

综述 Reviews

质体反向信号研究进展

徐秀美, 迟伟, 张立新*

中国科学院植物研究所光生物学重点实验室光合作用研究中心, 北京100093

摘要: 细胞内由叶绿体向细胞核发送的信号被称作质体反向信号。它可以协调细胞核与叶绿体编码的基因表达, 促进叶绿体发育, 并且参与调控植物多种生长发育过程。近年来已经鉴定出一些参与质体反向过程的信号及其转导的组分, 为研究质体反向信号的调控网络提供了新视角。本文回顾了质体反向信号的研究历史, 并对质体反向信号转导途径及其参与调节生长发育进程等方面的最新进展进行概述。

关键词: 叶绿体; 质体反向信号; GUN1-PTM-ABI4信号通路

叶绿体是植物所特有的半自主细胞器, 它不仅是植物进行光合作用为生命提供碳水化合物和能量的场所, 还参与合成氨基酸、脂肪酸、维生素、四吡咯等生长发育所必需的化合物(Neuhaus和Emes 2000)。因此, 叶绿体的发育和功能状态对于植物生命活动极其重要。高等植物的叶绿体被认为是十几亿年前蓝藻被真核细胞吞噬后经内共生演化而来。在此过程中, 叶绿体自身的大部分基因丢失或者转移到宿主细胞核基因组中, 叶绿体中只保留100个左右的蛋白由叶绿体自身基因组编码, 其余近3 000个蛋白由细胞核基因组编码, 在细胞质中进行翻译后通过叶绿体内、外被膜蛋白转运系统进入叶绿体发挥功能(Dyall等2004; Leister 2003; Martin等1998)。因此, 协调核基因组和叶绿体基因组表达对于叶绿体发育以及功能维持至关重要。

细胞核和叶绿体之间存在双向的信号交流, 其中以细胞核基因产物对叶绿体基因表达调控为主, 包括对叶绿体基因进行转录、翻译、蛋白转运、组装等多种水平的调控, 这种细胞核对叶绿体基因的表达调控途径被称作正向信号(anterograde signaling)通路。另一方面, 叶绿体也可以将自身的生长发育状态反馈给细胞核并调节细胞核编码的定位于叶绿体的基因表达, 这种信号传递过程被称为质体反向信号(plastid retrograde signaling)通路(Woodson和Chory 2008; Pesaresi等2006; Beck 2005)。质体反向信号可以协调细胞核与叶绿体编码的基因表达, 促进叶绿体发育, 并且调控植物多种生长发育过程, 包括光形态建成、叶片发育等。本文综述了质体反向信号研究历史、质体反

向信号转导途径及其参与的生长发育进程等最新研究进展。

1 质体反向信号研究历史

质体反向信号调控细胞核基因表达最初是在研究大麦(*Hordeum vulgare*)突变体*albostrians*和*askatoon*时发现的。*albostrians*和*askatoon*突变体中类胡萝卜素的累积受到抑制, 植株呈现完全或者部分白化的表型, 其中白化的叶片中有未分化的质体, 这些质体因为缺少叶绿素而不能进行光合作用。有意思的是, 这两个突变体中细胞核基因编码的蛋白如Lhcb、RbcS以及卡尔文循环(Calvin cycle)中的酶的表达量也显著下调, 表明未发育成熟的质体会向细胞核发送信号以调控细胞核编码的光合基因的表达, 这是质体反向信号概念的首次提出(Bradbeer等1979)。

以类胡萝卜素合成缺陷的突变体为研究对象, 进一步研究发现叶绿体功能受损的突变体中一些细胞核编码的光合基因表达量明显下降(Oelmüller 1989; Mayfield和Taylor 1984)。当用norflurazon处理阻断植物类胡萝卜素合成时, 细胞核编码的光合基因Lhcb和RbcS的表达量都受到抑制(Oelmüller等1986; Oelmüller和Mohr 1986)。除此以外, 用氯霉素(chloramphenicol)、林可霉素(lincomycin)或者红霉素(erythromycin)抑制叶绿体基因表达后同样会抑制细胞核编码的定位于叶绿体的基因的表达量, 而对定位细胞质的基因的表达量则没有影响(Sullivan和Gray 1999; Hess等1994)。此后的研究

收稿 2016-09-08 修定 2016-10-28

资助 国家重点基础研究发展规划项目(2015CB150100)。

* 通讯作者(E-mail: zhanglixin@ibcas.ac.cn)。

表明叶绿体中光合电子传递链的氧化还原状态也会调控细胞核编码的光合基因以及胁迫响应基因的表达(Pfannschmidt等2003; Escoubas等1995)。

为了进一步阐释质体反向信号的分子机制, 上世纪90年代初, Susek等(1993)利用*Lhcbpro-GUS*报告基因筛选得到了9株表型明显的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)质体反向信号突变体。在叶绿体受到胁迫时, 这些突变体中细胞核编码的光合基因的表达量依然维持在较高的水平, 即叶绿体和细胞核基因组之间不能正常偶联, 因此称为基因组解偶联(*genomes uncoupled, gun*)突变体。基因克隆结果最终确定了5个非等位突变的*gun*突变体, 分别命名为*gun1~5*。Woodson等(2011)又在拟南芥突变体库中筛选到了一个功能获得型突变体, 命名为*gun6*。这些突变体的发现为研究质体信号的传递机制奠定了重要的基础。与此同时, 科学家们还利用其他的报告基因和筛选手段揭示了其他参与传递质体信号的组分, 并且在分子层面上阐释了质体信号的转导机制, 这些形式多样的信号转导途径之间相互交叉, 形成了复杂的胞内信号转导网络(Chi等2013)。

2 质体反向信号转导途径

质体反向信号途径根据其触发的来源不同可以分为以下几种: 质体代谢物质介导的信号途径、质体基因表达(plastid gene expression, PGE)介导的信号途径、叶绿体氧化还原状态介导的信号途径以及活性氧(reactive oxygen species, ROS)介导的信号途径。

