

Abstract

Light is not only the primary source of energy for plants, but also an important environmental cue that provides information about neighboring plants and changing seasons. As sessile organisms it is of particular importance for plants to adapt to the surrounding conditions. Therefore, plants have evolved a complex light signaling network in order to sense light and convert light signals into morphological responses. During plant terrestrialization, plants had to cope with drastic changes in the light intensity and spectral composition. Therefore, it is proposed that the closest algal relatives to land plants already developed a molecular toolkit that enabled the conquest of land. Thus, comparative studies between streptophyte algae and different land plant species can help to identify mechanisms that were already present in the ancestors of land plants and therefore might have been prerequisites for terrestrialization.

Previous studies characterized the COP1/SPA complex, a key regulator of light signaling, in the bryophyte *P. patens*. The complex is well studied in angiosperms where it acts as an E3 ligase to polyubiquitinate positive regulators of light signaling in the dark, thereby marking them for degradation. Generation of *Ppcop1* and *Ppspa* mutants revealed that they also play a role in the regulation of morphological light responses in *P. patens*. One of the most striking phenotypes observed, was greening of dark-grown tissue.

In this study, I aimed to analyze the molecular mechanism underlying this phenotype. To this end, I hypothesized that the GOLDEN2-LIKE (GLK) transcription factors, as key regulators of chlorophyll biosynthesis and chloroplast development, are targeted by the COP1/SPA complex in *Physcomitrium*. Interaction studies revealed that PpCOP1a as well as PpSPAs interact with PpGLKs and that this interaction is partially mediated via PpGLKs' trans-activation domain. Thus, I tested if the trans-activation activity of GLKs is affected by the interaction with the COP1/SPA complex. Yeast trans-activation assays provided good evidence for a direct effect of the COP1/SPA complex on GLK activity. This might be a novel regulatory mechanism mediated by the COP1/SPA complex. Besides that, I also showed that PpGLK2 is degraded in darkness, thereby supporting the hypothesis that it is targeted by the COP1/SPA complex for ubiquitination.

To put this into a bigger evolutionary context, I studied the COP1/GLK interaction in the streptophyte alga *M. endlicherianum*. Interaction studies demonstrated that the interaction is partially conserved between *P. patens* and *M. endlicherianum*, suggesting that it was a prerequisite for plant terrestrialization. However, the interaction diverged to some extent during the transition from water to land, as the interaction site changed and the novel mechanism directly acting on the activity of GLKs was not found in *Mesotaenium*.

Additionally, homologs of other known COP1/SPA interactors are able to interact with MeCOP1, indicating a conserved function of the COP1/SPA complex from streptophyte algae to angiosperms.

Zusammenfassung

Licht stellt nicht nur die primäre Energiequelle für Pflanzen dar, sondern auch ein wichtiges Signal, das Informationen über die Umgebung und die Jahreszeiten liefert. Als sesshafte Organismen ist es für Pflanzen von besonderer Bedeutung, sich an die Umgebungsbedingungen anzupassen. Daher haben Pflanzen ein komplexes Signalnetzwerk entwickelt, um Licht wahrzunehmen und Lichtsignale in morphologische Reaktionen umzuwandeln. Während der Terrestrialisierung mussten Pflanzen sich an drastische Veränderungen der Lichtintensität und der spektralen Zusammensetzung anpassen. Daher wird angenommen, dass die engsten Verwandten der Landpflanzen bereits alle molekularen Voraussetzungen erfüllten, die zur Besiedlung des neuen Habitats benötigt wurden. Vergleichende Studien zwischen Streptophytenalgen und verschiedenen Landpflanzen können daher helfen, Mechanismen zu identifizieren, die essenziell für die Terrestrialisierung waren.

Frühere Studien hatten zum Ziel, den COP1/SPA-Komplex, einen Schlüsselregulator der Lichtsignaltransduktion, im Bryophyten *P. patens* zu charakterisieren. Der Komplex ist bei Angiospermen gut erforscht, wo er als E3-Ligase agiert, um positive Regulatoren der Lichtsignaltransduktion im Dunkeln zu polyubiquitinylieren und sie so für den Abbau zu markieren. Die Erzeugung und Analyse von *Ppcop1*- und *Ppspa*-Mutanten ergab, dass der COP1/SPA-Komplex auch in *P. patens* eine Rolle bei der Regulierung morphologischer Lichtreaktionen spielt. Einer der auffälligsten Phänotypen war das Ausbilden von grünen Chloroplasten im Dunkeln. Während die Protonemata des Wildtyps in im Dunkeln keine grünen Chloroplasten zeigen, entwickelten sowohl *Ppcop1*- als auch *Ppspa*-Mutanten im Dunkeln chlorophyllhaltige Chloroplasten.

In dieser Arbeit habe ich den molekularen Mechanismus analysiert, der diesem Phänotyp zugrunde liegt. Zu diesem Zweck wurde untersucht, ob die GOLDEN2-LIKE (GLK)-Transkriptionsfaktoren, als Schlüsselregulatoren der Chlorophyllbiosynthese und Chloroplastenentwicklung, in *Physcomitrium* vom COP1/SPA-Komplex reguliert werden. Interaktionsstudien haben gezeigt, dass sowohl PpCOP1a als auch PpSPAs mit PpGLKs interagieren und dass diese Interaktion teilweise über die Transaktivierungsdomäne der GLKs vermittelt wird. Dies veranlasste mich zu testen, ob die Transaktivierungsaktivität von GLKs durch die Interaktion mit dem COP1/SPA-Komplex beeinflusst wird. Hefe-Transaktivierungsassays lieferten Hinweise darauf, dass der COP1/SPA-Komplex die GLK-Aktivität direkt beeinflusst. Dies könnte ein neuartiger, durch den COP1/SPA-Komplex vermittelter, Regulierungsmechanismus sein. Darüber hinaus habe ich auch gezeigt, dass PpGLK2 im Dunkeln abgebaut wird, was die Hypothese stützt, dass GLKs Zielproteine des COP1/SPA-Komplexes sind.

Um dies in einen größeren evolutionären Kontext zu bringen, habe ich die COP1/GLK-Interaktion in der Streptophytenalge *M. endlicherianum* untersucht. Interaktionsstudien haben gezeigt, dass die COP1/GLK-Interaktion in *P. patens* und *M. endlicherianum* teilweise konserviert ist, was darauf hindeutet, dass sie essenziell für die Terrestrialisierung gewesen sein könnte. Die Interaktion änderte sich jedoch teilweise während des Übergangs vom Wasser zum Land, da sich die interagierende Domäne änderte und der neue Mechanismus, der die Aktivität von GLKs direkt beeinflusst, in Mesotaenium nicht gefunden wurde.

Darüber hinaus können Homologe anderer bekannter Interaktoren mit MeCOP1 interagieren, was auf eine konservierte Funktion des COP1/SPA-Komplexes von Streptophytenalgen bis zu Angiospermen hindeutet