



W er schon einmal eine Reise über mehrere Zeitzonen unternommen hat, stellt fest, dass er offensichtlich eine innere Uhr besitzt, die den Schlaf-Wach-Rhythmus steuert: Angekommen am Reiseziel fühlt man sich in den ersten Tagen müde und schlapp, und es dauert einige Zeit bis man sich an den neuen Tag-Nacht-Zyklus angepasst hat. Und auch wer selbst nicht weit verreist, dafür aber jedes Wochenende bis tief in die Nacht feiert und dann morgens lange schläft, wird spätestens zu Wochenbeginn an die zeitliche Realität erinnert: Denn unsere innere Uhr geht bereits

nachzuweisen, ließ der Max-Planck-Forscher Jürgen Aschoff Mitte der 1960er-Jahre unterhalb des Institutsgebäudes in Andechs einen „Bunker“ einrichten – ein unterirdisches Labor, in dem Versuchspersonen über mehrere Wochen hinweg völlig abgekoppelt vom natürlichen Tageslauf wohnten. Hier gab es keine Uhr, keine Zeitung, kein Radio oder Fernsehen, geschweige denn Tageslicht – keinerlei Zeitinformationen also über die Außenwelt. Die Wissenschaftler registrierten das Verhalten sowie bestimmte physiologische Parameter ihrer Versuchspersonen und

Das Ticken in unseren Genen – wie Forscher das Uhrwerk der Zellen enträtseln

nach zwei Tagen nach – der Grund, warum das Aufstehen am Montagmorgen besonders schwer fällt.

Leben wird durch zeitliche Rhythmen bestimmt – dazu gehören der Tag-Nacht-Zyklus (24 Stunden) ebenso wie der Gezeitenzyklus (12,5 Stunden), der Jahreszyklus (365,25 Tage) oder der Mondzyklus (28,5 Tage). Organismen, die regelmäßige Veränderungen ihrer Umwelt voraussagen können, haben einen Überlebensvorteil. Pflanzen, deren wichtigste Stoffwechselleistung die Photosynthese ist, antizipieren z.B. den Sonnenaufgang: Sie aktivieren ihren Photosyntheseapparat noch bevor es hell wird. Beim Menschen steigt die Körpertemperatur bereits vor dem Aufwachen an, und auch Stoffwechsel, Muskeltonus, Nierenfunktion und Konzentrationsfähigkeit schwanken tagesrhythmisch. Wie werden diese Rhythmen hervorgebracht? Wo sind die Zentren, die sie steuern? Und wie werden sie getaktet?

LEBEN OHNE ZEITGEBER

Bis in das 20. Jahrhundert hinein war die Mehrheit der Naturwissenschaftler davon überzeugt, dass Lebewesen sich nur deshalb rhythmisch verhalten, weil sie auf Signale ihrer Umwelt reagieren – an eine „innere Uhr“ mochten nur wenige glauben. Um diese

► Die genetischen Grundlagen der biologischen Uhr lassen sich am Modellsystem Maus gut erforschen.





halbes Grad und auch die kognitiven Leistungen folgten einer endogenen, d.h. von innen erzeugten Tagesperiodik.

Allerdings offenbarten die Messdaten noch ein Weiteres: Über mehrere Tage und Wochen hinweg verschob sich der Tagesrhythmus. Die tagesperiodischen Schwankungen erfolgten dann nicht mehr im genauen 24-Stunden-Wechsel, sondern etwas langsamer. Zum Beispiel konnten sie bei einer bestimmten Person im 24,7-Stunden-Wechsel ablaufen. Jeden Tag begann diese Person ihren Schlaf im unterirdischen Bunker 42 Minuten später und stand entsprechend später auf. Offensichtlich wird unsere innere Uhr erst von den Umweltbedingungen auf genau 24 Stunden getaktet. In der abgeschirmten Unterwelt zeigt sie ihre wahre Beschaffenheit: Sie ist eine eigenständige Uhr, deren Laufzeit zwar nahe bei 24 Stunden liegt, aber eben nicht genau einem Tag entspricht. Man bezeichnet sie deshalb auch als **circadiane Uhr** (lat. *circa dies* = etwa einen Tag).

WER GIBT DEN TAKT AN?