2.1 质体代谢物质介导的信号途径

叶绿体的代谢状态可以通过代谢物作为信号分子调控细胞核基因的表达, 其中四吡咯代谢中间产物镁原卟啉IX (Mg-protoporphyrin IX, Mg-proto IX)是最早发现、也是研究得最多的质体反向信号分子。当用联吡啶(dipyridyl, DP)处理莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)时, Mg-proto IX大量累积, 光对*Lhcb*基因表达的诱导作用被抑制, 而施加抑制剂阻断Mg-proto IX合成的上游步骤时, 光对*Lhcb*的诱导作用不受影响(Jasper等1991; Johanningmeier和Howell 1984)。除此以外, 衣藻*brs-1*突变体由于缺少镁螯合酶H亚基而不能将proto IX转化为Mg-proto IX, 导致Mg-proto IX含量降低, 此时

光对细胞核编码的热激蛋白HSP70A和HSP70B的诱导作用受到抑制, 而体外施加Mg-proto IX可以提高HSP70A和HSP70B的表达量(von Gromoff等2008)。以上研究表明Mg-proto IX可以作为信号分子参与质体反向信号的传递。

在高等植物中, 通过对拟南芥*gun*突变体的研究, 发现了Mg-proto IX作为信号分子介导质体信号转导。*GUN2*和*GUN3*分别编码四吡咯代谢途径中血红素合成分支的血红素加氧酶和光敏色素生色团合成酶, 因此*GUN2*和*GUN3*缺失会造成血红素累积, 血红素负反向调节5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, ALA)的合成, 导致Mg-proto IX含量下降, 不能抑制细胞核编码的光合基因的表达, 从而出现*gun*表型(Nott等2006)。*GUN5*编码镁离子螯合酶的H亚基, 催化proto IX螯合镁离子后生成Mg-proto IX (Mochizuki等2001)。*GUN4*基因编码叶绿素合成的调控蛋白, 能够与镁离子螯合酶的底物proto IX结合从而激活该酶, 又可以与产物Mg-proto IX结合促进其转运到叶绿体被膜(Peter和Grimm 2009; Verdecia等2005; Larkin等2003)。总之, *GUN2~5*基因缺失都导致Mg-proto IX的累积受到影响, 从而削弱了叶绿体与细胞核之间的信息交流。然而, 另有两个独立的研究组对Mg-proto IX作为信号分子的假说提出了质疑和挑战, 他们的研究结果显示植物体内Mg-proto IX含量的变化与*Lhcb*等光合基因表达量的变化并不匹配(Mochizuki等2008; Moulin等2008)。因此, Mg-proto IX能否作为信号分子介导质体反向信号还存在较大争议, 需要进一步的研究确认。

最近报道的*gun6*突变体中亚铁螯合酶(ferrochelatase1, FC1)基因组成型过表达导致proto IX更多地向合成血红素(heme)的方向分流, heme增多会促进细胞核编码的光合基因的表达, 暗示heme可以作为质体信号分子上调细胞核基因表达(Woodson等2011)。与Mg-proto IX相比, heme作为质体信号分子似乎更加合理。首先, heme可以被转运出叶绿体, 而Mg-proto IX能否从叶绿体移出还不清楚; 其次, 与heme不同, Mg-proto IX过多累积在光下会产生对植物有毒害的ROS; 最后, 四吡咯代谢过程是受多因素调控的复杂过程, 四吡咯代谢中间产物作为质体反向信号分子还需要进一步研究。

最近研究表明甲基赤藻糖醇(methylerythritol cyclodiphosphate, MEcPP)作为信号分子介导质体反向信号途径。MEcPP是质体甲基赤藻糖醇磷酸盐途径中产生的类异戊二烯前体。*HDS*基因编码将MEcPP转化为HMBPP的酶,拟南芥*HDS*基因缺失突变体*ceh1* (constitutively expressing HPL)中MEcPP大量累积,导致细胞核中胁迫诱导基因*HPL* (hydroperoxide lyase)组成型表达,表明MEcPP可以作为质体反向信号分子调控细胞核编码的基因表达(Xiao等2012)。Walley等(2015)利用转录组和蛋白质组分析方法发现在MEcPP大量累积的*ceh1*突变体中参与未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)的关键基因的转录水平和蛋白水平均有提高。进一步研究发现,体外施加MEcPP可以直接激活UPR并诱导UPR基因*bZIP60*表达。此外,*ceh1*突变体对内质网胁迫诱导剂衣霉素(tunicamycin, Tm)不敏感,说明MEcPP大量累积会改变植物对内质网胁迫的抵抗能力。这一发现为揭示胁迫条件下MEcPP作为质体反向信号分子调控内质网蛋白折叠能力提供了新视角。

3'-磷酸腺苷-5'-磷酸(3'-phosphoadenosine 5'-phosphate, PAP)也被认为参与了质体反向信号途径。SAL1酶定位在叶绿体和线粒体,负责将PAP去磷酸化转化为腺苷-5'-单磷酸(adenosine 5'-monophosphate, AMP)。拟南芥*sall*突变体中PAP上调20多倍,高浓度的PAP抑制核糖核酸外切酶(exoribonucleases, XRNs)活性,从而诱导高光 and 干旱响应基因*APX2*、*ZAT10*、*DREB2A*、*ELIP2*等表达。在*sall*突变体的细胞核或者叶绿体中表达SAL1蛋白都会降低PAP水平以及*APX2*基因表达量,从而间接证明PAP可以在细胞核与叶绿体之间穿梭(Estavillo等2011)。因此,PAP被认为具有介导质体信号转导途径的作用。

