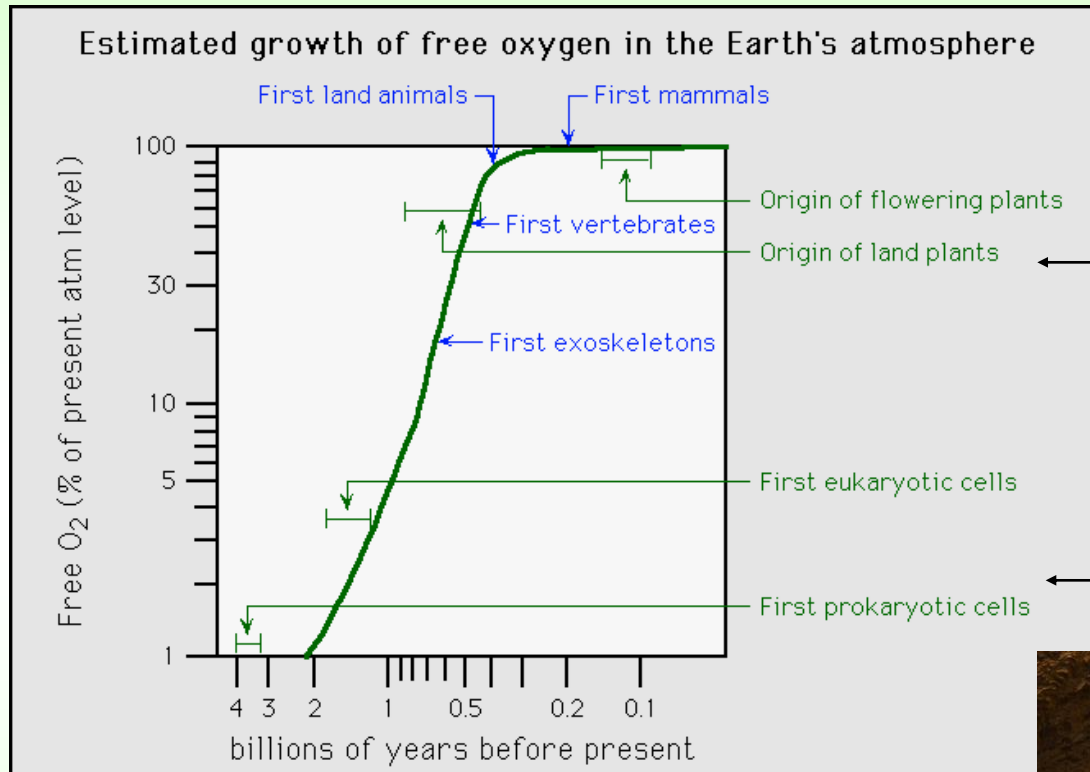


Reaktion auf Sauerstoffstress

- Sauerstoff als Chance und Problem
- ROS-Stress signalling
- Retrograde signalling
- Metabolische und/oder Redox-Signale

Oxygene Photosynthese führte zur Entstehung der Sauerstoffatmosphäre und ermöglichte die Landbesiedlung



Landbesiedlung durch Pflanzen

Zellatmung möglich
Pasteurpunkt (0,2 % Sauerstoff)

Mensch

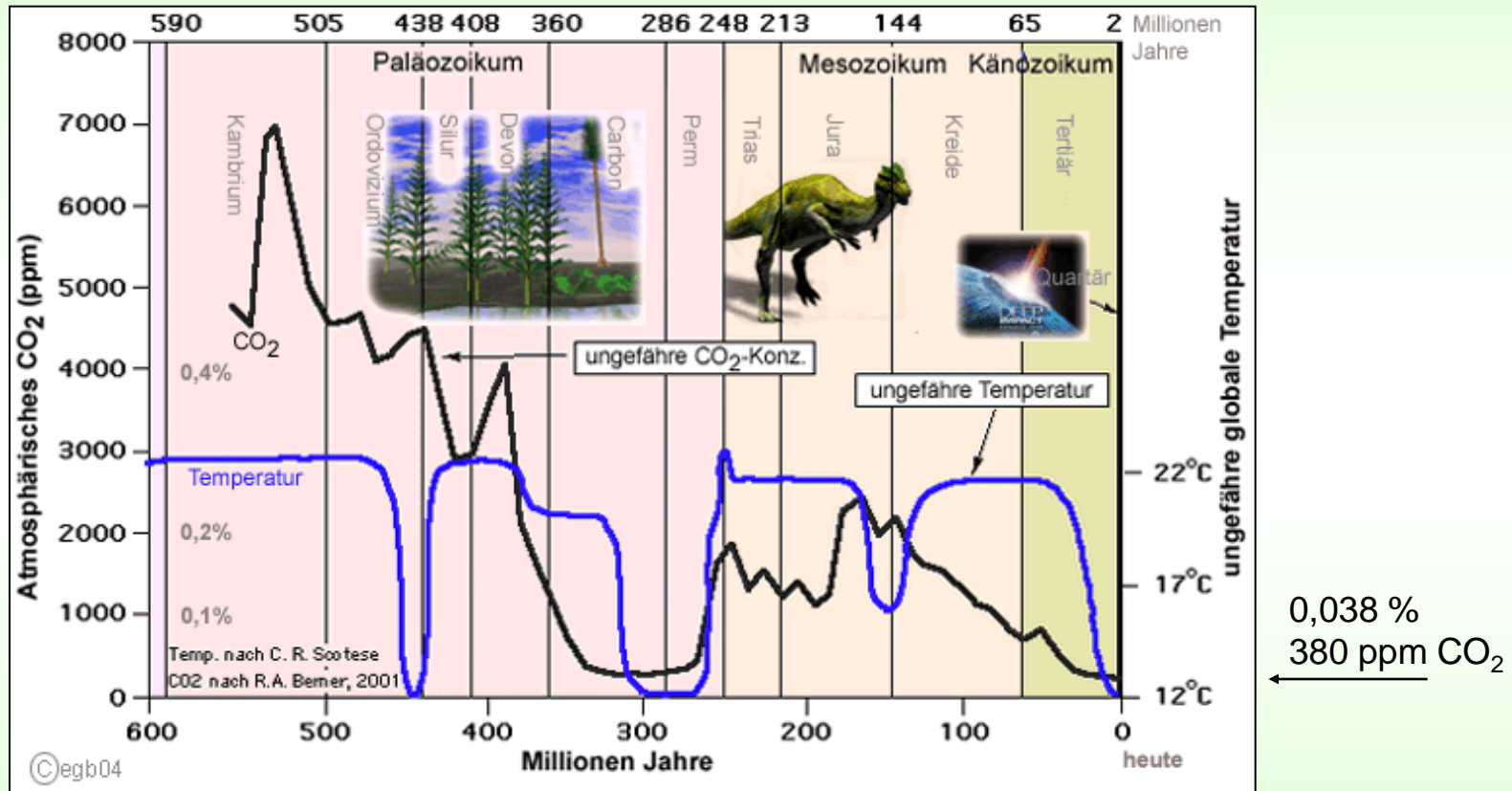
Erfindung der Photosynthese durch Cyanobakterien
Primäre Endosymbiose zur Entstehung eukaryotischer Zellen



Vor ca. 1,5 Mrd. Jahre war freier Sauerstoff auf der Erde verfügbar, vorher Bindung an Eisen

Parallel zur Sauerstoffanreicherung sank der Luft-CO₂-Gehalt. Der CO₂-Gehalt änderte sich laufend in der Erdgeschichte

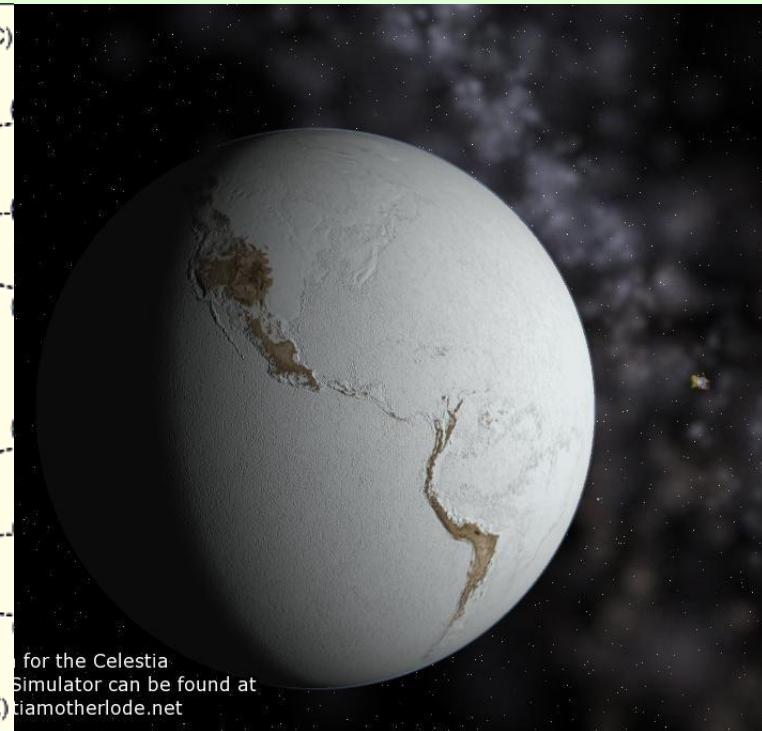
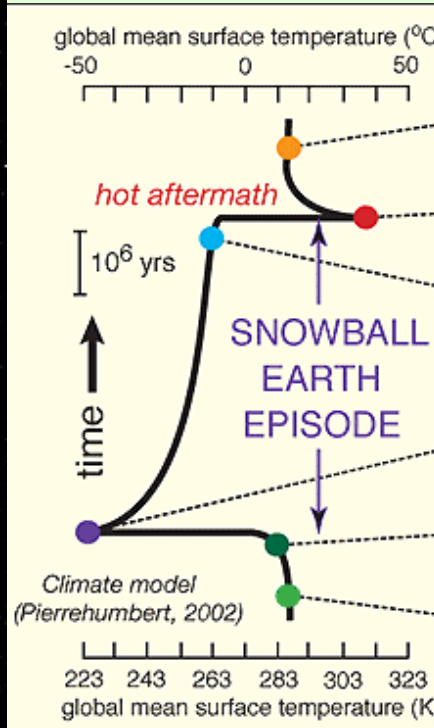
Schon in ferner Vergangenheit änderten sich CO₂-Gehalte und Temperaturen!



