

Signalübertragung bei der Stressantwort in Pflanzen

Gentechnische Beeinflussung der Salztoleranz

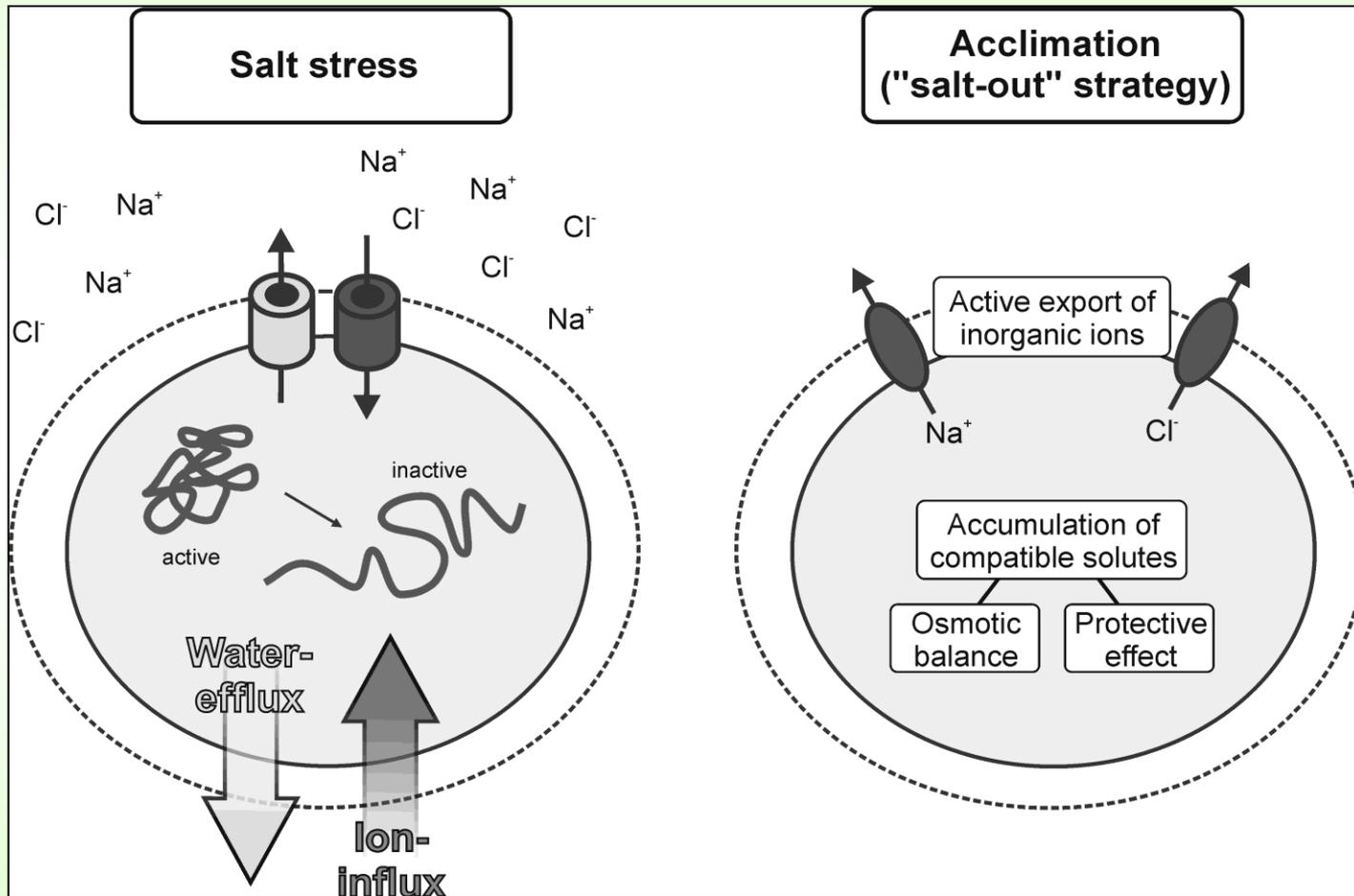
Salzstress in Pflanzen

Abscisinsäure-(ABA)-Rezeptor

Phytochrom

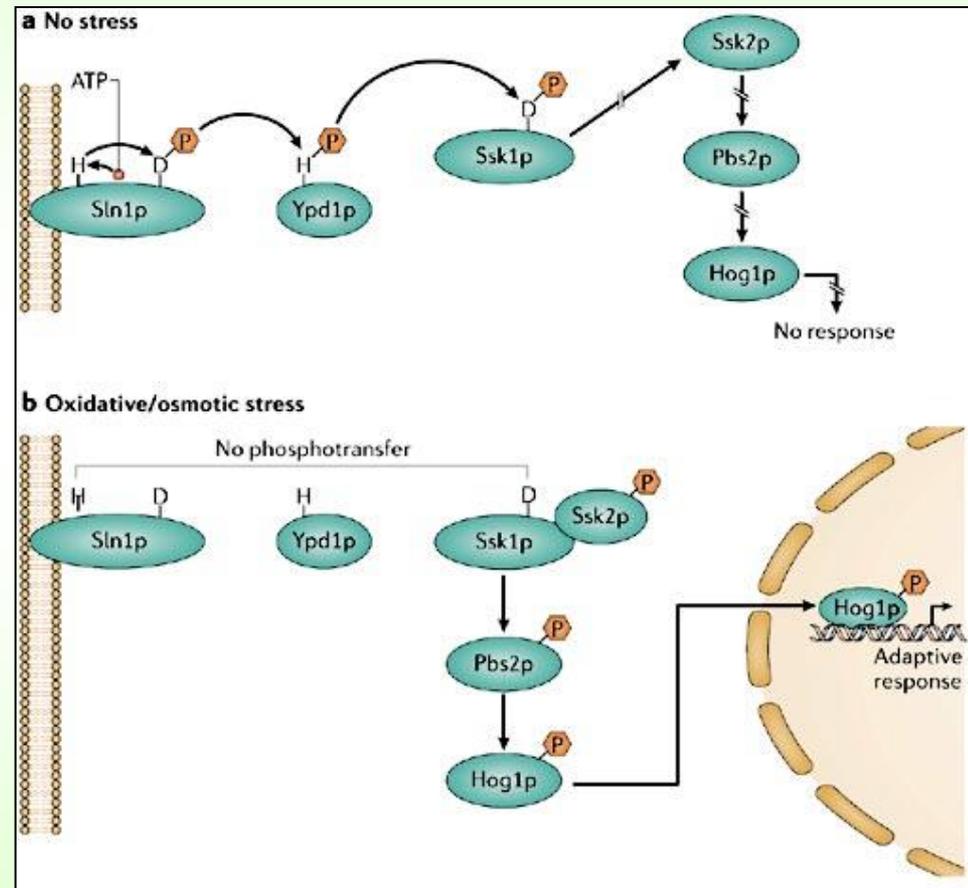


Salzstress – Ionenstress und Wasserstress (Trocken- und Kältestress)

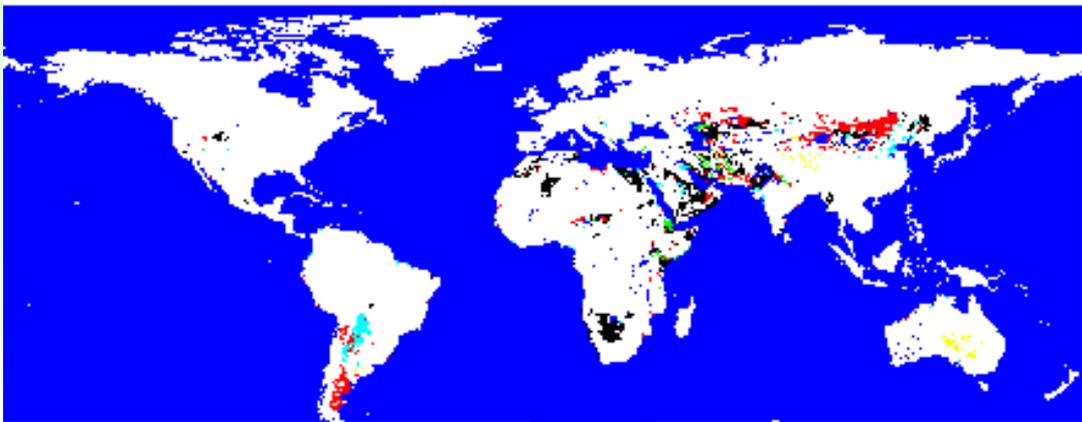


HOG (high osmolarity activated glycerol synthesis)- Signalweg in Hefe

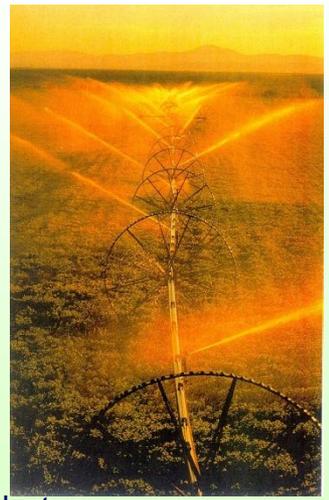
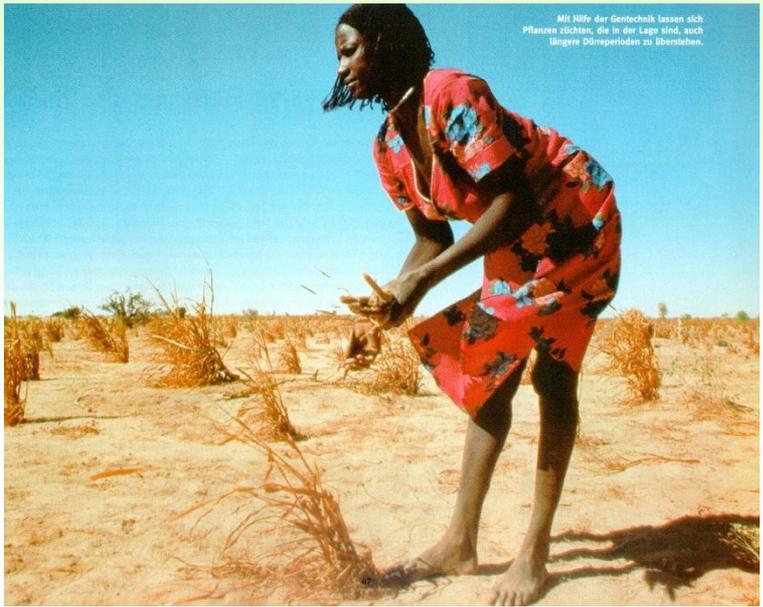
1. Sln1 – negativer Regulator, der spezifisch auf Salz- und Osmostress reagiert
2. Sln1 phosphoryliert Ypd1 (his),
3. **im Salz inaktiv oder vermindert, MAPK-Weg ist dann aktiv**
4. Hog1 wird in den Kern importiert
5. TF aktiviert
6. Glycerolsynthese u.a. aktiviert



Trockenheit und Bodenversalzung sind ein globales Problem



White	in <1% of area
Black	in 1-10% of area
Red	in 11-20% of area
Orange	in 21-30% of area
Yellow	in 31-40% of area
Light Green	in 41-50% of area
Light Blue	in 51-60% of area
Dark Blue	in >60% of area



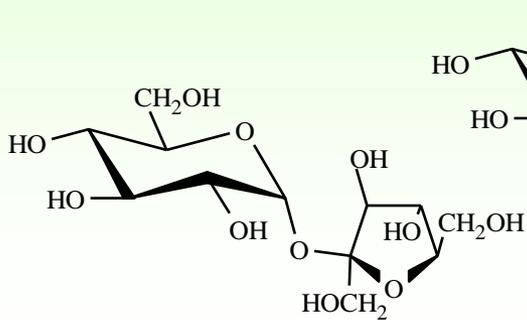
Salzstress

- 1/3 der bewässerten Anbauflächen zeigen erhöhte Salzbelastung (historisch Ägypten, Maya)
- es geht mehr Ackerland durch Versalzung verloren als neu dazu gewonnen wird
- ein großer Teil der Nutzpflanzen ist salzsensitiv
- Salz – eines der wichtigsten Handelsgüter bis heute

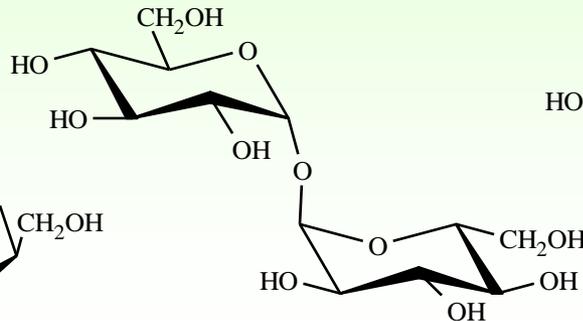


“Compatible Solutes” - Osmoprotektive Substanzen Grundlage hoher Salztoleranz in Pro- und Eukaryoten

Kohlenhydrate

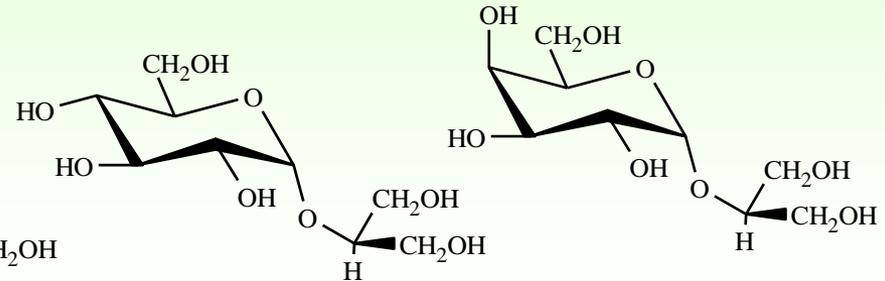


Saccharose



Trehalose

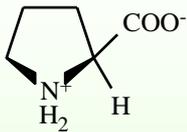
Heteroside



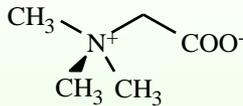
Glucosylglycerol

(Iso)Floridosid

Aminosäuren und -derivate

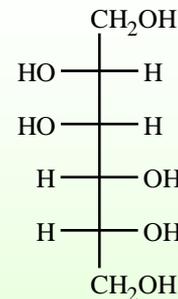


Prolin

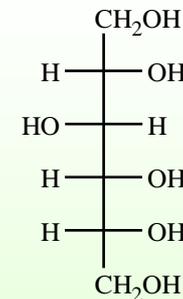


Glycinbetain

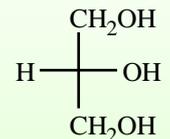
Polyole



Mannitol



Sorbitol



Glycerol

- Erhöhung der internen osmotischen Konzentration
- Direkter Schutz von Makromolekülen vor Denaturierung