叶绿体类胡萝卜素氧化产物 β -环柠檬醛(β -cyclocitral, β -CC)也被认为是一种胁迫信号分子调控细胞核中单线态氧($^1\text{O}_2$)响应基因的表达(Chi等2015)。类胡萝卜素是叶绿体中主要的 $^1\text{O}_2$ 淬灭剂,光胁迫会诱导类胡萝卜素氧化,生成不稳定的 β -CC。用较低水平的 β -CC处理拟南芥会影响很多细胞核基因的表达,其中80%是 $^1\text{O}_2$ 响应基因,说明 β -CC介导ROS信号通路。 β -CC是脂溶性分子,可

以穿透脂质膜,因此 β -CC很有可能作为质体信号分子介导质体反向信号通路(Ramel等2012)。 $^1\text{O}_2$ 激活ROS信号通路依赖于质体中的EXECUTER 1和2 (EX1/2)两个蛋白,然而, β -CC调控细胞核基因表达似乎不依赖于EX1/2蛋白介导的 $^1\text{O}_2$ 信号途径,因此, β -CC作为质体信号分子如何传递质体信号还需要进一步的研究(Lee等2007)。

2.2 质体基因表达介导的信号途径

当用lincomycin处理植物抑制质体基因表达时,多种细胞核基因编码的光合基因表达也受到相应的抑制,这一现象表明质体基因表达可以作为质体反向信号协调质体与细胞核基因的表达(Rapp和Mullet 1991)。叶绿体和线粒体中缺乏脯氨酰-tRNA合成酶的*prors1* (*prolyl-tRNA synthetase1*)突变体中细胞核编码的光合基因的表达也受到了抑制。这种对核编码的光合基因的抑制现象在拟南芥*prpl11* (缺乏叶绿体核糖体L11蛋白)和*mrpl11* (缺乏线粒体核糖体L11蛋白)中并不存在,而在*prpl11 mrpl11*双突变体中存在,表明当自身蛋白合成受阻时,叶绿体和线粒体都会向细胞核发送反向信号,两者共同完成对核基因表达的调控(Pesaresi等2006)。

研究表明质体基因表达与质体内氧化还原状态有关。定位于质体的PRIN2转录激活蛋白能够促进被质体编码RNA聚合酶启动的质体基因转录,该基因突变后拟南芥对质体氧化还原状态不敏感(Arsova等2010; Chateigner-Boutin等2008)。*prin2*突变体中较低的质体基因表达水平可能会破坏正向调节信号或者诱导产生负向调节信号从而抑制核编码的质体蛋白的表达(Kindgren等2012)。

SIGMA因子是由细胞核基因编码的定位在叶绿体并参与叶绿体基因转录的蛋白。近期的研究发现叶绿体中的SIGMA因子也参与了质体基因表达介导的质体信号通路。*sig2*和*sig6*突变体中细胞核编码的光合基因表达受到抑制,血红素介导的四吡咯信号通路可以部分弥补由SIG2缺失导致的细胞核编码的光合基因下调的现象(Woodson等2012),表明质体基因表达介导的质体信号通路可能与四吡咯代谢产物介导的质体信号通路存在交叉。

2.3 叶绿体氧化还原状态介导的信号途径

叶绿体光合电子传递链中的质体醌(plastoqui-

none, PQ)库、光系统I (photosystem I, PSI)受体侧电子载体以及硫氧还蛋白系统都可以产生氧化还原信号调控细胞核基因的表达。氧化还原状态对细胞核基因的调控被认为是一种适应性过程, 可以使细胞核基因的表达适应外界条件的改变, 从而避免光损伤, 提高光合效率(Kindgren等2012)。很多核基因的表达受控于叶绿体的氧化还原信号, 但是不同的基因被不同来源的氧化还原信号调控。比如*petE*、*Lhcb*和*apx*基因受PQ库调控(Pfannschmidt等2003; Sherameti等2002; Karpinski等1997; Escoubas等1995), 而*psaD*和*psaF*基因受PSI受体侧电子载体复合物调控(Xiao等2012; Estavillo等2011)。当植物由低光转向高光或者由高光转向低光时, PSII和PSI的电子吸收发生变化, 导致光合电子传递链上的所有组分的氧化还原平衡被打破, 其中PQ库氧化还原状态的改变会触发质体信号调节*PhANGs*的表达, 从而调节叶绿体自身的状态以适应外界环境的变化(Pfannschmidt 2003, 2010)。STN7是一种定位叶绿体的丝氨酸/苏氨酸类蛋白激酶, 可以磷酸化捕光复合物II (light-harvesting complex II, LHCII), 进而调节状态转换过程(Bellafiore等2005)。在植物长期适应的过程中, *stn7*突变体中细胞核编码的光合基因表达与野生型相比有明显差异, 说明STN7在氧化还原状态介导的质体信号通路中发挥重要作用(Pesaresi等2009)。

2.4 ROS介导的信号途径

叶绿体是植物产生ROS的主要细胞器。叶绿体在胁迫环境下产生的ROS包括 $^1\text{O}_2$ 、超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)和羟自由基($\cdot\text{OH}$)等, 其中 H_2O_2 可以作为信号分子参与植物在高光胁迫条件下的质体反向信号途径(Fernández和Strand 2008)。当植物遭受高光照射时, 叶绿体会产生大量的 H_2O_2 , H_2O_2 可以穿过叶绿体的内外被膜系统进入细胞质, 或者被叶绿体内的抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)转化为 H_2O (Maruta等2010, 2012)。研究发现高光和 H_2O_2 处理都会诱导*APX2*基因大量表达, 而施加过氧化氢酶则能消除这种诱导效果, 表明 H_2O_2 可能作为质体反向信号分子调节细胞核基因的表达。

