

ZELLBIOLOGIE

Temperaturabhängige Regulation der Blütezeit

Für Pflanzen ist es entscheidend, den richtigen Zeitpunkt zum Blühen zu finden. Viele Pflanzen blühen nicht im Herbst, sondern beginnen erst im Frühjahr zu blühen, wenn die Temperaturen nach einem kalten Winter wieder ansteigen. Wie sich kurzfristige Temperaturschwankungen im Herbst auf die Hemmung des Blühvorgangs auswirken, ist bisher nicht gut untersucht. Eine aktuelle Arbeit zeigt, dass eine temperaturabhängige Phasentrennung von Blühregulatoren in der Pflanzenzelle dafür sorgt, dass die Pflanzen die Jahreszeiten korrekt wahrnehmen.

Pflanzen müssen den Übergang vom vegetativen Wachstum zum Blühen sorgfältig steuern, um sich erfolgreich fortpflanzen zu können [1–3]. Viele Pflanzen überwintern und blühen erst im nächsten Frühjahr. Eine lange Kälteperiode signalisiert, dass am Ende des Winters die Zeit zum Blühen gekommen ist. Die molekularen Vorgänge, die bei dieser sogenannten Vernalisierung ablaufen, sind bei der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana*, der Acker-schmalwand, gut untersucht.

Im Zentrum steht der Transkriptionsfaktor *FLOWERING LOCUS C (FLC)*, der den Übergang zum Blühen verhindert und somit als Repressor fungiert. Im Frühherbst sorgt ein Transkriptionsaktivator, *FRIGIDA (FRI)* für hohe *FLC*-Expression. Die Bindung von *FRI* zusammen mit einer Reihe von weiteren Proteinen an den Promotor des *FLC*-Gens führt zu einer Modifikation von Histonen: Im Histon H3 werden die Lysine 4 und 36 mit drei Methylgruppen versehen (H3 K4 m3, H3 K36 me3) – ein Zeichen, dass das Gen aktiv bleiben soll. Die kalten Temperaturen im Spätherbst und Winter sorgen dann dafür, dass das *FLC*-Gen nach und nach abgeschaltet wird. Dabei werden die Trimethylierungen von H3 K4 und H3 K36 wieder entfernt. Unter Laborbedingungen mit einer konstant tiefen Temperatur ist *FLC* innerhalb von zwei bis drei Wochen abgeschaltet [4–6]. Unter Feldbedingun-

gen mit natürlichen Temperaturschwankungen im Herbst dauert dieser Prozess Monate [7, 8]. Deshalb wurde untersucht, wie Temperaturschwankungen die Aktivität von *FRI* beeinflussen [9].

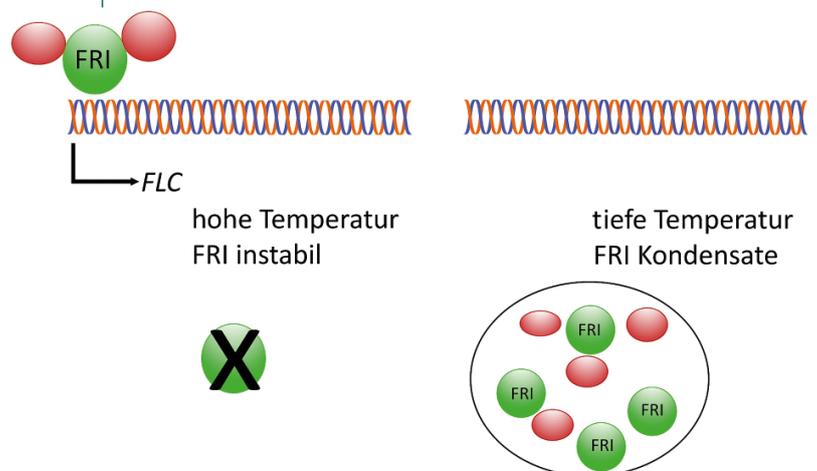
Um das *FRI*-Protein in der Zelle verfolgen zu können, wurden transgene Pflanzen hergestellt, die *FRI* in Fusion mit dem GREEN FLUORESCENT PROTEIN (GFP) exprimieren. Es zeigte sich, dass das *FRI*-GFP-Fusionsprotein in der Kälte stabiler ist und nach zwei Wochen akkumuliert – zu einem Zeitpunkt, an dem

