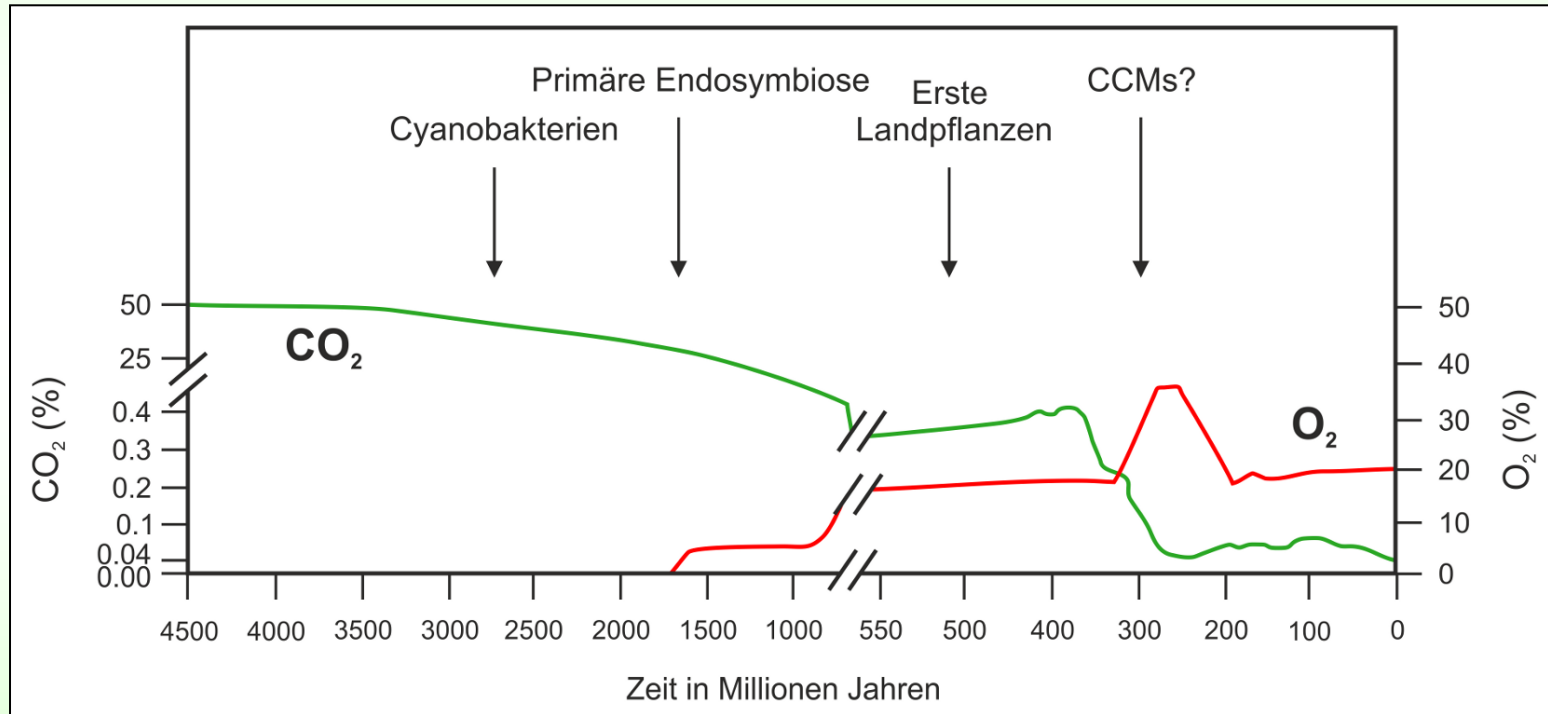


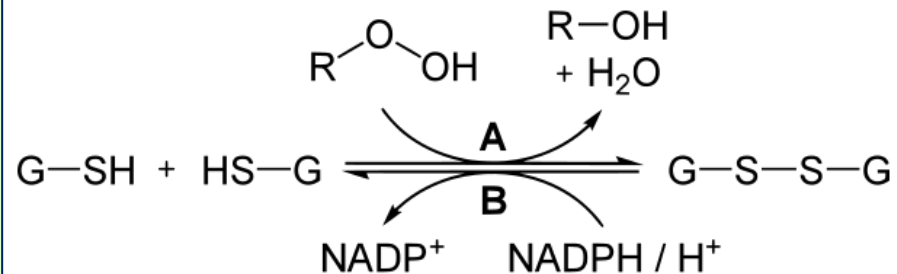
# Oxidativer Stress in Pflanzen

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



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

ROS Stress und Zuckersignale

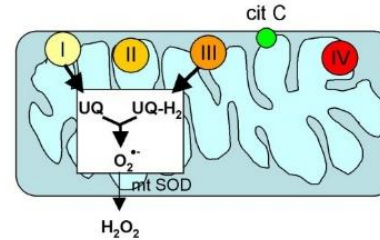


# Tiere - Hauptquellen für ROS

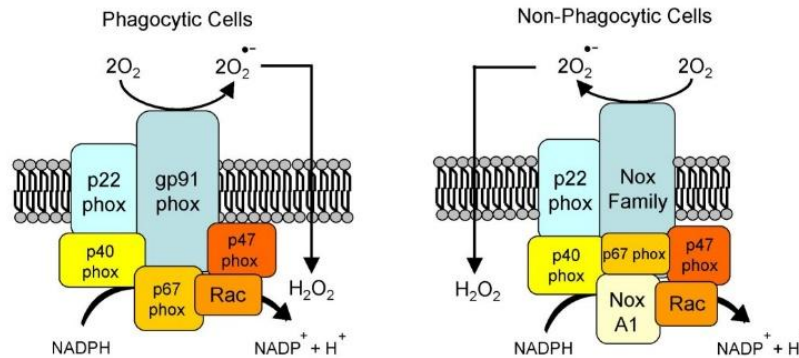
## a) Mitochondria

Stimuli inducing increased mitochondrial generation of ROS:

- serum deprivation
- integrin signalling
- apoptosis
- TNF $\alpha$
- hypoxia
- ceramide
- p53
- oncogenic Ras



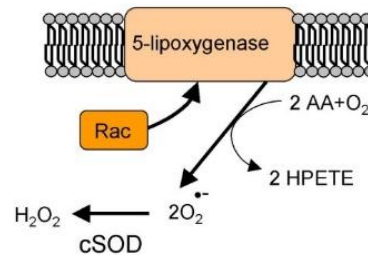
## b) NADPH oxidase



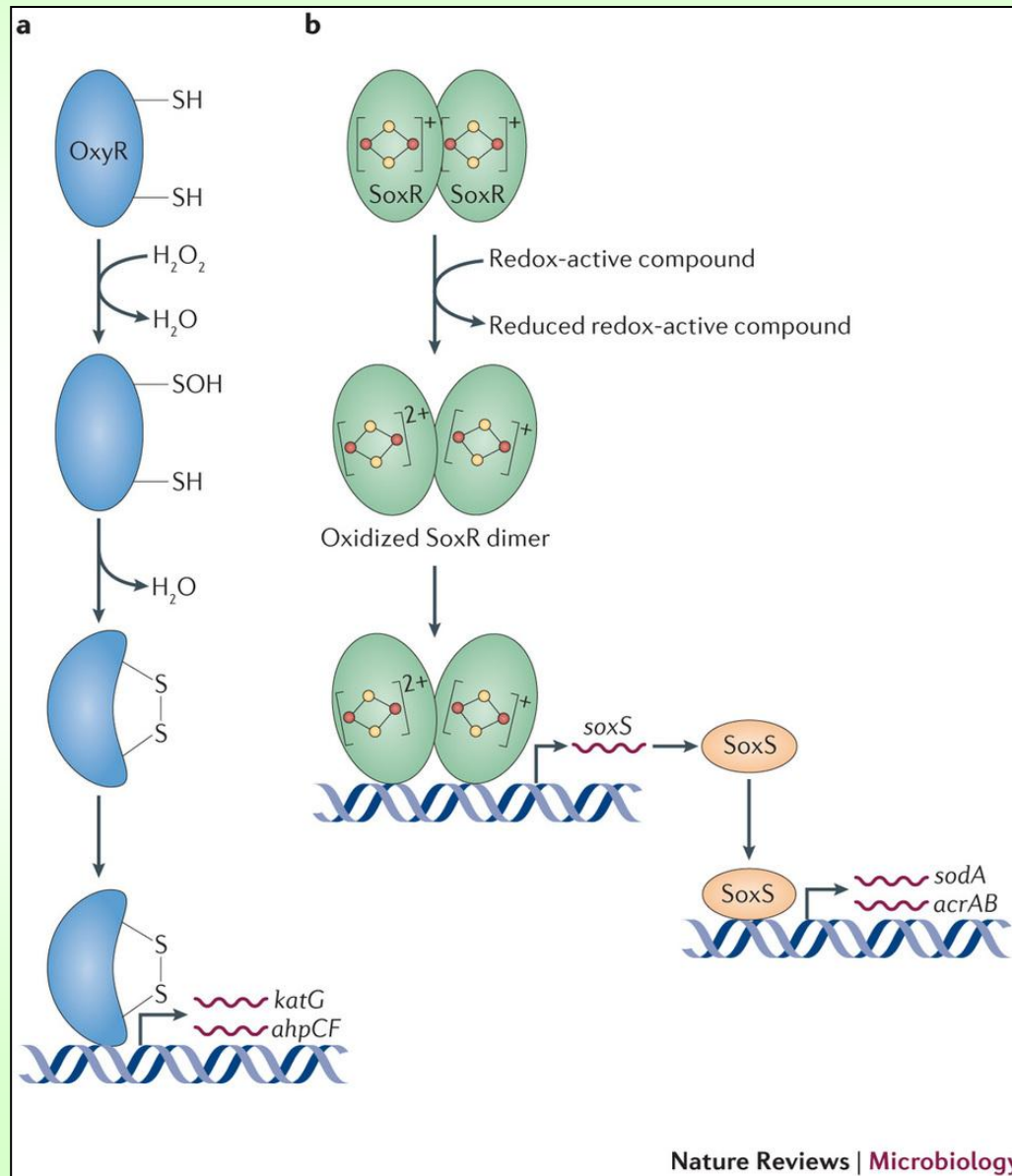
Stimuli for activation of NADPH oxidase and 5-lipoxygenase