大量研究表明 $^1\text{O}_2$ 也参与介导质体反向信号途径。FLU是叶绿素合成的调控蛋白, 结合Glu-tRNA

还原酶(Glu-tRNA reductase, GluTR)并抑制其活性。*FLU*基因缺失后导致叶绿素合成途径的中间产物原叶绿素酸酯(protochlorophyllide, Pchlde)过量累积(Meskauskiene等2001)。因此当把*flu*突变体从黑暗条件转到光下时, Pchlde不能被转化成叶绿素酸酯而产生大量的 $^1\text{O}_2$, 进而诱导一系列细胞核编码的胁迫相关基因的表达。在筛选*flu*突变体抑制子时得到了两个可以抑制 $^1\text{O}_2$ 信号转导的关键因子EX1和EX2。在*ex1/ex2/flu*三突变体中由*FLU*突变导致的 $^1\text{O}_2$ 诱导的基因表达几乎完全被抑制, 但是EX1和EX2参与 $^1\text{O}_2$ 信号通路的具体分子机制目前还不清楚(Lee等2007; Wagner等2004)。

研究人员以 $^1\text{O}_2$ 响应基因*AAA-ATPase*作为报告基因筛选得到了参与 $^1\text{O}_2$ 信号途径的*PLEIOTROPIC RESPONSE LOCUS 1 (PRL1)*基因。*PRL1*编码一个细胞核定位的蛋白, 缺失后导致 $^1\text{O}_2$ 诱导的胁迫相关基因大量表达, 表明*PRL1*在 $^1\text{O}_2$ 信号途径中发挥负调控作用(Baruah等2009)。此外, Fisher等(2012)在衣藻中发现bZIP类转录因子SINGLETON OXYGENRESISTANT 1 (SOR1)也参与 $^1\text{O}_2$ 介导的质体反向信号转导。

3 GUN1-PTM-ABI4整合多条质体信号通路

以上所介绍的这些信号通路不是完全独立的, 而是共用一些信号转导因子协同发挥功能。研究发现*gun1*突变体对norflurazon和lincomycin处理都不敏感, 表明*GUN1*可能同时参与四吡咯代谢通路和质体基因表达通路(Mochizuki等2001)。全基因组水平的芯片数据显示*gun1 gun4*和*gun1 gun5*双突变体比*gun1*、*gun4*和*gun5*单突变体具有更强烈的*gun*表型, 表明*GUN1*与*GUN4*、*GUN5*不属于同一条信号通路, 即*GUN1*独立于四吡咯代谢物介导的质体信号途径(Strand等2003)。Koussevitzky等(2007)的研究表明更严重的*gun1*突变体在质体基因表达、四吡咯代谢和光合电子传递链介导的质体信号反应中均不同于野生型, 并且*gun1*与*gun5*突变体在norflurazon处理条件下的全基因组表达谱非常相似, 表明*GUN1*同时参与多条质体反向信号通路。*GUN1*蛋白定位在叶绿体拟核区, 具有PPR和SMR结构域, 其中PPR结构域参与叶绿体和线粒体中RNA的剪切和编辑, SMR结构域则与DNA修复和重组有关。研究发现*GUN1*和pTAC2 (一种SMR

蛋白, 转录激活复合物的组成部分)在叶绿体中共表达, 说明GUN1可能作为SMR蛋白发挥功能。对*gun1*突变体中表达异常的329个基因的启动子区域进行分析, 发现这些基因的启动子都包含一个或者多个保守的G-BOX序列元件, 而该元件可以被一个AP2类转录因子ABI4结合。分子生物学和遗传学实验结果表明ABI4位于GUN1下游, GUN1整合多种质体反向信号以后传递给细胞核中的ABI4, ABI4结合细胞核编码的光合基因的启动子并抑制其表达(Koussevitzky等2007)。

然而GUN1和ABI4分别定位在叶绿体和细胞核内, GUN1将质体信号传递给ABI4需要经过细胞质, 因此, 可以由叶绿体进入细胞质并最终到达细胞核的中间因子成为潜在的质体信号携带者。Sun等(2011)发现了一个定位在叶绿体外被膜上的PHD类转录因子PTM。PTM缺失的突变体与*gun1*以及*abi4*突变体类似, 对多条反向信号都响应异常; 而*ptmgun1*和*ptmabi4*双突变体的表型与*gun1*、*ptm*和*abi4*单突变体相比都没有加剧, 表明PTM与GUN1、ABI4位于同一条遗传通路中。PTM蛋白由1706个氨基酸组成, N端含有DDT和PHD结构域, C端含有4个跨膜区, 将蛋白锚定在叶绿体外被膜上。当受到高光、lincomycin或norflurazon处理时, PTM的N端蛋白在细胞核中大量累积, 表明PTM响应质体信号后发生剪切, PTM-N蛋白把来自质体的信号释放到细胞核中。胁迫条件下*gun1*突变体中PTM-N蛋白在细胞核中的累积不如野生型明显, 而PTM过表达能够弥补*gun1*突变体的这一缺陷表型, 说明GUN1对PTM发挥功能非常重要。*ptm*突变体中ABI4的表达量明显降低, 胁迫条件下PTM-N蛋白在细胞核中的累积明显促进了ABI4基因表达。PTM-N端的PHD区域可以结合ABI4启动子, 通过组蛋白修饰的方式促进ABI4基因表达, ABI4继而调控核基因编码的光合基因的表达(Sun等2011)。因此, 这些研究为揭示质体信号如何从叶绿体传递到细胞核进而调控叶绿体发育提供了重要的实验支撑。

虽然发现响应质体信号的ABI4抑制光合基因的表达, 但我们实验室的最近结果表明过表达ABI4在正常生长条件下并不能抑制光合基因*Lhcb*的转录, 说明在质体反向信号通路中ABI4需要某

种翻译后修饰才能被激活。Guo等(2016)发现质体信号的触发会引起MPK3/MPK6激活, MPK3/MPK6将ABI4磷酸化, 从而增强了ABI4结合下游DNA的能力。进一步研究表明, MPK3/MPK6激活后瞬间提高了细胞质中的钙离子浓度, 这个过程依赖于类囊体膜定位蛋白CAS。CAS正向调控细胞内钙震荡, 进而促进下游的MPK3/MPK6的激活来参与质体信号。与哺乳动物中的MAPK信号转导通路类似, 拟南芥钙结合蛋白14-3-3 ω 可特异地与MKK4/MKK5-MPK3/MPK6互作从而充当MAPK信号通路的支架蛋白。质体信号触发的胞内钙离子增加可以诱导14-3-3 ω 和MAPK通路的MKK4/MKK5-MPK3/MPK6模块的互作, 促进了MPK3/MPK6的激活。MPK3/MPK6激活后将下游ABI4磷酸化, 增强了ABI4蛋白结合DNA并调控基因表达的能力, 从而对质体信号作出响应。