Salzstress

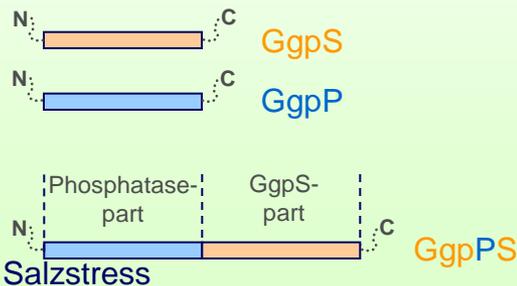
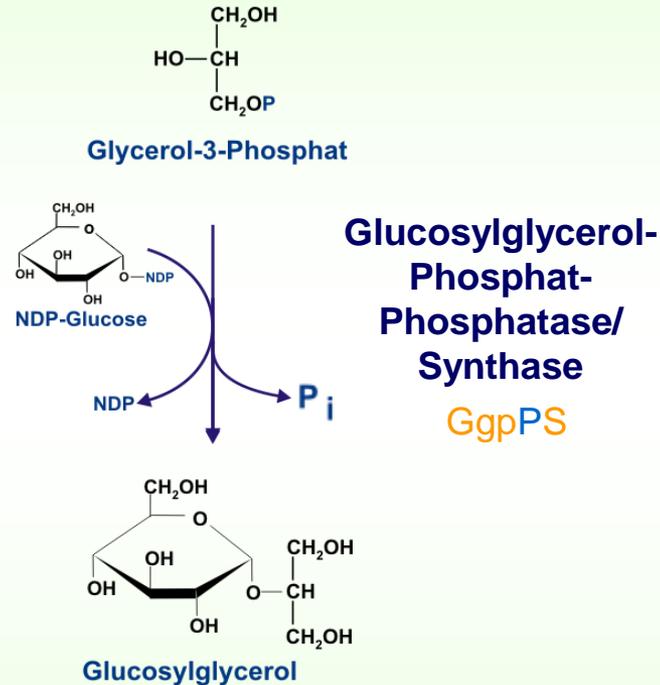


Transgene Pflanzen mit mikrobiellen Genen zur Osmolytsynthese zeigen z.T. eine erhöhte Salz- bzw. Trockentoleranz

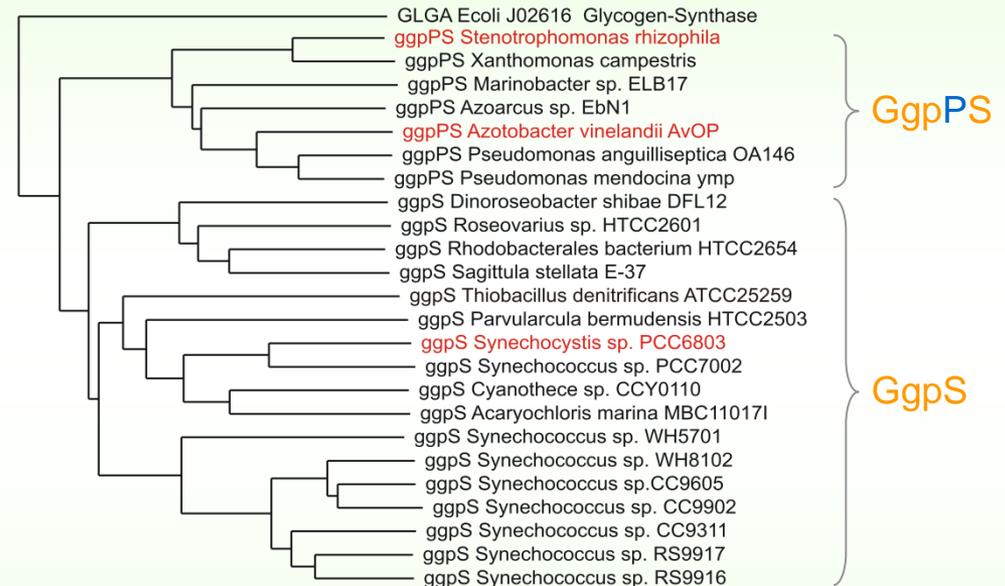
osmolyte	gene/protein	source	plant	observed effects	references
Mannitol	<i>mtlD</i> Man-1-P-DH	<i>E. coli</i>	<i>N. tabacum</i>	synthesis of mannitol-1-phosphate; dephosphorylation by a plant non-specific phosphatase, increased salt tolerance	Tarczynski et al. 1992, 1993
			<i>Arabidopsis thaliana</i>	4fold increase in salt tolerance (bis 300mM),	Thomas et al. 1995
			<i>N. tabacum</i>	increased stress tolerance after transport in chloroplasts	Shen et al. 1997
Glycine betaine	<i>codA</i> Cholineoxidase	<i>Arthrobact. globiformis</i>	<i>Synecho-coccus</i>	constitutive expression led to betaine-accumulation (60-80 mM); erhöhte increased tolerance against salt, cold and light stress	Deshnium et al. 1995, 1997
	<i>betB</i> Betaine aldehyde-DH	<i>E. coli</i>	<i>N. tabacum</i>	± transit sequenz for chloroplast import; in both cases betaine synthesis observed after supply of betaine aldehyde	Holmström et al. 1994
Trehalose	<i>otsA</i> (+ <i>otsB</i>) Tre-P-synth. (Tre-P-Pho.)	<i>E. coli</i>	<i>N. tabacum</i> <i>Solanum tuberosum</i>	slight trehalose accumulation in tabacco, none in potata, only after inhibition of trehalase visible, constitutive expression led to morphological changes	Goddijn et al. 1997
	<i>tps1</i> Tre-P-synth.	<i>S. cerevisiae</i>	<i>N. tabacum</i>	accumulation of small amounts of trehalose (5mM); increased desiccation tolerance, in chloroplasts effective against light stress	Holmström et al. 1996
Proline	<i>p5cs</i> Δ1-pyrrolin-5-carboxylate-S.	<i>E. coli</i>	<i>N. tabacum</i>	20fold over-accumulation of proline → slight increased tolerance against salt and desiccation	Kishor et al. 1995
Fructane	<i>sacB</i> Levan-sucrase	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>N. tabacum</i>	one step synthesis → accumulation of fructans increased growth under drought conditions	Pilon-Smits et al. 1995
D-Pinitol	<i>lmt1</i> Inositol-O-methyl transferase	<i>Mesem. crystallinum</i>	<i>N. tabacum</i>	instead of pinitol the accumulation of ononitol was observed, since tabacco has no corresponding epimerase	Vernon et al. 1993
Inositol	<i>TUR1</i> Inositol-3-phosphate-synthase	<i>Spirodela polyrrhiza</i>	<i>A. thaliana</i>	4fold increase in inositol. no phenotypical changes, no effect on salt tolerance	Smart and Flores 1997

Erzeugung salztoleranter Pflanzen durch Transfer von bakteriellen Salzresistenzgenen

GG-Synthese in heterotrophen Bakterien



Phylogenetischer Vergleich von Proteinen mit wahrscheinlicher GG-Phosphat-Synthase Aktivität



1. abweichende Struktur zu cyanobakteriellem Typ
 2. Fusionsproteine mit beiden Aktivitäten
- Möglichkeit zur effektiveren Synthese

Hagemann et al. (2008) *J. Bacteriol.*

Pflanzenphysiologie

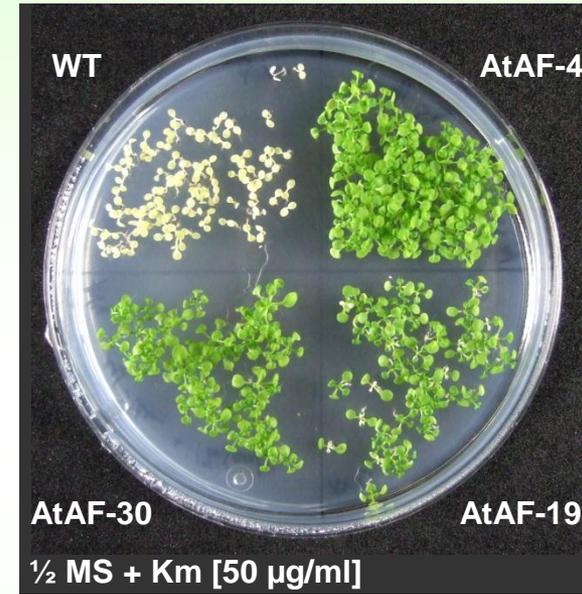
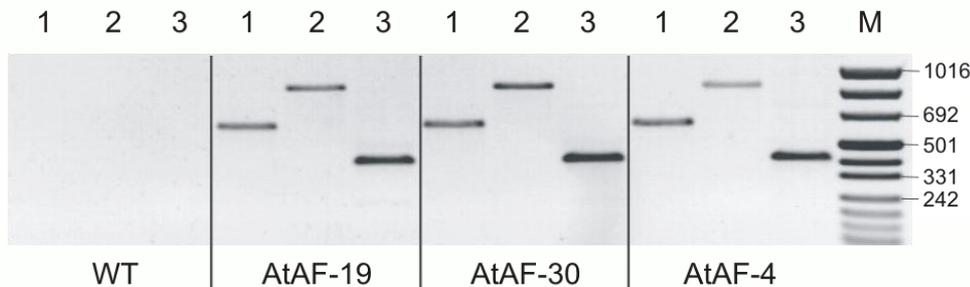
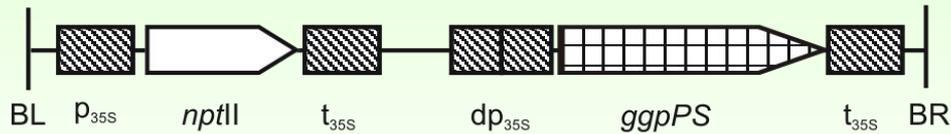
PUR

Universität Rostock

Folie 7



Klonierung des *ggpPS* Gens in einen Pflanzenvektor

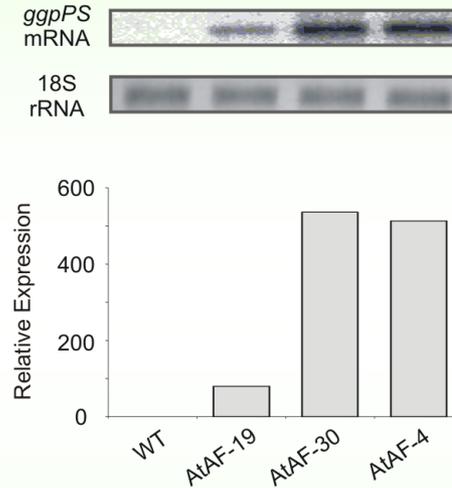
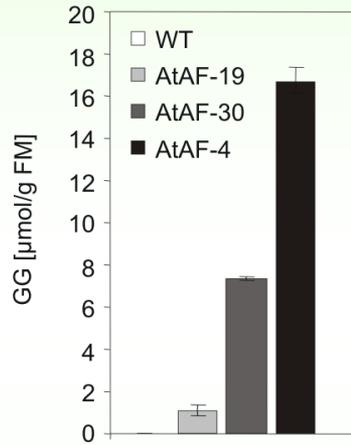


1. *Agrobacterium*-vermittelter Gentransfer (zufällige Insertion einer T-DNA)
2. Selektion von über 30 Linien
3. Beschränkung auf 3 Linien mit stabiler T-DNA-Insertion für physiologische Untersuchungen

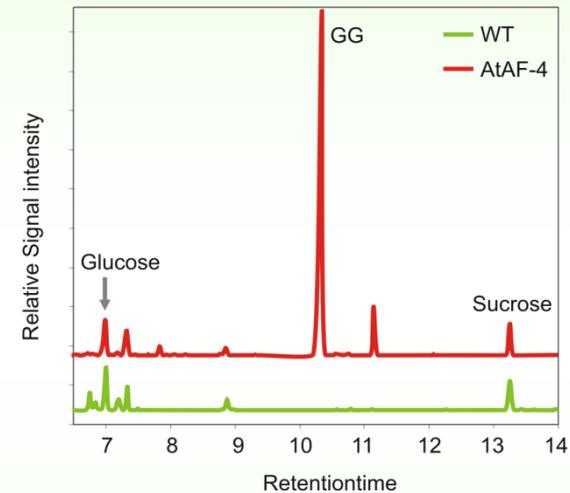


Expression des *gppPS* Gens und GG in Arabidopsis

GG-Mengen und Expression von *gppPS* in Blättern



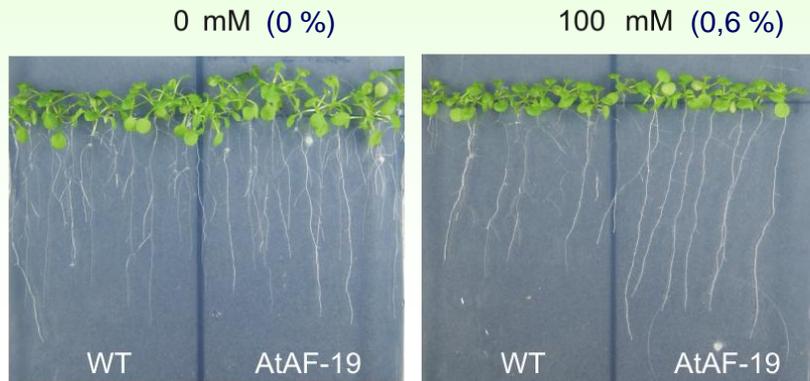
Ausschnitt aus GC-Chromatogrammen



1. Expression des *gppPS*-Gens führt zur Akkumulation beachtlicher GG-Mengen (Trockenmasseanteil von ca. 7 %)
2. Linien unterscheiden sich hinsichtlich des GG-Gehaltes
WT (0) < AtAF-19 (1-2) < AtAF-30 (2-8) < AtAF-4 (17-30)

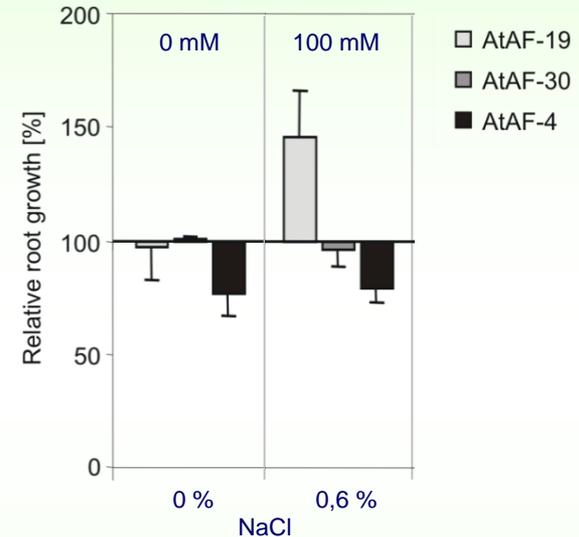


Expression des *gppPS* Gens erhöht die Salztoleranz von *Arabidopsis*



Durch Salzstress wird das Wurzelwachstum stark reduziert (Wang et al., 2009)!

