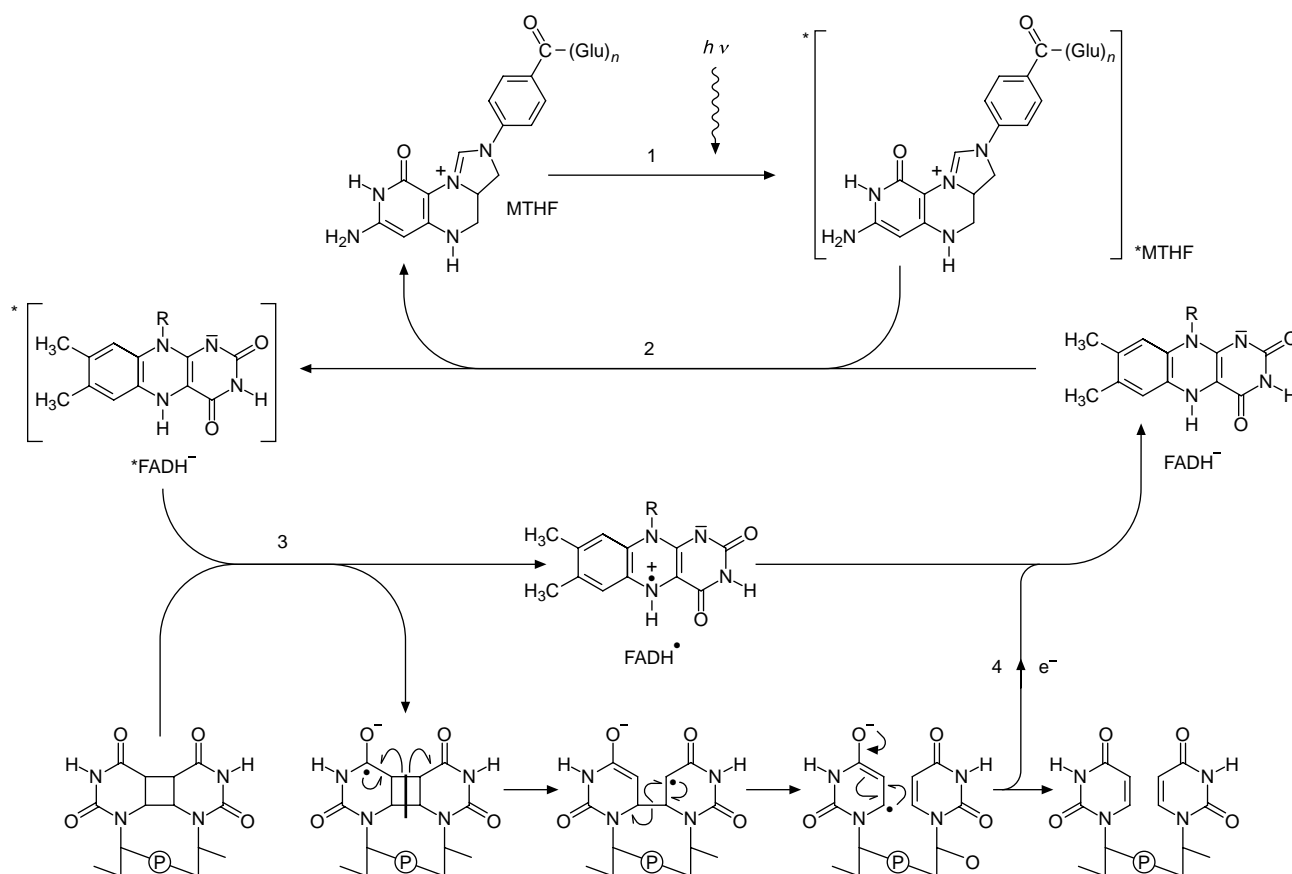


Abbildung 8. Domänenstruktur der *A. thaliana*-Cryptochrome im Vergleich zur Photolyase I von *E. coli*. Offener Balken: lichtabsorbierende Domäne; die Position der beiden nichtkovalent gebundenen Cofaktoren, MTHF und FAD (Abkürzungen siehe Schema 6) ist angegeben. Die CLR-Domäne für sich genommen bewirkt eine konstitutive Lichtantwort. Im Dunkeln reprimiert jedoch die lichtabsorbierende Domäne die Aktivität der CLR-Domäne (\perp).^[22, 26] Die Ziffern bezeichnen die Anzahl der Aminosäuren.

sehr deutlich voneinander, können sich aber trotzdem funktional vertreten. Werden sie in Abwesenheit der photolyaseähnlichen Domäne in der Pflanze exprimiert, leiten beide CLR-Domänen eine konstitutive Antwort auf Licht (constitutive light response) ein.^[25] Somit scheint die N-terminale photolyaseähnliche Domäne im Dunkeln die Wirkung der CLR-Domäne der Cryptochrome zu blockieren. Die Absorption eines Photons führt dann – wahrscheinlich durch eine intramolekulare Redoxreaktion unter Beteiligung des FADH⁻-Cofaktors vermittelt – vermutlich zu einer Konformationsänderung des Apoproteins, wodurch die CLR-Domäne aus der intramolekularen Repression befreit wird.^[25, 26] Die C-terminalen Extensionen der Tier-Cryptochrome geben, in Pflanzen exprimiert, keine physiologische Antwort, was vermuten läßt, daß sie eine zu den pflanzlichen CLR-Domänen nicht verwandte Wirkungsweise haben. Umso überraschender ist es, daß Tier-Cryptochrome – obwohl unabhängig entstanden – genauso wie das pflanzliche cry1 Lichtsignale an die circadiane Uhr weiterleiten (Tabelle 1).^[27]

Die molekularen Grundlagen der funktionalen Redundanz der beiden Cryptochrome bei der cryptochromvermittelten Blaulichtregulation der Photomorphogenese von Keimlingen wurden kürzlich aufgeklärt (Abbildung 9).^[26] Es zeigte sich, daß Cryptochrome – wie Phytochrome – lichtkontrollierte Schalter sind, die die Transkription auf sehr direktem Weg regulieren, allerdings auf andere Weise als die Phytochrome (siehe Abbildung 7). Beide Cryptochrome beeinflussen die Struktur und/oder die Aktivität eines zentralen Regulators der Photomorphogenese, der E3-Ubiquitin-Ligase COP1, indem sie im photoaktivierten Zustand an COP1 binden. Dadurch wird COP1 inaktiviert, was es dem Transkriptionsregulator HY5 ermöglicht, an die Ziel-Promotorensequenzen einer Reihe lichtregulierter Gene zu binden, ihre Transkription zu aktivieren und so die Photomorphogenese einzuleiten. COP1 wirkt als Repressor der Photomorphogenese, der die Akkumulation des Transkriptionsfaktors HY5 im Kern verhindert, indem er dessen Ubiquitinierung und damit dessen Abbau durch das 26S-Proteasom induziert



Schema 7 Reaktionsmechanismus der Photolyasen.^[22] 1 Absorption eines Photons durch den Chromophor, hier MTHF; 2 Energieübertragung vom angeregten MTHF ($^*\text{MTHF}$) auf den FADH $^-$ -Elektronendonator; 3 Übertragung eines Elektrons vom angeregten FADH $^-$ ($^*\text{FADH}^-$) auf das Pyrrolidin-Dimer und Katalyse der Cycloreversion; 4 Regeneration von FADH $^-$ durch Rückübertragung eines Elektrons von pyr^- .

(Abbildung 9). Pflanzen mit Mutationen in *COP1*, die zu einem Verlust der COP1-Funktion führen, zeigen konstitutive Photomorphogenese (**constitutive photomorphogenesis**, daher der spezielle Name dieser E3-Ubiquitin-Ligase, die eine zentrale Rolle in der Photomorphogenese der Angiospermen spielt).^[26]

Sowohl *cry1* als auch *cry2* sind im Zellkern lokalisiert.^[24,28] Während *cry2* überwiegend im Kern zu finden ist, gilt dies nur für einen geringen Anteil von *cry1*: Überwiegend kommt dieser Photorezeptor im Cytoplasma vor, was wahrscheinlich mit den Cryptochromwirkungen zusammenhängt, in denen sich die beiden Photorezeptoren unterscheiden. Interessanterweise postulieren viele Modelle zur circadianen Uhr Transkriptionsregulatoren, die periodisch zwischen Kern und Cytoplasma hin und her wandern;^[29] *cry1*, das die circadiane Uhr der Pflanzen reguliert,^[30] könnte auf ähnliche Weise funktionieren. Im einfachsten, noch hypothetischen Modell würde *cry1* selbst – lichtabhängig – langsam zwischen Kern und Cytoplasma hin und her wandern.

3.1.3. Die Phototropine

Der Cryptochrommutante *cry1* (vorherige Bezeichnung *hy4*)^[31] fehlt zwar die für den Wildtyp charakteristische blaulichtabhängige Hemmung des Hypokotylwachstums, sie zeigt jedoch normales phototropes Verhalten (Wachstum des

Sprosses in Richtung einer einseitigen Blaulichtquelle).^[24,31] Dagegen fehlt der Mutante *nph1* phototropes Verhalten (*nph*, **non phototropic hypocotyl**), sie zeigt jedoch die normale blaulichtinduzierte Hemmung der Hypokotylelongation.^[32] Dieser genetische Befund war der erste eindeutige Beweis für die Existenz eines zweiten, sich von Cryptochrom unterscheidenden Blaulichtrezeptors in Höheren Pflanzen.