4 质体反向信号参与植物多种生长发育进程

质体信号的主要功能是通过调控细胞核中光合相关基因的表达维持叶绿体的发育以及光合功能的正常运行。除此以外, 质体反向信号也参与了植物多种生长发育进程, 包括植物光形态建成、开花和对温度胁迫的响应。

4.1 质体反向信号调控光形态建成

植物光形态建成是指植物在光下生长时所表现出的一系列形态和生理特征, 包括下胚轴伸长受到抑制、子叶张开、顶端弯钩消除、叶绿素累积、光合基因大量表达以及叶绿体发育成熟(Deng等2007)。这个过程主要受到光信号的控制, 然而近些年的研究表明质体反向信号可以影响光信号从而调控植物光形态建成。Mochizuki等(1996)发现质体信号突变体*gun1*在由黑暗转至光下的过程中, 叶绿素累积、光合基因表达以及叶绿体的发育速度滞后于野生型, 然而具体的分子机制还不清楚。拟南芥*cue*突变体在黑暗转到光下时, *Lhcb*基因表达受到严重抑制而导致叶绿体发育受阻, 同时*cue*突变体具有下胚轴短、子叶张开角度大等强烈的光形态建成表型, 说明质体信号与光形态建成之间存在联系(Vinti等2005)。此外, 定位于叶绿体的ATP结合盒蛋白LAF6缺失后, 远红光不能有效抑制*laf6*突变体下胚轴伸长, 这种表型被认为与*laf6*突变体中四吡咯代谢途径异常导致光

敏色素活性降低有关(Møller等2001)。

Ruckle等(2007)在筛选*gun*突变体时发现蓝光受体CRY1缺失的突变体具有*gun*表型,说明质体信号与光信号存在交互作用。当叶绿体发育受阻时,CRY1介导一条独立于GUN1的质体信号通路,通过改变转录因子HY5的功能来调节光合基因的表达。此外,质体信号还可以通过GUN1和CRY1共同调控下胚轴伸长和子叶张开,但是具体的分子机制并不清楚(Ruckle和Larkin 2009)。

Xu等(2016)的研究结果表明质体信号突变体*gun1*、*ptm*和*abi4*都具有下胚轴短以及转绿延迟的表型。分子生物学、生物化学以及遗传学的证据表明质体信号与光信号通过ABI4与HY5形成一对激活-抑制转录模块来调控植物光形态建成。ABI4-HY5转录模块精细调控*EXP*、*XTH*等细胞伸长相关基因表达,从而拮抗调控下胚轴伸长。同时,ABI4-HY5转录模块还调控*COP1*表达,避免植物在转绿过程中产生过多的ROS,从而促进幼苗转绿。反过来,COP1参与了对ABI4-HY5转录模块的调控。黑暗条件下COP1降解HY5,见光后降解ABI4,使ABI4-HY5转录模块根据环境改变调整自身活性,从而保证植物顺利地由暗形态建成转变为光形态建成。

4.2 质体反向信号调控开花

上世纪70年代,科学家发现高光可以促进矮牵牛和浮萍植物提前开花,用阻断光合电子传递链的抑制剂对植物进行处理也可以改变植物的开花时间,比如使用3-(3,4-二氯苯基)-1,1-二甲基脲[3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea, DCMU]可以延迟稀脉浮萍的开花时间,而施加抗坏血酸则可以恢复DCMU抑制开花的效应。这些研究表明光合作用调节植物开花,但是其中的分子机制还不清楚(Posner等1977; Posner 1973; Shinozaki 1972; Cockshull和Hughes 1971)。

Feng等(2016)通过对拟南芥生态型筛选和对基因表达结果分析发现质体氧化还原信号通过控制开花抑制因子*FLC*基因的表达而调控植物开花。研究发现PTM位于*FLC*上游参与氧化还原信号介导的开花途径。PTM-N蛋白可以直接结合*FLC*基因启动子并且抑制*FLC*表达。进一步研究发现PTM可以与染色质修饰因子FVE发生互作。

高光增加电子在PSII的激发,使PQ库处于过度还原状态,诱导PTM蛋白剪切并且释放PTM-N进入细胞核中;PTM-N蛋白在细胞核中逐渐累积并且招募FVE以及与其互作的组蛋白去乙酰化复合物HDAC结合到*FLC*启动子的特定区域,对该段区域染色质上的H3和H3K4分别进行去乙酰化和去甲基化修饰,抑制*FLC*基因的转录,从而促进植物提前开花。

4.3 质体反向信号调控植物对温度胁迫的响应

温度是影响植物生长发育的非常关键的环境因素,植物感知温度的改变并作出相应的生理变化以适应温度胁迫。叶绿体对高温胁迫十分敏感,叶绿体中的类囊体结构极易受到高温破坏,从而降低光合效率,导致农作物减产。植物在高温条件下会迅速启动热激蛋白(heat shock protein, HSP)和热激转录因子(heat shock factor, Hsf)表达,进而维护细胞和叶绿体的稳定性。Yu等(2012)利用高通量技术筛选植物高温胁迫响应蛋白时发现了叶绿体核糖体蛋白RPS1 (ribosomal protein S1)。RPS1在蛋白水平响应热胁迫,并参与类囊体膜蛋白的翻译,过表达RPS1可以提高类囊体膜蛋白的翻译效率。进一步的研究表明,高温胁迫条件下RPS1蛋白表达上调,触发质体反向信号并通过相关的热激信号转导组分传递到细胞核,从而启动热激转录因子HsfA2及其下游靶基因的表达。而HsfA2下游靶基因编码的定位叶绿体的热激蛋白进入叶绿体,对高温胁迫下的叶绿体类囊体膜系统进行保护。这项研究工作表明质体反向信号在植物响应温度胁迫过程中发挥了重要作用。