Carbon, Akkumulation fossiler Brennstoffe

Heute, absoluter Tiefpunkt in der atmosphärischen CO₂-Konzentration

Perioden extrem niedriger CO₂-Gehalte führten zu globalen Eiszeiten – Schneeball-Erde

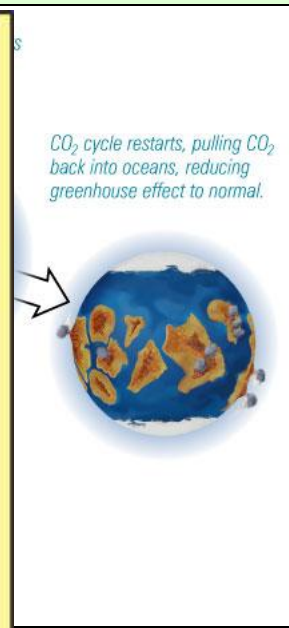
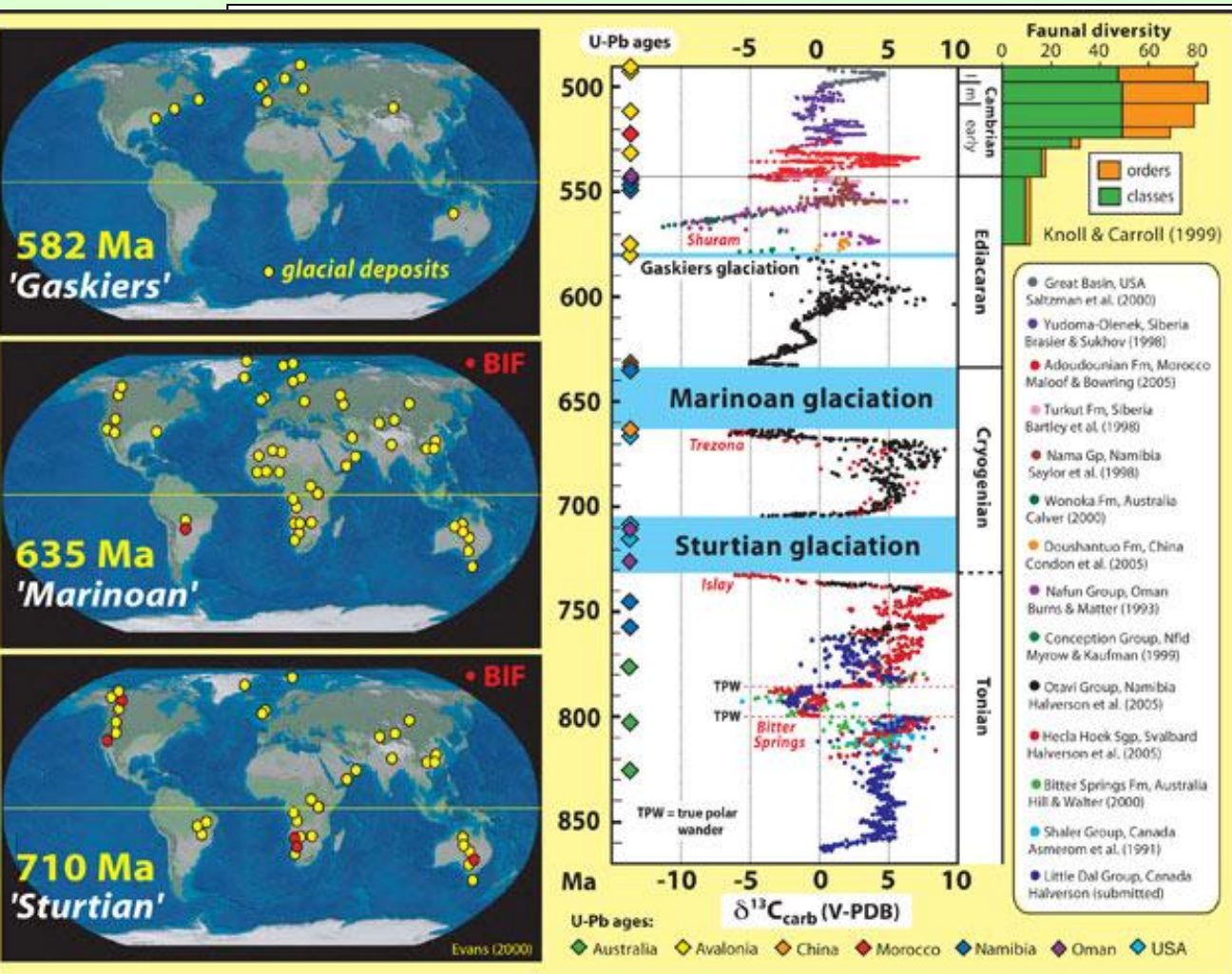


Eine extreme CO₂ Verarmung führt zu einem schnellen Temperaturabfall

Gegen die Schneeball-Erde war die Weichseleiszeit warm!



Langanhaltende Perioden der Schneeballerde traten wiederholt auf und führten zu Artsterben

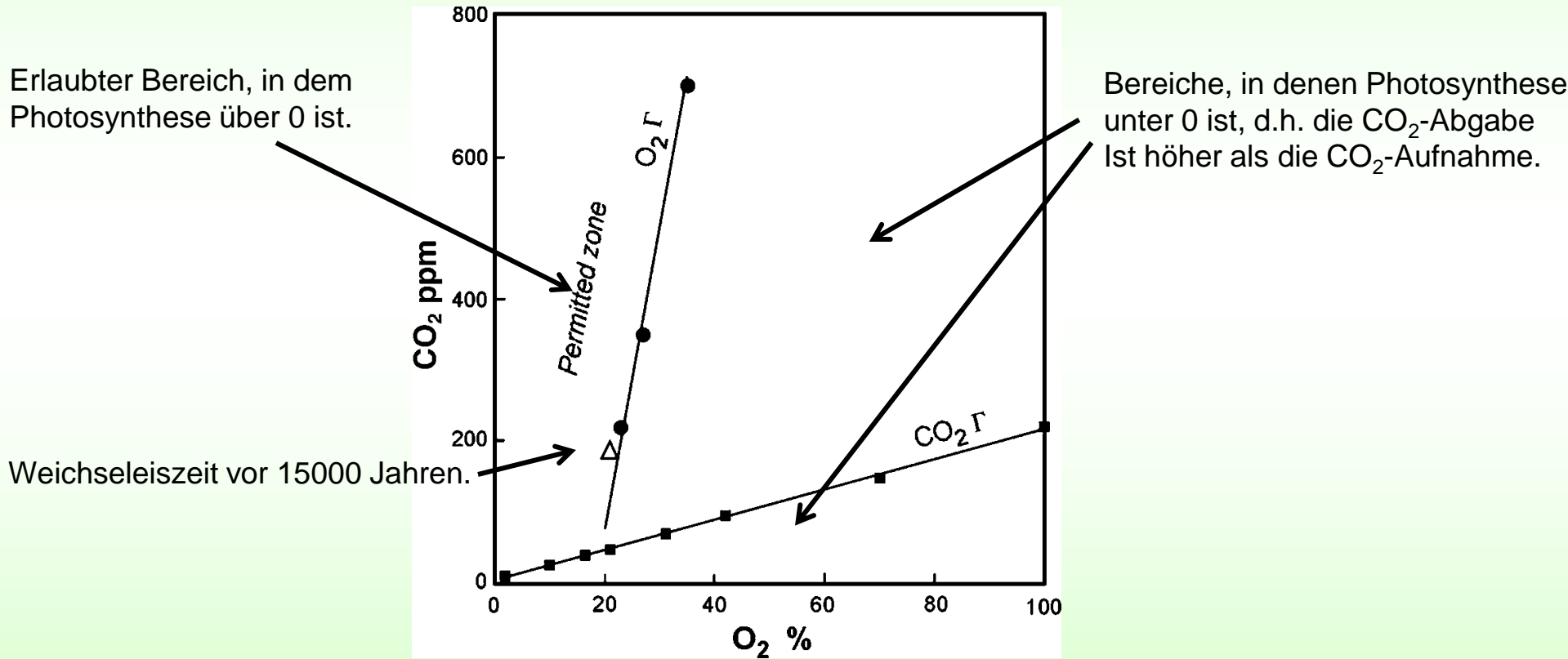


extreme CO₂ Verarmung kühlte. Die Erdoberfläche reflektierte die Sonne und kühlte. Vulkanische Aktivität reichernte sich an und taute die Erde auf. Das CO₂-Angebot wurde schnell verbraucht.

Schneeball-Erde Ereignisse traten mehrfach für lange Zeit auf!

„Geo-engineering“ der Erdatmosphäre durch pflanzliche RubisCO, langfristige Einstellung minimaler CO₂-Konzentrationen

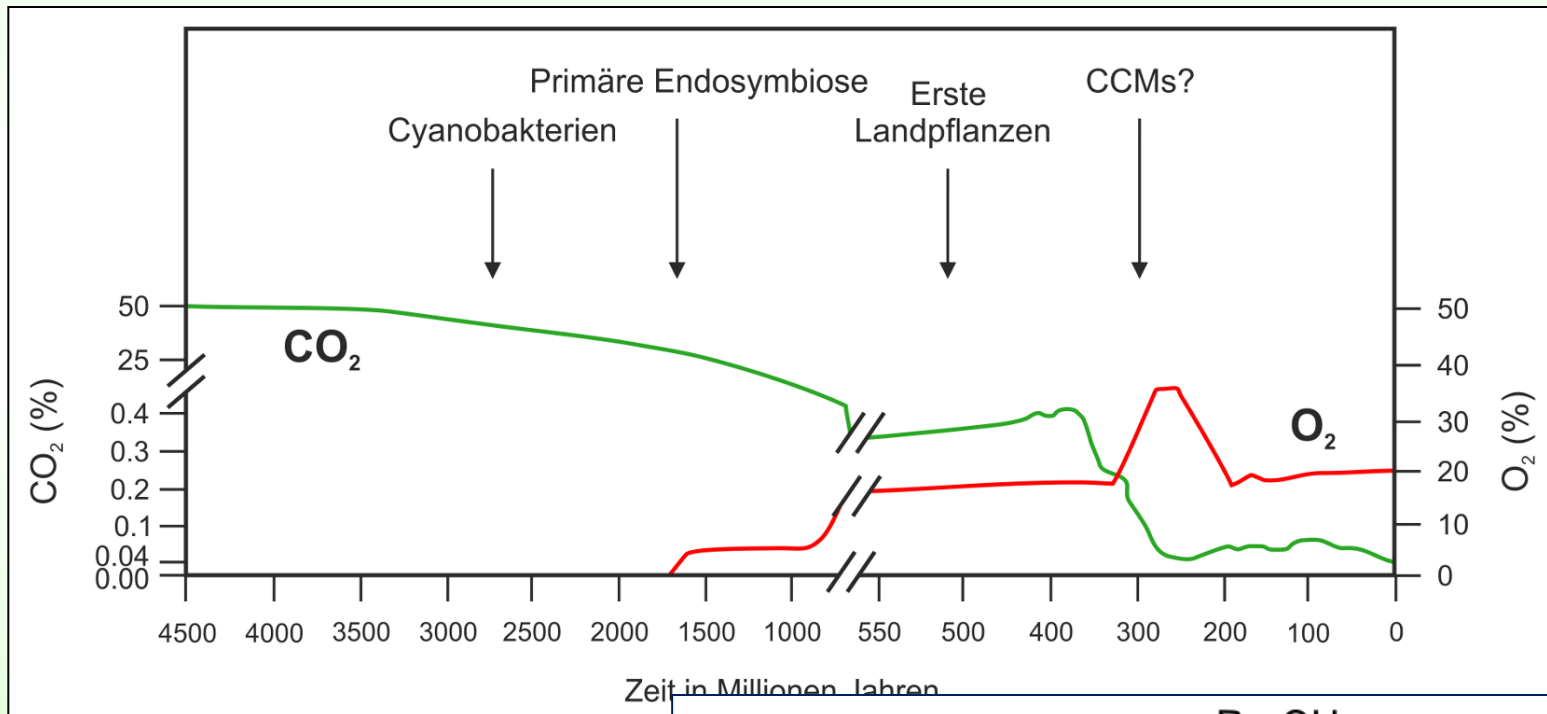
Aus den Kenndaten der RubisCO lässt sich berechnen, unter welchen O₂ und CO₂-Gehalten Pflanzen effektiv Photosynthese betreiben können. Es ergibt sich nur ein kleiner Bereich, in dem die Gasatmosphäre eine Nettphotosynthese mit der heutigen RubisCO erlaubt. – Evolution der RubisCO?? Evolution von C4-Pflanzen!!