Durch Klonieren des *nph1*-Locus ließ sich *NPH1* im Genom von *A. thaliana* identifizieren,^[33] und bald darauf ein zweites *NPH1*-ähnliches Gen (*NPL1*).^[34] Die beiden Gene (inzwischen umbenannt in *PHOT1* und *PHOT2*) codieren eine weitere Photorezeptorklasse, die Phototropine, licht-regulierte Ser-/Thr-Proteinkinasen, die weder in ihrer Struktur noch in ihrer Funktion mit den Cryptochromen verwandt sind.^[24,33,34]

Die auffälligsten Eigenschaften, die sich aus der Aminosäuresequenz der beiden homologen Phototropine *PHOT1* und *PHOT2* ergeben, sind das Vorhandensein eines C-terminalen, 11 Aminosäuren umfassenden Ser-/Thr-Proteinkinase-Motivs und von zwei LOV-Domänen, LOV1 und LOV2, die sich jede über einen Bereich von ungefähr 110 Aminosäuren erstrecken (Abbildung 10). LOV-Domänen stellen eine Untergruppe von PAS-Domänen dar (Abschnitt 3.1.1), die für eukaryotische und prokaryotische licht-, sauerstoff- oder stromspannungsempfindliche (**light, oxygen, voltage**) Sensorproteine charakteristisch sind.^[33] Bei den Photo-

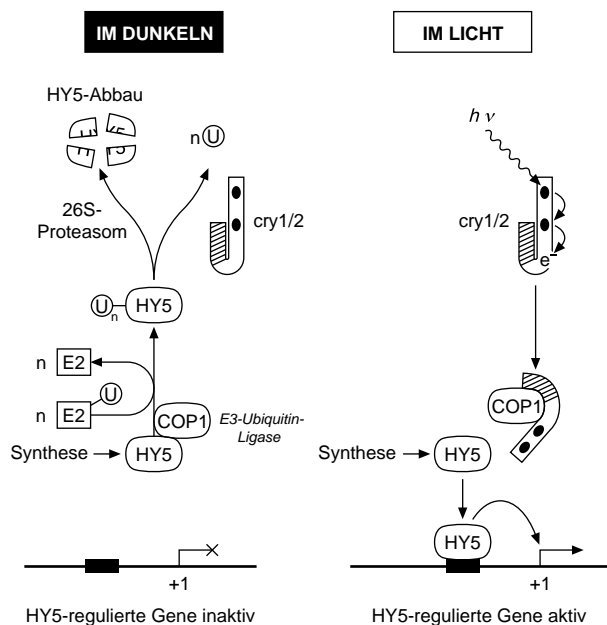


Abbildung 9. Modell für die Regulation der Photomorphogenese durch Cryptochrome.^[26] Der zum bZIP-Typ zählende Transkriptionsfaktor HY5 ist ursprünglich durch Positionsklonierung aus einer *A. thaliana*-Mutante isoliert worden, die keine Hemmung der Hypokotylelongation durch Blaulichtbestrahlung mehr zeigte. Die blaulichtinduzierte Hemmung der Hypokotylstreckung ist eine typische photomorphogenetische Antwort etiolierter Angiospermenkeimlinge. U, Ubiquitin; E2, ubiquitinierendes Enzym.

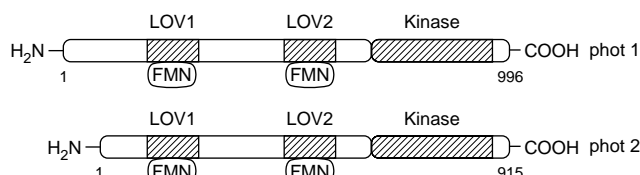
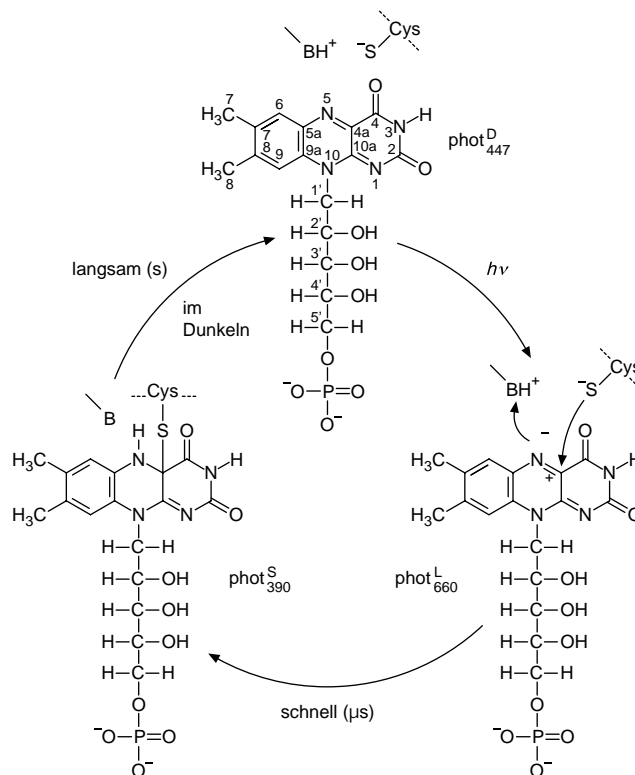


Abbildung 10. Domänenstruktur der Phototropine von *A. thaliana*.^[24] LOV: Licht-, Sauerstoff-, Stromspannungs-Domäne (light-, oxygen-, voltage-domain). Die Ziffern bezeichnen die Anzahl der Aminosäuren.

phototropinen bindet jede LOV-Domäne ein Molekül FMN nicht-kovalent.^[35] Rekombinante, isolierte LOV-Domänen sind in der Lage, die FMN-Chromophore zu binden und dann einen charakteristischen Photozyklus zu durchlaufen. Spektroskopische Untersuchungen solcher isolierter, rekonstituierter Domänen wiesen ein reversibles, kovalentes Photoaddukt zwischen dem C(4a) des Flavins und einem Cysteinyln-Rest der Polypeptidkette nach.^[35,36] Dies wurde durch die Kristallstruktur einer isolierten LOV-Domäne^[36a] und darüber hinaus durch NMR-spektroskopische Untersuchung der rekombinanten LOV2-Domäne des Phototropins 1 von *Avena sativa*, die mit verschiedenen ¹³C/¹⁵N-markierten Isotopomeren des Cofaktors FMN rekonstituiert war, bestätigt (Schema 8).^[37] Bestrahlung mit Blaulicht induziert die Bildung des FMN-C(4a)-Cysteinylnaddukts, das im Dunkeln spontan, aber langsam, wieder zerfällt. Adduktbildung führt zu einer Konformationsänderung der LOV-Domäne. LOV-Domänen stellen optomechanische Transduktoren dar, die Strukturänderungen im Phototropin-Apoprotein initiieren, dabei dessen



Schema 8. Phototropin-Photozyklus. Die Indices bezeichnen die Absorptionsmaxima der Intermediate; phot, Phototropin; D, im Dunkeln vorliegende Form; L, lichtaktivierter Zustand; S, Signalzustand des Phototropins. Die Experimente wurden mit gereinigten rekombinanten LOV2-Domänen aus *A. sativa* durchgeführt, die mit FMN rekonstituiert worden waren.^[36b]

autokatalytische Kinase aktivieren und so einen Phosphotransfer auf (noch unidentifizierte) Zielproteine bewirken.^[24,37] Da Bestrahlung mit Blaulicht zu einer Zunahme des cytosolischen Ca²⁺-Spiegels der Schließzellen führt und diese Zunahme in den *nph1*-Mutanten ausbleibt, könnten Ca²⁺-Influx-Kanäle die Angriffspunkte bei der Regulation der blaulichtinduzierten Stomataöffnung durch die Phototropinkinase sein.^[24] Tatsächlich sind Phototropine membranasoziierte, wenn auch nicht transmembrane, Proteine.^[32]

Da sich die isolierten LOV-Domänen LOV1 und LOV2 sehr in ihrer Lichtempfindlichkeit unterscheiden, und phot1 und phot2 ebenfalls (phot1 wird durch viel geringere Lichtintensitäten aktiviert als phot2), trägt das Zusammenwirken der beiden Photorezeptoren dazu bei, daß die Pflanze mit einem breiten Bereich verschiedener Lichtintensitäten zurechtkommt. Beide Phototropine wirken gemeinsam an der strukturellen Optimierung der Photosynthese mit. Sie regulieren: 1) den Phototropismus, der den Sproß zur Sonne bzw. zur Lichtquelle hin orientiert, 2) den Mechanismus der Chloroplastenbewegung, die die Chloroplasten in der Zelle je nach Lichtintensität unterschiedlich positioniert (Starklichtstellung, Schwachlichtstellung) und 3) die Öffnungs- und Schließbewegungen der Stomata, die den Zustand des Photosynthese-Substrats CO₂ in das Blatt regulieren.^[24,38] Bis jetzt wurden keine prokaryotischen Verwandten der Phototropine gefunden, aber das ist womöglich nur eine Frage der Zeit.

4. LRR-Rezeptorkinasen in Pathogenabwehr und Entwicklung

Die Verfügbarkeit riesiger Mengen an Nucleotidsequenzen für verschiedene Organismen macht es heutzutage möglich, Einblicke in die Evolution vieler Sensormechanismen zu erhalten. Eine der Herausforderungen ist es, die Evolution und die funktionale Diversifizierung der sehr großen Superfamilie der eukaryotischen Rezeptorkinasen mit Tausenden von Mitgliedern – allein im Genom von *Arabidopsis thaliana* wurden bislang 610 Gene gefunden – zu verstehen.^[39]

Die Übertragung eines Signalereignisses von der Peripherie in die Zelle durch Veränderungen des Phosphorylierungszustandes der Rezeptoren und nachgeschalteter Signalüberträger hat sich als so anpassungsfähig herausgestellt, daß sich im Verlauf der Evolution eine große Anzahl an Signalwegen, die Proteinphosphorylierungen einbeziehen, entwickelt hat. Einige Beispiele dafür wurden bereits vorgestellt (Abbildung 3 und Abbildung 4): die auf bakterielle Phosphorelais-Systeme zurückgehenden Ethylen- und Cytokinin-Signalwege.

