

Informationsaustausch in der Pflanzenzelle

Plastiden und Zellkern im Zwiegespräch

KARIN KRUPINSKA

Zur Züchtung ertragsstabiler Pflanzen ist es wichtig, die Gene zu kennen, die für die Produktivität wichtig sind und ihre Aktivierung zu verstehen. Von besonderer Bedeutung sind dabei die Gene, die die Photosyntheseleistung einer Pflanze bestimmen. Pflanzenzellen besitzen in den Plastiden ein zusätzliches Genom, das Informationen zum Aufbau weniger zentraler Proteine der Photosynthese bereithält. Kontrolliert wird dieses Genom vom Zellkern – doch die Aktivität des Zellkerns ist auch abhängig von Signalen der Plastiden. Plastiden und Zellkern befinden sich in einem ständigen Zwiegespräch, dessen Bedeutung wir langsam zu verstehen beginnen.

Charakteristisch für Pflanzenzellen sind die von einer doppelten Hüllmembran begrenzten Plastiden, die ein eigenes Genom besitzen. Dieses Genom ist zwar klein, enthält aber wichtige Informationen zum Aufbau des Photosyntheseapparates. Der bekannteste Vertreter der Plastiden ist der Chloroplast in den grünen Geweben der Pflanzen. Chloroplasten entwickeln sich im Licht aus den undifferenzierten Proplastiden der teilungsaktiven Stammzellen, die unter anderem im Sprossmeristem zu finden sind. In den Chloroplasten findet die Photosynthese statt, die Grundlage für Wachstum und Produktivität der Pflanzen ist.

Die Leistungsfähigkeit der Chloroplasten hängt von vielen Faktoren ab, vor allem vom Licht. Zusammen mit empfindlichen Lichtrezeptoren im Cytoplasma nehmen Chloroplasten die Lichtsituation in der Umwelt wahr. Da Pflanzen ortsgebunden sind, müssen sie sich ständig an unterschiedliche Umweltbedingungen anpassen. Dazu gehört, dass sie ihre kompliziert zusammengesetzte Photosynthese-Maschinerie ständig neu

justieren und gegebenenfalls Komponenten ersetzen oder ergänzen. Da die Information zum Aufbau der meisten Proteine des Photosyntheseapparates auf den Chromosomen des Zellkerns zu finden ist, kann der Umbau des Photosyntheseapparates nur gelingen, wenn Plastiden und Zellkern miteinander kommunizieren.

Plastiden senden kontinuierlich differenzierte Signale aus, die Auskunft über ihre Funktionalität geben. Die Signale entstehen während der Photosynthese an der Thylakoidmembran, bei der Biosynthese von Tetrapyrrolen sowie während der Umsetzung der genetischen Information (siehe Kasten zum Thema Genexpression auf Seite 300). Der Zellkern ist in der Lage, diese Information wahrzunehmen und seine Genaktivitäten entsprechend anzupassen (Abbildung 1). Einige Signalmoleküle in den Plastiden sind identifiziert; die Übertragung der Information zum Zellkern ist aber noch ungeklärt. Die Sprache des Zellkerns ist dagegen bekannt. Der Zellkern liefert mRNA-Moleküle, die im Cytoplasma an den 80S Ribosomen als Matrizen zum Aufbau von Plastidenproteinen dienen. Nach dem Import in die Plastiden übernehmen die Proteine Funktionen in der Photosynthese, bei der Umsetzung der genetischen Information (siehe Kasten auf Seite 300) oder sie katalysieren chemische Reaktionen.

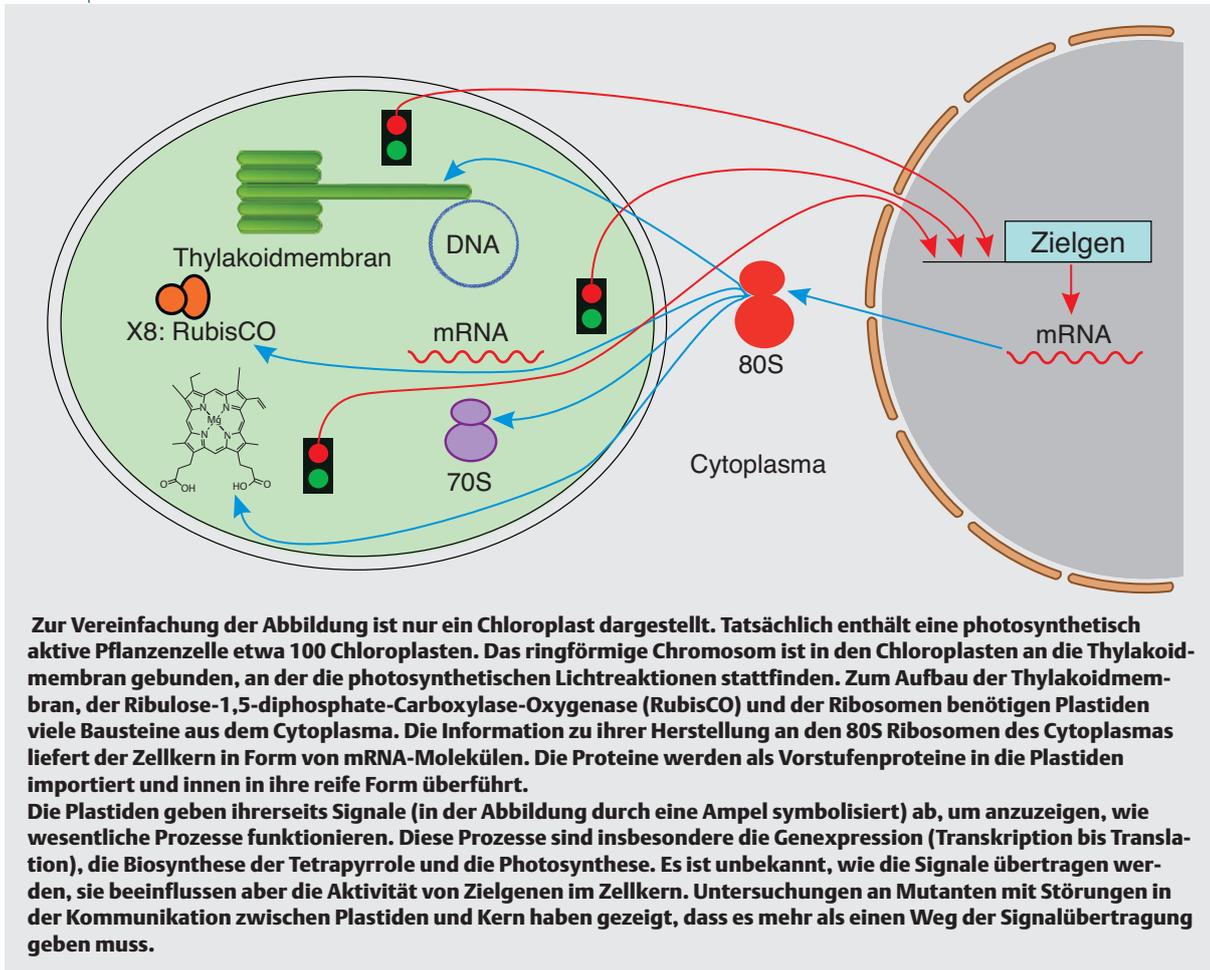
Die Herkunft der Plastiden erkennt man an ihrem Genom