Relatives Wurzelwachstum im Vergleich zum WT



1. geringere GG-Mengen (1-2 $\mu\text{mol/g}$ FM, Linie 19) reduzieren diesen negativen Effekt
→ Unter Salzstress verstärktes Wurzelwachstum im Vergleich zum WT
1. moderate Mengen (2-8 $\mu\text{mol/g}$ FM, Linie 30) zeigen keinen Effekt
2. höhere Mengen (17-30 $\mu\text{mol/g}$ FM, Linie 4) zeigen negativen Effekt (sowohl unter Kontroll- als auch Salzbedingungen)



RESEARCH PAPER

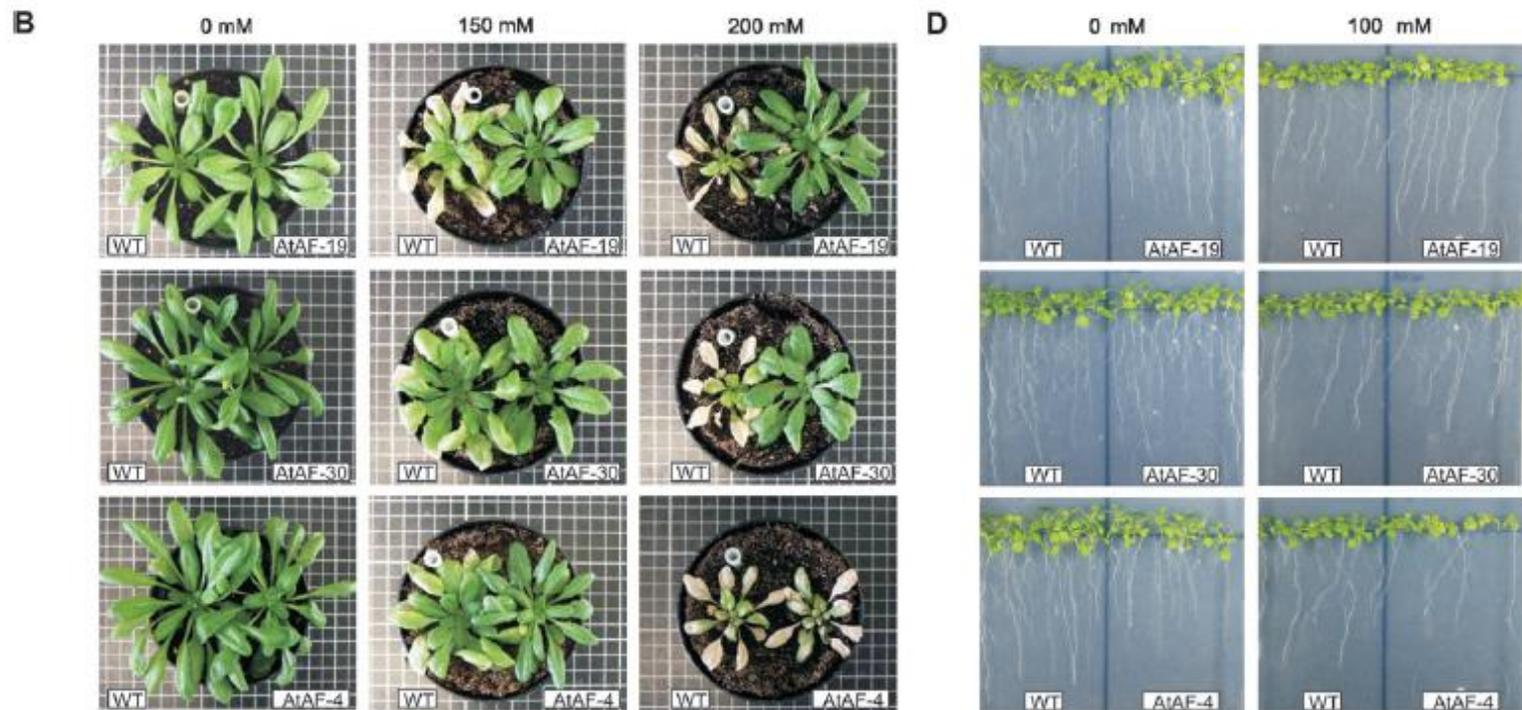
Expression of the *ggpPS* gene for glucosylglycerol biosynthesis from *Azotobacter vinelandii* improves the salt tolerance of *Arabidopsis thaliana*

Stephan Klähn¹, Daniel M. Marquardt², Inga Rollwitz^{1,2} and Martin Hagemann^{1,*}

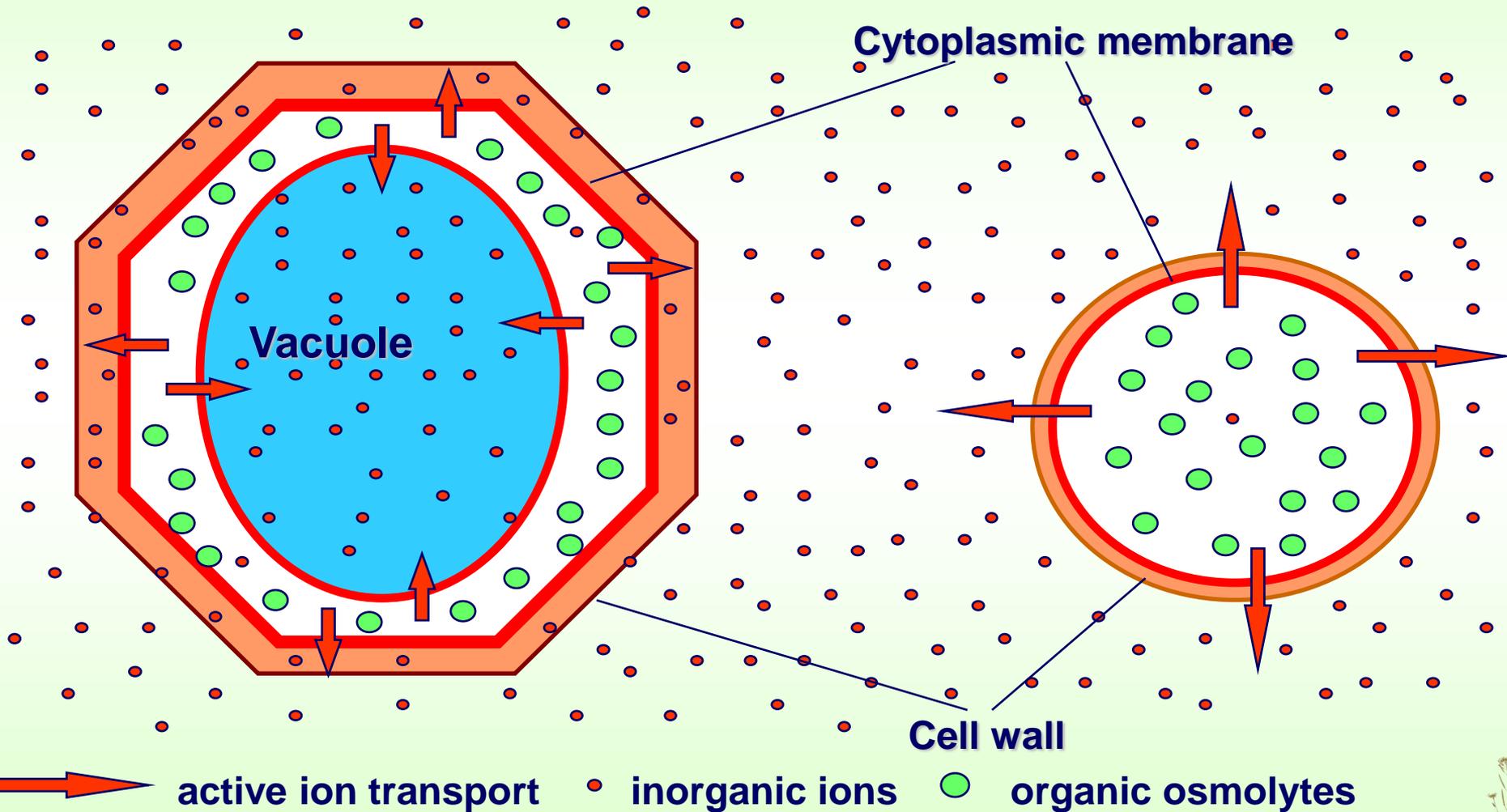
¹ Universität Rostock, Institut für Biowissenschaften, Abteilung Pflanzenphysiologie, A.-Einstein-Str. 3, D-18051 Rostock, Germany

² Universität zu Köln, Botanisches Institut, Gyrhofstr. 15, D-50931 Köln, Germany

Received 14 November 2008; Revised 13 January 2009; Accepted 26 January 2009

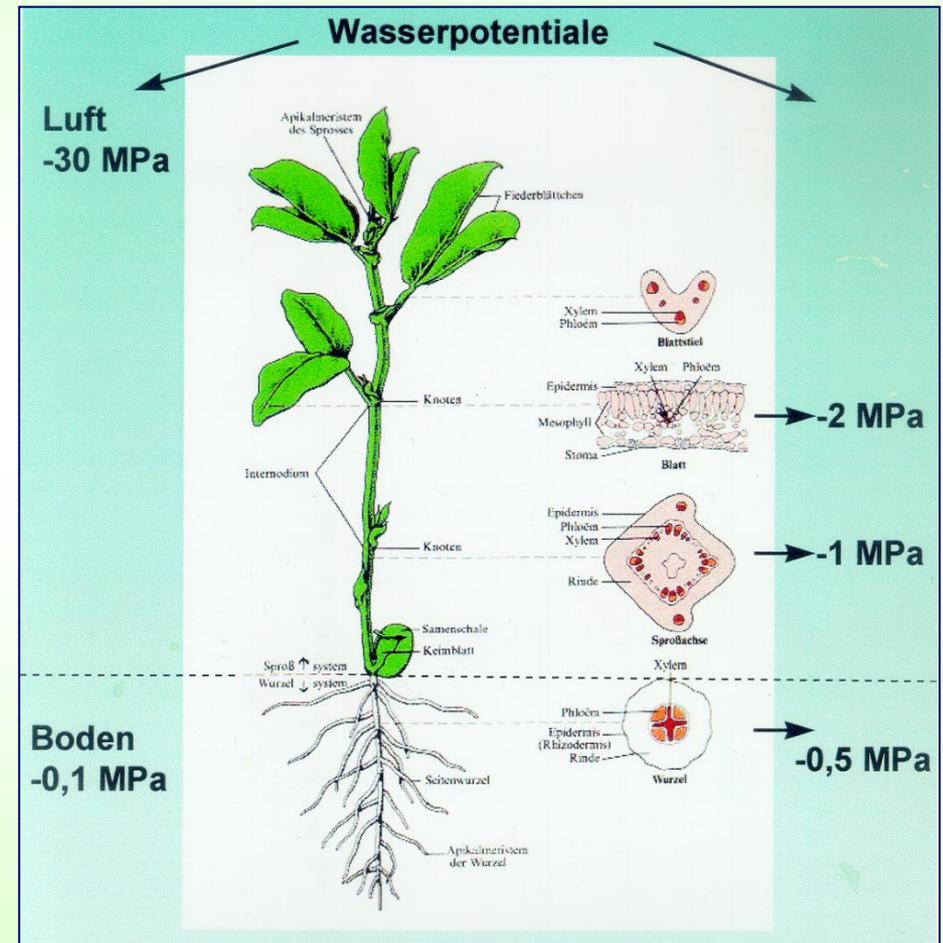


Zelluläre Kompartimentierung von Ionen und Osmolyten

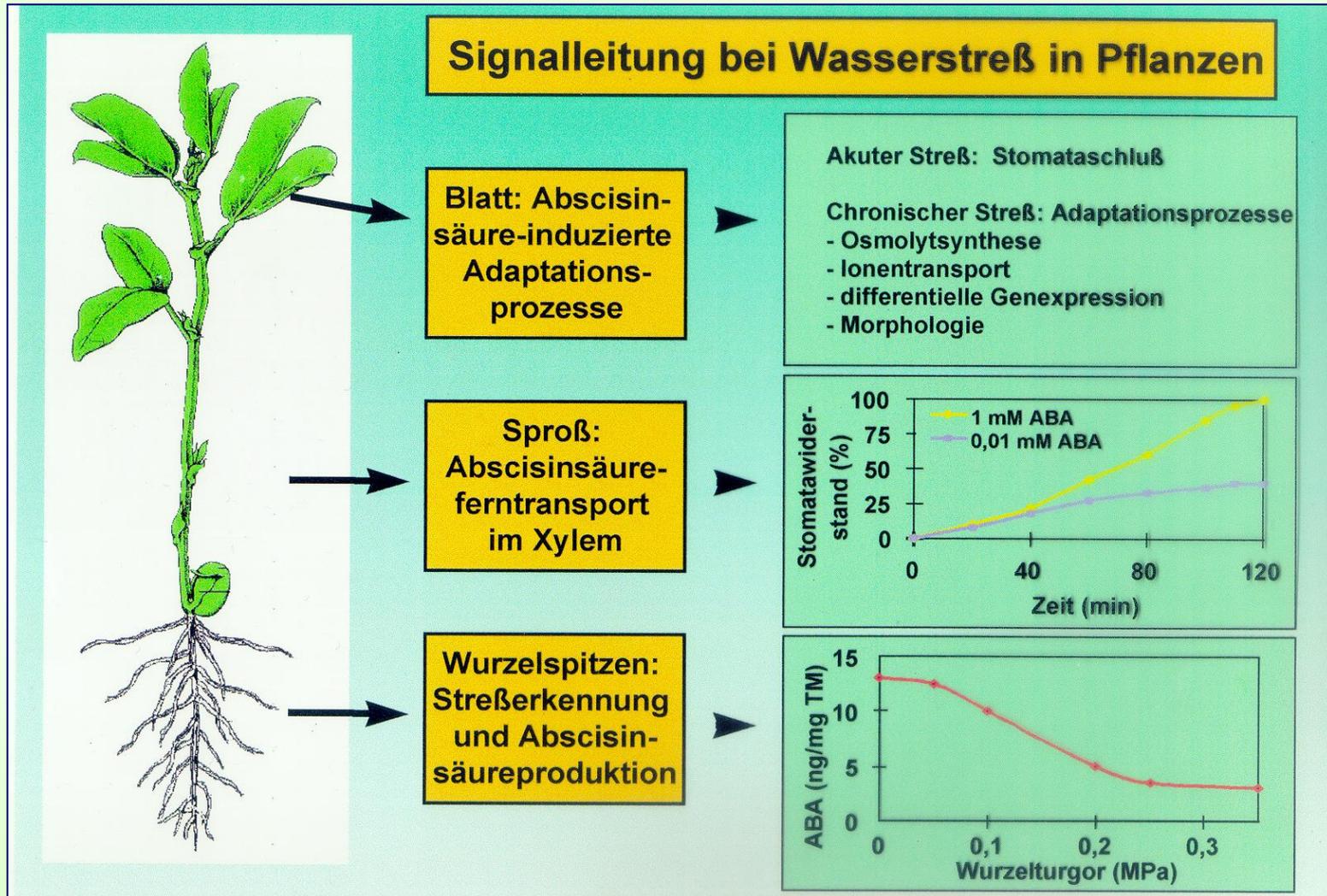


Salz- und Trockenstress bei Pflanzen – Differenzierter Kormus bedarf Kommunikation zwischen den Organen

