

四吡咯代谢中间产物在植物质体向细胞核 信号转导中的作用

钱野, 王君晖*

(浙江大学生命科学学院, 杭州 310012)

摘要: 在植物细胞内, 除了顺向的信号转导通路, 即核基因控制着质体基因的转录和翻译之外, 还存在着逆向的信号转导通路, 即质体的代谢状况作为一种信号去调控核基因的表达。过去对这条逆向的信号转导通路, 亦称质体因子, 研究得非常少。近几年来, 随着对基因组解偶联突变体的深入研究, 人们对这条通路的认识大大加深了。现着重介绍质体中的四吡咯代谢中间产物参与信号的产生, 以及质体向细胞质搬运这些中间产物启动了对编码质体蛋白的核基因的表达调控。

关键词: 质体因子; 四吡咯; 基因组解偶联突变

中图分类号: Q257 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-9977(2004)02-98-05

1 引言

高等植物的叶绿体一般只有 100 多个基因, 但它的蛋白质至少有 3000 多个, 这是因为在生物的长期进化过程中, 质体的大部分基因转移进入了核中, 只有一小部分它自己保留着^[1]。质体基因组是多拷贝环状 DNA, 且在高等植物中, 一个细胞往往有多个质体。基因在细胞核和质体间的分散现象, 以及两者基因拷贝数的一致, 就需要有一个机制去协调核中叶绿体基因和质体自身基因的表达, 使叶绿体蛋白质的最终组成和丰度有条不紊^[2]。

早期的一些实验证明了在细胞核与质体之间存在着信号通路, 通过这一信号转导途径, 核基因产物可以调控质体基因的转录和翻译^[3,4]。然而近来的实验显示, 除了这一顺向的信号通路外, 还存在逆向的, 即质体的代谢及发育状态能影响核基因的表达, 这些核基因通常编码质体蛋白^[2,5]。以光合作用系统所需要的蛋白质为例, 细胞质给它的组份和丰度必须与叶绿体自己合成的组份和丰度相匹配, 即细胞核能根据叶绿体实际的需求调节核中叶绿体基因的转录。例如, 当叶绿体受损伤时, 细胞核就能感受, 不再转录核中叶绿体基因^[6]。因此, 存在着一些质体因子(质体信号)让细胞核感受叶绿体的状态^[7]。本文将就当前这一质体向细胞核的信号转导通路及其研究进展作一综述, 着重介绍已被证

明存在的一类质体信号, 它们是质体中进行的四吡咯代谢的中间产物, 以及这一质体信号介导的信号转导通路作用机理。

2 四吡咯代谢及其对核基因的调控

在植物细胞的质体中进行着四吡咯代谢: 谷氨酸通过两条不同的分支途径, 最终分别合成叶绿素和光敏色素生色团(图 1), 四吡咯是合成这两种最终产物的结构骨架^[8]。有大量实验显示在这一代谢过程中产生的中间产物在质体向核的信号转导通路中充当着质体信号的角色。当叶绿体受到损伤而使四吡咯代谢受影响时, 中间产物的浓度就会发生变化, 这种变化就作为一种信号去改变核中相关基因的表达^[9,10]。下面就高等植物及藻类中研究得较多的这类信号对核中光合作用基因及热激蛋白(Heat shock protein, HSP)基因表达的影响分别作一介绍。

2.1 四吡咯对 *Lhcb* 基因的抑制

Lhcb(Light harvesting chlorophyll a/b binding)是核中与光合作用有关的基因, 编码光合系统 II 中的光捕获叶绿素 a/b 结合蛋白^[11]。在对高等植物的研究中, 发现四吡咯代谢的一些中间产物, 如果浓度