5 展望

经过几十年的努力,人们对质体反向信号通路的分子机制有了比较深入的了解,但是这一领域仍然有很多悬而未决的问题,比如四吡咯代谢中间产物到底是不是质体反向信号分子还存在争议;其他分子如 β -CC、PAP、MEcPP等是不是真正的质体信号分子也需要进一步研究确认;PTM的发现填补了质体反向信号通路中的一项空白,但是PTM响应质体反向信号后被剪切的分子机制还不清楚;质体反向信号如何协调外界环境信号和内源激素信号调控植物生长发育也值得科学家进行深入的研究。

参考文献

- Arsova B, Hoja U, Wimmelbacher M, Greiner E, Üstün Ş, Melzer M, Petersen K, Lein W, Börnke F (2010). Plastidial thioredoxin *z* interacts with two fructokinase-like proteins in a thiol-dependent manner: evidence for an essential role in chloroplast development in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell*, 22 (5): 1498–1515
- Baruah A, Šimková K, Hinch DK, Apel K, Laloi C (2009). Modulation of ¹O₂-mediated retrograde signaling by the PLEIOTROPIC RESPONSE LOCUS 1 (PRL1) protein, a central integrator of stress and energy signaling. *Plant J*, 60 (1): 22–32
- Beck CF (2005). Signaling pathways from the chloroplast to the nucleus. *Planta*, 222 (5): 743–756
- Bellaïf S, Bameche F, Peltier G, Rochaix JD (2005). State transitions and light adaptation require chloroplast thylakoid protein kinase STN7. *Nature*, 433 (7028): 892–895
- Bradbeer JW, Atkinson YE, Borner T, Hagemann R (1979). Cytoplasmic synthesis of plastid polypeptides may be controlled by plastid-synthesized RNA. *Nature*, 279 (5716): 816–817
- Chateigner-Boutin AL, Ramos-Vega M, Guevara-García A, Andrés C, de la Luz Gutiérrez-Nava M, Cantero A, Delannoy E, Jiménez LF, Lurin C, Small I, et al (2008). CLB19, a pentatricopeptide repeat protein required for editing of *rpoA* and *clpP* chloroplast transcripts. *Plant J*, 56 (4): 590–602
- Chi W, Feng PQ, Ma JF, Zhang LX (2015). Metabolites and chloroplast retrograde signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 25: 32–38
- Chi W, Sun XW, Zhang LX (2013). Intracellular signaling from plastid to nucleus. *Annu Rev Plant Biol*, 64: 559–582
- Cockshull KE, Hughes AP (1971). Effects of light intensity at different stages in flower initiation and development of *Chrysanthemum morifolium*. *Ann Bot*, 35 (142): 915–926
- Deng XW, Jiao YL, Lau OS (2007). Light-regulated transcriptional networks in higher plants. *Nat Rev Genet*, 8 (3): 217–230
- Dyall SD, Brown MT, Johnson P (2004). Ancient invasions: from endosymbionts to organelles. *Science*, 304 (5668): 253–257
- Escoubas JM, Lomas M, Laroche J, Falkowski PG (1995). Light intensity regulation of *cab* gene transcription is signaled by the redox state of the plastoquinone pool. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92 (22): 10237–10241
- Estavillo GM, Crisp PA, Pornsiriwong W, Wirtz M, Collinge D, Carrie C, Giraud E, Whelan J, David P, Javot H, et al (2011). Evidence for a SAL1-PAP chloroplast retrograde pathway that functions in drought and high light signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 23 (11): 3992–4012
- Feng PQ, Guo HL, Chi W, Chai X, Sun XW, Xu XM, Ma JF, Rochaix JD, Leister D, Wang HY, et al (2016). Chloroplast retrograde signal regulates flowering. *Proc Natl Acad Sci USA* 113 (38): 10708–10713
- Fernández AP, Strand Å (2008). Retrograde signaling and plant stress: plastid signals initiate cellular stress responses. *Curr Opin Plant Biol*, 11 (5): 509–513
- Fischer BB, Ledford HK, Wakao S, Huang SG, Casero D, Pellegrini M, Merchant SS, Koller A, Eggen RI, Niyogi KK (2012). *SINGLET OXYGEN RESISTANT 1* links reactive electrophile signaling to singlet oxygen acclimation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109 (20): E1302–E1311
- Guo HL, Feng PQ, Chi W, Sun XW, Xu XM, Li Y, Ren DT, Lu CM, Rochaix JD, Leister D, et al (2016). Plastid-nucleus communication involves calcium-modulated MAPK signalling. *Nat Commun*, 7: 12173
- Hess WR, Müller A, Nagy F, Börner T (1994). Ribosome-deficient plastids affect transcription of light-induced nuclear genes: genetic evidence for a plastid-derived signal. *Mol Gen Genet*, 242 (3): 305–312
- Jasper F, Quednau B, Kortenjann M, Johanningmeier U (1991). Control of *Cab* gene expression in synchronized *chlamydomonas reinhardtii* cells. *J Photochem Photobiol B-Biol*, 11 (2): 139–150
- Johanningmeier U, Howell SH (1984). Regulation of light-harvesting chlorophyll-binding protein mRNA accumulation in *Chlamydomonas Reinhardi*. *J Biol Chem*, 259 (21): 13541–13549
- Karpinski S, Escobar C, Karpinska B, Creissen G, Mullineaux PM (1997). Photosynthetic electron transport regulates the expression of cytosolic ascorbate peroxidase genes in *Arabidopsis* during excess light stress. *Plant Cell*, 9 (4): 627–640
- Kindgren P, Kremnev D, Blanco NE, López JDB, Fernández AP, Tellgren-Roth C, Small I, Strand Å (2012). The plastid redox insensitive 2 mutant of *Arabidopsis* is impaired in PEP activity and high light-dependent plastid redox signalling to the nucleus. *Plant J*, 70 (2): 279–291
- Koussevitzky S, Nott A, Mockler TC, Hong F, Sachetto-Martins G, Surpin M, Lim IJ, Mittler R, Chory J (2007). Signals from chloroplasts converge to regulate nuclear gene expression. *Science*, 316 (5825): 715–719
- Larkin RM, Alonso JM, Ecker JR, Chory J (2003). GUN4, a regulator of chlorophyll synthesis and intracellular signaling. *Science*, 299 (5608): 902–906
- Lee KP, Kim C, Landgraf F, Apel K (2007). EXECUTER1- and EXECUTER2-dependent transfer of stress-related signals from the plastid to the nucleus of *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 (24): 10270–10275
- Leister D (2003). Chloroplast research in the genomic age. *Trends Genet*, 19 (1): 47–56
- Martin W, Stoebe B, Goremykin V, Hansmann S, Hasegawa M, Kowallik KV (1998). Gene transfer to the nucleus and the evolution of chloroplasts. *Nature*, 393 (6681): 162–165
- Maruta T, Noshi M, Tanouchi A, Tamoi M, Yabuta Y, Yoshimura K, Ishikawa T, Shigeoka S (2012). H₂O₂-triggered retrograde signaling from chloroplasts to nucleus plays specific role in response to stress. *J Biol Chem*, 287 (15): 11717–11729
- Maruta T, Tanouchi A, Tamoi M, Yabuta Y, Yoshimura K, Ishikawa T, Shigeoka S (2010). *Arabidopsis* chloroplastic ascorbate peroxidase isoenzymes play a dual role in photoprotection and gene regulation under photooxidative stress. *Plant Cell Physiol*, 51 (2): 190–200
- Mayfield SP, Taylor WC (1984). Carotenoid-deficient maize seedlings fail to accumulate light-harvesting chlorophyll *a/b* binding protein (LHCP) mRNA. *Eur J Biochem*, 144 (1): 79–84

