

pflanzen vermutet worden war.

Das nach evolutionstheoretischer Lesart frühe Entstehen von symbiontisch lebenden Pilzen gibt einer 1975 erstmals veröffentlichten Hypothese neuen Auftrieb, wonach die Eroberung des Landes von mit Pilzen symbiontisch lebenden Algen ausging (PIEROZYNSKI & MALLOCH 1975). Diese Vorstellung fand bisher wenig Beachtung, vermutlich weil zu wenig positive Evidenz für einen solchen Schritt aufs Land via Pilz-Alge-Symbionten vorliegt. PIEROZYNSKI & MALLOCH (1975) verweisen auf die Existenz zahlreicher Mykorrhizen bei heutigen Pflanzen und auf die Vergesellschaftung von einigen Devonpflanzen wie *Asteroxylon* und *Rhynia* mit Pilzen, doch können diese Beobachtungen eine solche Hypothese kaum stützen; dafür sind sie viel zu wenig signifikant. Es stellt sich zudem die Frage nach dem phylogenetischen Zusammenhang solcher Pilz-Alge-Symbionten mit Gefäßpflanzen.

HECKMAN et al. (2001) halten einen Zusammenhang zwischen einem frühen Auftreten von Landpflanzen und der Klimaentwicklung im späten Präkambrium für möglich, da der Atmosphäre durch ein Pflanzenkleid Kohlendioxid entzogen worden wäre, was zu einer schon früher angenommenen Vereisung der Erde in jener Zeit geführt haben könne. Die Erhöhung der Sauerstoffkonzentration könne die kambrische Explosion des tierischen Lebens ermöglicht haben. Die Zusammenhänge

von Ursache und Wirkung sind hier jedoch spekulativ, insbesondere bei der kambrischen Explosion.

Die geschilderten Ergebnisse sind nicht unumstritten. Die Ergebnisse der molekularen Uhren sind bekanntermaßen häufig unzuverlässig (vgl. AYALA 1999; WHITFIELD 2001). Immerhin aber könnten die Ergebnisse Impulse für die Paläobotanik geben: Sie legen nahe, in solchen Sedimenten nach Fossilien zu suchen, in denen sie bisher nicht erwartet worden waren, jedoch nach den molekularen Befunden zu finden sein sollten. Man kann auf die weitere Forschung und Diskussion gespannt sein.

Reinhard Junker

Literatur

- AYALA FJ (1999) Molecular clock mirages. *BioEssays* 21, 71-75.
 JUNKER R (2001) Das Präkambrium-Kambium-Problem: Molekulare Uhren und Fossilien. *Stud. Int. J.* 8, 83-85.
 HECKMAN DS, GEISER DM, EIDELL BR, STAUFFER RL, KARDOS NL & HEDGES SB (2001) Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science* 293, 1129-1133.
 PIEROZYNSKI KS & MALLOCH DW (1975) The origin of land plants: a matter of mycotrophism. *Bio Systems* 6, 153-164.
 REDECKER, D, KODER R & GRAHAM LE (2000) Glomalean fungi from the Ordovician. *Science* 289, 1920-1921.
 WHITFIELD J (2001) Plant's roots pushed back. *Nature science update* 10. 8. 01 (www.nature.com/nsu/010816/010816-2.html)

Regulation der Tagesrhythmik bei Organismen weit entfernter Taxa

Viele biologische Vorgänge verlaufen nicht kontinuierlich, sondern periodisch. Es gibt kurzperiodische Vorgänge wie Zilienschlag, Aktionspotentiale von Nervenzellen oder der Herzschlag. Lange, meist jährliche Perioden sind Winterschlaf oder das jährliche Wandern von Zugvögeln oder Fischen wie z. B. Lachsen. Mittelperiodische Vorgänge sind Gezeitenrhythmen von Organismen im Wattenmeer oder die Schlaf-Wach-Rhythmen.