Nach der Endosymbiontentheorie stammen die Plastiden von Cyanobakterien ab, die vor 1,2–1,5 Milliarden Jahren von einer Zelle aufgenommen wurden, die bereits Mitochondrien besaß. Wie ihre bakteriellen Vorgänger haben Plastiden eine ringförmige DNA und 70S Ribosomen, die kleiner sind als die Ribosomen im Cytoplasma (80S, Abbildung 1).

Die meisten Gene der Plastiden sind wie bei den Bakterien in Operonen angeordnet. Das bedeutet, dass mehrere Gene unter der Kontrolle eines Promotors stehen (siehe Kasten auf Seite 300). Während die Vorläufer der Plastiden vermutlich wie die heutigen Cyanobakterien circa 5000 Gene besaßen, besitzen die Plastiden der Höheren Pflanzen nur etwas mehr als 100 Gene.

Die mit einem grünen Pfeil markierten Begriffe werden im Glossar auf Seite 304 erklärt.

ABB. 1 | ZWIEGESPRÄCH VON PLASTIDEN UND ZELLKERN



Davon codieren 80–90 für Proteine. Die restlichen Gene codieren für vier ribosomale RNA-Moleküle und für circa 40 tRNA-Moleküle (siehe Tabelle auf Seite 301). Etwa 20 Plastidengene enthalten Introns. Das sind nichtcodierende Abschnitte, die bei der Reifung der RNA herausgeschnitten werden.

Plastiden haben also erheblich weniger Gene als die heutigen Verwandten ihrer Vorgänger. Bei der Suche nach den fehlenden Genen stellte man fest, dass diese in abgewandelter Form im Zellkern zu finden sind. Während der Evolution der Pflanzen muss es also einen massiven Transfer von bakteriellen Genen in das Kerngenom gegeben haben.

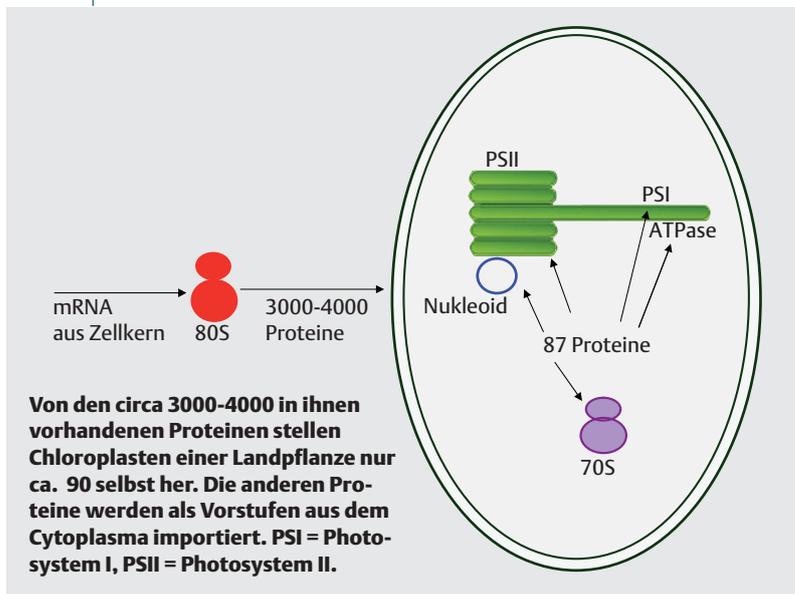
Untersuchungen zum Proteinrepertoire der Plastiden ergaben, dass es in den Plastiden mindestens 3000 verschiedene Proteine gibt, von denen sie nur etwa 80–90 direkt vor Ort herstellen können (Abbildung 2). Die meisten Proteine entstehen außerhalb der Plastiden als Vorstufenproteine an 80S Ribosomen. Die Vorstufenproteine besitzen am N-Terminus eine Transitsequenz, die an einen Importkanal in der äußeren Membran der Plastidenhülle bindet. Unter Verbrauch von ATP werden die Vorstufenproteine über beide Hüll-

membranen in die Plastiden transportiert. Durch Abspaltung des N-terminalen Vorstufenpeptids werden die Proteine innerhalb der Plastiden schließlich in ihre reife, funktionsfähige Form überführt [5].

Plastiden besitzen viele Kopien ihres Genoms

Während der Zellkern der Höheren Organismen meist zwei Kopien eines Gens besitzt, haben Plastiden viele Kopien ihres Genoms. Die Zahl der Genomkopien ist veränderlich und hängt unter anderem vom Pflanzengewebe, vom Entwicklungszustand der Pflanze und den Umweltbedingungen ab. Chloroplasten im photosynthetisch aktiven Blattgewebe besitzen circa 300 Genomkopien, die auf mehrere Nukleole verteilt sind. Eine typische Blattzelle hat etwa 100 Chloroplasten. Das bedeutet, dass diese Zelle etwa 30.000 Kopien des plastidären Genoms besitzt. Plastiden mit einem hohen Proteinbedarf wie die Chloroplasten haben mehr Kopien als ihre undifferenzierten Vorläufer (Proplastiden) und andere Plastidentypen, die keine Photosynthese betreiben. Dieser Zusammenhang weist darauf hin, dass eine große Zahl an Genkopien wichtig ist, damit die Plastiden während ihrer Entwicklung zu Chloroplasten in kurzer

ABB. 2 | PROTEINREPERTOIRE DER CHLOROPLASTEN



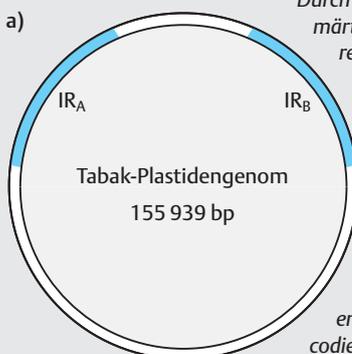
Zeit große Mengen an Proteinen für die Photosynthese herstellen können. Das bedeutet aber umgekehrt nicht, dass die Menge der Proteine nur von der Genkopienzahl abhängt. Sie hängt zusätzlich auch ab von der Transkription, der Prozessierung der RNA, der Stabilität der RNA und der Translation (siehe Kasten auf dieser Seite).

