

Molekularbiologie der Sporenträgerentwicklung des Schimmelpilzes *Aspergillus nidulans*

Miriam Krüger, Nicole Sievers und Reinhard Fischer

Schimmelpilze sind in der Natur weit verbreitet und haben vielfältige Bedeutung für den Menschen. Sie besitzen ein sehr weites Substratspektrum und tragen als Fäulnisbewohner in großem Umfang zur Remineralisierung organischer Materie im Boden bei.

Auch in der Biotechnologie und Lebensmittelindustrie werden sie häufig eingesetzt. In der Forschung bieten sich diese leicht zu kultivierenden Mikroorganismen als Versuchsobjekte für viele biologische Fragestellungen an. Wissenschaftler fasziniert schon seit Jahrzehnten insbesondere die morphologische Differenzierung während der Sporenbildung. Inzwischen erlaubt die Anwendung moderner molekularbiologischer Techniken faszinierende Einblicke in die Steuerung dieses Entwicklungsvorgangs.

Eine zentrale Frage in der Biologie betrifft die Bildung von morphologisch differenzierten Organismen aus totipotenten Zellen, das heißt, wie aus einer befruchteten Keimzelle entsteht ein Wesen aus Tausenden von verschiedenen Zellen mit unterschiedlichen Formen und Funktionen. Diese morphogenetischen Prozesse werden an verschiedenen Modellorganismen studiert. Als solche bieten sich Organismen an, die molekularbiologischen Untersuchungen zugänglich sind, wie der Nematode *Caenorhabditis elegans*, die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*, aber auch die Hausmaus. Besonders niedere Eukaryoten, wie die Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* und der filamentöse Schimmelpilz *Aspergillus nidulans*, werden als Untersuchungsobjekte für grundlegende Prozesse benutzt.

Die erste Beschreibung der Gattung *Aspergillus* erfolgte 1729 durch den Florentiner Priester Micheli. Er betrachtete diesen Schimmelpilz und beobachtete eine Struktur, die ihn an einen Weihwedel, einen *Aspergill*, erinnerte, und gab ihm den Namen *Aspergillus*. Heute wissen wir, daß er die asexuelle Vermehrungs-

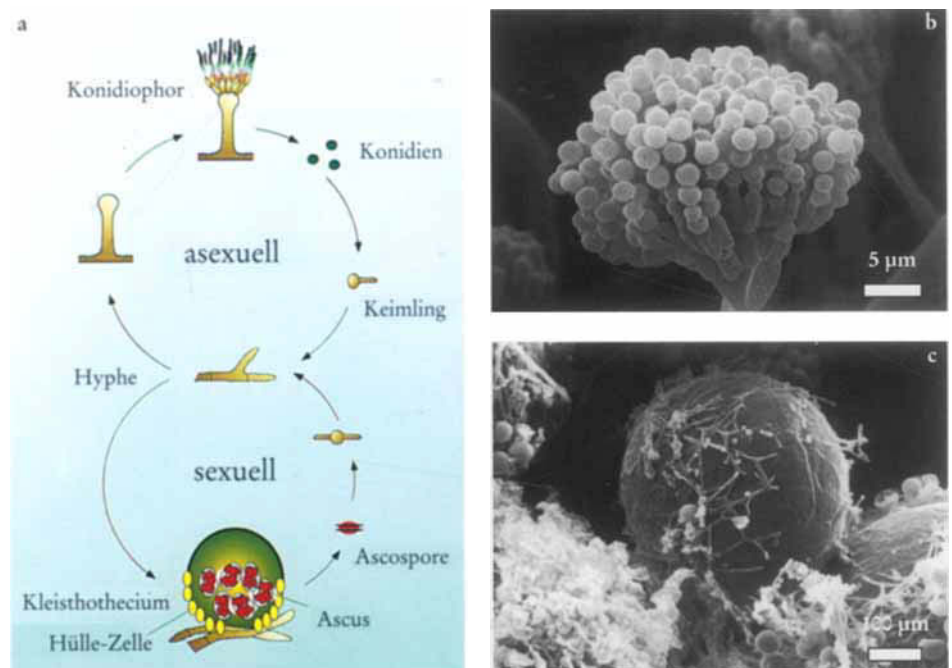


Abb. 1. Entwicklungszyklus des filamentösen Bodenpilzes *Aspergillus nidulans*. (a) Schematische Darstellung des asexuellen und des sexuellen Vermehrungszyklus. (b) Ein Wildtyp-Sporenträger (Konidiophor) und (c) ein reifer Fruchtkörper (Kleistothecium) beobachtet im Rasterelektronenmikroskop.

form des Pilzes, den Sporenträger (Konidiphor), vor Augen hatte (Abbildungen 1a und b). Der Artname „*nidulans*“ (der Nistende) bezieht sich auf die sexuellen Fruchtkörper (Kleistothecien), da diese in eine nestartige Struktur, die „Hülle Zellen“ (dickwandige, sterile Zellen), eingebettet sind (Abbildung 1c). Die sexuelle Form des Pilzes wird auch als *Emericella nidulans* bezeichnet, was die wissenschaftlich korrekte Benennung des Organismus wäre. Allerdings ist der Name *Aspergillus nidulans* heute wesentlich gebräuchlicher.

Als Modellorganismus für die biologische Grundlagenforschung wurde *A. nidulans* in den 40er Jahren durch G. Pontecorvo in Glasgow [16] etabliert. Der Pilz ist auf künstlichen Nährmedien im Labor leicht kultivierbar und wächst, ausgehend von einer Spore (Konidie), innerhalb von 48 h zu einer pfenniggroßen Kolonie heran. Während dieser Zeit ist auch schon die Bildung von Tausenden neuer, grüner Konidien erfolgt, welche die gesamte Kolonie grün färben. Die gebildeten Konidiosporen können leicht mit Wasser von der Agarplatte abgespült und als Inokulum für Flüssigkulturen verwendet werden. Die Konidien sind einzellig, einkernig und haploid. Sie sind hervorragend für Mutageneseexperimente geeignet, da Effekte einer Mutation oft direkt bei den aus den Konidien auswachsenden Kolonien sichtbar sind. Der entscheidende Vorteil von *A. nidulans* gegenüber anderen Schimmelpilzen ist aber, daß er auch einen sexuellen Vermehrungszyklus durchlaufen kann (Abbildung 1a). Obwohl *A. nidulans* homothallich ist (ein Partner ist für den sexuellen Zyklus nicht nötig), können auch zwei genetisch verschiedene Stämme miteinander gekreuzt werden. Dann kommt es innerhalb von 10 bis 14 Tagen zur Fruchtkörper- und Sporenbildung. Die entstehenden haploiden Ascosporen sind sehr widerstandsfähige Zellen, die dem im Boden lebenden Pilz das Überdauern von widrigen Umweltbedingungen gewährleisten.