Interessant war auch der folgende Befund: Körpertemperatur- und Schlaf-Wach-Rhythmus sind normalerweise im selben Takt. Die Körpertemperatur pendelt im Bereich von 25 Stunden mit einem Tiefpunkt während des Schlafes und einem Höhepunkt während der Wachzeit. Wenn sich aber der Schlaf-Wach-Zyklus bei andauernder Isolation verschiebt, folgt die Körpertemperatur nicht (**siehe Kästen unten**). Egal, ob sich der Schlafrhythmus verkürzt, verlängert oder unregelmäßig wird –

die Körpertemperatur schwingt weiter im 25-Stunden-Rhythmus. Die Wissenschaftler folgerten daraus, dass es mehr als eine innere Uhr geben muss!

Innere Uhren steuern alle wichtigen Lebensfunktionen und das Verhalten im tagesperiodischen Wechsel. Bei Pflanzen sind sie über den gesamten Organismus verteilt. Ein übergeordnetes Zentrum, eine *master clock*, ist nicht auszumachen. Anders bei Tieren: Anfang der 1970er-Jahre studierten Forscher die Anatomie des Rattengehirns und entdeckten ungewöhnlich feine Nervenfasern, die von der Netzhaut des Auges nicht wie üblich zum Sehzentrum in der hinteren Großhirnrinde führen, sondern bereits in einem kleinen Areal des Zwischenhirns enden, das dicht über dem *Chiasma opticum* liegt, der Stelle, wo sich die Sehnerven kreuzen. Wurde dieses winzige, kaum Stecknadelkopf große Areal mit Nervenzellen zerstört, verloren die Tiere jeglichen Tagesrhythmus – vom Schlaf-Wach-Zyklus über Hormonschwankungen bis hin zur Periodik der Körpertemperatur. Die zentrale Uhr war gefunden.

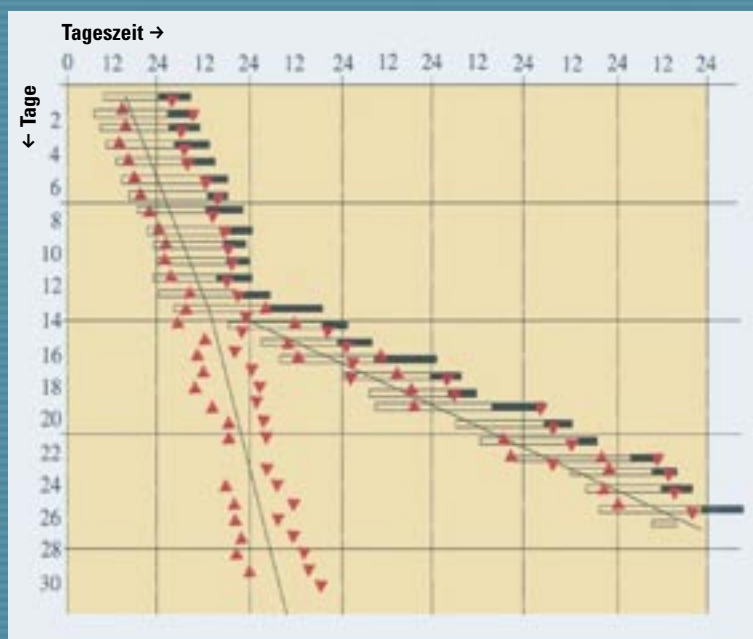
Wegen seiner Lage über dem *Chiasma* wurde das Areal „*Suprachiasmatischer Nucleus*“ genannt, kurz SCN. Bei der Ratte messen die symmetrisch auf beide Hirnhälften verteilten Kerne weniger als einen Millimeter und umfassen rund 16 000 Zellen. Beim Menschen sind sie etwas größer und enthalten etwa 50 000 Nervenzellen. Über die bereits erwähnten feinen Nervenfasern empfängt der SCN Signale von den **Lichtsinnzellen** –

▲ Die freiwillig Eingeschlossenen lebten vollkommen abgeschirmt von der Außenwelt. Trotzdem konnten die Wissenschaftler bei den „Bunker-Versuchen“ in Andechs deren Aktivitäten registrieren, u.a. über Trittkontakte, die auf einer Tafel Lämpchen aufleuchten ließen, sowie über Messstreifen, die die wichtigsten Körperfunktionen der Versuchsteilnehmer anzeigten.