Eine Rezeptorfamilie, die für Tiere und den Menschen typisch ist (und die bei Pflanzen nicht vorkommt) ist die der Rezeptor-Tyrosinkinasen (RTK); sie sind in der Zellmembran lokalisiert und reagieren auf das Vorhandensein oder Fehlen vieler verschiedener Signale. Beispiele sind die Rezeptoren für den Nerven-Wachstumsfaktor, für den Blutplättchen-, den Fibroblasten- und den epidermalen Wachstumsfaktor sowie der Insulinrezeptor. Diese Rezeptoren bestehen aus einer extrazellulären Sensor- und einer cytoplasmatischen Tyrosinkinasedomäne, die durch eine einzige Transmembrandomäne verbunden sind. Diese Grundstruktur (extrazelluläre Sensor-, cytoplasmatische Kinase- und eine einzige Transmembrandomäne) kennzeichnet auch eine große Gruppe von Pflanzenkinasen, die LRR-Rezeptorkinasen (LRR, leucine-rich repeat), die im Genom von *Arabidopsis thaliana* durch 216 Gene repräsentiert sind.^[39] Diese Gruppe ist durch das Vorkommen mehrfach wiederholter leucinreicher Aminosäuremotive, die vermutlich Protein-Protein-Wechselwirkungen vermitteln, charakterisiert. Erst für wenige dieser LRR-Rezeptorkinasen (LRR-RK) konnten in letzter Zeit die Funktionen und/oder Liganden aufgeklärt werden. Zu den funktionell charakterisierten LRR-Kinasen gehören: der Rezeptor für den Steroid-Wachstumsfaktor Brassinolid (Abbildung 1), BRI1,^[40] der Rezeptor für das CLAVATA3-Peptid, CLAVATA1 (CLV1), der an der Entwicklung des Sproßmeristems beteiligt ist,^[41] und die Rezeptoren für die bakteriellen Peptidelicitor Xa21^[42] und FLS2,^[43] die Pathogenabwehr-Antworten vermitteln (Abbildung 11).^[44] Wie kürzlich erst gezeigt werden konnte, gehören auch der Rezeptor für das Octadecapeptid der Tomate, Systemin,^[45a] welches die Herbivoraabwehr auslöst, der Rezeptor für die Nod-Faktoren von *Rhizobium*, NORK,^[45b] und der Rezeptor SYMRK,^[45c] der für das Zustandekommen sowohl bakterieller als auch pilzlicher Symbiosen bei *Lotus* essentiell ist, zur Familie der LRR-Rezeptorkinasen.

Diese beiden Kinaseklassen, die bei Tieren vorkommen – den RTKs und die bei Pflanzen vorkommenden LRR-RKs,

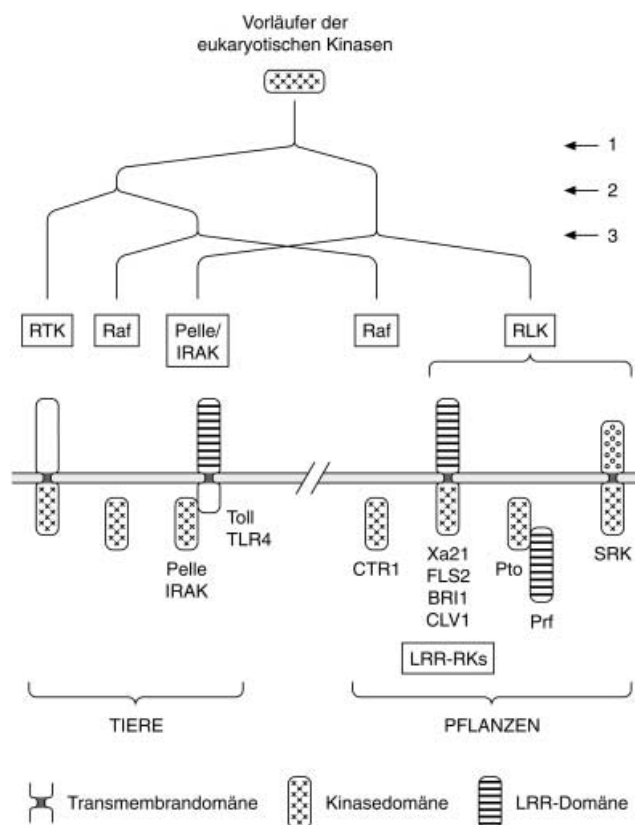


Abbildung 11. Modularer Aufbau und Verwandtschaftsverhältnisse^[39a] der Rezeptorkinasen von Tieren und Pflanzen. 1, 2 Genduplikationsereignisse bei den gemeinsamen Vorfahren der Tiere und Pflanzen, die zur Abspaltung der Gruppen der RLK- + Pelle/IRAK-Kinasen von den RTK- + Raf-Kinasen (1) einerseits und der RTK-Kinasen von den Raf-Kinasen andererseits führten (2). 3 Beim Aufspalten des Tier- und Pflanzenreichs wurden Vorläufergene getrennt, die sich zu den Genen für die heute existierenden Kinasefamilien weiterentwickelten.

entspringen innerhalb der Superfamilie der eukaryotischen Rezeptorkinasen als ein monophyletischer Stamm. Zu dieser Abstammungsgruppe gehören zwei weitere Familien von Kinasen, nämlich die Raf-Kinasen – Mitglieder dieser Familie löslicher Kinasen sind bei Tieren wie Pflanzen zu finden (CTR1 gehört hierher, siehe Abschnitt 2.1, Abbildung 4) – sowie eine zweite Klasse löslicher Kinasen, zu denen die *Drosophila*-Kinase Pelle, die bei Säugetieren vorkommende Interleukin-1-Rezeptor assoziierte Kinase (IRAK) und die Pto-Kinase der Tomate gehören, die alle an der Auslösung von Pathogenabwehrreaktionen beteiligt sind.^[39, 44b]

Sequenzvergleiche erlauben es heute, die Evolutionsgeschichte der Rezeptorkinase-Familien von einem Gen für eine ursprüngliche, lösliche Kinase, aus dem durch ein frühes Genduplikationsereignis einerseits die zu den RTK/Raf-Kinasen führende Entwicklungslinie, andererseits der sowohl zu den rezeptorähnlichen Kinasen der Pflanzen und zur Pelle/IRAK-Gruppe führende Entwicklungszweig entstand, im Groben nachzuvollziehen. Da Raf-Kinasen bei Pflanzen (z. B. CTR1) und Tieren gefunden werden, muß die evolutionäre Trennung der RTK-Gruppe von der Raf-Gruppe bereits vor der Trennung von Tier- und Pflanzenreich stattgefunden haben. Mit der Trennung der zu den Tieren bzw. Pflanzen

Tabelle 2: Regulatorische Peptide Höherer Pflanzen.

Peptid	Größe	Rezeptor	Funktion	Vorkommen	Lit.
Systemine	18 AS ^[a]	SR160 ^{[45a],[e]}	systemische Wundantwort	<i>Lycopersicon, Solanum, Capsicum, Nicotiana</i> ^[b]	[45a, 53a–53c]
RALF ^[c]	49 AS	unbekannt	Hemmung der Entwicklung, des Wurzelwachstums	<i>Nicotiana</i> , weitere Arten	[53d]
CLAVATA 3	96 AS	CLV1 ^[e]	Organisation des Sproßmeristems	<i>Arabidopsis</i>	[48]
Phytosulfokine	4, 5 AS ^[d]	PSK-RK ^{[54d],[e]}	Zellzykluskontrolle	<i>Arabidopsis, Asparagus, Oryza</i>	[54]
cysteinreiche S-Locus-Proteine (SCRs)	< 8 kDa	SRK ^[e]	Selbstinkompatibilität	<i>Brassicaceae</i>	[49]
ENOD 40	13, 27 AS	unbekannt	Wurzelknöllchenbildung	Leguminosen, <i>Oryza</i>	[55]

[a] AS, Aminosäuren. [b] *Nicotiana*-Systemine sind glykosyliert. [c] rapid alkalization factor. [d] enthalten Sulfotyrosin. [e] Mitglieder der LRR-Rezeptorkinase-Familie.

führenden Evolutionslinien begann dann auch die getrennte weitere Evolution der beiden Gruppen von Raf-Kinasen einerseits und andererseits die getrennte Evolution der Pelle/IRAK-artigen Kinasen und der pflanzlichen rezeptorartigen Kinasen. Diese letztgenannte Gruppe entwickelte sich dann – einhergehend mit einer beträchtlichen Zunahme der Zahl der Gene – zu den einzelnen pflanzlichen RLK-Familien (Abbildung 11).