Mittels klassischer Mutagenese und anschließenden Kreuzungsversuchen wurden seit den 60er Jahren mehr als 350 Gene von *A. nidulans* identifiziert und auf seinen acht Chromosomen lokalisiert. Seit den 80er Jahren ist der Pilz auch molekularbiologischen Techniken zugänglich. Gene können durch DNA-Transfektion in *A. nidulans* eingebracht und exprimiert oder auch gezielt ausgeschaltet werden, um anschließend den Phänotyp der transformierten Stämme zu

studieren. Somit sind in *A. nidulans* alle Voraussetzungen gegeben, um biologische Fragen auf morphologischer, biochemischer, genetischer und molekularbiologischer Ebene zu untersuchen [20].

Die asexuelle Entwicklung

Die morphologischen Veränderungen während der Bildung der Sporenträger (Konidiphoren) können leicht mit einem Binokular verfolgt werden. Bevor diese Entwicklung jedoch eingeleitet wird, müssen die aus den Konidien gebildeten vegetativen Hyphen zunächst mindestens 20 h wachsen. Sie benötigen diese Zeit, um „entwicklungskompetent“ zu werden. Eine weitere Voraussetzung ist, daß die Hyphen mit Luft in Berührung kommen und dem Tageslicht ausgesetzt sind. Diese Signale gewährleisten beim Wachstum auf organischem Substrat, daß die Sporenträger ihre Sporen zur Verbreitung in den Luftraum abgeben können.

Die erste morphologische Veränderung nach der Induktion der Konidienträgerentwicklung ist die Bildung einer dickwandigen speziellen Hyphenzelle, der Fußzelle. Diese Zelle bringt eine spezialisierte Lufthyphye hervor, die senkrecht zum Substrat wächst. Diese Struktur weist ein begrenztes Längenwachstum auf. Nachdem das Stielchen eine Länge von etwa 50 – 70 Mikrometer erreicht hat, schwillt es terminal an und bildet das Vesikel (Abbildung 2a). Jetzt erfolgt ein Umschalten des Wachstumsprozesses. Während eine Substrathyphye nur an der Spitze wächst, kommt es an der Oberfläche des Vesikels zu einem hefeähnlichen Knospungswachstum (Abbildung 2b). Es wird eine erste Lage von Einzelzellen, die primären Sterigmata (Metulae), gebildet. Ausgehend von diesen Zellen entsteht wiederum durch Knospung eine zweite Zellgeneration, die sekundären Sterigmata (Phialiden, Abbildung 2c). Diese produzieren kontinuierlich einzellige Sporen, die Konidien (Abbildung 2d). Im Gegensatz zu den septierten, aber mehrkernigen Hyphenzellen enthalten Metulae, Phialiden und Konidien nur einen einzigen Zellkern. Die Konidien sind durch imprägnierte und pigmentierte Zellwände speziell für ihre Aufgabe als Verbreitungsform ausgebildet [8, 21, 22].

Isolierung von Entwicklungsmutanten

Um die morphologischen Veränderungen während der Bildung der Konidiphoren auf

genetischer und molekularer Ebene zu verstehen, wurden zahlreiche Entwicklungsmutanten isoliert [7]. Zur Erzeugung der Mutanten wurden haploide Konidien mit ultravioletter Strahlung oder chemischen Agenzien (zum Beispiel Diethylsulfat) behandelt und die auswachsenden Kolonien untersucht (Abbildung 3). Erste Hinweise auf die Abfolge der Genaktivitäten während der Entwicklung ergaben Experimente mit Doppelmutanten. Die Zahl der an der Entwicklung beteiligten Gene wurde aufgrund der Zahl der erhaltenen Mutanten auf 45 – 150 geschätzt. Neuere Untersuchungen gehen allerdings davon aus, daß mehr als 1000 Gene während der morphogenetischen Veränderungen differentiell reguliert werden.

Ein Meilenstein in der Untersuchung der Konidiphorenentwicklung war die erfolgreiche DNA-abhängige Transfektion von *A. nidulans* in den frühen 80er Jahren: Uracil-auxotrophe Mutanten, in denen die Orotidine-5'-Phosphat-Decarboxylase defekt war, wurden durch ein entsprechendes Gen genetisch komplementiert, so daß die Transformanten in Abwesenheit von Uracil und Uridin wieder wachsen konnten [5]. Abwandlungen dieser Technik ermöglichten dann das Klonieren der durch Mutation entdeckten Entwicklungsgene und ihre molekulare Analyse. Auch alternative Methoden, wie die reverse Genetik [19], konnten nun zur Suche nach Genen, die für die Morphogenese der Konidiphoren von *A. nidulans* verantwortlich sind, genutzt werden.

Was induziert die Entwicklung?

Die sehr frühen Vorgänge der Konidienträgerbildung sind bisher noch nicht verstanden. Die ersten molekularen Erkenntnisse über frühe Entwicklungsvorgänge wurden durch die Analyse von Mutanten erhalten, die anstelle von Konidiphoren nur undifferenziertes Luftmyzel produzieren. Die Kolonien erhalten dadurch ein watteartiges Aussehen und werden *fluffy* genannt (Abbildung 3). Mutanten, in denen das *fluG*-Gen defekt ist, zeigen deutlich den *fluffy*-Phänotyp [11]. Wachsen diese Kolonien aber in unmittelbarer Nachbarschaft zu Wildtypkolonien, dann können auch die *fluG*-Stämme Konidien bilden. Eine Membran, die nur Moleküle mit einer Größe von weniger als 6000 Dalton durchläßt, behindert diese Wirkung der Nachbarkolonie nicht. Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß diffundierende, niedermolekulare Substanzen an der Induktion der