Von vielen Organismen sind regelmäßige Änderungen physiologischer Vorgänge bekannt, so bei Bakterien (SCHMITZ 2000), Pflanzen (PARK 1999, STRAYER 2000), Pilzen (LEE 2000) und Tieren wie Zebrafischen (DELAUNEY 2000), der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* (CERIANI 1999, SHAW 2000), Mäusen (HARDIN 1999, BARINAGA 1999), Hamstern (LOWREY 2000) und Ratten (YAMAZAKI 2000), nicht zuletzt auch beim Menschen (BILLIARD 1998, siehe auch hier für andere physiologische und klinische

Daten für menschliche zirkadiane Rhythmen und Erkrankungen des Schlaf-Wach-Rhythmus). Bei Menschen und Säugern schwanken Körpertemperatur, Blutdruck, Hormonsekretion und viele andere Variablen während der 24 Stunden eines Tages. Man spricht von zirkadianen Rhythmen.

In diesem Beitrag sollen die zirkadianen Uhren der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* und der Maus beschrieben und miteinander verglichen und die Bedeutung dieser Erkenntnisse für die Ursprungsforschung diskutiert werden.

Die *Drosophila melanogaster*-Uhr

Die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* ist einer der am häufigsten untersuchten Modellorganismen, dessen Genom in nächster Zeit vollständig sequenziert sein wird. Auch *Drosophila* schläft zeit-

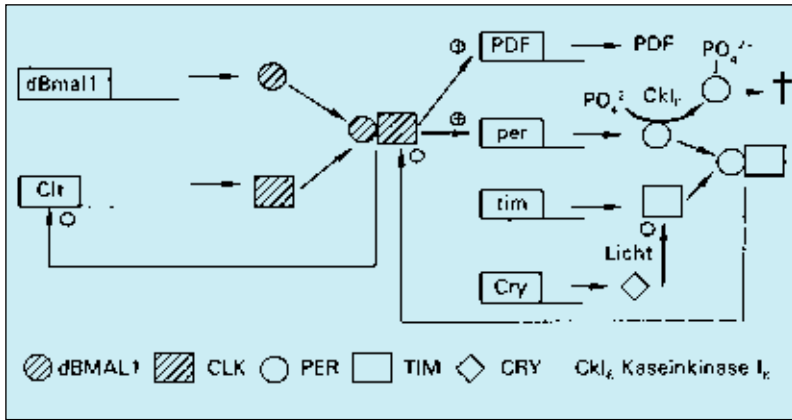


Abb. 1: Die *Drosophila*-Uhr. Näheres im Text.



weise, das heißt es gibt einen beobachtbaren, regelmäßig wiederkehrenden Zustand, der stark dem ähnelt, was bei Säugetieren als Schlaf bezeichnet wird. Bei Säugern wird Schlaf meist definiert als ein Zustand vorübergehender Inaktivität, in einer artspezifischen Haltung, gekoppelt mit Bewußtlosigkeit, einer typischen Gehirnstrom-Kurve (EEG) und einer Schwellenstärke, die ein Reiz haben muß, damit das Tier diesen Zustand verlassen kann. Bei Säugern und Menschen ist das EEG entscheidend, um Beginn und Tiefe des Schlafes zu bestimmen. Offensichtlich kann diese Definition nicht bei Insekten der Größe wie *Drosophila* angewendet werden; namentlich ist es schwierig, von „bewußtem Verhalten“ zu sprechen. Zudem ähneln die elektrischen Ströme eines Insektengehirns nicht einem menschlichen oder einem Säuger-EEG. In einer kürzlich publizierten Studie (SHAW 2000) wurde allerdings gezeigt, daß es einen schlafähnlichen Zustand bei *Drosophila* gibt: Schlaf bei *Drosophila* ist charakterisiert durch eine erhöhte Reizschwelle, ist homöostatisch reguliert und unabhängig von der zirkadianen Uhr. Wie bei Säugern schlafen junge Fliegen mehr als alte, und Stimulanten bzw. Hypnotika sind wirksam.

Jedenfalls sind 24-Stunden-periodische Änderungen der Aktivität von *Drosophila* erkennbar, sowie Schwanken von Genexpression, Hormonsekretion oder anderer physiologischer Parameter, die auch bei Tierhaltung in konstanter Dunkelheit ohne äußere Zeitgeber erhalten bleiben. Die Folgerung, es gebe eine interne Uhr bei *Drosophila*, ist also offensichtlich. In den letzten Jahren wurden die Komponenten und die Funktion dieser inneren Uhr von *Drosophila* aufgeklärt (Abb. 1).