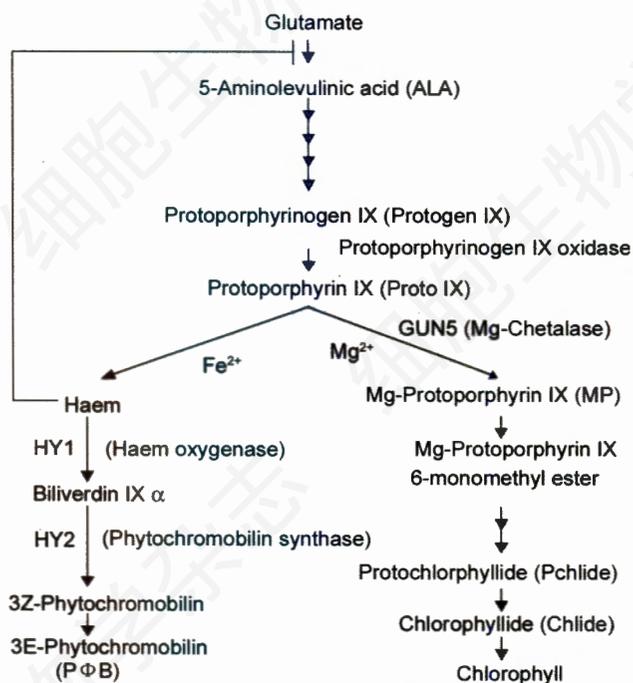


图1 质体中的四吡咯代谢途径^[10]

比正常提高, 则会抑制 *Lhcb* 的转录。用金钟柏素破坏原叶绿素酸酯(Protochlorophyllide, Pchlide)的合成, 则 Pchlide 上游步骤中的四吡咯物质尤其是镁-原卟啉IX单甲基酯(Mg-Protoporphyrin IX 6-monomethyl ester, MPM)就会累积(见图1), 此时检测到 *Lhcb* mRNA 水平的下降;此外, 用除草剂氨基二唑阻止质体中原片层体的正常发育, 影响叶绿素的正常合成, 会引起镁-原卟啉IX(Mg-Protoporphyrin IX, MP)的浓度升高(见图1), 也发现了 *Lhcb* 转录被抑制^[9]。因此, 认为能影响核基因转录的四吡咯物质主要是 MP 和 MPM。

2.2 四吡咯对 *HSP70* 基因的诱导

质体信号 MP 和 MPM 浓度提高也可以诱导核基因的转录。在对藻类的一些研究中, 发现 MP 和 MPM 会诱导 *HSP70* 基因的转录^[8]。当暗培养的莱茵哈德衣藻被转移至光照下, 细胞质中的 MP 和 MPM 浓度会升高, 随之 *HSP70A* 和 *HSP70B* 基因的表达也上调了^[12,13]。在四吡咯代谢异常的突变体中, 四吡咯水平下降, 对这些突变体在暗培养时, 加入外源 MP 或 MPM, 会提高 *HSP70A* 和 *HSP70B* mRNA 水平, 但当加入原卟啉IX(Protoporphyrin IX, Proto IX)时, 虽然也会促使 MP 和 MPM 浓度升高, 但此时对 *HSP70A* 的转录却没有影响^[10]。以上这些实验结果说明光是 MP 和 MPM 这些物质从质体被释放到

细胞质中所必需的, 这些物质只有进入到细胞质中才能起信号传递的作用。在暗培养条件下, 外加 Proto IX, 虽然也能生成 MP 和 MPM, 但只是让其累积在质体中, 信号不能被传到核中, 因此, 对 *HSP70A* 的转录也就无影响;但是, 加入外源的 MP 和 MPM, 就使得这些物质直接积累在细胞质中, 所以即使没有光刺激, 也能诱导 *HSP70* 的转录^[8]。