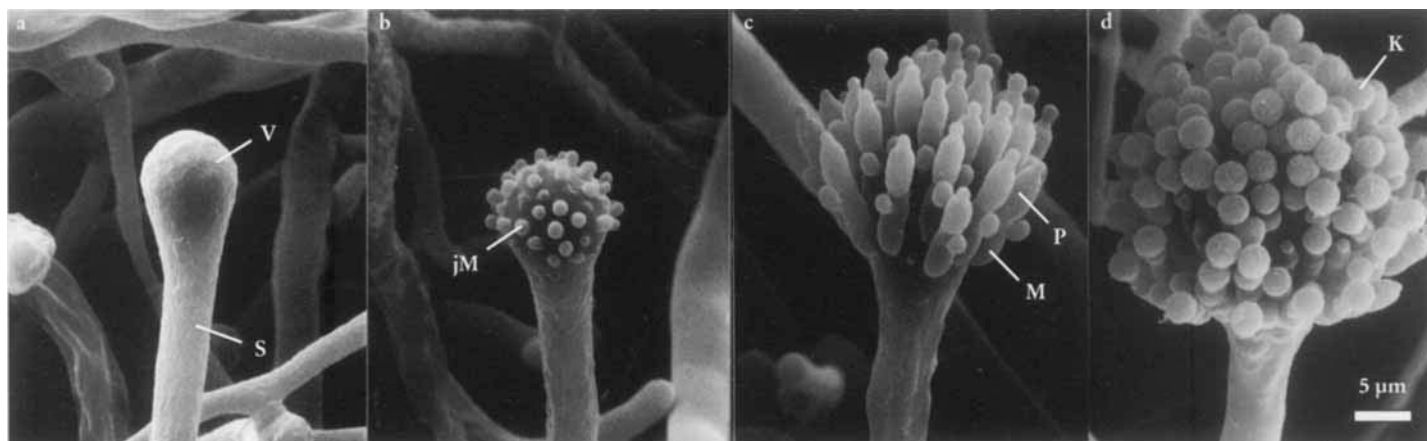


Abb. 2. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Konidiophorbildung. (a) Konidiophorstielchen (S) mit terminalem Vesikel (V); (b) junge Metulae (jM) knospen aus dem Vesikel; (c) Metulae (M) und Phialiden (P) sind ausgeprägt, seitlich knospen weitere Phialiden aus den Metulae hervor; (d) ein reifer Konidiophor trägt mehrere tausend Konidien (K). (Entnommen aus [9]).

Entwicklung beteiligt sind. Das *fluG*-Gen codiert für ein Protein, das Ähnlichkeit zur Glutaminsynthetase hat. Dieses könnte also an der Bildung einer ammoniumhaltigen Signalverbindung beteiligt sein.

Über die Funktion eines weiteren *fluffy*-Gens, *flbA*, wurde vor kurzem ebenfalls aufgrund von Sequenzanalysen spekuliert [24].

Dieses Gen codiert für ein Protein, welches mit einem G-Protein interagieren und dessen Aktivität regulieren kann. G-Proteine sind zentrale Moleküle in Signaltransduktionskaskaden, die eine Verbindung zwischen Umweltsignalen und Zellinnerem herstellen (vergleiche BIUZ 25, 44). Auch das *flbA*-Gen weist also auf eine Signalperzeption, -weiterleitung und -verarbeitung während der Entwicklung hin. Ein Gen, das für eine Untereinheit eines G-Proteins in *A. nidulans* codiert, wurde ebenfalls kürzlich entdeckt. Eine Mutation in diesem Gen führt zu konstitutiver Aktivität der α -Untereinheit dieses Proteins, was offensichtlich einen Stop der Entwicklung bewirkt und zum *fluffy*-Phänotyp führt.

Aus diesen Ergebnissen wurde gefolgert, daß das G-Protein im Wildtyp in einem frühen Entwicklungsstadium durch *flbA* in der Aktivität gedrosselt wird, um die weitere Differenzierung zu ermöglichen. Die genauen Zusammenhänge und die Funktion einiger weiterer *fluffy*-Gene sind bisher noch nicht verstanden. Durch diese frühen Gene wird ein zentraler Transkriptionsaktivator (*bristle*) angeschaltet, der seinerseits eine Kaskade von Ereignissen auslöst.

Regulatorische Gene

Das *bristle*-Gen

J. Clutterbuck isolierte 1969 eine Reihe von Mutanten, welche die Konidienträgerbildung zwar noch initiierten, deren Weiterentwicklung aber auf verschiedenen Stufen verharrete. Ein solcher, sehr rudimentärer Konidienträger wurde in der *bristle*-Mutante beobachtet (Abbildung 4a). Sie besteht nur aus einem Stielchen ohne Vesikel, was den Mutantenkonidiophoren ein borstenartiges Aussehen ver-

leiht und zum Namen der Mutante, *bristle* (Borste), führte. Das entsprechende *bristle*-Gen (*brlA*) codiert für ein Zinkfinger-Protein (diese Proteindomäne vermittelt den Kontakt zur DNA) und besitzt transkriptionsaktivierende Funktion. Die Organisation des Gens ist jedoch komplexer als ursprünglich vermutet (Abbildung 4b). Der Genort besteht nämlich aus zwei überlappenden Transkripten [15]. Beide Transkripten sind in den Hyphen nur in verschwindend geringen Mengen nachweisbar und werden erst nach der Induktion der Konidienträgerentwicklung verstärkt



Abb. 3. Entwicklungsmutanten von *A. nidulans*.

