

Phytohormone und Signalübertragung 1

Prof. Dr. Martin Hagemann

Einführung in Hormone

Ethylen-Rezeptor und Signalübertragung

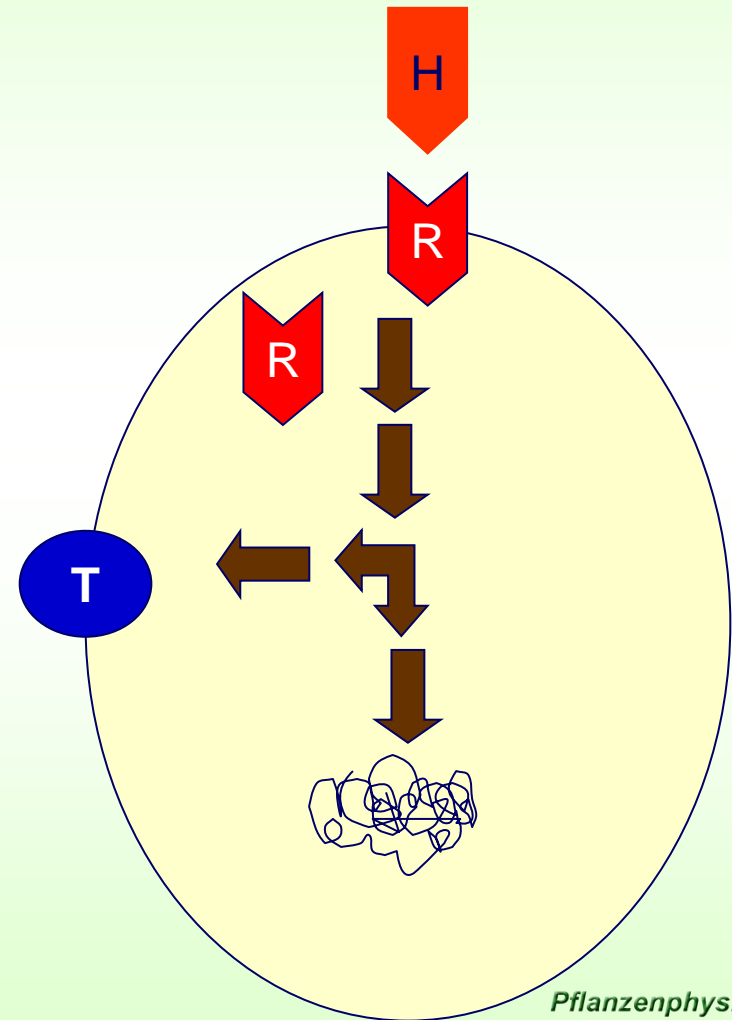
Cytokinin-Signalvermittlung

Brassinosteroid-Rezeptor



Einführung zu Hormonen

1. Chemische Botenstoffe, die in einem Teil des Organismus produziert werden und nach Transport zu kompetenten Zielzellen (mit Rezeptor) eine Wirkung ausüben.
2. Hormone können vorhandene Aktivitäten modulieren sowie die Genexpression beeinflussen.
3. Pflanzliche Hormone haben multiple Wirkungen, die häufig über Wechselwirkungen der einzelnen Hormonklassen vermittelt werden.

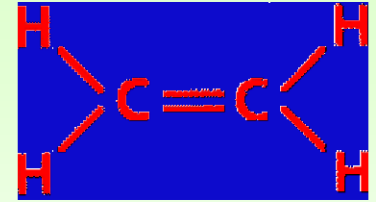


Einführung zu Phytohormonen

1. Vor allem fördernde Hormone: **Auxine**, Gibberelline und **Cytokinine**.
2. Vor allem hemmende Hormone: Abscisine und Ethylen.
3. Weitere Hormon-ähnliche Stoffe: Jasmonsäure, Brassinosteroide.
4. Deutlich schlechter in ihrer Wirkung und Signalvermittlung als tierische Hormone charakterisiert.



Wirkungen von Ethylen



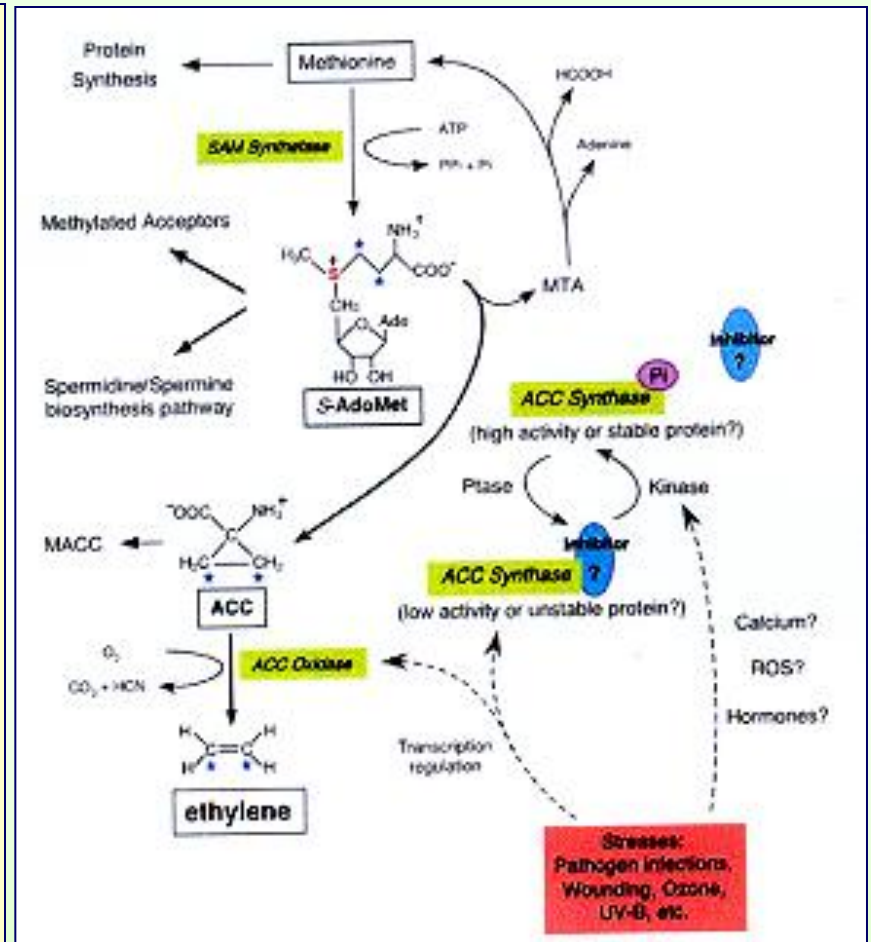
1. Anregung der Fruchtreifung (Äpfel, Bananen, Mango)
 2. Verkürzung der Blütezeit (Schnittblumen)
 3. Induktion der Blütenbildung bei Bromeliaceen
 4. Blattepinastie (Krümmung nach unten)
 5. Förderung des lateralen Dehnungswachstums von Zellen
 6. Induktion von Wurzeln und Wurzelhaaren
 7. Beschleunigung der Blattseneszenz
 8. Beschleunigung des Blatt- und Fruchtabwurfs (Abscission)
- **Sehr komplexe und vielfältige Wirkungen**

→ **Die Wirkung von Ethylen erfolgt oft in Kooperation mit anderen Signalen (Phytochrom, Auxin).**



Ethylenbiosynthese

1. Ausgangsstoff ist Methionin
2. S-Adenosyl-Methionin ist zentraler Metabolit
3. Aminocyclopropan-carbonsäure (ACC) ist lösliche, transportierte Vorstufe
4. Ethylenbiosynthese ist vielfach reguliert
5. Reagiert auf externe (Stress) und interne (Hormone) Signale
6. Derzeit auch sehr populär für „Biofuel“ Synthesen



Arabidopsismutanten ohne Ethylenreaktion Synthese- oder Regulationsmutanten?