1. Anpassungen an verschiedene Standorte
Halo- und Glykophyten
2. Überlappungen in der Stressantwort auf Salz & Trockenheit, da in beiden Fällen das Wasserpotential im Boden sinkt
3. Spezifische Antworten auf Salz beinhalten u.a. Ionentransporte

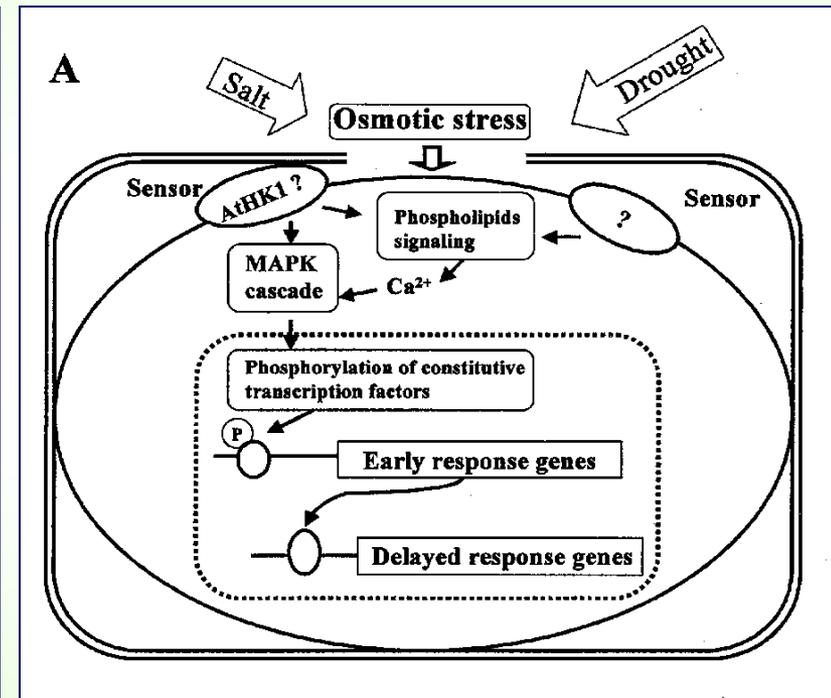


Die Vermittlung von Wasserstress im Boden erfolgt v.a. durch Abscisinsäure (Aba)



Hypothetische Sicht auf pflanzlichen Osmostress in Einzelzellen

1. Sensor ist unbekannt, AtHK1 ist Sln1p ähnlich (Struktur & Funkt.)
2. Ca^{2+} und IP3 Signale
3. MAPK-Kaskade beteiligt (viele pflanzliche Kinasen identifiziert, die osmotisch reguliert sind)
4. **Transkriptionsfaktoren werden reguliert**
5. **Spezifische Promotorelemente gebunden**



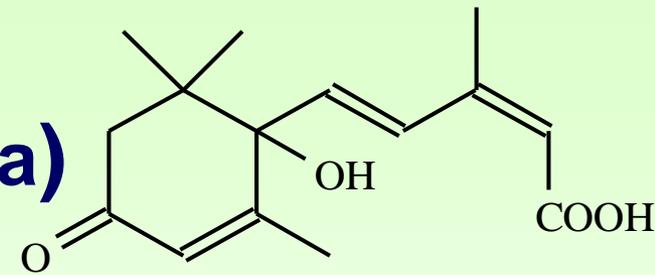
Transkriptionsfaktoren und cis-Elemente in der Salz- und Trockenstressantwort bei Pflanzen – zentrale Rolle von Aba

TABLE 1 *cis*-acting promoter elements on delayed-stress response genes and transcription factors (encoded by early-response genes) that bind to them

<i>cis</i> element	Gene	Transcription factor name	Transcription factor type	Transcription factor expression is induced by	References	
DRE	TACCGACAT	rd29A	DREB2A	AP2	Dehydration, ABA	Arabidopsis (56, 71)
DRE		rd29A	DREB2B	AP2	Dehydration, salt	Arabidopsis (56, 71)
DRE		rd29A	CBF1/DREB1B	AP2	Cold	Arabidopsis (19, 96, 97)
DRE		rd29A	CBF2/DREB1C	AP2	Cold	Arabidopsis (19, 96, 97)
DRE		rd29A	CBF3/DREB1A	AP2	Cold	Arabidopsis (19, 96, 97)
ABRE	CACGTGGC	Em	EmBP1	bZIP		Wheat (20)
ABRE	CCACGTGG		TAF-1	bzip		Tobacco (74)
ABRE			OSBZ8	bZIP	ABA	Rice (70)
ABRE			osZIP-1a	bZIP		Rice (72)
ABRE	(T/G/C)ACGT(G/T)GC	Osem	TRAB1	bZIP	ABA	Rice (27)
ABRE		rd29B	AREB1	bZIP	Dehydration, salt	Arabidopsis (9, 17, 102)
	GNGGTG/GTGGNG	MsPRP2	Alfin1	zink-finger		Alfalfa (4)
MYCRS	CANNTG	rd22	RD22BP1	myc	Dehydration, ABA	Arabidopsis (1)
MYBRS	NyAACPyPu	rd22	AyMyb2	myb	Dehydration, ABA	Arabidopsis (104)



Abscisinsäure (Aba)



1. Sesquiterpenoid, an vielen Orten synthetisiert
2. Aba fördert Blattseneszenz unabhängig vom Ethylen.
3. Akkumuliert in Samen, beeinflusst die Trockentoleranz des Samen.
4. Aba fördert die Akkumulation von Reserveproteinen in Samen.
5. Aba hemmt vorzeitige Keimung.
6. **Aba schließt Stomata bei Wassermangel.**
7. **Aba stimuliert Wasser- und Ionenaufnahme in der Wurzel.**
8. **Aba fördert Wurzelwachstum und hemmt Sprosswachstum bei Wassermangel.**



Seed quality

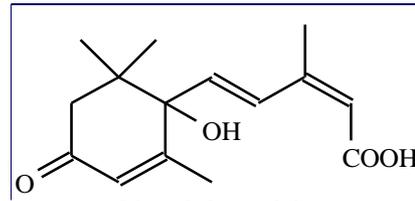
Dormancy



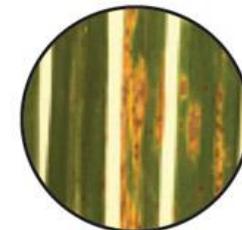
Germination



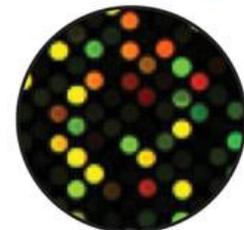
Development



Abscisic acid



Biotic stress response



Gene expression

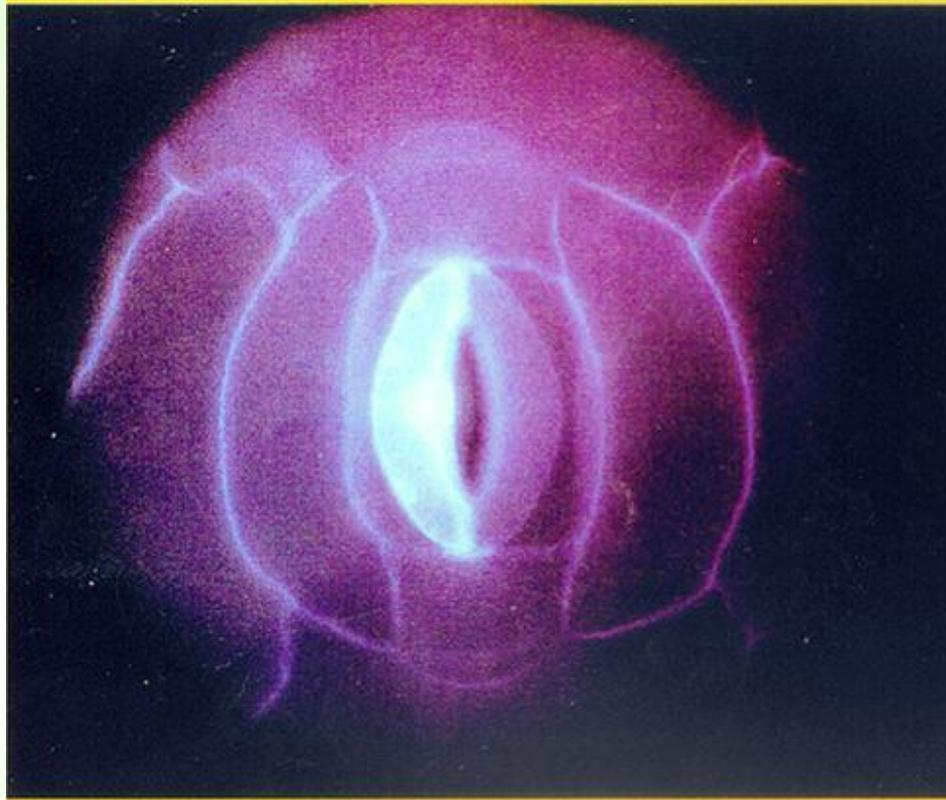


Stomata aperture

Environmental stress tolerance



Aba stimuliert den Stomataschluß - Ca^{2+} -Aufnahme als internes Signal!?



1. Ca^{2+} wird in der Pflanzenepidermis vor allem im Apoplast bzw. in Vakuolen gelagert.
2. Freisetzung/Andocken von Aba führt zu einer schnellen Ca^{2+} -Aufnahme in Schließzellen.

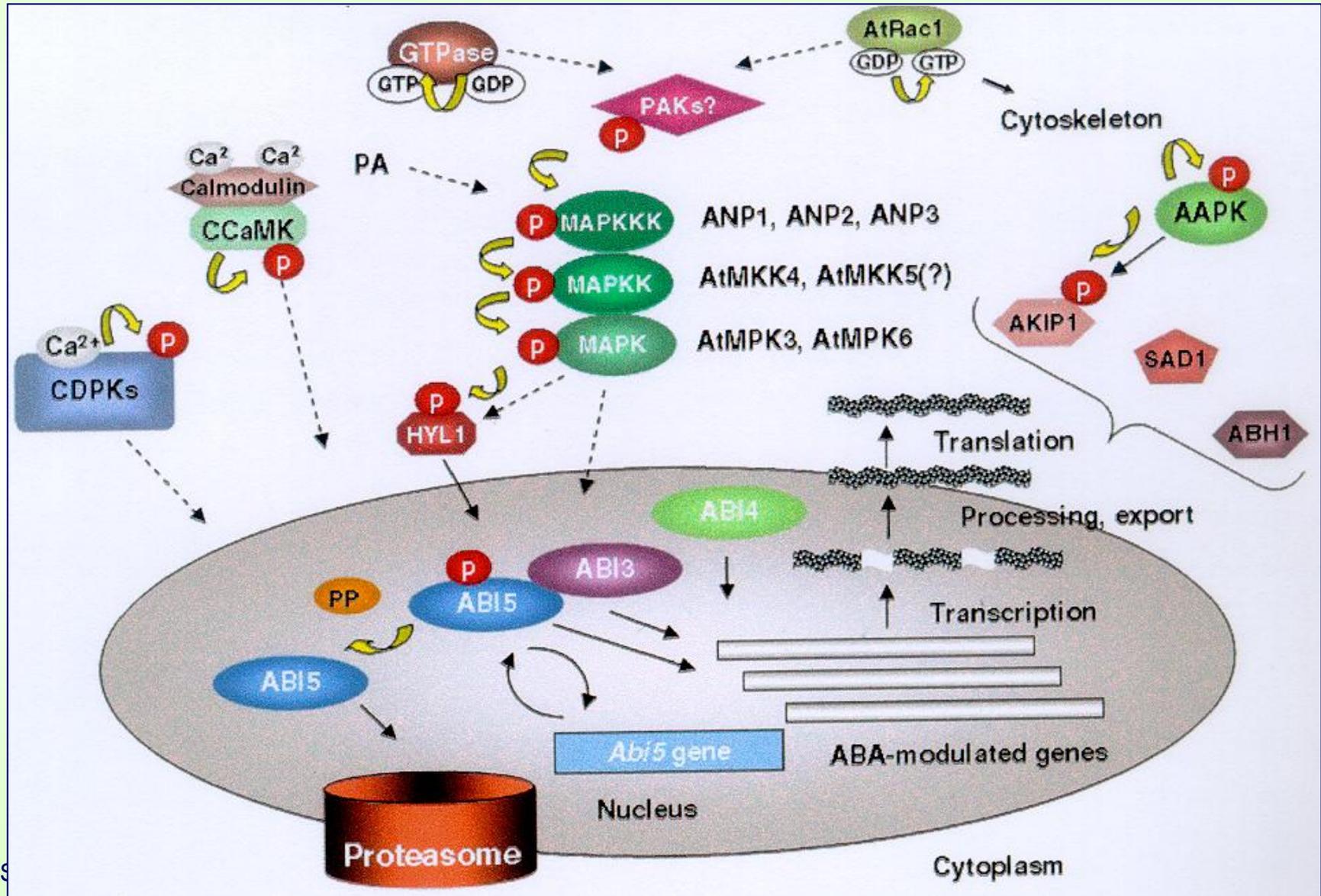


Vermittlung direkter Aba-Effekte auf Ionenkanäle

1. Aba-Rezeptoren waren noch nicht bekannt.
2. Aba-Zugabe führt zum Stomataschluss, Turgor in Schließzelle fällt ab.
3. Ca^{2+} wird aus Vakuole und Apoplast aufgenommen.
4. Ca^{2+} abh. Kinasen (CDPK) sind bei der Regulation von Ionenkanälen beteiligt.
5. K^{+} -exportierende Kanäle werden aktiviert.
6. Daran ist evtl. auch eine Aba-stimulierte Ser/Thr Kinase (AAPK) beteiligt.
7. Cl^{-} - und Malat- Exportkanäle werden ebenfalls aktiviert.