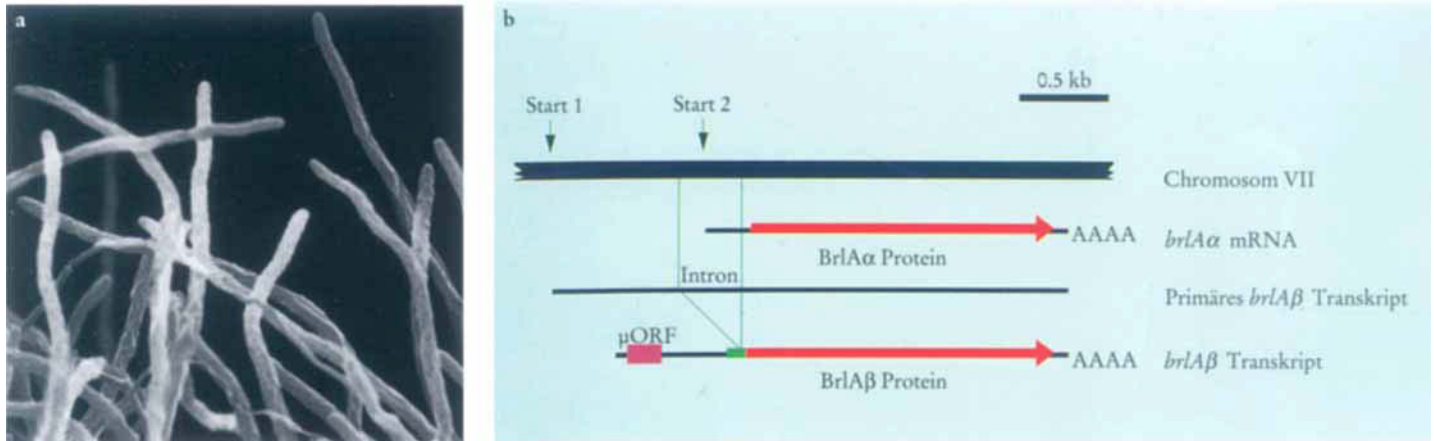


Abb. 4. (a) Die *bristle* Mutante beobachtet im Rasterelektronenmikroskop. Es werden nur Konidiophorstielchen gebildet. (b) Molekulare Organisation des *bristle* Genortes. Es werden zwei unterschiedlich lange Transkripte *brlAα* und *brlAβ* abgelesen. Der Transkriptionsstart von *brlAα* liegt in einem Bereich, der in *brlAβ* durch Spleißen entfernt wird (Intron). Die codierten BrlA-Genprodukte unterscheiden sich nur am N-Terminus durch ein 23 Aminosäuren langes Peptid. Die Translation von *BrIAβ* wird wahrscheinlich durch einen kleinen offenen Leserahmen (μ ORF) reguliert.

exprimiert. Die β -Form (*BrIAβ*) unterscheidet sich von der α -Form durch 23 zusätzliche Aminosäuren am N-Terminus. Die Expression der beiden alternativen Proteine ist verschieden. Die Translation der β -Form ist in den Hyphen blockiert [1]. Dafür ist wahrscheinlich ein kleiner offener Leserahmen im 5'-Bereich der β -mRNA verantwortlich. Es wird spekuliert, daß die Expression des kleinen offenen Leserahmens die Induktion der Entwicklung reguliert. Wenn dieser RNA-Abschnitt nicht translatiert wird, kann das *BrIAβ*-Genprodukt gebildet werden und induziert die Expression eines *abaA*-Gens (siehe unten), welches wiederum die Expression von *brlAα* verstärkt. Dadurch kommt es schnell zu einer Signalamplifikation. Die exakte Funktion der beiden leicht unterschiedlichen BrlA-Proteine ist noch nicht klar. Allerdings reicht das Vorhandensein von *BrIAα* oder *BrIAβ* allein nicht zum Auslösen der kompletten Genkaskade aus, und es kommt zu deformierten Konidiophoren. Die Funktionen der beiden Proteine sind jedoch redundant, da zwei Kopien von *BrIAβ* den Verlust von *BrIAα* ausgleichen können.

Das *abacus*-Gen

Obwohl die genaue Abfolge der beschriebenen Ereignisse noch nicht aufgeklärt ist, ist das Ergebnis doch offensichtlich. Die Aktivität des *brlA*-Genortes führt zur Aktivierung eines zweiten Transkriptionsaktivators, nämlich *abacus* (Abbildung 5). Das Gen (*aba*) erhielt seinen Namen ebenfalls aufgrund des

Aussehens der Konidiophoren in der *abacus*-Mutante (Abbildung 6). Diese Mutantensämme sind in ihrer Entwicklung auf der Stufe der Phialiden gestört. Die Phialiden differenzieren sich nicht, sondern proliferieren, so daß lange Ketten von Zellen entstehen. Da diese Zellen teilweise kugelig angeschwollen sind, erinnern sie an eine chinesische Rechenmaschine, einen *Abacus*. Das *Abacus*-Protein wurde intensiv untersucht. Es besitzt eine DNA-bindende Domäne, die auch in anderen Transkriptionsfaktoren, wie dem humanen TEF-1, gefunden wurde. Es bindet innerhalb von Promotoren an eine spezifische Nukleotidsequenz (5'-CATTTCY-3') und führt zur Transkriptionsaktivierung der entsprechenden Gene, die an der Entwicklungskaskade

beteiligt sind [2]. Durch die Aktivität dieser durch *abaA* regulierten Gene kommt es zur Differenzierung der Phialiden. Die in der Pigmentbiosynthese beteiligten Gene *white* and *yellow* sind zwei der durch *abaA* regulierten Gene (Abbildung 5).

wetA und weitere Gene

Ein weiteres Gen in der zentralen Entwicklungskaskade könnte das *wetA*-Gen sein. Mutanten, in denen dieses Gen defekt ist, bilden zwar noch Konidien, diese reifen aber nicht vollständig aus und lysieren nach einiger Zeit (Abbildung 7) [12, 17]. Es entstehen dadurch in den Konidiophorköpfen Flüssigkeitstropfen, was zu dem Namen *wet* führte.

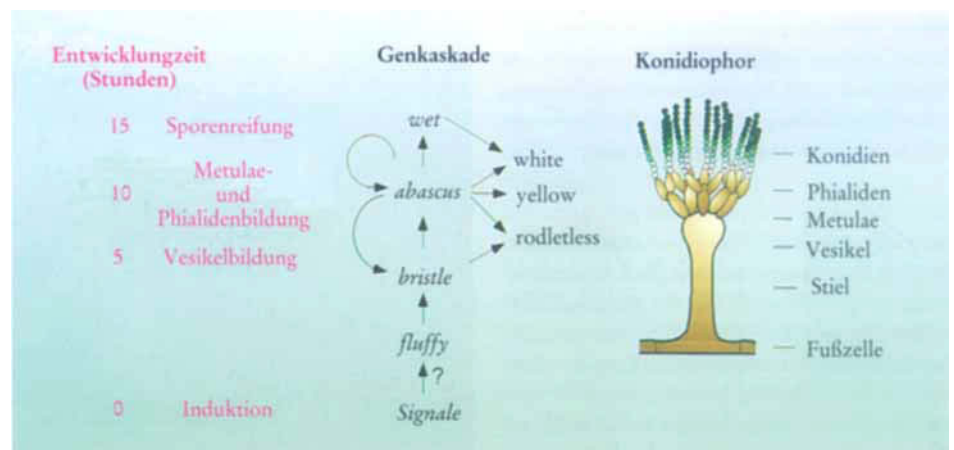


Abb. 5. Regulation der asexuellen Entwicklung in *A. nidulans*.