3 信号转导的具体机制

四吡咯代谢中间产物介导的核质信号转导机制可以用核质信号转导突变体来研究。Susek 等人在拟南芥中筛选得到了一系列核质信号转导突变体。诺氟拉呈(norflurazon)会导致质体光氧化, 在正常植株中, 质体将自己被破坏的信号传给细胞核, 引起核中光合作用相关基因 *Lhcb* 的表达被抑制。将转有 *Lhcb* 启动子接 *GUS* 基因的转基因种子, 用 EMS 诱变后, 在诺氟拉呈处理下, 筛选到仍能表达 *GUS* 即仍能表达 *Lhcb* 基因的植株, 即为信号转导突变体。这类突变体将质体的功能状态与核基因的转录状态解耦联, 所以被命名为“*gun*”——细胞核基因组与质体基因组间解耦联突变体(genomes uncoupled)^[11,14]。到目前为止, 已有 5 种 *gun* 座位被报道, 除了 *GUN1*, 其余均已完成基因克隆, *GUN2*, *GUN3* 和 *GUN5* 均为核编码的质体四吡咯代谢所需的酶^[15,16,17], *GUN4* 编码叶绿素合成的调控蛋白^[18]。同时, 双突变体分析显示 *GUN2*、*GUN3*、*GUN4* 和 *GUN5* 位于同一条信号通路上, 而 *GUN1* 则位于另一条独立的信号通路上^[14]。

通过对这些基因功能的研究, 试图来了解核质信号通路的机制。以下就对这些基因的功能研究以及在此基础上建立的信号转导通路作一介绍。

3.1 *GUN5* 基因及其作用模型

GUN5 基因是一系列 *GUN* 基因中研究得较为透彻的一个, 它编码叶绿素合成分支中所需的镁离子螯合酶的 Chlh 亚基, 该酶的作用是催化 Proto IX 结合 Mg 离子生成 MP^[17]。在 *gun5* 突变体中, 检测到 MP 浓度下降, 根据上述, 当质体内 MP 或 MPM 浓度上升时, 会使 *Lhcb* 基因的转录下调。所以 *GUN5* 基因的突变, 会引起 *Lhcb* 转录的去抑制。基于以上研究, 有人得出以下关于 *GUN5* 基因的作用模型(图2)。

在正常情况下, 四吡咯代谢途径正常, 叶绿素能正常合成, 没有中间产物 MP 或 MPM 的大量累

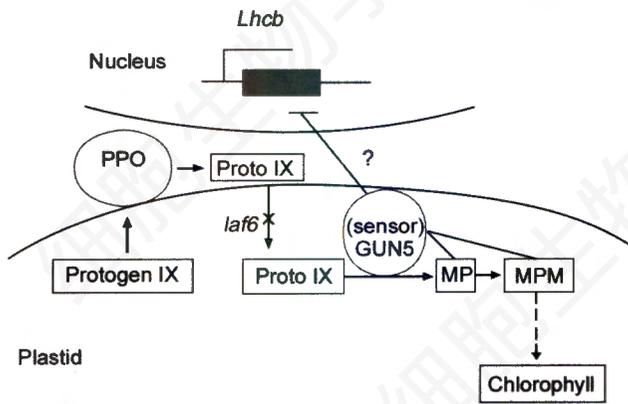


图2 *GUN5* 基因作用模型及 *LAF6* 蛋白的功能^[17,21]

积, 即浓度正常, 核中 *Lhcb* 基因能正常转录。如果叶绿体结构受到破坏, 叶绿素不能正常合成, 在 *GUN5* 基因未突变也即核质信号通路正常情况下, 造成 MP 和 MPM 的累积, *Chlh* 亚基相当于一个感受器, 能感受到这两类物质的浓度变化, 并将其整合成一个信号, 通过接下来的调控通路传递给核 (见图2), 去抑制 *Lhcb* 基因的转录^[7,17]。如果, *GUN5* 基因突变, 镁离子螯合酶催化 MP 生成的能力受到影响, 则即使在叶绿素不能合成情况下, MP 和 MPM 也不能大量累积, 这时的浓度就和正常的叶绿素能合成情况下的浓度一样, 也就导致了在叶绿素不能合成的情况下, *Lhcb* 也能正常表达。

3.2 *GUN4* 基因功能及其在核质信号通路中的作用

GUN4 基因于最近刚刚克隆, 它编码质体中叶绿素合成的调控蛋白, 能够与镁离子螯合酶的底物 Proto IX 结合, 来激活该酶, 从而促进 MP 的合成, 也能与该酶的产物 MP 结合, 帮助其运输^[18]。