8. PhospholipaseC bildet Inositol-triphosphat (IP3) als second messenger.
9. IP3 stimuliert Ca^{2+} Freisetzung im Cytoplasma.
10. Membranfusionen durch das Syntaxin (Syr1) werden Ca^{2+} stimuliert.
11. Proteinphosphatase (PP2C)-Mutanten werden Aba-insensitiv.
12. Redox-Regulation und ROS-Produktion interagieren mit dem Aba-Signalweg.
13. Aba und Ca^{2+} stimulieren eine NADH Oxidase, die H_2O_2 produziert.
14. H_2O_2 induziert Stomataschluss und inhibiert PP2C.
15. Weiterhin sind G-Proteine beteiligt.

Aba-aktivierte Signalwandlungsketten zur Genexpressionskontrolle



Aba-aktivierte Signalwandlungsketten zur Genexpressionskontrolle?

1. Die erste Route aktiviert eine MAPK Kaskade.
2. Mindestens 3 Kinase-Reaktionen folgen aufeinander.
3. Phosphatidyl-Säure und/oder G-Proteine aktivieren den MAPK-Weg.
4. Die zweite Route benutzt Ca^{2+} -abhängige Proteinkinasen (CDPKs), die unabhängig vom MAPK-Weg zur Genaktivierung führt.
5. Mehrere Aba-induzierte TF (ABI) wurden identifiziert.
6. ABI5 TF wird im wachsenden Embryo reguliert abgebaut, Aba stabilisiert TF durch Aba-induzierte Phosphorylierung.
7. RNA-bindende Proteine (Sad1, Abh1, Hyl1) sind an der Aba-Signalvermittlung beteiligt, zusätzl. Regulationsebenen

Klarheit würde die Identifizierung des Aba-Rezeptors bringen!!!



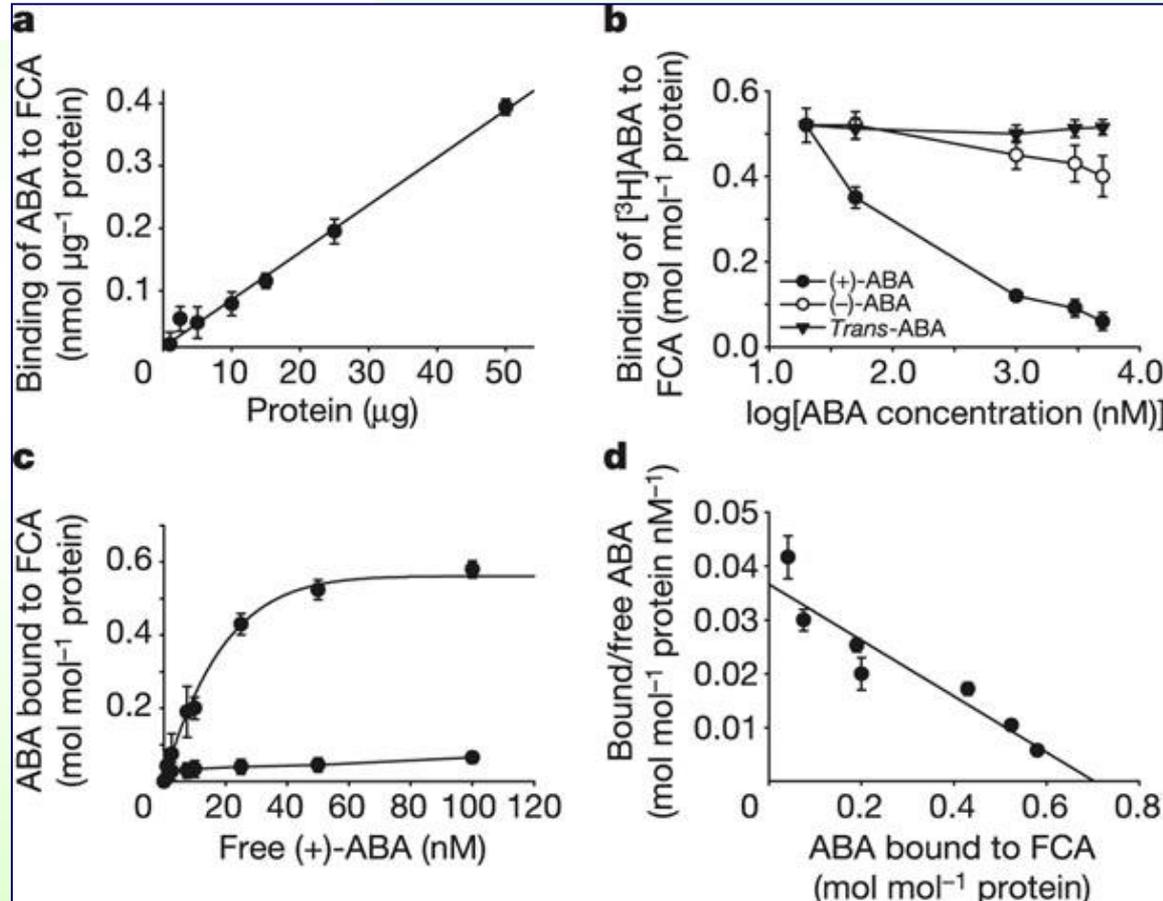
FCA – RNA-Bindeprotein im Kern, das Blüten unterstützt. Unterbindet mRNA von FLC, einem Blütenrepressor. Dazu muss FCA mit FY interagieren.

ARTICLES

The RNA-binding protein FCA is an abscisic acid receptor

Fawzi A. Razem¹, Ashraf El-Kereamy¹, Suzanne R. Abrams² & Robert D. Hill¹

a, Binding of [³H](+)-ABA increases with increasing FCA. **b**, FCA binding of ABA is stereospecific. Only (+)-ABA competes for the binding site. **c**, ABA binding to FCA follows saturation kinetics. Specific binding (top curve) represents the difference between total and nonspecific binding (bottom curve). **d**, Scatchard analysis of ABA binding. Points fitted a linear relationship with the square of the correlation coefficient, $r^2 = 0.88$ ($r^2 = 0.93$ excluding the first ABA concentration). Maximum binding was $0.72 \text{ mol mol}^{-1} \text{ protein}$, with $K_d = 19 \text{ nM}$. Each point is the mean s.d. of nine values.



Wahrscheinlich falsch!

The Mg-chelatase H subunit is an abscisic acid receptor

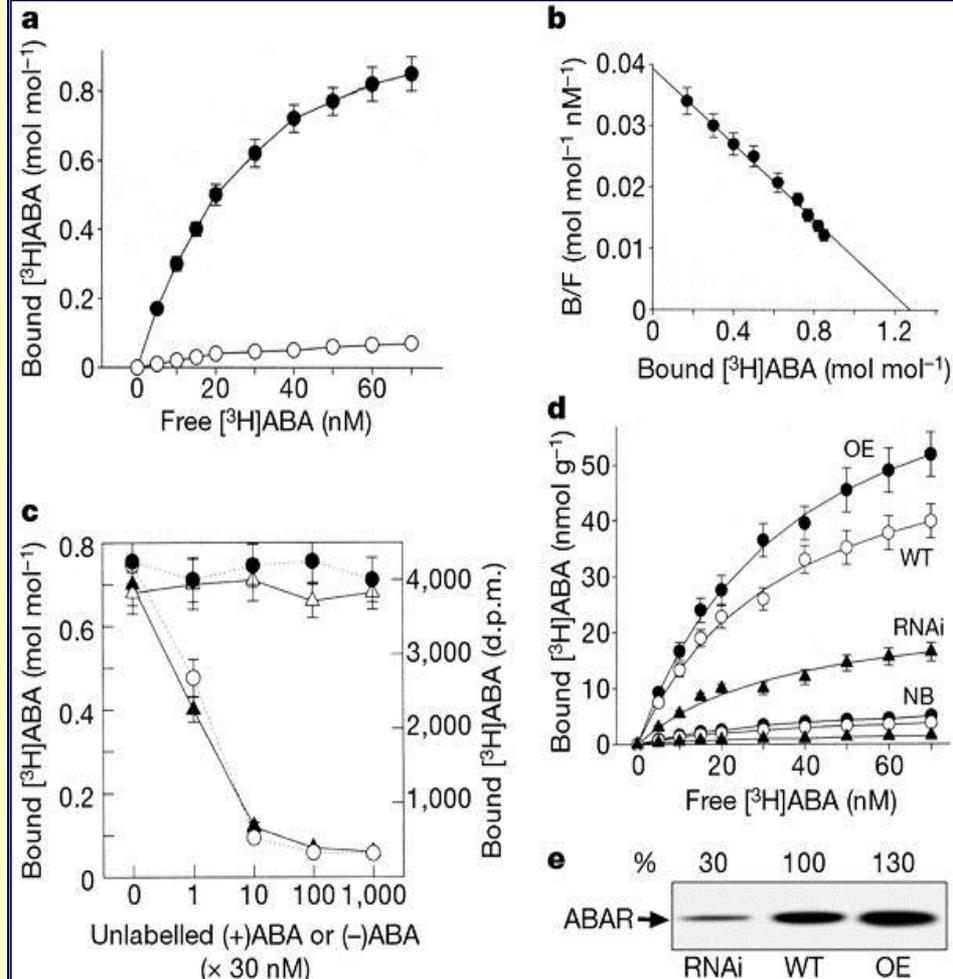
Yuan-Yue Shen^{1*}, Xiao-Fang Wang^{1*}, Fu-Qing Wu^{1*}, Shu-Yuan Du¹, Zheng Cao¹, Yi Shang¹, Xiu-Ling Wang¹, Chang-Cao Peng¹, Xiang-Chun Yu¹, Sai-Yong Zhu¹, Ren-Chun Fan¹, Yan-Hong Xu¹ & Da-Peng Zhang¹

H-subunit – C-terminaler Teil der Mg-Chelatase; Enzym das für den Einbau von Mg in Chl a verantw. ist.

Als **ABAR** bezeichnet!

a, Saturable ABA-specific binding (filled circles) to the pure yeast-expressed ABAR. Open circles, non-specific binding. **b**, Scatchard plot of binding data in **a**. B, [³H]ABA bound; F, free [³H]ABA. The parameters of the curve are $K_d = 32$ nM; $B_{max} = 1.28$ mol mol⁻¹; $R^2 = 0.98$. **c**, Displacement of [³H](+)-ABA binding by (+)-ABA and (-)-ABA. Filled triangles, *in vitro* (+)-ABA binding (mol mol⁻¹); open triangles, *in vitro* (-)-ABA binding (mol mol⁻¹); filled circles, (-)-ABA pull-down assay (d.p.m.); open circles, (+)-ABA pull-down assay (d.p.m.). **d**, Saturable ABA-specific binding to the extracts of leaves of gl1 (WT), RNAi (line 12) and overexpressing (OE, line 1) lines. NB, non-specific binding. **e**, Immunosignal of ABAR protein in the extracts in **d** and the band intensities relative to the wild type. Each point in **a–d** is the mean s.d. ($n = 10$).

Unklar!



A G Protein–Coupled Receptor Is a Plasma Membrane Receptor for the Plant Hormone Abscisic Acid

Xigang Liu,^{1,2} Yanling Yue,¹ Bin Li,³ Yanli Nie,¹ Wei Li,² Wei-Hua Wu,³ Ligeng Ma^{1,2*}

The plant hormone abscisic acid (ABA) regulates many physiological and developmental processes in plants. The mechanism of ABA perception at the cell surface is not understood. Here, we report that a G protein–coupled receptor genetically and physically interacts with the G protein α subunit GPA1 to mediate all known ABA responses in *Arabidopsis*. Overexpressing this receptor results in an ABA-hypersensitive phenotype. This receptor binds ABA with high affinity at physiological concentration with expected kinetics and stereospecificity. The binding of ABA to the receptor leads to the dissociation of the receptor-GPA1 complex in yeast. Our results demonstrate that this G protein–coupled receptor is a plasma membrane ABA receptor.

1712

23 MARCH 2007 VOL 315 SCIENCE www.sciencemag.org

Unklar!



??? Es ist sowohl bei ABAR, FCA aber auch GPA1 unklar, wie das Signal weitergeleitet wird!!!

Sicher gibt es noch mehr Rezeptoren!!



Regulators of PP2C Phosphatase Activity Function as Abscisic Acid Sensors

Yue Ma,* Izabela Szostkiewicz,* Arthur Korte,* Danièle Moes,† Yi Yang,‡
Alexander Christmann, Erwin Grill§

The plant hormone abscisic acid (ABA) acts as a developmental signal and as an integrator of environmental cues such as drought and cold. Key players in ABA signal transduction include the type 2C protein phosphatases (PP2Cs) ABI1 and ABI2, which act by negatively regulating ABA responses. In this study, we identify interactors of ABI1 and ABI2, which we have named regulatory components of ABA receptor (RCARs). In *Arabidopsis*, RCARs belong to a family with 14 members that share structural similarity with class 10 pathogen-related proteins. RCAR1 was shown to bind ABA, to mediate ABA-dependent inactivation of ABI1 or ABI2 in vitro, and to antagonize PP2C action in planta. Other RCARs also mediated ABA-dependent regulation of ABI1 and ABI2, consistent with a combinatorial assembly of receptor complexes.