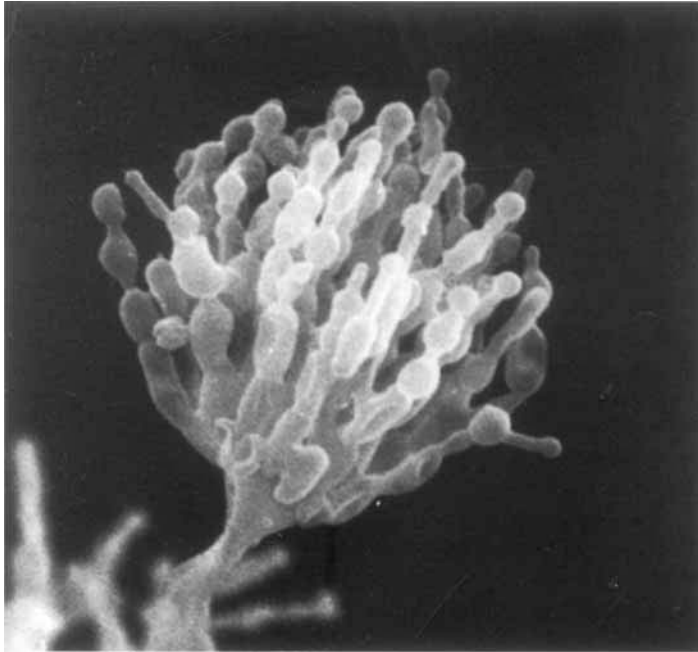


Abb. 6. Konidiophor einer *abacus*-Mutante. Eine Differenzierung der Phialiden bleibt aus. Stattdessen werden mehrere Lagen dieses Zelltyps gebildet.

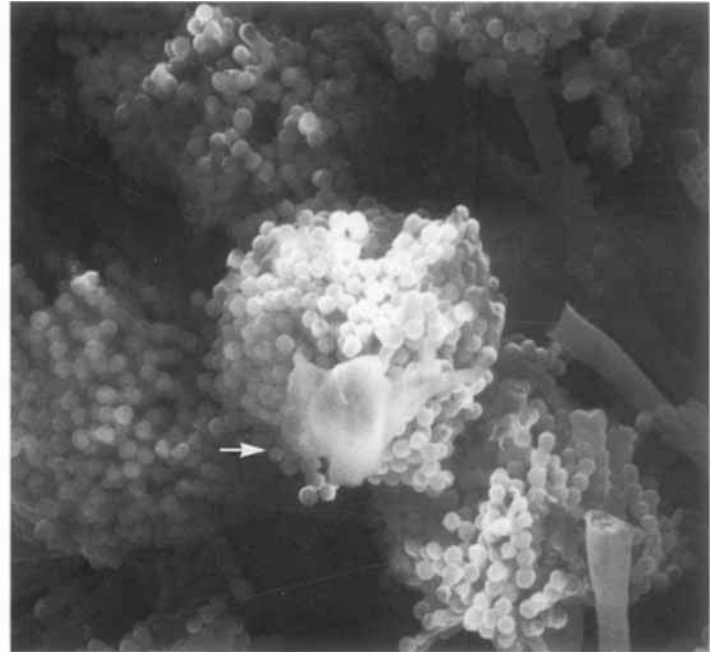


Abb. 7. Rasterelektronenmikroskopische Betrachtung eines Konidiophors einer *wet*-Mutante. Die Sporen lysieren und hinterlassen einen Flüssigkeitstropfen auf dem Konidiophor (Pfeil).

Dieses Gen ist weniger gut charakterisiert, seine Aktivität scheint aber für die Expression weiterer Gene notwendig zu sein (Abbildung 5). Ob es sich dabei tatsächlich um einen Transkriptionsaktivator handelt, ist nicht bekannt.

Neben den Komponenten dieser linearen Signalamplifikationskaskade wurden zwei weitere Gene isoliert, *stunted* (*stuA*) und *medusa* (*medA*), die ebenfalls für die Ausbildung des Konidiophors notwendig sind. Obwohl *stuA* auch für einen Transkriptionsfaktor codiert, ist die genaue molekulare Funktion sowie das Zusammenspiel mit den anderen Regulatoren noch unklar [6, 14].

Außer den bisher beschriebenen regulatorischen Genen sind auch eine Vielzahl von Strukturgenen für die Morphogenese des Konidiophors sowie für die Reifung der Konidiosporen erforderlich.

UV-Schutz und Hydrophobizität

Während der Konidienbildung wird ein Stoffwechselweg angeschaltet, der zur Bildung des grünen Pigments, wahrscheinlich eines Polyketidderivats, führt [13]. Bleibt die Synthese des Pigments aus, weil das Enzym Polyketidsynthase fehlt, so erscheinen die