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

## c) 5-lipoxygenase

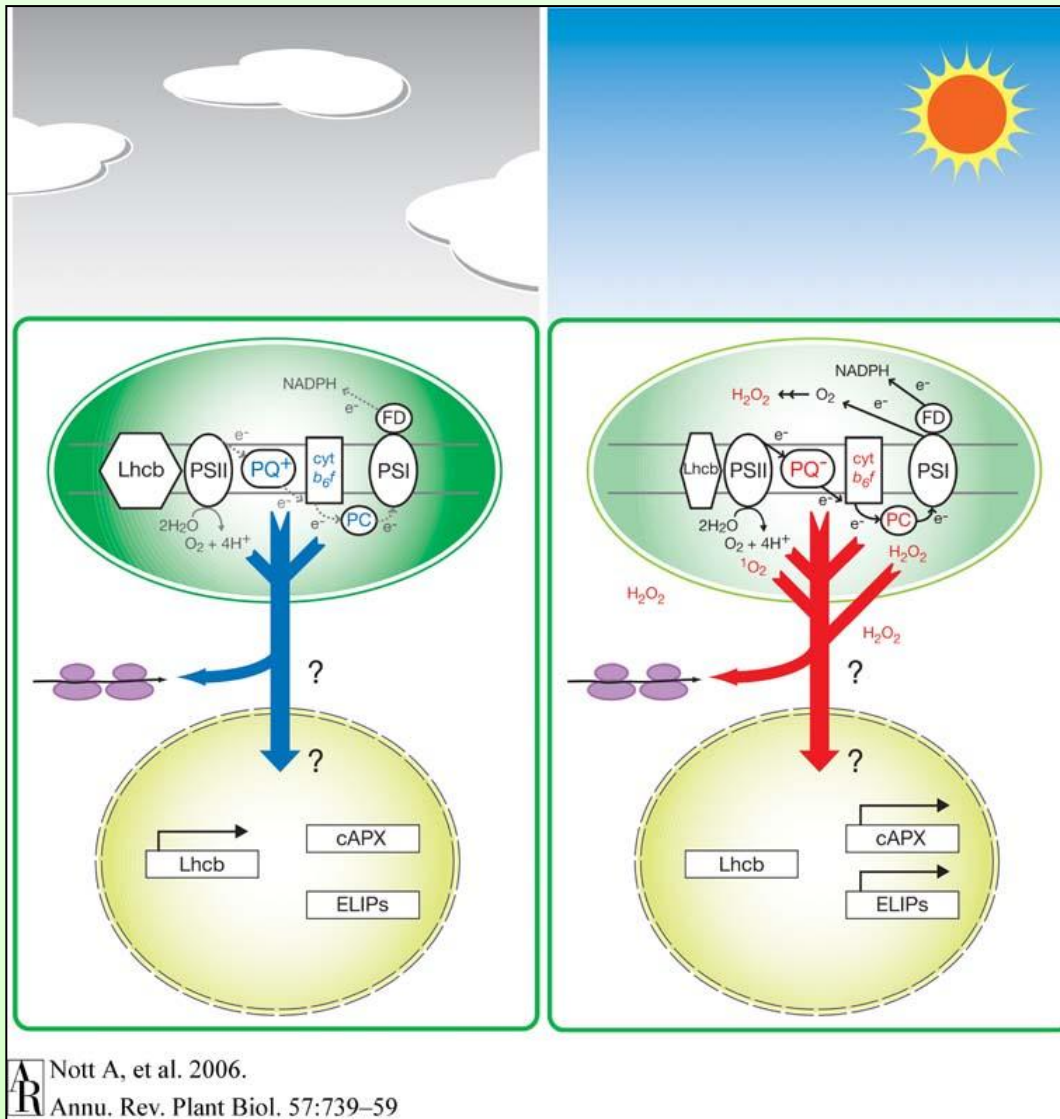


# *E. coli* – OxyR kooperiert mit SoxR

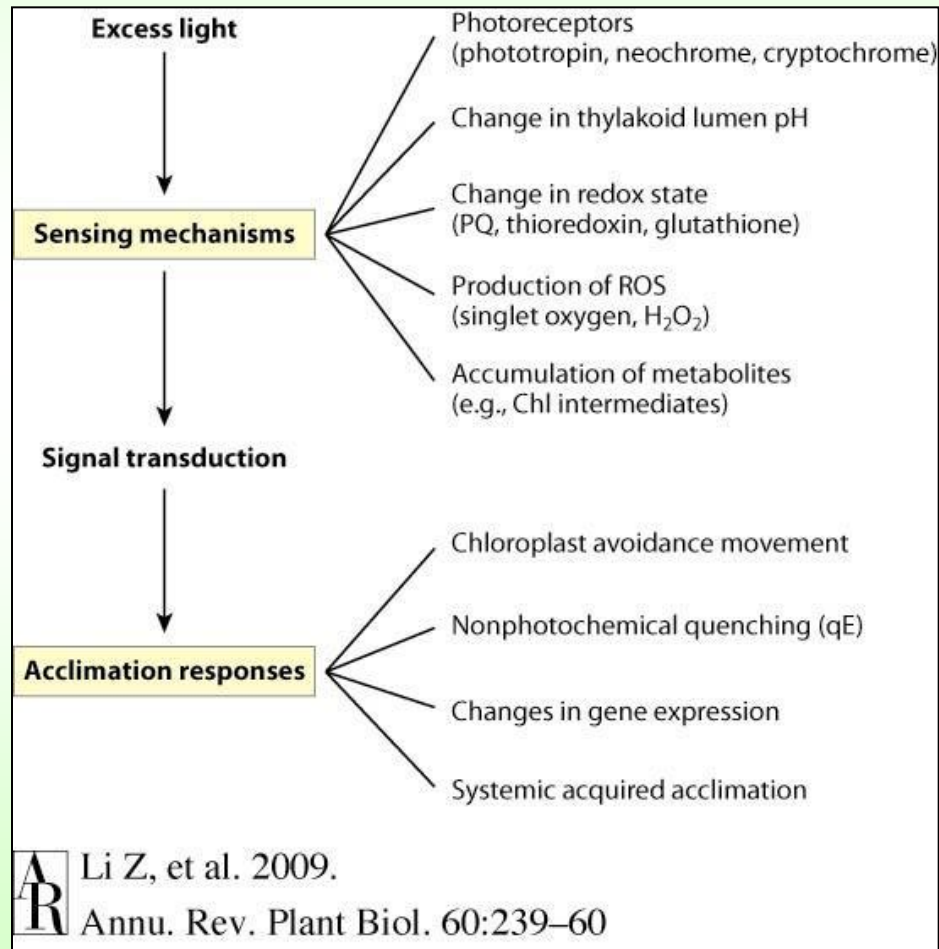


# „Retrograde signaling“ – Chloroplasten (Mitochondrien) kontrollieren Kernaktivitäten

Pflanzen – Chloroplasten sensieren und vermitteln Licht/oxidativen Stress



# Verschiedene Gene werden kontrolliert – Erfolgt das durch spezifische Signalwege?

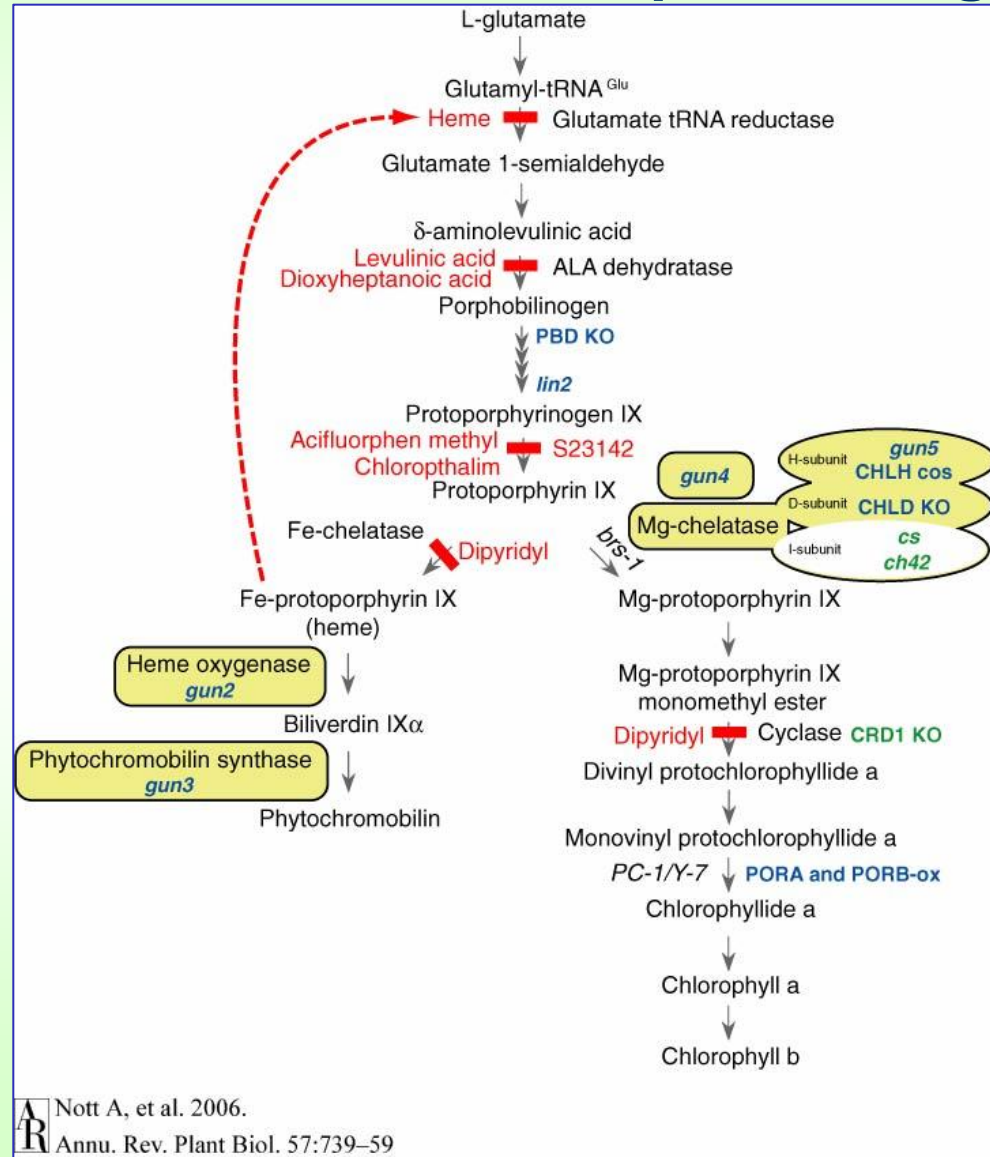


# Genome uncoupled (*gun*) Mutanten

## 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

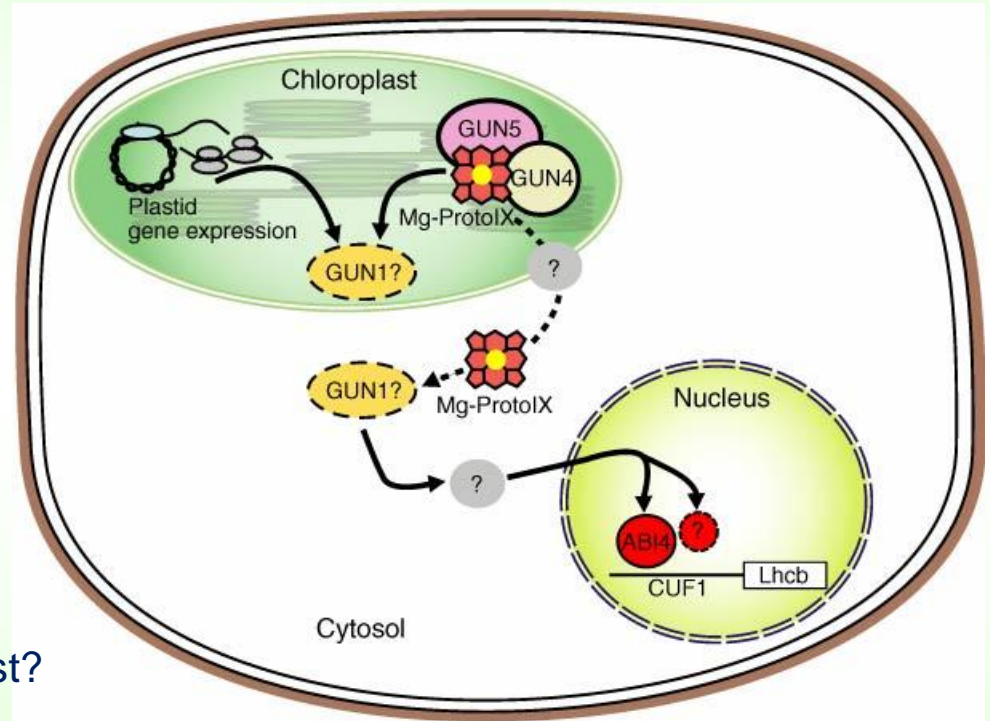
## Mg-ProtoIX soll ein cytoplasmatischer Repressor sein

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

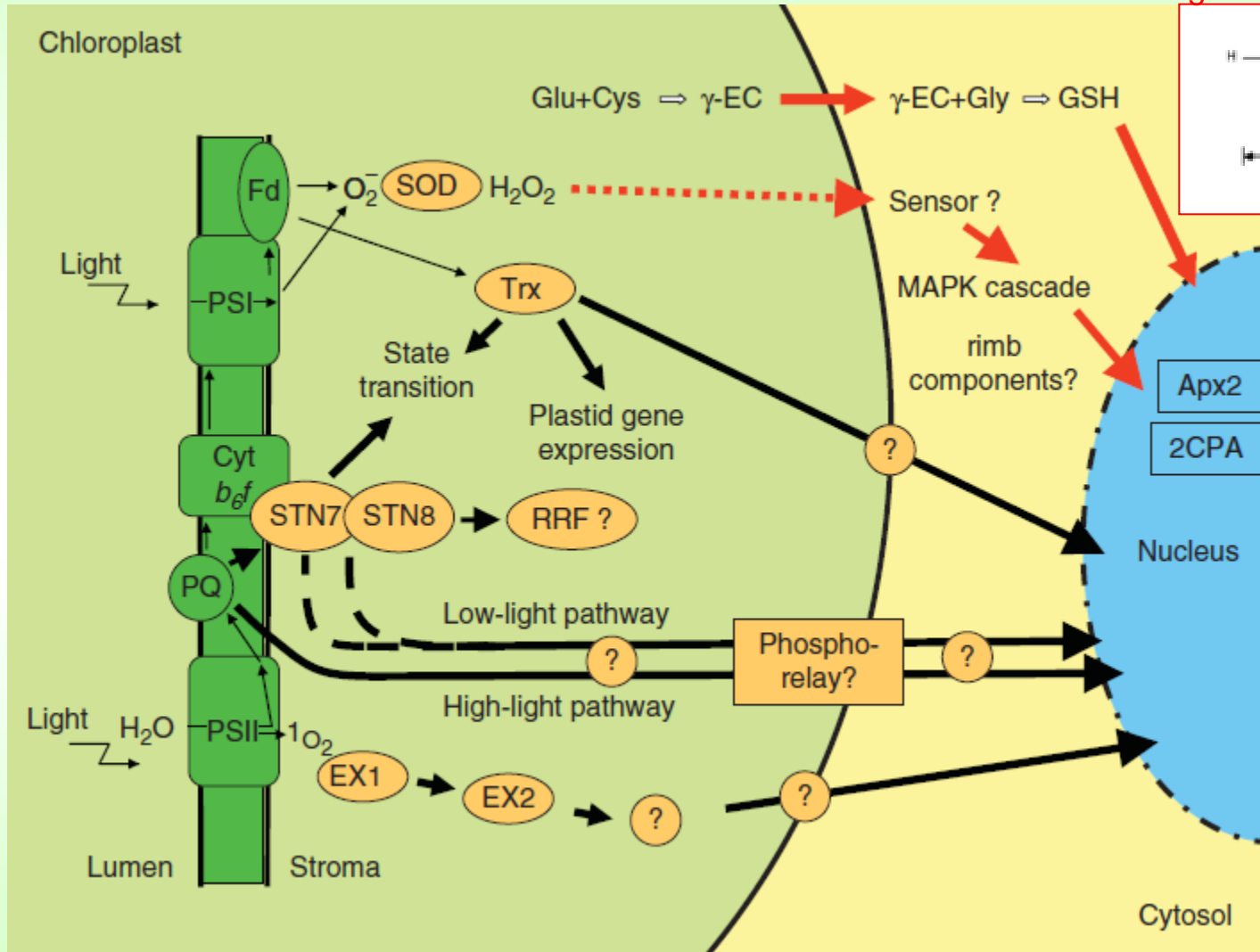
Intermediate der Chlorophyllbiosynthese akkumulieren, das muss vermieden werden.

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

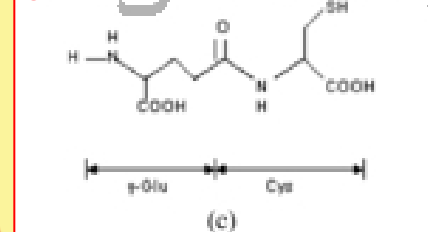
Wie kommt Mg-ProtoIX aus dem Chloroplast?  
Wie wird Mg-ProtoIX erkannt?



