

Der **Biologie-Preis 2006** wurde Frau Margarete Baier, Bielefeld, für ihre herausragenden Beiträge zur Erforschung der Bedeutung der Redoxregulation für die Anpassung des Stoffwechsels pflanzlicher Zellen an wechselnde Umweltbedingungen verliehen.

Risikomanagement in Pflanzen – Die Kontrolle der Gefährlichkeit des Lebens mit Sauerstoff durch das plastidäre antioxidative Schutzsystem

MARGARETE BAIER

Pflanzen sind natürliche Energiewandlersysteme, die Lichtenergie in chemische Energie umsetzen. Die Energieumwandlung findet in grünen Pflanzenteilen in den Chloroplasten statt. Durch Licht einstrahlung werden die grünen Blattfarbstoffe, die Chlorophylle, angeregt. In der Folge gibt das Chlorophyllmolekül Elektronen an Akzeptormoleküle ab. Die so entstandene Elektronenlücke wird beim Zurückfallen des Chlorophylls in den Grundzustand durch die Reaktion mit Elektronendonatoren ausgeglichen. Durch Hintereinanderschalten von zwei Photosystemen wird in der photosynthetischen Lichtreaktion eine Potentialdifferenz von 1,55 V (Richter 1998) überwunden. Die beteiligten Redoxfaktoren



Margarete Baier, Professorin für Botanik an der Universität Düsseldorf, Biologie-Preisträgerin 2006

liegen dicht gepackt in der photosynthetischen Membran, den sog. Thylakoiden. Größtenteils sind sie an Proteine gebunden, die sie in eine bestimmte Ausrichtung bringen. Unter optimalen Bedingungen kann die eingestrahlte Lichtmenge so mit einer Effizienz von ca. 80 % genutzt werden.

Wie bei künstlichen Energiewandlern besteht die größte Gefahr für das System bei Energieüberschuß. In der Photosynthese ist dies der Fall, wenn Chlorophylle durch Licht angeregt werden, der metabolische Bedarf an Reduktionskraft jedoch gering ist. Überschüssige Lichtenergie und Reduktionskraft entladen sich dann durch atypische Energieübertragung. Besondere Gefahr geht dabei von den angeregten Photoreaktionszentren aus. Sie

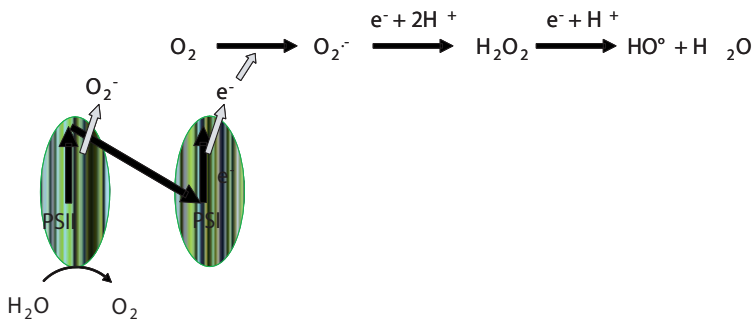


Abbildung 1: Die Reaktionskette reaktiver Sauerstoffspezies. An den Photoreaktionszentren (PS-I und PS-II) kann Sauerstoff zu Superoxid (O_2^-) reduziert werden, das anschließend zu Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Hydroxylradikalen (HO°) weiterreagieren kann.

haben ein Redoxpotential von unter -900 mV (Richter 1998). Die Gefährlichkeit ergibt sich durch die gleichzeitige Anwesenheit von Sauerstoff. Er kann durch die angeregten Photoreaktionszentren reduziert werden. Dabei entstehen Superoxidanionen (O_2^-) (Mehler 1951), die im wässrigen Milieu der Chloroplasten weiter zu Hydroxylradikalen (HO°) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) reagieren (Abb. 1). Superoxid, Hydroxylradikale und Wasserstoffperoxid sind sehr reaktionsfreudig. Akkumulieren sie, so werden Stoffwechselprodukte und zelluläre Strukturkomponenten lebensbedrohlich geschädigt.