Im Verlauf der Evolution kam es durch wiederholte Genfusionsereignisse zur Rekrutierung verschiedener extrazellulärer Sensordomänen, was zum Entstehen der LRR-Rezeptorkinase-Familie, der Selbstinkompatibilitäts-Rezeptorkinase SRK^[46] und, bei den Tieren, zur RTK-Familie führte. Andere Rezeptorkinasen haben die – vermutlich evolutionär ältere – Trennung der Kinase von einer Sensor-komponente beibehalten, wie es bei Pelle (Interaktion mit dem transmembranen Peptidrezeptor Toll) und IRAK (Interaktion mit TLR4) der Fall ist (Abbildung 11). In der pflanzlichen LRR-Familie besteht eine ähnliche Situation für die Rezeptorkinase Pto, die nichtkovalent mit dem cytoplasmatischen LRR-Protein Prf beim Übermitteln der zellulären Antwort gegen den *Pseudomonas syringae* pv. tomato Elicitor AvrPto interagiert.^[44b,47] Toll wie auch TLR4 gehören zur Gruppe der LRR-Proteine, was zeigt, daß die Interaktion von Kinasen vom Pelle/IRAK/Pto-Typ mit LRR-Domänenproteinen entwicklungsgeschichtlich sehr alt ist und in Zeiten vor der Trennung von Pflanzen- und Tierreich zurückweist. Die Genfusionsereignisse, die bei Pflanzen zu den LRR-Rezeptorkinasen führten, fanden demnach zu einem späteren Zeitpunkt im Laufe der Evolution statt.^[39]

Die regulatorische Komplexität, auf die das Vorhandensein von 610 Genen schließen läßt, die in *Arabidopsis thaliana* für rezeptorähnliche Kinasen codieren, wird heute noch nicht einmal ansatzweise überblickt. Allein 216 Mitglieder dieser Gruppe sind von ihrer Struktur her Rezeptorkinasen. Die wenigen Rezeptoren, die funktionell zumindest einigermaßen detailliert charakterisiert worden sind, haben als Liganden steroidale Wachstumsfaktoren (BRI1: Brassinolide),^[40] Lipochitooligosaccharide (NORK: Nod-Faktoren^[45b]), regulatorische Peptide (Phytosulfokine,^[54d] CLV1: CLAVATA3,^[48] SR160: Systemin^[45a]), Peptidelicitor aus Bakterienzellen (FLS2: ein 22 Aminosäuren langes Fragment des bakteriellen Flagellins)^[43] oder kleine Proteine (Pto: AvrPto,^[44b] SRK: cysteinreiche S-locus-Proteine aus Pollen (SCRs)^[49]). Noch überraschender als die Tatsache, daß beträchtliche Ähnlich-

keit zwischen den Signalwegen der Pathogenabwehr von Tieren und Pflanzen bestehen kann,^[44b,50] ist die sich abzeichnende große Bedeutung von regulatorischen Peptiden in Höheren Pflanzen. Lange Zeit wurden Peptide als für Pflanzen ungeeignete Regulatoren betrachtet, teilweise wegen der durch die pflanzlichen Zellwände gegebenen Diffusionsbarrieren. Mittlerweile wurde jedoch eine ganze Anzahl regulatorisch wirksamer Peptide, zusätzlich zu den bereits erwähnten, entdeckt (Tabelle 2), und diese Liste wird zweifellos noch wachsen.^[51]

Die Signalwege tierischer Rezeptoren vom LRR-Typ – bei Säugetieren der vom IRAK-abhängigen TLR4-Rezeptor und bei *Drosophila* der vom Pelle-abhängigen Toll-Rezeptor ausgehende – bestehen aus MAP-Kinase-Kaskaden, die schließlich die Aktivität von Transkriptionsfaktoren regulieren (Jun/Fos und NF- κ B bei den IRAK-abhängigen Signalwegen). Kürzlich wurde entdeckt, daß eine typische MAP-Kinase-Kaskade auch zwischen der pflanzlichen LRR-Rezeptorkinase FLS2 und den Transkriptionsfaktoren WRKY22 und WRKY29 vermittelt.^[52a] Somit besteht eine erstaunliche Konservierung von LRR-Rezeptor-abhängigen Signalwegen, die Pathogenabwehrreaktionen bei Tieren und Höheren Pflanzen auslösen. Eine MAP-Kinase ist mittlerweile auch im Signalweg des Brassinolidrezeptors BRI1 gefunden worden,^[52b] ein weiterer Hinweis auf eine einheitliche Wirkweise von LRR-Rezeptorkinasen.

5. Cyclo-Oxylipine: Signalmoleküle aus Pflanzenmembranen

Viele der ungünstigen Bedingungen, denen eine Pflanze ausgesetzt sein kann, gehen mit einer Zerstörung der zellulären Unversehrtheit einher. Schädigungen können mechanisch, durch Herbivorbefall, aber auch durch eindringende Pathogene verursacht werden. In solchen Situationen ist es für eine Pflanze lebenswichtig, wirksame – lokale wie systemische – Abwehrmechanismen aufzubauen. Das Zusammenbrechen der Kompartimentstruktur führt zur Schädigung zellulärer Membranen und somit zum Vermischen von Komponenten, die in der intakten Zelle voneinander getrennt vorliegen. In den letzten Jahren wurde deutlich, daß an Wundstellen lokale und systemische Signale produziert werden, die drastische und komplexe Abwehrreaktionen der Pflanze initiieren. Wegbereitende Arbeiten wurden an

der Tomate durchgeführt;^[56] das Signalsystem, das bei dieser Pflanze aufgeklärt wurde, ist jedoch – bisweilen in abgewandelter Form – für alle Höheren Pflanzen relevant.

Bei Tomatenpflanzen führt Verwundung (mechanische ebenso wie durch Insektenfraß verursachte) zur Bildung und Akkumulation mehrerer Proteinaseinhibitoren, die – mit der Nahrung aufgenommen – für Insekten hochtoxisch sind.^[56,57] Die Bildung der Proteinaseinhibitoren wird lokal durch Oligogalacturonide, Abbauprodukte von Pflanzenzellwänden, induziert, und systemisch durch das phloemmobile Octadecapeptid Systemin, das proteolytisch von einem Vorläuferprotein, dem Prosystemin, abgespalten wird (Abbildung 12).^[58] Sowohl Oligogalacturonide als auch Systemin induzieren die Akkumulation von Proteinaseinhibitoren mittels des von Membranlipiden abgeleiteten Signalstoffs Jasmonsäure (JA, Schema 9). Schon bevor die JA-Biosynthese durch diese Elicitoren in umliegenden Geweben induziert wird, entstehen in den zerstörten Zellen selbst durch den Zerfall der Membranen freie Fettsäuren, darunter α -Linolensäure, aus der JA innerhalb von Minuten synthetisiert wird, da die Enzyme des Biosynthesewegs in geringer Menge konstitutiv in der Zelle vorhanden sind. Die Beteiligung von JA an der Herbivorabwehr ist offensichtlich, denn Tomatenmutanten, die JA nicht akkumulieren können, produzieren bei Verwundung keine Proteinaseinhibitoren mehr und sind gegenüber Herbivoren wehrlos (engl.: defenseless) – daher die Mutantenbezeichnung *defl*.^[59] Zuvor war bereits in einer bahnbrechenden Arbeit nachgewiesen worden, daß über die Luft einwirkendes Methyljasmonat bei unverwundeten Pflanzen die Akkumulation von Proteinaseinhibitoren induziert.

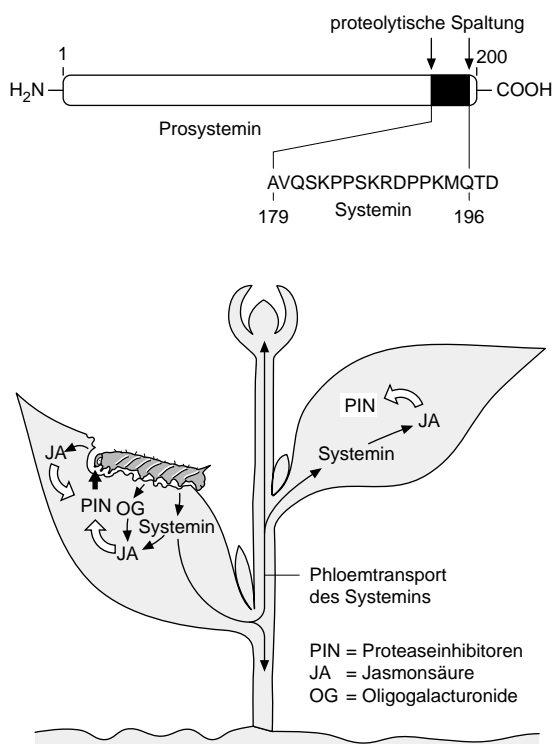
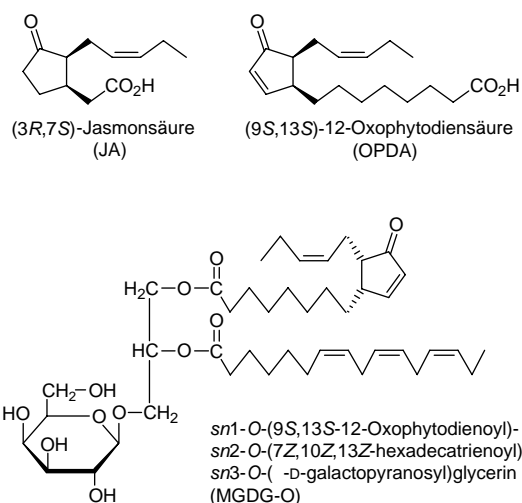


Abbildung 12. Lokale und systemische Induktion der Bildung von Proteinaseinhibitoren bei der Tomate. Systemin wird durch proteolytische Prozessierung aus Prosystemin freigesetzt, wie im oberen Teil der Abbildung dargestellt.^[58b]



Schema 9. Cyclische Oxylipine Höherer Pflanzen.

te.^[60] Verwundung führt zu einem drastischen Anstieg des JA-Spiegels in verwundetem Gewebe.^[61] Pflanzen mit Mutationen im Jasmonat-Biosyntheseweg oder jasmonatinsensitive Mutanten sind also sehr anfällig gegen den Angriff durch Herbivore, sie zeigen zudem geringere Resistenz gegenüber vielen Pathogenen.^[62] Jasmonsäure ist somit ein wichtiger Auslöser pflanzlicher Abwehrreaktionen.