Abscisic Acid Inhibits Type 2C Protein Phosphatases via the PYR/PYL Family of START Proteins

Sang-Youl Park,^{1*} Pauline Fung,^{2*} Noriyuki Nishimura,^{4†} Davin R. Jensen,^{8†}
Hiroaki Fujii,¹ Yang Zhao,² Shelley Lumba,² Julia Santiago,⁵ Americo Rodrigues,⁵
Tsz-fung F. Chow,² Simon E. Alfred,² Dario Bonetta,⁶ Ruth Finkelstein,⁷
Nicholas J. Provart,^{2,3} Darrell Desveaux,^{2,3} Pedro L. Rodriguez,⁵ Peter McCourt,²
Jian-Kang Zhu,¹ Julian I. Schroeder,⁴ Brian F. Volkman,⁸ Sean R. Cutler^{1,9,10,11‡}

Type 2C protein phosphatases (PP2Cs) are vitally involved in abscisic acid (ABA) signaling. Here, we show that a synthetic growth inhibitor called pyrabactin functions as a selective ABA agonist. Pyrabactin acts through *PYRABACTIN RESISTANCE 1 (PYR1)*, the founding member of a family of START proteins called PYR/PYLs, which are necessary for both pyrabactin and ABA signaling in vivo. We show that ABA binds to PYR1, which in turn binds to and inhibits PP2Cs. We conclude that PYR/PYLs are ABA receptors functioning at the apex of a negative regulatory pathway that controls ABA signaling by inhibiting PP2Cs. Our results illustrate the power of the chemical genetic approach for sidestepping genetic redundancy.

Mutanten ABI1 und 2

ABA insensitiv, Defekt in PP2C, die als negativer Regulator dienen.

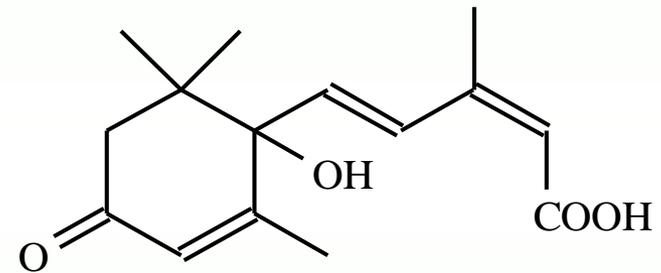
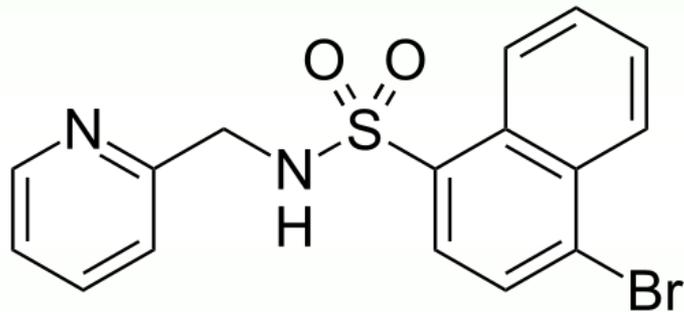
Bindeproteine zu den PP2C (ABI1/2) gefunden, die durch ABA bzw. Pyrabactin (Keimungsregulator) wurden isoliert.

RCARs oder PYR/PYL genannt.

Diese Bindeproteine binden selektiv ABA (1 μ M sättigend) oder PP2C- (ABI1/2) wobei die Bindung der Proteine an PP2C (ABI1/2) deren Aktivität hemmt.

RCAR-Überexpression beeinflusste alle ABA-Effekte (hypersensitiv) Wurzelwachstum, Stomata, Keimung

Pyrabactin, ein landwirtschaftlich nutzbares Abscisinsäure (Aba) Analog

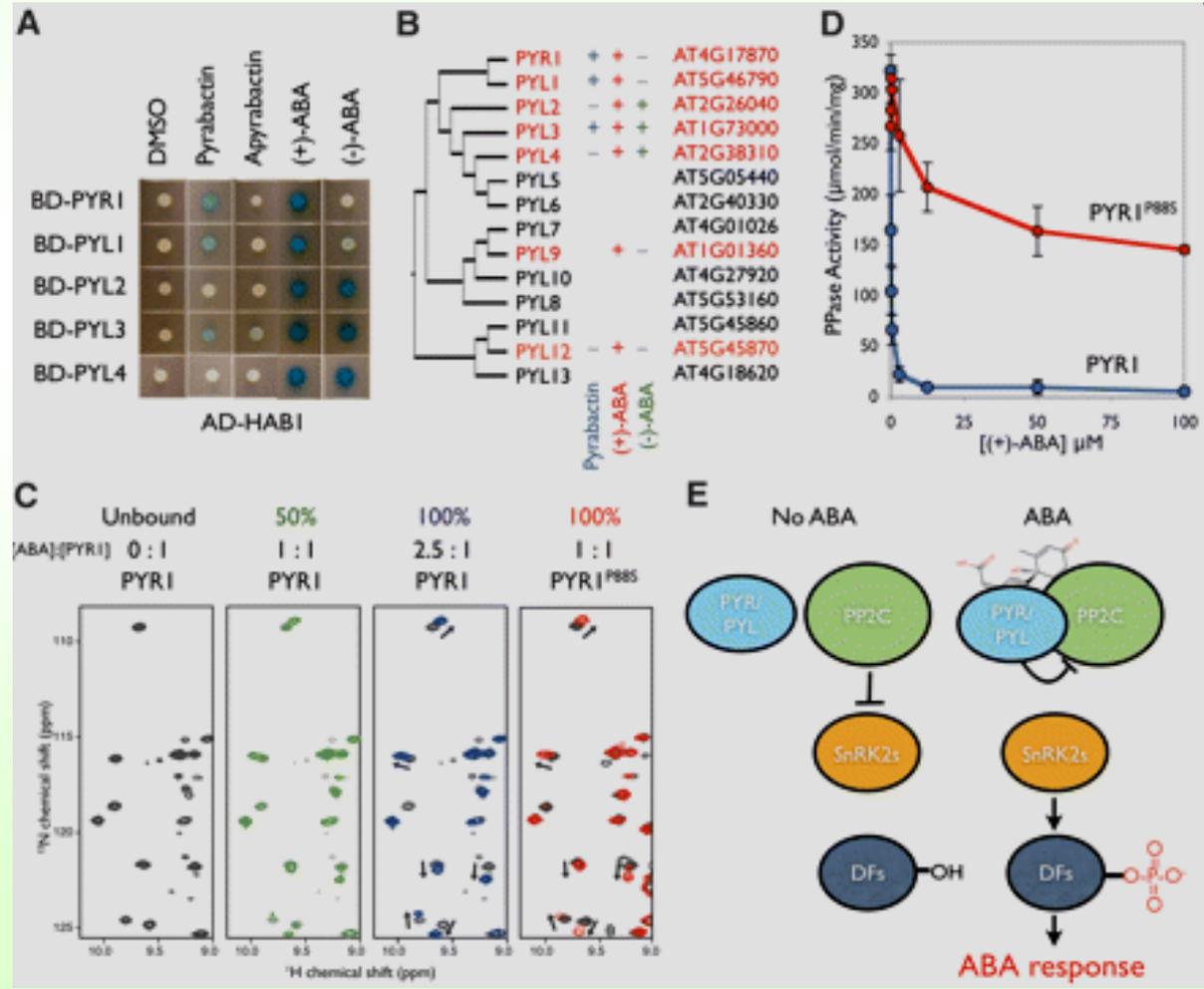


Pyrabactin (for pyridyl containing ABA activator) is a naphthalene sulfonamide hypocotyl cell expansion inhibitor.

<https://en.wikipedia.org/wiki/Pyrabactin>



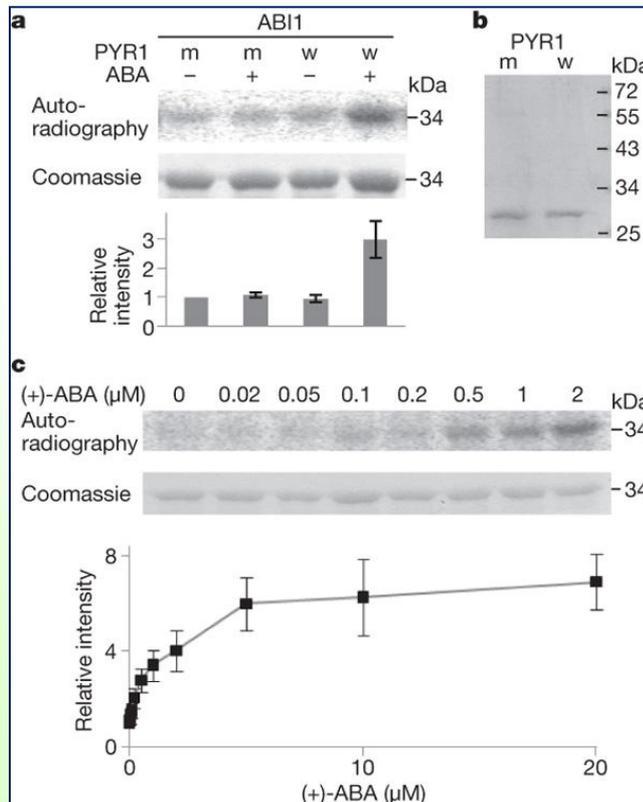
Fig. 4 PYR1 is an ABA-binding protein that regulates PP2C activity. **(A)** PYR/PYL proteins responses to different ligands. Shown are results for five PYR/PYLs that interact with HAB1 in response to ABA. **(B)** ABA response activity is distributed throughout the PYR/PYL family. **(C)** ABA binds to PYR1 and PYR1P88S. Shown are subregions of HSQC spectra for 15N-labeled PYR1 and PYR1P88S in response to increasing amounts of ABA. **(E)** Hypothesized model for PYR/PYL control of ABA signaling. We propose the following model: In the absence of ABA (left), PYR/PYL proteins are not bound to PP2Cs, and therefore, PP2C activity is high, which prevents phosphorylation and activation of SnRK2s and downstream factors (DFs). In the presence of ABA, PYR/PYLs bind and inhibit PP2Cs. This allows accumulation of phosphorylated downstream factors and ABA transcriptional responses. The regulation of SnRK2s by PYR/PYLs may be indirect or may involve other factors.



LETTERS

In vitro reconstitution of an abscisic acid signalling pathway

Hiroaki Fujii^{1,2*}, Viswanathan Chinnusamy^{1,2*}, Americo Rodrigues³, Silvia Rubio³, Regina Antoni³, Sang-Youl Park¹, Sean R. Cutler¹, Jen Sheen⁴, Pedro L. Rodriguez³ & Jian-Kang Zhu^{1,2}

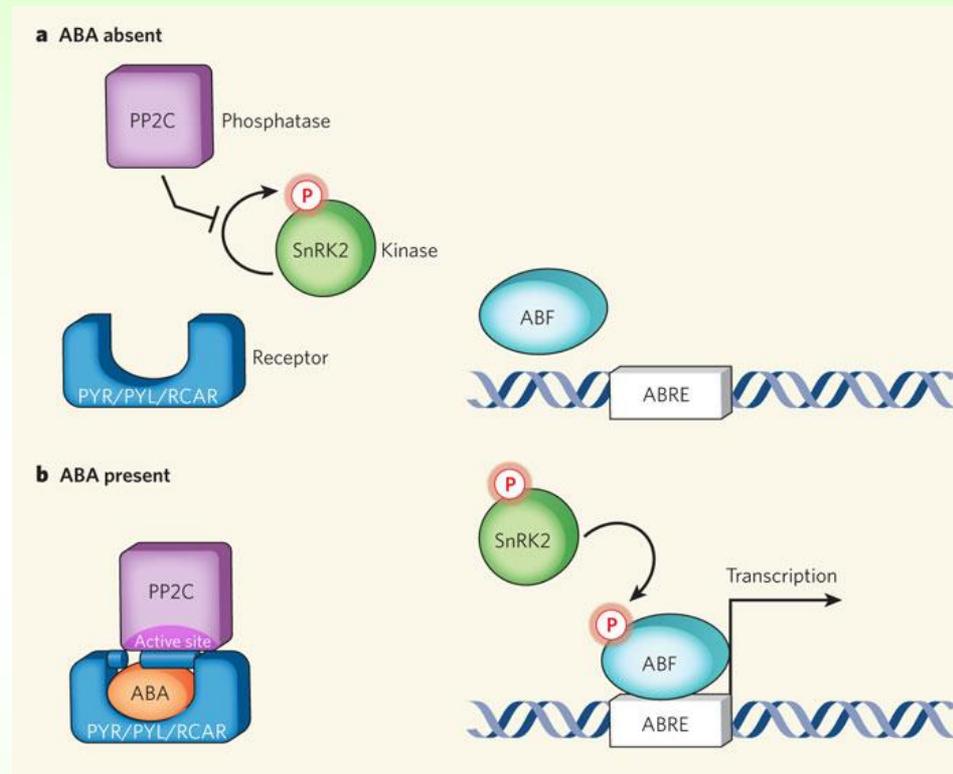


ABA-abhängige Phosphorylierung des TF ABI1 *in vitro*

Phosphorylierung wird durch **Kinase SnRK2** (sucrose non-fermenting-1-related protein kinase 2) katalysiert.