MP 作为质体信号, 在大量累积时, 只有当其离开质体到细胞质中, 与细胞质中的信号通路相互作用时, 才能把信号传递给核。所以, 认为 *GUN4* 蛋白在质体到核的信号通路中所起的作用是通过与大量累积的 MP 结合并将其运到质体膜上, 来促进质体信号的外运。

3.3 *GUN2/HY1* 和 *GUN3/HY2* 基因—光形态建成与核质信号转导途径相关联

hy1 和 *hy2* 是拟南芥中的光形态建成突变体, 其表型为在光照条件下生长时, 呈现长胚轴 (long hypocotyl)^[19]。有报道 *hy* 突变体也具有 *gun* 表型, 上述的一系列 *gun* 突变体中, *gun2* 即 *hy1*, *gun3* 即 *hy2*^[5]。*HY1* 和 *HY2* 是光敏色素生色团合成分支中的两个酶, *HY1* 编码血红色素加氧酶^[15], *HY2* 编码光

敏色素生色团合成酶^[16]。

这两个基因的突变, 均能引起血红素的累积, 而四吡咯代谢途径的最初步骤会受到代谢中间产物的反馈调节^[20], 血红素的累积抑制了最初几步, 使得叶绿素合成分支中四吡咯中间产物的浓度下降。*hy1* 和 *gun5* 双突变体研究, 显示 *HY1* 和 *GUN5* 位于同一信号通路上, 也是通过 *Chlh* 亚基作为感受器, 来感受到 MP 或 MPM 浓度并没累积, 因而 *Lhcb* 的转录不受抑制。

hy1, *hy2* 是光敏色素突变体, 同时也是 *gun* 突变体, 可见, 光形态建成途径和核质信号转导途径之间存在相互关联。

3.4 *LAF6* 基因及其功能

laf6 (long after far — red) 也是拟南芥中的光形态建成突变体, 在远红外光照射时, 下胚轴伸得很长, 也是由于缺乏光敏色素而不能感受远红外光造成^[14]。研究显示, *LAF6* 也是四吡咯代谢中涉及到的一个基因, 它编码一个 ABC (ATP-binding cassette) 蛋白—at-ABC1, 负责跨膜运输^[7]。在 *laf6* 突变体中, 检测到 Proto IX 浓度提高很多, 认为 at-ABC1 蛋白的功能是把 Proto IX 从膜上运回到质体中, 去参与接下来的代谢^[7,21]。原卟啉原氧化酶位于质体膜上, 所以原卟啉原 IX (Protoporphyrinogen IX, Protogen IX) 要先运到膜上, 在膜上这个酶的催化下, 生成 Proto IX, 再由 *LAF6* 蛋白负责把它运回到质体中 (见图2)。如果 *LAF6* 突变, 那么 Proto IX 就不能被运回质体而从膜上流入到了细胞质中, 使得 Proto IX 在细胞质中累积, 而质体中接下来的代谢过程则受到了阻碍^[8,21]。

在 *laf6* 突变体中, 叶绿素的生物合成过程受到干扰, 造成了中间产物 Proto IX 的积累, 而四吡咯代谢中间产物的浓度提高, 会抑制核中 *Lhcb* 基因的转录, 所以有人认为 *LAF6* 可能也是一个影响核质信号通路的基因, 是否和 *GUN5* 位于同一信号通路上, 可以通过制作 *laf6* 和 *gun5* 制作双突变体来进行研究。

4 研究展望

质体和细胞核之间的信号传导通路十分重要, 随着质体代谢及发育状态的改变, 通过这一信号通路, 核基因就能作出相应的反应而准确表达核编码的质体蛋白基因。这一信号转导途径不仅对叶绿体的光合作用具有重要意义, 而且对细胞代谢和发育的其他方面都起了一个关键的作用。因为, 脱落酸合

成,赤霉素合成,氮同化,硫同化等许多过程,都是一部分反应在质体中进行,一部分反应在细胞质(由细胞核控制)中进行。我们以核质信号转导突变体 *gun1.1*、*gun4.1*、*gun5.1*、*hyl* 和 *hy2* 为研究材料,通过观察其离体细胞脱分化和再分化的动态过程,发现核质协调性对植物细胞愈伤组织诱导和植株再生也有显著的影响(未发表资料)。目前,质体和细胞核信号转导机制的研究主要是以光合作用为实验体系展开的,今后,在其他体系上研究质体和细胞核的信号转导机制,可能也会得到发展。