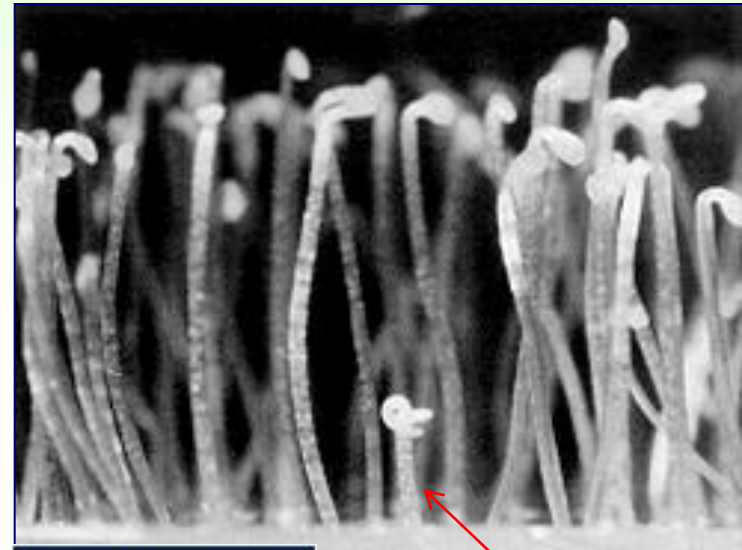
Im Dunkeln gekeimte Samen (etioliert) zeigen die so genannte Dreifachreaktion auf Ethylen:

- a) Gehemmtes Sprosswachstum
- b) Vermehrtes Dickenwachstum
- c) Horizontal wachsendes Epicotyl

Ethylen-insensitive Mutanten und konstitutive Ethylen-Mutanten (siehe Bild) wurden selektiert und führten zur Identifizierung von Proteinen der Ethylensignalwandlung.

Chemische und gezielte Mutagenese

Dunkelkeimung ohne Ethylen



konstitutive Ethylen-Mutante

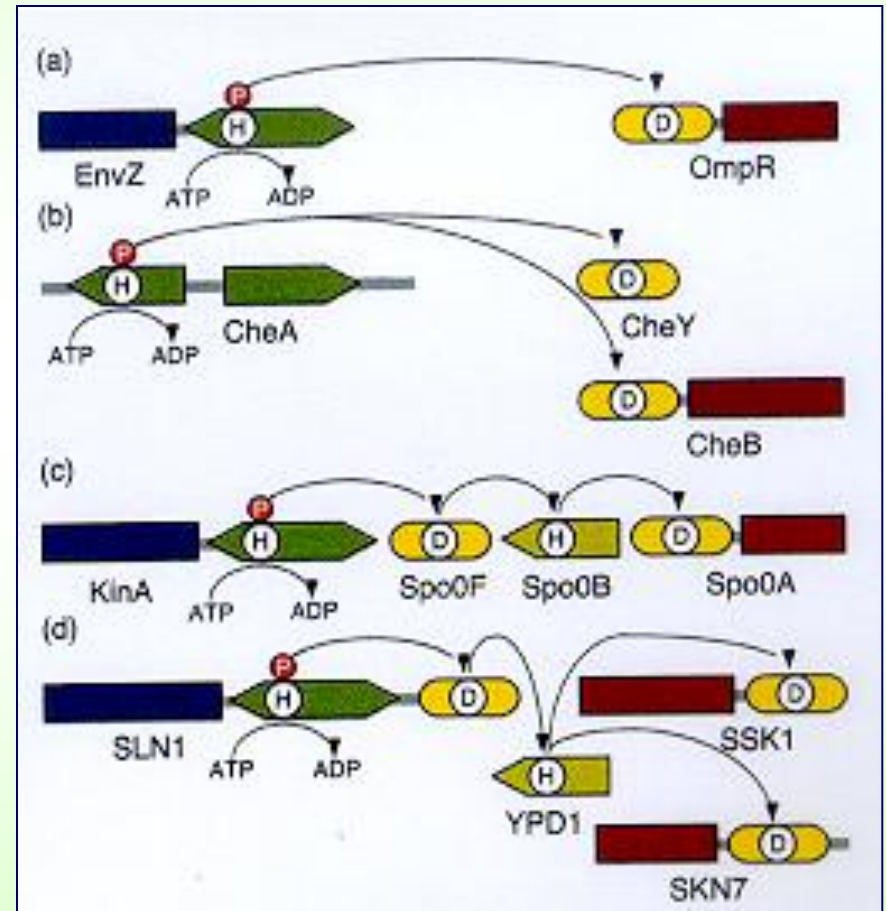
Ethylen-insensitive Mutante ETR1

Dunkelkeimung mit Ethylen



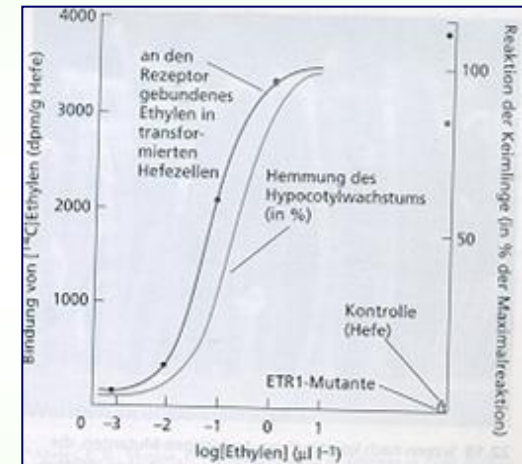
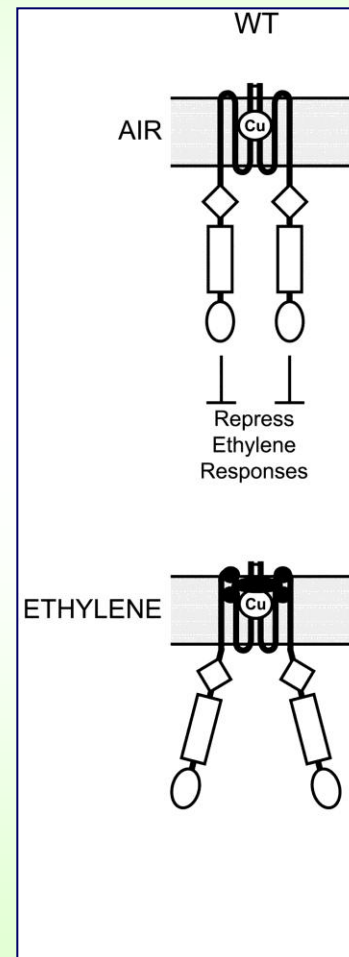
Der Ethylenrezeptor ETR1 ähnelt Histidin-Kinasen bakterieller Zweikomponentensysteme

1. Sensorsysteme können membrangebunden oder löslich sein
2. Histidinkinasen übertragen Phosphorylgruppe auf Response-Regulatoren nach Autophosphorylierung
3. Response-Regulatoren werden an einem Aspartat phosphoryliert.
4. Komplexe Systeme mit multiplen Phosphotransfers (Phosphorelay) sind bekannt
5. Hybridsysteme existieren