Da Licht als exogene Inputgröße schwer zu kontrollieren ist, sind Pflanzen überhaupt nur lebensfähig, weil sie ein komplexes antioxidatives Schutzsystem entwickelt haben. In dem in den 70er bis 90er Jahren beschriebenen Halliwell-Asada-Foyer-Zyklus (Asada 2000) werden reaktive Sauerstoffspezies über das Zusammenspiel von Superoxid-Dismutasen (SOD) und Ascorbatperoxidasen (APx) unter Einsatz von Ascorbat zu Wasser entgiftet, wobei Monodehydroascorbatradikale und Dehydroascorbat entstehen (Abb. 2). Das lebenswichtige Ascorbat (Vitamin C) wird über ein Enzymsystem aus Monodehydro- und Dehydroascorbat-Reduktasen (MDHAR; DHAR) und der Glutathionreduktase (GR) regeneriert. Da dabei Reduktionsäquivalente (NAD(P)H) konsumiert werden, vermindert das Schutzsystem parallel zur Entgiftung reaktiver Sauerstoffspezies den Elektronendruck in der photosynthetischen Membran. Aufgrund der Empfindlichkeit der Ascorbatperoxidase gegen reaktive Sauerstoffspezies ist es jedoch in seiner Kapazität begrenzt.

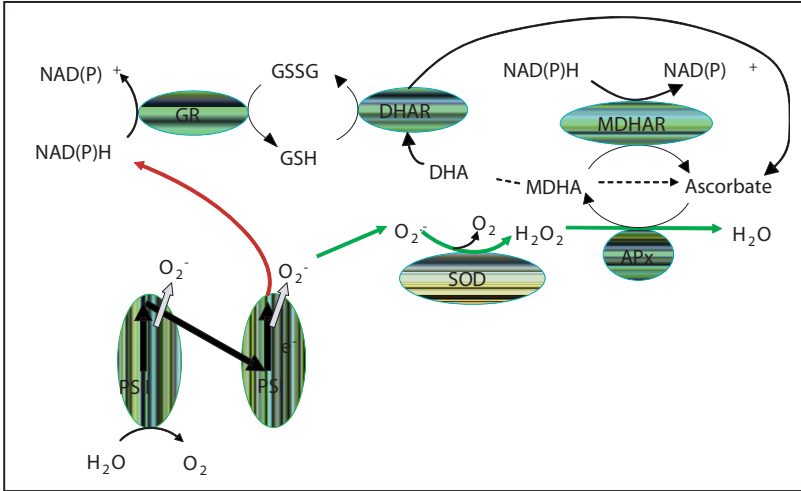


Abbildung 2: Halliwell-Asada-Foyer Zyklus. Über die Superoxid-Dismutase (SOD) und die Ascorbatperoxidase (APx) werden Superoxidanionen und Wasserstoffperoxid entgiftet (grün). Die Regeneration des Ascorbats über die Monodehydroascorbat- und Dehydroascorbatreduktasen (MDHAR; DHAR) und die Glutathionreduktasen (GR) werden Elektronen aus der photosynthetischen Lichtreaktion konsumiert (rot).