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

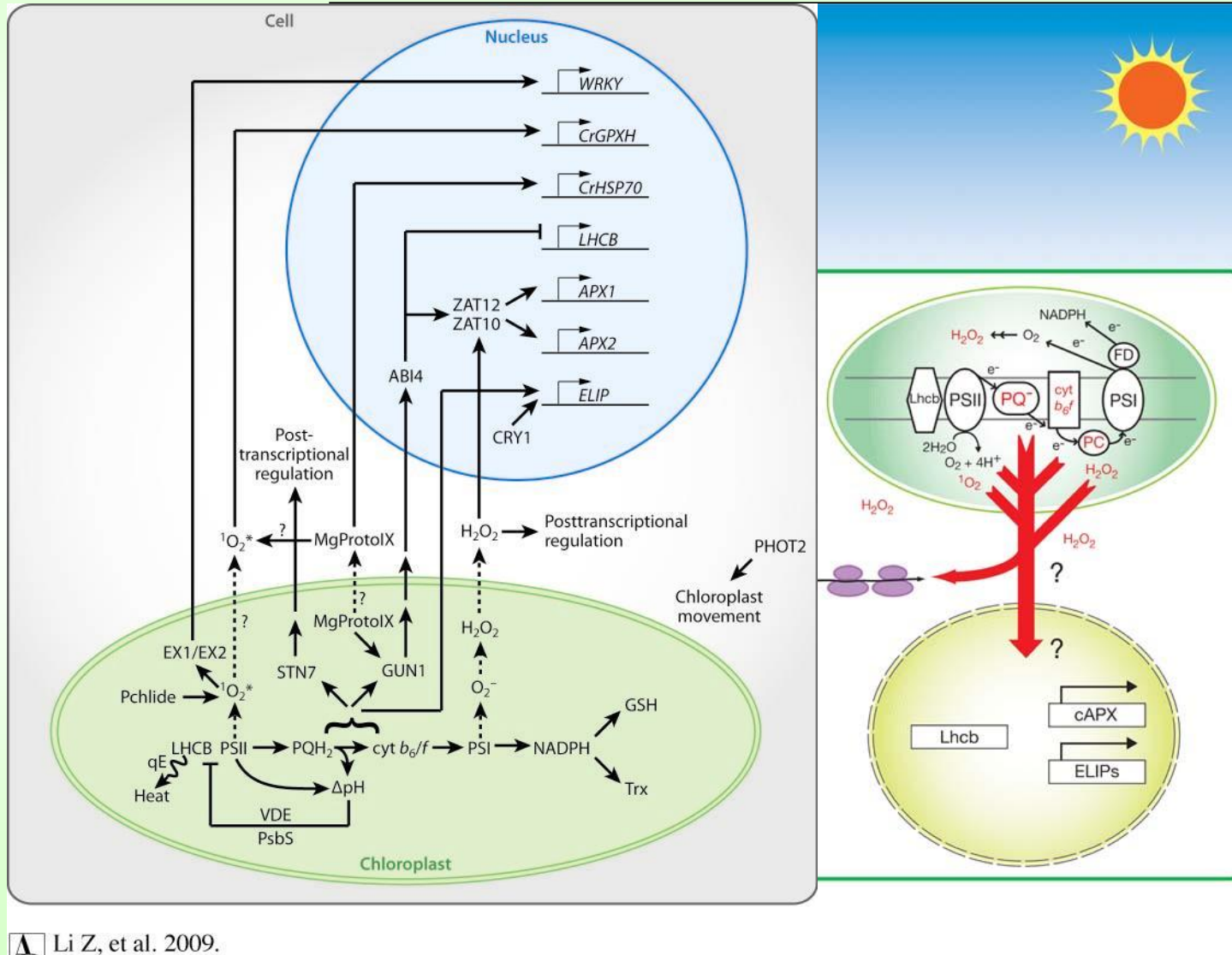


gamma-Glutamylcysteinylglycine



# 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

# 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:

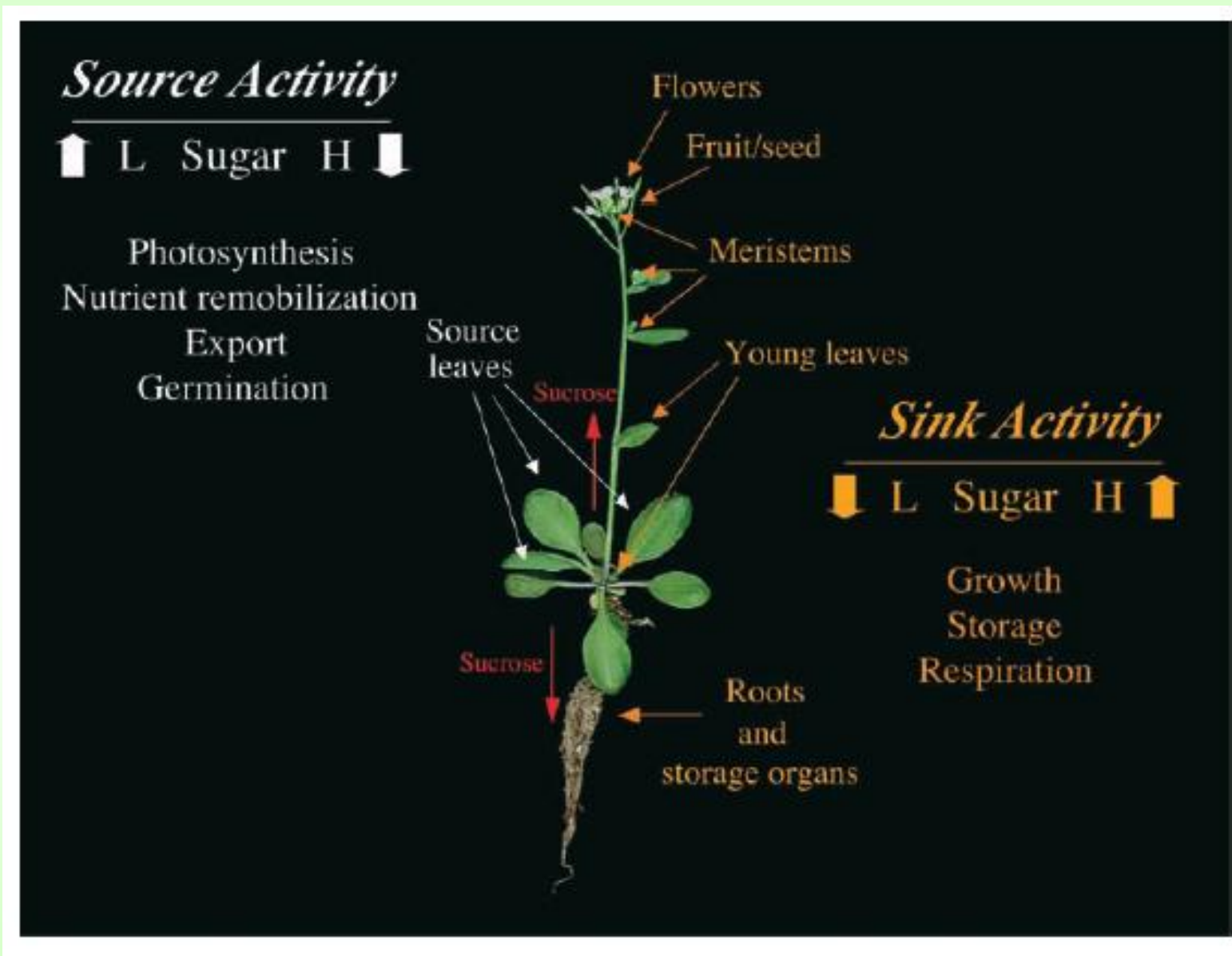
C-Fixierung

N-Assimilation

u.a. Biosynthesen laufen im Chloroplasten

Signaltransduktion im pflanzlichen  
Kohlenhydrat Stoffwechsel

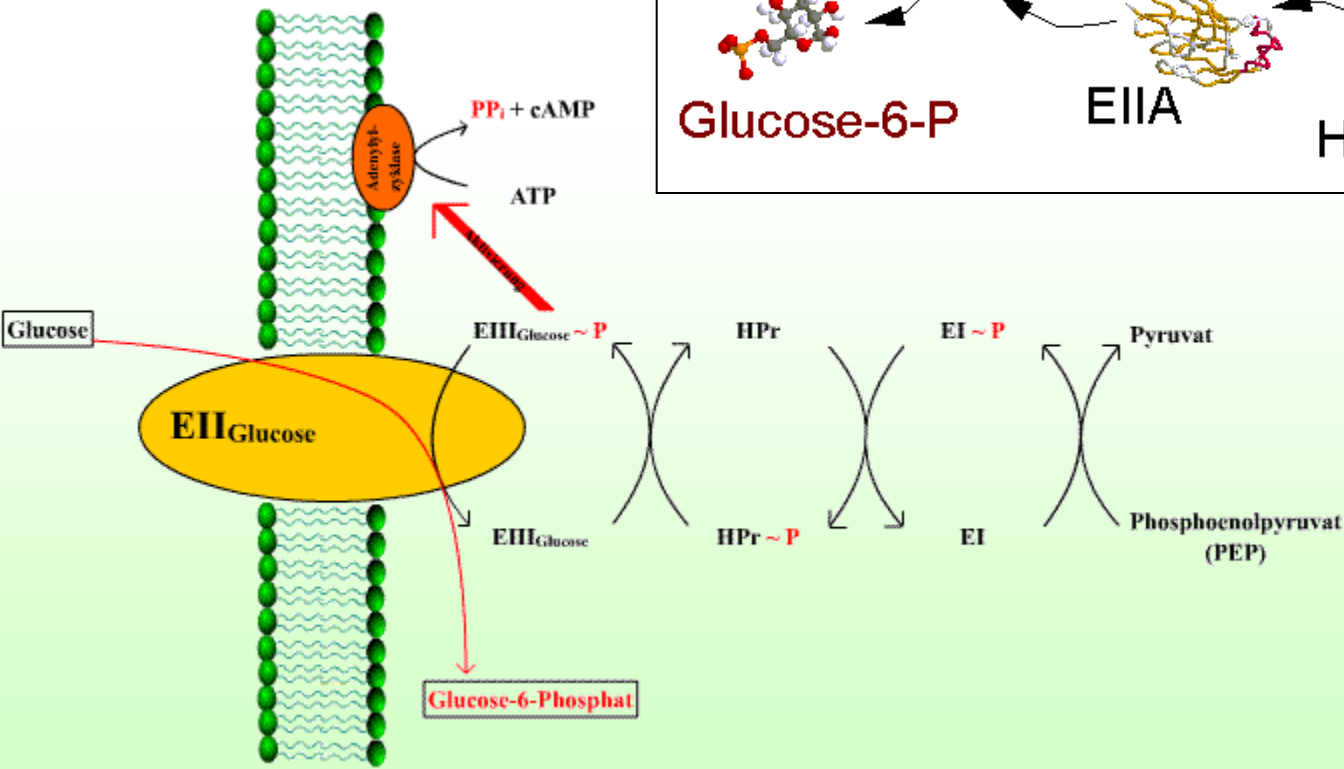
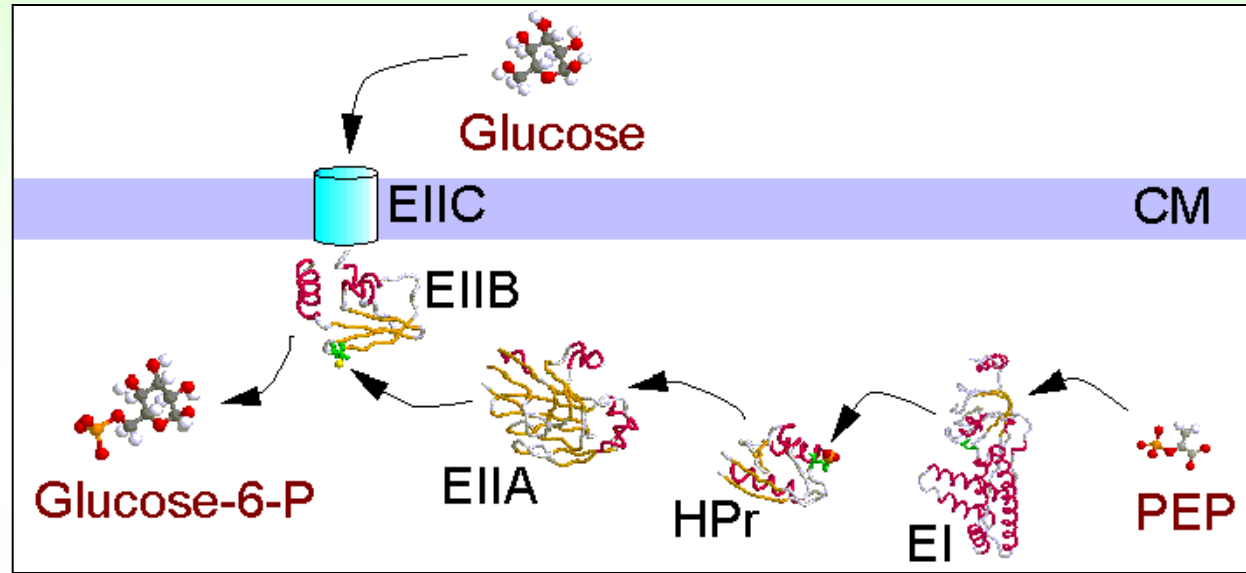
# Sugar-Sensing in Pflanzen ist extrem vielfältig