目前, *gun2* 到 *gun5* 基因已被克隆。尽管 *gun5* 基因所在的核质信号通路已被初步描述,但是实际的机制远比已描述的要复杂,只有找出 *GUN5* 的一系列下游基因才能进一步把这一信号通路描述完整。此外, *GUN1* 基因还未被克隆,它所在的信号通路还完全未知。因此,这些方面也会成为研究质体和细胞核信号转导机制的热门话题。

四吡咯代谢中间产物是研究得较为清楚的一类质体信号,另外,质体的氧化还原状态也被认为起着质体信号的作用^[22],是否还有其他质体信号的存在,它们的作用机制如何,也是进一步研究质体和细胞核信号转导机制的重要方面。

参 考 文 献

- [1] MCFADDEN G I. Chloroplast origin and integration [J]. *Plant Physiol*, 2001, **125**: 50 — 53.
- [2] SUSEK R E, CHORY J. A tale of two genomes: role of a chloroplast signal in coordinating nuclear and plastid genome expression [J]. *Plant Physiol*, 1992, **19**: 387 — 399.
- [3] TAYLOR W C. Regulatory interactions between nuclear and plastid genomes [J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1989, **40**: 211 — 233.
- [4] LEON P, ARROYO A, MACHENZIE S. Nuclear control of plastid and mitochondrial development in higher plants [J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1998, **49**: 453 — 480.
- [5] GRAY J C, SULLIVAN J A, WANG J H, *et al.* Coordination of plastid and nuclear gene expression [J]. *Phil Trans R Soc Lond B*, **358**: 135 — 145.
- [6] MAYFIELD S P, TAYLOR W C. Chloroplast photooxidation inhibits the expression of a set of nuclear genes [J]. *Mol Gen Genet*, 1987, **208**: 309 — 314.
- [7] JARVIS P. Intracellular signalling: The chloroplast talks [J]. *Curr Biol*, 2001, **11**: 307 — 310.
- [8] BRUSSLAN J A, PETERSON M P. Tetrapyrrole regulation of nuclear gene expression [J]. *Photosynth Res*, 2002, **71**: 185 — 194.
- [9] PAPPENBROCK J, GRIMM B. Regulatory network of tetrapyrrole biosynthesis—studies of intracellular signalling involved in metabolic and developmental control of plastids [J]. *Planta*, 2001, **213**: 667 — 681.
- [10] SURPIN M, LARKIN R M, CHORY J. Signal transduction between the chloroplast and nucleus [J]. *Plant Cell*, 2002, **14**: S327 — S338.
- [11] SUSEK R E, AUSUBEL F M, CHORY J. Signal transduction mutants of Arabidopsis uncouple nuclear CAB and RBCS gene expression from chloroplast development [J]. *Cell*, **74**: 1993, 787 — 799.
- [12] KROPAT J, OSTER U, RUDIGER W, *et al.* Chlorophyll precursors are signals of chloroplast origin involved in light induction of nuclear heat-shock genes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 14168 — 14172.
- [13] KROPAT J, OSTER U, RUDIGER W, *et al.* Chloroplast signalling in the light induction of nuclear HSP70 genes requires the accumulation of chlorophyll precursors and their accessibility to cytoplasm/nucleus [J]. *Plant J*, 2000, **24**: 523 — 531.
- [14] RODERMEL S. Pathways of plastid-to-nucleus signaling [J]. *Trends Plant Sci*, 2001, **6**: 471 — 478.
- [15] DAVIS S J, KUREPA J, VIERSTRA R D. The Arabidopsis thaliana HY1 locus, required for phytochrome-chromophore biosynthesis, encodes a protein related to heme oxygenases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 6541 — 6546.
- [16] KOHCHI T, MUKOUGAWA K, FRANKENBERG N, *et al.* The Arabidopsis HY2 gene encodes phytochromobilin synthase, a ferredoxin-dependent biliverdin reductase [J]. *Plant Cell*, 2001, **13**: 425 — 436.
- [17] MOCHIZUKI N, BRUSSLAN J A, LARKIN R, *et al.* Arabidopsis genomes uncoupled 5 (*GUN5*) mutant reveals the involvement of Mg-chelatase H subunit in plastid-to-nucleus signal transduction [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**: 2053 — 2058.
- [18] LARKIN R, ALONSO J M, ECKER J R, *et al.* *GUN4*, a regulator of chlorophyll synthesis and intracellular signaling [J]. *Science*, 2003, **299**: 902 — 906.
- [19] PARKS B M, QUAIL P H. Phytochrome-deficient *hyl* and *hy2* long hypocotyls mutants of Arabidopsis are defective in phytochrome chromophore biosynthesis [J]. *Plant Cell*, 1991, **3**: 1177 — 1186.
- [20] TERRY M J. Feedback inhibition of chlorophyll synthesis in the phytochrome chromophore deficient aurea and yellow-green-2 mutants of tomato [J]. *Plant Physiol*, 1999, **119**: 143 — 152.
- [21] MOLLER S G, KUNKEL T, CHUA N H. A Plastidic ABC protein involved in intercompartmental communication of light signalling [J]. *Gene Dev*, 2001, **15**: 90 — 103.
- [22] OSWALD O, MARTIN T, DOMINY P J, *et al.* Plastid redox state and sugars: interactive regulators of nuclear-encoded photosynthetic gene expression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**: 2047 — 2052.