Die Sequenz des Mitte der 90er Jahre klonierten ersten pflanzlichen 2-Cys Peroxiredoxins (Baier und Dietz 1996) deutete an, daß es sich bei dem Enzym um eine im Zellkern kodierte, plastidäre Peroxidase handelt, die das Ascorbatsystem ergänzt. Nachfolgende Untersuchungen in Gerste, Spinat und der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) belegten diese Funktionsvermutung (Baier und Dietz 1997; 1999; Baier et al. 2000). Vergleichende biochemische Analysen zeigten, daß das Enzym Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Alkylhydroperoxide (ROOH) zu Wasser (H_2O) bzw. Alkoholen (ROH) umsetzen kann (Baier und Dietz 1997; König et al. 2002; 2003) (Abb. 3). In der Peroxiredoxin-Reaktion reagieren Peroxide direkt mit einem katalytischen Cysteinrest im Protein. Die Regeneration erfolgt unter Beteiligung des zweiten konservierten Cysteinrests über kleine Redoxproteine wie die Thioredoxine (König et al. 2002) (Abb. 3). Da die plastidären Redoxproteine an den photosynthetischen Elektronentransport angekoppelt sind, kann der Peroxiredoxin-vermittelte Entgiftungsmechanismus, wie der Halliwell-Asada-Foyer-Zyklus, ebenfalls gleichzeitig den Elektronendruck in der photosynthetischen Elektronentransportkette reduzieren und damit die Gefahr zur Bildung reaktiver Sauerstoffspezies verringern (Dietz et al. 2006).

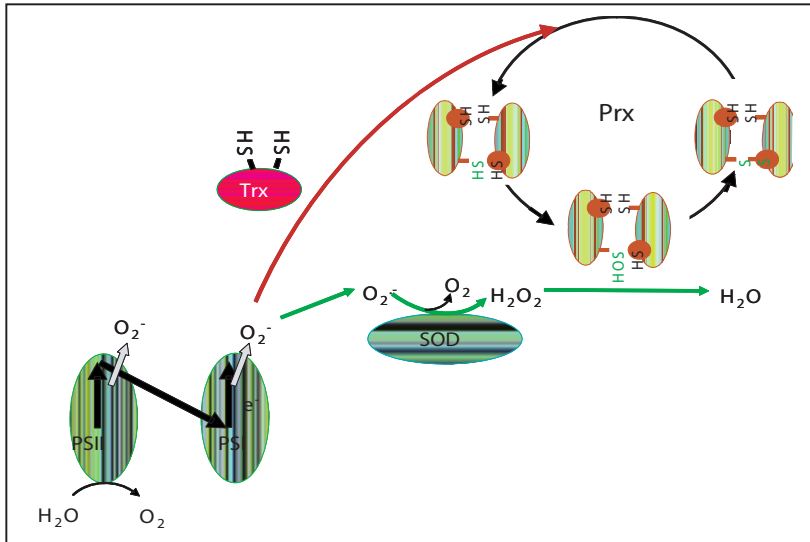


Abbildung 3: 2-Cys Peroxiredoxin-Weg. Das Peroxiredoxin (Prx) reduziert H_2O_2 über einen intermolekularen Thiol-Disulfid-Mechanismus (grün). Kleine Redoxproteine wie die Thioredoxine (Trx) regenerieren das Enzym und konsumieren Elektronen am Photosystem I (PS-I) (rot).

Die durch Sequenzanalyse und biochemische Untersuchungen hergeleitete biologische Bedeutung des Enzyms wurde mittels Pflanzenlinien mit künstlich erniedrigtem Peroxiredoxin-Spiegel belegt (Baier und Dietz 1999; Baier et al. 2000). Die Testlinien zeigten für reaktive Sauerstoffspezies typische Schädigungen: Beispielsweise entwickelten sich Keimlinge langsamer, Chloroplastenproteine wurden verstärkt abgebaut und der Photosyntheseapparat geschädigt (Baier und Dietz 1999). Aus den Beobachtungen kann gefolgert werden, daß es sich bei den Peroxiredoxinen um wichtige plastidäre Schutzenzyme handelt. Ihre Sequenz ist in allen Pflanzen von den einzelligen Algen, über Moose, Farne bis hin zu höheren Pflanzen konserviert (u. a. Horling et al. 2001; Dietz et al. 2006).