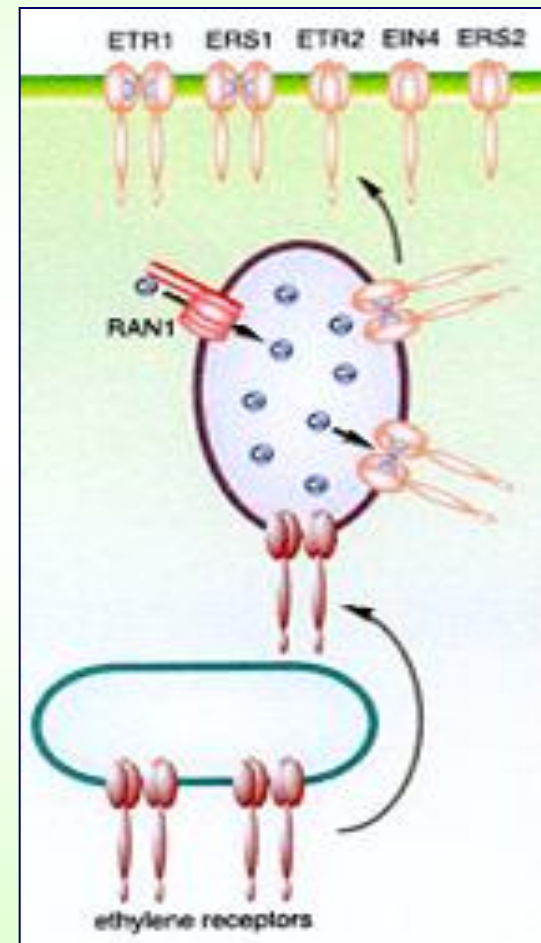
ETR1 ist der erste identifizierte Ethylenrezeptor sowie der erste Rezeptor für ein Pflanzenhormon

1. ETR1 hat 3 hydrophobe Domänen, die der Dimerisierung und Ethylenbindung dienen.
2. Expression von ETR1 in Hefe bewies Vermutung, da Ethylenbindung in Hefe messbar wurde.
3. Die Histidinkinase-Domäne befindet sich im Cytoplasma.
4. ETR1 hat auch eine Receiver-Domäne, d.h. einen fusionierten Response-Regulator.
5. Ethylenbindung inaktiviert Histidinkinase Aktivität
6. Damit wird auch ein negativer Regulator der Ethylen-Antwort nicht mehr abgeschaltet, d.h. eine Mutation führt zu konstitutiven Ethylenmutanten.



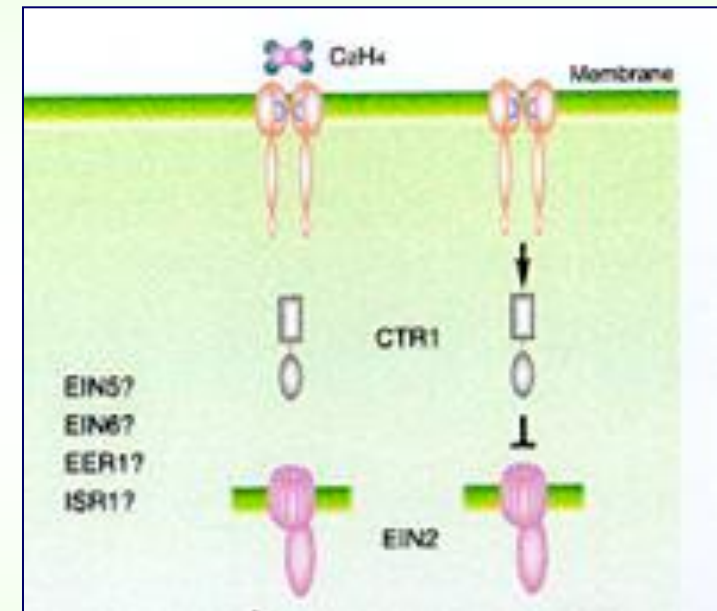
In Arabidopsis existieren mehrere Ethylenrezeptoren

1. 5 Rezeptoren: ETR1, ETR2, ERS1, ERS2, EIN4
2. Nur ETR1, ETR2 und EIN4 haben eine fusionierte Responseregulator-Domäne.
3. ETR1 und ERS1 haben 3 TMH, die der ETR2-Klasse haben 4 TMH.
4. Die ETR2-Klasse hat keine konservierte Histidin-Kinase, sondern eher eine Ser/Thr-Kinase Domäne.
5. Rezeptoren scheinen zu interagieren.
6. Zur Ethylenbindung benötigen die Rezeptoren Kupfer.

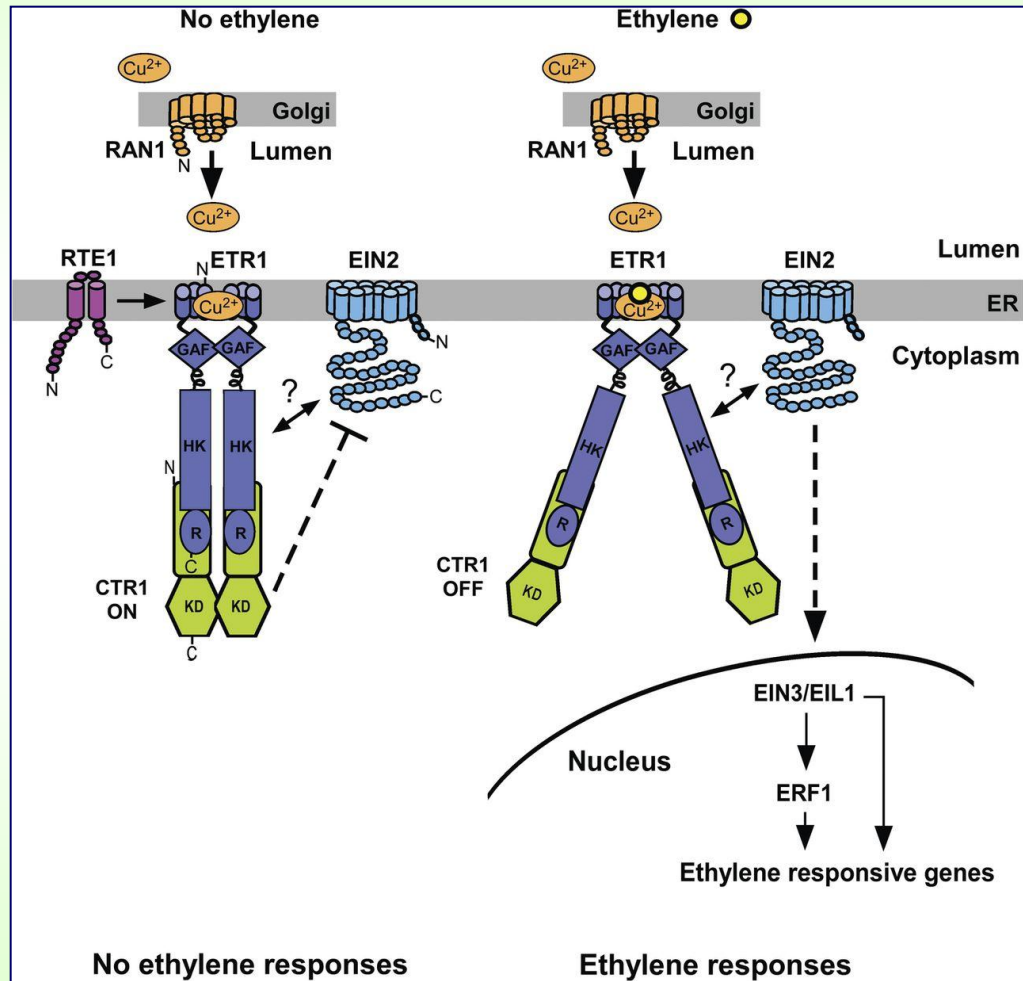


Das Ethylensignal wird u.a. über Phosphorylierung in den Kern transportiert

1. Der Rezeptor interagiert mit CTR1, negativer Regulator der nach Etylenbindung inaktiv ist.
2. CTR1 ist eine Ser/Thr-Kinase der MAPKK-Familie.
3. CTR1 inaktiviert EIN2 direkt oder indirekt.
4. EIN2 ist ein Membranprotein mit 12 TMH und einer Domäne zur Protein/Protein WW.
5. EIN2 sitzt in der ER-Membran und interagiert mit dem Rezeptorkomplex.