- Meskauskiene R, Nater M, Goslings D, Kessler F, op den Camp R, Apel K (2001). FLU: a negative regulator of chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98 (22): 12826–12831
- Mochizuki N, Brusslan JA, Larkin R, Nagatani A, Chory J (2001). *Arabidopsis genomes uncoupled 5 (gun5)* mutant reveals the involvement of Mg-chelatase H subunit in plastid-to-nucleus signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98 (4): 2053–2058
- Mochizuki N, Susek R, Chory J (1996). An intracellular signal transduction pathway between the chloroplast and nucleus is involved in de-etiolation. *Plant Physiol*, 112 (4): 1465–1469
- Mochizuki N, Tanaka R, Tanaka A, Masuda T, Nagatani A (2008). The steady-state level of Mg-protoporphyrin IX is not a determinant of plastid-to-nucleus signaling in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105 (39): 15184–15189
- Møller SG, Kunkel T, Chua NH (2001). A plastidic ABC protein involved in intercompartmental communication of light signaling. *Genes Dev*, 15 (1): 90–103
- Moulin M, McCormac AC, Terry MJ, Smith AG (2008). Tetrapyrrole profiling in *Arabidopsis* seedlings reveals that retrograde plastid nuclear signaling is not due to Mg-protoporphyrin IX accumulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105 (39): 15178–15183
- Neuhaus HE, Emes MJ (2000). Nonphotosynthetic metabolism in plastids. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 51: 111–140
- Nott A, Jung HS, Koussevitzky S, Chory J (2006). Plastid-to-nucleus retrograde signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 57: 739–759
- Oelmüller R (1989). Photooxidative destruction of chloroplasts and its effect on nuclear gene expression and extraplastidic enzyme levels. *Photochem Photobiol*, 49 (2): 229–239
- Oelmüller R, Levitan I, Bergfeld R, Rajasekhar VK, Mohr H (1986). Expression of nuclear genes as affected by treatments acting on the plastids. *Planta*, 168 (4): 482–492
- Oelmüller R, Mohr H (1986). Photooxidative destruction of chloroplasts and its consequences for expression of nuclear genes. *Planta*, 167 (1): 106–113
- Pesaresi P, Hertle A, Pribil M, Kleine T, Wagner R, Strissel H, Ihnatewicz A, Bonardi V, Scharfenberg M, Schneider A, et al (2009). *Arabidopsis* STN7 kinase provides a link between short- and long-term photosynthetic acclimation. *Plant Cell*, 21 (8): 2402–2423
- Pesaresi P, Masiero S, Eubel H, Braun HP, Bhushan S, Glaser E, Salamini F, Leister D (2006). Nuclear photosynthetic gene expression is synergistically modulated by rates of protein synthesis in chloroplasts and mitochondria. *Plant Cell*, 18 (4): 970–991
- Peter E, Grimm B (2009). GUN4 is required for posttranslational control of plant tetrapyrrole biosynthesis. *Mol Plant*, 2 (6): 1198–1210
- Pfannschmidt T (2003). Chloroplast redox signals: how photosynthesis controls its own genes. *Trends Plant Sci*, 8 (1): 33–41
- Pfannschmidt T (2010). Plastidial retrograde signalling – a true “plastid factor” or just metabolite signatures? *Trends Plant Sci*, 15 (8): 427–435
- Posner HB (1973). Lack of flowering responses to DCMU in a mutant of *Lemna Perpusilla* 6746. *Plant Cell Physiol*, 14 (5): 1031–1033
- Posner HB, Posner RS, Gower RA (1977). Effects of DCMU on long-day flowering of *Lemna Perpusilla* 6746 and photosynthetic mutant strain 1073. *Plant Cell Physiol*, 18 (6): 1301–1307
- Ramel F, Birtic S, Ginies C, Soubigou-Taconnat L, Triantaphylidès C, Havaux M (2012). Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109 (14): 5535–5540
- Rapp JC, Mullet JE (1991). Chloroplast transcription is required to express the nuclear genes *rbcS* and *cab*. plastid DNA copy number is regulated independently. *Plant Mol Biol*, 17 (4): 813–823
- Ruckle ME, DeMarco SM, Larkin RM (2007). Plastid signals remodel light signaling networks and are essential for efficient chloroplast biogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19 (12): 3944–3960
- Ruckle ME, Larkin RM (2009). Plastid signals that affect photomorphogenesis in *Arabidopsis thaliana* are dependent on GENOMES UNCOUPLED 1 and cryptochrome 1. *New Phytol*, 182 (2): 367–379
- Sherameti I, Sopory SK, Trebicka A, Pfannschmidt T, Oelmüller R (2002). Photosynthetic electron transport determines nitrate reductase gene expression and activity in higher plants. *J Biol Chem*, 277 (48): 46594–46600
- Shinozaki M (1972). Floral initiation of *Pharbitis nil*, a short-day plant, under continuous high-intensity light. *Plant Cell Physiol*, 13 (2): 391–393
- Strand Å, Asami T, Alonso J, Ecker JR, Chory J (2003). Chloroplast to nucleus communication triggered by accumulation of Mg-protoporphyrin IX. *Nature*, 421 (6918): 79–83
- Sullivan JA, Gray JC (1999). Plastid translation is required for the expression of nuclear photosynthesis genes in the dark and in roots of the pea *lip1* mutant. *Plant Cell*, 11 (5): 901–910
- Sun XW, Feng PQ, Xu XM, Guo HL, Ma JF, Chi W, Lin RC, Lu CM, Zhang LX (2011). A chloroplast envelope-bound PHD transcription factor mediates chloroplast signals to the nucleus. *Nat Commun*, 2: 477
- Susek RE, Ausubel FM, Chory J (1993). Signal transduction mutants of *Arabidopsis* uncouple nuclear *CAB* and *RBCS* gene expression from chloroplast development. *Cell*, 74 (5): 787–799
- Verdecia MA, Larkin RM, Ferrer JL, Riek R, Chory J, Noel JP (2005). Structure of the Mg-chelatase cofactor GUN4 reveals a novel hand-shaped fold for porphyrin binding. *PLoS Biol*, 21 (11): 903–904
- Vinti G, Fourrier N, Bowyer JR, López-Juez E (2005). *Arabidopsis cue* mutants with defective plastids are impaired primarily in the photocontrol of expression of photosynthesis-associated nuclear genes. *Plant Mol Biol*, 57 (3): 343–357
- von Gromoff ED, Alawady A, Meinecke L, Grimm B, Beck CF (2008). Heme, a plastid-derived regulator of nuclear gene expression in *Chlamydomonas*. *Plant Cell*, 20 (3): 552–567
- Wagner D, Przybyla D, op den Camp R, Kim C, Landgraf F, Lee KP, Würsch M, Laloi C, Nater M, Hideg E, et al (2004). The genetic basis of singlet oxygen-induced stress responses of *Arabidopsis thaliana*. *Science*, 306 (5699): 1183–1185
- Walley J, Xiao YM, Wang JZ, Baidoo EE, Keasling JD, Shen ZX,