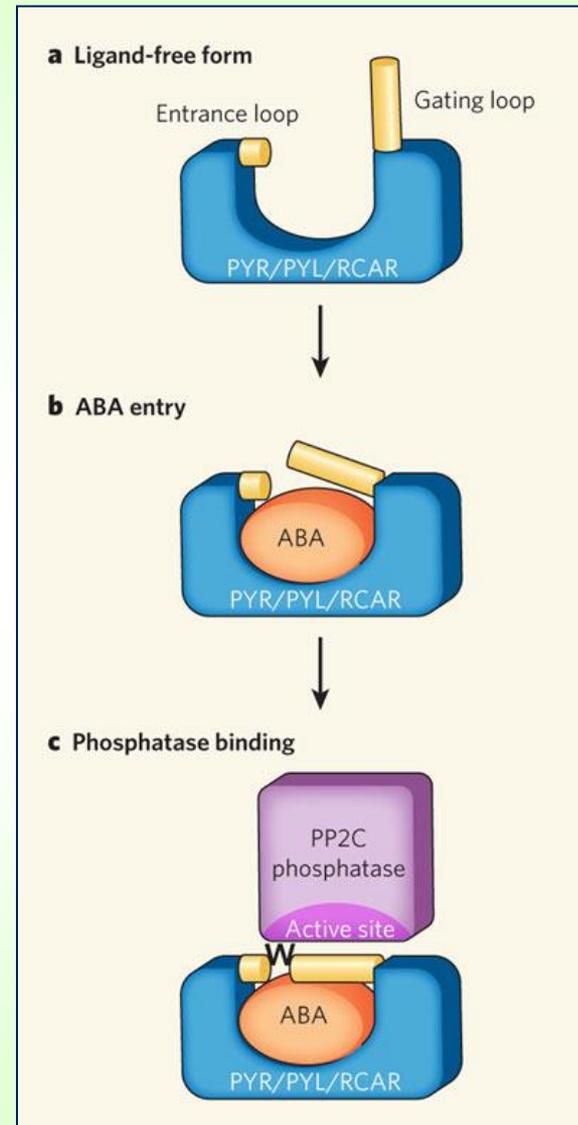
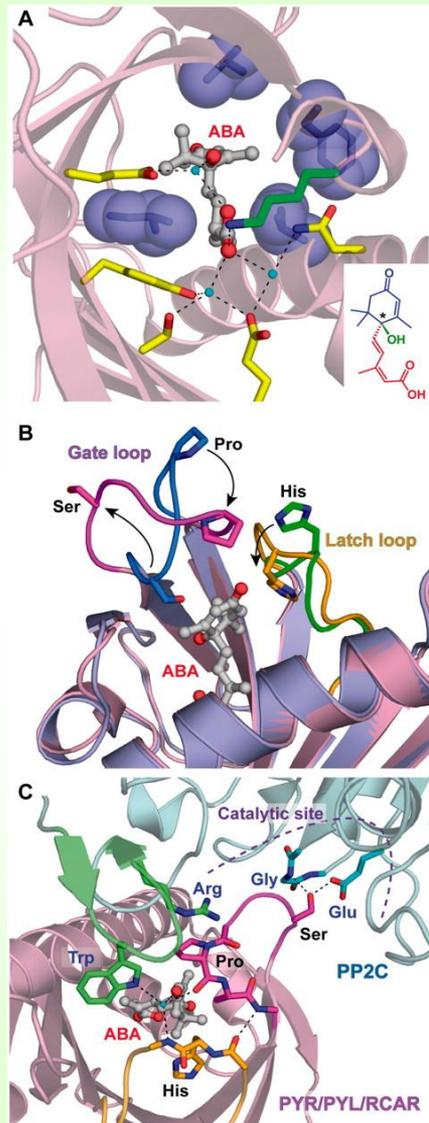
Findet nicht in Gegenwart von PP2C statt, kann aber aktiviert werden, wenn ABA und Pyr/PYL/RCAR anwesend sind!

Einfache ABA-aktivierte Signalwandlungskette zur Genexpressionskontrolle - 2010



1. Ohne ABA hemmt PP2C den positiven Regulator SnRK2.
2. ABA wird nach Stress gebildet.
3. ABA wird primär durch den löslichen Rezeptor Pyr/Pyl/RCAR gebunden.
4. ABA-Rezeptorkomplex bindet PP2C.
5. Gebundene PP2C hemmt nicht mehr SnRK2.
6. SnRK2 aktiviert durch Phosphorylierung ABIs, ABA-spezifische TF.

Structural analysis of PYR/PYL/RCAR ABA receptors.

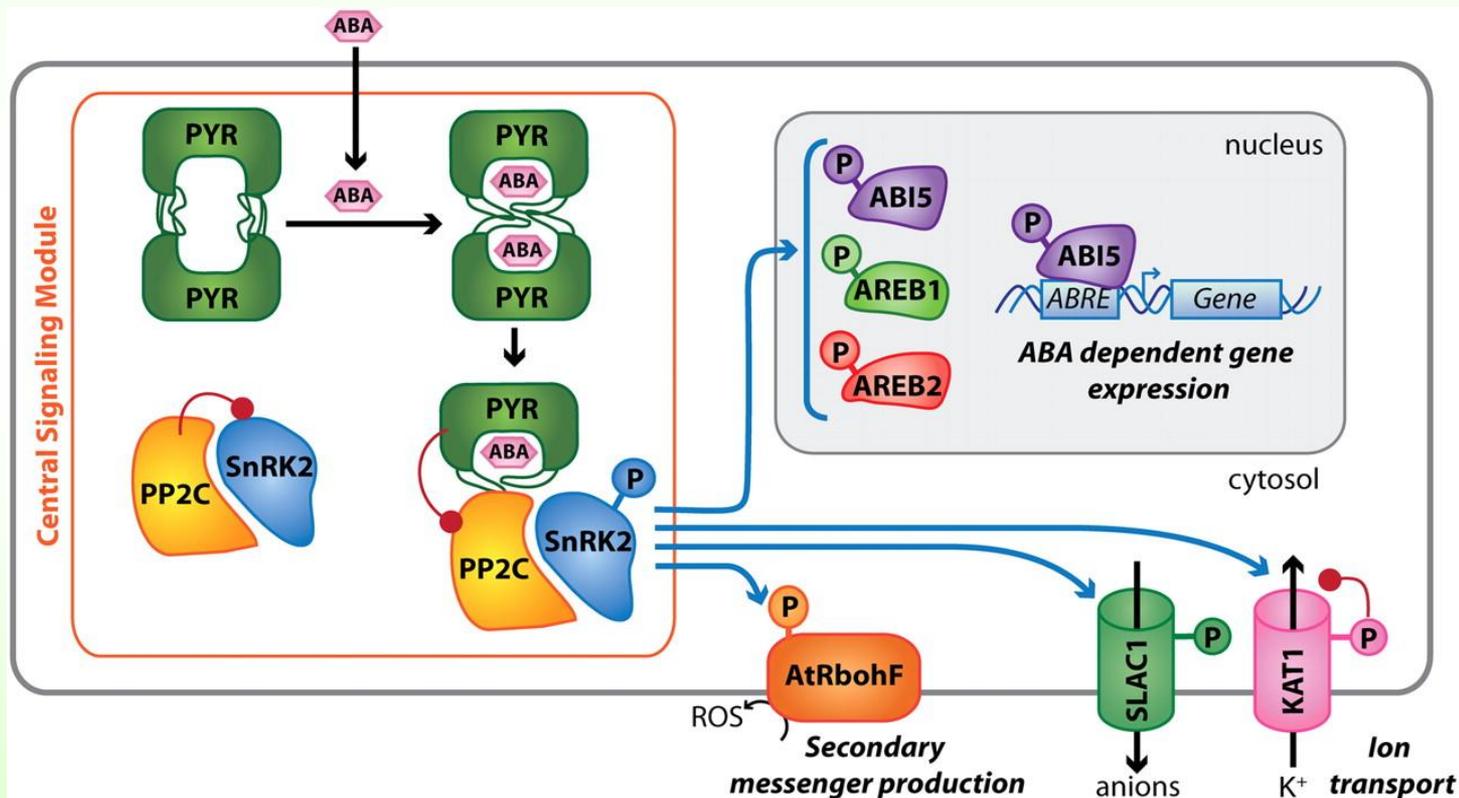


Umezawa T et al. Plant Cell Physiol 2010;51:1821-1839



Aba-aktivierte Signalwandlungsketten

SnRK2 als positiv regulierende MAPK und PP2C-Hemmern als löslichen Rezeptoren – neben der Genexpression auch Transporter reguliert

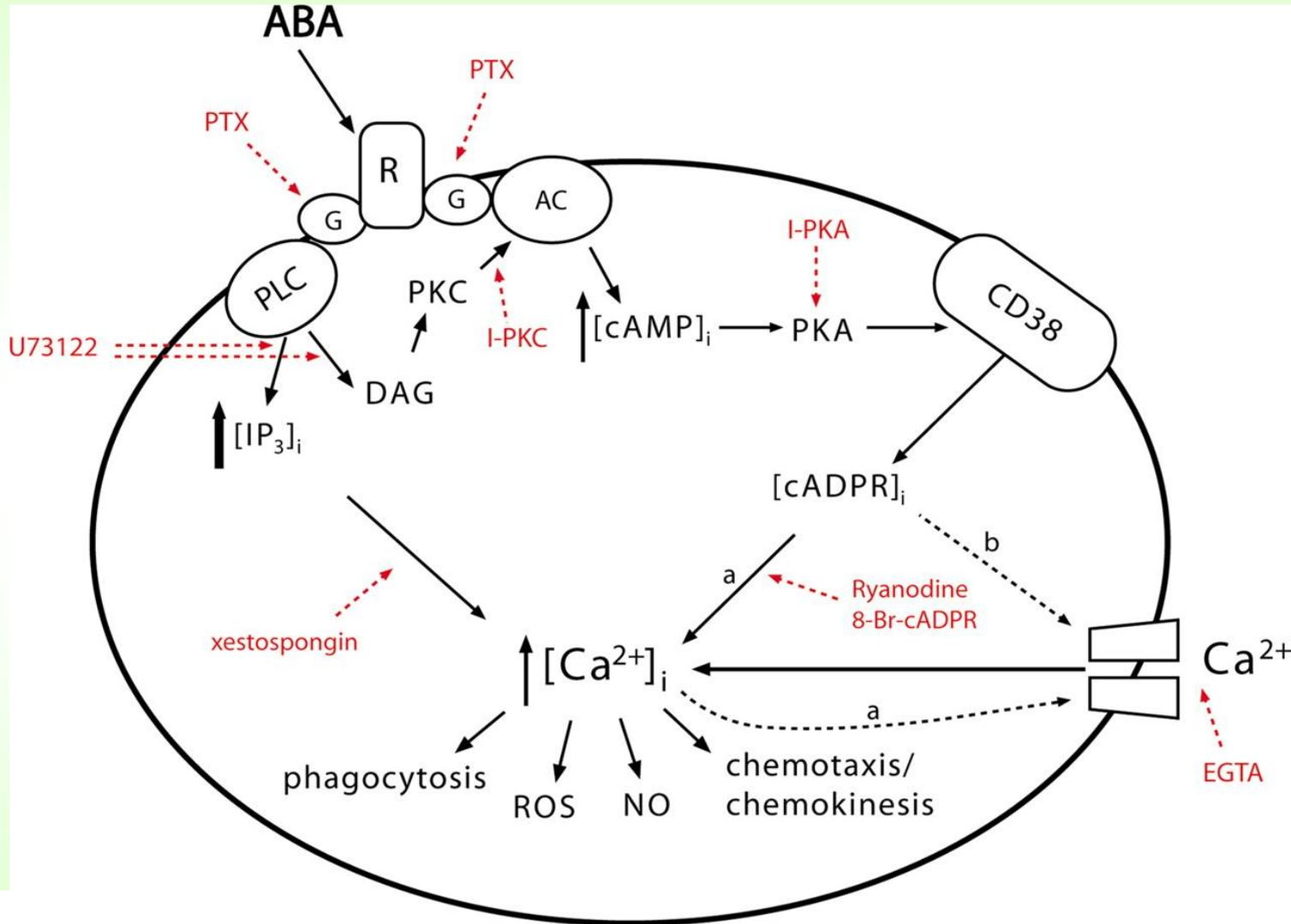


Zusammenfassung ABA-Signalwandlung in Pflanzen

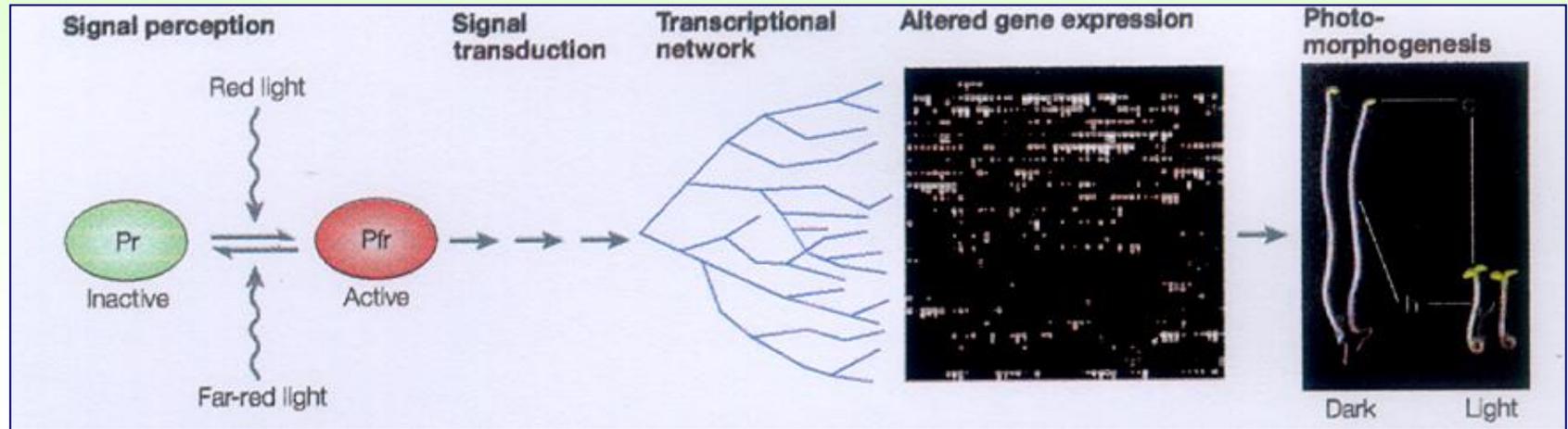
1. **Vermutlich existieren mehrere Wege – zell- oder funktionsspezifisch?**
2. Salz- bzw. Trockenstress erhöht die ABA-Synthese in Pflanzen
3. ABA hat direkte Wirkungen (Stomataschluss) und Wirkungen auf das Genexpressionsmuster
4. Genexpressionsmuster wird durch ABA-abhängige TF verändert, die an ABREs (ABA-spez. Promotorelemente) binden.
5. Mehrere ABA-bindende Proteine könnten Rezeptoren darstellen.
6. Proteinphosphatasen vom PP2C-Typ dienen als negativer Regulator der ABA-Antwort.
7. Der ABA-Rezeptor Pyr/Pyl/RCAR bindet in Gegenwart von ABA an PP2C-Proteine und inaktiviert diese.
8. PP2C-Bindung mit ABA-Rezeptor hebt negative Kontrolle über die Ser/Thr-Kinase SnRK2 auf, die dann TF phosphoryliert.
9. ABA-kontrollierte Gene werden im ZK abgelesen.
10. Auch Transporter können direkt durch SnRK2 reguliert werden.
11. Was macht Kalzium??