Spät in der Nacht wird das Gen *clk* aktiviert, das das CLOCK-Protein codiert, ein Helix-Schleife-Helix-Protein. CLOCK bindet an ein zweites Protein, nämlich an das konstitutiv (ständig) exprimierte *dbmal1* (codiert vom *dbmal1*-Gen). Diese Bindung (= Dimerisierung) ermöglicht beiden Partnern den Eintritt in den Zellkern. Gegen Abend sind die Konzentrationen dieses ungleichen Paares (CLOCK verbunden mit *dbmal1*) hoch genug, um das *period*- und *timeless*-Gen, sowie die *clock-controlled*-Gene zu

aktivieren. Diese Aktivierung erfolgt durch Bindung an die DNA und die damit verbundene Aktivierung besagter Gene. Gleichzeitig hemmt der CLOCK/*dbmal1*-Komplex seine eigene Herstellung durch Abschaltung des *clk*-Gens, welches ja für das CLOCK Protein codiert.

Nach der Aktivierung von *period* und *timeless* vergehen einige Stunden, bis die ersten PERIOD- und TIMELESS-Proteine hergestellt sind. Diese sammeln sich an und schalten dann ihre eigene Herstellung ab, indem sie an den CLOCK/*dbmal1*-Komplex binden und ihn damit hemmen. Die Hemmung des Komplexes beseitigt zugleich die Hemmung des *clk*-Gens, so daß dieses erneut hergestellt wird und ein neuer Zyklus beginnen kann (HARDIN 1999).

Zur Feinabstimmung der Uhr dient folgender Vorgang: Ein Teil der PERIOD-Proteine wird chemisch verändert (phosphoryliert) und so zum Abbau bestimmt. Die Phosphorylierung erfolgt durch das Enzym Kaseinkinase I ϵ , die vom *double time* (*dbt*)-Gen codiert wird (YOUNG 2000). *Dbt* war das erste Gen der inneren Uhr von *Drosophila*, das vor 15 Jahren entdeckt wurde. Die Abstimmung der Uhr auf den tatsächlichen Tag-Nacht-Zyklus erfolgt durch das Protein Cryptochrom (CRY), das konstitutiv exprimiert wird und lichtsensitiv ist: in der Anwesenheit von blauem Licht der Wellenlänge von ca. 400-440 Nanometer hemmt es den PER/TIM-Komplex. Diese Synchronisation ist für jede innere Uhr notwendig, die als Hauptfunktion hat, dem Organismus die Vorwegnahme des Tag-Nacht-Zyklus überhaupt zu ermöglichen. Das Licht kann, da der Kopf der Fliege klein ist, direkt die Zellen im *Drosophila*-Gehirn erreichen, in denen die Uhr eingebaut ist.

Die Ausgabeelemente der Uhr sind die sogenannten *clock-controlled*-Gene, die in Phase mit der Uhrkomponente PER/TIM schwingen. Sie geben „die aktuelle innere Uhrzeit“ in den Körper weiter und beeinflussen die tagesperiodische Hormonsekretion oder Proteinsynthese. Eines dieser *clock-controlled*-Gene ist zum Beispiel auch der „Pigment dispersing factor“, ein Hormon, das bei manchen Krebstieren einen täglichen Rhythmus von Farbänderungen vermittelt (HARDIN 1999, CERIANI 1999).

Zusammenfassend, in *Drosophila* existiert ein zentraler Oszillator, der empfindlich für Licht und andere Umweltreize ist. Diese „Zentraluhr“ synchronisiert die zahlreichen peripheren Uhren, die in vielen Geweben, wenn nicht in allen Körperzellen existieren.

Die Maus-Uhr

Wie bei allen Säugern ist in Mäusen die zentrale interne Uhr in einer Gehirnregion lokalisiert, die sich Nucleus suprachiasmaticus nennt. Er ist verantwortlich für alle automatisch regulierten Funk-

tionen der Aufrechterhaltung des inneren physiologischen Gleichgewichts. Ihre Funktion wurde in den letzten Jahren aufgeklärt (GRIFFIN 1999, BARNAGA 2000, SHEARMAN 2000).