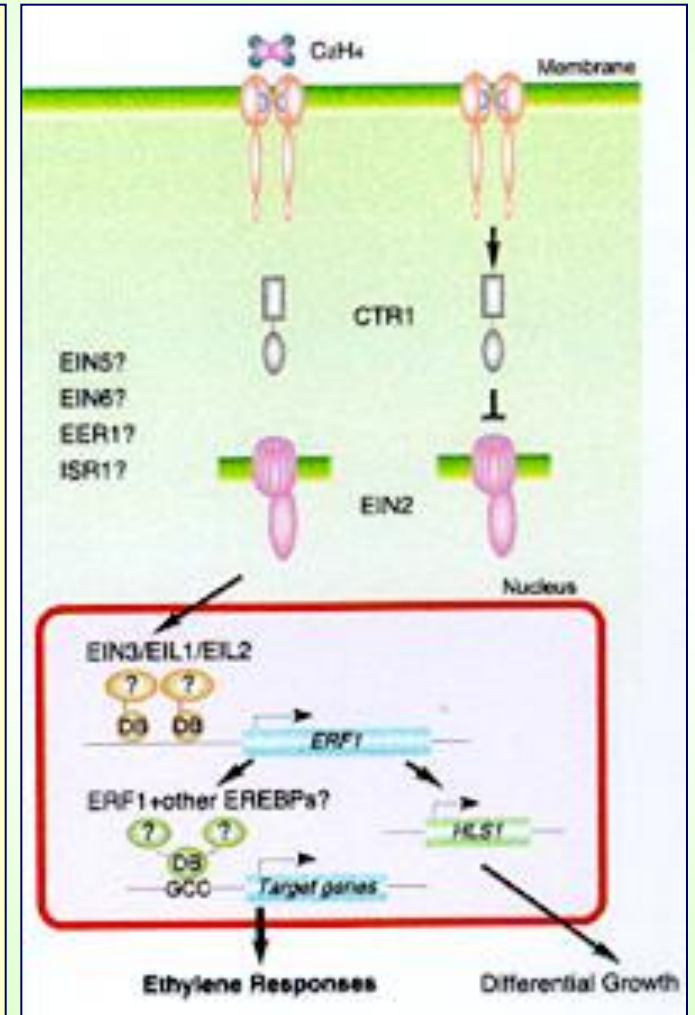


Wechselwirkung zwischen Rezeptor, Ctr1 & EIN2



Das Ethylensignal wird u.a. über Phosphorylierung in den Kern transportiert

1. EIN2 könnte das Signal über die ER-Membran an beteiligte TF weitergeben???
2. In Arabidopsis existieren mehrere Ethylen-spezifische TF.
3. EIN3, EIN3-like (EIL1), EIL2 können einander komplementieren.
4. Unter den frühen, Ethylen-induzierten Genen ist mit ERF1 ein TF für die Aktivierung weiterer Ethylen-regulierter Gene.
5. Diese TF erkennen ein Ethylen-response-element, binden auch die ähnlichen GCC-Boxen für Ethylen- und Pathogenantwort.
6. Weitere Faktoren sind beteiligt.



Pflanzenphysiologie

PUR

Universität Rostock



Das Ethylensignal wird über Phosphorylierung & Proteolyse von EIN2 in den Kern transportiert

Molecular Plant

Ethylene Signaling in Rice and *Arabidopsis*

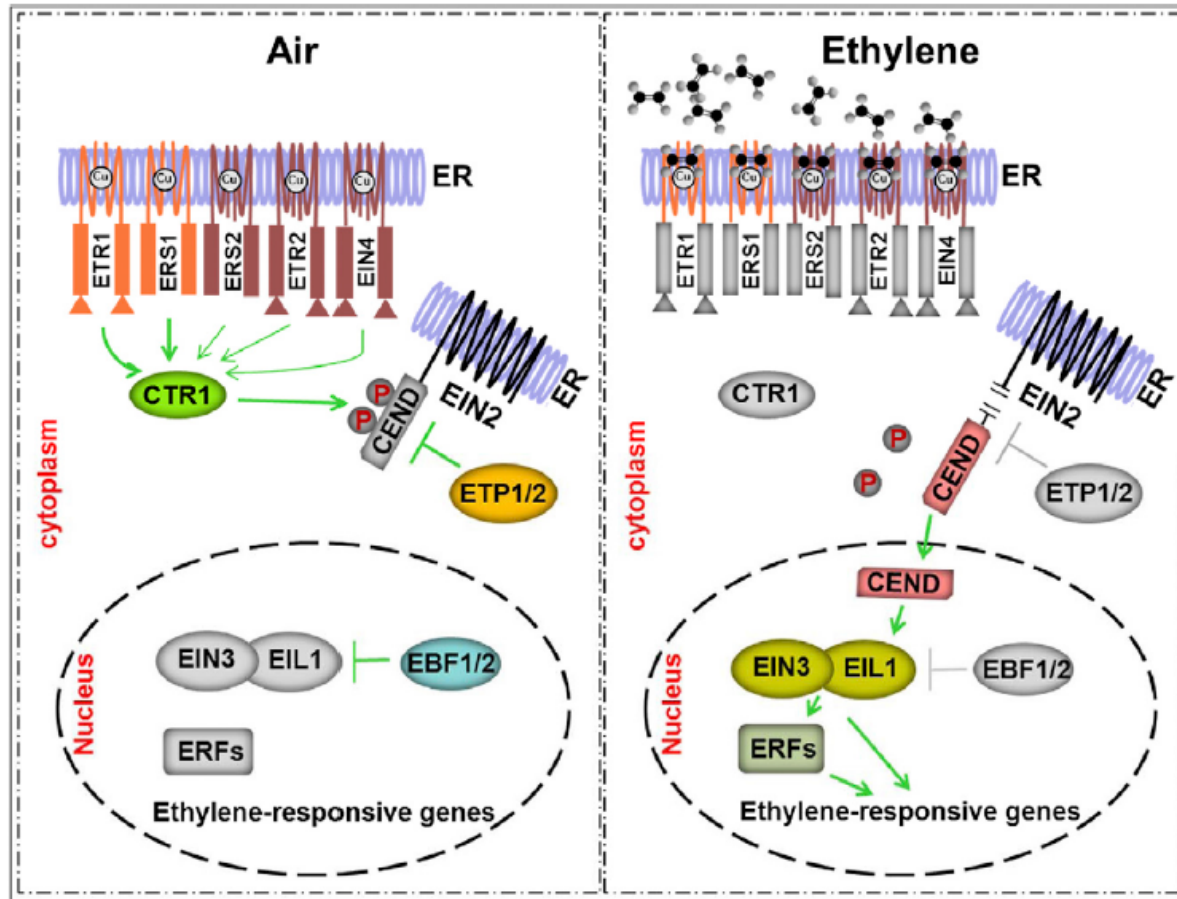


Figure 1. The Model of Ethylene Signaling Pathway in *Arabidopsis*.

Ethylene is perceived in the ER by a family of receptors that show similarity to two-component histidine kinase sensors from bacteria (Chang et al., 1993; Hua et al., 1995, 1998; Sakai et al., 1998). In air, the ethylene level is low. The active receptors interact with the N-terminal region of CTR1 to form a complex (Kieber et al., 1993; Gao et al., 2003; Huang et al., 2003). CTR1 directly phosphorylates the C-terminal domain of EIN2 and then leads to the degradation of EIN2 by F-box proteins EPT1/2 to repress the downstream signaling transduction (Alonso et al., 1999; Qiao et al., 2009; Ju et al., 2012). In the nucleus, EIN3/EIL1 are degraded through ubiquitin-proteasome mediated by F-box proteins EBF1/2 (Chao et al., 1997; Guo and Ecker, 2003; Potuschak et al., 2003; Gagne et al., 2004; An et al., 2010). In the presence of ethylene, ethylene binding leads to the inactivation of ethylene receptors and CTR1, which then results in the dephosphorylation of EIN2 and thus its cleavage. The split EIN2 C-terminal fragment (CEND) transports into the

nucleus and participates in the stabilization and accumulation of EIN3/EIL1 and, consequently, induces transcription of ERF1 and other ethylene-responsive genes (Solano et al., 1998; Ju et al., 2012; Qiao et al., 2012; Wen et al., 2012).