→ ließen diese regelmäßig Konzentrations-, Stimmungs- und Leistungstests machen (**Abb. B**). Wie sich zeigte, hatten die Untersuchungsteilnehmer trotz Ausschlusses aller Zeitgeber weiterhin eine tagesrhythmische Aktivität: Sie schliefen regelmäßig sieben bis acht Stunden, ihre Körpertemperatur schwankte tagesperiodisch um etwa ein

UHREN AUS DEM TAKT

Im Normalfall sind die Uhren für den Schlaf-Wach-Zyklus und die Körpertemperatur miteinander gekoppelt, weshalb sie meist im Einklang schwingen. Unter den Zeitgeber-freien Bedingungen eines unterirdischen Wohnraumes lösen sie sich jedoch manchmal voneinander, und jede folgt ihrem eigenen Rhythmus. Die Grafik zeigt wie die täglichen Maxima und Minima der Körpertemperatur (rote Dreiecke) in den ersten 14 Tagen parallel zum Schlaf-Wach-Zyklus verlaufen. Die Periodenlänge beträgt für beide Vorgänge 25,7 Stunden. Danach verlängert sich die Periode des Schlaf-Wach-Zyklus auf 33,4 Stunden (damit der Verlauf besser zu erkennen ist, wurden nicht nur die Tage untereinander, sondern auch noch sieben Tage nebeneinander aufgetragen). Wissenschaftler sprechen von einer internen Desynchronisation. Wer schon einmal eine „externe Desynchronisation“ erlebt hat, z.B. einen Jetlag hatte oder eine Nachtschicht schieben musste, weiß wie mühsam es ist, während des körperlichen Leistungstiefs wach zu sein. Dass die Rhythmen mancher Menschen auch ohne Isolation oder Flugreisen auseinander driften, ist inzwischen bekannt. Depressionen, Schlafstörungen und vermutlich sogar ernsthafte Stoffwechselkrankheiten können die Folge sein.



nach Wever, 1979

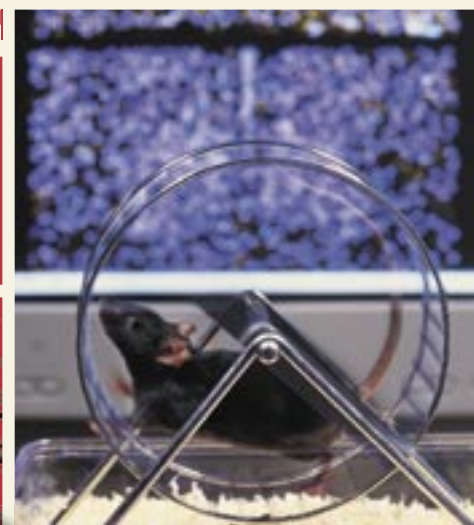
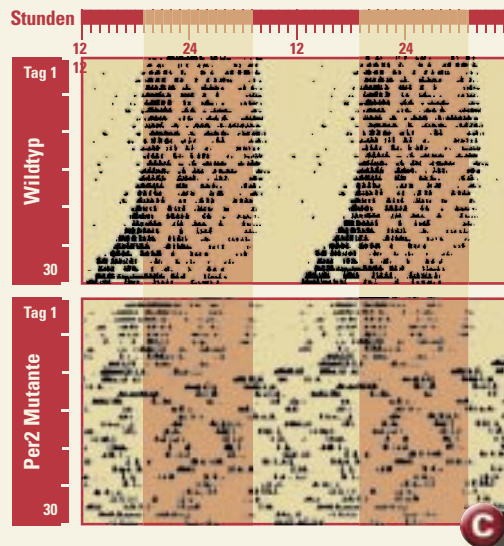
der Augen. Dabei handelt es sich allerdings nicht um die Stäbchen oder Zapfen in unserer Netzhaut. Denn Mausmutanten, die weder Stäbchen noch Zapfen besitzen, können sich nach wie vor an künstlich verschobene Tagesrhythmen anpassen. Chronobiologen vermuteten daher im Auge von Säugetieren noch einen weiteren Lichtsinn, der die biologische Uhr mit Informationen über die Tageszeit versorgt.

EIN NEUER LICHTSINN

2002 kürte das Wissenschaftsmagazin SCIENCE die Entdeckung einer bislang unbekannt Art von Sehzellen in der Netzhaut von Säugetieren zum „Durchbruch des Jahres“. „Die Entdeckung einer neuen Klasse lichtsensitiver Zellen, die helfen, die täglichen Rhythmen des Körpers auf Kurs zu halten, könnte eines Tages dabei nützen, die Auswirkungen von Jetlags oder Winterdepression zu bekämpfen“, lautete die Begründung. Dabei handelt es sich um die so genannten **retinalen Ganglionzellen**. Ein kleiner Teil von ihnen – nicht alle – enthält ein lichtempfindliches Pigment namens Melanopsin. Wenn diese Zellen Licht registrieren, verändern sie ihre elektrische Leitfähigkeit. Diese neuronalen Signale empfängt der SCN und übermittelt sie an die inneren Uhren in sämtlichen Organen und Zellen, die dadurch sowohl mit dem Tageslauf als auch untereinander synchronisiert werden.