ABA acts as cytokine in animal cells - Mechanism of the ABA-induced Ca^{2+} increase. CD38 – cyclic ADP-ribosyl cyclase



Phytochromsystem in Pflanzen

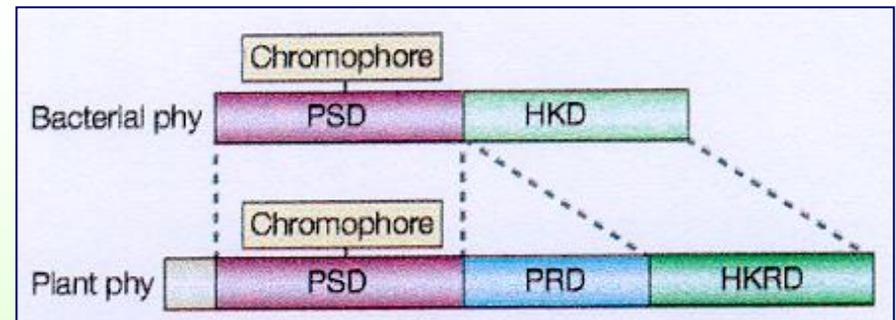
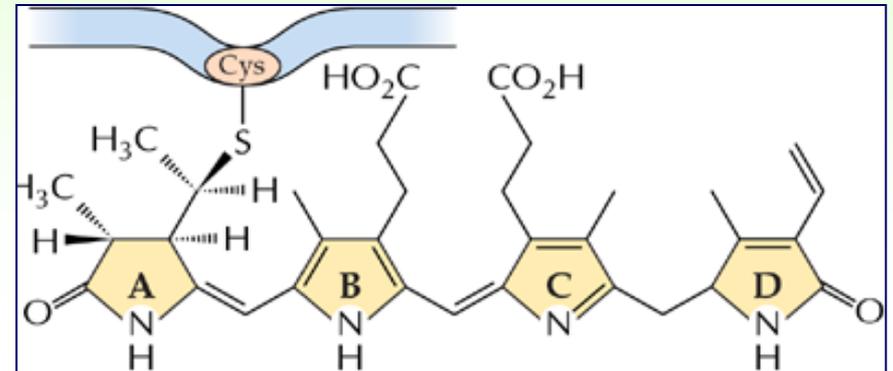


1. Licht als Signal für Photomorphogenese und viele andere Reaktionen
2. Chromophore Gruppe ist offenes Pyrrolringssystem
3. Photoreversibel - aktive und inaktive Form des Sensors durch cis-trans Isomerie
4. Lichtqualität und –intensität ist entscheidend
5. Wirkung vor allem über Transkriptionskontrolle



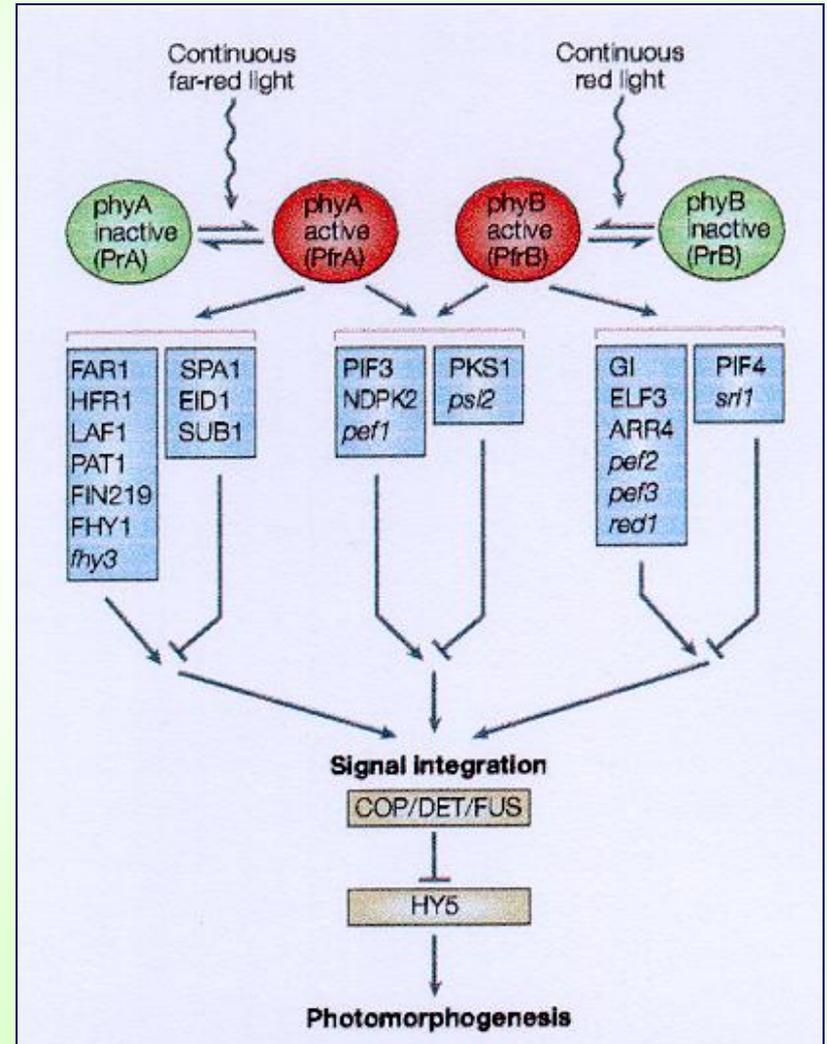
Signalwandlung – Phytochrom und Phosphorylierung

1. Pflanzliches Phytochrom ähnlich bakteriellen Phytochromen
2. In Cyanobakterien u.a. (z.B. Agrobakterium) gefunden
3. Typische Histidin-Kinasen, WW mit Response-Regulator
4. Pflanzl. Phytochrome sollen Ser/Thr-Kinasen sein, Autophosphorylierung gezeigt
5. Rolle des Phosphotransfers bei Signalwandlung unklar



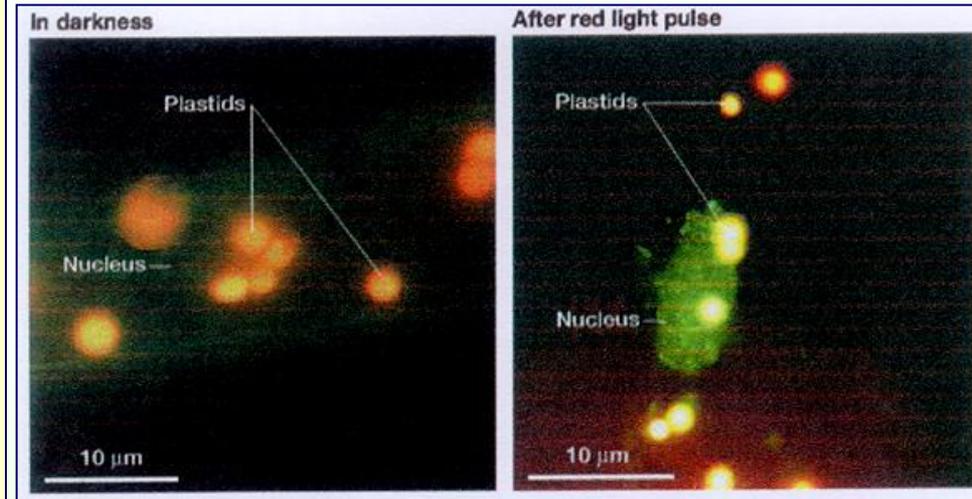
Signalwandlung – Mutantenuntersuchungen

1. Mehrere Phytochrome in Pflanzen nachgewiesen
2. Unterschiedliche spektrale und Intensitätsabhängigkeit
3. Viele Photomorphogenese-Mutanten erzeugt und untersucht
4. Einzelne Phytochrome haben zunächst spezifische Wege – positive und negative Regulatoren (z.B. RR)
5. Systeme wechselwirken
6. Negative Regulatoren werden bei inakt. Phytochrom wirksam
7. Im Kern werden die gleichen TF zur Genaktivierung benutzt



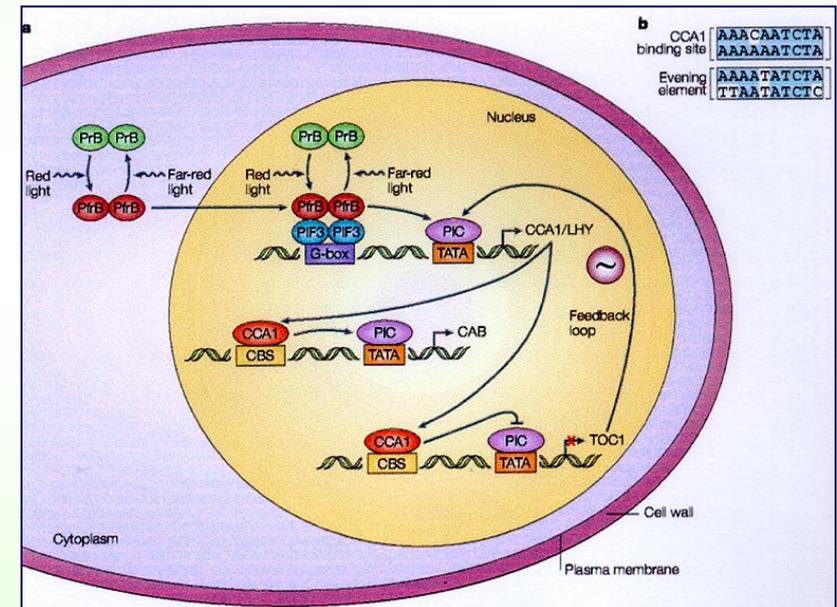
Phytochrom ist mobil – aktive Form im Kern

1. Lokalisierung des Phytochrom durch Gfp-Fusion untersucht
2. Rotlicht-aktiviertes Phytochrom wird in den Kern verlagert
3. Wirkt dort direkt in der Transkriptionskontrolle
4. Inaktives Phytochrom wahrscheinlich dispers im Cytoplasma verteilt



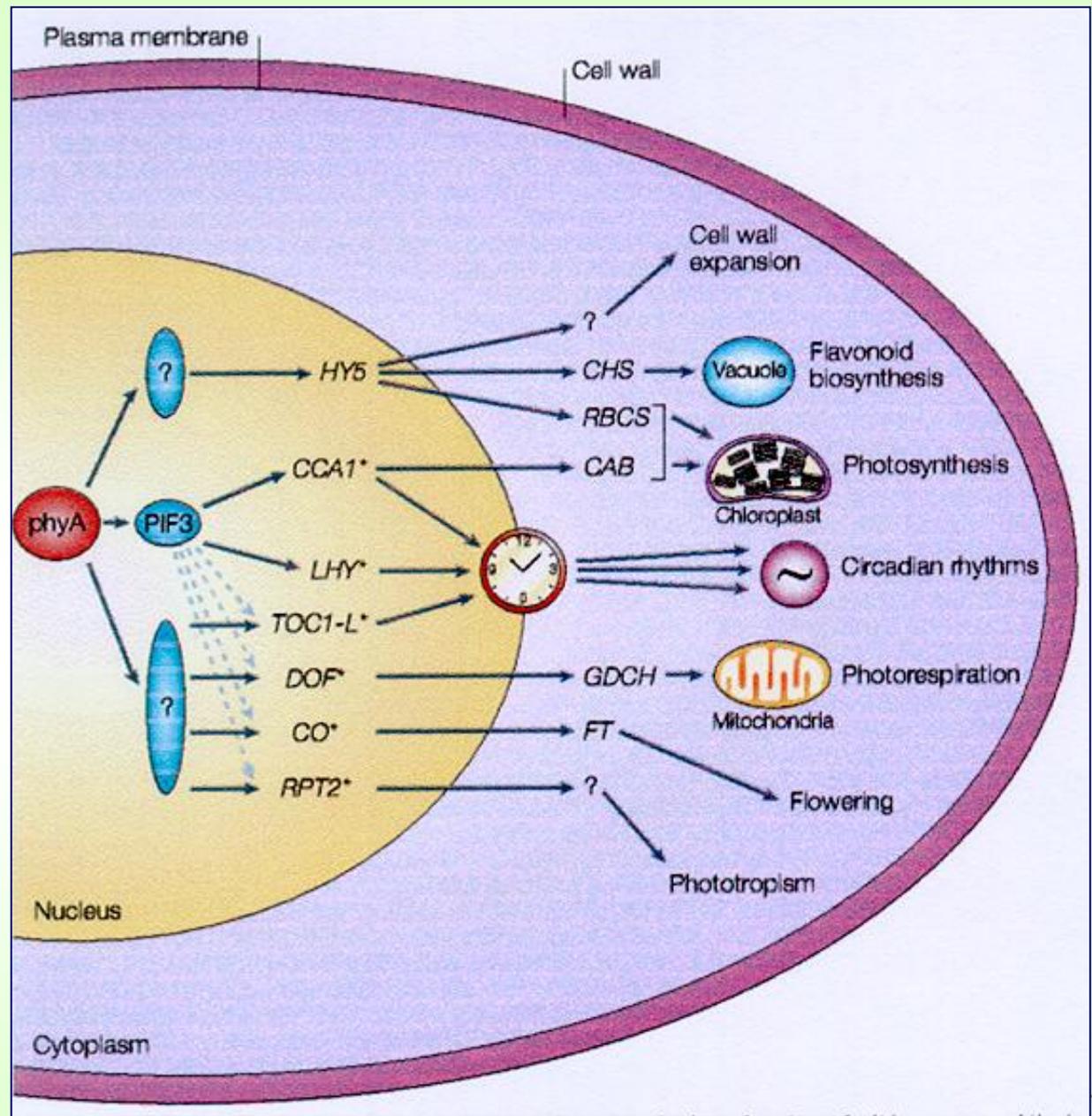
Phytochrom soll direkt an TF binden – TF-Kaskade

1. Aktives Phy wird in den Kern verlagert
2. Interagiert dort mit PIF3, Promotor-gebundener Helix-Loop-Helix TF
3. Aktiviert PIC – (pre-initiation-complex)
4. CCA1 und LHY gemacht, Myb-ähnliche TFs
5. Bei Photomorphogenese und Circadianer Uhr aktiv
6. Promotorelemente für CCA1 und LHY sind bekannt



Phytochrom reguliert viele Prozesse

1. Schnelle und langsame Gene
2. Schnelle Gene sind TF wie PIF3
3. Langsame Gene sind zunächst auch TF und dadurch regulierte Gene



Zusammenfassung – Phytochrom



1. Phytochrome wirken als Lichtsensoren und beeinflussen viele pflanzliche Prozesse
2. Verschiedene Phytochrome beeinflussen die gleichen Prozesse im Zellkern
3. Phytochrome ähneln His-Kinasen
4. Chromophore Gruppe macht eine lichtabhängige cis/trans Isomerie
5. Aktive Phytochrome werden in den Kern verlagert und aktivieren dort eine TF-Kaskade