Der Ethylensignalweg interagiert mit vielen anderen Prozessen und ist an der Stressanpassung beteiligt

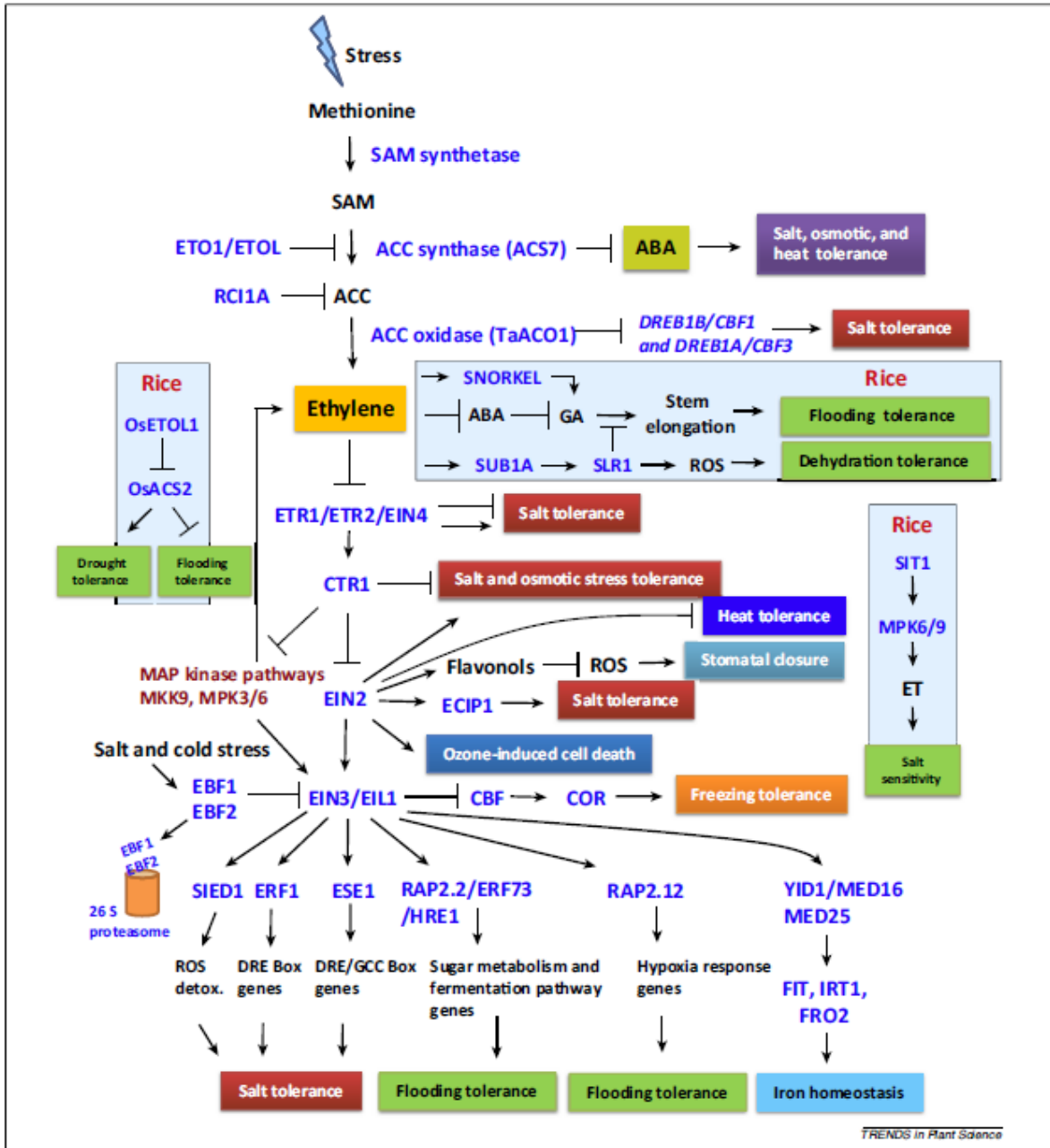


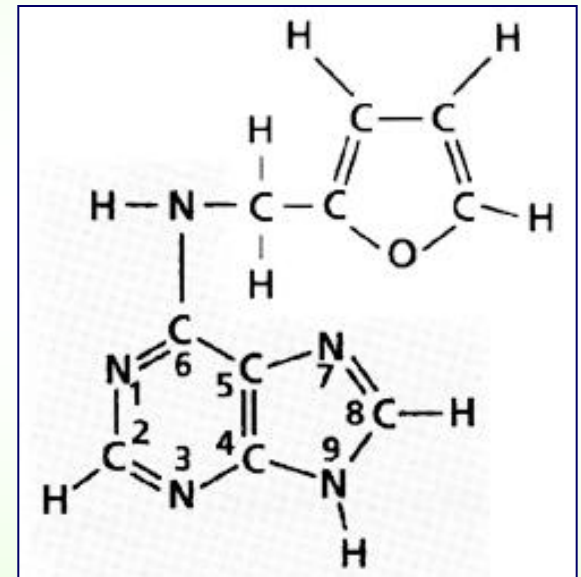
Figure 3. Regulation of plant abiotic stress tolerance by the ethylene (ET) pathway based on findings from *Arabidopsis* and rice. Positive and negative regulatory actions are indicated by arrows and lines with bars, respectively, whereas double-sided arrows indicate physical interactions. See text for additional details. Abbreviations: ABA, ...

Cytokinine-Einführung

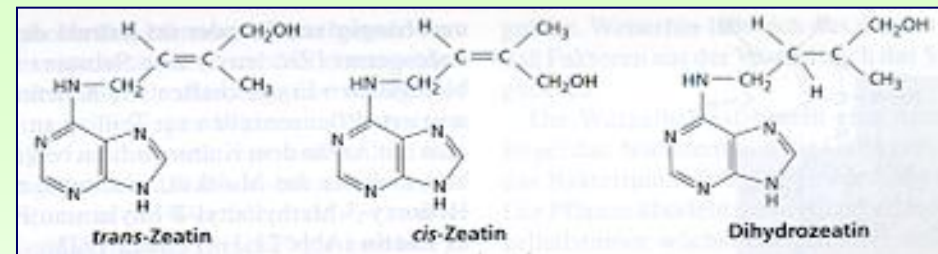
Entdeckung von Kinetin: Stimuliert Cytokinese

- 1. Skoog (Wisconsin, 1940-50)** entdeckte eine stark fördernde Wirkung von autoklavierter Heringssperma-DNS auf die Zellteilung von Tabakzellen.
2. Isolierung und Strukturaufklärung von Kinetin (6-Furfurylaminopurin).
- 3. Kinetin ist kein natürliches Phytohormon!**