# Sugar-Sensing in dem Bacterium *Escherichia coli*

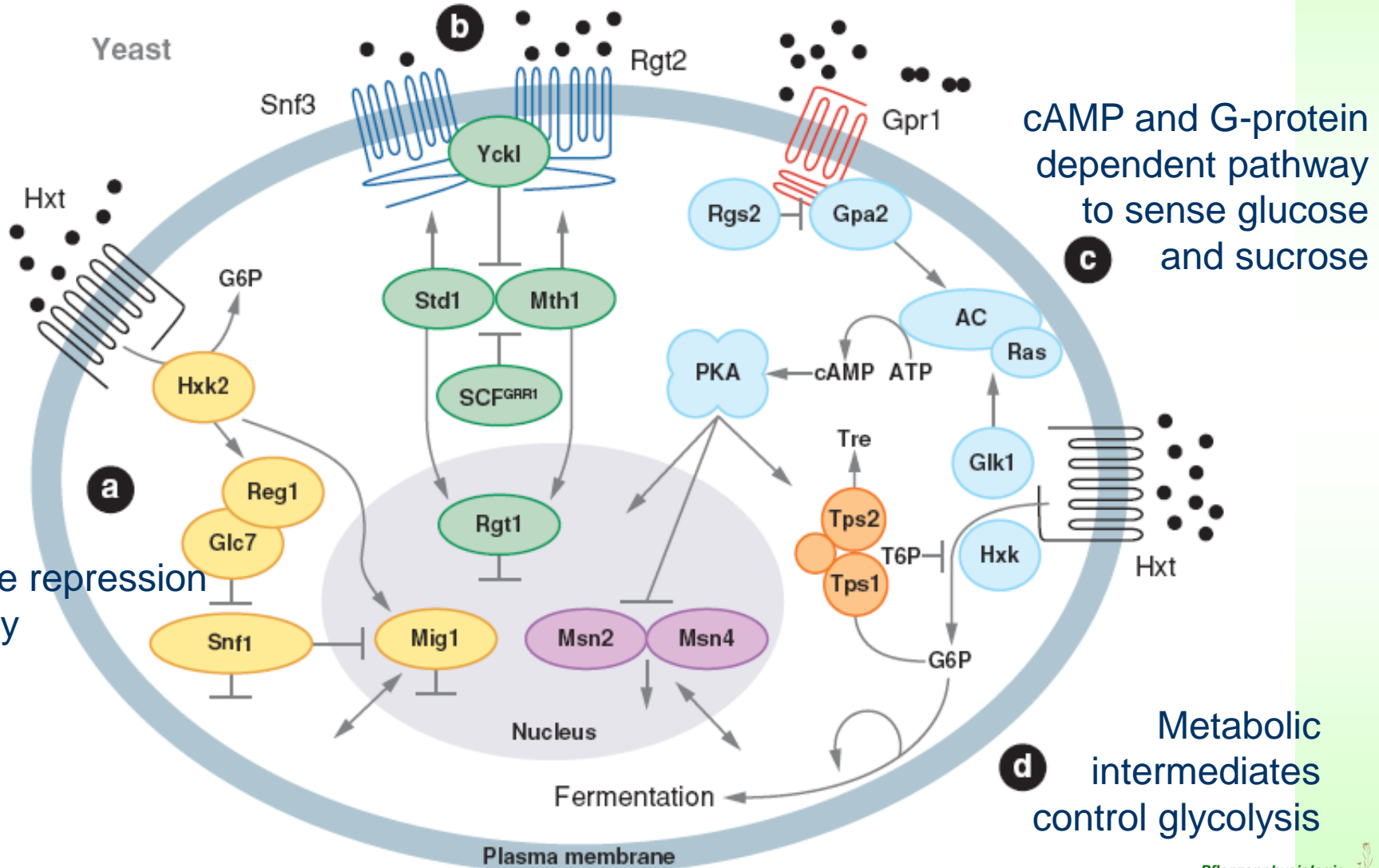
*Catabolite Activator Protein wird durch cAMP aktiviert*

Das PTS-System dient der Glucose-Aufnahme und Sensierung!

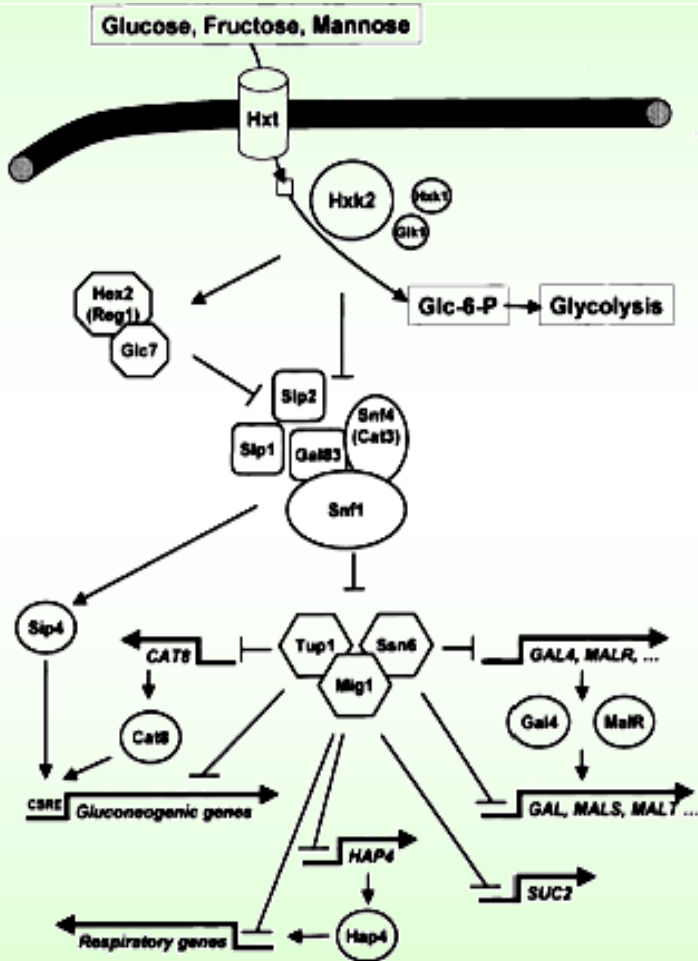


# In der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* existieren mehrere Wege zur Detektion von Zuckern

## Hexosetransporter induction pathway



# Sugar-Sensing in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* - der Glukose-Repressions-Weg



- Hxt            Glucosetransporter / extrazellulärer Sensor (Snf3 Rgt2)
- Hxk2            intracellulärer Glukosesensor
- Snf1            Nonfermenting Proteinkinase -Komplex
- Snf4            Snf1 Aktivierungs Untereinheit
- Mig1            Transcriptionaler Repressor Komplex
- Glc7            Protein Phosphatase 1

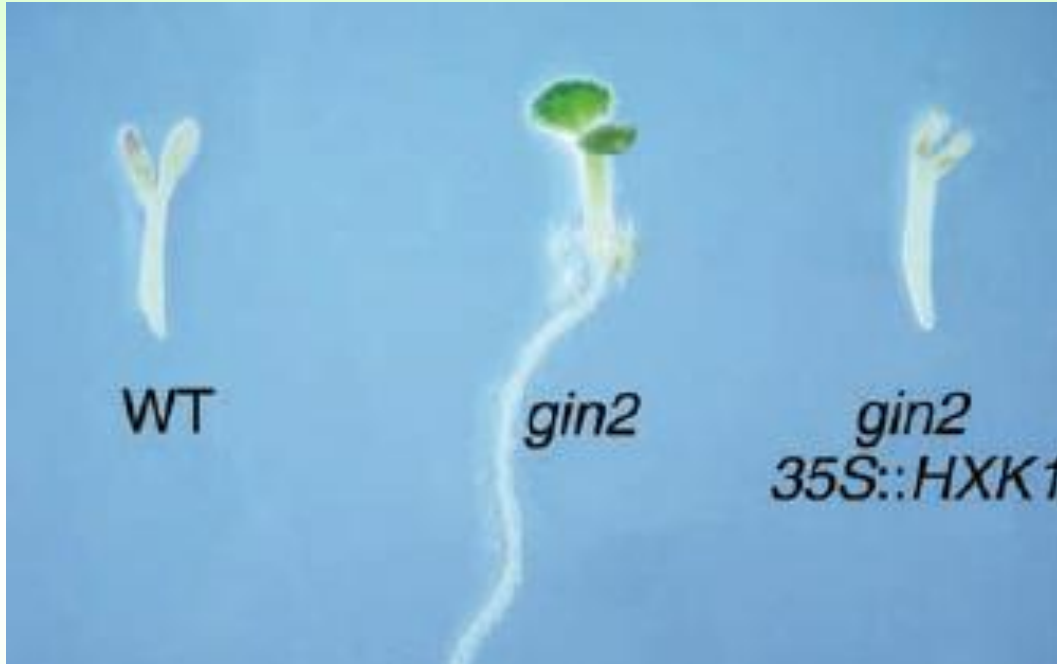
Glukose in hohen Konzentrationen im Medium führt zur Inaktivierung von Transkriptionsfaktoren, die Gene der Galaktose- bzw. Maltoseverwertung, für die Respiration, Gluconeogenese aktivieren.

Die Repression dieser Gene erfolgt durch Wirkung des zentralen Repressorkomplexes Mig1.

Die Snf1-Kinase wird durch Glukose inaktiviert. Damit fällt die Phosphorylierung von Mig1 aus und Mig1 wirkt als Repressor-Komplex.

Phosphoryliertes Mig1 (Snf1 aktiv bei Glucosemangel) wirkt als Transkriptionsaktivator und initiiert die Transkription dieser Gene.

# Die Arabidopsis *gin2* -Mutante (glucose insensitive) ist in einer Hexokinase defekt.



- Zucker (Glucose) verzögert Keimlingsentwicklung.
- Hexokinase (HXK) ist Zuckersensor
- Metabolit-unabhängig, da auch enzymatisch inaktive HXK den *gin2*-Phänotyp aufhebt.

# Sugar Sensing and Signaling in Plants: Conserved and Novel Mechanisms

Filip Rolland,<sup>1</sup> Elena Baena-Gonzalez,<sup>2</sup>  
and Jen Sheen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Microbiology, Flanders Interuniversity Institute for Biotechnology (VIB10), and Laboratory of Molecular Cell Biology K.U. Leuven, 3001 Heverlee-Leuven, Belgium; email: filip.rolland@bio.kuleuven.be

<sup>2</sup>Department of Molecular Biology, Massachusetts General Hospital and Department of Genetics, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02114; email: baena@molbio.mgh.harvard.edu, sheen@molbio.mgh.harvard.edu

Annu. Rev. Plant Biol.  
2006. 57:675–709

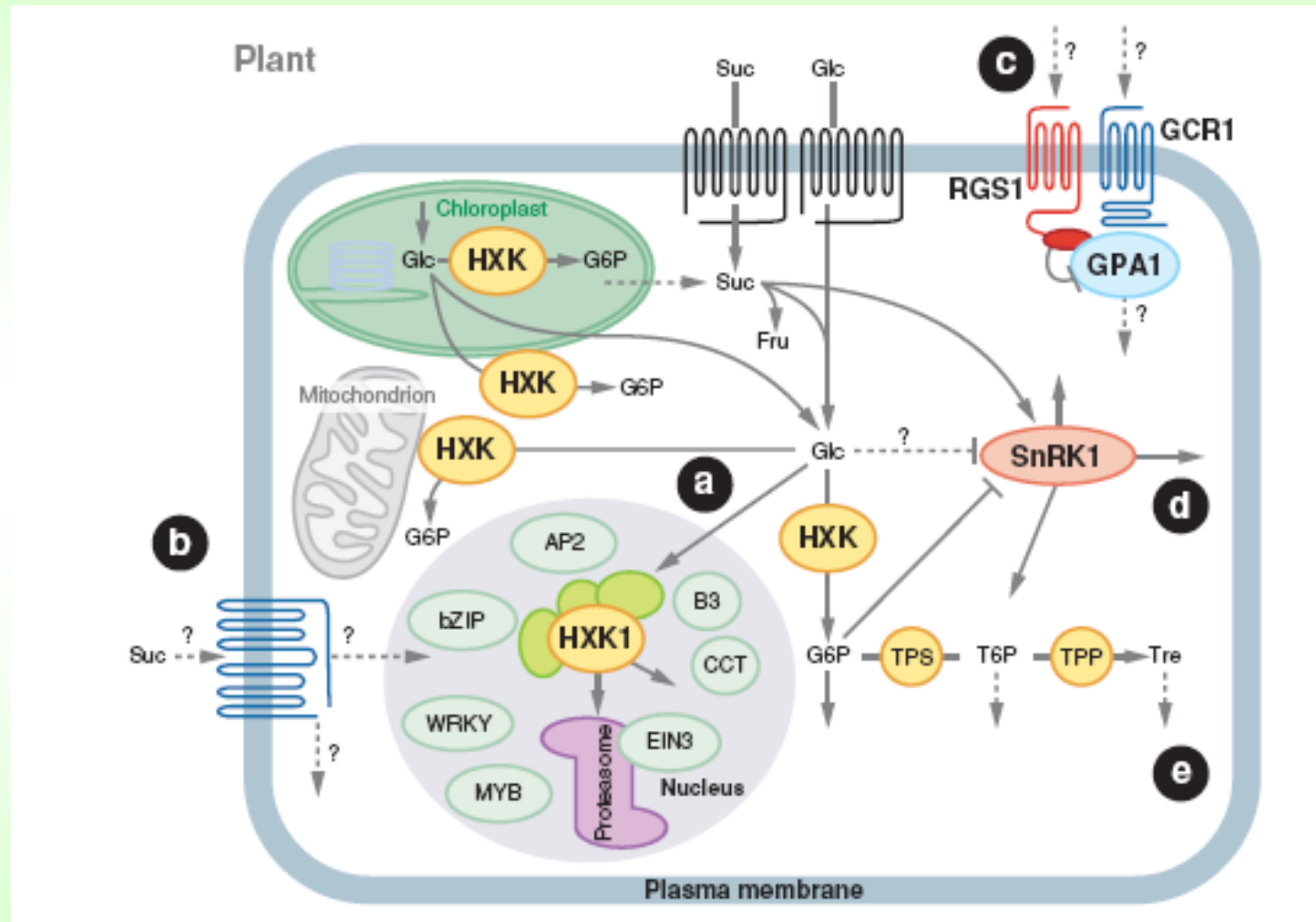
The *Annual Review of  
Plant Biology* is online at  
[plant.annualreviews.org](http://plant.annualreviews.org)

## Key Words

glucose, sucrose, trehalose, *Arabidopsis*, hexokinase, Snf1-related protein kinase