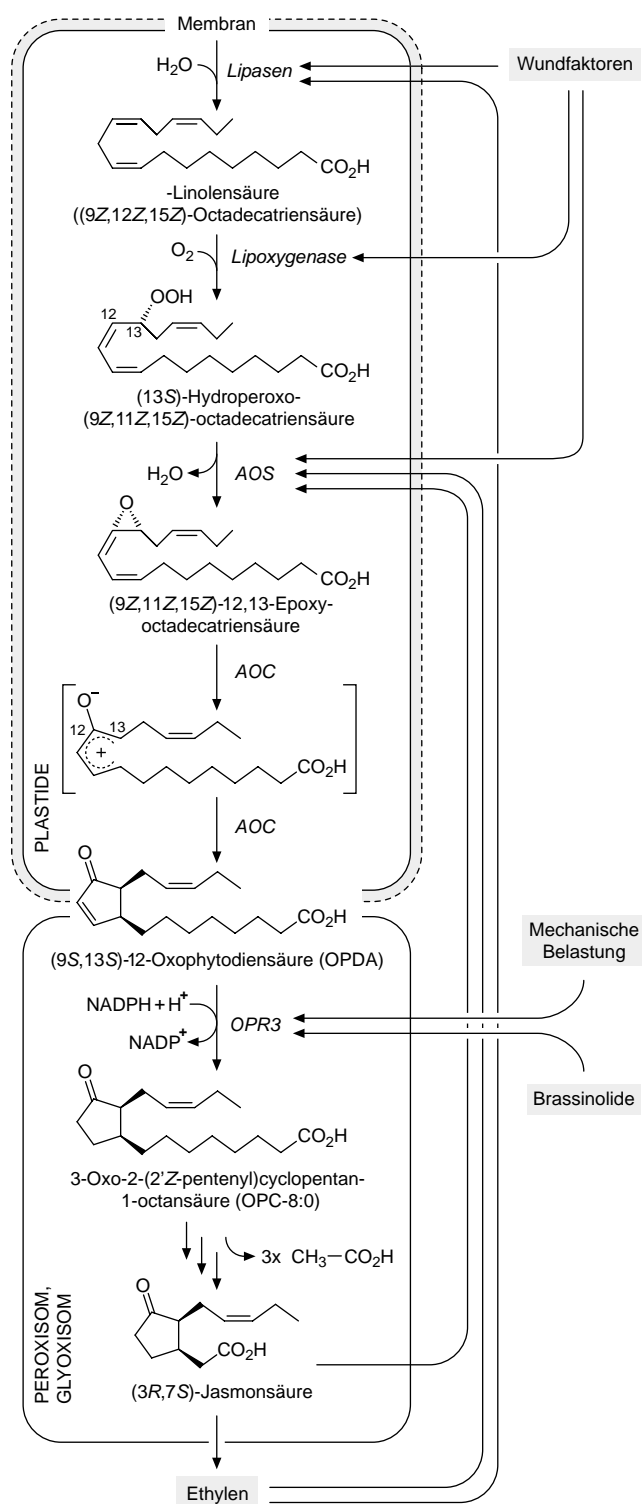
Die JA-Biosynthese wurde in den frühen 80er Jahren aufgeklärt,^[63] und die Enzyme des Synthesewegs liegen kloniert vor – mit Ausnahme des letzten Schritts, von dem man annimmt, daß er vom Fettsäure- β -Oxidationssystem ausgeführt wird.^[64] Es ist mittlerweile klar, daß JA kein hochbewegliches Molekül ist, sondern am Bildungs- oder Applikationsort lokal wirkt. Beispielsweise bleibt die JA-induzierte Gentranskription auf den Applikationsort der JA begrenzt.^[65] In *Arabidopsis thaliana* ist JA für die Pollenreife, das Öffnen der Blüte sowie für den Abwurf seneszenten Blütenorgane notwendig, und diese Vorgänge gehen mit einer lokalen Akkumulation von JA-Biosynthesenzymen in Pollen und Abscissionszonen einher.^[65,66] JA kann somit als „second messenger“ aufgefasst werden.

In der intakten Zelle wird die JA-Biosynthese vermutlich durch die Substratverfügbarkeit limitiert. Dekompartimentierung setzt durch die Einwirkung von Lipasen und Esterasen α -Linolensäure aus Membranlipiden frei und initiiert so einen frühen ersten Gipfel der JA-Akkumulation. Außerdem sind Schlüsselenzyme der JA-Biosynthese, hauptsächlich Allenoxidsynthase (AOS) und 12-Oxophytodiensäurereduktase 3 (OPR3), der Transkriptionskontrolle durch eine Anzahl regulatorischer Prozesse unterworfen, von denen die meisten dazu dienen, die Biosynthesekapazität des Signalwegs zu erhöhen – vorausgesetzt, es steht genügend Substrat zur Verfügung. Substrat wird unter diesen Bedingungen wahrscheinlich von Lipasen produziert, die mit den Enzymen der JA-Biosynthese coreguliert werden (Schema 10).

Zwei Befunde erhöhen die Komplexität des Jasmonat-Signalsystems noch weiter, tragen aber womöglich dazu bei, letztendlich zu verstehen, auf welche Weise dieses Signalfunktionssystem eine große Vielfalt physiologischer Antworten steuern kann, die so unterschiedlich sind wie z.B. Mechano-

transduktion, Pollenreifung, Pathogen- und Herbivorabwehrreaktionen.^[67]

1. JA ist nicht die einzige aktive Verbindung in dieser Signalstoffgruppe. Tatsächlich gibt es mittlerweile zwingende Beweise dafür, daß 12-Oxophytodiensäure (OPDA) selbst ein Signalmolekül ist. OPDA, und nicht JA, wirkt an der Mechanotransduktion mit, wie detaillierte Struktur-Wirkungs-Analysen ergaben.^[68] An *Arabidopsis-thaliana*-Mutanten, die durch ein defektes OPR3-Gen nicht in der Lage sind, JA zu produzieren, wurde gezeigt, daß JA oder OPDA Gengruppen induzieren, die sich zwar partiell überlappen, aber nicht identisch sind.^[69] Obgleich die Mutante sogar höhere als normale OPDA-Spiegel aufweist, ist sie männlich steril.^[62] Somit ist also JA, nicht aber OPDA, für die männliche Fertilität notwendig. Andererseits zeigt die Mutante gegenüber dem Wildtyp keine verringerte Herbivorabwehr, was darauf hinweist, daß OPDA in diesem physiologischen Kontext viele der JA-Antworten übernehmen kann.



Schema 10. Verlauf, Kompartimentierung und Regulation der Jasmonsäurebiosynthese aus α -Linolensäure. AOC, Allenoxidcyclase; AOS, Allenoxid synthase; OPR3, Isoform 3 der 12-Oxophytodiensäure reduktase.

2. Einen entscheidenden Hinweis zum besseren Verständnis der physiologischen Funktionen von Jasmonaten in der Zelle kann womöglich die vor kurzem erfolgte Entdeckung eines neuartigen Membranlipids in Plastiden, MGDG-O, geben. Bei diesem Membranlipid ist die sn1-Fettsäure durch (9S,13S)-OPDA ersetzt, und die Anwesenheit einer 16:3-Fettsäure in der sn2-Position weist auf eine plastidäre Biosynthese dieses Galactolipids hin.^[70] MGDG-O ist in Pflanzen weitverbreitet (M. Dettenberg und E. W. Weiler, unveröffentlichte Beobachtung). Das Auffinden dieser Substanz erfordert eine Neubewertung des Ablaufs der OPDA-Biosynthese in vivo. Es gibt dazu mehrere Möglichkeiten (Abbildung 13). Am wahrscheinlichsten ist, daß MGDG-O direkt aus Monogalactosyldiglycerid (MGDG), einem typischen Plastidenlipid, durch Umwandlung von α -Linolensäure in der sn1-Position in OPDA synthetisiert wird. Dies würde auch erklären, warum Allenoxid-Synthase (AOS) in Plastiden membrangebunden vorliegt.^[71] Wenn das so ist, dann könnte es einen sehr direkten Zugang geben, um Abwehr-Signalwege zu initiieren – mittels direkt aus der Membran freigesetzter OPDA. Interessanterweise stammen die Lipasen, die OPDA am wirksamsten aus den Lipid-Vorläufern freisetzen, aus den phytopathogenen Pilzen *Mucor javanicus* und *Rhizopus arrhizus*.^[70] Somit könnte das Freisetzen eines OPDA-Signals (oder des JA-Vorläufers) eine unmittelbare Antwort der Pflanze auf den Angriff von Pilzen sein. Wie hier deutlich wird, fehlt uns noch ein grundlegendes Verständnis vieler Einzelheiten der Oxylin-Signalwege in Pflanzen, und

DA) selbst ein Signalmolekül ist. OPDA, und nicht JA, wirkt an der Mechanotransduktion mit, wie detaillierte Struktur-Wirkungs-Analysen ergaben.^[68] An *Arabidopsis-thaliana*-Mutanten, die durch ein defektes OPR3-Gen nicht in der Lage sind, JA zu produzieren, wurde gezeigt, daß JA oder OPDA Gengruppen induzieren, die sich zwar partiell überlappen, aber nicht identisch sind.^[69] Obgleich die Mutante sogar höhere als normale OPDA-Spiegel aufweist, ist sie männlich steril.^[62] Somit ist also JA, nicht aber OPDA, für die männliche Fertilität notwendig. Andererseits zeigt die Mutante gegenüber dem Wildtyp keine verringerte Herbivorabwehr, was darauf hinweist, daß OPDA in diesem physiologischen Kontext viele der JA-Antworten übernehmen kann.

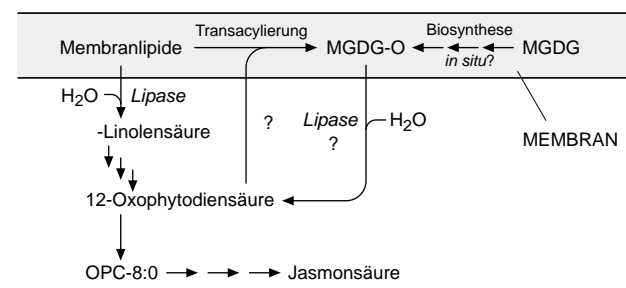


Abbildung 13. Mögliche Beziehungen zwischen freier und lipidgebundener 12-Oxophytodiensäure in Chloroplasten. MGDG, Monogalactosyldiglycerid; O, 12-Oxophytodiänoylrest; OPC-8:0, 3-Oxo-2-(2'Z-pentenyl)cyclopentan-1-octansäure.

die molekularen Mechanismen, die die Synthese dieser hochwirksamen Signalstoffe regulieren sowie deren Wirkmechanismen bei der Transkriptionskontrolle, sind fast vollkommen unbekannt.