Zu Beginn eines Zyklus (am Morgen) steht die Herstellung des *mBmal1*-Gens (Abb. 2). Das Protein BMAL1 verbindet sich dann mit CLOCK, das ständig hergestellt wird. Der Komplex BMAL1/CLOCK gelangt in den Zellkern und aktiviert drei *period*-Gene *mPer1*, *mPer2*, *mPer3*, zwei *cryptochrom*-Gene *mCry1* und *mCry2* und die *clock-controlled*-Gene (*cgc*).

Die *cryptochrom*-Gene hemmen den Komplex von BMAL1/CLOCK, was zum Abschalten der Expression der *per*'s, *cry*'s und der *cgc*'s führt.

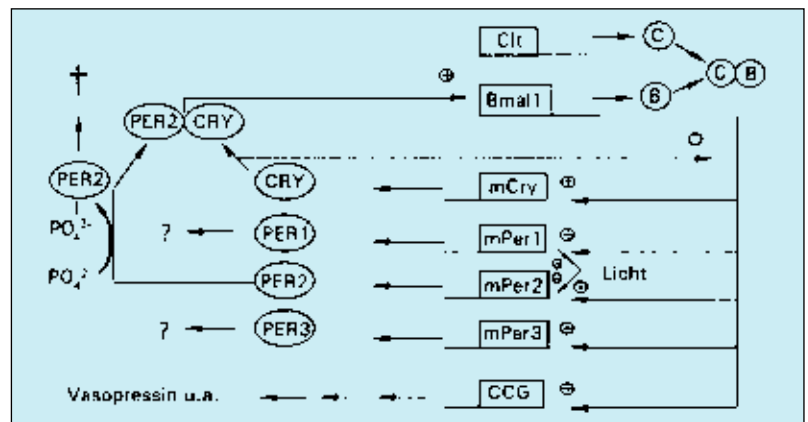
PER2 (und wohl auch PER1) verbindet sich mit einem Cryptochrom. Dieser Komplex aktiviert *mBmal1* mit einer gewissen Verzögerung, wodurch ein neuer Zyklus gestartet wird. Der Komplex zerfällt mit einer bestimmten Halbwertszeit, so daß das BMAL1 nicht weiter hergestellt wird.

Das Gen *tau* kodiert für die Kaseinkinase Iε, die PER2 wiederum chemisch verändert (phosphoryliert). Das phosphorylierte PER2 wird abgebaut, ehe es sich mit CLOCK assoziieren kann. Dieser Vorgang dient wieder der Feineinstellung der Periodenlänge (LOWREY 2000).

Die Synchronisation mit dem Tag-Nacht-Zyklus geschieht durch lichtsensitive Zellen in der Netzhaut, die ein Signal zu den Zellen des Nucleus suprachiasmaticus senden. (Dieser erhält kein direktes Licht, da er tief verborgen im Kopf liegt.) Das Signal ist wahrscheinlich ein Botenstoff, der von den Zellen in der Netzhaut produziert wird (Melatonin). Licht bewirkt somit indirekt eine Herstellung von PER1 und PER2. Licht, das früh in der Dunkelphase auftritt, wird folglich eine Phasenverzögerung bewirken, da hohe Konzentrationen von PER1 und PER2 eher erreicht werden.

Die Ausgabelemente der Uhr sind die *clock-controlled*-Gene, die in Phase mit *per* und *cry* hergestellt werden und Effekte im übrigen Körper vermitteln. Einer der Botenstoffe, die diese Effekte übertragen, ist das Protein Vasopressin. Periphere Gewebe haben zum Teil eigene Uhren, die über die *clock-controlled*-Gene mit der zentralen Uhr synchronisiert werden. In der Ratte beispielsweise wurden Uhren in Leber, Lunge und Muskelgewebe gefunden (OKAMURA 1999, YAMAZAKI 2000, STOKKAN 2001).

