

Functional analysis of the N-terminal domain of SPA1

Abstract

Plants adapt to their light environment by regulating several key developmental processes like seedling de-etiolation and the transition from vegetative to reproductive growth. *Arabidopsis thaliana* is a facultative long day flowering plant. It has evolved mechanisms to time its flowering according to seasonal and environmental cues. There are several signaling pathways for flowering time control that can be distinguished by the environmental or developmental cues they transduce. One important pathway, the photoperiodic pathway, allows plants to time flowering according to seasonal changes. The current understanding is that plants measure day length through the integration of internal signals from the circadian clock and external light cues. The central integrator of these signals CONSTANS (CO) is controlled at the transcriptional level by the plant circadian clock and at the post-translational level by light through protein degradation in darkness. CO is targeted for degradation in darkness by the CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1/ SUPPRESSOR OF PHYA-105 (COP1/SPA) E3 ubiquitin ligase complex. SPA1 is a member of a small gene family comprising four members. Of the four SPAs, SPA1 has the most important function in flowering time control. SPA1, like COP1, contains a WD repeat domain and a coiled-coil domain. Unlike COP1 it contains a kinase-like domain. Complementation assays have shown that the N-terminal kinase-like domain of SPA1 is essential for its function in flowering time control but not for seedling de-etiolation. To further investigate the function of the N-terminal domain of SPA1, single amino acid exchanges in residues conserved in kinases were performed and used for complementation assays. These assays have revealed that some of these amino-acids are essential for SPA1 function in flowering time control and implicated in seedling de-etiolation specifically in red (R) light.

The data presented here indicate that either the putative kinase function or the kinase-like structure of SPA1 is essential for its function in photoperiodic flowering time control and the physical interaction of SPA1 with CO and COP1. Furthermore the SPA1 N-terminal domain is essential for seedling photomorphogenesis specifically in R light suggesting a function of that domain in a phyB-specific signaling pathway.

Zusammenfassung

Pflanzen passen sich den Licht Bedingungen ihrer Umwelt an indem sie verschiedene Entwicklungsprozesse so wie Keimlings De-Etiolierung und den Übergang von vegetativem zu reproduktivem Wachstum. *Arabidopsis thaliana* ist eine fakultative lang Tag Pflanze. Sie hat Mechanismen entwickelt um ihren Blühzeitpunkt der Jahreszeit und der Umwelt entsprechend zu regulieren. Es gibt mehrere Signalwege die den Blühzeitpunkt regulieren, diese unterscheiden sich nach den Umwelt- und Entwicklungssignale die sie transduzieren. Ein wichtiger Signalweg, der photoperiodische Signalweg, ermöglicht es der Pflanze ihren Blühzeitpunkt jahreszeitbedingten Änderungen anzupassen. Pflanzen messen die Tageslänge indem sie interne Signale der Zirkadianen Uhr und externe Lichtsignale integrieren. Der zentrale Integrator dieser Signale CONSTANS (CO) ist auf transkriptionaler Ebene von der Zirkadianen Uhr kontrolliert und auf post-transkriptionaler Ebene von Licht durch Proteinabbau im Dunkeln.

CO wird von dem CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENESIS 1/ SUPPRESSOR OF PHYA-105 (COP1/SPA) E3 Ubiquitin Ligase Komplex zum Abbau im Dunklen bestimmt. SPA1 ist Teil einer kleinen Genfamilie die aus vier Genen besteht. Von den vier SPAs hat SPA1 die Wichtigste Funktion in der Regulierung des Blühzeitpunktes. SPA1, wie COP1, besitzt eine WD-repeat Domäne und eine coiled-coil Domäne. Anders als COP1 besitzt es eine kinase-like Domäne. Komplementationsanalysen haben gezeigt dass die SPA1 N-terminale Domäne essenziell für die Funktion in der Regulierung des Blühzeitpunktes ist aber nicht für De-Etiolierung des Keimlings. Um die Funktion der SPA1 N-terminalen Domäne weiter zu untersuchen wurden einzelne Aminosäuren die in Kinasen konserviert sind ausgetauscht und für Komplementationsanalysen verwendet. Diese Analysen haben gezeigt dass manche dieser Aminosäuren essenziell sind für die SPA1 Funktion in der Regulierung des Blühzeitpunktes und für die De-Etiolierung des Keimlings spezifisch im rot (R) Licht.

Die hier präsentierten Daten deuten an dass entweder die putative Kinase Funktion oder die Struktur der SPA1 kinase-like Domäne essenziell ist für die Funktion in der photoperiodischen Regulierung des Blühzeitpunktes und der physischen Interaktion von SPA1 mit CO und COP1. Zudem ist die SPA1 N-terminale Domäne essenziell für die De-Etiolierung des Keimlings spezifisch im R Licht was auf eine Funktion dieser Domäne in einem phyB-spezifischen Signalweg deutet.