Kinetin



Cytokinin-Einführung

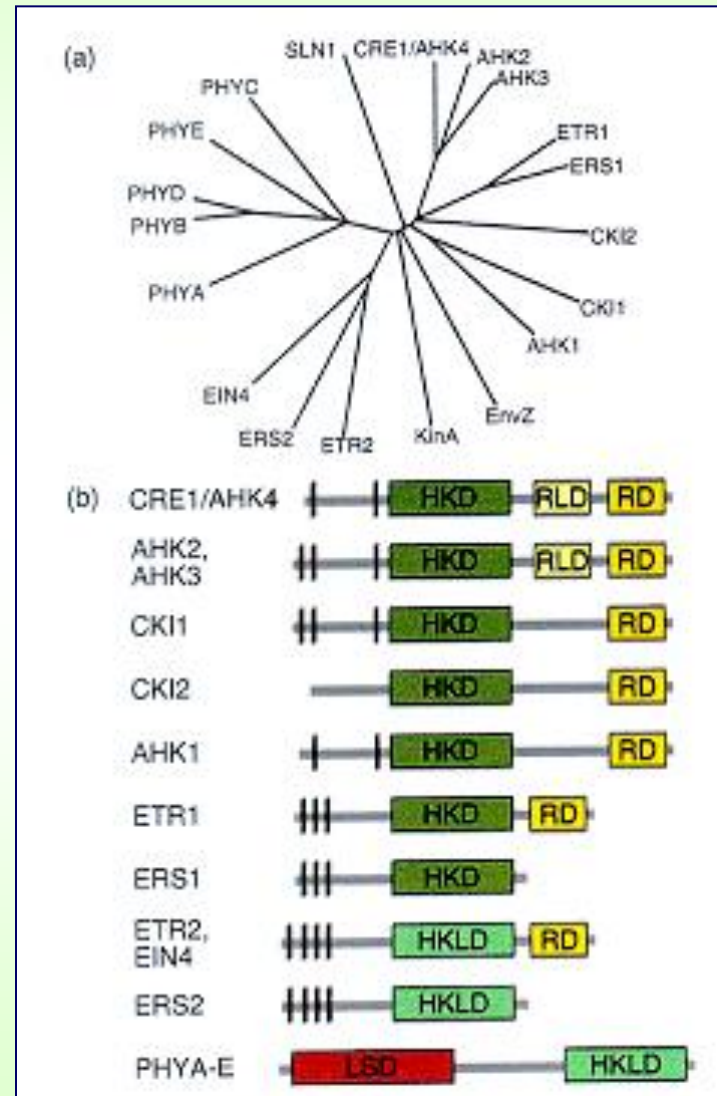


1. Derivate des Adenins, die Biosynthese startet vom AMP
2. Biosynthese vor allem in der Wurzel
3. Cytokinin stimuliert Zellteilung und –Aktivität
4. Cytokinin-überproduzierende Pflanzen:
 - bilden mehr Blattanlagen
 - enthalten mehr Chlorophyll in Blättern
 - bilden Adventiwurzeln auch an unverletzten Blattstielen
 - verzögern die Seneszenz.



Der Cytokinin-Rezeptor CRE1 ähnelt ETR1

1. CRE1 (AHK4) Defekt reduziert Cytokinin-Sensitivität in Arabidopsis.
2. CRE1 hat große Ähnlichkeit zu ETR1 u.a. Histidin-Kinasen.
3. CRE1 ist ein Hybridsensor.
4. Neben CRE1 gibt es wahrscheinlich weitere Cytokinin-Rezeptoren.
5. Expression von CRE1 in Hefe bewies Phosphotransfer und Cytokininbindung.
6. k_m von 4,5 nM gefunden.



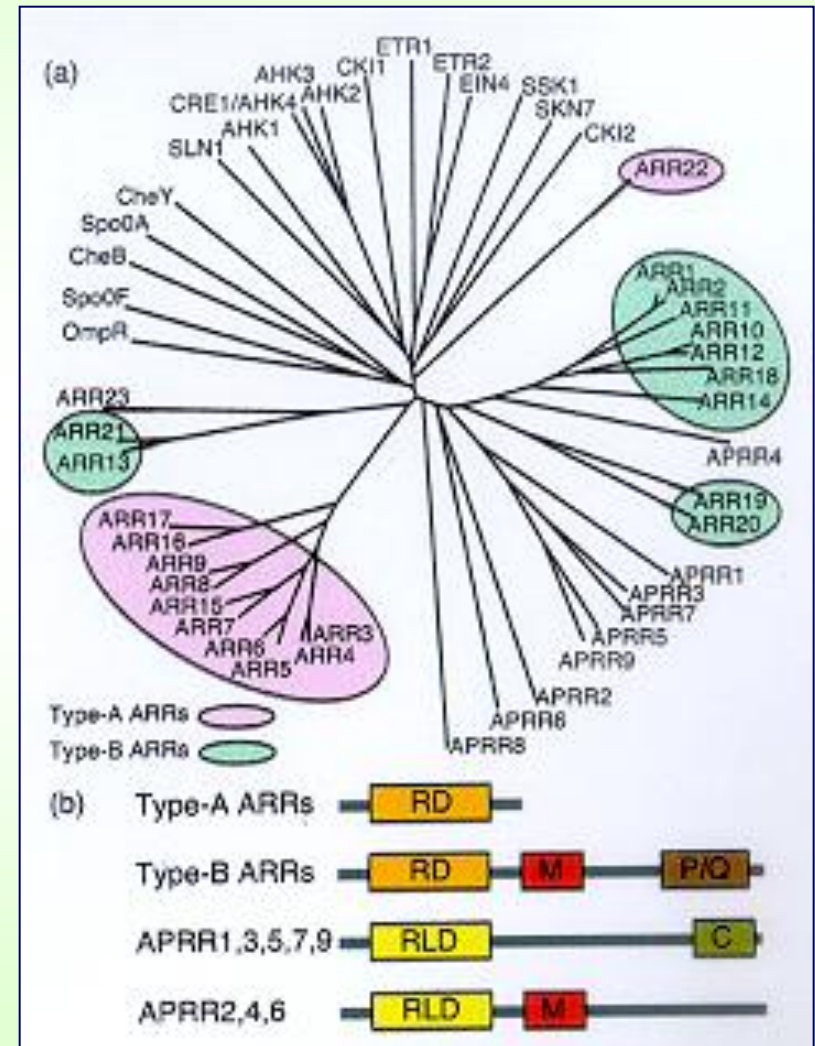
Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from *Arabidopsis*

Tsutomu Inoue*, Masayuki Higuchi*, Yukari Hashimoto*, Motoaki Seki†, Masatomo Kobayashi†, Tomohiko Kato‡, Satoshi Tabata‡, Kazuo Shinozaki† & Tatsuo Kakimoto*



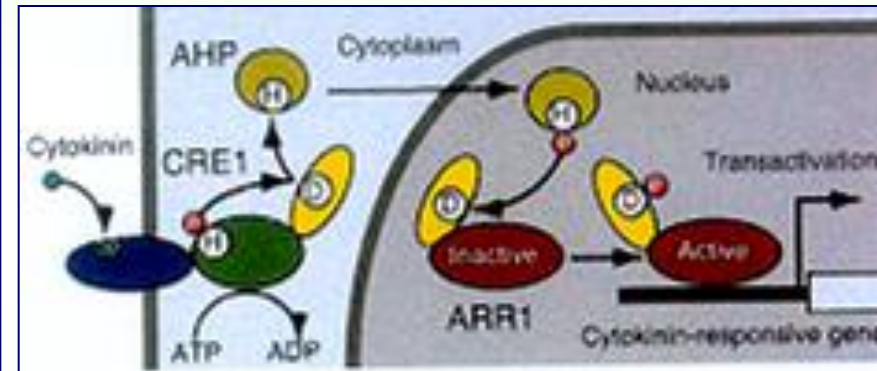
Der Responseregulator ARR1 aktiviert Cytokinin-regulierte Gene

1. ARR1, Arabidopsis-Typ-B Responseregulator aktiviert Cytokinin-ind. Genexpression.
2. Befindet sich im Kern.
3. Defektmutante ist weniger Cytokinin-sensitiv; Überexpression führt zur Cytokinin-Hypersensitivität.
4. ARR1 bindet direkt an Cytokinin-response Element.
5. ARR1-Derivate mit Glucocorticoid(GC)-Bindedomäne aktivieren Cytokinin-induzierte Gene nach GC-Zusatz.