Gemeinsamkeiten. Beide Uhren haben den gleichen grundsätzlichen Aufbau: zwei schwingende Proteinschleifen, die jeweils wechselseitig ihre eigene Herstellung hemmen, sowie ein Ausgabelement, das gleichzeitig mit einer der beiden Proteinschleifen schwingt. In beiden Organismen, Fruchtfliege wie Maus, kann Licht eine Verstellung der Uhr erzeugen und in beiden sichert ein Enzym, die Kaseinkinase Iε, die Feineinstellung der Periodenlänge (YOUNG 2000). Da dies das einzige



Enzym innerhalb der Uhr ist, also ein Protein mit katalytischen Eigenschaften, erscheint es als ein vielversprechendes Ziel für therapeutische Eingriffe, z.B. zur Therapie des Jet-lag-Syndroms nach Interkontinentalflügen.

Abb. 2: Die Maus-Uhr. Näheres im Text.



Unterschiede. Die Synchronisierung mit dem Tageslicht wird auf zwei verschiedene Weisen erreicht: Bei *Drosophila* durch direkte Interaktion von Licht mit der Uhr mittels eines lichtempfindlichen Proteins, in der Maus über einen längeren Weg: Zellen in der Netzhaut senden ein Signal – wahrscheinlich das Hormon Melatonin – an die zentrale Uhr. Das *Drosophila*-Gehirn ist viel kleiner als das der Maus, sodaß genügend Licht hindurchtreten kann, während bei der Maus eine kompliziertere Konstruktion funktionell notwendig ist.

Wie kommt es, daß die Uhren in zentralen Komponenten sehr ähnlich und doch in einigen wichtigen Bauteilen sehr verschieden sind?

Grundsätzlicher ist der Unterschied in der Funktion der CRY-Proteine: in *Drosophila* beeinflussen sie die schwingenden Schleifen der Uhr, in der Maus dagegen sind sie essentieller Teil einer dieser Schleifen. Ihre Funktion unterscheidet sich weiterhin dahingehend, daß bei *Drosophila* CRY die Expression von *per* stimuliert, während in Mäusen CRY's die Expression von *per*, *cgc* und *cry* selber hemmen.

In der Maus gibt es wahrscheinlich kein TIMELESS-Protein.

Bedeutung für die Ursprungsforschung

Aus evolutionstheoretischer Sicht wird der letzte gemeinsame Vorfahr von Insekten und Säugetieren vor mindestens 600 Millionen Jahren ange-

nommen. In dieser Sicht ist es sehr überraschend, daß die Uhren zugleich so ähnlich in zentralen Komponenten und doch so verschieden in einigen wichtigen Bauteilen sind. Besonders die Funktionsänderung der CRY's dürfte phylogenetisch, also im Sinne der Abstammungslehre, nicht einfach zu erklären sein.

Der Vergleich der Uhren legt eine Interpretation im Sinne eines Baukastensystems nahe: Ein gegebener Satz von „Bauteilen“ ist in verschiedenen Zusammensetzungen zusammengefügt, so daß Lebewesen unterschiedlichster Form und Ausstattung doch gleiche oder ähnliche Bauteile besitzen können. Lebewesen würden sich so zugleich ähneln und unterscheiden. Wie ein solches Baukastensystem evolutionär entstehen konnte, ist unklar.

Wolfgang B. Lindemann

Literatur

- BARINAGA M (1999) CRY's clock role differs in mice, flies. *Science* 285, 506-507.
- BARINAGA M (2000) Two feedback loops run mammalian clock. *Science* 288, 943-944.
- BILLIARD M (1998) Le sommeil normal et pathologique, Troubles du sommeil et de l'éveil, 2e édition. Paris – Milan – Barcelone.
- CERIANI MF, DARLINGTON TK et al. (1999) Light-dependent sequestration of TIMELESS by CRYPTOCHROME.