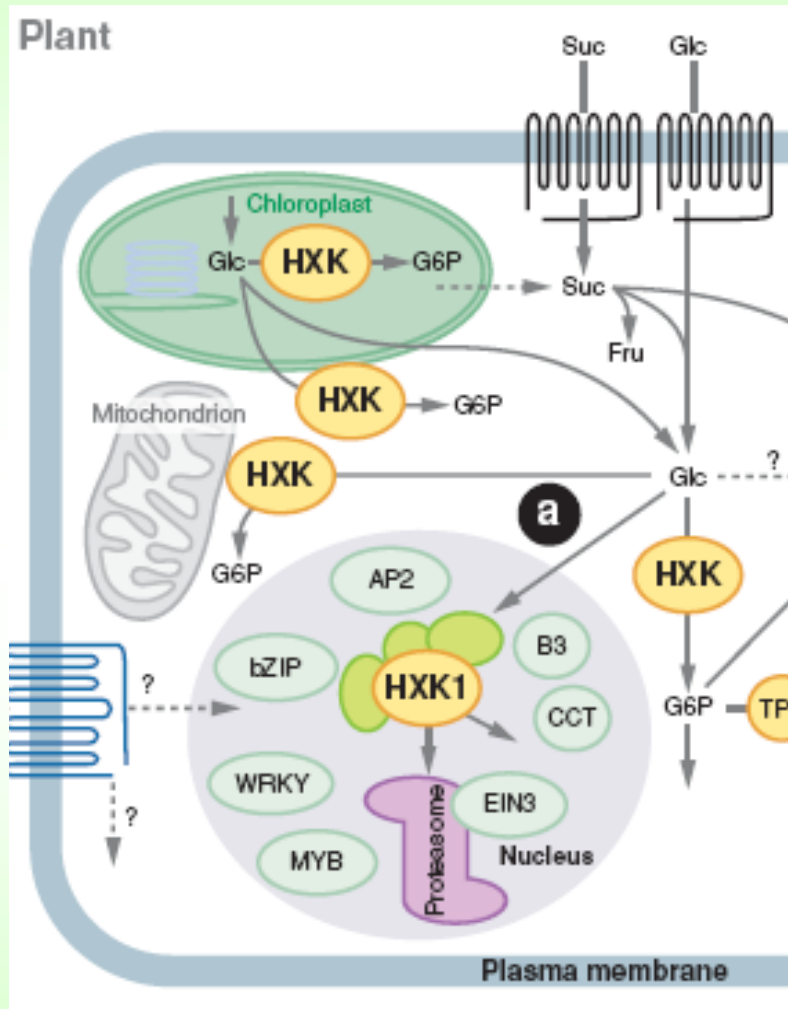
## Abstract

# Hypothetisches Modell des Sugar-Sensings in *Arabidopsis* umfasst mindestens 5 Wege nach Jen Sheen



Annu. Rev. Plant. Biol. 2006.57:675-709. Downloaded from arjournals.annualreviews.org by HARVARD UNIVERSITY on 05/02/06. For personal use only.

# Hypothetisches Modell des Sugar-Sensings in *Arabidopsis* a) Hexokinase als zentraler Sensor



Hexokinase 1 (HXK1) in *A. thaliana*  
 Daneben existieren HKLs, HXK-like proteins  
**Hauptmenge an Mitochondrien, wo**

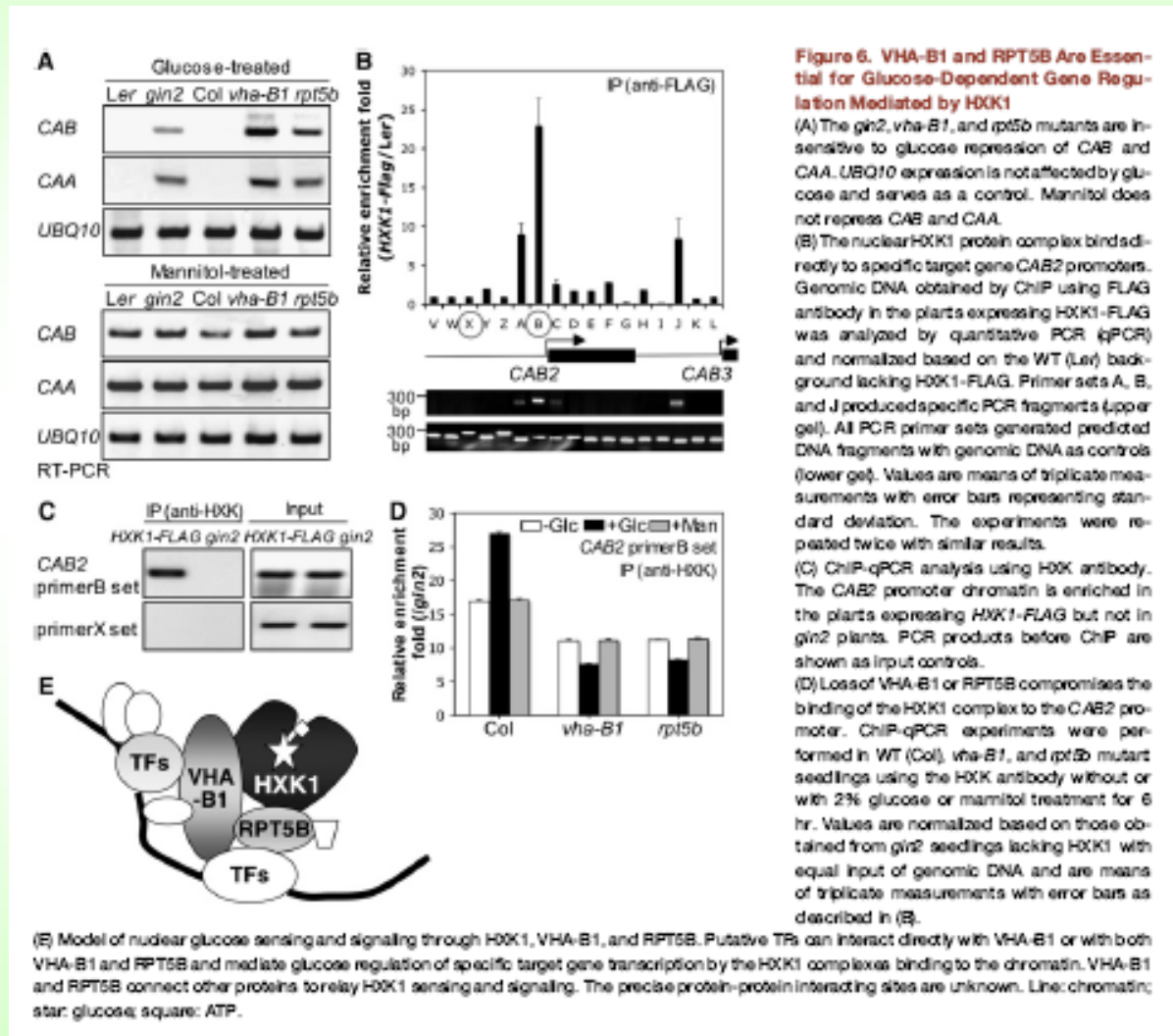
Glykolyse stattfindet

HXK auch im Chlorplast, Rolle im Dunkeln  
 HXK ist Teil von Kernkomplexen, wo

1. Proteinstabilität und
2. Transkriptionsaktivität beeinflusst wird.

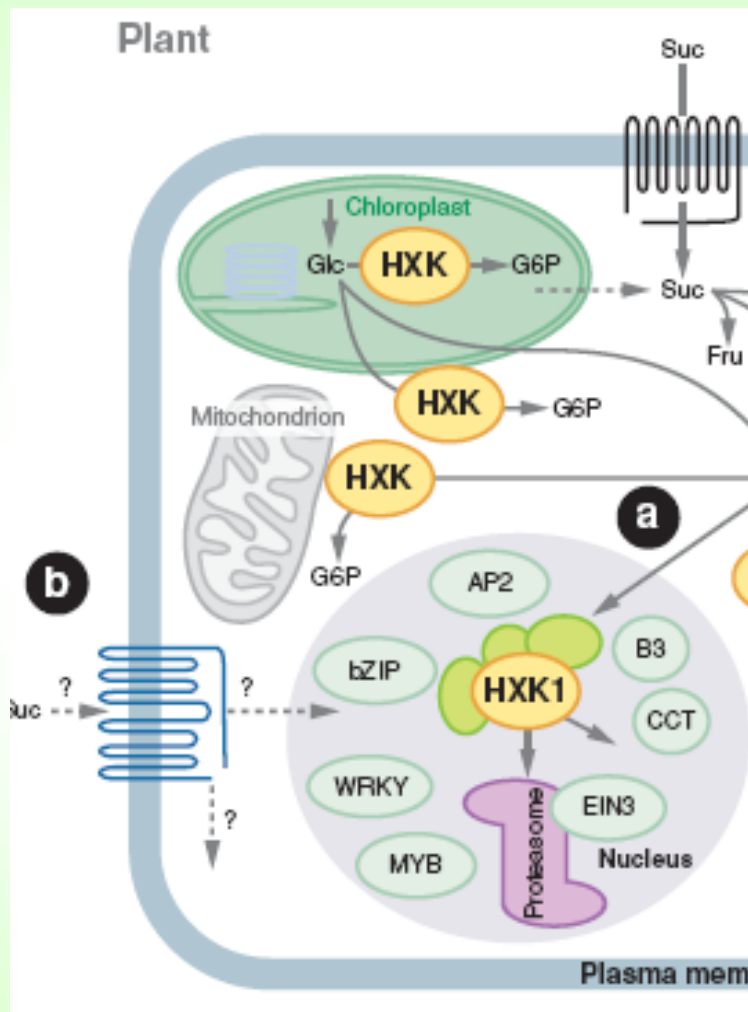
# Hypothetisches Modell des Sugar-Sensings in *Arabidopsis*

## a) Hexokinase ist Teil eines Transkriptionskomplexes



# Hypothetisches Modell des Sugar-Sensings in *Arabidopsis*

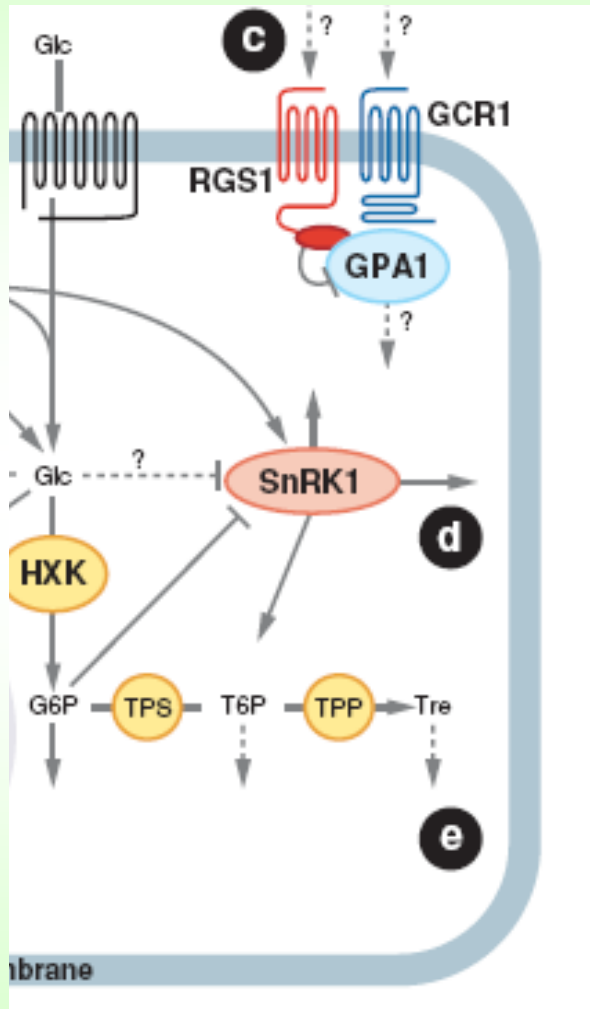
## b) Hexokinase-unabhängige Sensierung über Transporter



- Zuckertransporter sollen als weitere Sensoren dienen
- Externe Saccharose wird über ein Transporter-ähnliches Molekül sensiert
- Monosaccharide evtl. auch so sensiert
- Diese Proteine haben keine Transportaktivität
- Haben eine verlängerte cytoplasm. Domäne, die auch bei verwandten Hefeproteine auftritt

# Hypothetisches Modell des Sugar-Sensings in *Arabidopsis*

c) G-Protein-abhängiger Weg und d) SnRKs d) Trehalose-6-P



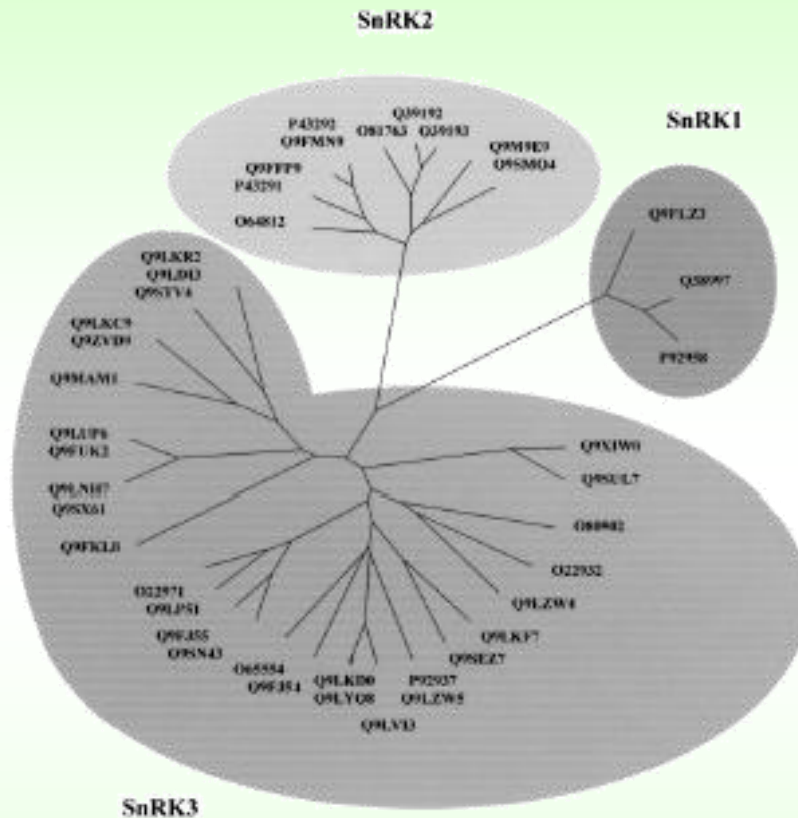
c) G-Protein-abhängige Zuckersensierung bei der Samenkeimung und –entwicklung

d) SnRK1 u.a. messen Zuckerstatus der Zelle, insbesondere bei Mangelsituationen

e) Trehalose-6-Phosphat ist wichtiger Regulator, der wahrscheinlich insbesondere auf Stärkesynthese einwirkt, mehr als 10 Tre-Synthesepoteine!

