

叶绿体分裂分子机制研究进展

李劲宇, 安传敬, 刘小敏, 高宏波*

北京林业大学生物科学与技术学院, 北京100083

摘要: 叶绿体是植物特有的细胞器, 其增殖的主要方式是二元分裂。叶绿体的分裂是由多种蛋白的协同作用实现的。这些蛋白一部分继承自叶绿体的祖先——蓝细菌, 另一部分在植物的进化过程中获得。FtsZ环、ARC5环和PD环是叶绿体分裂过程中形成的环状高分子多聚体, 很多调控事件都是围绕它们进行的。最近研究还发现一些新的蛋白以及脂和肽聚糖等都参与叶绿体分裂和/或调控, 但其机理还不是很清楚。叶绿体分裂也受到基因转录、激素和渗透压等影响。本文重点介绍叶绿体分裂机器的成分和组装, 以及叶绿体分裂及其调控机制的最新进展。

关键词: 叶绿体分裂; FtsZ; ARC5; Min系统; 转录调控; 细胞器增殖

质体(plastid)是植物特有的一类细胞器。质体起源于原始的蓝细菌(cyanobacteria), 通过十亿多年前的内共生事件在一个可能不太长的历史时期内形成了叶绿体(chloroplast), 后又逐渐进化形成现在我们看到的不同类型的质体(Cavalier-Smith 2000; Dyall等2004)。在高等植物中, 原质体可以分化形成白色体(leucoplast)、有色体(chromoplast)和叶绿体。白色体不含色素, 多存在于贮藏组织细胞内, 积累淀粉、蛋白质或脂类。有色体含有类胡萝卜素, 存在于花瓣和果实等颜色鲜艳的组织细胞中。叶绿体是含有叶绿素的质体, 主要存在于绿色组织细胞中, 是绿色植物进行光合作用的场所。由于叶绿体的重要生物学功能, 人们对其分裂机制进行了深入的研究。本文重点介绍叶绿体分裂相关蛋白作用及其调控的分子机制。这些机制在其他质体分裂中具有一定的相似性。

叶绿体是一种由双层膜包围的细胞器, 除了进行光合作用, 还参与脂肪酸合成、氨基酸合成等重要的生命活动。叶绿体从原始的蓝细菌进化到现在完成了从自主性向半自主性的过渡。叶绿体具有自己的基因组及转录、翻译系统, 但叶绿体基因组仅有100个基因左右, 其编码蛋白仅占叶绿体蛋白组的很少一部分(Kessler和Schnell 2009)。叶绿体中的大多数蛋白质是由细胞核基因编码, 在细胞质基质中翻译后经跨膜运输进入叶绿体(Shi和Theg 2013)。细胞中的叶绿体不能从头合成, 只能通过分裂或由其他质体分化而来。叶绿体分裂与其祖先蓝细菌在分裂机制上有一定的相似性, 但又有宿主真核起源的蛋白参与这一过程。因此, 叶绿体分裂是由源自蓝细菌和真核宿主细胞的多种蛋白质分子协同作用的结果。

从形态观察来看, 叶绿体分裂与蓝细菌分裂类似。叶绿体首先在中部确定分裂位点, 然后叶绿体伸长, 分裂位点不断收缩, 最后形成2个子叶绿体。这种分裂方式叫做二元分裂(binary fission)。通过电子显微镜能在叶绿体分裂位点看到环状结构, 随后又证实了该位点存在多个环状结构, 将其统称为叶绿体分裂机器(plastid-dividing machinery, 或plastid division machinery)。从叶绿体内膜到外膜依次为: FtsZ (filamenting temperature-sensitive Z)环、内侧PD环(plastid-dividing ring)、外侧PD环和ARC5 (accumulation and replication of chloroplast 5)环。这些环状结构收缩并挤压分裂位点, 最终完成叶绿体分裂。如果这些环状结构不能正常形成或工作, 就会造成叶绿体分裂异常, 常表现为叶绿体数量和形态的变化。此外, 叶绿体生长和分裂不协调会导致产生过多或过少的叶绿体。*arc* (accumulation and replication of chloroplast)突变体是以拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为材料, 诱变后筛选得到的一批叶绿体分裂异常突变体(Pyke和Leech 1991, 1994)。它们的鉴定和深入研究不仅为叶绿体分裂研究领域开辟了新途径, 并且大大地促进了该领域的发展。

1 叶绿体分裂机器成分及组装

1.1 FtsZ环

FtsZ环(简称Z环)是叶绿体分裂复合体组装的第一个结构(Miyagishima 2011), 它直接或间接地决定了分裂环中其他蛋白质的组装和定位(Nakanishi