Nisbet E.G. et al., The age of Rubisco: the evolution of oxygenic photosynthesis. *Geobiology* 5, 311–335, 2007

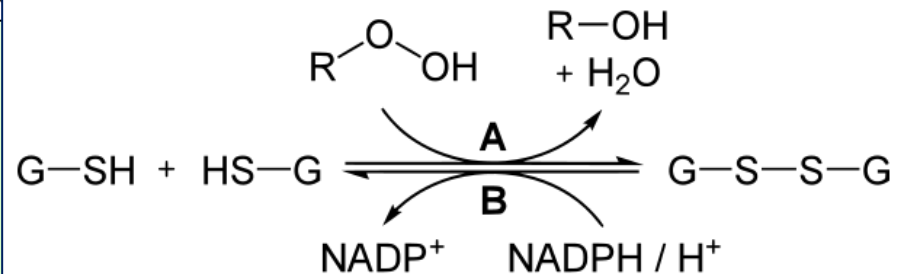
Oxidativer Stress in Pflanzen

1. Leben entstand im anaeroben Milieu (ROS)
2. Die meisten Zellkompartimente sind reduzierend.
3. Die Akkumulation von O_2 hatte Vorteile – aerobe Atmung, aber auch Nachteile - O_2 kann als Zellgift wirken.



Glutathione peroxidase reductase γ -L-Glutamyl-L-cysteinylglycine

ROS Stress und Zuckersignale



Arten von „reactive oxygen species“ - ROS

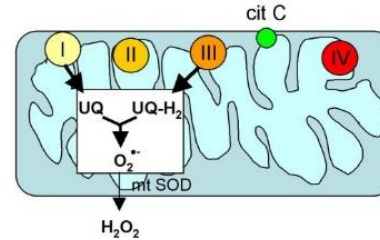
Formelzeichen	Bezeichnung	Anmerkung
$O_2^{\cdot-}$	Hyperoxid-Anion	freies Radikal, sekundärer Botenstoff, alte Bezeichnung: Superoxid-Anion
$HO\cdot$	Hydroxyl-Radikal	freies Radikal, hochreaktiv
$HOO\cdot$	Hydroperoxyl-Radikal	freies Radikal
$ROO\cdot$	Peroxyradikal	freies Radikal
$RO\cdot$	Alkoxyradikal	freies Radikal, bei Lipiden
H_2O_2	Wasserstoffperoxid	Edukt zur Bildung anderer ROS, sekundärer Botenstoff
$ROOH$	Hydroperoxid	
O_3	Ozon	
OCl^-	Hypochlorit-Anion	
1O_2	Singulett-Sauerstoff	angeregtes Sauerstoffmolekül

Tiere - Hauptquellen für ROS

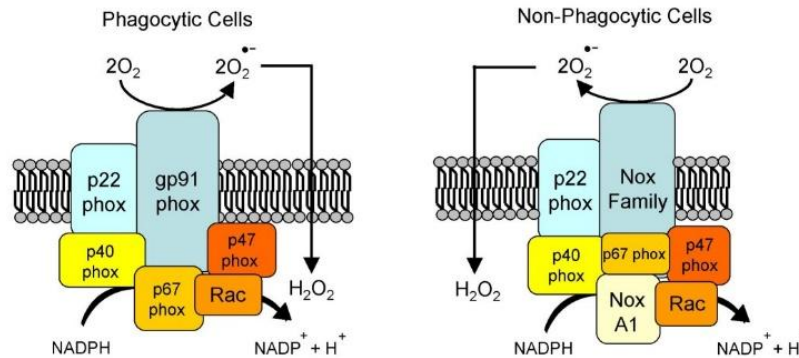
a) Mitochondria

Stimuli inducing increased mitochondrial generation of ROS:

- serum deprivation
- integrin signalling
- apoptosis
- TNF α
- hypoxia
- ceramide
- p53
- oncogenic Ras



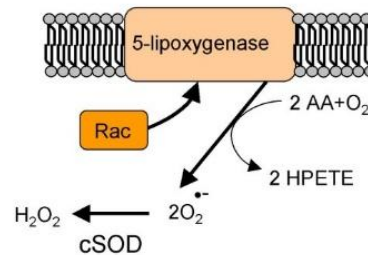
b) NADPH oxidase



Stimuli for activation of NADPH oxidase and 5-lipoxygenase

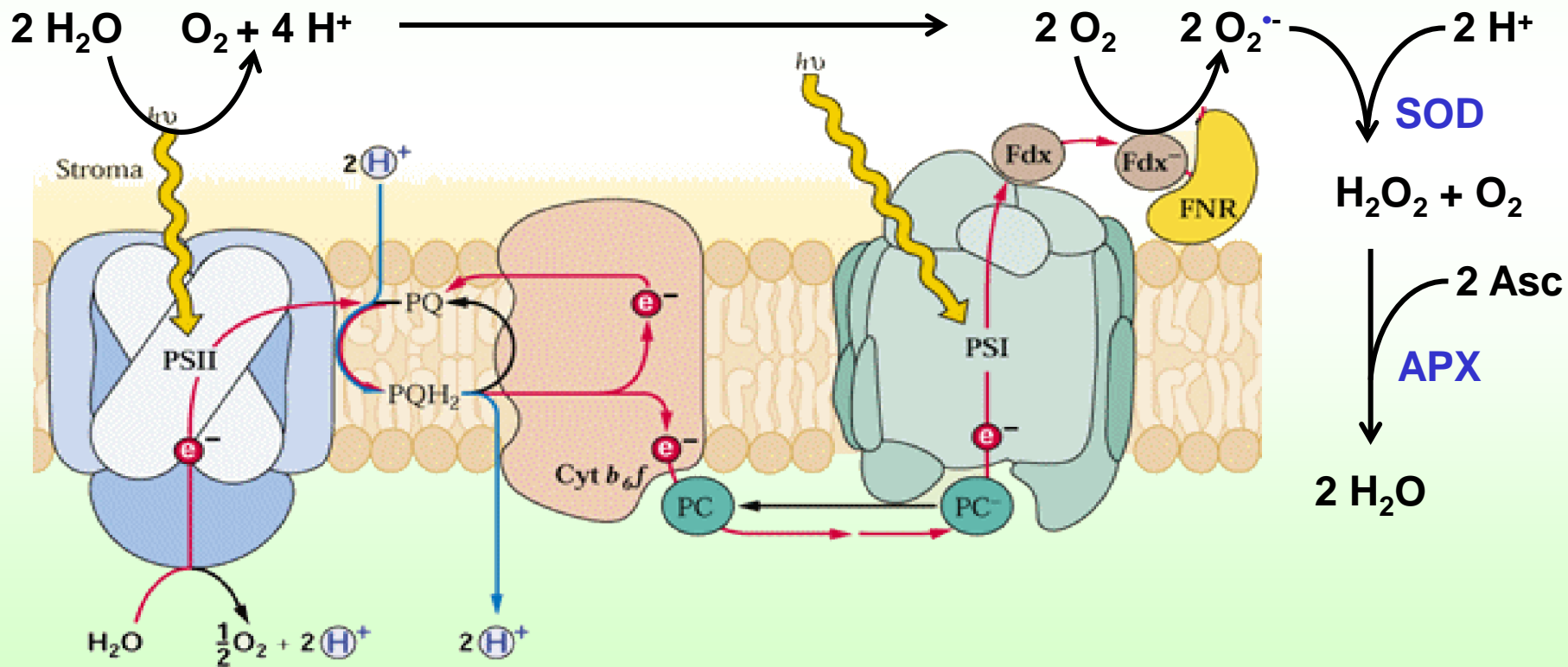
- integrin signalling
- growth factors
- cytokines/hormones
- immunological stimuli
- hypoxia
- oncogenic Ras

c) 5-lipoxygenase



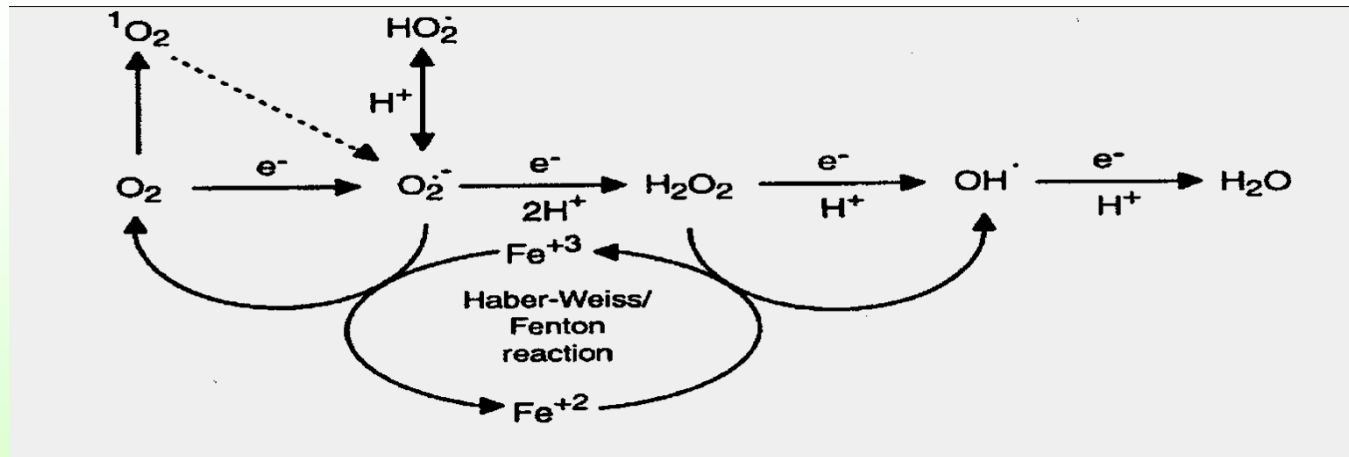
Pflanzen - Mehler-Reaktion stärkste Quelle für ROS

- Ferredoxin^{red} kann auch Sauerstoff reduzieren
- Mehler-Reaktion: 1^o Produkt ist Superoxidanion-Radikal