Lässt man einzelne Nervenzellen des SCN in Kultur wachsen, so zeigen sie eine rhythmische elektrische Aktivität: Tagsüber sind die Nervenzellen elektrisch aktiv, nachts dagegen nicht. Offenbar ist jede Zelle des SCN eine eigene Uhr (!), die signalisiert: Es ist Tag. Wenn jede SCN-Zelle eine eigene kleine Uhr ist, wieso schlagen dann dennoch alle im selben Takt? Um das zu untersuchen, pflanzten japanische Forscher das aus einer Qualle stammende Gen für ein grün fluoreszierendes Protein in die SCN-Zellen von Mäusen ein. Das Protein wurde jedoch nur erzeugt, wenn auch ein bestimmtes Uhren-Gen abgelesen wurde. Die Forscher beobachteten nun bei mehreren hundert Zellen, wann sie aufleuchteten – und stellten fest, dass die Zellen sich automatisch synchronisieren, wenn sie elektrisch aktiv sind. Das Signal einer Zelle treibt die innere Uhr der nächsten an und so weiter. Der SCN ist also ein autonomer Rhythmus-Generator.

Mit dem SCN war die Referenzuhr entdeckt, über die alle inneren Uhren täglich neu jus-



tiert werden. In dieser Funktion verkörpert der SCN das biologische Gegenstück zur Atomuhr der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt in Braunschweig, deren Funksignale bundesweit die offizielle Zeit vorgeben. Doch das eigentliche Uhrwerk, also ein Oszillator, der mit einer 24-Stunden-Periode tickt, sowie die feineren molekularen Rädchen, durch die die Uhr vor- oder nachgestellt werden kann, waren nach wie vor unbekannt. Den Schlüssel zu einem tieferen Verständnis der biologischen Uhren lieferte wieder einmal die kleine Taufliege *Drosophila*. Seit 1971 kannte man eine Fliegen-Mutante, die infolge eines genetischen Defekts einen falschen Tagesrhythmus besaß. 13 Jahre dauerte es – dann hatten die Genetiker jenes Stück Erbgut gefunden, das für diese verzerrte circadiane Periodik verantwortlich ist. Von diesem Gen, das *period* getauft wurde, hängt offenbar die Steuerung der endogenen Periodik bei *Drosophila* ab.

Die Isolierung des *period*-Gens der Taufliege bereitete den Boden für eine neue, nunmehr „molekulare Ära“ der Chronobiologie. Die Forscher entdeckten zwei weitere Uhren-Gene: *clock* und *timeless*. 1997 wurden dann bei Mäusen gleich drei *period*-Gene gefunden, von denen zumindest das erste (*mouse period 1*, kurz *mper1*) eindeutig mit dem Fliegen-Gen verwandt ist. Nun können Gene – beziehungsweise die nach ihrer Vorgabe gebildeten Proteine –, auch wenn sie in wesentlichen Bauteilen übereinstimmen, dennoch in verschiedenen Organismen völlig unterschiedliche Funktionen erfüllen. Noch gab es keinen Beweis dafür, dass die *period*-ähnlichen Gene bei der Maus tatsächlich etwas mit der Steuerung der circadianen Rhythmik zu tun

▲ Hält man Mäuse 30 Tage in völliger Dunkelheit, verschiebt sich der Rhythmus ihrer Laufradaktivität, eine klare Periodik bleibt jedoch erkennbar. Ihre inneren Uhren gehen im Vergleich zur externen Tageszeit offensichtlich vor (obere Grafik). Tiere, deren Uhren-Gen *period2* durch eine Mutation verändert ist, geraten im Gegensatz dazu völlig aus dem Rhythmus – jede Regelmäßigkeit ihrer Aktivitätsphasen geht verloren (Grafik unten).