Mit empfindlichen Fluoreszenzfarbstoffen lässt sich die DNA in den Plastiden sichtbar machen. Mit dem Mikroskop kann man in Chloroplasten etwa 20 kleine Körnchen leuchten sehen, die den Nukleoiden der Bakterien ähneln (Abbildung 3). Jedes dieser Nukleotide enthält 10–20 Kopien des Plastidengenoms und verschiedene Proteine. In Proplastiden findet man weniger Nukleotide. Während die Nukleotide der Proplastiden an der inneren Hüllmembran verankert sind, befinden sich die Nukleotide der Chloroplasten an den Thylakoidmembranen (Abbildung 1), in denen die Lichtreaktionen der Photosynthese stattfinden. Die räumliche Nähe von Thylakoidmembran und Nukleoiden ermöglicht es, dass sich die Transkriptionsaktivität des Plastidengenoms aktuell auf den Bedarf des Photosyntheseapparates einstellen kann.

Nukleotide bestehen aus DNA und mindestens 50 verschiedenen Proteinen. Man nimmt an, dass einige dieser Proteine die Photosyntheseaktivität messen und diese Information an den Transkriptionsapparat der Plastiden übermitteln. In Anbetracht der unterschiedlichen Lage der Nukleotide in Proplastiden und Chloroplasten ist zu vermuten, dass sich ihre Proteinzusammensetzung während der Entwicklung von Proplastiden zu Chloroplasten ändert. Bisher liegen aber nur Ergebnisse zum Proteinrepertoire der Nukleotide in reifen Chloroplasten vor [12]. Untersuchungen an Mutan-

EBENEN DER GENEXPRESSION IN DEN PLASTIDEN

a) Das ringförmige Chromosom der Plastiden. Typischerweise gibt es auf dem Chromosom der Plastiden einen Abschnitt, der spiegelbildlich angeordnet zweimal vorkommt (blau). Dieser Bereich wird „Inverted Repeat (IR)“ genannt und enthält die Replikationsursprünge sowie die Gene für die vier ribosomalen RNA-Moleküle (rRNA). Diese Abschnitte trennen zwei einfach vorkommende Bereiche des Genoms (weiß) voneinander. b) Die **Transkription** in den Plastiden erfolgt durch zwei RNA-Polymerasen. Eines der Enzyme ist verwandt mit den bakteriellen RNA-Polymerasen und die Grundkomponenten sind plastidencodiert (PEP: plastid encoded polymerase); das zweite ist verwandt mit den einfach aufgebauten RNA-Polymerasen der Bakteriophagen und ist im Kern codiert (NEP: nuclear encoded polymerase).

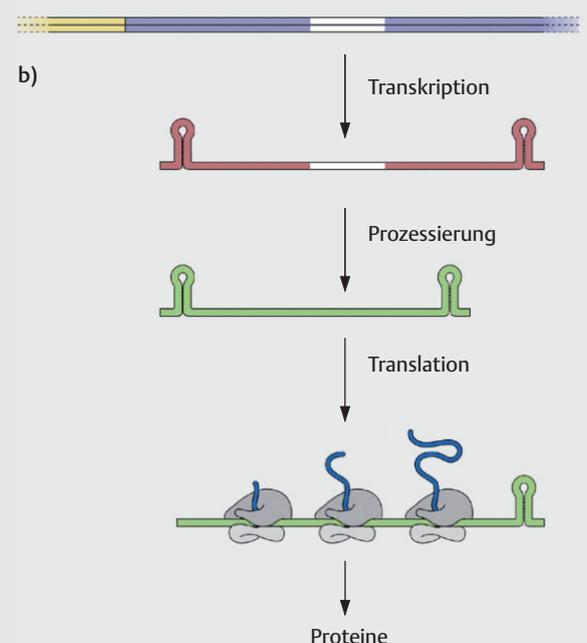


Durch Transkription entsteht ein **polycistronisches** Primärtranskript. Dieses RNA-Molekül enthält oft mehrere Leserahmen. Das sind Abschnitte mit Informationen zum Aufbau von Proteinen. Einige Transkripte werden in ihrer Sequenz durch Editierung verändert. Dabei kommt es an bestimmten Stellen der Sequenz zu einem Austausch von Cytidin zu Uracil. In den Plastidengenomen der Landpflanzen erfolgt dieser Austausch von C zu U an 20-40 Positionen.

Prozessierung der RNA: Etwa 20 Transkripte in den Chloroplasten der Landpflanzen enthalten Intronen. Die Entfernung dieser nicht-codierenden Abschnitte nennt man Spleißen. Im Anschluss an das Spleißen wird die RNA in die genspezifischen

Abschnitte zerteilt und an den Enden getrimmt. Die dabei erhaltenen Transkripte binden an die 70S Ribosomen.

Die **Translation** an den 70S Ribosomen findet in der Regel nur dann statt, wenn auch die anderen Bausteine zum Aufbau eines Proteinkomplexes vorliegen. So werden die



zentralen Proteine der Photosysteme nur fertiggestellt, wenn auch Chlorophyll hergestellt wird und an das noch unfertige Protein bindet. Bild: verändert nach B. Buchanan, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Wiley & Sons, 2000.

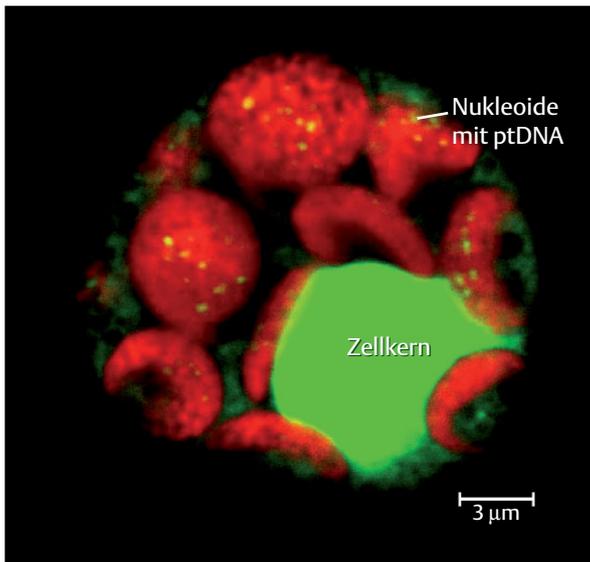


ABB. 3 Färbung der DNA mit SYBR Green in einem Protoplasten des Tabaks. Neben dem Zellkern leuchten kleine Pünktchen in den rot fluoreszierenden Chloroplasten. Diese Pünktchen sind Nukleotide. Bild: Mikroskopie und Photographie durch Christine Desel, CAU.

ten, denen jeweils eines dieser Proteine fehlt, zeigten, dass einige Vertreter der Nukleoidproteine auch für die Bildung des Thylakoidmembransystems wichtig sind [12].

