

Überblick

- Wie kommt ein Fladianer nach Norwegen?
- Was kennzeichnet circadiane Rhythmen?
Wie wurden sie entdeckt? Wo finden wir sie?
- Welche molekularen Prozesse finden bei der circadianen Uhr statt?
- Der rote Brot-Schimmelpilz *Neurospora crassa* als Modellorganismus im Studium von circadianen Rhythmen.

Stavanger

(100 000 Einwohner)



Wie kommt ein Fladianer nach Norwegen?

- 1969-1971: kam nach Mittlerer Reife an das Chemische Institut Dr. Flad (LG XX).
- 1971-1973: Technische Oberschule Stuttgart (1972: Frau in England getroffen!)
- 1973-1974: Wehr- und Zivildienst.
- 1975-1984: Studium der Chemie und 4 Jahre wiss. Assistent an der Uni Oslo. Erfahrung als CTA war sehr hilfreich!
- seit 1984: Uni Stavanger (Professor für Physikalische Chemie)

Historische Einführung.
Eigenschaften der circadianen Uhr.
Beispiele.



Was sind circadiane Rhythmen?

Der Name *circadian* ist hergeleitet aus dem Lateinischen **circa** (ungefähr) und **dies** (Tag).

Der Name soll darauf hindeuten, daß circadiane Rhythmen eine Periodenlänge von ungefähr 24 Stunden haben wenn sie als *freilaufende Rhythmen* (in Dauerdunkel oder Dauerlicht) auftreten.

**400 vor Christus:
Androsthene beobachtet das "Schlafen" bei Pflanzen**



Tamarindus indica



Tag

Nacht

**Der französische Astronom De Mairan findet 1729
Blattbewegungen im Dauerdunkel**



Credit: National Library of Medicine



Blätter offen
(Tagstellung)



Blätter geschlossen
(Nachtstellung)

Mimosa pudica

Hamburgisches
Magazin,
 oder
 gesammelte Schriften,
 zum
 Unterricht und Vergnügen,
 aus der Naturforschung
 und den
 angenehmen Wissenschaften überhaupt.



Des ersten Bandes erstes Stück.

Hamburg, bey G. C. G. G. und in Leipzig
 bey A. H. Holtz, 1748.



IV.

Von dem

Schläfe der Pflanzen.

Die besondere Eigenschaft verschiedener Pflanzen, welche vom Herrn Archiater Linnäus, und andern Kräuterkennern der Schlaf der Pflanzen genannt wird, hat jederzeit die Aufmerksamkeit aller Naturkundiger auf sich gezogen. Unter dieser Benennung versteht man diejenige Eigenschaft der Pflanzen, da verschiedene derselben die Nacht durch eine solche Veränderung äußern, wodurch ihre Blätter eine ganz andere Lage bekommen, als diejenige ist, welche wir des Tages über an ihnen wahrnehmen. Es ist nämlich eine bekante Erfahrung, daß bey verschiedenen Pflanzen gegen Abend und die Nacht durch, die vorher ausgebreiteten Blätter sich gegen einander neigen und zusammen legen, oder auch sonst auf eine andere Weise ihre des Tages über gehobte Gestalt und Lage verändern, so daß einige, die vorher flach ausgebreitet waren, sich nun in die Höhe richten, und gegen den Stamm oder Ast sich neigen; andere hingegen nun vielmehr unter sich hängen. Die meisten Pflanzen, bey welchen man einen dergleichen Schlaf bemerket, haben zusammengelegte Blätter, da an einem gemeinschaftlichen Stiele viel Blättchen hängen; doch äußert

Linné's Blumenuhr



CARL von LINNÉ
 (1707-1778)

QuickTime™ and a Sorenson Video decompressor are needed to see this picture.

"Tigerrachen" (*Faucaria tigrina*, Südafrika, Blüten offen ~ 17 Uhr, geschlossen ~ 20 Uhr)

Die circadiane Uhr

Circadiane Rhythmen **haben Eigenschaften einer Uhr** und spielen in der Regulierung von **tagesperiodischen** Vorgängen wie Schlaf, Öffnung von Blüten, Sporenbildung bei Schimmelpilzen, und **jahresperiodischen** Vorgängen wie Blütenentwicklung, Winterschlaf, Reproduktion, Vogelzug, eine entscheidende Rolle.



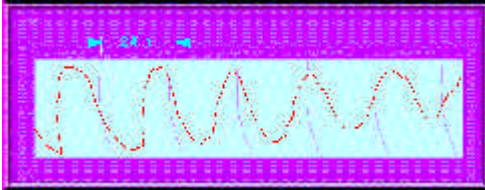


Eigenschaften von circadianen Rhythmen

Circadiane Rhythmen entstehen **endogen** in der einzelnen Zelle und **sind nicht das Resultat eines Licht-Dunkel Wechsels**.

Man kann sie unter konstanten Bedingungen (Licht oder Dunkel) sehen mit einer Periodenlänge von ca. 24 Stunden.