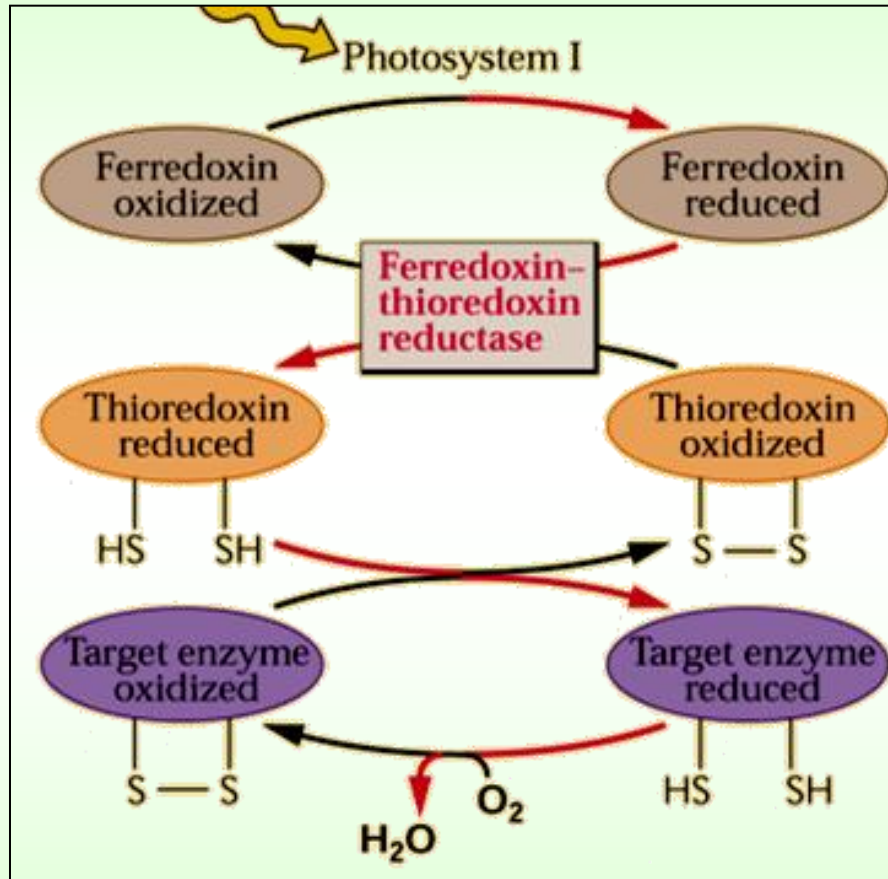


Oxidativer Stress in Pflanzen

- Unkontrollierter Eisenstatus kann auch zur ROS führen
- Viele Quellen für Reaktive Sauerstoff-Spezies (ROS)
- Begleiterscheinung vieler Stressreaktionen (Licht, Salz)
- Gezielt nach Pathogenbefall und Aba induziert
- Unterschiedliche Wirkungen - Schädigung, teilweise aber auch als Signalmoleküle wirksam
- Abbauende Enzyme und Quencher Moleküle werden aktiviert



Zellulärer Oxidations/Reduktionsstatus wird an Zielproteine weitergegeben – z.B. Oxidation von SH-Gruppen

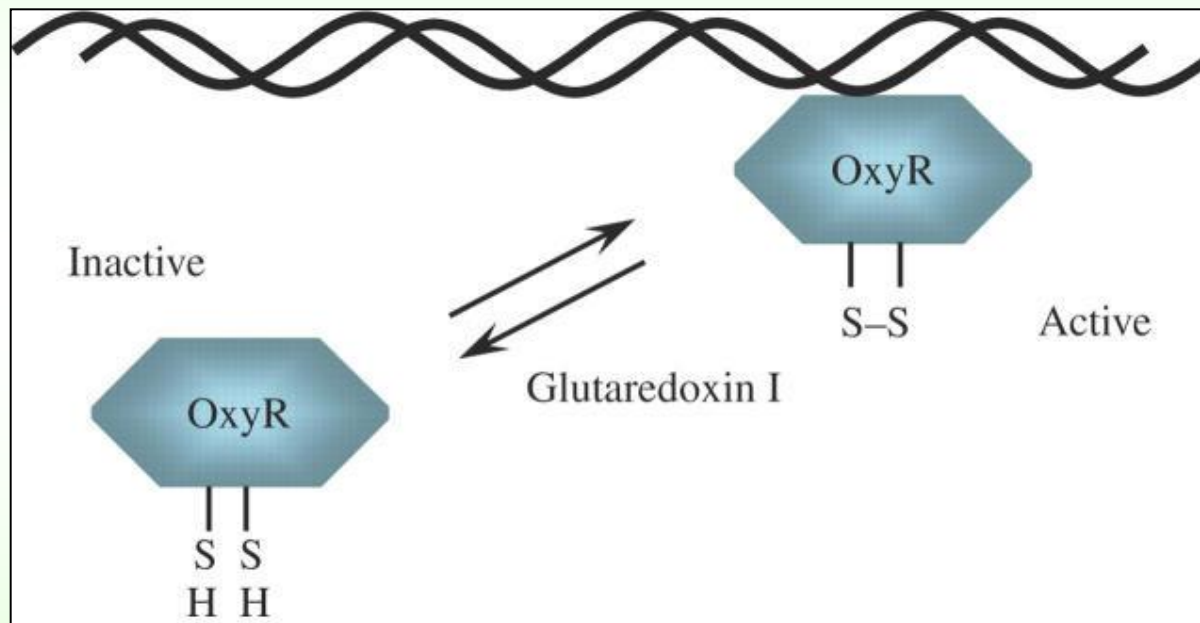


- Chloroplasten – Ferredoxin und Thioredoxine sind aktiv
- Glutathion, Peroxidasen, Ascorbat, etc. sind auch wirksam

E. coli – OxyR ist TF und Sensor!

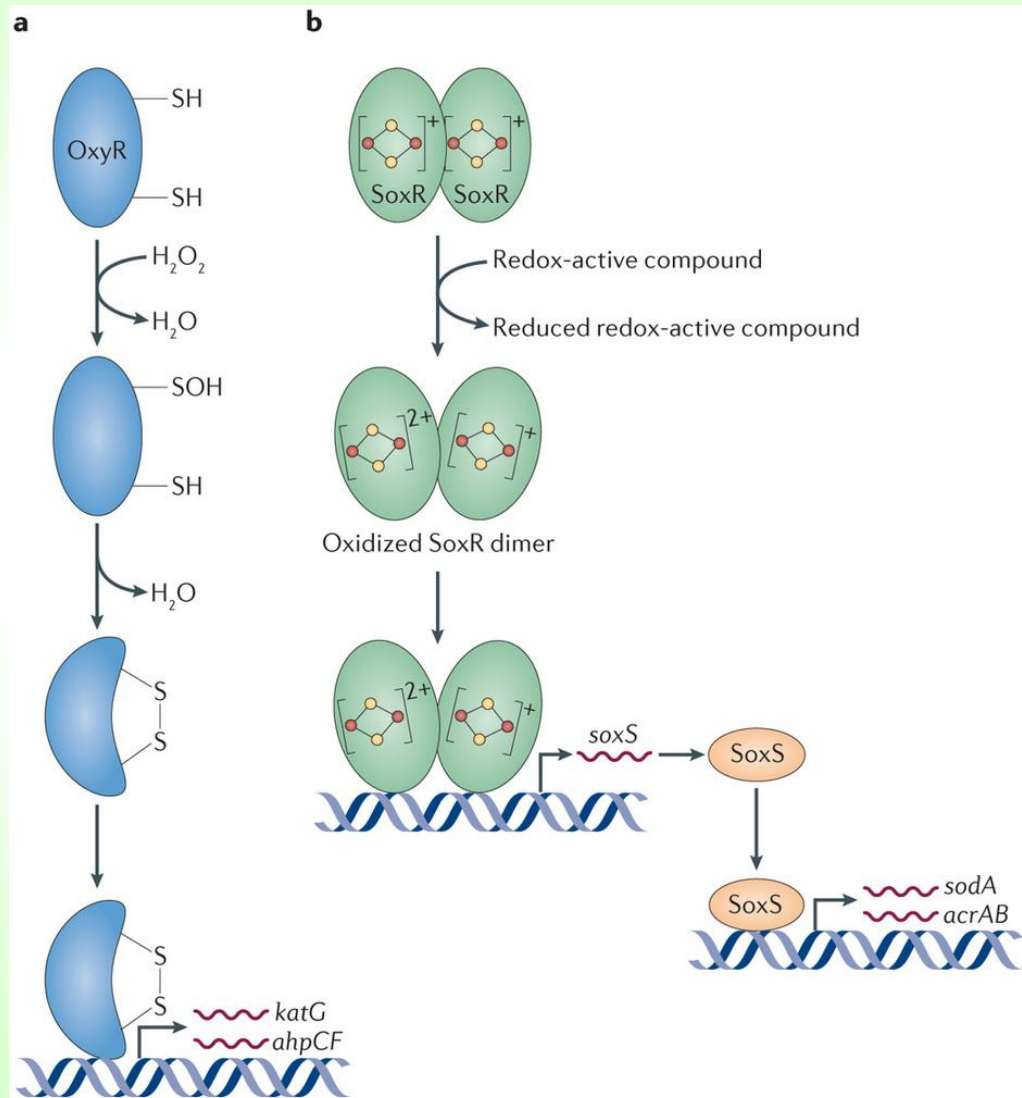
Ann. Bot. 2006 Aug;98(2):289-300.

Redox regulatory mechanisms in cellular stress responses. By Fedoroff N.



The prokaryotic OxyR is converted to a transcriptional activator upon oxidation. Reduction by glutaredoxin I returns it to the inactive form.

E. coli – OxyR kooperiert mit SoxR



Synechocystis 6803– Redoxregulierter TF RpaB und eine regulatorische RNA PsrR1 kooperieren

