

Neurobiologie

Macht die innere Uhr „mondsüchtig“?

CHARLOTTE FÖRSTER
INSTITUT FÜR ZOOLOGIE, UNIVERSITÄT REGENSBURG

Hat der Mond einen mystischen Einfluss auf unsere Innere Uhr, oder ist es einfach die Nachthelligkeit, die uns zu schaffen macht? Versuche mit der Taufliege *Drosophila melanogaster* geben Hinweise.

Full moon prevents many people from sleeping. In the fruit fly *Drosophila melanogaster*, moonlight shifts the endogenous clock and promotes activity showing that organisms can be very sensitive to dim light.

Mondlichtempfindlichkeit bei Meeresbewohnern und Bohnen

Die Mondhelligkeit erscheint mit maximal 1 Lux im Vergleich zur Tageshelligkeit von 10.000 bis 100.000 Lux relativ gering. Selbst im Vergleich zur durchschnittlichen Innenraumbeleuchtung von ungefähr 500 Lux, der wir uns teilweise bis spät in die Nacht aussetzen, erscheint die Mondhelligkeit vernachlässigbar klein. Trotzdem könnten wir auf Mondlicht reagieren. Immerhin synchronisiert die oszillierende Mondlichtintensität die Monatsuhren einiger Tiere. Dies gilt vor allem für Meeresbewohner wie marine Zuckmücken, Ringelwürmer, Pfeilschwanzkrebse und Meeresschildkröten, die sich zu bestimmten Mondphasen paaren. Das heißt, dass die Tiere, obwohl sie unter der Meeresoberfläche leben, die im Monatsrhythmus oszillierende Nachthelligkeit wahrnehmen.

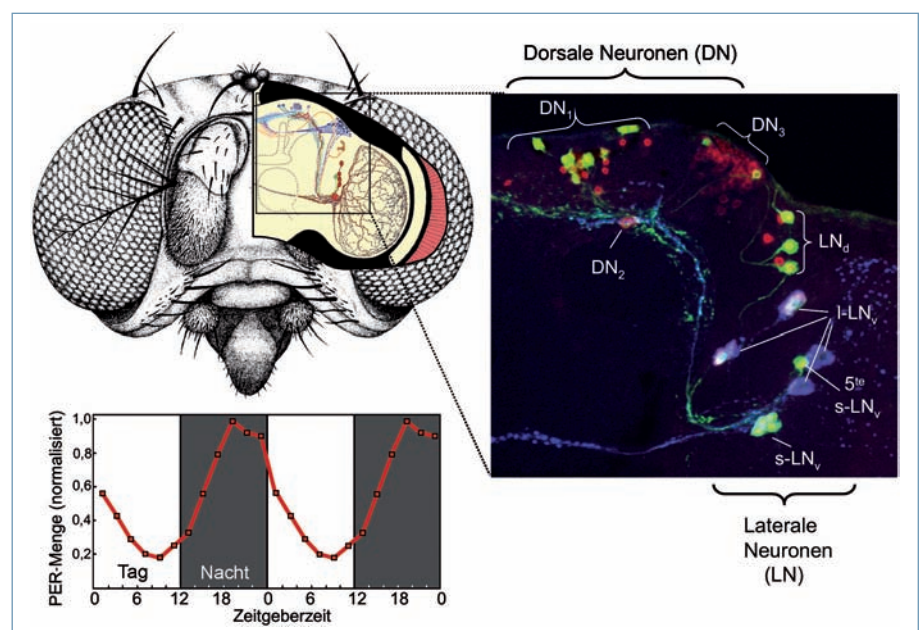
Aber nicht nur die Inneren Uhren von Meeresbewohnern sind so lichtempfindlich. Büning zeigte bereits 1969, dass sich die rhythmischen Blattbewegungen von Bohnenpflanzen durch Schwachlicht von Mondlichtintensität synchronisieren lassen [1]. Im Gegensatz zu den eben genannten Meeresbewohnern haben Bohnen keine Monatsrhythmen, sie müssen sich also nicht auf die oszillierende Nachthelligkeit synchronisieren. Büning vermutete, dass das Mondlicht störend auf die Tagesrhythmik der Bohnen wirkt und dass sie ihre Blätter nur deshalb in der Nacht absenken, damit nicht zu viel Mondlicht auf die Blattspreite fällt. Auf den Menschen übertragen könnte dies bedeuten, dass auch seine Innere Uhr durch Licht gestört wird, wenn er sich in Vollmondnächten nicht die Bettdecke

über den Kopf zieht. Noch gibt es keine wissenschaftlichen Untersuchungen am Menschen, die zeigen, dass Mondlicht dessen Innere Uhr verstellen kann. Allerdings gibt es die ersten Untersuchungen am Paradeferd der Genetiker, der Taufliege *Drosophila melanogaster*.

