

Zusammenfassung

Licht ist die Grundlage allen Lebens auf der Erde und liefert den Pflanzen nicht nur primär Energie, sondern ist auch als eine wichtige Informationsquelle anzusehen. Bereits während der Keimung des Samens übt Licht einen großen Einfluss auf die weiteren Entwicklungsprozesse und das fortwährende Wachstum der Pflanze aus. Als zentraler Repressor der Photomorphogenese ist der COP1-SPA E3 Ubiquitin-Ligase Komplex für den Abbau von Transkriptionsfaktoren verantwortlich, welche für eine rasche Lichtantwort notwendig sind. Die Aktivität des COP1-SPA Komplex wird durch die Interaktion mit Photorezeptoren reguliert, welche zur Inaktivierung des COP1-SPA Komplex beitragen. Insgesamt besitzt *Arabidopsis thaliana* vier SPA Proteine, welche gemeinsame, aber auch unterschiedliche Fähigkeiten haben die Lichtsignaltransduktion zu beeinflussen. Während SPA3 und SPA4 vor allem für das vegetative Wachstum und den Blühzeitpunkt erforderlich sind, regulieren SPA1 und SPA2 die Unterdrückung der Photomorphogenese in der Dunkelheit. Dabei zeigt insbesondere SPA2 eine starke Regulation gegenüber Lichteinwirkung. Bereits die kurze Bestrahlung des Keimlings mit Licht hat zur Folge, dass SPA2 rapide abgebaut wird, welches zur unmittelbaren Inaktivierung des COP1-SPA Komplex führt. Es wird angenommen, dass die Instabilität durch die Interaktion mit Phytochrom-Photorezeptoren hervorgerufen wird und zudem von COP1 abhängig ist. Da gezeigt werden konnte, dass der COP1-SPA Komplex ein Teil einer größeren CULLIN4 basierten E3 Ligase ist, dem CUL4-DDB1^{COP1-SPA2} Komplex, stellte sich die Frage, ob der Abbau von SPA2 ausschließlich durch COP1 vermittelt wird oder von der CULLIN4 basierten E3 Ligaseaktivität abhängig ist. In der vorliegenden Arbeit konnte die Hypothese, dass der SPA2 Abbau unabhängig von CULLIN4 (CUL4) und von der autonomen Ubiquitinierungsaktivität des COP1-SPA2 Komplexes abhängig ist, widerlegt werden. Vielmehr zeigte es sich, dass der Abbau von SPA2 einer CULLIN4 basierten E3 Ligase unterliegt. In Mutanten, bei denen die Funktion von CUL4 beeinträchtigt ist, konnten höhere SPA2 Protein Level in Dunkelheit oder ein verlangsamter SPA2 Abbau festgestellt werden. Ferner konnte gezeigt werden, dass der Abbau von SPA2 durch eine weitere CUL4- basierte E3 Ligase, dem CUL4^{COP10-DET1-DDB1} (CDD) Komplex reguliert wird. Da SPA2 mit Damaged DNA Binding 1 (DDB1) interagiert, um den CUL4-DDB1^{COP1-SPA2} Komplex zu bilden, wurde mit gezielten Punktmutationen in der SPA2 WD-Repeat Domäne versucht, SPA2 von der CUL4- basierten E3 Ligase zu trennen. Basierend auf der Idee, SPA2 und DDB1 zu separieren wurde ein mögliches helikales Motif in SPA2 identifiziert, welches die Interaktion zwischen beiden Proteinen vermitteln könnte. Aufgrund der Tatsache, dass der Abbau von SPA2 von Phytochrom A und Phytochrom B abhängig ist, sollten Interaktions-Domänen in SPA2 identifiziert werden, welche womöglich für den SPA2 Abbau verantwortlich sind. Es zeigte sich, dass Phytochrom A sowohl mit dem N-Terminus, als auch mit dem C-Terminus, hier vermutlich mit der WD-Repeat Domäne, von SPA2 interagiert. Gleichzeitig wiesen transgene Linien, die keinen funktionellen

N-terminus, oder keine WD-Repeat mehr besaßen, keinen Abbau des trunkierten Proteins mehr im Licht auf. Interessanterweise verlor die transgene SPA2 Linie, die keinen funktionellen N-terminus aufwies, die Fähigkeit Licht wahrzunehmen.