Wie kontrolliert der Zellkern die Plastiden?

Die an der Photosynthese beteiligten Proteinkomplexe in der Thylakoidmembran sind dreidimensionale Mosaik und bestehen aus eigens in den Plastiden hergestellten Proteinen sowie aus kerncodierten Proteinen, die aus dem Cytoplasma importiert werden [15]. An anderen Aktivitäten der Plastiden, beispielsweise der Biosynthese von Tetrapyrrolen wie Häm und Chlorophyll, sind ausschließlich importierte Proteine beteiligt. Umgekehrt gibt es in den Plastiden keine Aktivität, die ausschließlich von Proteinen verursacht wird, die die Plastiden selbst herstellen. Sämtliche Aktivitäten der Plastiden erfordern also importierte Proteine und stehen unter der Kontrolle des Zellkerns. Der Einfluss des Zellkerns lässt sich beispielhaft am Transkriptionsapparat der Plastiden verdeutlichen. Plastiden besitzen zwei RNA-Polymerasen. Eine stammt von den bakteriellen Vorläufern ab. Das Enzym besteht aus vier Grundkomponenten, die die Plastiden selbst herstellen (Tabelle 1), und zusätzlich einem importierten Sigmafaktor. Der Zellkern bestimmt, welche der sechs in Frage kommenden Sigmafaktoren hergestellt werden. Die zweite RNA-Polymerase wird ebenfalls importiert. Sie ist – wie auch die RNA-Polymerase der Mitochondrien – mit den einfach aufgebauten RNA-Polymerasen der Bakteriophagen verwandt [4] und funktioniert ohne plastiden-eigene Bausteine.

TAB. GENE DES PLASTIDENGENOMS EINER LANDPFLANZE

Genprodukt	Genname	Anzahl der Gene
rRNA	<i>rrn</i>	4
tRNA	<i>trn</i>	ca. 30
ribosomale Proteine	<i>rps, rpl</i>	20
RNA-Polymerase	<i>rpo</i>	4
Spleißfaktoren	<i>mat</i>	1
RubisCO, große Untereinheit	<i>rbcl</i>	1
Photosystem II	<i>psb</i>	8
Photosystem I	<i>psa</i>	2
Elektronentransport	<i>pet</i>	3
ATP-Synthase	<i>atp</i>	6
NADH Dehydrogenase	<i>ndh</i>	11

Andere Prozesse in den Plastiden stehen noch stärker unter Kontrolle des Zellkerns. Die komplizierte Reifung der meist aus mehreren Abschnitten bestehenden polycistronischen Transkripte (siehe Kasten auf Seite 300) erfordert ein umfangreiches Repertoire an verschiedenen RNA-Bindeproteinen, die alle aus dem Cytoplasma stammen [17]. Licht und andere Umweltfaktoren bestimmen, welche dieser RNA-Bindeproteine hergestellt werden. Über Veränderungen im Repertoire dieser Regulator-Proteine kann der Zellkern die komplizierte Reifung der mRNA-Moleküle in den Plastiden auf die Bedürfnisse der Zelle abstimmen.

In Anbetracht dieser starken Kontrolle plastidärer Prozesse durch den Zellkern stellt sich die Frage, warum Plastiden überhaupt noch ein eigenes Genom besitzen [15]. Zur Beantwortung dieser Frage gibt es allerdings mehr Spekulationen als gesichertes Wissen. Vielleicht benötigen die Plastiden einfach deshalb ein Genom, um mit dem Rest der Zelle kommunizieren zu können?

Wann senden Plastiden Störssignale an den Zellkern?

Die von außen importierten Proteine der Photosynthesekomplexe können nur dann richtig funktionieren, wenn sie in den Plastiden mit den passenden Bausteinen verbunden werden. Plastiden stellen nicht nur die zentralen Proteine der Photosysteme selbst her, sondern auch die Pigmente (Carotinoide und Chlorophylle) der Photosynthese. Die Genaktivität im Zellkern stellt sich kontinuierlich auf die Bedürfnisse der Plastiden ein. Sobald während der Entwicklung der Chloroplasten ein Baustein des Photosyntheseapparates im Überschuss vorliegt, entstehen in den Plastiden Störssignale, und im Zellkern verringert sich die Aktivität des betreffenden Zielgenes. Ein gut untersuchtes Zielgen für Plastidensignale ist *rbcS*, das für die kleine Untereinheit der Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase codiert. Ein weiteres Zielgen ist *lhcb1*, das für ein Protein des Lichtsammelkomplexes (LHC) codiert. Experimentell kann man in den Plastiden eine



ABB. 4 Wenn Samen dieser Gersten-Mutante *albostrians* ausgesät werden, wachsen weiße, gestreifte und grüne Keimlinge. Die weißen Keimlinge besitzen Plastiden ohne Ribosomen und können daher keine Proteine in den Plastiden herstellen.

Störsituation durch Chemikalien herbeiführen, die die Chloroplastenentwicklung an verschiedenen Stellen hemmen. Mit dem Herbizid Norflurazon kann man die Bildung von Carotinoiden hemmen. Plastiden ohne Carotinoide bilden auch keine Chlorophylle und damit keine Photosynthesekomplexe. Mit Tagetitoxin hemmt man die Transkription und mit Lincomycin die Proteinsynthese an 70S Ribosomen. In der Natur treten ähnliche Störungen vor allem bei hoher Lichtintensität und unter extremen Temperaturbedingungen auf.