Der Histidin-Phosphotransferase Faktor AHP2 verbindet CRE1 und ARR1

1. AHP2, Arabidopsis-Histidin-Phospho-Transferase interagiert mit ARR1.
2. AHP2 interagiert auch mit CRE1.
3. AHP2-Überexpression führt zur Cytokinin-Hypersensitivität.
4. Weitere AHPs könnten beteiligt sein.

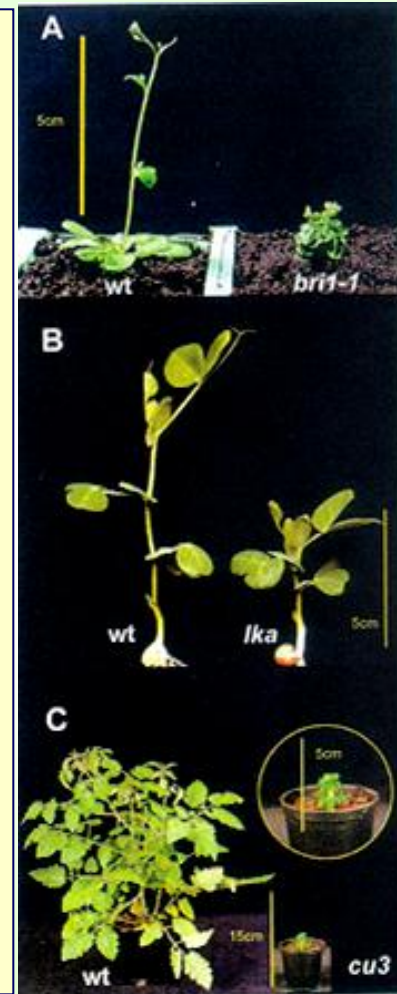
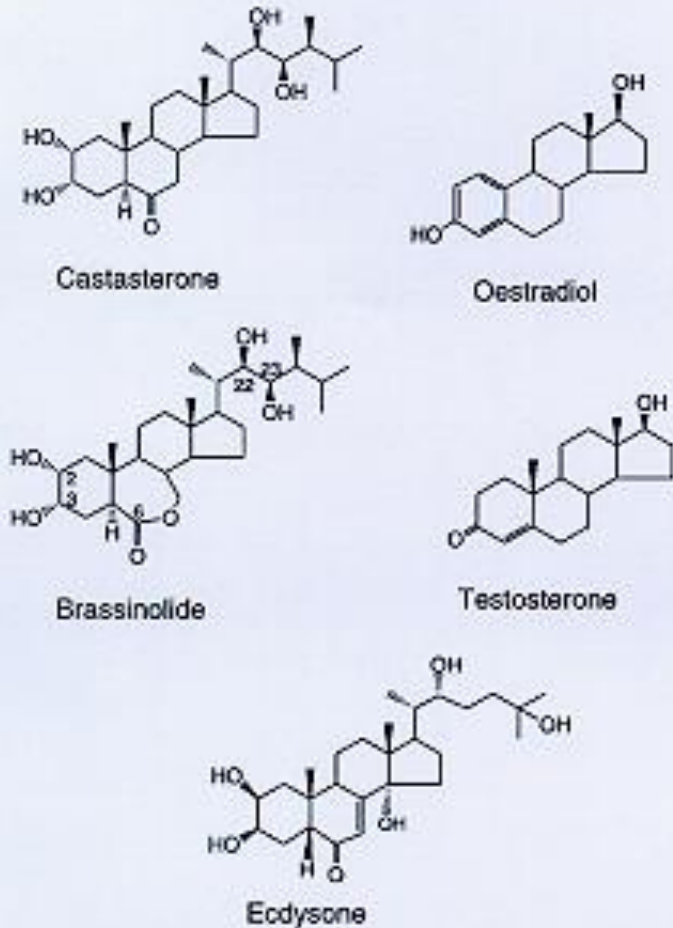


Modell der Cytokinin-Regelkette



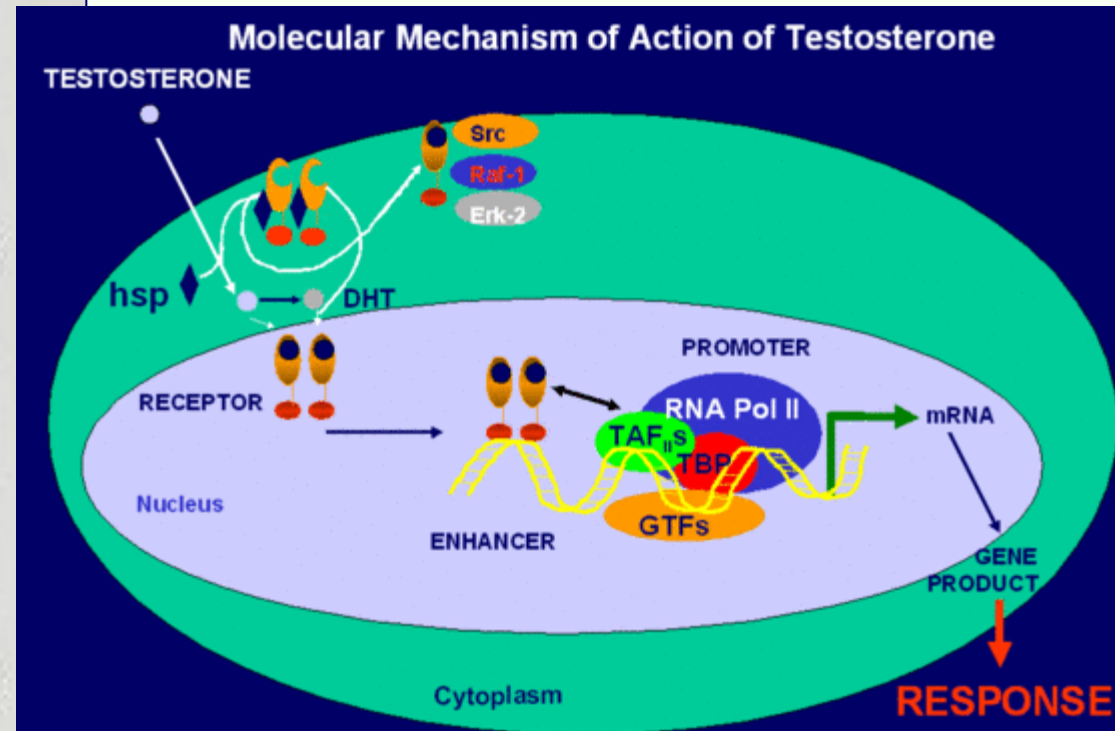
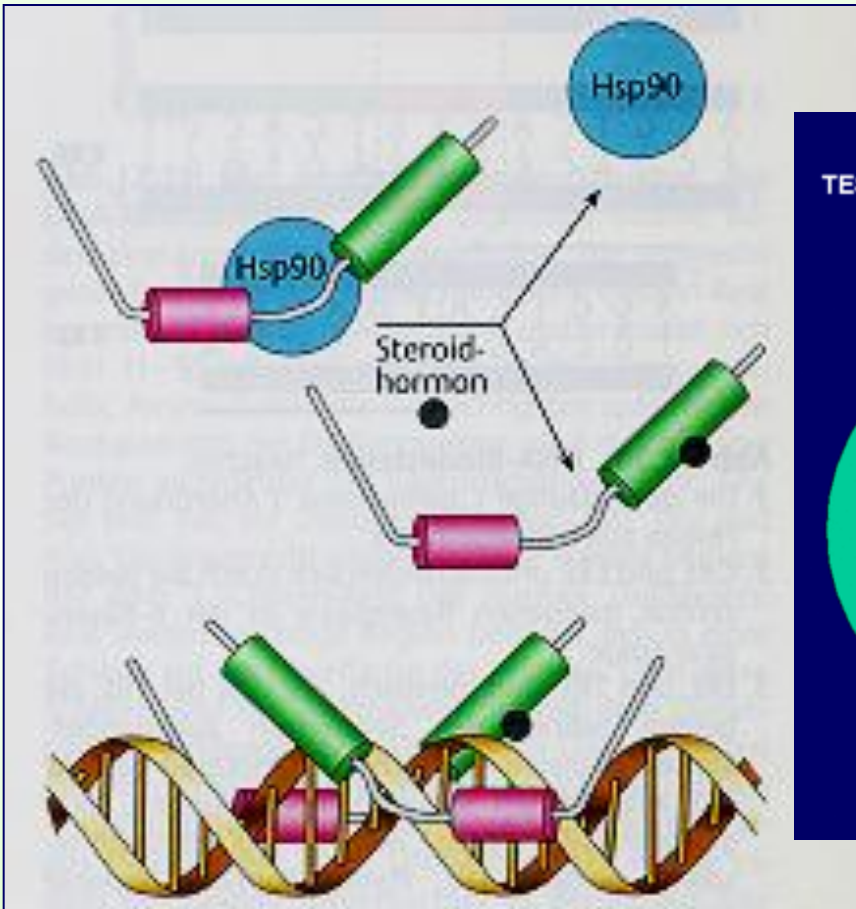
Steroidhormone in Pflanzen