Circadiane Blattbewegungen



Phaseolus coccineus. Typischer Zeitverlauf von Blattbewegungen bei einer Bohnenpflanze unter konstantem Schwachlicht. Die Periodenlänge ist ca. 28 Stunden (E. BÜNNING and M. TAZAWA, 1957).

QuickTime™ and a Sorenson Video decompressor are needed to see this picture.

Zeitrafferaufnahme der Blattbewegungen bei einer Bohnenpflanze (*Phaseolus*)

von Roger P. Hangarter, Indiana University.



Eigenschaften von circadianen Rhythmen (Synchronisation, Phasenverschiebung)

Circadiane Rhythmen synchronisieren auf äußere **periodische** Licht/Dunkel Signale.

Durch **einmalige** Einwirkung von Licht, Temperatur oder bestimmten Stoffen kann man die Phase circadianer Rhythmen verändern.

Temperaturkompensation

Die circadiane Periode wird durch gewisse noch nicht ganz geklärte **Kompensationsmechanismen** gegen Umweltveränderungen, zum Beispiel gegenüber Temperaturveränderungen, konstant gehalten.

Beispiele temperaturkompensierter Rhythmen

(E. Bünning: The Physiological Clock, Berlin, 1964)

Table 2. *Periplaneta americana*,
Running Activity
(BÜNNING, 1958a)

Temperature °C	Length of Periods hrs.
18	24 — 25
19—20	24.4 ± 0.1
22—23	24.5 ± 0.1
27—28	25.0 ± 0.3
29	25.8 ± 0.7
31	24 — 27

Table 3. *Gonyaulax polyedra*,
Rhythm of Luminescence
(HASTINGS and SWEENEY)

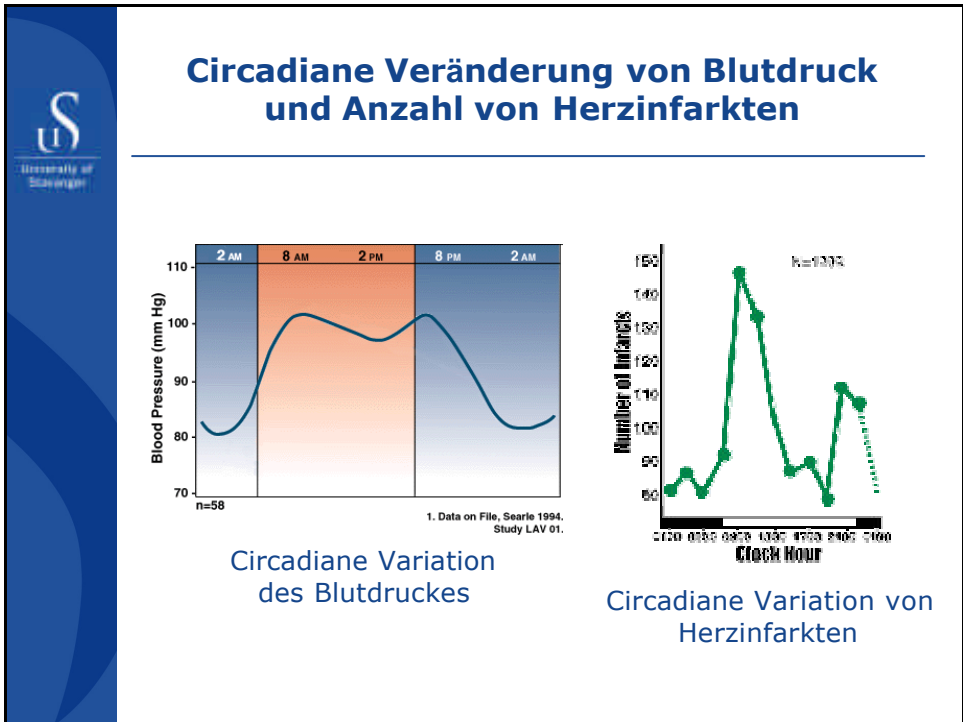
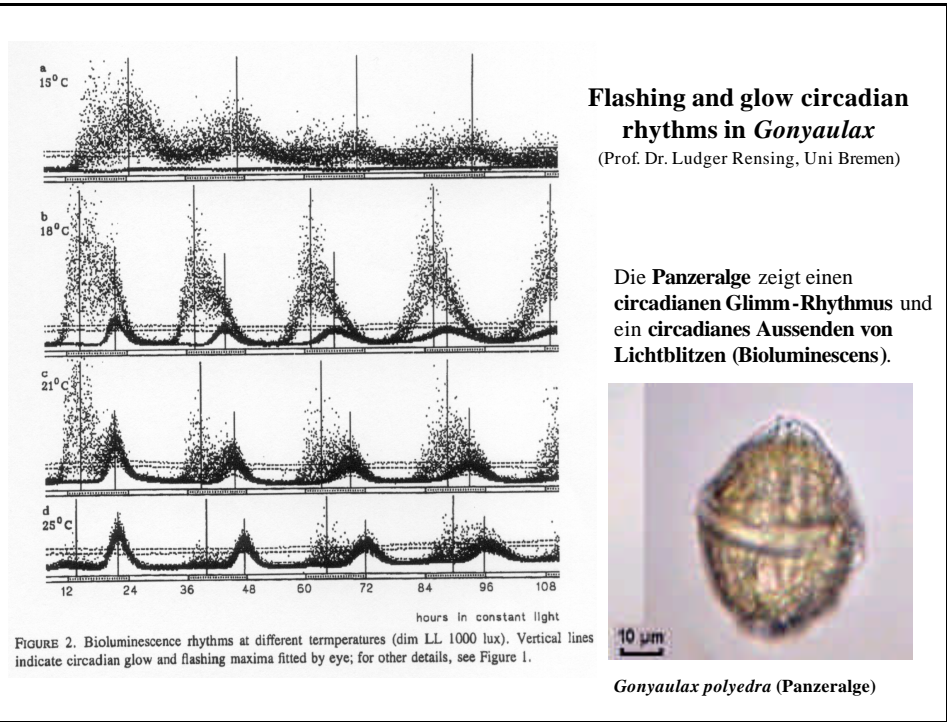
Temperature °C	Length of Periods hrs.
15.9	22.5
19	23.0
22	25.3
26.6	26.8
32	25.5