Die ersten Hinweise auf Störssignale aus den Plastiden erhielten Thomas Börner und Kollegen bereits Ende der 1970er Jahre durch Untersuchungen an der Gerstenmutante *albostrians* [2]. Bei Aussaat dieser Mutante erhält man 10% weiße, 80% grünweiß gestreifte und 10% grüne Keimlinge (Abbildung 4). Die Wissenschaftler stellten fest, dass die Plastiden in den weißen Blattbereichen keine Ribosomen besitzen. Die Mutation betrifft also ein Gen, das für den Aufbau von Ribosomen in den Plastiden erforderlich ist. Erwartungsgemäß können die Plastiden in den weißen Blattbereichen daher keine Proteine für den Photosyntheseapparat herstellen. Unerwartet war aber, dass auch der Zellkern in dieser Situation keine mRNA-Moleküle zum Aufbau von Plastidenproteinen liefert. Daraus schlossen die Wissenschaftler, dass die defekten Plastiden Störssignale abgeben, die der Zellkern empfängt und dann seine Aktivitäten für die Plastiden einstellt.

Welche Signale nutzen Plastiden, um sich mitzuteilen?

Inzwischen kennt man verschiedene Situationen, in denen in Plastiden besondere Signale entstehen. Dazu gehören Redoxsignale, reaktive Sauerstoffverbindungen (ROS) und Zwischenprodukte der Tetrapyrrolbiosynthese. Man erkennt die Mitteilungen der Plastiden aber nur an Veränderungen in der Aktivität des Kerngenoms.

In welcher Form die Information aber die Plastiden verlässt, ist völlig offen.

Redoxsignale entstehen durch Änderungen im Verhältnis von oxidierten zu reduzierten Elektronenüberträgern und zeigen Ungleichgewichte im Photosyntheseapparat an [16]. Der am besten untersuchte Redoxanzeiger ist das Plastochinon [13]. Wenn Photosystem II aktiv ist und mehr Elektronen liefert als Photosystem I annehmen kann, kommt es in der Thylakoidmembran zur Reduktion des Plastochinons. Wenn dagegen ein Überschuss an Elektronen hinter Photosystem I vorliegt, akkumuliert reduziertes Ferredoxin (Abbildung 5).

Bei einem störungsfreien effizienten Ablauf der Photosynthese sind die Aktivitäten der beiden Photosysteme aufeinander abgestimmt und die Elektronen aus dem Wasser reduzieren den Akzeptor NADP. Störungen im Elektronenfluss können zur Bildung von reaktiven Sauerstoffmolekülen führen. Bei hoher Lichtstrahlung entsteht am Photosystem II Singulett-Sauerstoff. Wenn kein oxidiertes NADP vorliegt, reduzieren Elektronen aus dem Photosystem I Sauerstoff zu Superoxidationen. Diese sind langlebiger als Singulett-Sauerstoff und können durch einen spezifischen Farbstoff nachgewiesen werden (Abbildung 6). Obwohl Singulett-Sauerstoff eine Lebensdauer von nur wenigen Mikrosekunden hat, verursacht er im Zellkern ein spezifisches Genaktivitätsmuster, das schließlich zum Tod der Zelle führt [1]. Aus Superoxidationen kann das Enzym Superoxiddismutase (SOD) Wasserstoffperoxid herstellen, das in hoher Konzentration ebenfalls Zelltodprozesse auslöst. Im Unterschied zu Singulett-Sauerstoff hat Wasserstoffperoxid eine tausendfach längere Lebensdauer und kann Membranen durchqueren. Es könnte also die Plastiden verlassen und im Zellkern mit Transkriptionsfaktoren reagieren.

Tetrapyrrole sind kompliziert aufgebaute organische Moleküle, die Licht im sichtbaren Bereich absorbieren können. Zu den Tetrapyrrolen gehören Chloro-

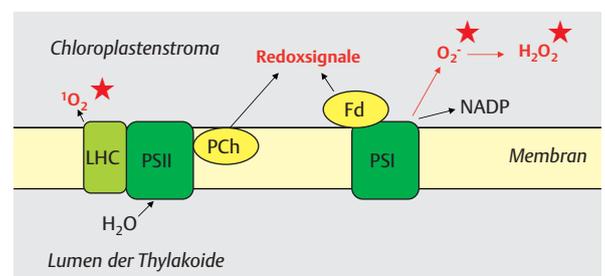


ABB. 5 Redoxsignale, die während der Photosynthese entstehen können.

Redoxveränderungen entstehen vor allem am Plastochinon (PCh) und am Ferredoxin (Fd). Reaktive Sauerstoffspezies entstehen bei der Lichtaktivierung von Sauerstoff im Photosystem II (Singulett-Sauerstoff) oder bei der Übertragung von Elektronen auf Sauerstoff am Photosystem I (Superoxidationen und Wasserstoffperoxid).

phylle, Häm und die Phytochromobile. Die Synthese der Tetrapyrrole verläuft über einen komplizierten Weg, von dem die meisten Schritte in den Plastiden stattfinden (Abbildung 7). Endprodukt des Weges in den Plastiden sind die Chlorophylle. Auf der Stufe des Protoporphyrinogens IX verzweigt sich der Weg zum ersten Mal. Das Zwischenprodukt verlässt die Plastiden und gelangt in die Mitochondrien, die daraus Häm für die Cytochrome in der Atmungskette herstellen. Auf der nachfolgenden Stufe des Protoporphyrins IX verzweigt sich der Weg ein zweites Mal. Aus diesem Zwischenprodukt kann auch Biliverdin entstehen, das Ausgangsstoff für die Synthese von Phytochromobilin und Phytochromen im Cytoplasma ist (Abbildung 7). Weil freie Tetrapyrrole Energie auf Sauerstoff übertragen können und ein Zuviel an reaktiven Sauerstoffmolekülen in der Zelle zu irreparablen Schäden führt, stellen Plastiden nur soviel dieser Moleküle her, wie auch benötigt wird. Wenn beispielsweise nicht genügend Proteine zur Bindung der Chlorophylle im Photosyntheseapparat zur Verfügung stehen, können sich Zwischenstufen des Tetrapyrrolweges wie das Mg-Protoporphyrin IX (Abbildung 7) anreichern. Die Moleküle zeigen daher Störungen in der Chloroplastenentwicklung an.

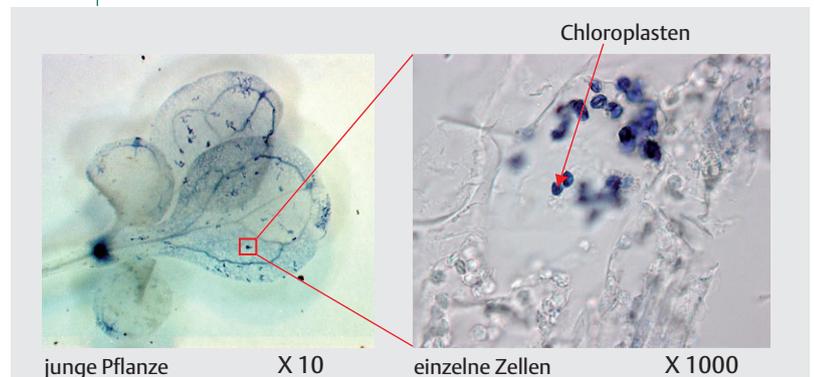
Wer überträgt die Signale aus den Plastiden zum Zellkern?