# SnF1 „non-sucrose-fermenting related“ - Kinasen sind an der Signaltransduktion im Kohlenhydratstoffwechsel beteiligt

488 Halford et al.

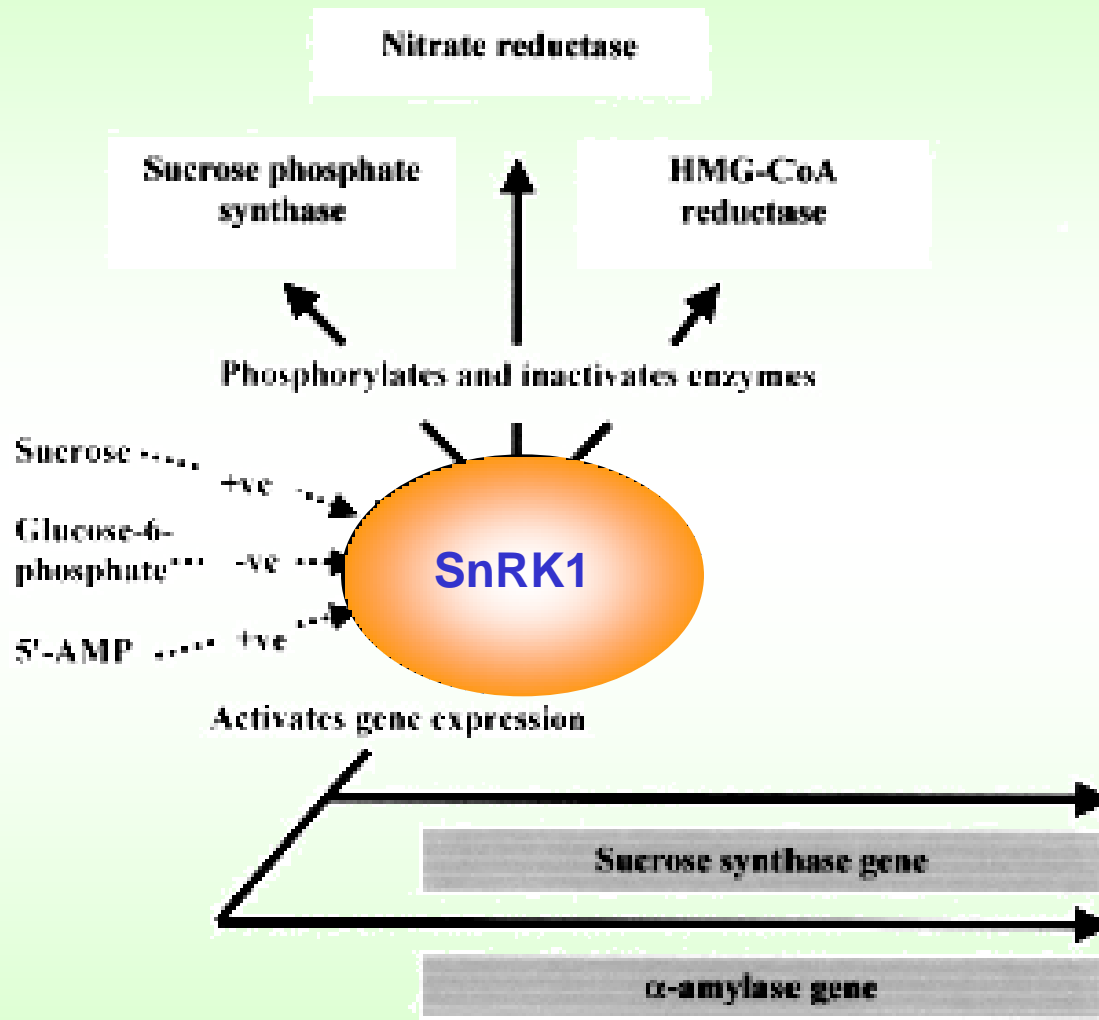


Diese Kinasen aus *Arabidopsis* sind den AMPK (AMP activated protein kinases) homolog und gehören zur Kinasesuperfamilie der CDPK's, die die pflanzlichen Calmodulin-like-domain Proteinkinasen enthalten.

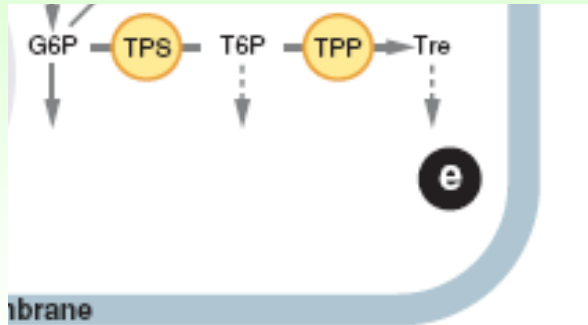
SnRK2 spielt eine Rolle bei der ABA-Signaltransduktion!

Diese Kinasen werden bei geringen Glukosekonzentrationen aktiviert und führen zum Anschalten von Genen, die bei hohen Glukosekonzentrationen unterdrückt sind.

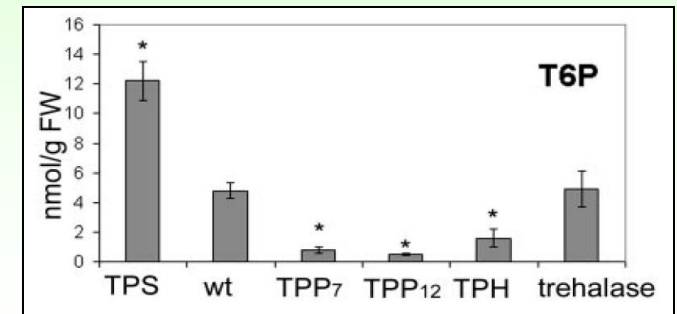
# Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels durch SnRKs



## e) Trehalose-6-Phosphat ist für phänotypische Veränderungen verantwortlich



Schluepmann et al. 2003, *PNAS*



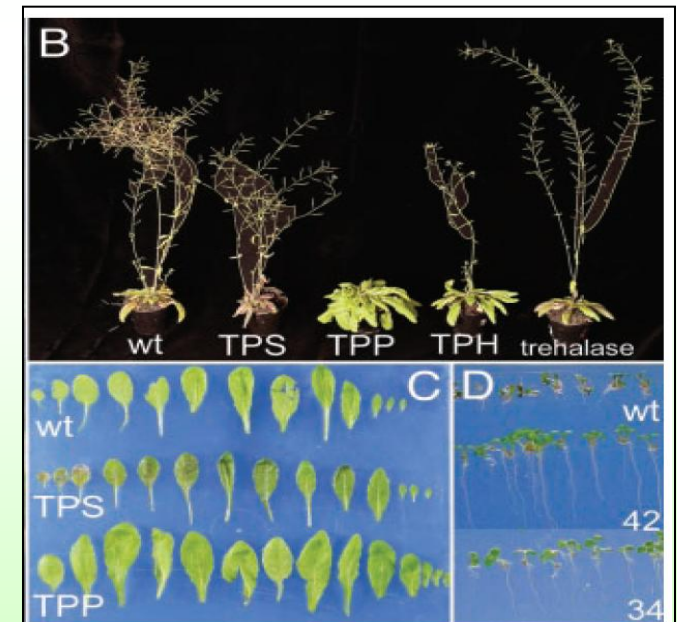
- transgene *Arabidopsis*-Pflanzen mit unterschiedlichen T-6-P-Gehalten

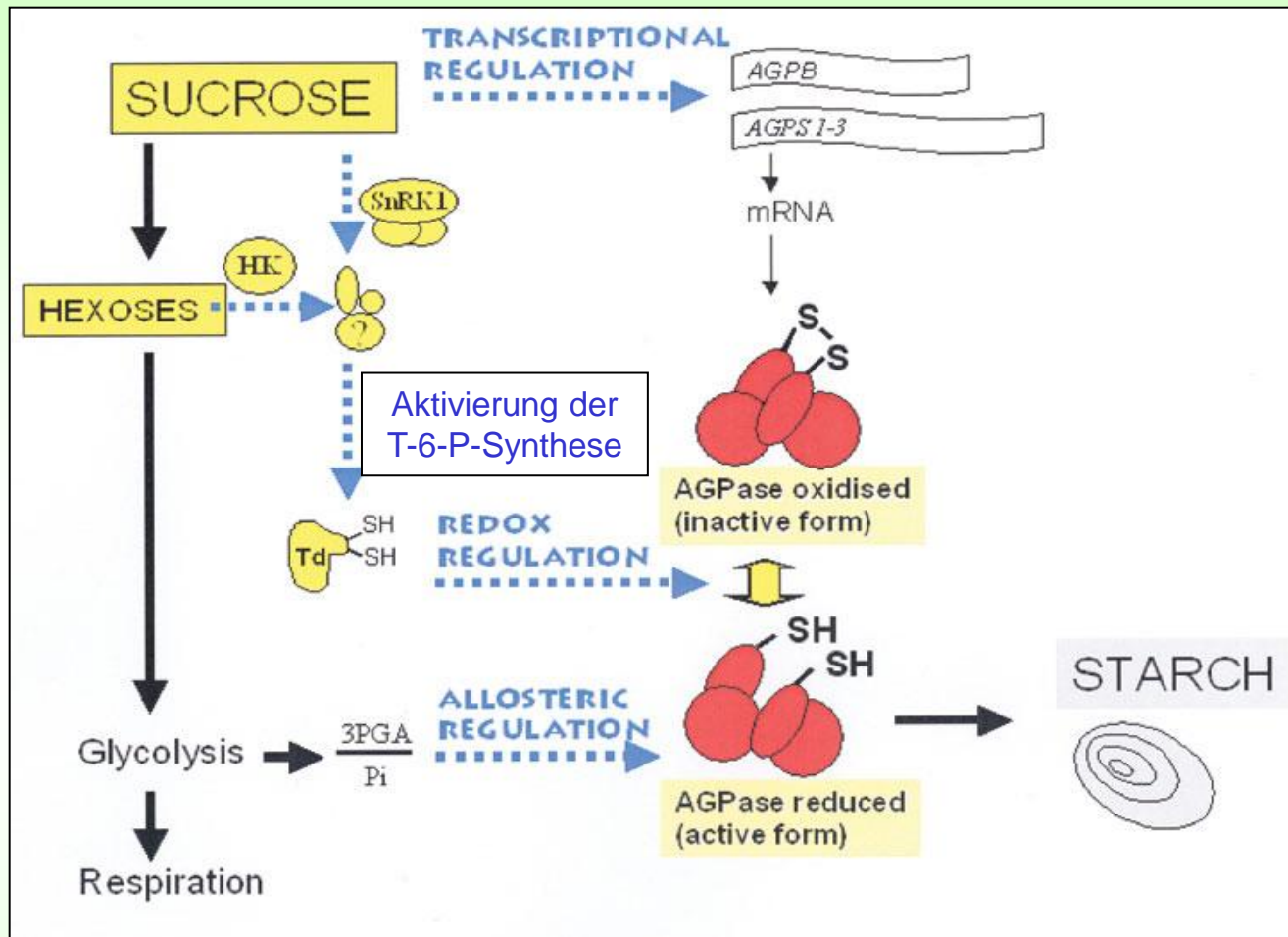
T-6-P hoch:

- kleine Blätter, dunkelgrün, buschig, wenig Samen

T-6-P niedrig:

- langsames Wachstum, starke Apikaldominanz, Samen reichlich

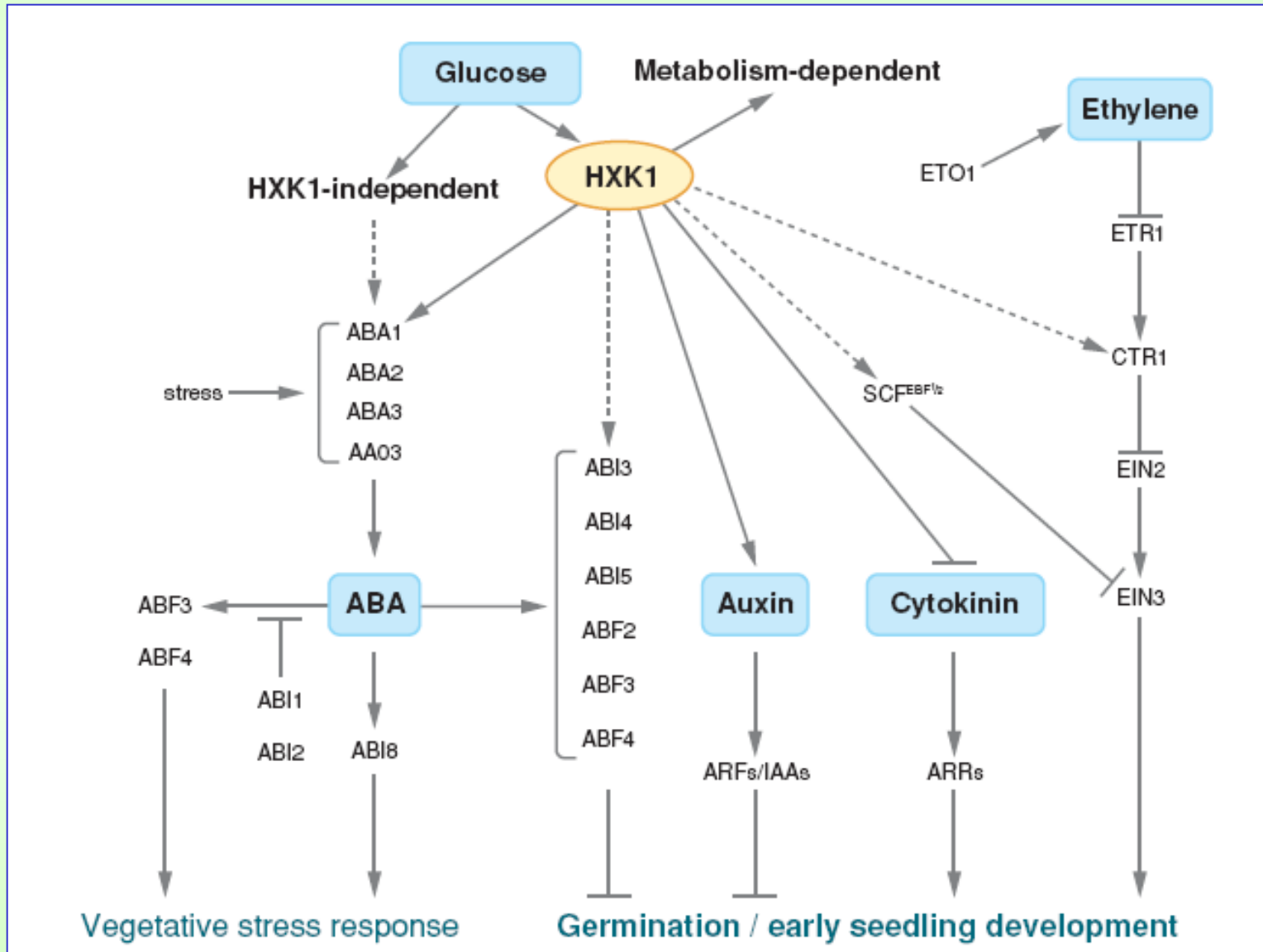




- T-6-P vermittelt post-translationale Redox-Aktivierung der AGPase als Antwort auf Saccharose
- T-6-P wird im Cytosol synthetisiert und wirkt vermutlich als Reporter für den Metabolitstatus zwischen Cytosol und Chloroplast