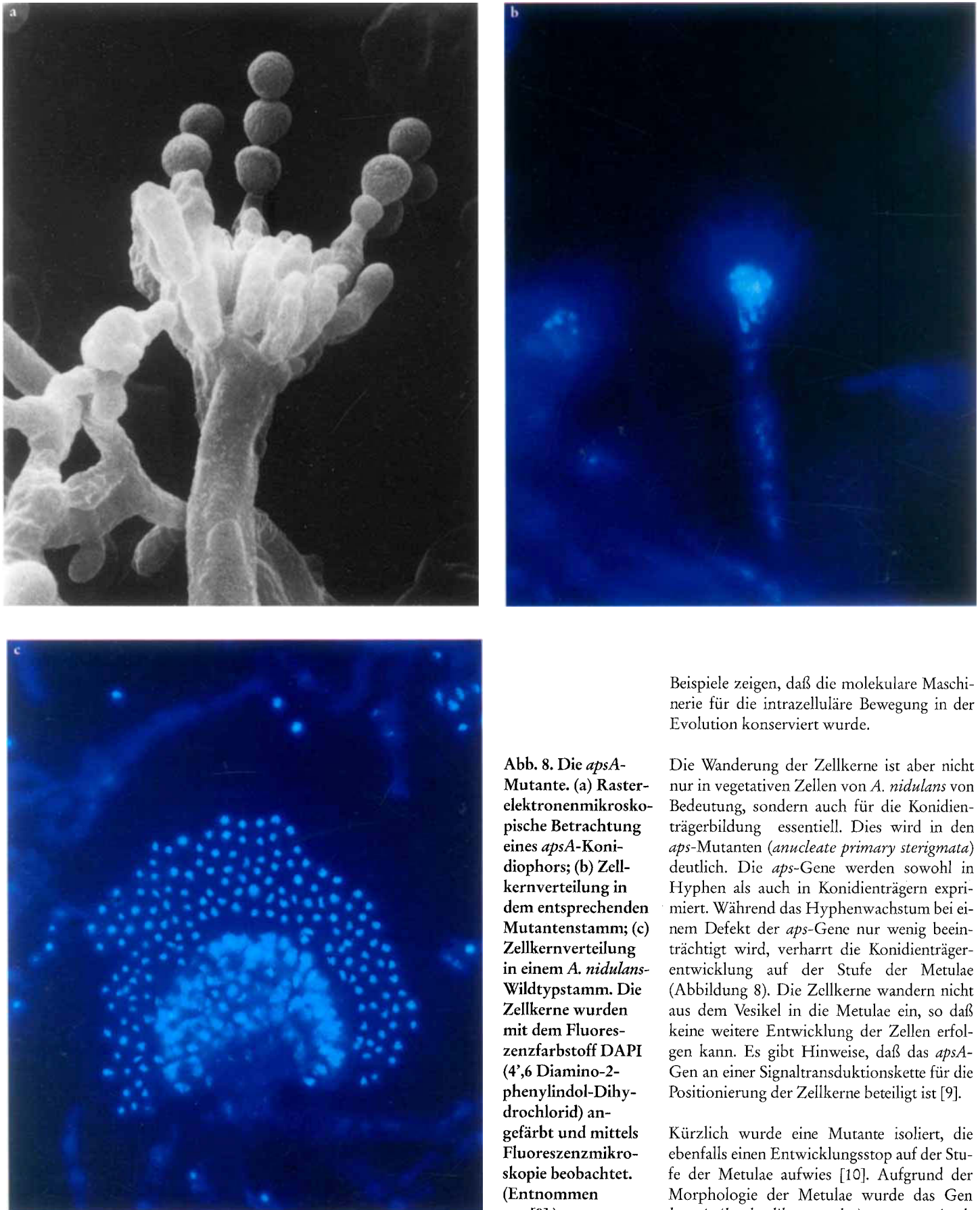
Konidien weiß (Abbildung 3). Die Polyketidsynthase wird durch das Gen *white* (*wA*) codiert. Fehlt das *yellow*-Genprodukt (*yA*) in der Synthesekette, das für eine Laccase codiert, so wird nur eine gelbe Vorstufe des Pigments gebildet [4]. *A. nidulans*-Stämme, in denen sowohl *wA* als auch *yA* mutiert sind, bilden weiße Kolonien. Daraus wurde geschlossen, daß das Enzym, das von *wA* codiert wird, in der Pigmentbiosynthese vor dem Enzym, das von *yA* codiert wird, benötigt wird. *wA* ist also „epistatisch“ (eine Erbanlage überdeckt die andere) gegenüber *yA* (siehe „Das Experiment“ in diesem Heft).

Die unterschiedlichen Farbmутanten sind ideale Marker, die in Kreuzungsanalysen benutzt werden können. Die Funktion des grünen Konidienpigments liegt wahrscheinlich darin, die Spore vor der DNA-schädigenden ultravioletten Strahlung zu schützen [3].

Eine weitere Maßnahme, die Sporen für ihre Aufgabe als Verbreitungseinheit zu präparieren, ist die Einlagerung spezieller Proteine, der Hydrophobine, in die Konidienzellwand. Diese kleinen Proteine sind besonders hydrophob und verleihen den Konidien damit eine wasserabweisende Oberfläche. Fehlen diese Proteine, dann sind die Konidien benetzbar [19].

Kopplung mit anderen Zellvorgängen

Den bisher genannten Genen ist gemeinsam, daß sie meist nur während der Entwicklung induziert und benötigt werden. Neben diesen Genen gibt es aber auch weitere Gene, die sowohl während des vegetativen Wachstums von Bedeutung sind als auch während der asexuellen Entwicklung spezifische Aufgaben erfüllen. Ein Beispiel dafür sind Gene, die an der Zellkernwanderung beteiligt sind. Kernwanderung ist ein wichtiges Phänomen, das zur gleichmäßigen Verteilung dieser Organellen in den Hyphen führt. In einigen Mutanten, in denen die Zellkernwanderung beeinträchtigt ist, bilden die Konidien nur sehr kurze Keimschläuche und wachsen deshalb nicht weiter. Diese Gene sind also für das Hyphenwachstum essentiell. Das *nudA*-Gen (*nuclear distribution*) codiert für das Motorprotein Dynein und ist wahrscheinlich für die Transformation von chemischer in mechanische Energie notwendig. Interessanterweise besitzt ein anderes dieser Gene, *nudF*, Homologie zu einem menschlichen Gen [23], dessen Ausfall zu einer Mißbildung des Gehirns führt. Für ein anderes Gen dieser Klasse, *nudC*, wurden auch in *Drosophila melanogaster*, in *Caenorhabditis elegans* und in *Rattus norvegicus* homologe Gene entdeckt. Diese



Beispiele zeigen, daß die molekulare Maschinerie für die intrazelluläre Bewegung in der Evolution konserviert wurde.