- Science* 285, 553-556.
- DELAUNAY F, THISSE C et al. (2000) An inherited functional circadian clock in zebrafish embryos. *Science* 289, 297-300.
- GRIFFIN EA JR., STAKNIS D & WEITZ C (1999) Light-independent role of CRY1 and CRY2 in the mammalian circadian clock. *Science* 286, 768-771.
- HARDIN PE & GLOSSOP NRJ (1999) The CRY's of flies and mice. *Science* 286, 2460-2461.
- Lee K, Loros J & Dunlap JC (2000) Interconnected feedback loops in the Neurospora circadian system. *Science* 289, 107-110.
- LOWREY PL, KAZUHIRO S et al. (2000) Positional syntentic cloning and functional characterization of the mammalian circadian mutation *tau*. *Science* 288, 483-491.
- OKAMURA H, MIYAKE S et al. (1999) Photic induction of *mPer1* and *mPer2* in *Cry*-deficient mice lacking a biological clock. *Science* 286, 2351-2534.
- PARK DH, SOMERS DE et al. (1999) Control of circadian rhythms and photoperiodic flowering by the *Arabidopsis* *GIGANTEA* gene. *Science* 285, 1579-1582.
- SCHMITZ O, KATAYAMA M et al. (2000) CikA, a bacteriophytochrome that resets the cyanobacterial circadian clock. *Science* 289, 765-768.
- SHAW PJ, CIRELLI C et al (2000) Correlates of sleep and waking in *Drosophila melanogaster*. *Science* 287, 1834-1837.
- SHEARMAN L P, SRIRAM S et al. (2000) Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. *Science* 288, 1013- 1019.
- STOKKAN KA, YAMAZAKI S et al. (2001) Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science* 291, 490-493.
- STRAYER C, OYAMA T et al. (2000) Cloning of the *Arabidopsis* clock gene *TOC1*, an autoregulatory response regulator homolog. *Science* 289, 768-771.
- YAMAZAKI S, NUMANO R et al. (2000) Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* 288, 682-685.
- YOUNG MW (2000) Marking time for a kingdom. *Science* 288, 451- 453.

Die Erdkruste: Alt, älter ... am ältesten?

Mitte der 1980er Jahre wurden an Zirkonen vom Mount Narryer in Westaustralien Alter von 4,1-4,2 Ga (Giga annum: 10⁹ Jahre) ermittelt. Da diese hohen Alterswerte nur an 4 von insgesamt 102 Zirkonen bestimmt wurden, war dieses Resultat nicht unumstritten. Kurze Zeit darauf untersuchten andere Forscher Zirkone in einem Konglomerat der Jack Hills, etwa 60 km nordöstlich des Mount Narryer (COMPSTON & PIDGEON 1986). 17 der 140 analysierten Zirkone lieferten Alter von über 4 Ga, in einem Fall wurde sogar ein Alter von fast 4,3 Ga ermittelt.

In einem Kommentar im Wissenschaftsjournal *Nature* verriet MOORBATH (1986) hierzu seine Ängste. Er berichtete vom Verdrängen eines wiederkehrenden bösen Traumes: Wann würde mit der hochauflösenden Ionen-Mikrosonde ein Alter ermittelt, das höher als das anerkannte Erdalter von rund 4,6 Ga ist?

Eineinhalb Jahrzehnte später dürfte MOORBATHS

Nachruhe noch immer ungestört sein – zumindest was die wissenschaftlichen Daten angeht. Seine Ängste haben sich nicht bewahrheitet, der Grenzwert von 4,6 Ga wurde bislang nicht überschritten. Allerdings haben sich inzwischen zwei Forschergruppen dieser Marke weiter genähert.

Erneut galt das Interesse den Zirkonen im Narryer-Gneis. WILDE et al. (2001) suchten in den ca. 100 extrahierten Zirkonen nach den ältesten Exemplaren. Ein Zirkon, der ein Alter von 4,3 Ga lieferte, wurde näher untersucht. Ein „Abtasten“ des Kristalls mit dem Strahl der Ionen-Mikrosonde erbrachte für einen Teil dieses winzigen Zirkons den Spitzenwert von $4,404 \pm 0,008$ Ga – er ist damit von nun an das älteste bekannte irdische Material.

Mit der Ionen-Mikrosonde (bekannt unter dem Spitznamen SHRIMP) können gleichzeitig mehrere Uran-Blei-Zerfallsuhren gemessen werden. Dadurch ist zugleich eine Prüfung auf Konkordanz (gleiche Alterswerte) möglich. Die drei Uran-Blei-