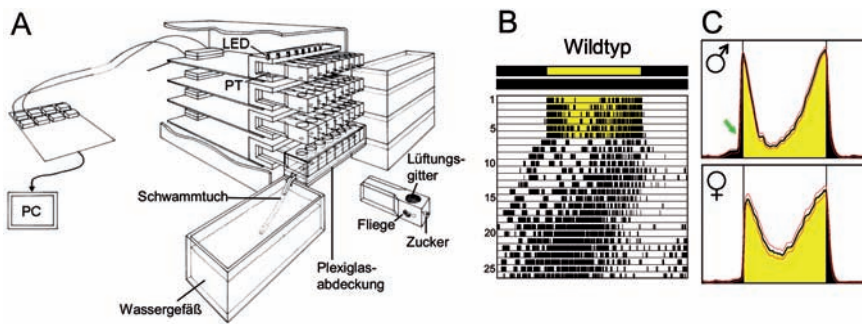
Morgen- und Abendoszillatoren bei der Taufliege

An der Taufliege werden die molekularen Mechanismen und die neuronalen Grundlagen von Inneren Uhren erforscht. Bei allen Tieren interagieren Uhrengene wie *period*, *timeless*, *clock* und *cycle* mit ihren Proteinprodukten (PER, TIM, CLK und CYC) und generieren molekulare Oszillationen in definierten Uhrenneuronen im Gehirn (Abb. 1).

Taufliegen eignen sich auch als Modell für vergleichende Verhaltensstudien. Ihre Aktivität kann im Labor relativ einfach über einen Zeitraum von vier Wochen mit Infrarot-Lichtschranken gemessen werden (Abb. 2A). Taufliegen sind wie Menschen überwiegend tagaktiv und zeigen mittags Inaktivität [2] (Abb. 2B, C). Die an die Siesta des Menschen erinnernde Mittagsruhe mag vor Überhitzung und Austrocknung schützen. So dehnen Tau-



▲ **Abb. 1:** Die Uhrenproteine PER und TIM werden im Gehirn der Fliege in definierten Uhrenneuronen exprimiert. Die Menge der Uhrenproteine oszilliert im Tagesverlauf, was beispielhaft für PER aus Kopfextrakten dargestellt ist. Die Uhrenneuronen und ihre Verzweigungen im Gehirn sind im *Drosophila*-Kopf halbschematisch in unterschiedlichen Farben dargestellt (verändert nach [12]). Sowohl die Dorsalen (DN) als auch die Lateralen Neuronen (LN) bestehen aus mehreren Untergruppen. Der Ausschnitt zeigt ein konfokales Bild einer Dreifachmarkierung mit Antikörpern gegen TIM (rot), CRY (grün) und Pigment-dispersing factor (PDF, blau). PDF ist ein Neuropeptid, das die meisten ventralen LN (LN_v) produzieren. CRY findet sich in vielen, aber nicht allen Uhrenneuronen. Die verschiedenen Farben ergeben sich aus der unterschiedlichen Überlagerung der drei Antikörper.