Pflanzliche 2-Cys Peroxiredoxine werden wie alle Enzyme des plastidären, antioxidativen Schutzsystems im Zellkern kodiert und als entfaltete Proteine in die Chloroplasten eingeschleust (Baier und Dietz 1997; Horling et al. 2001). Im Zellkern reagieren die Gene auf photosynthetische Signale (Baier et al. 2004). Bis heute kennt man jedoch weder die chemische Natur der Signale, noch weiß man, wie sie übertragen werden (Baier und Dietz, 2005). Für die Regulation des 2-Cys Peroxiredoxingens konnten das

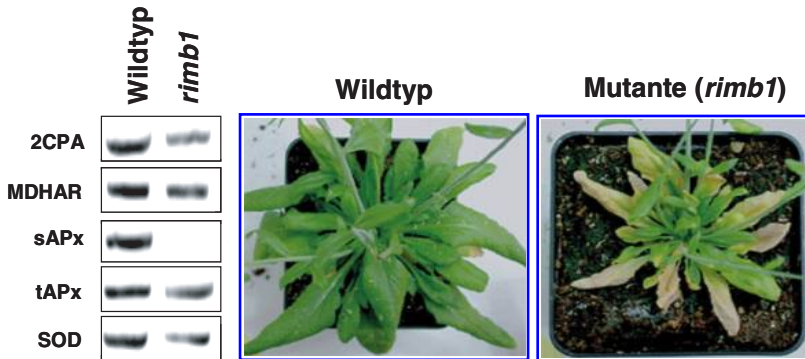


Abbildung 4: Störungen in der Genexpressionskontrolle plastidärer antioxidativer Enzyme (2CPA: 2-Cys Peroxiredoxin; MDHAR: Monodehydroascorbatreduktase, sAPx und tAPx: Ascorbatperoxidasen; SOD: Superoxid-Dismutase) führen in der Mutante *rimb1* (Heiber et al., 2007) zu erniedrigten Transkriptspiegeln (links) und zu starken Chlorosen (rechts).

Steuerelement identifiziert (Baier et al. 2004) und kürzlich ein Transkriptionsfaktor (Shaikhali et al. in Vorbereitung) und Mutanten (Heiber et al. 2007; Abb. 4) isoliert werden, die potentielle Regulatoren dokumentieren. Ihre Charakterisierung wird dazu beitragen, die Komplexität im Risikomanagement photosynthetisierender Zellen funktional und kausal für alle beteiligten Komponenten zu erfassen.

Literatur

- Asada K (2000) *Philosophical Transactions of the Royal Society* 355: 1419–1431
- Baier M, Dietz K-J (1996) *Plant Molecular Biology* 31: 553–564
- Baier M, Dietz K-J (1997) *Plant Journal* 12: 179–190
- Baier M, Dietz K-J (1999) *Plant Physiology* 119: 1407–1414
- Baier M, Dietz K-J (2005) *Journal of Experimental Botany* 56: 1449–1462
- Baier M, Noctor G, Foyer CH, Dietz K-J (2000) *Plant Physiology* 124: 823–832
- Baier M, Ströher E, Dietz K-J (2004) *Plant and Cell Physiology* 45: 997–1006
- Dietz K-J, Jacob S, Oelze ML, Laxa M, Tognetti V, de Miranda SMN, Baier M, Finkemeier I (2006) *Journal of Experimental Botany* 57: 1697–1709
- Heiber I, Ströher E, Raatz B, Busse I, Kahmann U, Bevan MW, Dietz K-J, Baier M (2007) *Plant Physiology* 143 (im Druck)
- Horling F, Baier M, Dietz K-J (2001) *Planta* 214: 283–287
- Mehler (1951) *Archives Biochemistry and Biophysics* 33: 65–77
- König J, Baier M, Horling F, Kahmann U, Harris G, Schürmann P, Dietz K-J (2002) *Proceedings of the National Academy of Science, USA* 99: 5738–5743
- Richter G (1998) *Stoffwechselfysiologie der Pflanzen*. Thieme-Verlag