Abb. 8. Die *apsA*-Mutante. (a) Rasterelektronenmikroskopische Betrachtung eines *apsA*-Konidiophors; (b) Zellkernverteilung in dem entsprechenden Mutantenstamm; (c) Zellkernverteilung in einem *A. nidulans*-Wildtypstamm. Die Zellkerne wurden mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI (4',6 Diamino-2-phenylindol-Dihydrochlorid) angefärbt und mittels Fluoreszenzmikroskopie beobachtet. (Entnommen aus [9].)

Die Wanderung der Zellkerne ist aber nicht nur in vegetativen Zellen von *A. nidulans* von Bedeutung, sondern auch für die Konidienträgerbildung essentiell. Dies wird in den *aps*-Mutanten (*anucleate primary sterigmata*) deutlich. Die *aps*-Gene werden sowohl in Hyphen als auch in Konidienträgern exprimiert. Während das Hyphenwachstum bei einem Defekt der *aps*-Gene nur wenig beeinträchtigt wird, verharrt die Konidienträgerentwicklung auf der Stufe der Metulae (Abbildung 8). Die Zellkerne wandern nicht aus dem Vesikel in die Metulae ein, so daß keine weitere Entwicklung der Zellen erfolgen kann. Es gibt Hinweise, daß das *apsA*-Gen an einer Signaltransduktionskette für die Positionierung der Zellkerne beteiligt ist [9].

Kürzlich wurde eine Mutante isoliert, die ebenfalls einen Entwicklungsstopp auf der Stufe der Metulae aufwies [10]. Aufgrund der Morphologie der Metulae wurde das Gen *hymA* (*hypha-like metulae*) genannt. Auch

dieses Gen wird sowohl in Hyphen als auch spezifisch in dem Konidiphor benötigt. Eine genaue molekulare Funktionsanalyse des Genproduktes liegt noch nicht vor.

Ein weiteres Beispiel für Proteine, die im vegetativen Wachstum und während der Konidienträgerentwicklung spezifische Funktionen erfüllen, sind Chitinsynthasen. Da die Zellwände von *A. nidulans* bis zu 40 % aus Chitin bestehen, sind diese Enzyme für die Zellwandbiosynthese essentiell. Es wurden mindestens fünf verschiedene Gene mit gleichartigen Funktionen in *A. nidulans* entdeckt. Ein Ausfall einiger Synthesen führt zu spezifischen Defekten während der Konidienträgerentwicklung, während Mutationen in anderen Chitinsynthasen keinen offensichtlichen Phänotyp hervorrufen [18].

Ausblick

Die asexuelle Entwicklung von *A. nidulans* wird seit etwa 30 Jahren wissenschaftlich untersucht. Erst die Anwendung von molekularbiologischen Methoden hat einen Einblick in die Komplexität des Geschehens geliefert (Abbildung 5). Noch ist die Entwicklung nur in Ansätzen verstanden, und es bleibt eine Herausforderung, die Zusammenhänge und das Zusammenspiel der einzelnen Komponenten, die jetzt isoliert wurden, zu entschlüsseln. Neben der Aufklärung des asexuellen Entwicklungszyklus von *A. nidulans* wird es auch Aufgabe zukünftiger Forschungen sein, die Regulation des sexuellen Zyklus sowie die Umschaltung zwischen asexueller und sexueller Vermehrung zu verstehen.

Ein weiterer Meilenstein für das Verständnis der Entwicklungsbiologie von *A. nidulans* wird vermutlich die Aufklärung der gesamten genomischen Sequenz sein. Im Sommer 1997 wurde mit der Entschlüsselung des 31 Megabasen (etwa $3,1 \cdot 10^7$ Basenpaare) großen Genoms von *A. nidulans* begonnen. Im letzten Jahr wurde das Genom der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* als erstem Eukaryoten vollständig sequenziert. Dieses Genom ist nur halb so groß wie das von *A. nidulans* und codiert etwa 6000 Gene. Die in *A. nidulans* zusätzlich erwarteten Gene (insgesamt etwa 10 000) sind wahrscheinlich zu einem großen Teil an Prozessen beteiligt, die in der Hefe nicht vorkommen, wie beispielsweise die Konidienträgerbildung.

Aspergillus nidulans as a model organism to study development in lower eukaryotes

The euascomycete *Aspergillus nidulans* reproduces asexually and sexually. The asexual propagation has been studied for more than 30 years. About 1200 genes are assumed to be required to produce the morphological changes associated with spore formation in the asexual cycle. A signal amplifying cascade of transcriptional activators as well as some structural genes have been identified by mutagenesis and molecular cloning.

Danksagung

Wir danken den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. G. Kost für die Hilfe bei der Anfertigung der rastermikroskopischen Aufnahmen. Das Bild in Abbildung 1b wurde von D. Galetzka aufgenommen. Unser Dank gilt auch Dr. Erika Kothe und Dr. Ulrike Harms für hilfreiche Kommentare zum Manuskript. Die Forschung wurde unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und das Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie in Marburg.

Literatur

- [1] T. H. Adams, W. E. Timberlake (1990) Upstream elements repress premature expression of an *Aspergillus* developmental regulatory gene. *Mol. Cell. Biol.* **10**, 4912–4919.
- [2] A. Andrianopoulos, W. E. Timberlake (1994) The *Aspergillus nidulans* *abaA* gene encodes a transcriptional activator that acts as a genetic switch to control development. *Mol. Cell. Biol.* **14**, 2503–2515.
- [3] R. Aramayo, T. H. Adams, W. E. Timberlake (1989) A large cluster of highly expressed genes is dispensable for growth and development in *Aspergillus nidulans*. *Genet.* **122**, 65–71.
- [4] R. Aramayo, W. E. Timberlake (1990) Sequence and molecular structure of the *Aspergillus nidulans* *γA* (laccase I) gene. *Nucl. Acids. Res.* **18**, 3415.
- [5] D. J. Balance, F. P. Buxton, G. Turner (1983) Transformation of *Aspergillus nidulans* by the orotidine-5'-phosphate decarboxylase gene. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **112**, 284–289.

[6] T. M. Busby, K. Y. Miller, B. L. Miller (1996) Suppression and enhancement of the *Aspergillus nidulans* *medusa* mutation by altered dosage of the *bristle* and *stunted* genes. *Genet.* **143**, 155–163.

[7] A. J. Clutterbuck (1969) A mutational analysis of conidial development in *Aspergillus nidulans*. *Genet.* **63**, 317–327.