die Aktivierung der *FLC*-Expression durch *FRI* eigentlich abnehmen sollte. Ferner trat *FRI*-GFP in Kondensaten im Zellkern auf [9]. Solche Kondensate entstehen durch Phasentrennung (Entmischung) von Proteinen, so dass diese in bestimmten Bereichen in der Zelle angereichert werden und dort verschiedene Aufgaben ausüben können [10]. Die Entmischung von Proteinen wird oft durch Regionen des Proteins gefördert, die keine definierte dreidimensionale Struktur aufweisen, sogenannten „intrinsically disordered regions“. Tatsächlich besitzt *FRI* eine solche Region. Wenn diese aus dem *FRI*-GFP-Fusionsprotein entfernt wurde, kam es nicht mehr zur Phasentrennung.

Phasentrennung von Transkriptionsfaktoren

Durch „single-molecule RNA fluorescence in situ hybridization“, kurz smRNA FISH, konnte gezeigt werden, dass die *FRI*-GFP-Kondensate sich nicht an der Stelle befanden, an der das *FLC*-Gen transkribiert wird [9]. Da *FRI* für die Aktivierung des *FLC*-Gens mit dem *FLC*-Promotor assoziiert, weisen diese Befunde dar-

ABB. 1 | TEMPERATURABHÄNGIGE KONDENSATBILDUNG VON FRI



Bei hohen Temperaturen im Herbst bindet *FRI* (grüner Kreis) in einem Komplex mit anderen Proteinen (rote Kreise), die an der transkriptionellen Regulation beteiligt sind, an den Promotor des *FLC*-Gens (rot-blaue Doppelhelix) und aktiviert die *FLC*-Transkription (Pfeil). Eine hohe Konzentration an *FLC*-Protein inhibiert den Übergang zum Blühen. Bei tieferen Temperaturen wird das *FRI*-Protein stabilisiert und in Kondensate sequestriert, so dass die Bindung an den *FLC*-Promotor und somit die transkriptionelle Aktivierung aufhört. Modifiziert nach [9].

auf hin, dass die FRI-GFP-Kondensate nicht mit der Aktivierung des *FLC*-Gens, sondern mit dem Abschalten der *FLC*-Transkription zusammenhängen. In anderen Worten: FRI wird durch die Phasentrennung bei tiefen Temperaturen von *FLC* ferngehalten. Es konnte gezeigt werden, dass die *COOLAIR*-RNA, die auf dem Gegenstrang des *FLC*-Gens liegt und eine wichtige Rolle bei der *FLC*-Regulation spielt, ebenfalls in den Kondensaten zu finden ist.

Das Abschalten der *FLC*-Transkription beginnt im Herbst, wenn es zu größeren Temperaturschwankungen kommen kann. Es ist bekannt, dass höhere Temperaturen im Herbst das Abschalten von *FLC* verzögern [7, 8]. Nun wurde beobachtet, dass die FRI-GFP-Kondensate, die sich in der Kälte ausbilden, ein paar Stunden nachdem *Arabidopsis*-Pflanzen wärmeren Temperaturen ausgesetzt worden waren, verschwanden. Brachte man die Pflanzen nach dieser kurzzeitigen Wärmeexposition zurück in die Kälte, bildeten sich

die Kondensate wieder aus [9]. Die temperaturabhängige Phasentrennung von FRI, assoziierten Proteinen und *COOLAIR* scheint also dazu beizutragen, die Aktivierung von *FLC* und FRI bei natürlichen Temperaturschwankungen zu kontrollieren (Abbildung 1): In der Kälte wird FRI durch die Ausbildung von Kondensaten mit Hilfe der *COOLAIR*-RNA von *FLC* entfernt und somit die transkriptionelle Aktivierung reduziert. Bei wärmeren Temperaturen wird FRI hingegen aus den Kondensaten freigesetzt, so dass es mit dem *FLC*-Promotor interagieren und die Transkription steigern kann. Damit wird verhindert, dass eine kurze Wärmeperiode als Frühlingstemperatur missinterpretiert wird und die Blüte beim Einbruch des Winters ausgelöst wird.