Table 4. *Phaseolus multiflorus*,
Leaf Movements
(LEINWEBER)

Temperature °C	Length of Periods hrs.
15	28.3 ± 0.4
20	28.0 ± 0.4
25	28.0 ± 1.0

Table 5. *Lizards (Lacerta sicula)*,
Running Activity
(HOFFMANN, 1957)

Temperature °C	Length of Periods hrs.
16	25.20
25	24.34
35	24.19



Die molekularen Prozesse bei der circadianen Uhr

Die Zelle



Alle Organismen sind aus **Zellen** aufgebaut. Die Zellgröße liegt normalerweise im μm Bereich.

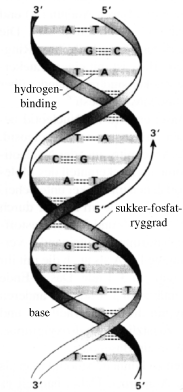
Bei Eukaryoten besteht die Zelle aus einem **Zellkern** der das Erbmateriale, d.h. die **DNA mit Genen** enthält.

Um den Zellkern haben wir das **Cytoplasma** wo u.a. die Proteinsynthese stattfindet.

Information/Bauplan für einen Organismus ist in der DNA (im Zellkern) gelagert

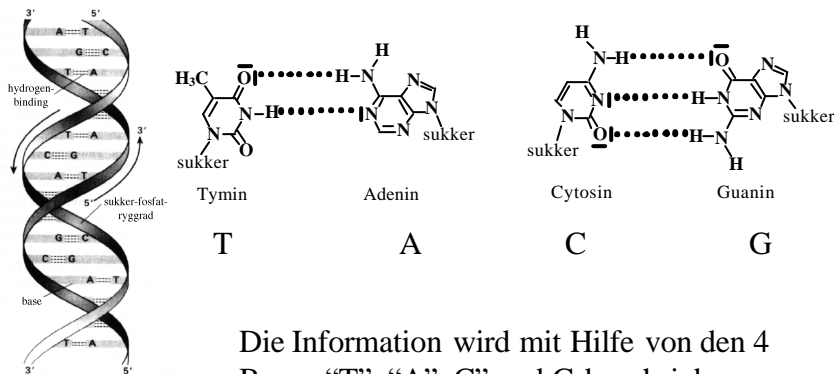
Genbegriff

Bestimmte Bereiche in der DNA kodieren für Proteine.
Diese Bereiche nennt man **Gene**.



DNA
(deoxyribonucleic acid)

Zwei Stränge von DNA werden durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen komplementären Basen zusammengehalten



DNA
(deoxyribonucleic acid)

Die Information wird mit Hilfe von den 4 Basen "T", "A", "C" und G beschrieben.