1. Brassinolid ist ein lange bekanntes bioaktives Steroid aus Raps
2. Stimuliert Wachstum und Entwicklung von Pollen
3. Heute sind mehr als 40 natürlich vorkommende Brassinosteroide bekannt
4. Pflanzen mit Defekten in der Steroidsynthese zeigen vermindertes Wachstum



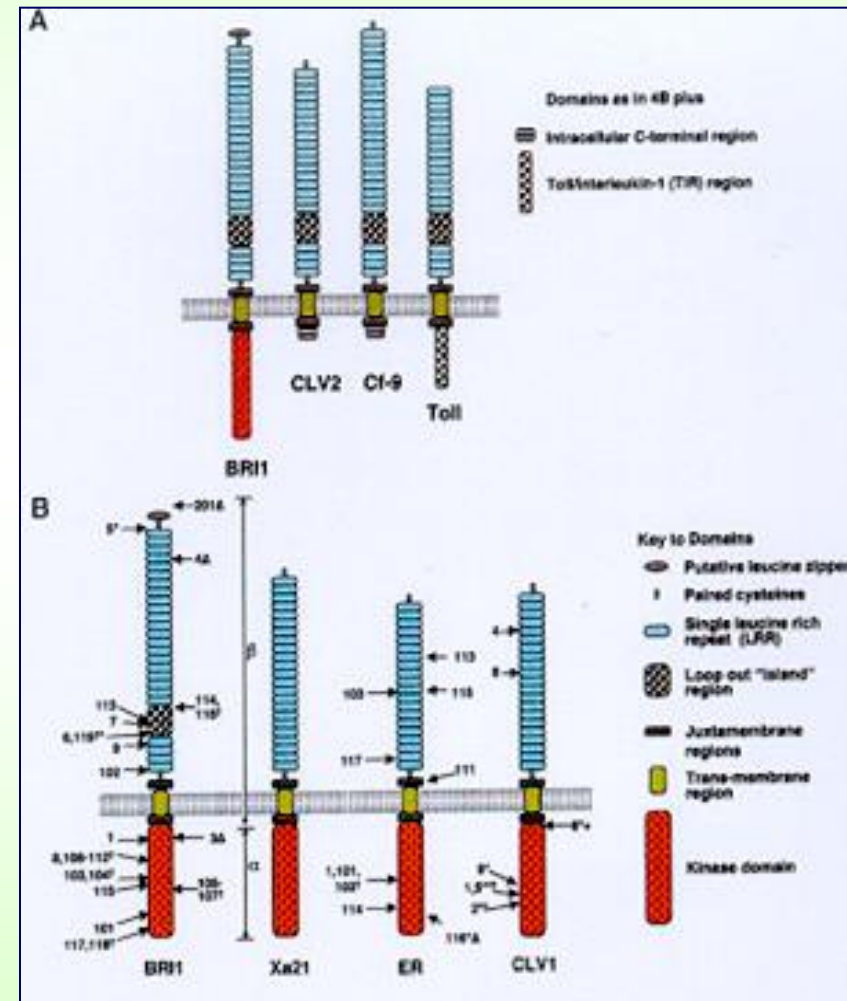
Regulation der Transkription bei Tieren (Eukaryoten) Protein-codierende Gene mit RNAPII

Regulatorproteine - z.B. Steroid-Hormon-Rezeptoren



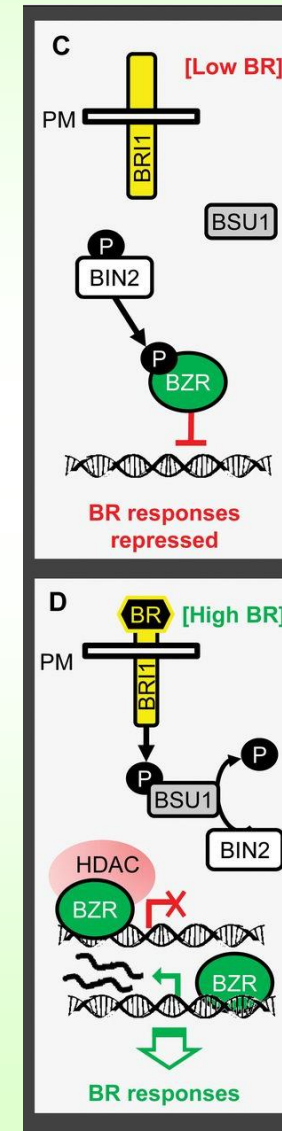
Der Brassinosteroid-Hormonrezeptor BRI1 ist eine Rezeptor-Kinase mit Ser/Thr-Kinase Spezifität

1. BRI1 wurde in einer Brassinolid-insensitiven Arabidopsis-Mutante gefunden.
2. Ähnelt einer Rezeptor-Kinase.
3. LRR-Domäne ist in Protein/Protein WW involviert, 24 AS-lange Leu-reiche Repeats charakteristisch
4. Arabidopsis hat 170 Gene, die für LRR-Proteine kodieren
5. Die Kinase-Domäne im Cytoplasma ist nicht Tyr sondern Ser/Thr-spezifisch.
6. BRI1 kann Brassinolid binden.
7. Brassinolidbindung stimuliert Autophosphorylierung.



Der Brassinosteroid-Hormonrezeptor BRI1 ist eine Rezeptor-Kinase mit Ser/Thr-Kinase Spezifität

1. Ohne Steroid ist der Signalweg und der Rezeptor BRI1 inaktiv
2. Dann ist die downstream Kinase BIN2 aktiv und inhibiert Brassinolid-abhängigen TF und Genexpression.
3. Brassinolidsignale und Bindung an BRI1 stimuliert Autophosphorylierung, dann wird die Phosphatase BSU1 aktiv und inhibiert den negativen Regulator BIN2.
4. BZR und ähnliche TF aktivieren dann zusammen mit Coaktivatoren Gene.



Zusammenfassung – Phytohormonsignalketten 1



1. Die Ethylenrezeptoren z.B. ETR1 ähneln Histidin-Kinasen bakterieller Zweikomponentensysteme.
2. Das Ethylensignal wird u.a. über Phosphorylierung in den Kern transportiert.
3. Der Cytokinin-Rezeptor CRE1 ähnelt ETR1.
4. Der Responseregulator ARR1 aktiviert Cytokinin-regulierte Gene.
5. BRI1 ist der Steroidhormon Rezeptor in Arabidopsis und dieser ähnelt einer Rezeptor-Kinase