Ein Aspekt der Oxylinwirkungen, der hier nicht im Detail diskutiert werden kann, ist die herbivorinduzierte Freisetzung flüchtiger Pflanzenstoffe;^[72a] die Produktion vieler dieser Stoffe kann auch durch Behandlung der Pflanzen mit JA ausgelöst werden.^[72b] Diese flüchtigen Substanzen locken Carnivoren zu ihrer herbivoren Beute: eine einzigartige Form von Pflanzen-Carnivoren-Mutualismus in einem tritrophen Interaktionsgefüge.^[73] Solche tritrophen Interaktionen dürften weiter in der Natur verbreitet sein als bisher angenommen. Es konnte, z.B. bei der Lima-Bohne, gezeigt werden, daß durch Herbivorie induzierte flüchtige Pflanzenstoffe die Aktivierung von Abwehrgenen auslösen^[74] und somit wenigstens einige dieser Verbindungen auf die Pflanze selbst wirken. Folglich muß es in Pflanzen einen Perzeptionsmechanismus für solche flüchtigen Stoffe geben. Ob allerdings herbivorinduzierte flüchtige Stoffe als „Phytopheromone“ wirken und dazu dienen, einer Pflanzengesellschaft anzuzeigen, daß einige ihrer Mitglieder von Herbivoren befallen wurden, ist eine noch offene Frage.^[75] Die Kontrolle der Abwehrgen-Aktivität in Pflanzen durch Applikation synthetischer – von natürlichen Leitstrukturen abgeleiteter – Wirkstoffe ist eine vielversprechende Strategie im Pflanzenschutz.

6. Sensorikmodulierte Pflanzen: neue Chancen für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz

Die sensorischen Fähigkeiten einer Höheren Pflanze sind erstaunlich und von unerwarteter Komplexität. Bislang sind jedoch nur einige wenige Abläufe einigermaßen detailliert bekannt. Die verblüffende Anzahl rezeptorähnlicher Kinasen und die Vielzahl an Phosphorelais-Komponenten – nur einigen wenigen davon konnte bisher eine Funktion zugewiesen werden –, das Auftreten von regulatorischen Peptiden – zweifellos nur die Spitze eines Eisbergs – zusammen mit Hinweisen auf eine große Genfamilie, die für peptidtransporterähnliche Proteine codiert,^[1,76] sind nur einige wenige Hinweise auf die physiologische und entwicklungsbiologische Eigenständigkeit Höherer Pflanzen. Als weiteres Beispiel sind die Transkriptionsregulatoren zu nennen: Von den 26 bisher bekannten Transkriptionsregulator-Familien kommen 19 ausschließlich in Pflanzen vor.^[1] Darüber hinaus gibt es Hinweise, daß *Arabidopsis thaliana* viel mehr Zellzyklus-Gene hat als sogar der Mensch.^[77] Ein anderes Gebiet, auf dem Pflanzen Experten sind, ist die regulatorische Proteolyse, ablesbar an der großen Zahl von Ubiquitin-Protein-Ligasen vom E3-Typ in *Arabidopsis*.^[1] Regulierte Proteolyse scheint bei Höheren Pflanzen eng in die Transkriptionskontrolle einbezogen zu sein, z.B. im Prozeß der lichtregulierten Entwicklung, aber auch bei der hormonellen Regulation der Transkription.^[73]

Andererseits fehlen viele, bei Tieren und dem Menschen verbreitete, Rezeptorsysteme den Pflanzen völlig oder nahezu völlig: Im *Arabidopsis-thaliana*-Genom sind keine Rezep-

tor-Tyrosinkinasen und nur sehr wenige und zudem höchst abweichende – zu den tierischen 7-Transmembranrezeptoren und zu G-Protein-Untereinheiten ähnliche – Proteine codiert, und es gibt keine Retinyliden-Photorezeptoren bei Höheren Pflanzen, um nur einige Beispiele zu nennen.^[1]

Die lang gehegte Ansicht, es würde genügen, die Zellbiologie von Tieren und Hefe zu verstehen, um auch die der Pflanzen zu kennen, läßt sich nicht länger aufrechterhalten. Die physiologische Eigenständigkeit von Höheren Pflanzen ist mittlerweile unübersehbar geworden, selbst bei so grundlegenden Mechanismen wie der Zellzyklusregulation und der Transkriptionskontrolle.^[39a] Dies gilt sogar noch mehr für die pflanzliche Sensorik, die sich fast vollständig von der von Tieren und sehr weitgehend von der der Pilze unterscheidet. Diese Eigenständigkeit der Pflanze erzwingt einerseits eine intensive und genuine Erforschung der Physiologie der Pflanzenzelle und des vielzelligen Pflanzenorganismus auf praktisch allen Ebenen, sie bietet andererseits auch Chancen, viele Abläufe, sei es chemisch und/oder genetisch, in pflanzenselektiver Weise zu beeinflussen.

Es ist leicht vorherzusehen, daß die Pflanzenzüchtung ihr Augenmerk in Zukunft verstärkt auf die sensorischen Mechanismen von Pflanzen richten wird, um Wachstum, Produktivität und Widerstandsfähigkeit zu verbessern; und auch der Pflanzenschutz wird von der genaueren Kenntnis um sensorische Abläufe profitieren.

Als Beispiel kann die konstitutive Expression von phyA im Tabak angeführt werden, die zur Erzeugung von Pflanzen mit verringerter Wuchshöhe verwendet wurde.^[78] Im Unterschied zu phyB, das, aktiviert, die Internodienlänge erhöht (Schattenvermeidungsreaktion, Tabelle 1), induziert phyA den umgekehrten Effekt (Reduktion des Sproßachsenwachstums im Licht). Tabakpflanzen, die *PHYA* konstitutiv und stark gegenüber einem normalen Expressionsniveau von *PHYB* exprimieren, zeigen tatsächlich reduziertes Wachstum im Licht, hervorgerufen von einer physiologischen Dominanz von phyA gegenüber phyB.^[78] In einem interessanten Experiment, wiederum am Tabak, haben Gan und Amasino^[79] Pflanzen mit dem vom seneszenzaktivierten Promotor des *SAG12*-Gens (*pSAG12*) kontrollierten *ipt*-Gen von *Agrobacterium* transformiert. Der Beginn der Seneszenz aktiviert die Transkription des *ipt*-Gens; dessen Genprodukt, Isopentenyl-Transferase, katalysiert den ersten Schritt der Cytokininbiosynthese, nämlich die Übertragung des Prenyl-Rests von Isopentenylpyrophosphat auf 5'-AMP, wobei Isopentenyladenosin-5'-monophosphat entsteht. Cytokine (Schema 2) sind Phytohormone, die pflanzliche Seneszenzprozesse verlangsamen. Die Akkumulation von Cytokinen als Resultat der *ipt*-Aktivität bremst den Alterungsprozess, was wiederum die Transkription von *pSAG12*-kontrolliertem *ipt* herunterreguliert. Pflanzen, die diesen sich selbst regelnden Kreislauf zur Verzögerung des Alterungsprozesses exprimieren, zeigen tatsächlich eine dramatisch verlangsamte Blattseneszenz, die mit einer viel längeren produktiven photosynthetischen CO₂-Fixierung einhergeht, sie blühen und fruchten jedoch normal.^[79] Da Phytohormone umfassend an der Regulation der Entwicklung von Pflanzen beteiligt sind, könnte eine zeit- und gewebekontrollierte Modulation der Hormonhomöostase vielversprechende Ansätze für die Züchtung verbesserter

landwirtschaftlicher Sorten bieten, wie z.B. Getreidesorten von kürzerem Wuchs, die weniger anfällig gegen Lagern sind.

Sind die einzelnen Funktionen der vielen Hundert LRR-Rezeptorkinasen einer Höheren Pflanze aufgeklärt, so ergeben sich zweifellos neue Möglichkeiten der züchterischen Bearbeitung pflanzlicher Entwicklungsprozesse und der Pathogenresistenz, etwa durch gezielte Kombinationen von Resistenzgenen mit ausgesprochen breitem Wirkungsspektrum. Es könnte sogar eine neue Ära der chemischen Schädlingsbekämpfung in Sicht kommen, die mehr darauf zielt, die Pflanzenresistenz zu aktivieren als darauf, die Schädlinge auszurotten. Solche Vorgehensweisen dürften zudem ein höheres Maß an Selektivität für die Pflanze mit weniger Nebenwirkungen auf andere Organismen, den Menschen eingeschlossen, verbinden und könnten zu einer wirksamen Ergänzung heutiger Pflanzenschutzmaßnahmen werden.

Das Jasmonat-Signalsystem kommt als möglicher Ansatzpunkt für die planmäßige Auslösung induzierbarer Pflanzenresistenz infrage. Jasmonat selbst oder Methyljasmonat sind wegen ihrer Flüchtigkeit und wegen ungünstiger Nebenwirkungen (Reduktion der Transpiration, Wachstumshemmung, Förderung von Seneszenz) als Wirkstoffe in der Landwirtschaft ungeeignet. Es war daher wichtig herauszufinden, ob sich durch gezieltes chemisches Design der Jasmonat-Leitstruktur ungünstige Nebeneffekte unter Erhaltung der gewünschten biologischen Wirkung würden reduzieren oder beseitigen lassen. Unter Verwendung der Elicitierung von antimikrobiellen Benzophenanthridin-Alkaloiden in einem Gewebekultur-Biotestsystem des kalifornischen Kappen-Mohns (*Eschscholzia californica*) haben Bleichert und Kollegen tatsächlich eindeutige Beweise für die Richtigkeit dieser Vorstellung erbracht. Sie beschrieben synthetische Jasmonate mit stark elicitierender Wirkung, die gleichzeitig beträchtlich reduzierte seneszenzauslösende Eigenschaften zeigten, die Transpiration nicht beeinträchtigten und nahezu keine wachstumshemmenden Nebenwirkungen aufwiesen.^[68]

Höhere Pflanzen sind also nicht lediglich lichtbetriebene chemische Fabriken, die langsam wachsen und passiv den Standortgegebenheiten ausgeliefert sind. Vielmehr überwachen Pflanzen ständig ihre Umgebung unter Verwendung einer riesigen Vielfalt spezifischer, hochempfindlicher und perfekt auf die Erfordernisse abgestimmter Sensoren. In all dem sind sie genauso hoch entwickelt wie Tiere und der Mensch, nicht weniger komplex, nicht weniger faszinierend, und sie verstehen zu lernen ist nicht weniger wichtig. Die (im Grunde einfache) Fähigkeit von Tier und Mensch, sich anders als die ortsgebundene Pflanze bewegen zu können, wurde oft (intuitiv) als ein Zeichen besonderer evolutionärer Vervollständigung betrachtet; mittlerweile sind wir jedoch gut beraten, diese Ansicht aufzugeben.