The Function of Tetrapyrrole Intermediates in the Plastid-to-nucleus Signalling of Plant Cells

QIAN Ye, WANG Jun Hui*

(College of Life Sciences, University of Zhejiang, Hangzhou 310012, China)

Abstract: In the plant cell, besides the anterograde signalling pathway that nuclear genes control the transcription and translation of plastid genes, there is a retrograde pathway that the metabolic state of the plastid acts as a signal to regulate the expression of nuclear genes encoding plastid proteins. In the past, little research has been done about the retrograde signalling pathway, which is also termed as plastid factors. Recently, the understanding of this signalling pathway has been improved along with the deep study of the *gun* (genome uncoupled) mutants. This review focuses on the mechanism of the plastid-to-nucleus signalling pathway. The intermediates of the tetrapyrrole metabolism in plastid participate in the generation of plastid signals. And the export of the signals to the cytoplasm promotes the regulation of nuclear genes encoding plastid proteins.

Key words: plastid factors; tetrapyrrole; genome-uncoupled mutants

*Corresponding author, E-mail: junhuiwang@zju.edu.cn

第三届国际人类蛋白质组大会即将于2004年10月在北京召开

随着人类基因组计划的完成,蛋白质组研究已成为21世纪生命科学发展的先导,成为生命科学乃至自然科学最活跃的学科领域之一。由国际人类蛋白质组组织(HUPO)发起的国际人类蛋白质组大会是蛋白质组领域规模最大、影响最广、水平最高的国际性会议,每年举办一次。2004年10月25日至27日,第三届国际人类蛋白质组大会将在北京召开。这将是亚太地区主办的第一次大型国际蛋白质组学大会。

本届大会主题是“蛋白质组—基因组的诠释”。会前将举办“人类蛋白质组计划”系列卫星会议及蛋白质组研究技术培训班。会议同期还将举办生命科学领域相关分析仪器、实验室技术及相关设备的大型国际展览。预计将有包括若干诺贝尔奖获得者及国际蛋白质组研究领域著名专家等在内的3000余名代表出席。

大会由国际人类蛋白质组组织、中国人类蛋白质组组织、国家生物医学分析中心、北京市科学技术委员会共同主办。

有关大会的详细信息请查阅会议网站: www.hupo2004.cn

电话: 86-10-82327644 传真: 86-10-82802515 E-mail: Beijing2004@newlife.org.cn

通信地址: 北京市海淀区学院路38号北京大学医学部会议中心一层 100083

联系人: 陈宁

(第三届国际人类蛋白质组大会筹备组)