收稿 2016-07-29 修定 2016-09-29

资助 国家自然科学基金(31570182)。

* 通讯作者(E-mail: gaobjfu@yahoo.com)。

等2009), 并驱动了叶绿体的分裂。Z环是由FtsZ蛋白所形成的多聚体。FtsZ是一个GTP酶, 它与微管蛋白的结构相似。在大多数的细菌中, 包括蓝细菌(Mazouni等2004; Miyagishima等2005), FtsZ是一个可溶性的细胞质蛋白, 以聚合体的形式在细胞中部的分裂位点形成锚定在膜上的环状结构。无需马达蛋白的协助, Z环便可产生收缩力使膜缢裂形成2个子细胞(Erickson等2010)。

最初, 人们在分析植物的EST序列的时候发现了一个与大肠杆菌(*Escherichia coli*)的细胞分裂蛋白FtsZ相似的序列, 进一步的分析发现其编码蛋白含有一个叶绿体转运肽可以将其运入叶绿体中(Osteryoung和Vierling 1995)。原核生物的FtsZ比较保守, 由一个基因所编码(Miyagishima 2005); 而在具有光合作用的真核生物中, FtsZ有2个FtsZ亚家族, 分别为FtsZ1和FtsZ2, 它们均由核基因所编码(Stokes和Osteryoung 2003)。这说明从内共生到细胞器的进化过程中FtsZ基因的重复和分化可能发挥了重要的作用。免疫荧光染色结果显示FtsZ1与FtsZ2共定位于质体中部的环上(McAndrew等2001)。体外实验表明, FtsZ1和FtsZ2蛋白以GTP依赖的方式形成同聚物, 与细菌中的FtsZ相似, 通过水解GTP进行聚合(El-Sayed等2005; Lohse等2006; Olson等2010; Smith等2010)。然而, 通过不同的比例, FtsZ1与FtsZ2也可以形成异聚物, 从动力学的角度来说, 异聚物的形成是更为有利的(Olson等2010)。当改变FtsZ1或者FtsZ2的表达水平时, 叶绿体分裂均产生剂量依赖性的缺陷(Schmitz等2009)。在拟南芥和小立碗藓(*Physcomitrella patens*)中的研究也表明缺少FtsZ1和FtsZ2中的任何一个都会破坏叶绿体分裂, 与野生型相比, 突变体细胞中的叶绿体数目更少, 体积更大, 有时候甚至出现一个细胞中只有1个巨型叶绿体的情况(Osteryoung等1998; Strepp等1998)。这些结果说明叶绿体的分裂机制与细菌细胞的分裂机制在一定程度上是相似的。

已有的研究结果显示FtsZ1和FtsZ2蛋白有2个明显的区别: 第一, 在保守的微管蛋白特征基序(motif)上个别氨基酸残基发生了变异(El-Shami等2002); 第二, FtsZ2蛋白的C末端基序在大部分的蓝细菌FtsZ蛋白中具有保守性, 而FtsZ1蛋白的C末端

不具有此特征。在大肠杆菌中, FtsZ的C末端基序调节了FtsZ与2个位于膜上的Z环稳定因子(FtsA和ZipA)之间的相互作用(Ma和Margolin 1999)。FtsZ1与FtsZ2在微管蛋白特征基序上的差异有何意义还不清楚, 但是FtsZ2的C末端基序对于FtsZ2与叶绿体分裂蛋白ARC6之间的互作是必需的(Maple等2005)。

运用定量免疫印迹实验检测植物中二者的含量, 结果表明FtsZ1与FtsZ2在整个叶片中的比例约为1:2 (Maple等2005)。然而, 在Z环上以及叶绿体的发育和分裂过程中, 这种比例是否发生变化还不清楚。在拟南芥中的研究显示叶绿体分裂过程中, 这些家族成员的功能并不冗余(Schmitz等2009)。FtsZ2特异性地与ARC6相互作用, 而FtsZ1被报道专一性地与定位于分裂位点的ARC3相互作用, 但FtsZ2也能够与ARC3互作(Maple等2005, 2007; Zhang等2013)。因此, 尽管发现FtsZ1和FtsZ2可能通过不同的区域特异性地与其他蛋白质相互作用, 但与ARC3的互作并不能区分这二者的功能。

拟南芥中的亚细胞定位实验显示一部分FtsZ1和FtsZ2定位于类囊体膜上, 说明它们可能在类囊体的发育过程中发挥了作用(El-Kafafi等2008; Karamoko等2011)。水稻(*Oryza sativa*)中的研究表明FtsZ在复合淀粉颗粒的形成中有重要作用(Yun和Kawagoe 2010)。虽然对FtsZ的调控了解得比较少, 但有一些研究已经开始着手分析其潜在的调控机制。在单细胞藻类中的表达分析结果显示在S期抑制FtsZ的表达有利于协调细胞分裂和叶绿体分裂(Miyagishima等2012)。拟南芥中的蛋白组学分析显示FtsZ2被特异性的磷酸化(Gargano等2012), 而FtsZ1与硫氧还蛋白相互作用(Balmer等2003), 可能被氧化还原所调控。这些结果表明FtsZ1与FtsZ2可能在不同的转录后调控通路中。当然, 这些研究结果还只是初步探讨, 对于叶绿体FtsZ的调控机制还有待进一步的深入研究。

1.2 Min系统

与细菌细胞分裂类似, 植物叶绿体Z环的定位由Min系统决定。在革兰氏阴性菌大肠杆菌中, MinC、MinD和MinE组成Min系统, 调控Z环正确定位于细胞中央(Lutkenhaus 2007; Monahan等

2014)。MinC蛋白N端能与FtsZ结合并抑制Z环组装,从而抑制细胞分裂(Hu等1999)。MinC本身不能定位到细胞质膜上,但其C端可以通过与质膜上的MinD结合,从而定位到细菌质膜(Hu和Lutkenhaus 2000)。MinD具有ATP酶活性,当与ATP结合时,MinD形成二聚体并定位到质膜上(Hu等2003; Lackner等2003)。MinE能结合MinD并激活其ATP酶活性,使MinD转变为无活性状态,从而促进MinCD复合体的解聚(de Boer等1989; Hu和Lutkenhaus 2001; Hu等2002)。MinE在细胞中部形成螺旋环状结构,向两极移动,使MinCD复合体定位于细胞两极,最终使Z环只能在细胞中央形成,这就是Min系统的摆动模型(Lutkenhaus 2007; Loose等2008)。革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) Min系统包括MinC、MinD、DivIVA和MinJ,该系统的工作不需要摆动。DivIVA是一个膜弯曲敏感蛋白,定位到细胞两极和新形成的隔膜(Lenarcic等2009; Ramamurthi和Losick 2009; Eswaramoorthy等2011)。MinJ是一个膜蛋白,通过与DivIVA相互作用定位到细胞两极和细胞分裂位点,它能招募MinC和MinD到DivIVA从而抑制额外的Z环形成(Patrick和Kearns 2008)。

叶绿体分裂位点的确定与细菌类似,但又有不同之处。拟南芥中具有MinD和MinE的同源基因AtMinD和AtMinE (Colletti等2000; Itoh等2001)。AtMinD缺失或AtMinE超表达会形成多个Z环,导致细胞中出现大小不一的叶绿体(Colletti等2000; Fujiwara等2008, 2009)。AtMinD超表达或AtMinE缺失则抑制Z环组装,可以导致细胞中只有1个巨型叶绿体(Colletti等2000; Itoh等2001; Fujiwara等2008, 2009)。值得注意的是,植物中AtMinD没有膜锚定序列,而是依赖于真核起源的MCD1 (MULTIPLE CHLOROPLAST DIVISION SITE 1)定位于叶绿体内膜(Nakanishi等2009)。mcd1突变体的叶绿体具有多个Z环,其表型类似于minD (Nakanishi等2009)。植物AtMinD和MCD1定位于叶绿体分裂位点,与枯草芽孢杆菌中的DivIVA和MinD类似,但是没有在叶绿体两极发现AtMinD和MCD1的定位。叶绿体的Min系统含有MCD1,兼具大肠杆菌和枯草芽孢杆菌细胞分裂的特点,表现出其作用机制的复杂性。

拟南芥基因组中没有MinC的同源基因,但现在发现ARC3很可能代替MinC的功能(Maple等2007)。ARC3有一段与FtsZ低度同源的序列,它和MinC在蛋白质序列上没有相似性。超表达ARC3抑制拟南芥叶绿体分裂,产生巨大叶绿体,这是因为不能形成Z环(Zhang等2013)。arc3突变体具有多个分裂位点,形成多个Z环,产生大小不一的叶绿体(Pan等2013; Zhang等2013)。体内外研究均显示ARC3可以和FtsZ1、FtsZ2直接相互作用(TerBush和Osteryoung 2012; Zhang等2013)。此外,遗传学研究显示ARC3处于AtMinD和AtMinE的下游(Zhang等2013)。以上证据表明,ARC3在植物中具有类似MinC的功能。

1.3 ARC6和PARC6

ARC6与蓝细菌分裂蛋白Ftn2 (Filamentation transposon 2)同源(Koksharova和Wolk 2002)。拟南芥arc6突变体具有1~2个巨型叶绿体(Pyke等1994; Vitha等2003)。在arc6突变体中,FtsZ不能形成环状结构,只能以点状或短的纤维形式存在。ARC6超表达植物中同时存在多个Z环,产生大小不一的叶绿体(Vitha等2003)。这些现象说明ARC6促进Z环的组装。ARC6定位于叶绿体内膜分裂位点,其N端与FtsZ2相互作用,帮助Z环定位到分裂位点(Glynn等2009); C端位于叶绿体膜间隙,与PDV2 (PLASTID DIVISION 2)相互作用(Glynn等2008)。

PARC6 (PARALOG OF ARC6)只存在于维管植物中,是ARC6的同源蛋白,通过基因重复产生。最近发现PARC6具有与ARC6类似的拓扑结构,含有一个跨膜结构域(Zhang等2016)。N端位于叶绿体基质,可与ARC3和FtsZ2相互作用。C端位于膜间隙,与PDV1相互作用(Glynn等2009; Zhang等2016)。虽然结构上与ARC6相似,但功能上有显著的区别。parc6突变体具有多个分裂位点,产生大小不一的叶绿体(Glynn等2009; Zhang等2009),而arc6突变体只含有1~2个巨型叶绿体。这表明PARC6抑制Z环组装,而ARC6促进Z环组装。由于PARC6可以和ARC3相互作用,并且parc6和arc3突变体表型类似,所以PARC6很可能是通过ARC3抑制Z环组装的(Zhang等2016)。

1.4 ARC5环

拟南芥arc5突变体中,叶绿体呈现分裂异常的

哑铃型, 叶绿体面积变大、数量减少, 每个细胞约有4~10个叶绿体(Pyke和Leech 1994; Gao等2003)。ARC5属于真核生物发动蛋白(dynamin)家族中的一员, 它具有5个结构域: GTP酶结构域、中间结构域、GTP酶效应结构域(GTPase effector domain, GED)、PH (pleckstrin homology)结构域和PR (proline-rich)结构域(富含脯氨酸结构域) (Hinshaw 2000; Gao等2003)。其中GTP酶结构域、GED、PH结构域和PR结构域在真核生物发动蛋白家族是较为保守的(Hinshaw 2000)。研究表明, GED和PR结构域在GTP酶自我组装及GTP水解过程中起到正调控的作用, 而PH结构域可能起负调控作用(Muhlberg等1997)。

发动蛋白是一类具有GTP酶活性并且能够自我组装成多聚体的蛋白, 它参与多种生物学过程, 诸如内吞作用、细胞内的囊泡运输、胞质分裂以及细胞器分裂等(Hinshaw 2000; Praefcke和McMahon 2004; Hoppins等2007)。发动蛋白家族在拟南芥基因组中共有6个亚家族、16个成员。除ARC5外, 其他家族成员还参与线粒体与过氧化物酶体分裂增殖过程以及细胞板的形成(Kang等2003; Pan和Hu 2011)。类似于FtsZ蛋白, ARC5也可以自我组装, 通过水解GTP, 提供分裂所需的能量。不同的是, ARC5在叶绿体外膜形成分裂环结构, 而FtsZ则在叶绿体内膜形成分裂环。从红藻*Cyanidioschyzon merolae*中提取完整的收缩复合体(包含FtsZ、PD环及ARC5), 用光学镊子拉伸后, 它仍可恢复到原有的螺旋扭曲状态。选择性地去除ARC5蛋白后, 则不能恢复。而FtsZ及PD环的去除则不影响恢复(Yoshida等2006)。从FtsZ和ARC5的结构及作用机制特点来看, ARC5更像是提供动力的一方。然而, *arc5*突变体所呈现的具有明显收缩的哑铃型叶绿体也表明具有其他的辅助力量来协助完成分裂。

Z环和PD环形成后, ARC5可以通过PDV1和PDV2被招募到叶绿体外膜的胞质侧, 形成ARC5环(Gao等2003; Miyagishima等2006)。ARC5在叶绿体分裂位点处呈现不连续的环状结构。ARC5可通过选择性剪接形成2个在PH结构域相差36个氨基酸的蛋白异构体(Gao等2003)。两者在不同组织中均有表达, 且均具有GTP酶活性并能互补*arc5*突

变体的表型(Holtmark等2013)。但两者是否具有功能上的差异仍不清楚。另外, 最近报道称叶绿体膜脂成分磷脂酰肌醇-4-磷酸(phosphatidylinositol 4-phosphate, PI4P)降低后, ARC5在叶绿体分裂环处的定位量增加, 从而促进叶绿体分裂, 使得细胞内叶绿体数量增多, 体积变小(Okazaki等2015)。

1.5 PDV1和PDV2

PDV1和PDV2是2个起源于植物的叶绿体分裂蛋白。*pdv1*突变体是通过筛选与*arc5*突变体具有类似表型的突变体得到的, 其叶绿体也呈较大的哑铃型; PDV2是基于序列比对发现的, *pdv2*突变体的叶绿体同样呈现变大的哑铃型(Miyagishima等2006)。PDV1与PDV2均在招募ARC5至叶绿体分裂位点过程中起到重要作用(Miyagishima等2006)。*pdv1*及*pdv2*突变体的叶绿体突变表型说明这2个基因对于叶绿体分裂都是必需的。ARC5在*pdv1*和*pdv2*单突变体中均可正常定位, 而在*pdv1 pdv2*双突变体中无法正常定位。这说明它们在招募ARC5过程中可能具有部分重叠的功能(Miyagishima等2006)。

PDV1与PDV2均为叶绿体外膜蛋白, N末端朝向胞质侧, C末端朝向膜间隙, 中间含有一个跨膜区域(Miyagishima等2006)。有报道显示, PDV1与PDV2可以相互作用及与自身相互作用, 而且PDV1与PDV2均可通过胞质侧C端与ARC5的PH结构域相互作用。在体外实验中, PDV1和PDV2均可抑制ARC5的GTP酶活性(Holtmark等2013)。在体内, 这可能是为了避免在复合体组装完成之前水解GTP对膜进行收缩, 或者通过控制ARC5环的收缩活性来协调与Z环的收缩(Osteryoung和Pyke 2014)。过量表达PDV1及PDV2均可以使叶绿体数量增加, 体积变小, 而且两者还具有叠加效应。这表明PDV1与PDV2调控了叶绿体的分裂速率(Okazaki等2009)。这一点似乎与PDV1和PDV2抑制ARC5的活性相悖。另外, PDV1可以特异性地与膜磷脂PI4P结合, 且在PI4P介导的叶绿体分裂调控途径中起到重要作用。PDV2不仅可以与膜磷脂PI4P结合, 而且还可以结合PI3P、PI5P、PI(3,4)P₂、PI(3,5)P₂、PI(4,5)P₂、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine)和心磷脂(cardiolipin)。由此可见PDV2可能与叶绿体外膜具有更强的结合能力(Okazaki等2015)。

种种迹象表明PDV1是由PDV2通过基因重复产生的, PDV2在陆生植物中均有发现, 而PDV1仅存在于维管植物中(Okazaki等2009), 类似于PARC6的分布(Glynn等2009)。PDV1和PDV2的C末端在膜间隙可分别与PARC6和ARC6的C末端相互作用。通过PDV1和PDV2, ARC5环与Z环有机地联系在一起(Glynn等2008, 2009)。

1.6 PD环

PD环是在藻类中首先发现的存在于叶绿体分裂位点的环状结构(Miyagishima等1998, 1999)。它分为外侧PD环和内侧PD环, 红藻中还存在于中间PD环。但是其组成成分一直不清楚(Kuroiwa等2002; Yoshida等2006)。直到最近发现, 红藻*C. merolae*外侧PD环主要由葡聚糖组成(Yoshida等2010)。PDR1 (PLASTID-DIVIDING RING 1)蛋白负责外侧PD环的合成。抑制PDR1会抑制红藻叶绿体分裂(Yoshida等2010)。PDR1在高等植物中具有同源蛋白, 但其功能是否与叶绿体分裂相关还没有研究。

2 其他影响叶绿体分裂的组分

2.1 功能未知蛋白

CLMP1 (CLUMPED CHLOROPLASTS 1)存在于绿藻和陆生植物中。CLMP1可能影响叶绿体分裂后的分离(Yang等2011)。*clmp1*突变体中叶绿体聚集在一起, 同时还能看到一些细胞没有叶绿体, 可能是由于细胞分裂时叶绿体没有正常分配到2个子细胞中。

GC1 (GIANT CHLOROPLAST 1)又叫AtSulA, 是来源于蓝细菌的影响叶绿体分裂的蛋白。通过与绿色荧光蛋白融合观察发现GC1定位于叶绿体内膜(Maple等2004)。降低拟南芥中GC1的表达量可以使每个细胞中只有几个巨型叶绿体(Maple等2004)。超表达GC1也可以产生巨型叶绿体, 同时还可以恢复由于FtsZ1和FtsZ2过量表达引起的叶绿体分裂异常表型(Raynaud等2004)。以上研究说明GC1影响叶绿体分裂, 并且可能通过调控FtsZ的方式起作用。

拟南芥FZL (FZO-like)是FZO的同源蛋白。FZO介导动物和真菌的线粒体外膜融合(Mozdy和Shaw 2003)。FZL不作用于线粒体, 而是与叶绿体分裂有关。*fzl*突变体的细胞中叶绿体数量减少, 体积增大, 类囊体的形态也受到影响(Gao等2006)。

通过荧光蛋白融合蛋白以及蛋白酶保护实验发现FZL定位到叶绿体内膜和类囊体膜, 这与其发挥功能的场所一致(Gao等2006)。后来发现*fzl*突变体产生胁迫反应, 叶片组织坏死, 这可能是由于叶绿体功能异常导致的(Landoni等2013)。

CLS8 (CRINKLED LEAVES 8)编码核糖核苷酸还原酶, 参与DNA复制和修复时dNTP的产生。*cls8*突变体含有增大的叶绿体, 每个细胞中叶绿体数量减少。突变体中叶绿体基因组含量降低, 可能是由于dNTP含量降低, 进而导致叶绿体分裂异常(Garton等2007)。CLS8影响叶绿体分裂的具体机制还不清楚。

CDT1a (CDC10 Target 1a)是一个细胞周期蛋白依赖的蛋白激酶, 参与DNA复制和叶绿体分裂(Raynaud等2005)。通过RNAi抑制*CDT1a*基因表达, 导致植物叶绿体数量和形态出现异常。CDT1a定位于叶绿体和细胞核。通过酵母双杂交和双分子荧光互补分析发现CDT1a可以与ARC6相互作用, 这可能是其影响叶绿体分裂的原因(Raynaud等2005)。

CRL (CRUMPLED LEAF)影响细胞分裂和叶绿体分裂。*crl*突变体每个细胞只含有1~2个巨大的叶绿体, 并且植物生长受到抑制(Asano等2004)。突变体叶片中存在大量的死细胞, 并且伴随着一系列胁迫响应基因的持续表达(Simkova等2012; Hudik等2014)。最近发现*crl*突变体细胞周期也出现异常, 细胞变小, 产生核内复制(Hudik等2014)。小立碗藓基因组中有2个CRL的同源基因, 即*PpCRL1*和*PpCRL2*。研究发现*PpCRL1*和*PpCRL2*功能存在冗余, 双突变体中叶绿体分裂和植物生长均受到影响(Sugita等2012)。延时显微观察发现, 双突变体中叶绿体伸长并开始收缩, 但不能分开, 最终产生一个更大的叶绿体(Sugita等2012)。因此, CRL可能作用于子叶绿体的分开。

ARC1, 又称FtsHi1, 是一种可能没有蛋白酶活性的FtsH类似蛋白, 定位于叶绿体膜(Kadirjan-Kalbach等2012)。*arc1*突变体表现出叶绿体数量增多, 同时伴随着叶绿体发生的异常(Kadirjan-Kalbach等2012)。另一种影响叶绿体分裂的源于分子伴侣的蛋白是CPN60。拟南芥*cpn60a1* (*arc2*)和*cpn60b1*突变体产生较大的叶绿体, Z环也发生

异常(Suzuki等2009)。CPN60可能通过影响叶绿体分裂蛋白的折叠或Z环的组装进而调控叶绿体分裂(Suzuki等2009)。

2.2 脂与叶绿体分裂

除了蛋白质,叶绿体膜脂在分裂中也起重要作用。脂肪酸合成途径中酮脂酰-酰基载体蛋白合成酶I (β -ketoacyl-acyl carrier protein synthase I, KASI)可能通过影响Min系统和Z环定位影响叶绿体分裂(Wu和Xue 2010)。烯酰基载体蛋白还原酶(enoyl-acyl carrier protein reductase)也影响叶绿体分裂,其突变体*mod1* (*mosaic death 1*)中叶绿体数目明显减少(Mou等2000)。极长链脂肪酸(very-long-chain fatty acid, VLCFA)的合成同样影响叶绿体分裂(Nobusawa和Umeda 2012)。除了脂肪酸合成,脂的运输可能也影响叶绿体分裂。TGD1 (TRIGALACTOSYLDIACYLGLYCEROL1)~TGD5是5个叶绿体膜定位的蛋白,它们组成ABC转运复合体,参与脂从内质网向叶绿体运输(Hurlock等2014; Block和Jouhet 2015; Li等2016)。*ATSI* (*ACYLTRANSFERASE 1*)编码一个叶绿体甘油-3-磷酸酰基转移酶(glycerol-3-phosphate acyltransferase)。*tgd4 ats1*和*tgd5 ats1*双突变体叶绿体分裂受到严重抑制(Xu等2008; Fan等2015)。*FAD6* (*FATTY ACID DESATURASE 6*)编码一个叶绿体脂肪酸去饱和酶。*tgdl fad6*和*tgdl fad6*双突变体叶绿体分裂也受到严重抑制(Fan和Xu 2011)。这说明脂的供应和多不饱和脂肪酸均有可能影响叶绿体分裂。

PIP (polyphosphorylated inositol phospholipid)是磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)磷酸化的衍生物,在信号传递中起到重要的作用。PI4P是植物中含量最为丰富的PIP,它不仅是磷脂酶C的底物,还是一个很重要的信号脂类(Gonorazky等2010; Chapman和Goring 2011),可由PI4K (phosphatidylinositol 4-kinase)催化形成。最近报道称,PI4P也参与叶绿体分裂过程的调控(Okazaki等2015)。在PI4P生成受到抑制的*pi4k β 2*突变体和*PI4Ka1* knockdown植株中,叶绿体数量增多,体积变小,说明PI4P是一个叶绿体分裂的负调控因子。PAO (phenylarsine oxide,一种PI4K合成的特异性抑制剂)处理可使叶绿体膜上的PI4P减少,并增加定位于叶绿体分裂环上的ARC5的量,从而使叶绿体数

量增加。在*pdv1*背景下,PAO处理后叶绿体数量变化较小,这说明PDV1在PI4P介导的叶绿体分裂调控中起到重要作用。而在*pdv2*突变体中PAO处理的这种效应则没有影响,这说明PDV2在膜脂调控叶绿体分裂中的作用可能不同于PDV1。当ARC5过量表达时,可增强PAO处理的效应,这说明ARC5也参与PI4P介导的叶绿体分裂调控。用PAO处理*arc5*突变体时,叶绿体数量也显著增加,作者推测可能是由于其他发动蛋白家族成员在起作用,但目前没有任何证据支持这一观点。PDV1与PDV2在膜脂结合实验中结合能力及特性不同,这表明PDV1和PDV2与膜脂的作用方式或位点可能有所不同,PI4P有可能通过影响PDV1的构象来改变其对ARC5的亲合性(Okazaki等2015)。总的来说,ARC5、PDV1和PDV2与叶绿体膜磷脂之间的关系目前还不是很清楚。另外,其他磷脂在叶绿体分裂中的作用也不清楚。

2.3 肽聚糖与叶绿体分裂

肽聚糖是细菌细胞壁的主要成分。原始的蓝细菌向现代质体的进化过程中肽聚糖层逐渐丢失,但部分编码肽聚糖合成酶的基因被保留在植物基因组中(Takano和Takechi 2010)。用抑制肽聚糖合成的抗生素处理小立碗藓会导致叶绿体分裂异常(Takano和Takechi 2010)。此外,敲除小立碗藓肽聚糖合成途径中*MurE*和*PBP* (*PENICILLIN-BINDING PROTEIN*)基因均使叶绿体分裂异常(Machida等2006)。肽聚糖水解酶DipM同样参与小立碗藓叶绿体的分裂(Miyagishima等2014)。以上研究表明肽聚糖可能存在于苔藓植物中并参与叶绿体分裂。最近研究人员通过荧光标记技术发现小立碗藓叶绿体被膜确实存在肽聚糖层,并且其中含有D-氨基酸(Hirano等2016)。双分子D-丙氨酸连接酶基因*DDL* (D-Ala:D-Ala ligase)敲除后叶绿体分裂异常。这些都说明肽聚糖参与苔藓植物的叶绿体分裂(Hirano等2016)。拟南芥叶绿体中不存在肽聚糖,但其基因组中存在*MurE*基因,该基因不影响叶绿体分裂,而是影响叶绿体的发育(Garcia等2008)。

3 叶绿体分裂的调控

转录因子CPD45 (CHLOROPLAST DIVISION 45)/FHY3 (FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL 3)和CPD25/FRS4 (FAR1-RELATED SEQUENCE

4)参与叶绿体分裂调控。*cpd25*和*cpd45*突变体均产生哑铃型的叶绿体,这种表型可以被组成型超表达*ARC5*基因恢复(Gao等2013)。进一步研究发现CPD45/FHY3和CPD25/FRS4可以结合到*ARC5*基因启动子的特定区域并启动其表达。深入研究发现CPD25和CPD45以异源二聚体的形式来共同激活*ARC5*基因的表达,其中CPD25主要起DNA结合作用,而CPD45主要起基因激活作用(Gao等2013)。关于FHY3,更多的研究是其参与远红光途径调控植物光形态建成,这和其调控叶绿体分裂属于不同的通路(Chang等2015)。

激素调控植物的生长发育,也参与叶绿体分裂调控。外源添加细胞分裂素或超表达细胞分裂素下游转录因子CRF2 (CYTOKININ RESPONSE FACTOR 2)、GNC (GATA NITRATE-INDUCIBLE CARBON-METABOLISM-INVOLVED)和CGA1 (CYTOKININ-RESPONSIVE GATA 1)均促进叶绿体分裂。超表达CRF2使叶绿体数量增多,超表达GNC和CGA1使叶绿体数量增加且体积增大(Okazaki等2009; Chiang等2012)。CRF2可以增强*PDV2*基因的表达进而促进叶绿体分裂(Okazaki等2009)。细胞分裂素响应转录因子GRF5 (GROWTH REGULATING FACTOR 5)调控叶片发育,同时促进叶绿体分裂(Vercruyssen等2015)。赤霉素调控细胞生长和分裂,同时作用于叶绿体分裂。赤霉素缺陷突变体*gal1*中叶绿体数量减少,同时伴随着*PDV1*、*PDV2*、*ARC5*和*FtsZ2*等基因表达下调,因此赤霉素可能协调细胞生长、分裂和叶绿体分裂(Jiang等2012)。