Die Arbeiten aus dem Labor des Autors wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. Der Verfasser bedauert, daß er nicht alle wichtigen Arbeiten zitieren oder diskutieren konnte, zum einen aus Platzgründen, zum anderen, weil ein umfassender Überblick über das inzwischen höchst diversifizierte Gebiet der Pflanzensensorik gegeben werden sollte, auf dem

eine sehr große Zahl an wichtigen Veröffentlichungen allein während der letzten Jahre zu verzeichnen ist. Deswegen wurden auch, wann immer möglich, neuere Übersichtsarbeiten zitiert. Mein besonderer Dank gilt Inga Eicken, Stuttgart, für die hervorragende Übersetzung des im Original in englischer Sprache verfaßten Aufsatzes.

Eingegangen am 12. März 2002 [A525]

- [1] The Arabidopsis Genome Initiative, *Nature* **2000**, *408*, 796–815.
- [2] K. A. Feldmann, R. L. Malenberg, C. Dean in *Arabidopsis* (Hrsg.: E. M. Meyerowitz, C. R. Somerville), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, **1994**, S. 137–172.
- [3] a) M. C. Pirrung, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, R167–R175; b) P. Thomason, R. Kay, *J. Cell Sci.* **2000**, *113*, 3141–3150; c) G. E. Schaller, *Adv. Bot. Res.* **2000**, *32*, 109–148; d) A. M. Stock, V. L. Robinson, P. N. Goudreau, *Annu. Rev. Biochem.* **2000**, *69*, 183–215; e) T. Urao, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki, *Trends Plant Sci.* **2000**, *5*, 67–74; f) G. M. Pao, M. H. Saier, Jr., *J. Mol. Evol.* **1997**, *44*, 605–613; g) I. Hwang, H.-C. Chen, J. Sheen, *Plant Physiol.* **2002**, *129*, 500–515.
- [4] M. G. Surette, M. Levit, Y. Liu, G. Lukat, E. G. Ninfa, A. Ninfa, J. B. Stock, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 939–945.
- [5] a) C. Chang, S. F. Kwok, A. B. Bleecker, E. M. Meyerowitz, *Science* **1993**, *262*, 539–544; b) J. Hua, C. Chang, Q. Sun, E. M. Meyerowitz, *Science* **1995**, *269*, 1712–1714; c) J. Hua, H. Sakai, S. Nourizadeh, Q. G. Chen, A. B. Bleecker, J. R. Ecker, E. M. Meyerowitz, *Plant Cell* **1998**, *10*, 1321–1332; d) H. Sakai, J. Hua, Q. G. Chen, C. Chang, L. J. Medrano, A. B. Bleecker, E. M. Meyerowitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 5812–5817.
- [6] G. E. Schaller, A. B. Bleecker, *Science* **1995**, *270*, 1809–1811.
- [7] a) T. Hirayama, J. M. Alonso, *Plant Cell Physiol.* **2000**, *41*, 548–555; b) F. I. Rodriguez, J. J. Esch, A. E. Hall, B. M. Binder, G. E. Schaller, A. B. Bleecker, *Science* **1999**, *283*, 996–998.
- [8] C. Chang, J. A. Shockey, *Curr. Opin. Plant Biol.* **1999**, *2*, 352–358.
- [9] a) J. Hwang, J. Sheen, *Nature* **2001**, *413*, 383–389; b) C. Fankhauser, *Trends Plant Sci.* **2002**, *7*, 143–145.
- [10] T. Kakimoto, *Science* **1996**, *274*, 982–985.
- [11] T. Inoue, M. Higuchi, Y. Hashimoto, M. Seki, M. Kobayashi, T. Kato, S. Tabata, K. Shinozaki, T. Kakimoto, *Nature* **2001**, *409*, 1060–1063.
- [12] C. Ueguchi, S. Sato, T. Kato, S. Tabata, *Plant Cell Physiol.* **2001**, *42*, 751–755.
- [13] a) J. L. Spudich, C.-S. Yang, K.-H. Jung, E. N. Spudich, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2000**, *16*, 365–392; b) O. A. Sineshchekov, K.-H. Jung, J. L. Spudich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 8689–8699.
- [14] a) P. Hegemann, W. Gartner, R. Uhl, *Biophys. J.* **1991**, *60*, 1477–1489; b) P. Hegemann, *Planta* **1997**, *203*, 265–274; c) G. Nagel, D. Ollig, M. Fuhrmann, S. Kateriya, A. M. Musti, E. Bamberg, P. Hegemann, *Science* **2002**, *296*, 2395–2398.
- [15] H. Kandori, K. Shimono, Y. Sudo, M. Iwamoto, Y. Shichida, N. Kamo, *Biochemistry* **2001**, *40*, 9238–9246, zit. Lit.
- [16] a) C. Fankhauser, J. Chory, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1997**, *13*, 203–229; b) S. J. Davies, A. V. Vener, R. D. Vierstra, *Science* **1999**, *286*, 2517–2520.
- [17] a) C. Fankhauser, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 11453–11456; b) P. Más, P. F. Devlin, S. Panda, S. A. Kay, *Nature* **2000**, *408*, 207–211.
- [18] S.-H. Bhoo, S. J. Davies, J. Walker, B. Karniol, R. D. Vierstra, *Nature* **2001**, *414*, 776–779.
- [19] C. W. Mullineaux, *Mol. Microbiol.* **2001**, *41*, 965–971.