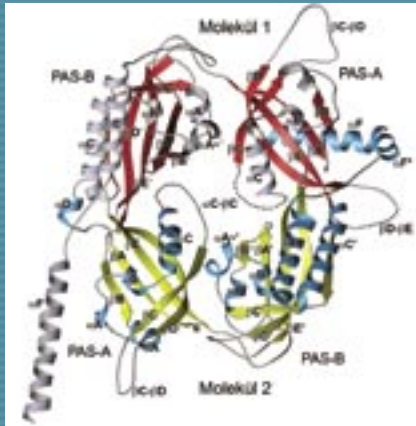
haben könnten. Die Wissenschaftler um Gregor Eichele, seinerzeit noch am Baylor College of Medicine in Houston, Texas, schauten sich daher das Expressionsmuster dieser Gene genauer an: Wo und wann werden die *period*-Gene bei der Maus in Proteine übersetzt?

GENE ZUM SCHWINGEN GEBRACHT

Die Untersuchungen bestätigten ihre Vermutung: *mper1* wird bei der Maus unter anderem im SCN exprimiert, also am Sitz der Zentraluhr des circadianen Systems der Wirbeltiere – und sein zeitliches Expressionsmuster entspricht genau dem, was man von einem Uhren-Gen erwartet: Über die Morgenstunden steigt die Expression des Gens an, erreicht zur Mittagszeit ihr Maximum und sinkt bis zum Anbruch der Nacht wieder auf Null. Verfolgt man dieses Auf und Ab über mehrere Tage hinweg, stellt man fest, dass die Expression des Gens mit einer Periode von 24 Stunden schwankt. Diese circadian-rhythmische Expression des Gens läuft auch dann weiter, wenn man die Versuchstiere in konstante Dunkelheit bringt.

Wie entsteht dieses rhythmische Expressionsmuster? Der genetische Regelkreis der biologischen Uhr besteht – und zwar bei der Taufliege ebenso wie bei der Maus oder beim Menschen – aus zwei Rück- →

DIE ZÄHRÄDCHEN DER UHR IN NAHAUFNAHME



Röntgenkristalluntersuchungen erstmals die dreidimensionale Struktur eines Teils des *period*-Proteins in der Taufliede *Drosophila* ermitteln. Die *period*-Struktur liefert auch Einblicke in den Mechanismus einer Mutation, die bei Taufliegeln zu einem verlängerten Tagesrhythmus von 29 Stunden anstelle von 24 Stunden führt. In diesen Mutanten ist nur ein einziger Aminosäurerest an der Oberfläche einer der beiden Proteindomänen verändert (hier wurde Valin gegen Asparaginsäure ausgetauscht). Die Dortmunder Wissenschaftler konnten zeigen, dass das Molekül dadurch nicht mehr seine eigentliche Raumstruktur einnehmen kann. Vermutlich wird dadurch auch die Wechselwirkung mit anderen Proteinen beeinflusst und das ursprüngliche Timing geht verloren.

Entscheidend für die Erzeugung und Aufrechterhaltung der endogenen 24-Stunden-Periodik ist das präzise Zusammenspiel von tagesperiodischem Aufbau und Abbau der zentralen Uhren-Proteine. Die verschiedenen Uhren-Proteine treten dabei miteinander in Wechselwirkung: So lagern sich die Proteine *period* und *timeless* zu Doppelmolekülen zusammen, die die Transkription ihrer Gene und damit die eigene Produktion hemmen. Am Dortmunder Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie interessiert man sich besonders für die molekulare Struktur der Uhren-Proteine. Die Max-Planck-Wissenschaftler aus der Abteilung von Alfred Wittinghofer konnten mittels

→ **Kopplungsschleifen**, die ähnlich wie Thermostate funktionieren und die Produkte der Gene *period* und *timeless* (bei Maus/Mensch *period* und *cryptochrom 1/2*) regeln: Steigt die Konzentration eines Genprodukts (die Temperatur) über den Sollwert, wird die Produktion des entsprechenden Proteins (die Heizung) abgeschaltet und umgekehrt. Die Zeitverzögerung zwischen der Aktivierung der Gene *period* und *timeless* und der Produktion der entsprechenden Proteine führt zum periodischen Auf- und Abschwingen: Zunächst steigt die Konzentration der Uhren-Proteine in der Zelle kontinuierlich an. Überschreitet sie ein Maximum, dann werden die Gene abgeschaltet. Die Konzentration der Proteine sinkt ab, bis die Hemmung der Uhren-Gene wieder aufgehoben wird und der Kreislauf von neuem beginnt. Das geschieht beim Menschen eigentlich erst nach 25 Stunden (bei der Taufliede und der Maus beträgt die Freilaufperiode der inneren Uhr 23,5 Stunden). Doch das Tageslicht sorgt dafür, dass die inneren Räderwerke immer wieder ein wenig nachgestellt werden und so mit der Außenwelt und dem 24-Stunden-Rhythmus synchron laufen.