Diese Ergebnisse sind besonders relevant, da im Zuge des Klimawandels das Auftreten von extremeren Temperaturschwankungen zu erwarten ist. Die Aufklärung molekularer Mechanismen, wie Pflanzen sich

davor schützen, dass solche Unregelmäßigkeiten die saisonale Blühregulation durcheinanderbringen, sind deshalb von großem Interesse.

Literatur

- [1] F. Andres, G. Coupland (2012). *Nature Reviews Genetics* 13, 627–639.
- [2] D.-H. Kim et al. (2009). *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 25, 277–299.
- [3] M. Johansson, D. Staiger (2015). *Journal of Experimental Botany* 66, 719–730.
- [4] T. Csorba et al. (2014). *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, 16160–16165.
- [5] H. Yang et al. (2014). *Current Biology* 24, 1793–1797.
- [6] S. Swiezewski et al. (2009). *Nature* 462, 799–802.
- [7] J. Hepworth et al. (2018). *Nature Communications* 9, 639.
- [8] R. L. Antoniou-Kourouniotti et al. (2018). *Cell Systems* 7, 643–655.e9.
- [9] P. Zhu et al. (2021). *Nature* 599, 657–661.
- [10] S. Boeynaems et al. (2018). *Trends in Cell Biology* 28, 420–435.

Dorothee Staiger,
Lehrstuhl für RNA Biologie und
Molekulare Physiologie, Fakultät
für Biologie, Universität Bielefeld,
Dorothee.staiger@uni-bielefeld.de

TAXONOMIE

Habe ich eine neue Spezies entdeckt?

Der Traum von der Entdeckung einer neuen Art ist oft der erste Funke vom flammenden Wunsche Biologe zu werden. Im Studium lernt man, sich mit wissenschaftlichen Methoden neue Räume, Habitate und auch Spezies zu erschließen. Besonders in der Mikrobiologie hat man nicht selten eine neue Spezies in den Händen und steht damit vor Fragen, die im Studium selten oder nie adressiert werden. Was macht man mit einer neuen Art und wie meldet man diese offiziell an, um seine Entdeckung angemessen mit der wissenschaftlichen Gemeinschaft zu teilen? Wir wollen einen möglichen Weg von der Kolonie auf der Agarplatte bis zur offiziellen Anerkennung einer neuen Spezies aufzeigen.

Ob man wirklich eine neue Spezies entdeckt hat oder nicht, lässt sich am schnellsten mit Hilfe der 16S rRNA-Sequenzierung abschätzen. Das 16S rRNA-Gen kodiert für eine ribosomale RNA, welche zusammen mit ribosomalen Proteinen das Ribosom bildet und so die Proteinsynthese ermöglicht. Durch diese essenzielle Funktion ist das 16S rRNA-Gen uni-

versell in allen Prokaryoten konserviert und ein idealer phylogenetischer Marker. Um die 16S rRNA-Sequenz eines neuen Isolats bestimmen zu können, sollte man dieses mittels PCR amplifizieren. Die Primer 27F (5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) und 1492R (5'TACGGYTACCTTGT-TACGACTT) sind hierfür oft eine gute Wahl, wobei es auch Alternati-

ven gibt [1]. Die 16S rRNA-Gen-Amplifikation sollte mittels Sanger-Technologie sequenziert werden und die gewonnene Sequenz gegen eine 16S rRNA-Gen-Datenbank abgeglichen werden. Dafür eignet sich der BLAST Web-Service von NCBI sehr gut. Als Datenbank sollte man bei BLASTn die „rRNA/ITS databases“ auswählen [2]. Eine mögliche Alternative ist die EzBioCloud-16S-Datenbank [3]. Zeigt das Ergebnis eine Sequenzidentität von 98,7 Prozent oder weniger zu einer bekannten Sequenz an, so ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass es sich um eine neue Spezies handelt [4]. Auf Grundlage der 16S rRNA-Gen-Sequenz kann bereits ein phylogenetischer Baum erstellt werden. Hierfür benötigt man eine „Outgroup“, welche als Vergleichspunkt für die „Ingroup“ verwendet wird und so die Verwurzelung der Phylogenie ermöglicht. Aber selbst wenn die Se-