- [20] K. C. Yeh, S. H. Wu, J. T. Murphy, J. C. Lagarias, *Science* **1997**, 277, 1505–1508.
- [21] J. F. Martinez-Garcia, E. Huq, P. H. Quail, *Science* **2000**, 288, 859–863.
- [22] A. Sancar, *Biochemistry* **1994**, 33, 2–9.
- [23] a) W. R. Briggs, E. Huala, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1999**, 15, 33–62; b) C. Lin, *Trends Plant Sci.* **2000**, 8, 337–342; M. Ahmad, *Curr. Opin. Plant Biol.* **1999**, 2, 230–235; W. Marwan, *BIOspektrum* **1999**, 5, 443–448.
- [24] a) J. M. Christie, W. R. Briggs, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 11457–11460; W. R. Briggs, J. M. Christie, *Trends Plant Sci.* **2002**, 7, 204–210.
- [25] H.-Q. Yang, Y.-J. Wu, R.-H. Tang, D. Liu, Y. Liu, A. R. Cashmore, *Cell* **2000**, 103, 815–827.
- [26] H. Wang, L.-G. Ma, J.-M. Li, H.-Y. Zhao, X. W. Deng, *Science* **2001**, 294, 154–158.
- [27] G. T. J. van der Horst, M. Muijtjens, K. Kobayashi, R. Takano, S.-I. Kanno, M. Takao, J. de Wit, A. Verkerk, A. P. M. Eker, D. van Leenen, R. Buijs, D. Bootsma, J. H. J. Hoeijmakers, A. Yasui, *Nature* **1999**, 398, 627–630.
- [28] a) O. Kleiner, S. Kircher, K. Harter, A. Batschauer, *Plant J.* **1999**, 19, 289–296; b) H. Go, H. Duong, N. Ma, C. Lin, *Plant J.* **1999**, 19, 279–287.
- [29] T. Kondo, M. Ishiura, *Trends Plant Sci.* **1999**, 4, 171–176.
- [30] D. E. Somers, P. F. Devlin, S. A. Kay, *Science* **1998**, 282, 1488–1490.
- [31] M. Ahmad, A. R. Cashmore, *Nature* **1993**, 366, 162–166.
- [32] E. Liscum, W. R. Briggs, *Plant Cell* **1995**, 7, 473–485.
- [33] E. Huala, P. W. Oeller, E. Liscum, I.-S. Han, E. Larsen, W. R. Briggs, *Science* **1997**, 278, 2120–2130.
- [34] J. A. Jarillo, M. Ahmad, A. R. Cashmore, *Plant Physiol.* **1998**, 117, 719.
- [35] M. Salomon, J. M. Christie, E. Knieb, U. Lempert, W. R. Briggs, *Biochemistry* **2000**, 39, 9401–9410.
- [36] a) S. Crosson, K. Moffat, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 2995–3000; b) T. E. Swartz, S. B. Corchnoy, J. M. Christie, J. W. Lewis, J. Szundi, W. R. Briggs, R. A. Bogomolni, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 36493–36500.
- [37] M. Salomon, W. Eisenreich, H. Dürr, E. Schleicher, E. Knieb, V. Massey, W. Rüdiger, F. Müller, A. Bacher, G. Richter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 12357–12361.
- [38] a) J. A. Jarillo, H. Gabrys, J. Capel, J. M. Alonso, J. R. Ecker, A. R. Cashmore, *Nature* **2001**, 410, 952–954; b) T. Kagawa, T. Sakai, N. Suetsugu, K. Oikawa, S. Ishiguro, T. Kato, S. Tabata, K. Okada, M. Wada, *Science* **2001**, 291, 2138–2141; c) T. Sakai, T. Kagawa, M. Kasakava, T. E. Swartz, J. M. Christie, W. R. Briggs, M. Wada, K. Okada, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 6969–6974; d) T. Kinoshita, M. Doi, N. Suetsugu, T. Kayawa, M. Wada, K.-J. Shimazaki, *Nature* **2001**, 414, 656–660.
- [39] a) E. Meyerowitz, *Science* **2002**, 294, 1482–1485; b) S.-H. Shiu, A. B. Bleeker, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 10763–10768.
- [40] a) K. Schumacher, J. Chory, *Curr. Opin. Plant Biol.* **2000**, 3, 79–84; b) J. Li, J. Chory, *Cell* **1997**, 90, 929–938; c) Z.-Y. Wang, H. Seto, S. Fujioka, S. Yoshida, J. Chory, *Nature* **2001**, 410, 380–383.
- [41] S. E. Clark, R. W. Williams, E. M. Meyerowitz, *Cell* **1997**, 89, 575–585.
- [42] W.-Y. Song, G.-L. Wang, L.-L. Chen, H.-S. Kim, T. Holsten, J. Gardner, B. Wang, W.-X. Zhai, L.-H. Zhu, *Science* **1995**, 270, 1804–1806.
- [43] L. Gomez-Gomez, T. Boller, *Mol. Cell* **2000**, 5, 1003–1011.
- [44] a) K. U. Torii, *Curr. Opin. Plant Biol.* **2000**, 3, 361–367; b) T. Nürnberger, D. Scheel, *Trends Plant Sci.* **2001**, 6, 372–379.
- [45] a) J. M. Scheer, C. A. Ryan, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 9585–9590; b) G. Ender, A. Kereszt, Z. Kevei, S. Mihacea, P. Kalo, G. B. Kiss, *Nature* **2002**, 417, 962–966; c) S. Stracke, C. Kistner, S. Yoshida, L. Mulder, S. Sato, T. Kaneko, S. Tabata, N. Sandal, J. Stougaard, K. Szczyglowski, M. Parniska, *Nature* **2002**, 417, 959–962.
- [46] J. Nasrallah, M. Nasrallah, *Plant Cell* **1993**, 5, 1325–1335.
- [47] T. Romeis, *Curr. Opin. Plant Biol.* **2001**, 4, 407–414.
- [48] a) J. C. Fletcher, U. Brand, M. P. Running, R. Simon, E. M. Meyerowitz, *Science* **1999**, 283, 1911–1914; b) A. E. Trotochaud, T. Hao, G. Wu, Z. Yang, S. E. Clark, *Plant Cell* **1999**, 11, 393–405.
- [49] a) C. Schopfer, M. Nasrallah, J. Nasrallah, *Science* **1999**, 286, 1697–1700; b) S. Takayama, H. Shiba, M. Iwano, H. Shimosato, F.-S. Che, N. Kai, M. Watanabe, G. Suzuki, K. Hinata, A. Isogai, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 1920–1925.
- [50] M. Zasloff, *Nature* **2002**, 415, 389–395.
- [51] a) K. Lindsey, S. Casson, P. Chilley, *Trends Plant Sci.* **2002**, 7, 78–83; b) C. A. Ryan, G. Pearce, *Plant Physiol.* **2001**, 125, 65–68; b) J. M. Cock, S. McCormick, *Plant Physiol.* **2001**, 126, 939–942.
- [52] a) T. Asai, G. Tena, J. Plotnikova, M. R. Willmann, W.-L. Chiu, L. Gomez-Gomez, T. Boller, F. M. Ausubel, J. Sheen, *Nature* **2002**, 415, 977–983; b) A. Sharma, M. Matsuoka, H. Tanaka, S. Komatsu, *FEBS Lett.* **2001**, 507, 346–350.
- [53] a) G. Pearce, D. Strydom, S. Johnson, C. A. Ryan, *Science* **1991**, 253, 895–897; b) C. P. Constabel, L. Yip, C. A. Ryan, *Plant Mol. Biol.* **1998**, 26, 55–62; c) G. Pearce, D. S. Moura, J. Stratmann, C. A. Ryan, *Nature* **2001**, 411, 817–820; d) G. Pearce, D. S. Moura, J. Stratmann, C. A. Ryan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 12843–12847.
- [54] a) Y. Matsubayashi, Y. Sakagami, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 7623–7627; b) Y. Matsubayashi, A. Morita, E. Matsunaga, A. Furuya, N. Hanai, Y. Sakagami, *Planta* **1999**, 207, 559–565; c) T. Kobayashi, C. H. Eun, H. Hanai, Y. Matsubayashi, Y. Sakagami, H. Kamada, *J. Exp. Bot.* **1999**, 50, 1123–1128; d) Y. Matsubayashi, M. Ogawa, A. Morita, Y. Sakagami, *Science* **2002**, 296, 1470–1472.
- [55] H. Röhrig, J. Schmidt, E. Miklashevichs, J. Schell, M. John, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 1915–1920.
- [56] C. A. Ryan, *Plant Mol. Biol.* **1992**, 19, 123–133.
- [57] C. A. Ryan, *Annu. Rev. Plant Physiol.* **1973**, 24, 173–196.
- [58] a) C. A. Ryan, G. Pearce, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1998**, 14, 1–17; b) A. Schaller, C. A. Ryan, *BioEssays* **1995**, 18, 27–33.
- [59] G. A. Howe, J. Lightner, J. Browse, C. A. Ryan, *Plant Cell* **1996**, 8, 2067–2077.
- [60] E. E. Farmer, C. A. Ryan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, 87, 7713–7716.
- [61] T. Albrecht, A. Kehlen, K. Stahl, H.-D. Knöfel, G. Sembdner, E. W. Weiler, *Planta* **1993**, 191, 86–94.
- [62] a) P. M. Sanders, P. Y. Lee, C. Biesgen, J. D. Boone, T. P. Beals, E. W. Weiler, R. B. Goldberg, *Plant Cell* **2000**, 12, 1041–1061; b) A. Stintzi, J. Browse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 10625–10630.
- [63] B. A. Vick, D. C. Zimmermann, *Plant Physiol.* **1984**, 75, 458–461.
- [64] F. Schaller, *J. Exp. Bot.* **2001**, 52, 11–23.
- [65] I. Kubigsteltig, D. Laudert, E. W. Weiler, *Planta* **1999**, 208, 463–471.
- [66] S. Ishiguro, K.-O. Akido, J. Ueda, I. Nishida, K. Okada, *Plant Cell* **2001**, 13, 2191–2209.
- [67] a) E. W. Weiler, *Naturwissenschaften* **1997**, 84, 340–349; b) E. W. Weiler, D. Laudert, B. A. Stelmach, P. Hennig, C. Biesgen, I. Kubigsteltig in *Insect-Plant Interactions and Induced Plant Defence* (Hrsg.: J. A. Pickett), Wiley, Chichester, **1999**, S. 191–204.
- [68] a) S. Bleichert, O. Brümmer, M. Füsslein, S. Hölder, C. Bockelmann, T. Kutchan, E. W. Weiler, M. H. Zenk, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1997**, 3549–3559; b) S. Bleichert, C. Bockelmann, M. Füsslein, T. von Schrader, B. A. Stelmach, U. Niesel, E. W. Weiler, *Planta* **1999**, 207, 470–479.

- [69] A. Stintzi, H. Weber, P. Reymond, J. Browse, E. E. Farmer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 12837–12842.
- [70] B. A. Stelmach, A. Müller, P. Hennig, S. Gebhardt, M. Schubert-Zsilavecz, E. W. Weiler, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 12832–12838.
- [71] W. Song, C. D. Funk, A. R. Brash, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 8519–8523.
- [72] a) E. E. Farmer, *Nature* **2001**, 411, 854–856; b) W. Boland, J. Hopke, J. Donath, J. Nüske, F. Bublitz, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1715–1717; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1600–1602.
- [73] J. Takabayashi, M. Dicke, *Trends Plant Sci.* **1996**, 1, 109–113.
- [74] G. Arimura, R. Ozawa, T. Shimoda, T. Nishioka, W. Boland, J. Takabayashi, *Nature* **2000**, 406, 512–515.
- [75] J. A. Pickett, G. M. Poppy, *Trends Plant Sci.* **2001**, 6, 137–139.
- [76] a) F. F. Assaad, *Curr. Opin. Plant Biol.* **2001**, 4, 478–487; b) H. Schoof, H. W. Mewes, *BIOspektrum* **2001**, 7, 234–238; c) G. Stacey, S. Koh, C. Granger, J. M. Becker, *Trends Plant Sci.* **2002**, 7, 257–263.
- [77] a) A. Bachmair, M. Novatchkova, T. Potuschak, F. Eisenhaber, *Trends Plant Sci.* **2001**, 6, 463–470; b) A. Ciechanover, A. Orian, A. L. Schwartz, *BioEssays* **2000**, 22, 442–451; c) O. Leyser, *Curr. Opin. Plant Biol.* **2001**, 4, 382–386; d) J. C. del Pozo, M. Estelle, *Trends Plant Sci.* **1999**, 4, 107–112; e) C. Schwechheimer, G. Serino, J. Callis, W. L. Crosby, S. Lyapina, R. J. Deshaies, W. M. Gray, M. Estelle, X.-W. Deng, *Science* **2001**, 292, 1379–1382; f) C. Schwechheimer, X.-W. Deng, *Trends Cell Biol.* **2001**, 11, 420–426.
- [78] P. R. H. Robson, A. C. MacCormac, A. S. Irvine, H. Smith, *BioTechnology* **1996**, 14, 995–998.
- [79] S. Gan, R. M. Amasino, *Science* **1995**, 270, 1986–1988.
-