▲ **Abb. 2:** A, Aufzeichnung der lokomotorischen Aktivität von Fliegen durch Infrarotlichtschranken (LED: Licht-emittierende Diode, PT: Phototransistor; verändert nach [13]). Die Fliegen befinden sich in umgestalteten Photometerküvetten, die mit einem Stück Zucker und einem Lüftungsgitter ausgestattet sind. Wasser erhalten die Fliegen über ein kleines Loch in der Küvette, unter welchem ein wassersaugendes Schwammtuch montiert ist. Jeweils acht der Küvetten werden zusammengefasst, durch eine Plexiglasabdeckung von vorne geschlossen und übereinander in die Lichtschranken geschoben. Dies ermöglicht eine homogene Beleuchtung von vorne. B, Aktivität einer Wildtyp-Fliege über einen Zeitraum von 26 Tagen, zunächst für sechs Tage in einem Licht-Dunkel-Wechsel (12 Stunden Licht (gelb markiert)/ 12 Stunden Dunkel) und danach im Dauerdunkel. C, Mittlere Aktivitätsprofile von je 40 männlichen und 40 weiblichen Tieren im Licht-Dunkel-Wechsel (verändert nach [2]). Die Männchen sind etwas früher aktiv (grüner Pfeil) als die Weibchen, ruhen dafür aber mittags mehr.

fliegen ihre Mittagsruhe an langen Sommertagen aus, während diese an kühleren Frühlings- und Herbsttagen weitgehend entfällt und Morgen- und Abendaktivität näher zusammenrücken [3]. Auch bei vielen Säugtieren gibt es zwei Aktivitätsmaxima, die im Sommer und Winter unterschiedliche Phasenbeziehungen zueinander haben. Pittendrigh und Daan stellten 1976 die Hypothese auf, dass Morgen- und Abendaktivität von unterschiedlichen Oszillatoren gesteuert werden, dem Morgen- und Abendszillator [4]. Der Morgenszillator wird von Licht beschleunigt, deswegen erscheint die Morgenaktivität früher, wenn die Lichtphase an Sommertagen verlängert wird. Der Abendszillator wird von Licht verlangsamt, deshalb führt er an langen Sommertagen zu einer verspäteten Abendaktivität. Wenn diese Hypothese stimmt, sollten Morgen- und Abendszillator unter Dauerlicht mit unterschiedlichen Perioden laufen. Tatsächlich konnten wir ein solches Aktivitätsmuster bei der Taufliege zeigen [5]. Zusätzlich gelang es, Morgen- und Abendszillatoren anatomisch bestimmten Uhrenneuronen zuzuordnen (**Abb. 3A**). Mit diesen Ergebnissen war die Taufliege als Modellorganismus für das Zwei-Oszillatoren-Modell von Pittendrigh und Daan akzeptiert.

Mondlicht beschleunigt den Abendszillator und verlangsamt den Morgenszillator

Bei einem sehr lichtempfindlichen System sollte auch schwaches Licht beschleunigend auf den Morgenszillator und verlangsamernd auf den Abendszillator wirken. Also müssten Fliegen bei Mondlicht die Morgen- und

Abendaktivität in die Nacht hinein schieben. Tatsächlich fanden wir, dass männliche Fliegen bei einer nächtlichen Beleuchtung von 0,03 Lux (dies entspricht Viertelmondlicht) genau dieses Verhalten zeigten und fast gänzlich nachtaktiv wurden [6] (**Abb. 3A**). Färbungen mit Antikörpern gegen PER und TIM ergaben, dass nicht nur Morgen- und Abendaktivitäten verschoben waren, sondern gleichermaßen auch die molekularen Oszillationen in den Morgen- und Abend-Uhrenneuronen [6, 7]. Dies bestätigt nicht nur das Morgen- und Abendszillator-Modell, sondern zeigt auch, dass Mondlicht tatsächlich die Innere Uhr verstellen kann.