Hik33 and Thioredoxin target

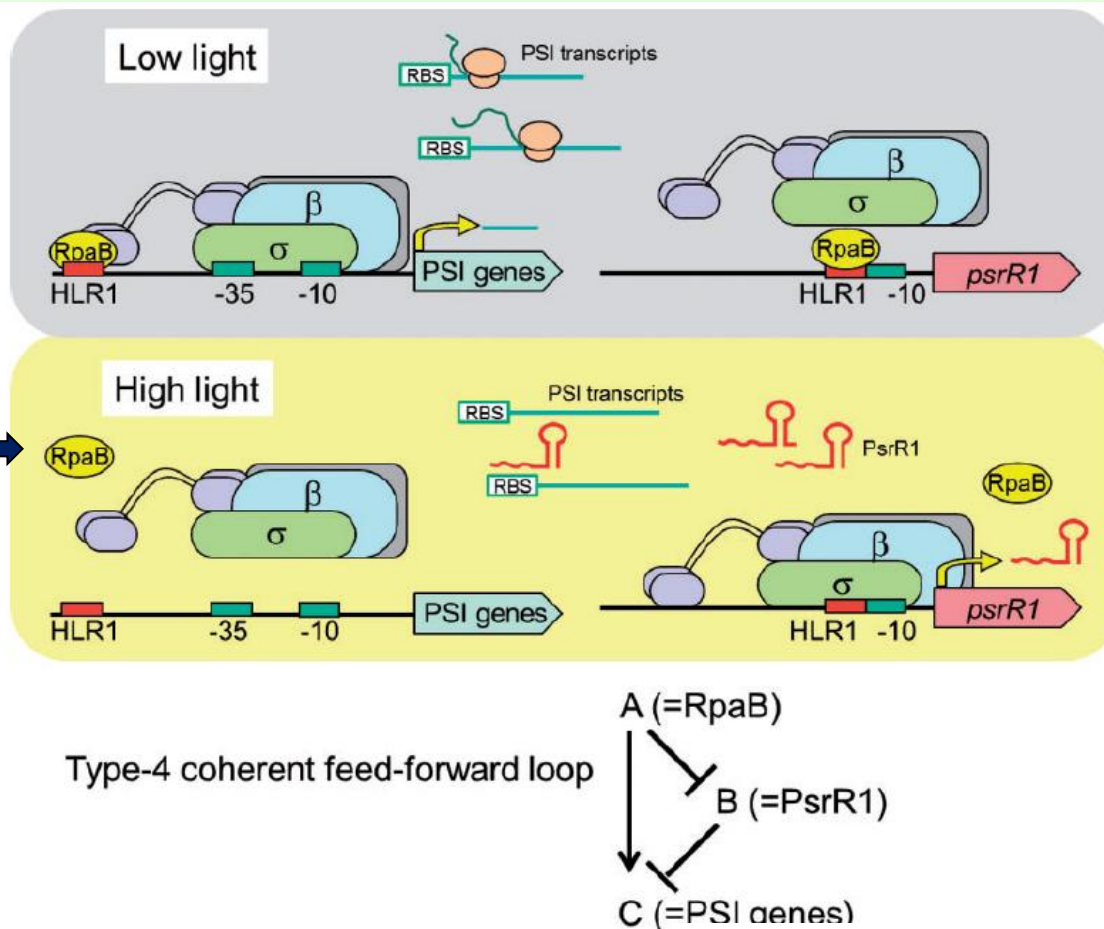
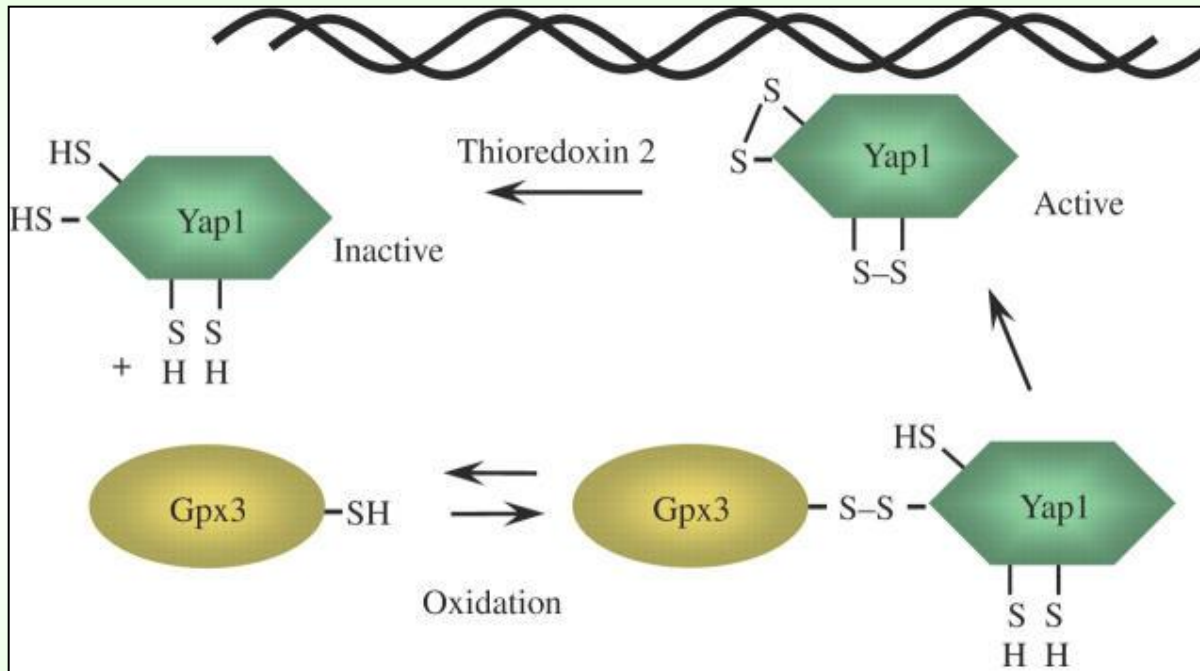


Fig. 5 Schematic representation of the dual repression of PSI genes by RpaB and the forward loop. RpaB activates the expression of PSI genes under LL, whereas the repressive activity of PSI genes. Transcription of *psrR1* is repressed by RpaB under LL but de-represses the ribosome-binding site of PSI transcripts to inhibit translation. This dual repression achieved by RpaB and PsrR1 can be categorized into the 'type-4 coherent feed-forward target genes under repressing conditions.

A Feed-Forward Loop Consisting of the Response Regulator RpaB and the Small RNA PsrR1 Controls Light Acclimation of Photosystem I Gene Expression in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803

Taro Kadowaki¹, Ryuta Nagayama¹, Jens Georg², Yoshitaka Nishiyama¹, Annegret Wilde², Wolfgang R. Hess² and Yukako Hihara^{1*}

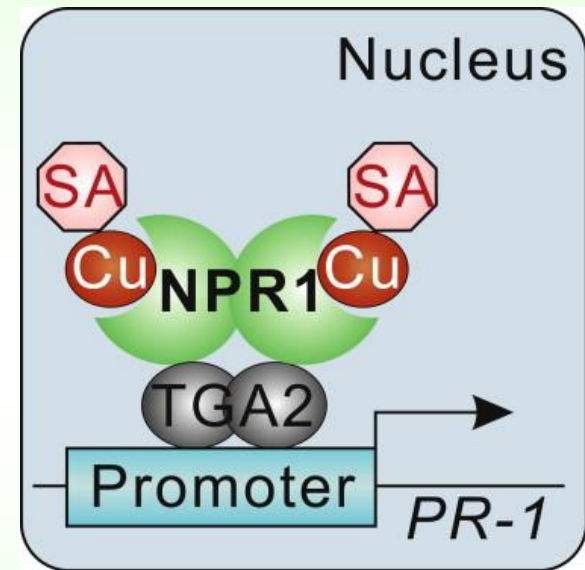
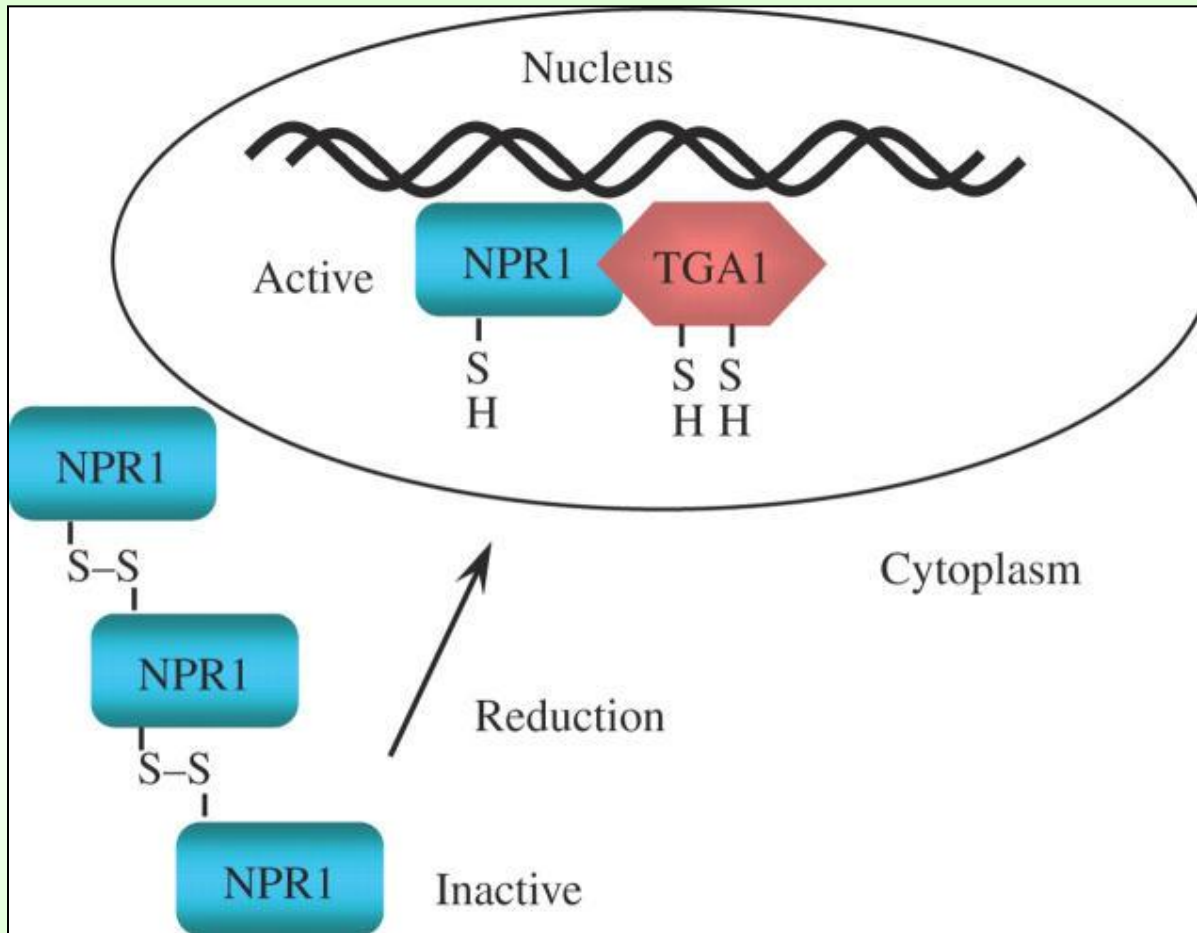
Hefe – Gpx3 Sensor und Yap1 als TF! Variationen mit anderen Proteinen möglich!



Upon oxidation, the yeast oxidant sensor Gpx3, a phospholipid hydroperoxidase, forms a transient disulfide-linked complex with the Yap1 transcription factor, an important determinant of resistance to oxidative stress. The complex rearranges to regenerate reduced Gpx3 and oxidized Yap1 with two disulfide bonds. Oxidized Yap1 rapidly accumulates in the nucleus and stimulates transcription of many genes, including the *TRX2* gene, which encodes the thioredoxin necessary for the reduction of Yap1.