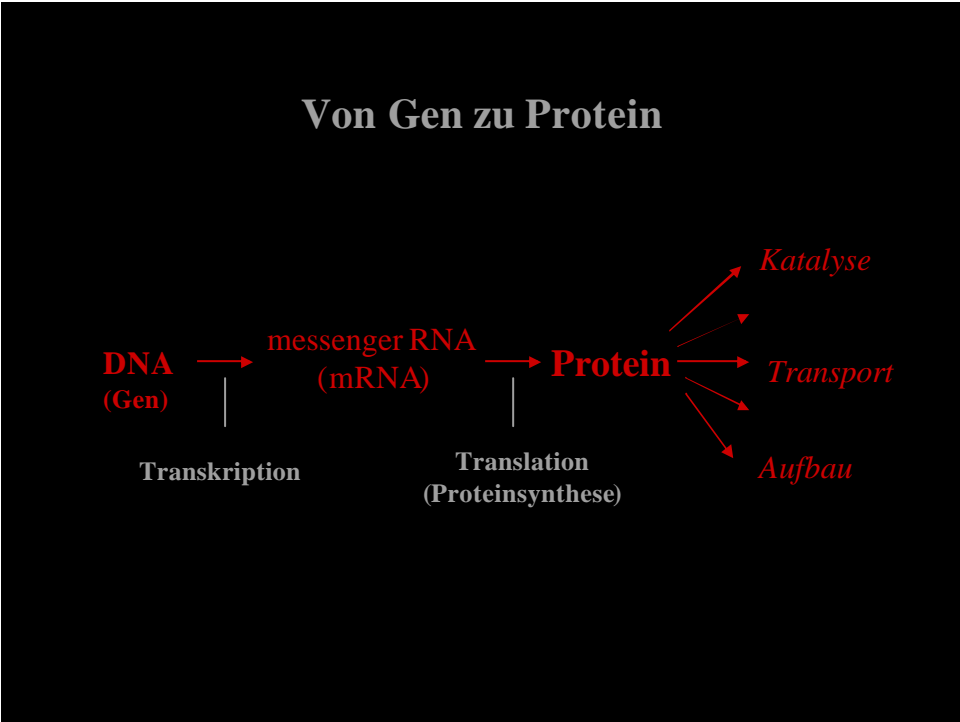
5' Ende

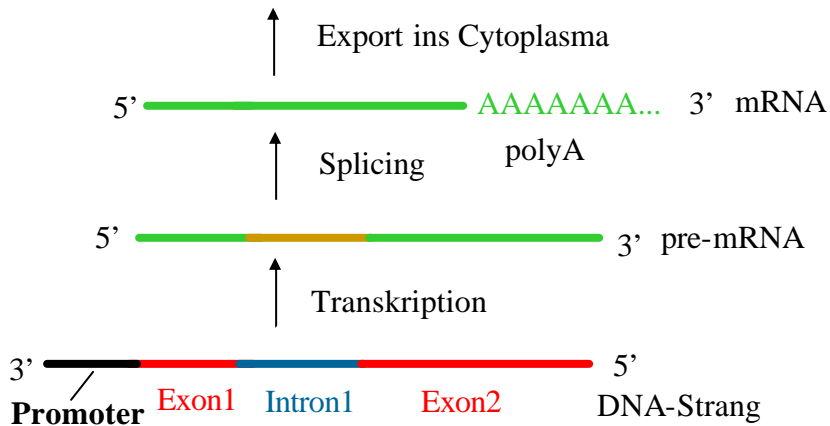
DNA hat Richtung

Die Basensequenz wird
definitionsmäßig in Richtung
5'-3' geschrieben:

5'ACGT..... 3'

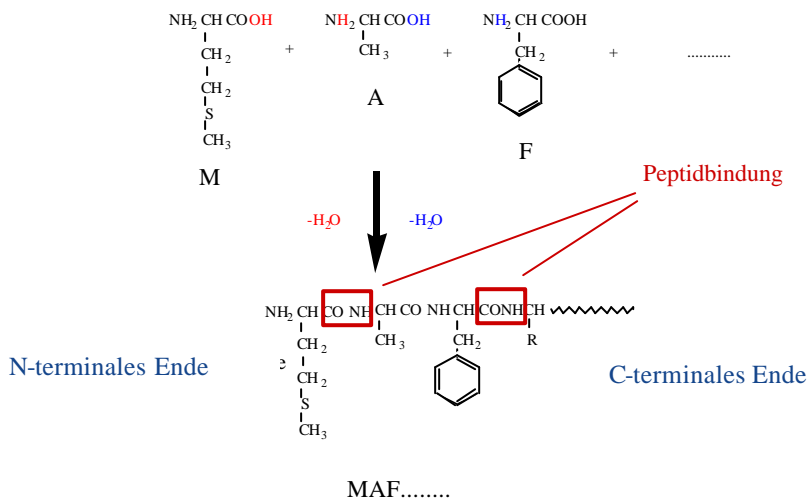
3' Ende





Proteine (Transkriptionfaktoren) und RNA-polymerase binden am **Promoter** um die Transkription (mRNA Synthese) zu starten.

Mit Hilfe von Ribosomen findet die Proteinsynthese (Translation) statt





Die Translation (Proteinsynthese) findet im Cytosol statt

QuickTime™ and a
Animation decompressor
are needed to see this picture.



Transkription, Splicing und Translation

QuickTime™ and a
Animation decompressor
are needed to see this picture.

Modellorganismus
Neurospora crassa
(roter Brotschimmelpilz)

Modellorganismus *Neurospora crassa*:



- eukaryotischer Schimmelpilz
- wächst schnell
- nicht pathogen
- leicht zu handhaben
- viele Mutanten zugänglich
- der circadiane Rhythmus (Sporenbildung) ist leicht zu verfolgen

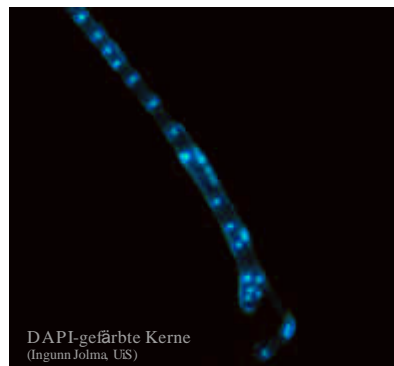
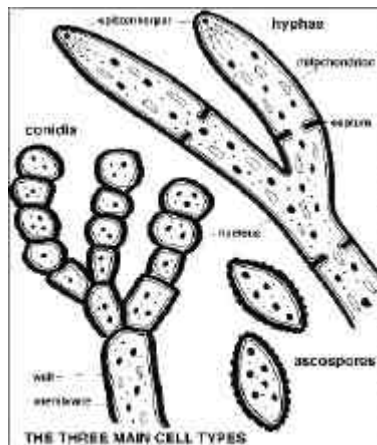


