



"Chromatin remodelling" und Blattsensenz in *Arabidopsis*



Nicole Sommer¹, Kristina Irmirer², Andreas Fischer²

Gunter Reuter² und Klaus Humbeck¹

¹ Institut für Pflanzenphysiologie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Weinbergweg 10, 06120 Halle

² Institut für Genetik, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Weinbergweg 10, 06120 Halle

Die Blattsensenz kennzeichnet das letzte Entwicklungsstadium dieses Organs. Während sensenzabhängig viele Gene, insbesondere solche, die für Photosyntheseproteine kodieren, in ihrer Expression reprimiert werden (SDGs, "senescence down regulated genes"), wird eine Vielzahl so genannter SAGs ("senescence associated genes") induziert. Seit kurzem ist bekannt, dass sich mit Beginn der Seneszenz das Expressionsmuster von über 2000 Genen verändert. Die zugrunde liegenden Regulationsmechanismen sind allerdings noch weitgehend unbekannt. Es gibt Hinweise, dass Veränderungen der Chromatinstruktur bei wichtigen Entwicklungsübergängen wie der Blütenbildung beteiligt sind. Zudem wurde in tierischen Systemen eine Beteiligung von "chromatin remodelling"-Prozessen innerhalb von Seneszenzmechanismen gezeigt. Histone- und DNA-Modifikationen sind zentrale Ereignisse bei der epigenetischen Regulation und spielen eine wichtige Rolle bei der Ausbildung von primär transkriptionsaktivem Euchromatin und zumeist inaktivem Heterochromatin. Mittels "Chromatin Immunopräzipitation" (ChIP) fanden wir heraus, dass der Transkriptionsfaktor WRKY53, der eine entscheidende Rolle innerhalb der Blattsensenz spielt, durch Veränderungen des Chromatinzustandes reguliert wird. Darüber hinaus untersuchten wir die Bedeutung der Histone methyltransferase SUVH2 für den Prozess der Blattsensenz. Für dieses Enzym ist in *Arabidopsis thaliana* bekannt, dass es ein Schlüsselfaktor in epigenetischen Kontrollmechanismen und verantwortlich für die Übertragung von Methylresten auf H3K9 ist (Naumann et al., 2005). Mittels "reverse genetics" sowie der Analyse physiologischer und molekularbiologischer Parameter, konnten wir zeigen, dass der Verlauf der Seneszenz in SUVH2 überexprimierenden *Arabidopsis*-Pflanzen (SUVH2-oe) deutlich beeinflusst ist. Unsere Ergebnisse belegen, eine Beteiligung von Chromatin "Remodelling"-Kontrollmechanismen innerhalb der entwicklungsabhängigen Regulation der Blattsensenz.

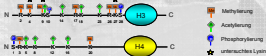
Histon-Modifikationen

Zustände des Chromatins



der Histon-Code am Beispiel von Histon 3 und 4

- H3 und H4 tragen die meisten primär N-terminale Modifikationen
- Formen der Modifikationen: -Methylierung, Acetylierung, Phosphorylierung, Ubiquitinierung
- zusätzlich sind Mono-, Di- und Trimethylierung möglich



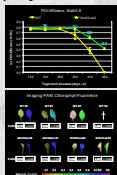
➡ führt zu einem komplexen Muster = "Histon-Code"

SUVH2-Überexpressionspflanzen

Charakterisierung des Phänotyps



Physiologische Charakterisierung



Altersabhängige Veränderungen im Histon-Code?

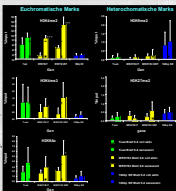
I Chromatin Immunopräzipitation (ChIP) für WRKY53



- P = Promotor
- E = Exon
- I = Intron
- A = 5' UTR = 5' untranslatiertes Protein
- B = 3' UTR = 3' untranslatiertes Protein

WRKY53 ist ein wichtiger seneszenzspezifischer Transkriptionsfaktor

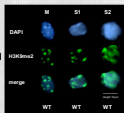
"in vitro"-Analysen zeigen 63 putative Zielgene, die u. a. andere Transkriptionsfaktoren und viele bekannte SAGs einschließen (Mao et al. 2004) (z. B. SAG12, SIKK, SAG101, WRKY6, ORES)



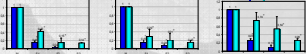
➡ ChIP-Analysen zeigen, dass die an die WRKY53-DNA assoziierten Histone mit Einsetzen der Seneszenz verstärkt mit euchromatischen Marks modifiziert sind!

II Immunozytologie

immunozytologische Analysen mit Antikörpern gegen H3K9me2 (heterochromatischer Mark) an *Arabidopsis*-Kernen unterschiedlicher Entwicklungsstadien geben erste Hinweise auf massive Veränderungen der Chromatinstruktur während der Blattalterung!

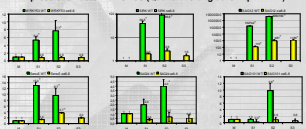


Expressionsmuster von SDGs (Quantifizierung durch qRT-PCR)



➡ in beiden Listen werden die untersuchten SDGs sensenzabhängig reprimiert, allerdings ist die Repression in den SUVH2-oe Pflanzen leicht gebremst

Expressionsmuster von SAGs (Quantifizierung durch qRT-PCR)



➡ im Gegensatz zum WT sind in den SUVH2-oe Pflanzen alle untersuchten SAGs während der Seneszenz nicht oder nur stark eingeschränkt induziert

➡ verzögerte Blattsensenz in SUVH2-Überexpressionspflanzen

Hypothese

Reprogrammierung der Genexpression „Seneszenzsyndrom“