Mutanten, die Störungen in den Plastiden nicht bemerken, nennt man *gun* (genome uncoupled), weil bei ihnen die Kommunikation zwischen Plastiden- und Zellkern entkoppelt ist. Wie zu erwarten, sind einige dieser Mutanten in der Tetrapyrrolbiosynthese gestört. Zwei *gun*-Mutanten (*gun2*, *gun3*) bilden keine Phytochrome, weil sie entweder kein Biliverdin bilden oder dieses nicht zu Phytochromobilin umsetzen (Abbildung 7). Auf dem Hauptweg zu den Chlorophyllen entsteht nach dem Protoporphyrin IX das Mg-Protoporphyrin IX. Zwei weitere *gun* Mutanten (*gun4*, *gun5*) können kein Mg-Protoporphyrin IX herstellen (Abbildung 7). Ein nachgeschaltetes Glied in der Signalkette von Plastiden zum Zellkern wird durch das *gun1*-Gen codiert. Der *gun1*-Mutante fehlt ein RNA-Bindeprotein, das in den Nucleoiden der Plastiden zu finden ist. In einer viel beachteten Arbeit berichten Joanne Chory und ihre Mitarbeiter, dass das Protein nicht nur Informationen über die Entstehung von Mg-Protoporphyrin IX anzeigt, sondern auch andere Störungen anzeigen kann [6] (Abbildung 8).

Erkennung von Plastidensignalen im Zellkern

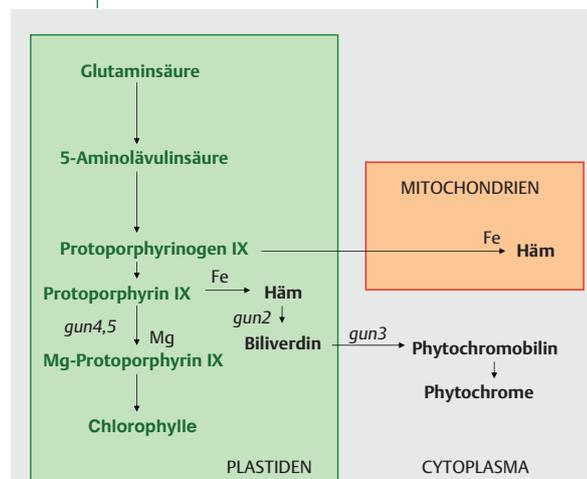
Bei Störungen in den Plastiden beobachtet man, dass sich im Zellkern die Aktivität bestimmter Gene ändert. Einige dieser Gene besitzen in ihrem Promotorbereich eine CCAC-Sequenz neben einer G-Box (GTG) (Abbildung 8). An G-Boxen binden Transkriptionsfaktoren,

ABB. 6 |



In Pflanzen, die hohen Lichtintensitäten ausgesetzt sind, entstehen Superoxidationen, die durch den Farbstoff NBT (Nitrotetrazolium-Blau) nachgewiesen werden können. Nach Färbung und Entfernung des Chlorophylls kann man in den Blättern der Ackerschmalwand bei 1000facher Vergrößerung erkennen, dass der Farbstoff in den Chloroplasten vorliegt.

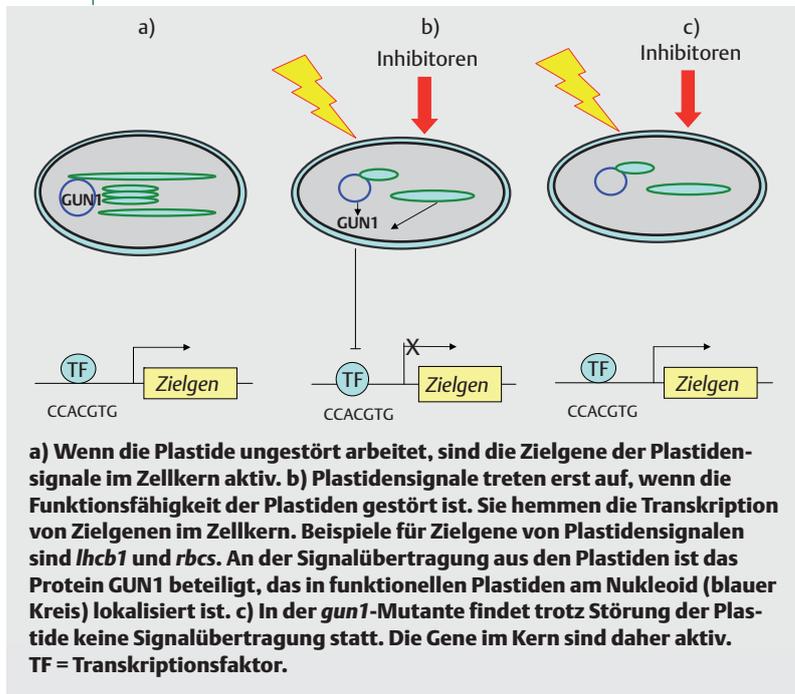
ABB. 7 | TETRAPYRROLBIOSYNTHESE



Ausgehend von der Aminosäure Glutaminsäure stellen Pflanzen verschiedene Tetrapyrrole her; Chlorophylle, Häm, Photochromobile. Chlorophylle und Häm sind ringförmige Tetrapyrrole (Porphyrine) und Photochromobile sind offenkettig. Der Biosyntheseweg findet zum größten Teil in den Plastiden statt. Mutanten (*gun 2-5*), die einzelne Schritte nicht durchführen können, haben einen *GUN*-Phänotyp.

die durch Licht aktiviert werden. Pflanzen nehmen Licht über empfindliche Photorezeptoren wie *Phytochrom* wahr und können Wachstum und Funktionen auf das Lichtangebot einstellen [11]. Plastidensignale scheinen die Bindung der durch Licht aktivierten Transkriptionsfaktoren an die G-Box zu verändern. Dadurch können sie die Reaktion der Pflanzen auf Licht entweder bremsen oder beschleunigen. Zu den Transkriptionsfaktoren, die das Protein GUN1 kontrolliert, gehört ABI4. Es ist vorstellbar, dass ABI4 mit G-Box-Bindepro-

ABB. 8 | DER GUN1-SIGNALWEG ÜBERMITTELT STÖRUNGSSIGNALE AN DEN ZELLKERN



teinen um die Bindung an die Promotoren konkurriert. Fehlt das GUN1-Protein wie in der *gun1* Mutante, kann der Zellkern das Plastidensignal nicht erkennen und die Zielgene bleiben auch bei Störungen in den Plastiden aktiv (Abbildung 8).