Neurospora in der Natur

- wächst in den Tropen/Subtropen
- auch gefunden in:
New Mexico, Alaska, Spanien,
Portugal, Schweiz.
- findet man nach Waldbränden.
- Genom in 2003 sequenziert
- 39,225,835 bp
- 9,826 Gene
- 7 Chromosomen



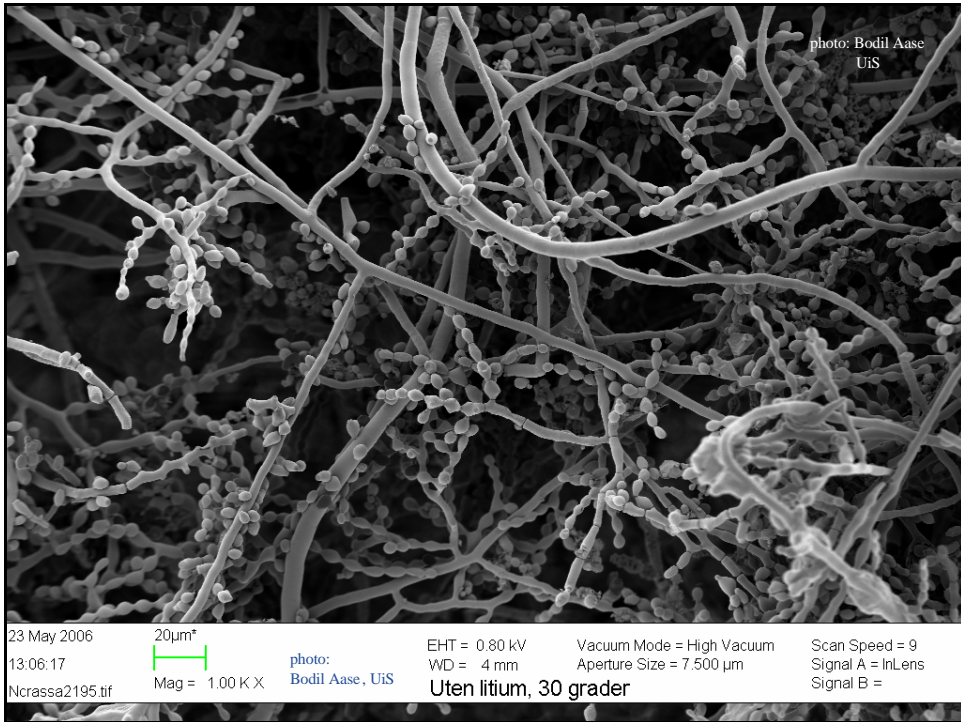
Neurospora's drei Zelltypen



DAPI-gefärbte Kerne
(Ingunn Jolma, USt)

QuickTime™ and a
TIF (LZW) decompressor
are needed to see this picture.

(DAPI: 4',6-diamidino-2-phenylindol, dihydrochlorid)




 **Sporenbildung**

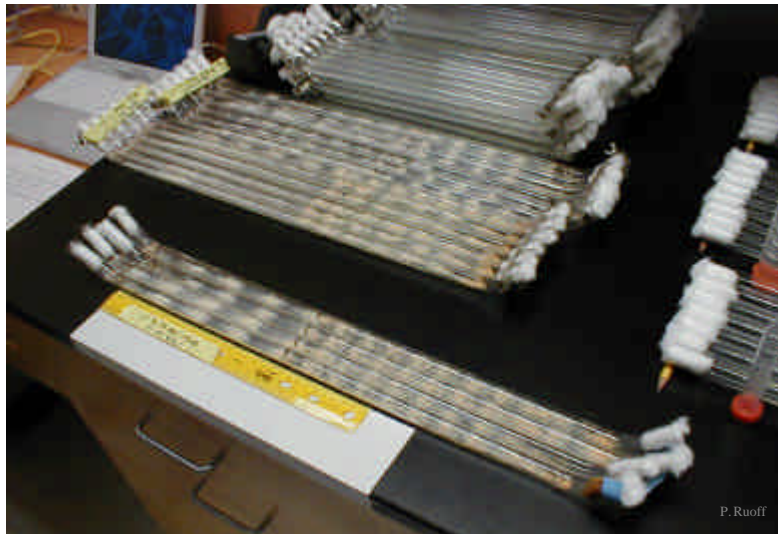
photo: Bodil Aase
UiS

Warum hat *Neurospora* eine circadiane Uhr?

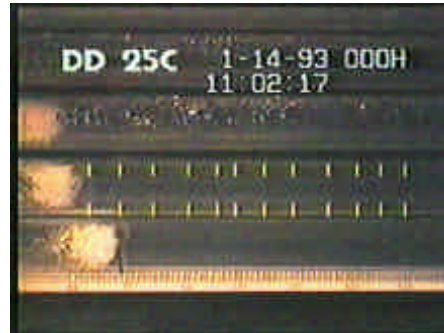
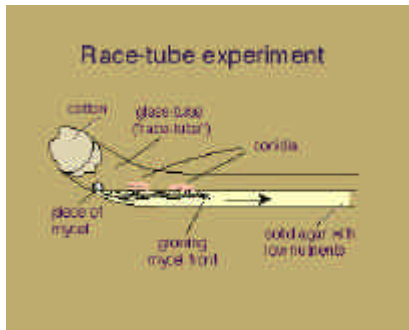
Um (DNA) Schäden bei der Sporenbildung durch Licht/UV Einfluß und hohen Temperaturen minimal zu halten, werden die Sporen (Konidien) am frühen Morgen gebildet.

Dieser Prozess ist durch die circadiane Uhr reguliert.

Der circadiane Rhythmus der Sporenbildung wird mit Hilfe von "Race Tubes" verfolgt




Das 'Race Tube' Experiment: Bestimmung der Periodenlänge



Jason C. Thoen and Van Gooch:
"Time Lapse Video Showing an Internal
Circadian Clock in Mold (*Neurospora*) Growth"



Gene bestimmen die Eigenschaften der circadianen Uhr

- Mit Hilfe von UV Strahlung wurde *Neurospora's* DNA verändert. Es wurde festgestellt, daß man Periodenlänge (und andere Eigenschaften) dadurch beeinflussen kann.
- Die veränderten circadiane Eigenschaften sind **vererbbar** (Mutantenbildung).
- Man kam daher zu dem Schluß, daß die Eigenschaften der circadiane Uhr durch Gene bestimmt werden.



University of Siegen

Das frequency (frq) Gen definiert Neurospora's circadiane Uhr



NCBI Map Viewer

PopMed | Nucleotide | Protein | Genome | Gene | Structure | PopGen

Search for: on:

Map Viewer

Map Viewer Home

Map Viewer Help

Microarray tracks

Map Help

NCBI Resources

Genome Project

TaxTree

Organism Data in GenBank

EST

Genome

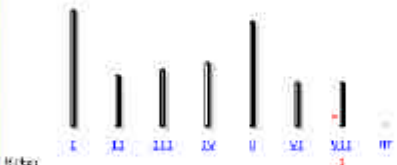
mRNA

Protein

WGS

Neurospora crassa genome view

Build 1.1 statistics



Statistics: I II III IV V VI VII VIII

Search results for query "frequency": 1 hit

Chr	Match	Map element	Type	Maps
VII	FREQUENCY CLOCK PROTEIN	NCU02265.1	GENE	Genes seq

Map Viewer Home

Map Viewer Help

Home Maps Help

Help: All Tables View

Maps & Options

Compare Map

Region shown:

2,481K

1,382K

Go

out

2000

in

out on: none

out: 1g

default

master

Neurospora crassa Build 1.1 [BLAST Neurospora crassa sequences](#)

Chromosome: I | II | III | IV | V | VI | VII

Query: frequency [chr.vi]

Master Map: Genes On Sequence

Summary of Maps

Region Displayed: 2,881K-3,281K bp

[Download/View Sequence](#)

GeneID	Symbol	Q	Links	E	Description
2881	NCU07370.1	+	blast sv dl mm	external	predicted protein
2882	NCU07319.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein
2883	NCU07317.1	+	blast sv dl mm	external	predicted protein
2884	NCU07309.1	+	blast sv dl mm	external	predicted protein
2885	NCU02308.1	+	blast sv dl mm	external	predicted protein
2886	NCU02303.1	+	blast sv dl mm	external	predicted protein
2887	NCU02298.1	+	blast sv dl mm	external	predicted protein
2888	NCU02293.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein
2889	NCU02285.1	+	blast sv dl mm	external	predicted protein
2890	NCU02283.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein ((AF034963) calmodulin-dependent protein 1)
2891	NCU02278.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein
2892	NCU02268.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein
2893	NCU02267.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein
2894	NCU02265.1	+	blast sv dl mm	external	FREQUENCY CLOCK PROTEIN
2895	NCU02260.1	+	blast sv dl mm	external	26S PROTEASE REGULATORY SUBUNIT 6B HOMOLOG
2896	NCU02258.1	+	blast sv dl mm	external	predicted protein
2897	NCU02254.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein
2898	NCU02247.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein ((AF348971) DNA methyltransferase Dnm-2
2899	NCU02245.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein
2900	NCU02233.1	+	blast sv dl mm	external	predicted protein
2901	NCU02238.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein
2902	NCU02237.1	+	blast sv dl mm	external	hypothetical protein



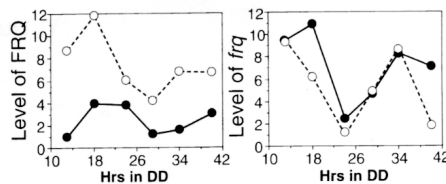
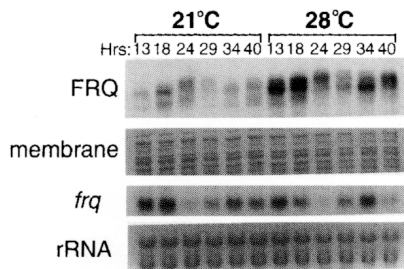
Das FREQUENCY (FRQ) Protein

>spP19970FRQ_NEUCR FREQUENCY CLOCK PROTEIN - *Neurospora crassa*.

```

MADSGDKSQGMRPPPFDSRGHPLRRASPDKSITLENHRLARDTSSRVTS      start of long FRQ
SSALGVTESQPQLKSSPTRNSSGGESEPTNWFNQSNRNPAAAFHDESHI      M      start of short FRQ
EVDPPFYQKETDSSNEESRYPPGRNPVHPPGGVQLPGFRPVA      AHSTAADD
YRSVIDDLTVENKRLKEELKRYKQFG      SDVMRKEKLFETIKVHGLPRRKKRE      coiled-coil
LEATLRHFASLGDSSSESTSORRKTGRHGTAVYSSGVLSKHDGSSSSRS
RPVDSAYNSMSTGRSSHAPHSSGFSLGRPSLTRAHSVGTQKVENYLRTDP
DGLLPHHIVMTDKKCKLVVRRLEQLFTGKISGRNMQRNQSMPSMDAPLA
PEGTNMAPRPPPEGLREACTIQLDGDNPRKNRSKDNGSASNSGGDQTE
LGGTGTSGDGS GSGGRTGNNTSPPGAIAPDQRP      TRPRDLDPDRVQIPSE
NMDYIRHL      LVSPEFLQGSRTSYQDVAPDAE      GWVYLNLNLCNLAQLHMVNV
TPSFIRQAVSEK      TKFQLSADGRKIRWRGGTDGTFSSDSED      KSQOSPM
TEDETDGSDK      NGRKKRKTQ      QASSEIGRFGPSRSPSDTFHYKPMFVHRNS
SSIETSLEESMSQGSSEDAVDESNGNSKWDFSGSGTTQQRKRKYDGAIV
YYTGAPFCTDLSGDPGDMSPTAQMTAGREVEGSGGDEVEHVLRQTLTSGS
SLPIRPLSDDRARVAEVLDFDPGNPPELVADDGSSPNDEDFVFPWCEDPA
KVRIQPIAKEVMEPSGLGGVLPDDHFVMLVITRRVVRPILQRLSRSTTS
EDTAEFIAERLAARITSSPLPRLSHRLTVAPLQVEYVSGQFR      RLNPAPLP      PEST-2
PPAIFYPFPSTDSWDDGDDLASDDEEVEVEEEDSYSEGOISR      RANPHFS      PEST-2
DNNTYMRKDDLAFDTETDVRMDSDDNRLSDSGHNMRAMPRAEAVDGDSS
PLAAVTGKEVDIVHTGSSVATAGGAESGYSSMEDVSSS
  
```

Circadiane Oszillationen in *frq*-mRNA and FRQ-protein



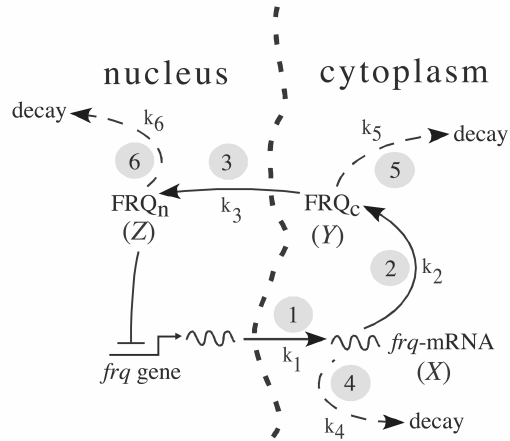
Methoden

FRQ: Western blots
mRNA: Northern, RT-PCR



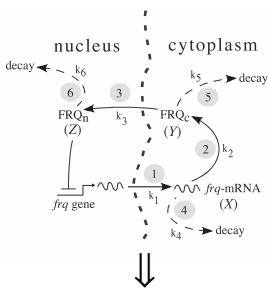
Wie kommt der circadiane Rhythmus zustande?

Negative Rückkopplung: Das FRQ Protein inhibiert die eigene Transkription

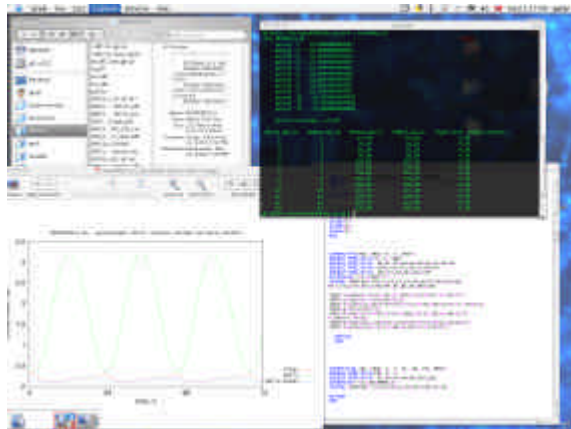


frq: frequency Gen

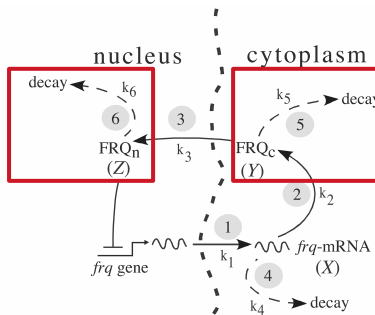
Mathematische Modelle helfen Fragen zu stellen, und Vorhersagen zu machen die man experimentell prüfen kann