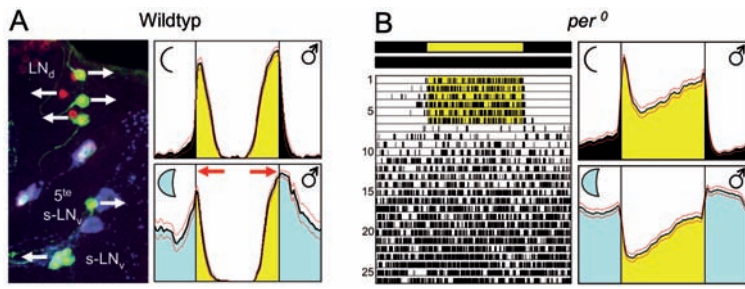
Auch über die Mondlichtphotorezeptoren gaben unsere Untersuchungen Auskunft. Augenlose Fliegen reagierten nicht auf Mondlicht, während Fliegen, denen das Blaulichtphotopigment Cryptochrom (CRY) fehlte, ihre Aktivität fast normal in die Mondlichtnacht schoben [6]. Dieses Ergebnis erscheint erstaunlich, denn CRY gilt generell als der wichtigste Photorezeptor für die Innere Uhr von *Drosophila* [8]. CRY wird in vielen Uhrenneuronen exprimiert (**Abb. 1**), interagiert direkt mit dem Uhrenprotein TIM und kann so die Innere Uhr sehr schnell verstellen [9]. Unsere Mondlichtexperimente zeigen allerdings eindeutig, dass Photopigmente in den Komplexaugen die Schwachlichtempfindlichkeit der Inneren Uhr vermitteln. Auch bei der Synchronisation der Aktivität auf unterschiedliche Tageslängen spielen die Komplexaugen eine wichtigere Rolle als CRY [10], weshalb wir uns zurzeit mit den Photopigmenten im Komplexauge der Fliege näher befassen.

Auch Fliegen ohne Innere Uhr reagieren auf Mondlicht

Damit sind wir wieder bei der Anfangsfrage: Macht die innere Uhr „mondsüchtig“? Da offensichtlich eine schwache nächtliche Beleuchtung die Innere Uhr verstellen kann und bewirkt, dass Taufliegen nachtaktiv werden, könnte die Antwort auf die Frage „ja“ lauten. Aber ist dieses Verhalten natürlich, und wird es tatsächlich allein durch Verstellen der Inneren Uhr hervorgerufen? Die erste Frage kann nur durch Studien in der Natur beantwortet werden. Erste Beobachtungen sprechen dafür, dass die Aktivität der Fliegen von der Umgebungstemperatur abhängt und die Tiere in kühlen Nächten auch bei Vollmond nicht nachtaktiv werden. Damit wäre die Nachtaktivität ein Kunstprodukt, das nur im Labor bei konstanter Temperatur auftritt (in unseren Versuchen wurde die Temperatur konstant bei 20 °C gehalten). Die zweite Frage, ob die Nachtaktivität im Labor allein durch Verstellen des Morgen- und Abendszillators hervorgerufen wird, konnten wir durch Testen von *per⁰*-Uhrenmutanten beantworten. *per⁰*-Mutanten fehlt die normale Organisation in Morgen- und Abendaktivität, und unter Konstantbedingungen sind sie arrhythmisch (**Abb. 3B**). Aber auch ohne Innere Uhr reagieren diese Fliegen auf Licht mit Aktivität und auf Dunkelheit mit Inaktivität. Auf künstliches Mondlicht antworteten *per⁰*-Mutanten wie wildtypische Fliegen mit einem nächtlichen Aktivitätsanstieg [11] (**Abb. 3B**). Wir schließen daraus, dass schwaches Licht die Aktivität von Taufliegen stimuliert und dass dieser Effekt unabhängig von einer funktionierenden Inneren Uhr ist.

Schlussfolgerung

Schwaches Licht hat bei der Taufliege zwei Effekte: Es kann die Innere Uhr verstellen, und es wirkt zusätzlich stimulierend auf die Aktivität – ganz ohne Beteiligung der Inneren Uhr. Es ist also das Licht selbst, das die Fliege „mondsüchtig“ macht; allerdings nur, wenn nachts angenehme Temperaturen herrschen. Interessanterweise scheint dies besonders für männliche Fliegen zu gelten. Vorläufige Versuche mit weiblichen Tieren zeigen, dass diese zumindest am Morgen weit weniger stark auf Mondlicht reagieren als männliche Tiere. Ob es auch beim Menschen solche geschlechtsspezifischen Unterschiede gibt, bleibt abzuwarten.