[8] A. J. Clutterbuck, W. E. Timberlake (1992) Genetic regulation of sporulation in the fungus *Aspergillus nidulans*. In: V. E. A. Russo, S. Brody, D. Cove, S. Ottolenghi (Hrsg.): *Development: The molecular genetic approach*. Springer Verlag, Berlin, 103–120.

[9] R. Fischer, W. E. Timberlake (1995) *Aspergillus nidulans* *apsA* (anucleate primary sterigmata) encodes a coiled-coil protein necessary for nuclear positioning and completion of asexual development. *J. Cell. Biol.* **128**, 485–498.

[10] M. Karos, R. Fischer (1996) *hymA* (hypha-like metulae), a new developmental mutant of *Aspergillus nidulans*. *Microbiol.* **142**, 3211–3218.

[11] B. N. Lee, T. H. Adams (1994) The *Aspergillus nidulans* *fluG* gene is required for production of an extracellular developmental signal and is related to prokaryotic glutamine synthetase I. *Genes Dev.* **8**, 641–651.

[12] M. A. Marshall, W. E. Timberlake (1991) *Aspergillus nidulans* *wetA* activates spore-specific gene expression. *Mol. Cell. Biol.* **11**, 55–62.

[13] M. E. Mayorga, W. E. Timberlake (1992) The developmentally regulated *Aspergillus nidulans* *wA* gene encodes a polypeptide homologous to polyketide and fatty acid synthases. *Mol. Gen. Genet.* **235**, 205–212.

[14] K. Y. Miller, J. Wu, B. L. Miller (1992) *StuA* is required for cell pattern formation in *Aspergillus*. *Genes Dev.* **6**, 1770–1782.

[15] R. Prade, W. E. Timberlake (1993) The *Aspergillus nidulans* *brlA* regulatory locus consists of two overlapping transcription units that are individually required for conidiphore development. *EMBO J.* **12**, 2439–2447.

[16] G. Pontecorvo, J. A. Roper, L. M. Hemmons, K. D. MacDonald, A. W. J. Bufton

(1953) The genetics of *Aspergillus nidulans*. *Advances in Genetics* 5, 141–238.

[17] T. C. Sewall, C. W. Mims, W. E. Timberlake (1990) Conidium differentiation in *Aspergillus nidulans* wild-type and wet-white (*wet*) mutant strains. *Dev. Biol.* 138, 499–508.

[18] C. A. Specht et al. (1996) The *chsD* and *chsE* genes of *Aspergillus nidulans* and their roles in chitin synthesis. *Fungal Genet. Biol.* 20, 153–167.

[19] M. A. Stringer, R. A. Dean, T. C. Sewall, W. E. Timberlake (1991) *Rodletless*, a new *Aspergillus* developmental mutant induced by directed gene inactivation. *Genes Dev.* 5, 1161–1171.

[20] W. E. Timberlake, M. A. Marshall (1989) Genetic engineering of filamentous fungi. *Science* 244, 1313–1317.

[21] W. E. Timberlake (1990) Molecular genetics of *Aspergillus* development. *Ann. Rev. Genet.* 24, 5–36.

[22] W. E. Timberlake (1993) Molecular controls of conidiogenesis in *Aspergillus nidulans*. In: H. van den Bossche, D. Kerridge, F. Odds (Hrsg.): *Dimorphic fungi in biology and medicine*. Plenum Press, New York, 13–22.

[23] X. Xiang, A. H. Osmani, S. A. Osmani, M. Xin, N. R. Morris (1995) *NudF*, a nuclear migration gene in *Aspergillus nidulans*, is similar to the human *LIS-1* gene required for neuronal migration. *Mol. Biol. Cell* 6, 297–310.

[24] J.-H. Yu, J. Wieser, T. H. Adams (1996) The *Aspergillus* FlbA RGS domain protein antagonizes G-protein signaling to block proliferation and allow development. *EMBO J.* 15, 5184–5190.

Zu den Autoren



Miriam Krüger, geb. 1968, studierte Pharmazie an der Philipps-Universität Marburg. 1993 3. Staatsexamen und Approbation zur Apothekerin. Seit 1994 Promotion am Fachbereich Biologie, Laboratorium für Mikrobiologie, mit dem Thema: „Zellkernwanderung in *Aspergillus nidulans*: Isolierung und Charakterisierung von zwei *apsA*-Suppressorgen“.



Nicole Sievers, geb. 1970, studierte Biologie an der Universität Bayreuth und der Philipps-Universität Marburg. 1995 Diplom mit Schwerpunkt Mikrobiologie. Die Diplomarbeit mit dem Titel „Funktionelle und immunologische Charakterisierung chromatographisch trennbarer Aktivitäten des humanen Transkriptionsfaktors IIIb“ wurde im Labor von Prof. Dr. Dr. K. H. Seifart am Institut für Molekularbiologie und Tumorforschung in Marburg angefertigt. Seit 1995 Promotion am Fachbereich Biologie, Laboratorium für Mikrobiologie mit dem Thema: „Zellkernwanderung in *Aspergillus nidulans*: Biochemische Charakterisierung und subzelluläre Lokalisierung von *ApsA*“.



Reinhard Fischer, geb. 1962, studierte Biologie mit Schwerpunkt Mikrobiologie an der Philipps-Universität Marburg, 1987 Diplom, 1990 Promotion im Labor von Prof. Dr. R. K. Thauer, mit dem Thema „Mechanismus der Essigsäurefermentation in *Methanosarcina barkeri*“. 1991 Postdoktorand im Labor von Prof. Dr. R. K. Thauer, 1992–1993 Postdoktorand im Labor von Prof. Dr. W. E. Timberlake, Department of Genetics, University of Georgia, Athens, USA. Dort wurde die Forschung mit *Aspergillus nidulans* begonnen. Seit 1994 Wissenschaftlicher Assistent (C1) am Fachbereich Biologie der Philipps-Universität Marburg und am MPI für terrestrische Mikrobiologie. Arbeitsgebiete: Molekularbiologie der Zellkernwanderung und Entwicklungsbiologie von *A. nidulans*.

Anschriften

Dr. Reinhard Fischer, Miriam Krüger, Nicole Sievers, Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie, Karl-von-Frisch-Str., D-35043 Marburg. E-mail: FischerR@Mailer.Uni-Marburg.de