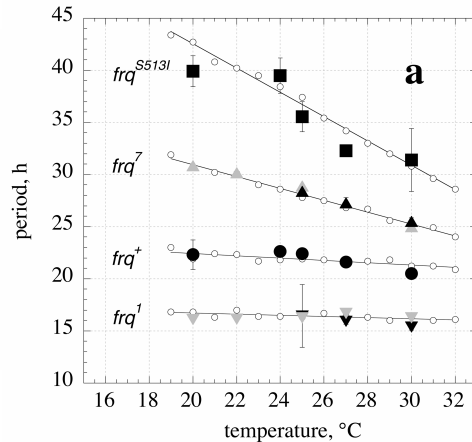
QuickTime™ and a
TIFF (LZW) decompressor
are needed to see this picture.



Modellberechnungen und Experimente zeigen, daß die Stabilität von FRQ-Protein bestimmend ist für circadiane Periode und deren Temperaturkompensation



Ruoff et al. PNAS, 2005, 102, 17681-17686.



Ausblick - Weitere Fragen

- wie inhibiert FRQ die eigene Transkription?
- wie sind andere Prozesse an den FRQ Oszillator gekoppelt, z. B. die Sporenbildung?
- gibt es mehrere miteinander-gekoppelte Transkriptions-Translations Oszillatoren?
- Ähnliche Entwicklung mit anderen Modellorganismen: Bananfliege (*Drosophila*), Maus, Zebrafisch, und Schaumkresse (*Arabidopsis*).

Circadian clock properties are inherited

RESEARCH NEWS

JANUARY 12, 2001

First Human Circadian Rhythm Gene Identified

Researchers exploring the genetic basis of a rare syndrome that causes people to fall asleep and awaken earlier than normal have pinpointed the first human gene that controls circadian rhythm. The finding establishes a link between the human circadian system and that of animal models such as *Drosophila*, mice and hamsters, say the researchers. It also raises the possibility of treating jet lag, as well as sleep problems in adolescents, the elderly and shift workers.

A research team that included Howard Hughes Medical Institute investigator [Louis J. Ptacek](#) reported that a mutation in a gene called *hPer2* is responsible for familial advanced sleep-phase syndrome (FASPS) in members of a Utah family. This syndrome typically causes sleep onset around 7 p.m., and spontaneous awakening around 2 a.m., in affected family members. The research was published online by the journal *Science* on January 12, 2001. The article will also appear in print in a future issue of *Science*.

[DOWNLOAD STORY PDF](#)

REQUIRES
ADOBE ACROBAT (ADOBE.COM)

[VERSIÓN EN ESPAÑOL](#)

HHMI INVESTIGATOR



Louis J.
Ptacek

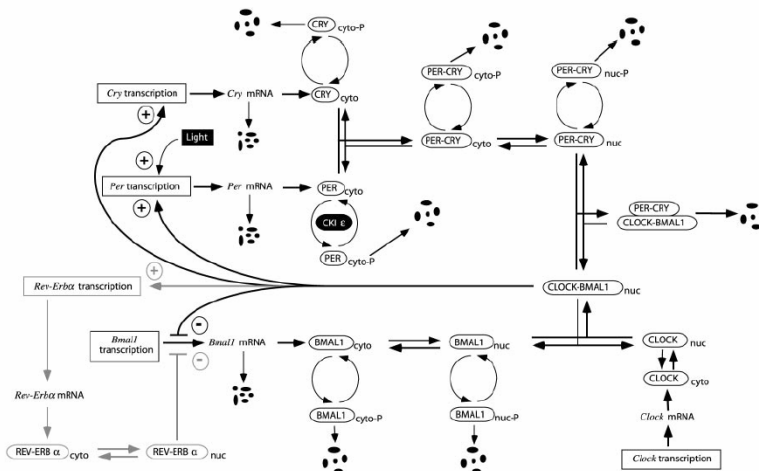
ABSTRACT:

[Understanding Brain Function Through Study of Inherited Traits in Humans](#)

[RELATED LINKS](#)



Das Model der circadianen Uhr bei Säugern



Leloup & Goldbeter (2004), PNAS.

**Chromosomen kann man im Lichtmikroskop sehen,
besonders bei Zellteilung**

Zellteilung bei einer Tierzelle
(Zeitraffer, Alberts *et al.*)

**Menschliche Zelle:
2 m DNA passen in einen 6 mm großen Zellkern**