Gregor Eichele und seine Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für experimentelle Endokrinologie in Hannover wollen wissen, wie

diese Feinabstimmung zwischen Genen und ihrer Außenwelt, die bei extremen Zeitverschiebungen und Jetlag noch wichtiger wird, funktioniert. Wie gelingt es dem Organismus, seine innere Uhr mit der externen Zeit zu synchronisieren? Um das herauszufinden, arbeiten die Forscher mit so genannten **Knockout-Mäusen** – Mäuse, bei denen bestimmte Gene gezielt ausgeschaltet werden. Ein wichtiger Messparameter bei den Untersuchungen ist das Laufradverhalten der Mäuse: Die Zeiten, in denen eine Labormaus Lust bekommt, in ein Laufrad zu steigen, um sich auszutoben, sind nicht willkürlich über den Tag verteilt. Sie folgen bei normalen Tieren einem regelmäßigen tagesperiodischen Rhythmus: Als nachtaktives Tier läuft die Maus fast ausschließlich in der Dunkelphase.

MÄUSE IM LAUFRADTEST

Sobald das Licht im Labor also ausgeht, beginnen die kleinen Nager im Laufrad zu rennen. Über einen Magnetschalter und einen daran angeschlossenen Computer werden die Laufradumdrehungen mitgezählt (**Abb. C**). Geben die Wissenschaftler nun Lichtpulse in der frühen oder in der späten Nacht, stellen sich die Mäuse in ihrem Rhythmus um: Ihre innere Uhr reagiert auf das Signal von außen. Gibt man den Licht-

puls in der frühen Nacht, denken die Tiere, der Tag sei länger und dementsprechend werden sie in der folgenden Nacht später aktiv; ein Lichtpuls gegen Morgen verschiebt die Uhr dagegen nach vorn. Wir können bei einer Zeitverschiebung einfach die Zeiger unserer Armbanduhr vor- oder zurückstellen. Doch wo sind die Stellrädchen der inneren Uhr? Die Versuche mit Knockout-Mäusen, bei denen jeweils die Uhren-Gene *period1* und *period2* oder beide ausgeschaltet worden waren, zeigen, dass *period1* die innere Uhr vorstellt, während *period2* die Uhr zurückstellt.

Diese Uhren-Gene spielen demnach eine entscheidende Rolle, wenn es darum geht, den Organismus an einen neuen Tagesrhythmus zu gewöhnen. Jetlag nach Langstreckenflügen ist dabei nur ein Beispiel für die Bedeutung der Synchronisation zwischen äußerer Zeit und inneren Uhren. Wichtig sind diese Befunde auch für Probleme bei Schichtdienst, für Winterdepression und Syndrome wie das der vorverlagerten oder verzögerten Schlafphase (ASPS oder DSPS). Hier könnten die Forschungen zu neuen Behandlungsansätzen führen. Einen Beweis für die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen gibt es bereits: Bei Patienten, die am Syndrom der vorverlagerten Schlafphase leiden, die also regulär um vier Uhr morgens aufwachen, wurde 2001 ein defektes *period2*-Gen gefunden.

Inzwischen haben Forscher eine ganze Reihe weiterer Uhren-Gene entdeckt – das Uhrwerk der Natur scheint damit doch etwas komplizierter als ursprünglich angenommen. Tatsächlich stellen biologische Uhren ein Netzwerk verschiedener Regelkreise dar – und das macht das System, wie Computermodelle nahe legen, robust und gleichzeitig sensitiv: Der Ausfall eines Rädchens führt nicht gleich zum Stillstand der ganzen Uhr. Umgekehrt lässt sich die Uhr bei Störungen auch wieder präzise neu einstellen.

Schlagwörter: circadiane Uhr, Lichtsinneszellen, retinale Ganglionzellen, Rückkopplungsschleife, Knockout-Mäuse

Lesetipp: Peter Spork, Das Uhrwerk der Natur, *rororo science* 2004

Internet: www.uni-tuebingen.de/plantphys/bioclox/

DIE „MAX“-REIHE

auch unter www.max-wissen.de – der Link zur Forschung für Schüler und Lehrer

Hier finden Sie Hintergrundinformationen und didaktisches Material zu den jeweils zweimal im Jahr erscheinenden Ausgaben von BIOMAX, GEOMAX und TECHMAX. Weitere Exemplare können Sie kostenlos bestellen bei: