

· 热点评 ·

死亡信号传递：叶绿体与线粒体间信号交流 调控植物程序性细胞死亡

何光明, 邓兴旺*

北京大学现代农业学院与生命科学学院/蛋白质与植物基因研究国家重点实验室/北大-清华生命科学联合中心, 北京 100871

摘要 程序性细胞死亡(PCD)是生物体受遗传调控的自主细胞死亡现象, 在植物生长发育和抵抗环境胁迫中起重要作用。PCD的发生可受线粒体中活性氧(ROS)诱导。中国科学院遗传与发育生物学研究所李家洋研究组早期的研究发现了1个拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)细胞死亡突变体*mod1*, 并暗示植物细胞中存在叶绿体与线粒体之间的信号交流调控PCD, 但其中的具体作用机制尚不清楚。最近, 他们通过大规模筛选*mod1*突变体的抑制突变体, 克隆了3个新的抑制基因*pNAD-MDH*、*DiT1*和*mMDH1*。此3个基因分别编码质体定位的NAD依赖的苹果酸脱氢酶、叶绿体被膜定位的二羧酸转运蛋白1和线粒体定位的苹果酸脱氢酶1, 突变后都可抑制*mod1*中ROS的积累及PCD的发生。通过对这些基因进行深入的功能分析, 他们论证了苹果酸从叶绿体到线粒体的转运对线粒体中ROS的产生及随后PCD的诱导起重要作用。该研究拓展了我们对植物细胞中细胞器间交流的认识, 为我们深入理解植物PCD发生机制提供了新线索, 是该领域的一项突破性进展。

关键词 叶绿体, 线粒体, 苹果酸, 活性氧, 程序性细胞死亡

何光明, 邓兴旺 (2018). 死亡信号传递: 叶绿体与线粒体间信号交流调控植物程序性细胞死亡. 植物学报 53, 441–444.

程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)是多细胞生物体中一种受遗传调控且自主而有序的细胞死亡现象。植物在正常的生长发育和响应外界环境刺激过程中都会发生PCD, 其对植物器官的发生与分化以及抵抗生物和非生物胁迫均起重要作用(Dickman et al., 2017)。例如, 玉米(*Zea mays*)雄花和雌花的分化就分别是未成熟花序中雌性和雄性性原基细胞发生PCD后退化的结果(Beers, 1997); 植物在抵抗活体营养型病原物侵袭过程中, 受感染部位发生的超敏反应(hypersensitive response, HR)也是一种典型的PCD (用于限制病原物的入侵和扩散)(Coll et al., 2011)。目前的研究表明, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)在植物PCD中发挥重要作用(Van Breusegem and Dat, 2006)。ROS是生物体内一类含氧自由基或含氧分子的总称, 包括单线态氧(1O_2)、超氧阴离子自由基(O_2^-)和过氧化氢(H_2O_2)等, 它们性质活跃, 具有高反应活性, 可通过电子传递或其它代谢途径产生。植物在遭受各种生物或非生物胁迫时, 体内ROS增加, 可作为信号分子诱导细胞发生程序性死亡(Van Breusegem and Dat, 2006; Van

Aken and Van Breusegem, 2015)。

ROS可在叶绿体、线粒体和过氧化物酶体等多种细胞器中产生。在光下, 特别是高强度光照条件下, 叶绿体是植物产生ROS的主要来源, 并且与PCD相关。然而, 近年来的研究表明, 线粒体在PCD中起核心作用。在正常条件下, 植物的线粒体电子传递链(mitochondrial electron transport chain, mETC)通过其组分的可逆氧化还原传递电子并最终导致ATP产生。而在胁迫条件下, mETC组分中电子载体过度还原, 从而引发ROS的生成, 所产生的ROS作为信号分子增加线粒体膜的通透性, 诱导细胞发生程序性死亡(Van Aken and Van Breusegem, 2015; Gorchach et al., 2015)。一个有趣的问题是, 叶绿体中导致ROS产生的信号是否可传递到线粒体中激发ROS产生并最终诱导PCD? 近年来, 中国科学院遗传与发育生物学研究所李家洋研究组针对该问题进行了一系列研究。

李家洋研究组首先通过对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) Col-0生态型进行甲基磺酸乙酯(ethyl methane sulphonate, EMS)诱变, 筛选出1个细胞死亡突

收稿日期: 2018-04-04; 接受日期: 2018-04-16

* 通讯作者。E-mail: deng@pku.edu.cn

变体 *mod1* (*mosaic death 1*), 并通过图位克隆鉴定出 *MOD1* 基因。该基因编码脂肪酸合酶复合体中的一个亚基——烯酰基酰基载体蛋白还原酶 (enoyl-acyl carrier protein reductase, enoyl-ACP reductase), 其参与催化叶绿体中脂肪酸的合成, 负调控植物 PCD (Mou et al., 2000)。随后, 该研究组发现, *mod1* 突变体中存在明显的 ROS 积累, 暗示 ROS 的过量积累与该突变体的细胞死亡表型相关。为探明其中的具体作用机制, 他们针对 *mod1* 突变体构建了其 T-DNA 插入突变体库, 从中筛选出能够抑制 *mod1* 细胞死亡和 ROS 积累表型的抑制突变体 *soms* (*suppressors of mod1*), 并克隆了这些抑制突变体对应的抑制基因, 发现它们编码线粒体电子传递链复合体 I (mETC 复合体 I) 的亚基, 或影响 mETC 复合体 I 的组装及活性, 表明完整的 mETC 复合体 I 在 *mod1* 突变体的 PCD 中起关键作用 (Wu et al., 2015)。*mod1* 是叶绿体中脂肪酸合酶的突变体, 其 PCD 表型却能被线粒体中 ETC 复合体 I 的功能缺失所恢复, 由此暗示在叶绿体中确实产生了某种信号并传递到了线粒体, 线粒体接受该信号后通过 ETC 产生 ROS 并引发 PCD。那么, 这个信号是什么? 它又是如何从叶绿体传递到线粒体的? 最近, 李家洋研究组在 *Cell Research* 杂志上发表的研究论文对该问题进行了精彩且完整的解答 (Zhao et al., 2018)。

通过对 *mod1* 突变体构建其 EMS 突变体库, 他们对 *mod1* 抑制突变体 *soms* 进行了更大规模的筛选。为了鉴定参与叶绿体到线粒体信号传递的关键组分, 他们在从 EMS 突变体库筛选出的 *soms* 中, 挑选出不影响 mETC 复合体 I 活性的代表性 *soms* 进行深入研究。采用图位克隆并结合全基因组重测序的方法, 鉴定出这些 *soms* 对应的 3 个新的抑制基因: 编码质体定位的 NAD 依赖的苹果酸脱氢酶基因 *pINAD-MDH* (*PLASTIDIAL NAD-DEPENDENT MALATE DEHYDROGENASE*) (Berkemeyer et al., 1998)、编码二羧酸转运蛋白 1 且定位于叶绿体被膜上的基因 *DiT1* (*DICARBOXYLATE TRANSPORTER 1*) (Taniguchi et al., 2002) 以及编码线粒体定位的苹果酸脱氢酶 1 基因 *mMDH1* (*MITOCHONDRIAL MALATE DEHYDROGENASE 1*) (Tomaz et al., 2010)。这 3 个基因突变后均可抑制 *mod1* 中的 ROS 积累及 PCD 表型。由于 *MOD1* 催化生成 enoyl-ACP 时需要 NADH/H^+ 提供还

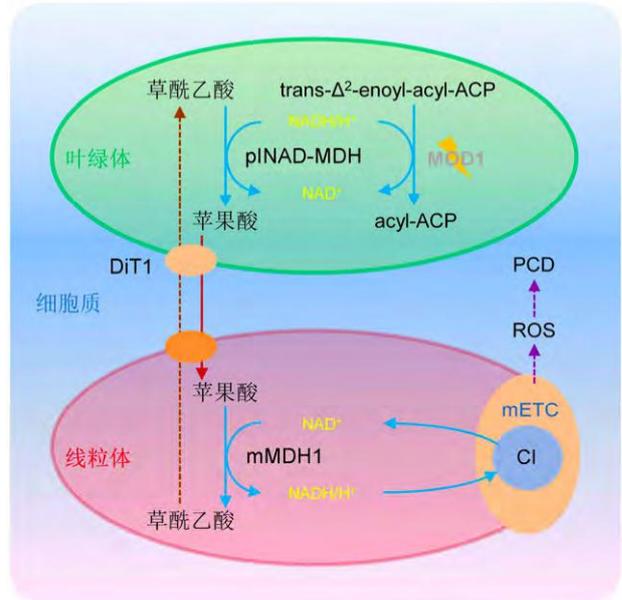


图1 叶绿体与线粒体间信号交流调控植物程序性细胞死亡 (PCD) 的工作模型 (改自 Zhao et al., 2018)

植物 *MOD1* 基因编码烯酰基酰基载体蛋白还原酶, 该酶以 NADH 作为共同底物参与催化叶绿体中脂肪酸的合成。在 *mod1* 突变体中, *MOD1* 的功能缺失或表达量降低导致 NADH/H^+ 在叶绿体中大量积累; 过量的 NADH/H^+ 使叶绿体中的草酰乙酸在 *pINAD-MDH* 的作用下被还原为苹果酸; 携带还原力的苹果酸通过定位于叶绿体内膜上的 *DiT1* 转运蛋白转运到细胞质中, 并进一步通过定位于线粒体膜上的一种未知转运蛋白转移到线粒体; 在线粒体中, *mMDH1* 将携带还原力的苹果酸脱氢转化为草酰乙酸, 同时生成 NADH/H^+ 。线粒体中积累的 NADH/H^+ 为线粒体膜上的 mETC 复合体 I (CI) 提供电子, 产生活性氧 (ROS), 最终导致 *mod1* 突变体细胞发生 PCD。

Figure 1 A proposed model explaining the programmed cell death in plants regulated by chloroplast-to-mitochondrion communication (modified from Zhao et al., 2018)

In plants, *MOD1* encodes an enoyl-acyl carrier protein (ACP) reductase, which is involved in catalyzing the de novo biosynthesis of fatty acids in plastids using NADH as cosubstrate. The deficiency of *MOD1* in *mod1* mutant leads to an increased level of NADH/H^+ in the chloroplast, which drives oxaloacetate to be converted to malate by *pINAD-MDH*. Malate carrying the reducing equivalents is transported out of the chloroplast into the cytosol by *DiT1*, which is localized in the chloroplast inner envelope membrane, and then is transported into the mitochondrion by an unidentified transporter localized in the mitochondrion membrane. In the mitochondrion, malate is converted to oxaloacetate by *mMDH1*, and simultaneously NADH/H^+ is generated to provide electrons for mETC complex I (CI) to induce the ROS formation and initiate the PCD process in the *mod1* cells.

原力, 因此, *mod1* 突变体的 PCD 表型就可通过叶绿体与线粒体之间由苹果酸介导的氧化还原状态变化的信号传递得到比较完整的解释: 在 *mod1* 突变体中, MOD1 功能缺失或降低导致 NADH/H⁺ 在叶绿体中大量积累; 过量的 NADH/H⁺ 使得叶绿体中草酰乙酸在 pINAD-MDH 作用下被还原为苹果酸; 携带还原力的苹果酸通过 DiT1 转运到细胞质中, 并进一步通过一种未知的转运蛋白转移到线粒体; 在线粒体中, mMDH1 将携带还原力的苹果酸脱氢转化为草酰乙酸, 同时 NAD⁺ 接受脱下来的氢形成 NADH/H⁺, 导致线粒体中 NADH/H⁺ 水平升高, 为 mETC 复合体 I 提供电子, 产生 ROS, 从而最终引发 PCD (图1)。此外, 该研究还发现, 上述信号传递途径在植物处于持续光照条件下 ROS 的积累和氧化胁迫的产生中起重要作用。另外, 直接使用苹果酸处理人类 (*Homo sapiens*) 的 HeLa 细胞, 也能够诱导 ROS 产生和细胞死亡, 证明上述信号传递途径中从细胞质到线粒体的细胞死亡调控机制在植物与动物间存在一定的保守性。

真核生物细胞中的各亚细胞单位或细胞器之间会发生物质(信息)的交流, 以协同调控细胞的各种生命活动 (Schuldiner and Guo, 2015)。近年来的研究显示, 植物中存在叶绿体和线粒体之间的信息交流, 并诱导 PCD 的发生, 但其中的作用机制未得到详尽的解析。该研究证实了苹果酸穿梭对叶绿体到线粒体间的信息传递及线粒体中 ROS 的产生起重要作用, 更新了我们对细胞器之间信号交流和植物 PCD 发生机制的认识, 对推动植物 PCD 领域的研究具有重要意义。

参考文献

- Beers EP (1997). Programmed cell death during plant growth and development. *Cell Death Differ* **4**, 649–661.
- Berkemeyer M, Scheibe R, Ocheretina O (1998). A novel, non-redox-regulated NAD-dependent malate dehydrogenase from chloroplasts of *Arabidopsis thaliana* L. *J Biol Chem* **273**, 27927–27933.
- Coll NS, Epple P, Dangl JL (2011). Programmed cell death in the plant immune system. *Cell Death Differ* **18**, 1247–1256.
- Dickman M, Williams B, Li Y, de Figueiredo P, Wolpert T (2017). Reassessing apoptosis in plants. *Nat Plants* **3**, 773–779.
- Gorlach A, Bertram K, Hudecova S, Krizanova O (2015). Calcium and ROS: a mutual interplay. *Redox Biol* **6**, 260–271.
- Mou Z, He Y, Dai Y, Liu X, Li J (2000). Deficiency in fatty acid synthase leads to premature cell death and dramatic alterations in plant morphology. *Plant Cell* **12**, 405–418.
- Schuldiner M, Guo W (2015). Editorial overview: cell organelles: organelle communication: new means and new views. *Curr Opin Cell Biol* **35**, v–vi.
- Taniguchi M, Taniguchi Y, Kawasaki M, Takeda S, Kato T, Sato S, Tabata S, Miyake H, Sugiyama T (2002). Identifying and characterizing plastidic 2-oxoglutarate/malate and dicarboxylate transporters in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* **43**, 706–717.
- Tomaz T, Bagard M, Pracharoenwattana I, Lindén P, Lee CP, Carroll AJ, Ströher E, Smith SM, Gardeström P, Millar AH (2010). Mitochondrial malate dehydrogenase lowers leaf respiration and alters photorespiration and plant growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **154**, 1143–1157.
- Van Aken O, Van Breusegem F (2015). Licensed to kill: mitochondria, chloroplasts, and cell death. *Trends Plant Sci* **20**, 754–766.
- Van Breusegem F, Dat JF (2006). Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiol* **141**, 384–390.
- Wu J, Sun Y, Zhao Y, Zhang J, Luo L, Li M, Wang J, Yu H, Liu G, Yang L, Xiong G, Zhou JM, Zuo J, Wang Y, Li J (2015). Deficient plastidic fatty acid synthesis triggers cell death by modulating mitochondrial reactive oxygen species. *Cell Res* **25**, 621–633.
- Zhao YN, Luo LL, Xu JS, Xin PY, Guo HY, Wu J, Bai L, Wang GD, Chu JF, Zuo JR, Yu H, Huang X, Li JY (2018). Malate transported from chloroplast to mitochondrion triggers production of ROS and PCD in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Res* **28**, 448–461.

Death Signal Transduction: Chloroplast-to-Mitochondrion Communication Regulates Programmed Cell Death in Plants

Guangming He, Xingwang Deng*

Peking-Tsinghua Center for Life Sciences/State Key Laboratory of Protein and Plant Gene Research/School of Advanced Agricultural Sciences and School of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

Abstract Programmed cell death (PCD) is an active and genetically controlled process that results in cell death in a multicellular organism. PCD plays important roles in plant development and defense and can be induced by increased reactive oxygen species (ROS) in mitochondria. Previous studies by Jiayang Li's group in the Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences identified a cell death mutant, *mod1*, in Arabidopsis. Although the authors suggested that signal communication between chloroplast and mitochondrion contributes to PCD in *mod1*, the underlying mechanisms remain elusive. Recently, by screening the suppressors of *mod1*, they cloned three new suppressor genes, *pinAD-MDH*, *DiT1* and *mMDH1*, which encode a plastid-localized NAD-dependent malate dehydrogenase, a chloroplastic dicarboxylate transporter, and a mitochondrial malate dehydrogenase, respectively. Mutations in these three genes each can suppress ROS accumulation and PCD in *mod1*. Functional analyses of these genes demonstrated that malate is transported from chloroplasts to mitochondria and triggers ROS generation and PCD in plant. This study expands our knowledge of intracellular communications between organelles and provides new understanding of molecular mechanisms of PCD in plants, which is an important progress in this field.

Key words chloroplast, mitochondrion, malate, reactive oxygen species, programmed cell death

He GM, Deng XW (2018). Death signal transduction: chloroplast-to-mitochondrion communication regulates programmed cell death in plants. *Chin Bull Bot* **53**, 441–444.

* Author for correspondence. E-mail: deng@pku.edu.cn