# Hypothetisches Modell des Sugar-Sensings in *Arabidopsis*

## Zucker-Signale beeinflussen alle Hormonsignalwege!



# Der pflanzliche Kohlenhydratstoffwechsel unterliegt einer strikten Regulation

## Regulationsebenen

### Signalaufnahme und Transduktion

Kohlenhydrat-Sensoren: Hexokinasen, Proteinkinasen SnRK-1, Transporter

### Regulation der Genexpression

Licht und Zucker vermittelte (Glukose, Saccharose) Aktivierung und Repression von Genen der Photosynthese und des KH-Metabolismus

### Allosterische Regulation

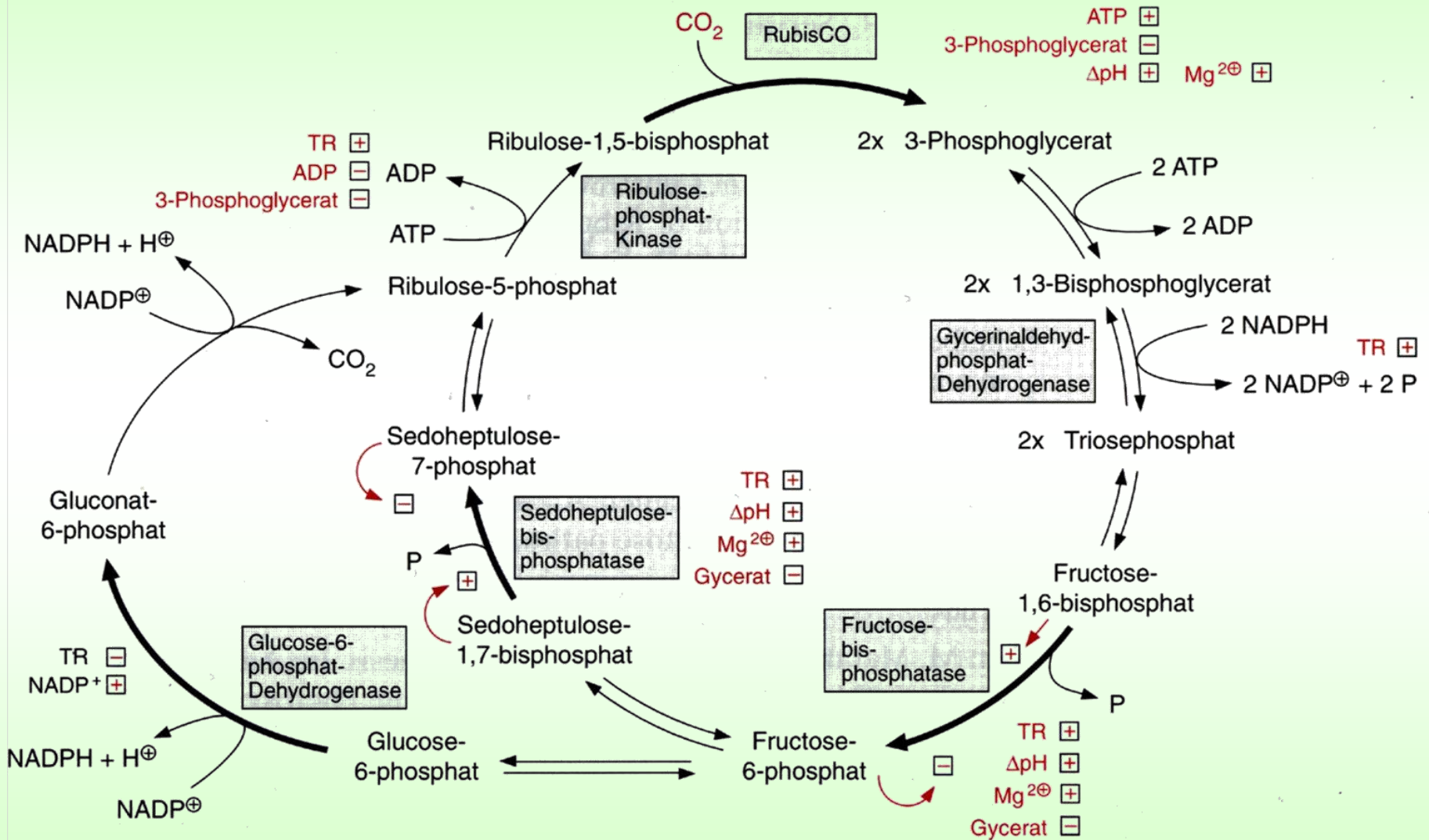
Regulation von Enzymaktivitäten durch Metabolite des KH-Stoffwechsels, feed back Regulation

durch das Ferredoxin-Thioredoxin System wird der Redox-Status dieser Enzyme beeinflusst

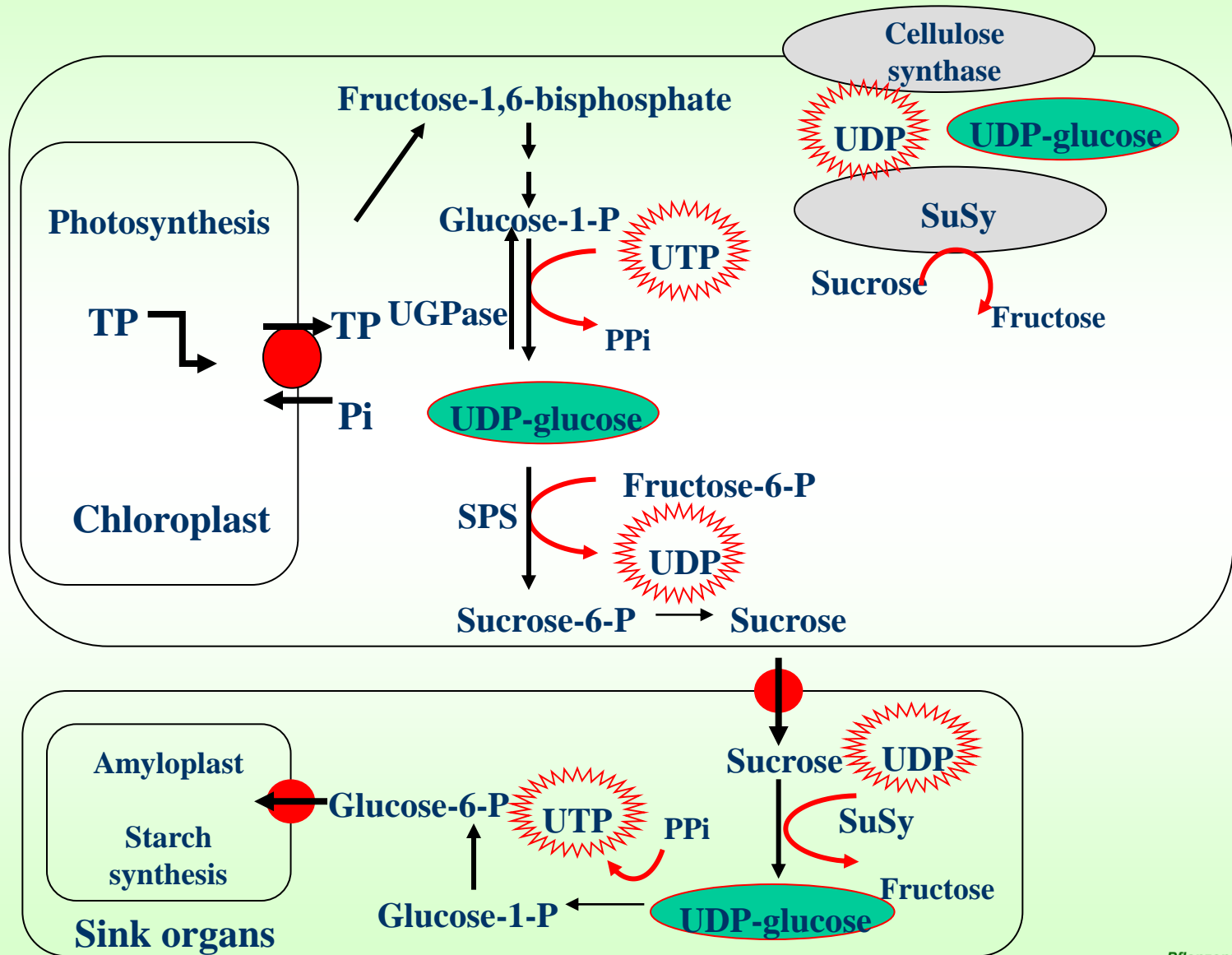
durch das Verhältnis an verfügbarem Phosphat und Stickstoff

durch  $\text{CO}_2$ , pH und  $\text{Mg}^{2+}$  Ionenkonzentration

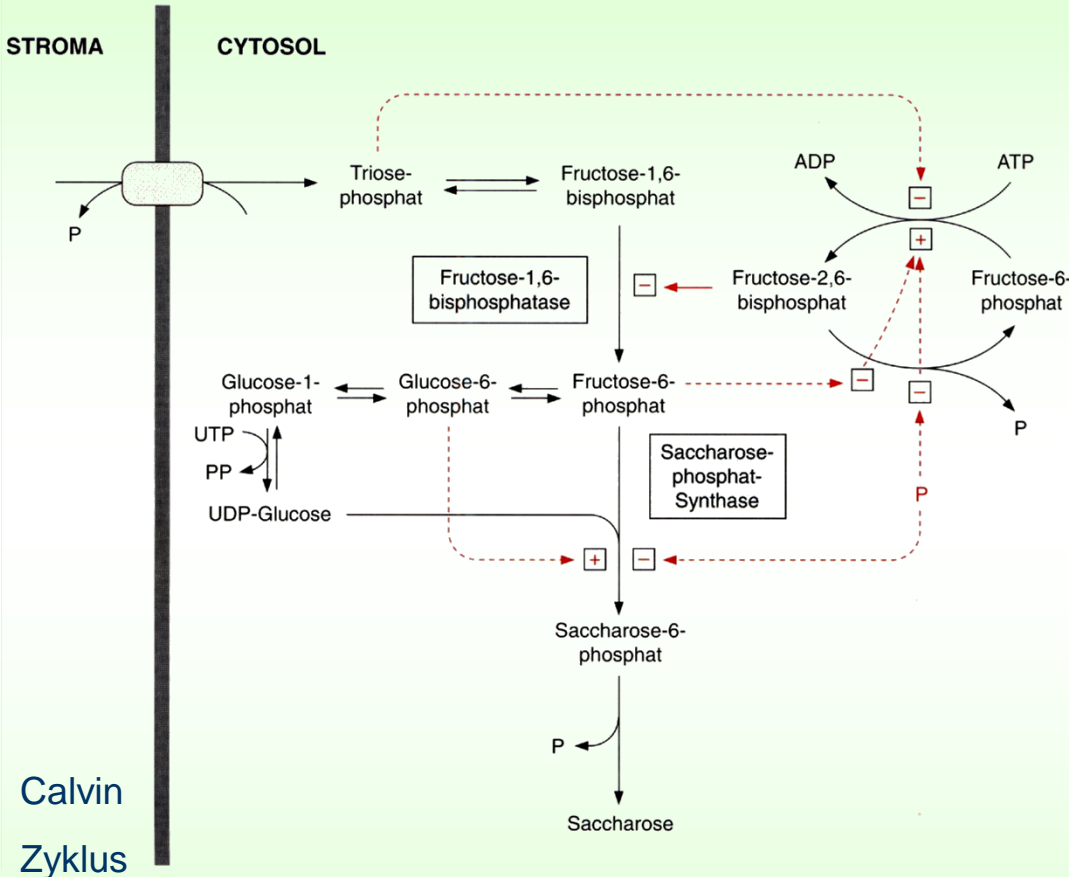
# Regulation des Calvin-Benson-Zyklus - Zusammenfassung