GLOSSAR

Cryptochrome: empfindliche Lichtrezeptoren, die vorwiegend Blaulicht absorbieren; sie steuern zusammen mit Phytochrom lichtabhängige Entwicklungsprozesse.

Endosymbiontentheorie: Theorie zur Entstehung komplexer Zellen (eukaryotischer Zellen). Nach dieser Theorie, die ursprünglich 1883 von A.F.W. Schimper formuliert wurde, stammen die Mitochondrien und Plastiden von Bakterien ab, die von einer Zelle ohne Organellen aufgenommen wurde. Vor ca. 3 Milliarden Jahren erfolgte die Aufnahme des Vorläufers der Mitochondrien. Eine Zelle, die bereits Mitochondrien besaß, nahm vor ca. 1,5 Milliarden Jahren dann ein Cyanobakterium auf. Durch die Aufnahme von Bakterien mit effizienten ATP-Synthasen hatte die ursprüngliche Zelle Vorteile. Man spricht daher von einer Symbiose.

LHC: (light harvesting complex) Lichtsammelkomplex, der vorwiegend mit Photosystem II in den Granathylakoiden der Chloroplasten verbunden ist. Die Gene der Apoproteine des Komplexes werden *lhcb*-Gene genannt.

GUN-Phänotyp; gun-Mutanten: genome uncoupled. Normalerweise reagieren Pflanzen auf eine funktionelle Störung in den Chloroplasten mit der Abschaltung von Kerngenen, die für Komponenten des Photosyntheseapparates codieren, insbesondere *rbcS* und *cab*. In Mutanten mit GUN-Phänotyp sind die Gene aktiv, obwohl die Plastiden funktionell gestört sind.

Phytochrom: empfindliches Lichtrezeptorsystem für rotes Licht, das als Pigment ein offenkettiges Tetrapyrrol besitzt (Phytochromobilin). Phytochrome liegen in zwei Formen vor [11]. Eine Form absorbiert hellrotes Licht mit einem Absorptionsmaximum von 660 nm (Pr), die zweite aktive Form absorbiert dunkelrotes Licht mit einem Absorptionsmaximum von 730 nm (Pfr). Mit Hilfe des Phytochromsystems können Pflanzen vorausschauend handeln und Stress vermeiden.

Es gibt mehrere Signalübertragungsketten

Das Protein GUN1 ist an der Übertragung verschiedener Signale aus den Plastiden zum Zellkern beteiligt [6]. Um zu klären, ob es neben dem von GUN1 abhängigen Weg der Signalübertragung noch weitere Signalübertragungswege gibt, hat man in Keimlingen der *gun1*-Mutante die Chloroplastenentwicklung gestört. Wenn GUN1 das einzige System zur Übertragung von Plastideninformation wäre, sollten in der Mutante die Zielgene im Kern trotz Störung in den Plastiden aktiv sein. Man stellte aber fest, dass die Aktivität der Gene gegenüber ungestörten Wildtyppflanzen vermindert ist. Aus dieser Beobachtung schlossen Larkin und Ruckle, dass GUN1 nicht das einzige Übertragungssystem für Plastidensignale ist. Bei der Suche nach Mutanten, denen ein zusätzliches Signalübertragungssystem fehlt, stießen sie auf die *cry1* Mutante [9]. Dieser Mutante fehlt ein Cryptochrom, das für die Wahrnehmung von Blaulicht wichtig ist. Wie Cryptochrom die Signalübertragung aus den Plastiden zum Zellkern beeinflusst, bleibt zu klären.

Ein weiteres Protein, das wahrscheinlich eine Rolle bei der Signalübertragung aus den Plastiden spielt, ist Whirly1. Das Protein ist in einer Zelle sowohl im Zellkern als auch in den Plastiden nachweisbar [3]. Das Protein hat in beiden Kompartimenten dieselbe Größe und kann offensichtlich aus den Plastiden in den Zellkern wandern. Unveröffentlichte Ergebnisse zeigen, dass sich die Verteilung des Proteins während der Entwicklung und unter verschiedenen Umweltbedingungen ändert. In Pflanzen mit verminderter Menge an Whirly1 ist die Chloroplastenentwicklung verzögert. Es könnte daher sein, dass Whirly1 die Empfindlichkeit der Pflanzen gegenüber Licht einstellt.

Whirly1 ist in den Plastiden wie das Protein GUN1 an die Nukleotide gebunden. Wie bereits oben erwähnt, enthalten Nukleotide eine Vielzahl von RNA-Bindeproteinen, die an den verschiedenen Schritten der RNA-Reifung beteiligt sind. Unter anderem entfernen sie Introns und spalten die großen Primärtranskripte (siehe Kasten auf Seite 300). Auch Whirly1 scheint eine Rolle bei der Reifung der Transkripte zu spielen. Es bindet an Transkripte mit Introns, und in Mutanten mit nur Spuren von Whirly-Protein ist das Ausschneiden dieser Sequenzabschnitte vermindert [10]. Was haben nun aber Nukleotide und die dort lokalisierten RNA-Bindeproteine mit der Signalübertragung zum Zellkern zu tun? Durch Verbindung mit dem grün fluoreszierenden Protein (GFP) haben Stefan Hoth und Mitarbeiter ein RNA-Bindeprotein in den Stromuli der Plastiden nachgewiesen [14]. Es ist denkbar, dass es einen Transportweg für RNA-Bindeproteine unter Beteiligung von Stromuli gibt (siehe hierzu auch [8]).

Wie oben beschrieben, kann der Zellkern Störungen in der Transkription und Translation innerhalb der Plastiden wahrnehmen. Licht und andere Umweltfaktoren,

die für die Funktion der Plastiden wichtig sind, könnten die Bildung von spezifischen RNA-Bindeproteinen fördern. Das von Stefan Hoth und Mitarbeitern in den Stromuli nachgewiesene RNA-Bindeprotein entsteht nach Behandlung von Pflanzen mit Abscisinsäure. Dieses Hormon spielt eine wichtige Rolle bei der Anpassung von Pflanzen an Trockenheit. Andere Hormone können die Bildung weiterer RNA-Bindeproteine auslösen. Störungen in der Transkription und Translation in den Plastiden führen zu einem veränderten Muster an Transkripten. Es ist möglich, dass die RNA-Bindeproteine an der Wahrnehmung dieser Störungen beteiligt sind.