- Briggs SP, Dehesh K (2015). Plastid-produced interorganelle stress signal MEcPP potentiates induction of the unfolded protein response in endoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112 (19): 6212–6217
- Woodson JD, Chory J (2008). Coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes. *Nat Rev Genet*, 9 (5): 383–395
- Woodson JD, Perez-Ruiz JM, Chory J (2011). Heme synthesis by plastid ferrochelatase I regulates nuclear gene expression in plants. *Curr Biol*, 21 (10): 897–903
- Woodson JD, Perez-Ruiz JM, Schmitz RJ, Ecker JR, Chory J (2013). Sigma factor-mediated plastid retrograde signals control nuclear gene expression. *Plant J*, 73 (1): 1–13
- Xiao Y, Savchenko T, Baidoo EE, Chehab WE, Hayden DM, Tolkov V, Corwin JA, Kliebenstein DJ, Keasling JD, Dehesh K (2012). Retrograde signaling by the plastidial metabolite MEcPP regulates expression of nuclear stress-response genes. *Cell*, 149 (7): 1525–1535
- Xu XM, Chi W, Sun XW, Feng PQ, Guo HL, Li J, Lin RC, Lu CM, Wang HY, Leister D, et al (2016). Convergence of light and chloroplast signals for de-etiolation through ABI4–HY5 and COP1. *Nat Plants*, 2 (6): 16066
- Yu HD, Yang XF, Chen ST, Wang YT, Li JK, Shen Q, Liu XL, Guo FQ (2012). Downregulation of chloroplast RPS1 negatively modulates nuclear heat-responsive expression of *HsfA2* and its target genes in *Arabidopsis*. *PLoS Genet*, 8 (5): e1002669

Recent advances in plastid retrograde signaling

XU Xiu-Mei, CHI Wei, ZHANG Li-Xin*

Photosynthesis Research Center, Key Laboratory of Photobiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

Abstract: Intracellular signaling from the chloroplast to the nucleus is called plastid retrograde signaling. It plays key roles in coordinating the expression of nuclear and plastid-encoded genes to ensure chloroplast development and in regulating numerous aspects of plant growth and development. Recent identification and functional characterization of several components involved in plastid retrograde signals generation and transduction has provided significant insight into the regulatory network of plastid retrograde signaling. Here we summarize plastid retrograde signaling from its research history and emphasize the recent advances in plastid retrograde signaling transduction pathway and involvements in plant growth and development.

Key words: chloroplast; plastid retrograde signaling; GUN1-PTM-ABI4 signaling pathway

Received 2016-09-08 Accepted 2016-10-28

This work was supported by the Major State Basic Research Development Program of China (Grant No. 2015CB150100).

*Corresponding author (E-mail: zhanglixin@ibcas.ac.cn).