▲ **Abb. 3:** **A**, Mittlere Aktivitätsprofile von je 30 männlichen Fliegen bei „Neumond“ und bei „Viertelvollmond“ (verändert nach [6]). Mondlicht verschiebt die Morgenaktivität in die späte und die Abendaktivität in die frühe Nacht (rote Pfeile). Dies korreliert mit den molekularen Oszillationen in den Lateralen Neuronen: Unter Mondlichteinfluss zeigen die s-LN_v und ca. die Hälfte der LN_d ein früheres PER/TIM-Maximum (weiße Pfeile nach links), die fünfte s-LN_v und die anderen LN_d ein späteres (weiße Pfeile nach rechts). **B**, Bei *per*⁰-Mutanten fehlt die klare Organisation in Morgen- und Abendaktivität, und unter konstanter Dunkelheit werden die Tiere arrhythmisch. Trotzdem reagieren sie auf Licht und werden bei Mondlicht nachtaktiv, wie an den mittleren Aktivitätsprofilen von je 30 männlichen *per*⁰-Mutanten bei „Neumond“ und „Viertelvollmond“ zu sehen ist (verändert nach [11]).

Dankagung

Ich bedanke mich bei Dr. PD Hofbauer und Dr. Rieger für hilfreiche Anmerkungen zum Manuskript und bei Dr. Rieger für das Autorenfoto. Meine Arbeitsgruppe wird durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) und die Europäische Gemeinschaft (EU) unterstützt. ■

Literatur

- [1] Bünning E (1969) Die Bedeutung tagesperiodischer Blattbewegungen für die Präzision der Tageslängenmessung. *Planta* 86:209–217
- [2] Helfrich-Förster C (2001) The locomotor activity rhythm of *Drosophila melanogaster* is controlled by a dual oscillator system. *J Insect Physiol* 47:877–887
- [3] Majercak J, Sidote D, Hardin PE et al. (1999) How a circadian clock adapts to seasonal decreases in temperature and day length. *Neuron* 24:219–230
- [4] Pittendrigh CS, Daan S (1976) A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. Pacemaker structure: a clock for all seasons. *J Comp Physiol [A]* 106:333–355
- [5] Rieger D, Shafer OT, Tomioka K et al. (2006) Functional analysis of circadian pacemaker neurons in *Drosophila melanogaster*. *J Neurosci* 26:2531–2543
- [6] Bachleitner W, Kempinger L, Wülbeck C et al. (2007) Moonlight shifts the endogenous clock of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:3538–3543
- [7] Rieger D, Wülbeck C, Rouyer F et al. (2009) Period gene expression in four neurons is sufficient for rhythmic activity of *Drosophila melanogaster*

- under dim light conditions. *J Biol Rhythms* (im Druck)
- [8] Emery P, Stanewsky R, Helfrich-Förster C et al. (2000) *Drosophila* CRY is a deep brain circadian photoreceptor. *Neuron* 26:493–504
 - [9] Yoshii T, Todo T, Wülbeck C et al. (2008) Cryptochrome is present in the compound eyes and a subset of *Drosophila*'s clock neurons. *J Comp Neurol* 508:952–966
 - [10] Rieger D, Stanewsky R, Helfrich-Förster C (2003) Cryptochrome, compound eyes, Hofbauer-Buchner eyelets, and ocelli play different roles in the entrainment and masking pathway of the locomotor activity rhythm in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *J Biol Rhythms* 18:377–391
 - [11] Kempinger L, Dittmann R, Rieger D et al. (2009) The nocturnal activity of fruit flies exposed to artificial moonlight is partly caused by direct light effects on the activity level that bypass the endogenous clock. *Chronobiol Int* 26:151–166
 - [12] Helfrich-Förster C (2005) PDF has found its receptor. *Neuron* 48:161–163
 - [13] Helfrich-Förster C (1998) Robust circadian rhythmicity of *Drosophila melanogaster* requires the presence of Lateral Neurons: A brain-behavioral study of *disconnected* mutants. *J Comp Physiol [A]* 182:435–453

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Charlotte Förster
 Universität Regensburg
 Institut für Zoologie
 Universitätsstraße 31
 D-93040 Regensburg
 Tel.: 0941-943-3117
 Fax: 0941-943-3325
 charlotte.foerster@biologie.uni-regens-

AUTOR



Charlotte Förster (geb. Helfrich)

Jahrgang 1957. 1976–1982 Biologiestudium an den Universitäten Stuttgart und Tübingen. 1982–1985 Promotion im Fachgebiet Neurobiologie der Universität Tübingen. 2000 Habilitation im Fach Zoologie. Seit 2001 Professur für Zoologie an der Universität Regensburg. Ab Oktober 2009 Professur für Neurobiologie und Genetik an der Universität Würzburg.