Pflanze – Systemic acquired resistance (SAR)

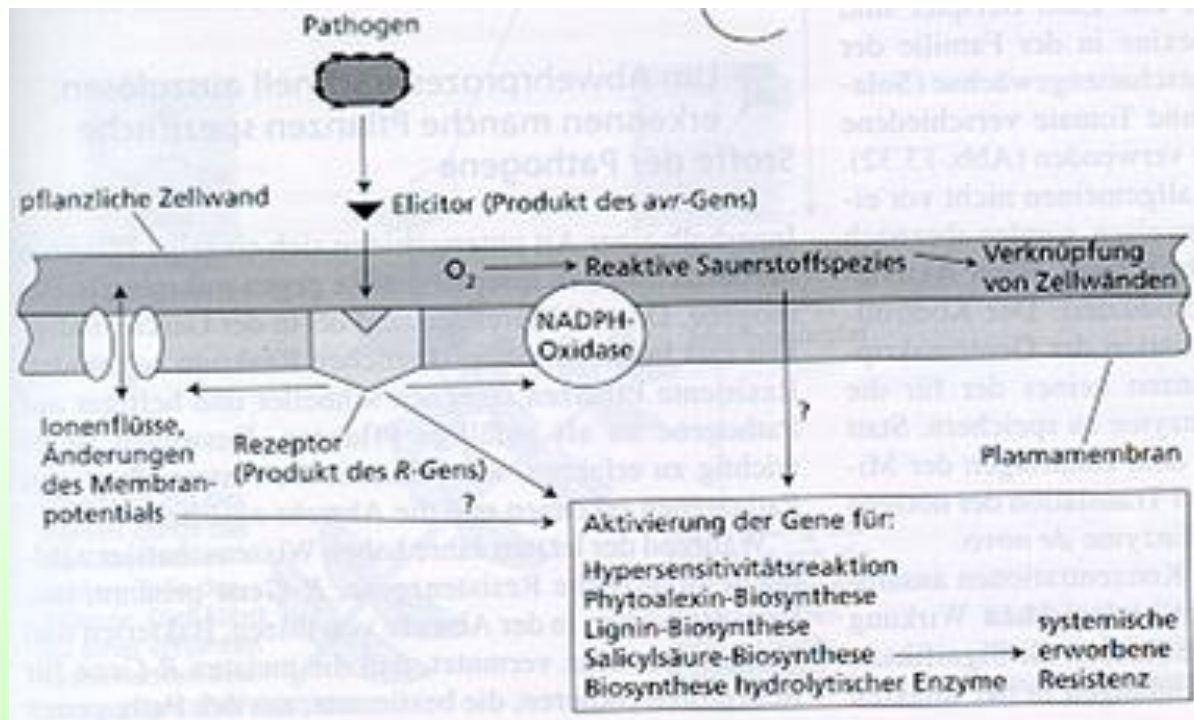
Pathogenabwehr nutzt H_2O_2 als Signal und Abwehrstoff!



In unstressed *Arabidopsis* cells, NPR1 (NONEXPRESSOR OF PR GENES) is maintained in the cytoplasm as a disulfide-bonded oligomer. Reduction of the disulfide bonds during SAR releases monomeric NPR1, which moves into the nucleus to interact with reduced TGA1 transcription factor (bZIP TF binding to TGACG) or directly salicylic acid (SA) to activate defense gene expression.

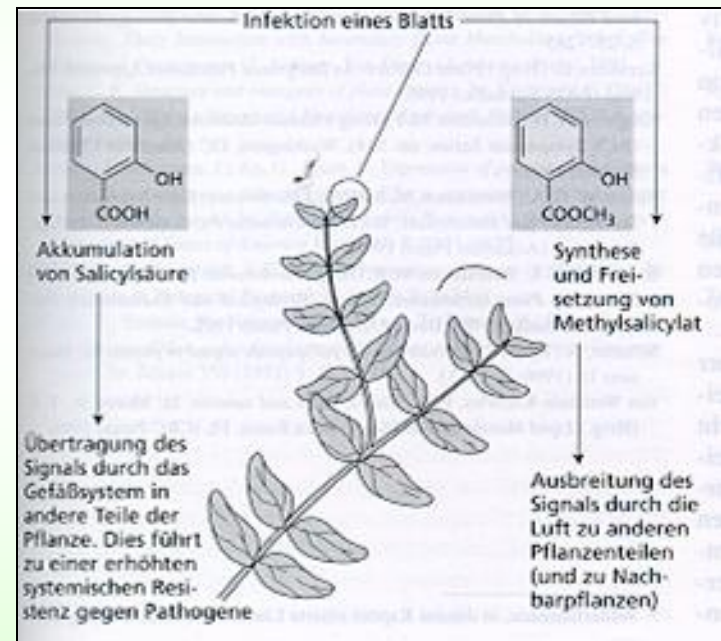
Pathogenabwehr in Pflanzen

1. Pflanzen können sich gegen Infektionen von Bakterien u.a. Mikroorganismen schützen
2. Hypersensitivitätsreaktion – programmierter Zelltod
3. Synthese von antimikrobiellen Wirkstoffen (Phytoalexine)
4. PR-Gene (plant resistance), kodieren für Rezeptoren (R) und antimikrobielle Proteine
5. Interagieren mit avr-Genprodukten (anit-virulence) der Pathogene, die kodieren mikrobielle Elicitoren
6. SR – systemische Resistenz, nach Infektion eines Teils der Pflanze erwirbt der restliche Teil Resistenz, durch Synthese und Transport von Salicylsäure vermittelt



Pathogenabwehr in Pflanzen nutzt Pheromone

- Systemische Resistenz durch Salicylsäure
- Methyl-Salicylat ist flüchtig
- Wird von befallenen Pflanzen freigesetzt und führt in benachbarten Pflanzen zur Induktion der Pathogen-Resistenz
- Auch Wurzel-Wurzel-Kontakt ist möglich

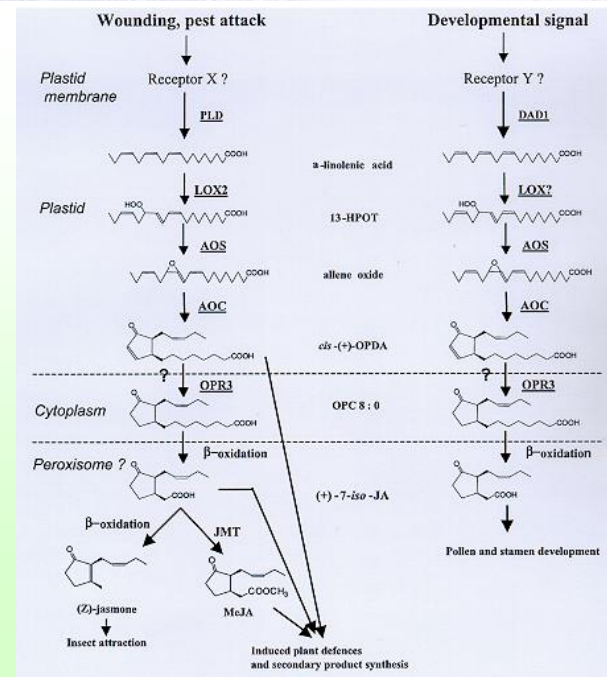
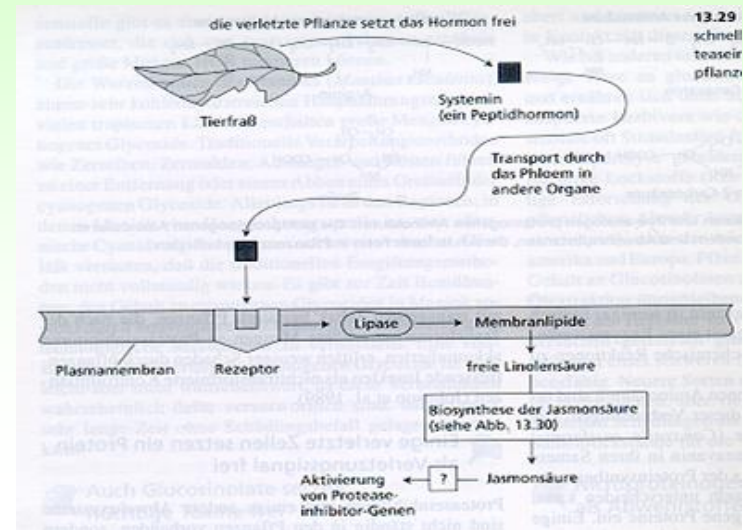


Signalwandlung nach oxidativem Stress

- **Mit Sicherheit mehrere Wege, je nach Herkunft**
- H_2O_2 – Kaskade wurde beobachtet – systemische Reaktion (H_2O_2 -Überproduktion erzeugt generelle Resistenz)
- H_2O_2 kann direkt oder indirekt (Thioredoxin, Gluthation) Redoxzustand verändern
- Regulation des Elektronentransports – Redoxzustand des Plastochinonpool soll gemessen werden
- Redox wirkt direkt auf Target oder über Genexpression
- Potentielle Sensormoleküle mit SH-Gruppen (oxidiert) oder FeS-Cluster
- Kinasen und Phosphatasen werden reguliert
- ROS-abhängige Transkriptionsfaktoren, Kerntransport und DNA-Bindung wird durch ROS beeinflusst

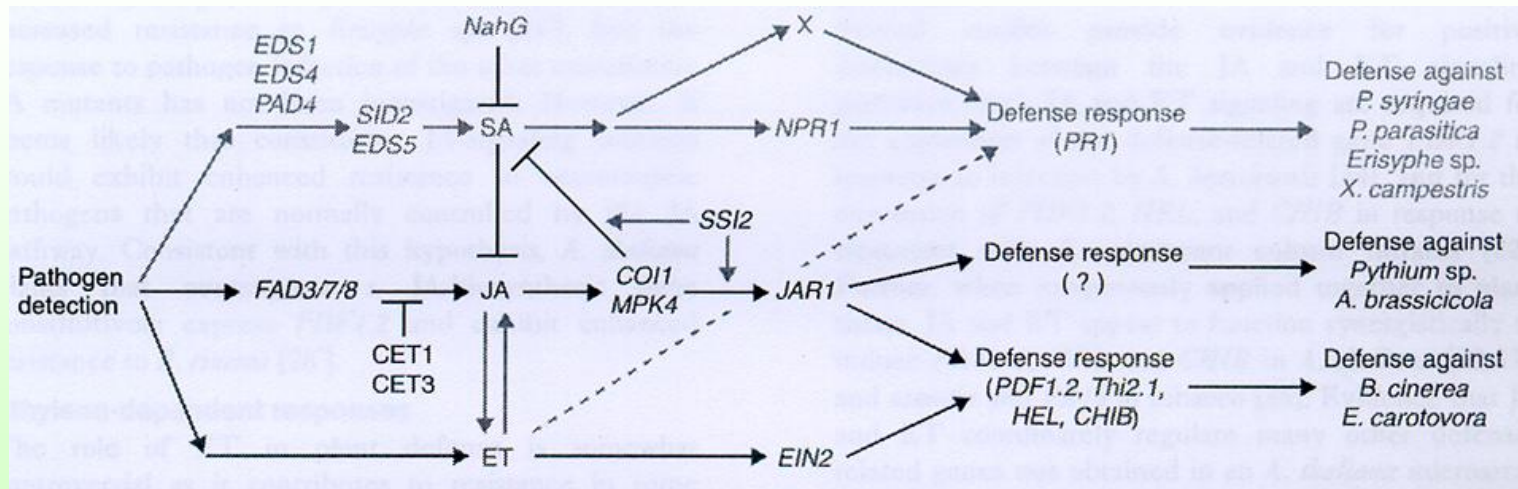
JA – Synthese wird durch Pathogene induziert

- Tomatenpflanzen setzen nach Verletzung ein 12 AS langes Peptid frei – Systemin (in Arabidopsis gibt es kein Systemin)
- Wird im Phloem transportiert
- Bindet an Rezeptor, ähnelt BRI1 (LRR-Familie)
- Eine aktivierte Lipase setzt Linolensäure frei – Ausgangspunkt für JA- Synthese
- JA-induziert PR-Gene