Stromuli können Moleküle zwischen Plastiden austauschen. Sie bilden aber auch Kontakte zu anderen Kompartimenten der Zelle aus und könnten Moleküle aus den Plastiden zum Zellkern bringen [8]. Stuttgarter Wissenschaftler haben vor kurzem gezeigt, dass Viren die Bildung von Stromuli auslösen. Nach Befall mit Geminiviren wurde ein für den Transport von Viren erforderliches Protein (Movement-Protein) in den Stromuli detektiert [7]. Es ist anzunehmen, dass die Viren für ihre Wanderung in den Zellkern einen Weg verwenden, der in der Pflanzenzelle bereits vorhanden ist. Weitere Untersuchungen zur Verbreitung der Viren in der Pflanzenzelle können helfen, die unbekanntesten Signalwege, die Plastiden für ihre Botschaften an den Zellkern nutzen, aufzuklären.

Zusammenfassung

Pflanzenzellen besitzen in den Plastiden ein Genom, das Informationen zum Aufbau weniger zentraler Proteine der Photosynthese bereithält. Da die Gene der meisten Bausteine der Photosyntheseeinheiten aber im Zellkern vorliegen, ist eine Abstimmung der beiden Genome unumgänglich. In den Plastiden entstehen kontinuierlich Signale, die ihre Funktionsfähigkeit anzeigen, und die der Zellkern empfangen kann. Zu den Signalen gehören reaktive Sauerstoffverbindungen und Tetrapyrrole. An der Übertragung der Signale scheinen RNA-Bindeproteine beteiligt zu sein.

Summary

Plastids and nucleus talk

Plant cells possess plastids having a small genome containing information for biosynthesis of central proteins of the photosynthetic apparatus. Most components of the photosynthetic apparatus are however encoded by the nuclear genome. This constellation requires intensive communication between the two compartments. Plastids produce continuously signals such as reactive oxygen species and tetrapyrrol biosynthesis intermediates informing about their functionality. RNA-binding proteins might be involved in transduction of information from plastids to the nucleus.

Schlagworte

Plastiden, Chloroplasten, Photosynthese, Kommunikation in der Pflanzenzelle, Stromuli

Literatur

- [1] K. Apel, H. Hirt, Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction, *Annual Review of Plant Biology* 2004, 55, 373–399.
- [2] J. Bradbeer, Y. Atkinson, T. Börner, R. Hagemann, Cytoplasmic synthesis of plastid polypeptides may be controlled by plastid-synthesized RNA, *Nature* 1979, 279, 816–817.
- [3] E. Grabowski, Y. Miao, M. Mulisch, K. Krupinska, Single-stranded DNA binding protein Whirly1 in barley leaves is located in chloroplasts and nuclei of the same cell, *Plant Physiology* 2008, 147, 1800–1804.
- [4] B. Hedtke, T. Börner, A. Weihe, Mitochondrial and chloroplast phage type RNA polymerases in *Arabidopsis*, *Science* 1997, 277, 809–811.
- [5] P. Jarvis, Targeting of nucleus-encoded proteins to chloroplasts in plants, *New Phytologist* 2008, 170, 257–285.
- [6] S. Koussevitzky, A. Nott et al., Signals from chloroplasts converge to regulate nuclear gene expression, *Science* 2007, 316, 715–719.
- [7] B. Krenz, V. Windeisen, C. Wege, H. Jeske, T. Kleinow, A plastid-targeted heat shock cognate 70 kDa protein interacts with the Abutilon mosaic virus movement protein, *Virology* 2010, 401, 6–17.
- [8] K. Krupinska, C. Desel, M. Mulisch, Plastiden-Brücken im Netzwerk der Zelle: Stromuli, *Biol. Unserer Zeit* 2010, 3, 162–170.
- [9] R. M. Larkin, M. E. Ruckle, Integration of light and plastid signals, *Current Opinion in Plant Biology* 2008, 11, 593–599.
- [10] J. Melonek et al., 2010 Whirly1 in chloroplasts associates with intron containing RNAs and rarely co-localizes with nucleoids, *Planta* 2010, 232, 471–481.
- [11] H. Mohr, Sind Landpflanzen durch erhöhte UV-Strahlung besonders gefährdet?, *Biol. Unserer Zeit* 1996, 26, 240–244.
- [12] J. Pfalz et al., pTAC2, -6, and -12 are components of the transcriptionally active plastid chromosome that are required for plastid gene expression, *Plant Cell* 2006, 18, 176–197.
- [13] T. Pfannschmidt et al., Potential regulation of gene expression in photosynthetic cells by redox and energy state: approaches towards better understanding, *Annals of Botany* 2009, 103, 599–607.
- [14] S. Raab et al., ABA-responsive RNA-binding proteins are involved in chloroplast and stromule function in *Arabidopsis* seedlings. *Planta* 2006, 224, 900–914.
- [15] H. L. Race, R. G. Herrmann, W. Martin, Why have organelles retained genomes?, *TIG* 1999, 15, 364–370.
- [16] R. Scheibe, Ein Netzwerk zur flexiblen Adaptation von Stoffwechsel und Entwicklung bei Pflanzen – Redox-Regulation, *Biol. Unserer Zeit*, 2010, 40, 92–100.
- [17] C. Schmitz-Linneweber et al., Heterologous, splicing-dependent RNA editing in chloroplasts: allotetraploidy provides trans-factors. *EMBO J.* 2001, 20, 4874–4883.

Die Autorin



Karin Krupinska, geb. 1954 in Kassel. Promotion 1984 im Fachbereich Biologie der Universität Marburg; 1986–1987 Forschungsaufenthalt am Carlsberg-Forschungszentrum in Kopenhagen; 1994 Habilitation; 1990 bis 1995 Leiterin einer vom BMFT geförderten Nachwuchsgruppe am Institut für Allgemeine Botanik in Hamburg; 1995–1998 Lehrstuhl für Allgemeine Botanik am Botanischen Institut der Universität zu Köln; ab 1998 Professorin für Zellbiologie am Botanischen Institut der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Forschungsgebiete: Regulation der Blattseneszenz; Genexpression in Plastiden.

Korrespondenz:

Prof. Dr. Karin Krupinska
Botanisches Institut
Christian-Albrechts Universität
Olshausenstraße 40
24098 Kiel
E-Mail: kkrupinska@bio.uni-kiel.de