# Triosephosphat wird im Cytosol zu Saccharose umgesetzt



# Allosterische Regulation der Saccharosesynthese



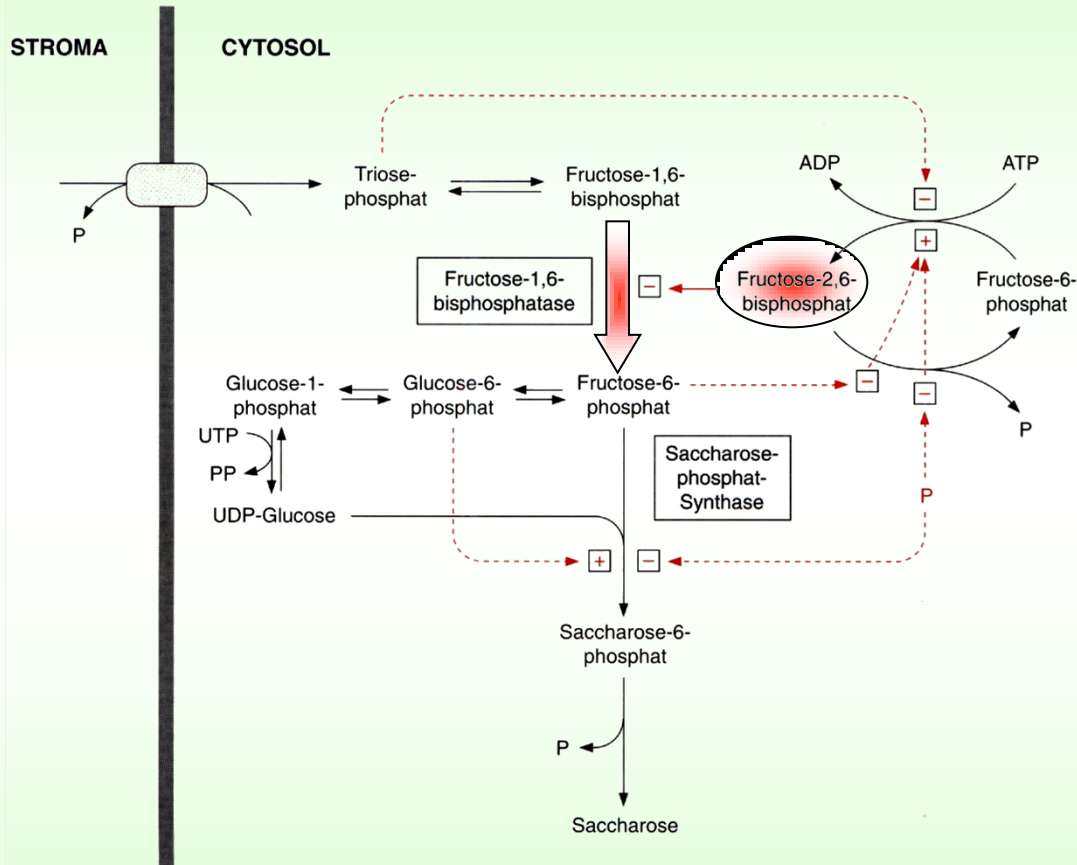
Im Calvin Zyklus werden 5/6 des Triosephosphats für die Generation von Ribulose-bisphosphat benötigt. 1/6 kann durch den TPI ins Cytosol transportiert werden.

Bei Mehrentnahme könnte der  $\text{CO}_2$ -Akzeptor nicht mehr regeneriert werden.

Aufgrund von „feed back“ Regulation der Photosynthese, würde ein Anstau von Triosephosphat die Photosynthese hemmen. Weiterhin muss das Phosphat im Genaustausch in den Chloroplasten gelangen, um die Photosynthese ablaufen zu lassen. Phosphat-Mangel hemmt die Photosynthese.

**Zuckersynthese durch Photosynthese im Chloroplasten und Zuckerverwendung im Zytoplasma sind präzise aufeinander abgestimmt!**

# Fruc-2,6-bisphosphat reguliert Saccharosesynthese



Fruktose-1,6-Bisphosphatase

Regulationsventil für  
Saccharose Synthese

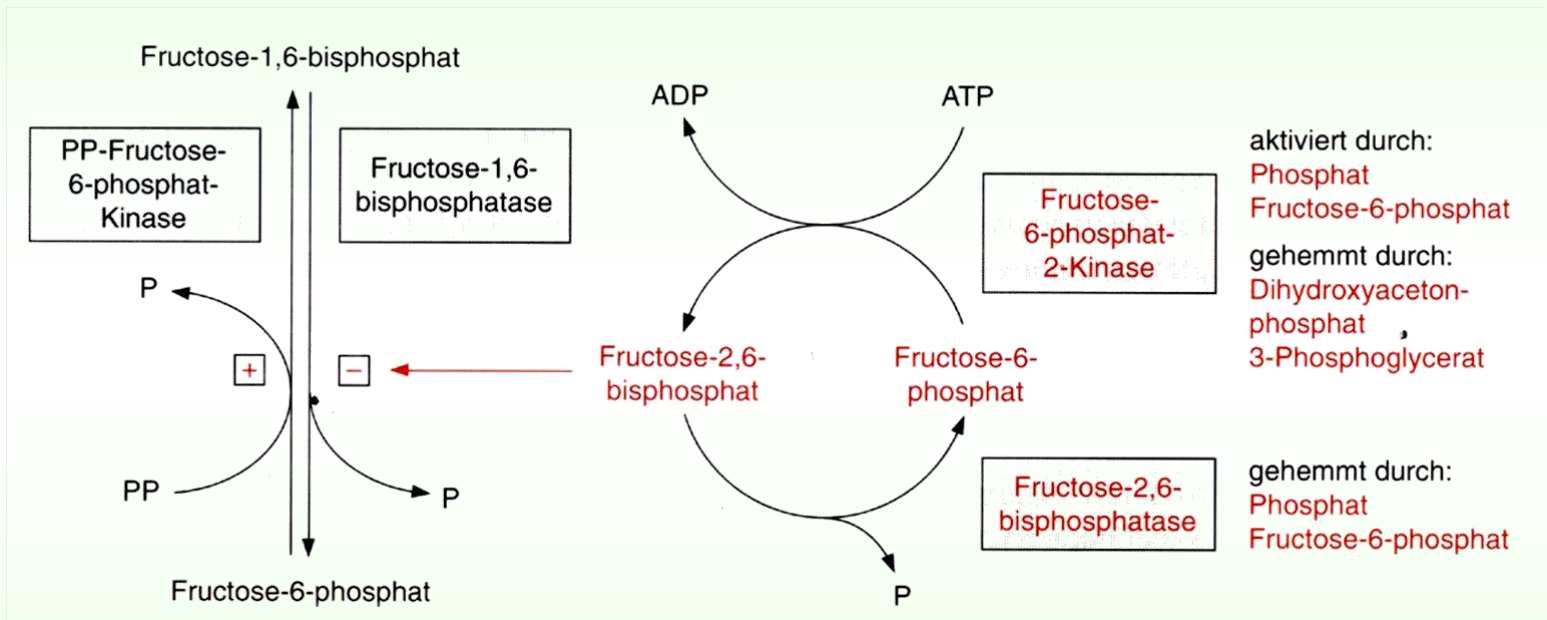
Irreversible Reaktion

Regulator Fruktose-2,6-  
bisphosphat

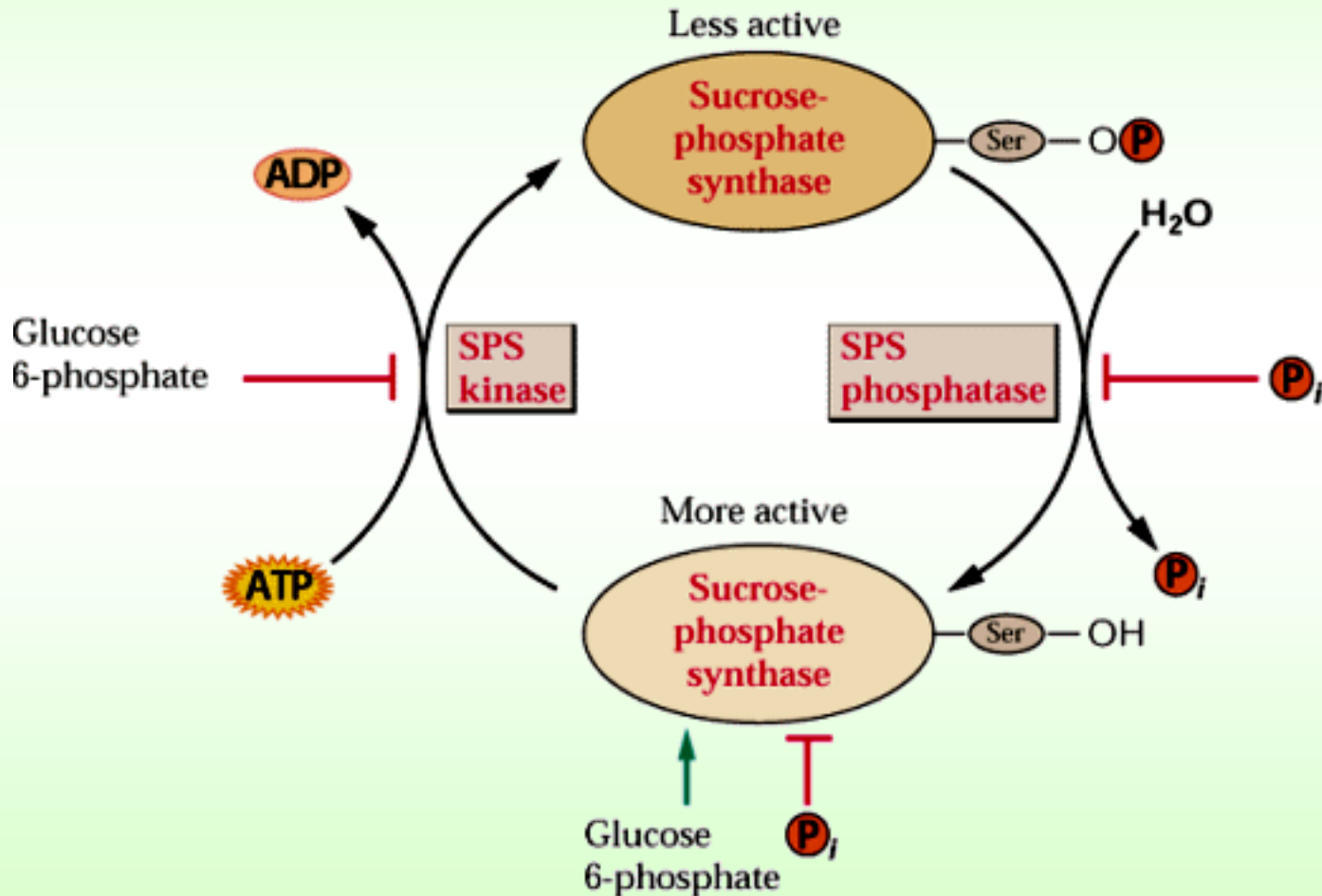
Inhibitor der Fruktose-1,6-  
bisphosphatase

Aktivator der PP-abhängigen  
Fruktose-6-P-Kinase

# Fruc-2,6-bisphosphat reguliert Saccharosesynthese

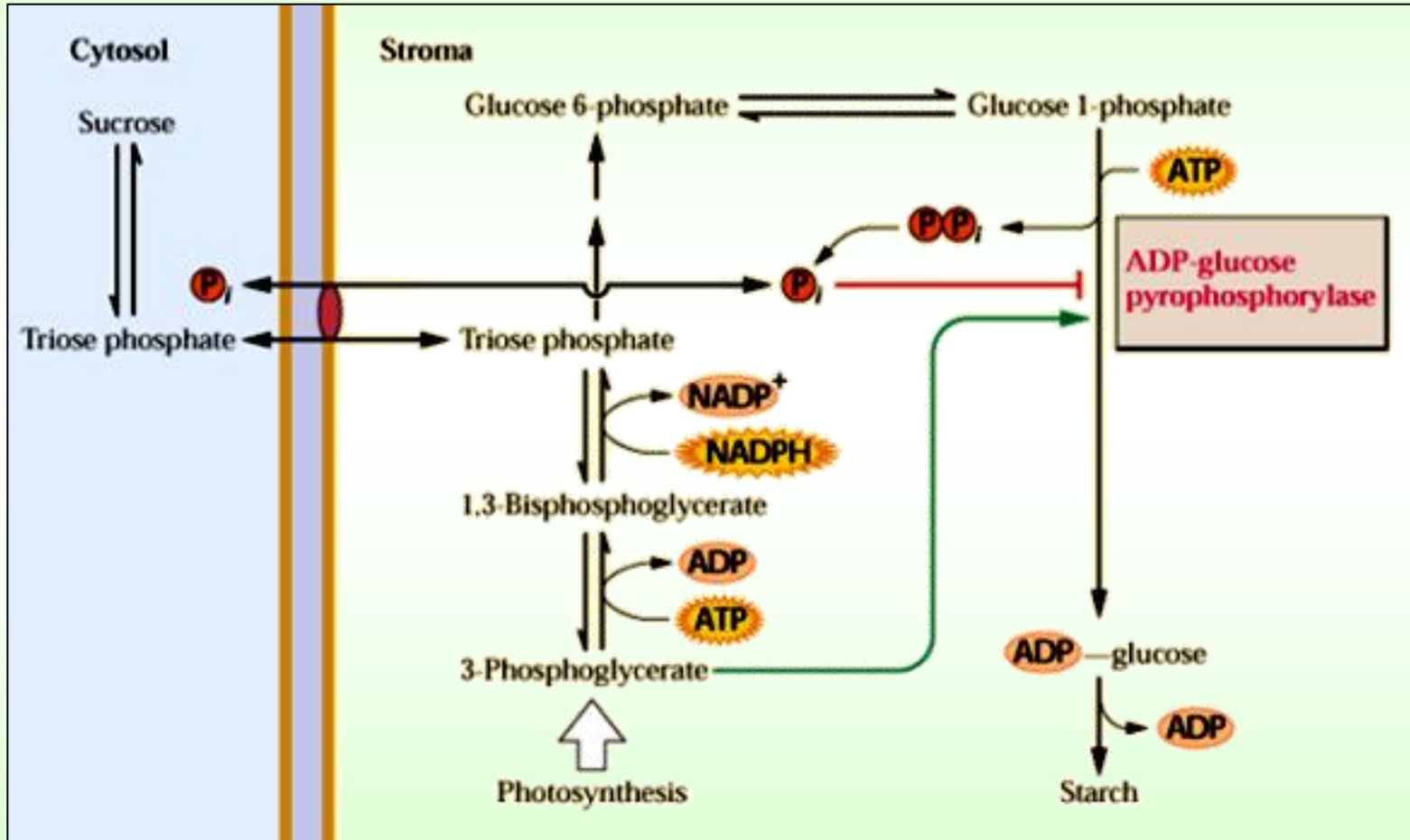


# Regulation der Saccharosesynthese durch Phosphorylierung der SPS, komplementäre Regulation der Nitratreduktase!



# Allosterische Regulation der Stärke-Synthese

## ADP-Glucose-Pyrophosphorylase ist Haupttarget!



Chloroplast