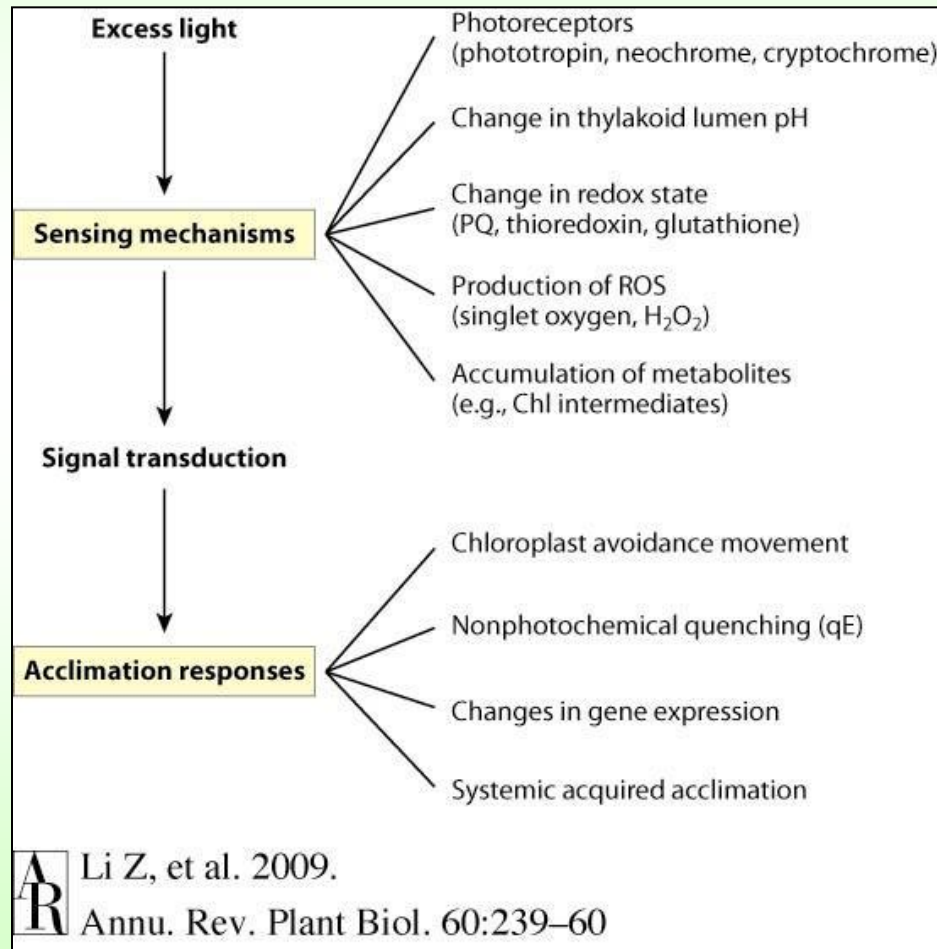
Pathogenabwehr benutzt mehrere Signalwege

- Salicylsäure- (SA), JA- und Ethylenwege
- EDS1 (enhanced disease susceptibility), EDS4, PAD4 regulieren SA Synthese, SA unterdrückt JA-Synthese
- SID2 und EDS5 sind direkt bei der SA Synthese beteiligt.
- NPR1 ist als Transkriptionsfaktor bei der Expression von PR-Genen aktiv.
- Ausfall des SA-Weges macht Arabidopsis nur für bestimmte Pathogene empfindlich, da auch andere Signalwege z.B. JA-Weg nutzbar sind.
- JA-Weg induziert eine spezielle Gruppe von PR-Genen .
- JA-Weg Aktivität hemmt SA-Weg (MPK4-Mutante ist SA-konstitutiv).
- Ethylen- und JA-Wege interagieren positiv.

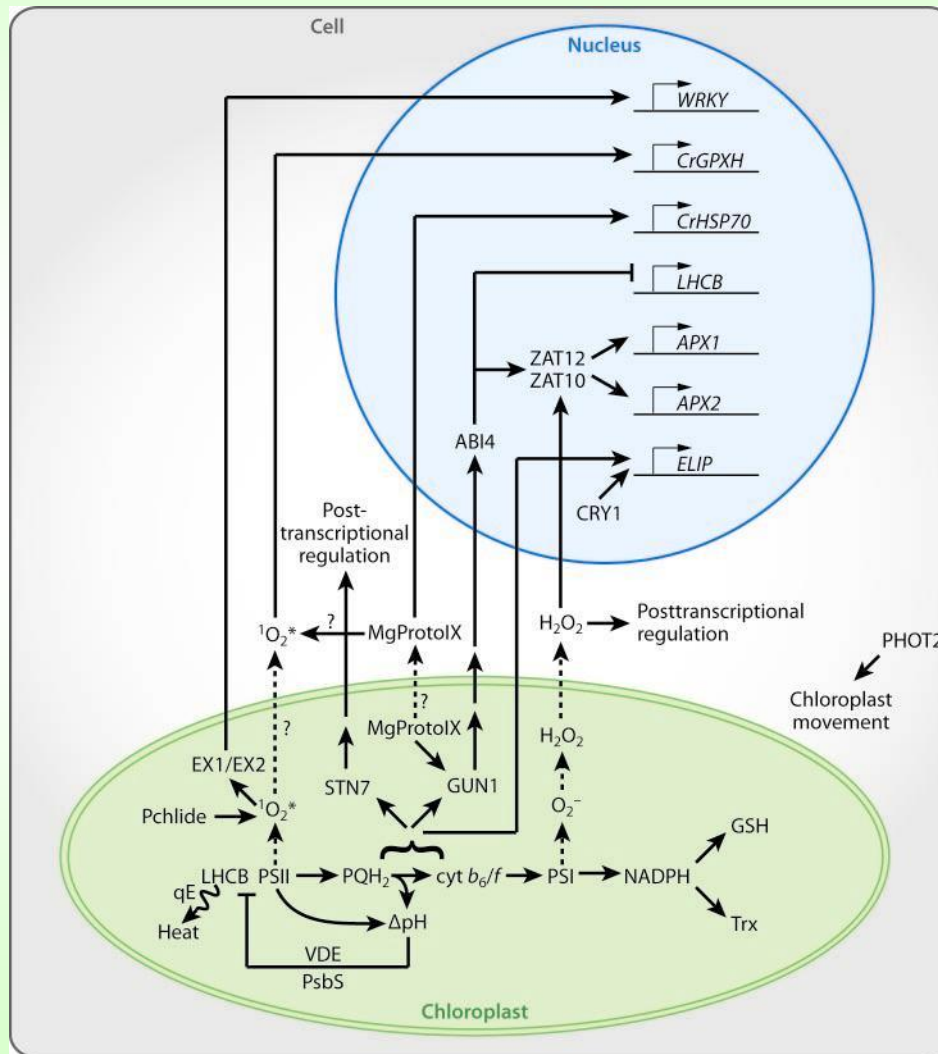


„Retrograde signaling“ – Chloroplasten (Mitochondrien) kontrollieren Kernaktivitäten

Pflanzen – Chloroplasten sensieren und vermitteln Licht/oxidativen Stress



Verschiedene Gene werden kontrolliert – Erfolgt das durch spezifische Signalwege?

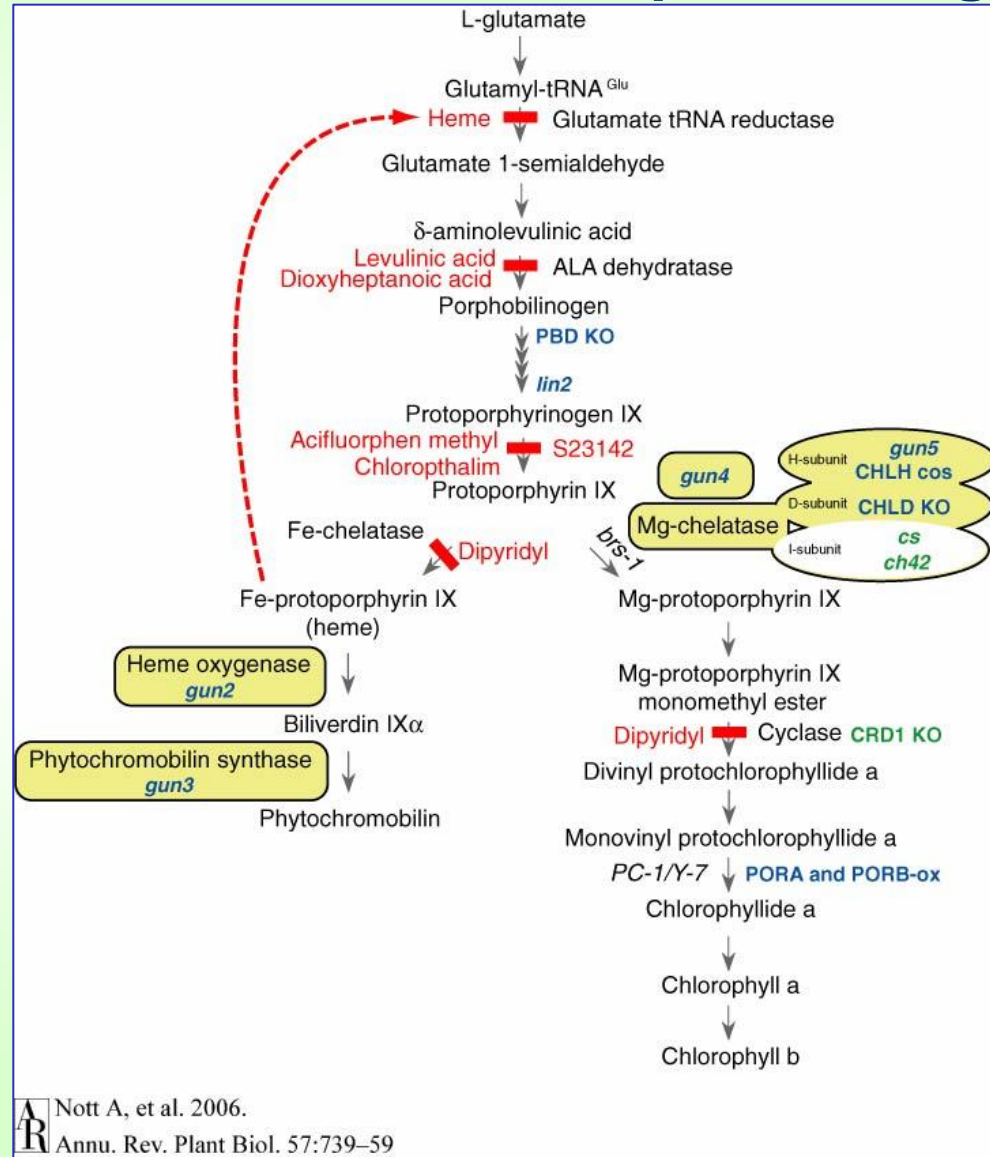


Genome uncoupled (*gun*) Mutanten

Kerngene werden nicht mehr durch Chloroplasten reguliert

Gun-Mutantenpflanzen hemmen nicht mehr die LHC-Synthese nach Norflurazon-Zusatz.

Kartierung und Identifizierung der Gene stellte einen Zusammenhang zur Chlorophyll-Biosynthese her



Modell des „retrograde signaling“ durch GUN

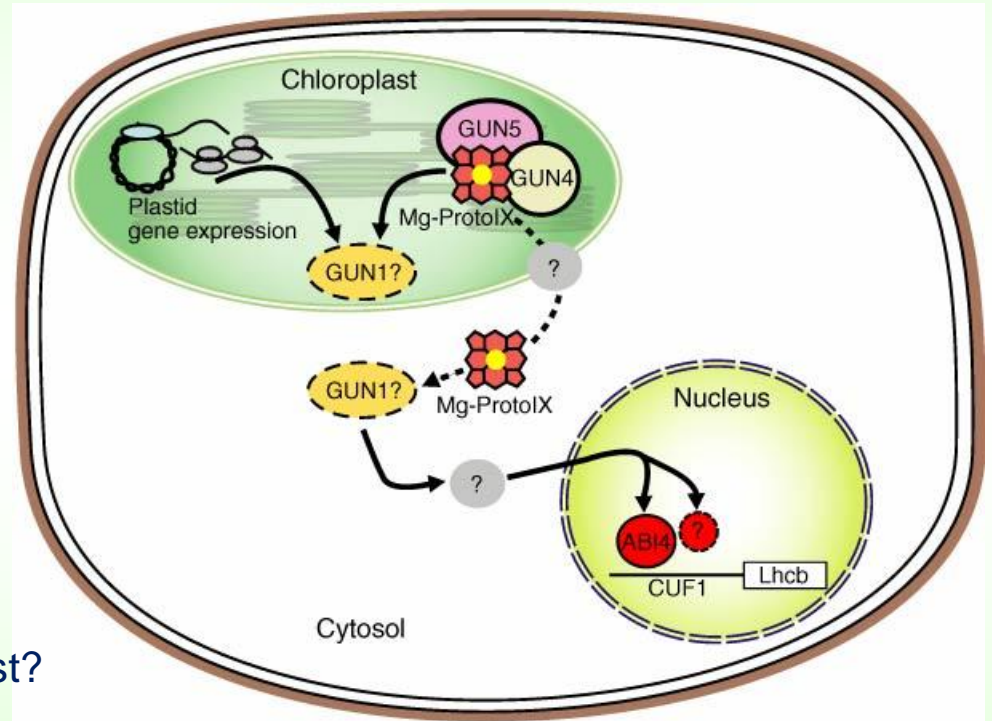
Mg-ProtoIX soll ein cytoplasmatischer Repressor sein

Bei Lichtstress/Chloroplastenproblemen wird die Chlorophyllsynthese gestört, z.B. verminderte LHC-Synthese.

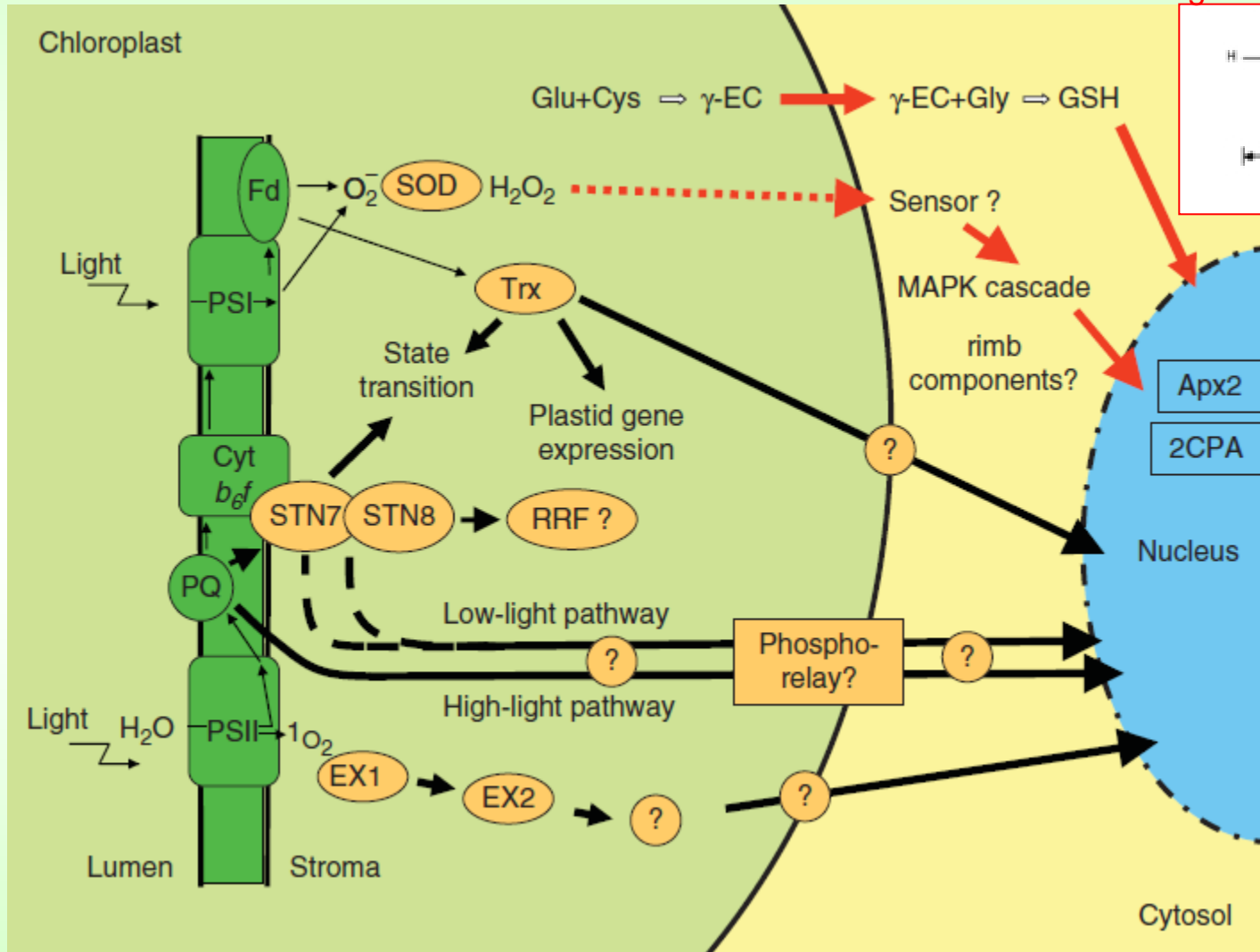
Intermediate der Chlorophyllbiosynthese akkumulieren, das muss vermieden werden.

Das Intermediat Mg-ProtoIX wird sensiert und reprimiert *lhc*-Gene im Kern.

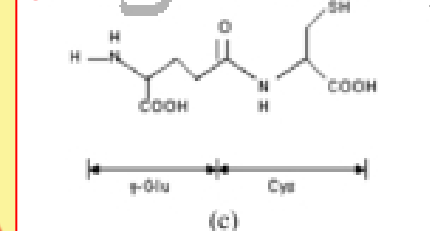
Wie kommt Mg-ProtoIX aus dem Chloroplast?
Wie wird Mg-ProtoIX erkannt?



Welches Signal (Metabolit, Protein, RNA) verlässt tatsächlich den Chloroplasten?

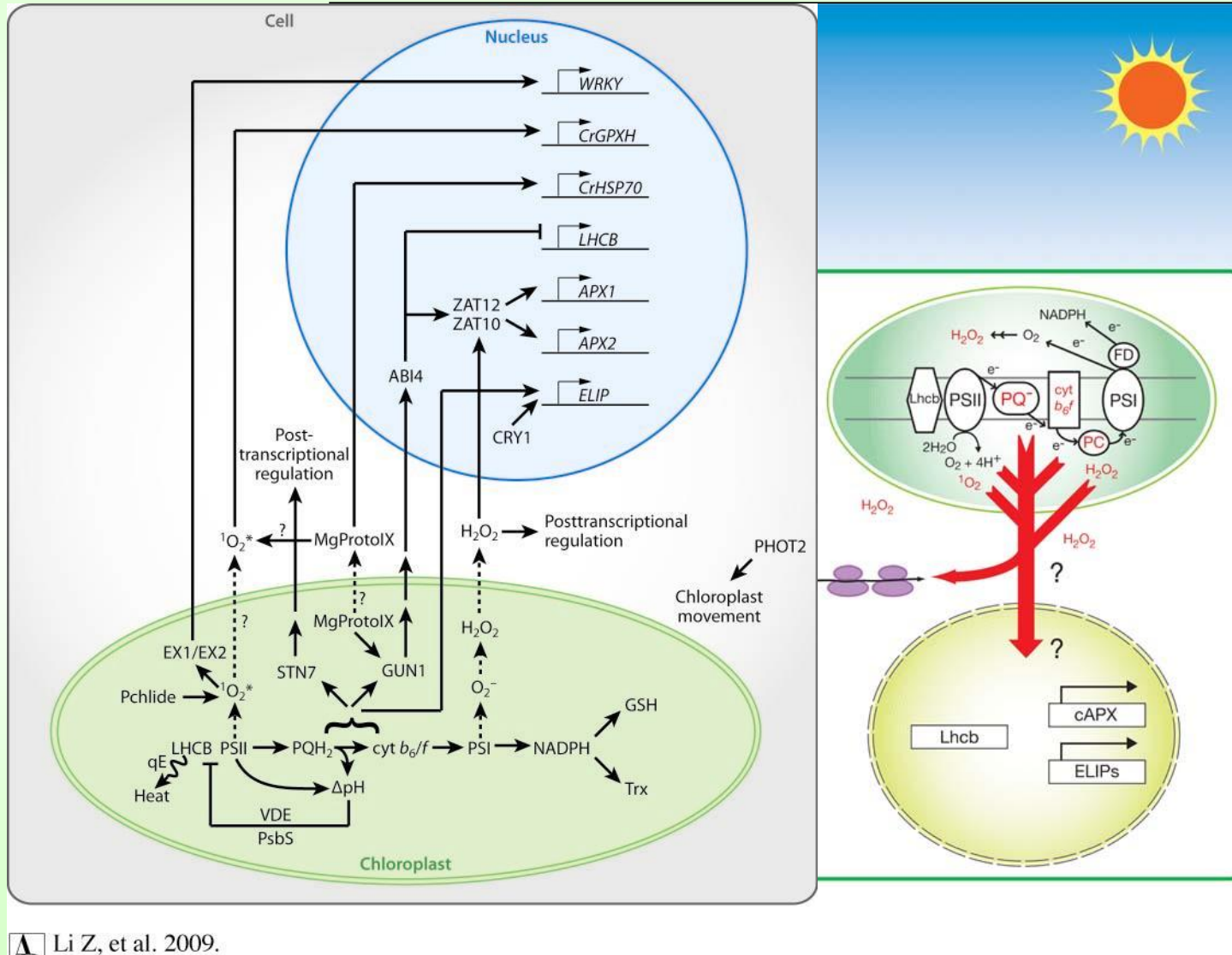


gamma-Glutamylcystein



Der Chloroplast ist Hauptquelle von Redoxstress

Redoxsignal wird an Kern übermittelt – wie?



Plastidial retrograde signalling – a true “plastid factor” or just metabolite signatures?

Thomas Pfannschmidt

Institute of General Botany and Plant Physiology, Department of Plant Physiology, University of Jena, Dornburger Str. 159, 07743 Jena, Germany

Chloroplast versorgt die Pflanze mit Metaboliten:

C-Fixierung

N-Assimilation

u.a. Biosynthesen laufen im Chloroplasten

Signaltransduktion im pflanzlichen
Kohlenhydrat Stoffwechsel