叶绿体处于细胞质基质中,环境渗透压可能调控叶绿体的形态和分裂。MSL2 (MSCS-LIKE 2)和MSL3是植物中2个同源的机械敏感性离子通道。*msl2 msl3*双突变体含有增大的叶绿体,部分非绿质体增大呈圆球形(Haswell和Meyerowitz 2006)。MSL2、MSL3与MinE共定位,并且双突变体中形态异常的叶绿体含有多个Z环,这说明MSL2和MSL3可能通过Min系统调控叶绿体分裂(Wilson等2011)。双突变体表皮细胞中的圆球形质体可以被高渗细胞质环境恢复(Veley等2012)。双突变体中脯氨酸和ABA含量增加,并且合成它们的基因的表达也被上调,这些现象说明双突变植物处于渗

透压胁迫中(Wilson等2014)。因此,处于高渗环境中的叶绿体分裂和形态调控需要MSL蛋白。

4 展望

叶绿体是植物特有的细胞器,其正常分裂及调控是维持叶绿体数量稳定的基础。在过去的20多年中人们通过正向遗传学和反向遗传学发现了一系列叶绿体分裂相关蛋白,它们参与叶绿体分裂机器的组装和调控。这些发现加深了人们对叶绿体分裂机制的认识。源于原核和源于真核的蛋白相互作用共同调控叶绿体分裂,这也进一步验证了叶绿体的内共生起源学说。

叶绿体分裂及其调控随着藻类向高等植物的进化而发生变化,这种变化加深了叶绿体分裂的多样性和复杂性。虽然细菌细胞分裂和拟南芥叶绿体分裂领域已有较多研究,但从藻类向被子植物过渡的其他植物的叶绿体分裂还没有深入研究,这些研究将加深人们对叶绿体分裂的认识。高等植物叶绿体分裂既需要原核起源又需要真核起源的蛋白,这些蛋白的产生和进化对植物系统演化具有重要意义,这些蛋白在分子水平上是如何协调发挥作用的并不是很清楚。功能未知蛋白的深入研究将全面丰富叶绿体分裂的研究。此外,叶绿体分裂调控的研究才刚刚开始。随着这些问题的深入研究,我们才能进一步地认识叶绿体的分裂,这还可以为叶绿体的遗传改良和人工操作提供理论基础。

参考文献

- Asano T, Yoshioka Y, Kurei S, Sakamoto W, Machida Y, Sodmergen, Machida Y (2004). A mutation of the *CRUMPLED LEAF* gene that encodes a protein localized in the outer envelope membrane of plastids affects the pattern of cell division, cell differentiation, and plastid division in *Arabidopsis*. *Plant J*, 38 (3): 448–459
- Balmer Y, Koller A, del Val G, Manieri W, Schürmann P, Buchanan BB (2003). Proteomics gives insight into the regulatory function of chloroplast thioredoxins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (1): 370–375
- Block MA, Jouhet J (2015). Lipid trafficking at endoplasmic reticulum-chloroplast membrane contact sites. *Curr Opin Cell Biol*, 35: 21–29
- Cavalier-Smith T (2000). Membrane heredity and early chloroplast evolution. *Trends Plant Sci*, 5 (4): 174–182
- Chang N, Gao Y, Zhao L, Liu X, Gao H (2015). *Arabidopsis FHY3/CPD45* regulates far-red light signaling and chloroplast division in parallel. *Sci Rep*, 5: 9612

- Chapman LA, Goring DR (2011). Misregulation of phosphoinositides in *Arabidopsis thaliana* decreases pollen hydration and maternal fertility. *Sex Plant Reprod*, 24 (4): 319–326
- Chiang YH, Zubo YO, Tapken W, Kim HJ, Lavanway AM, Howard L, Pilon M, Kieber JJ, Schaller GE (2012). Functional characterization of the GATA transcription factors GNC and CGA1 reveals their key role in chloroplast development, growth, and division in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 160 (1): 332–348
- Colletti KS, Tattersall EA, Pyke KA, Froehlich JE, Stokes KD, Osteryoung KW (2000). A homologue of the bacterial cell division site-determining factor MinD mediates placement of the chloroplast division apparatus. *Curr Biol*, 10 (9): 507–516
- de Boer PA, Crossley RE, Rothfield LI (1989). A division inhibitor and a topological specificity factor coded for by the minicell locus determine proper placement of the division septum in *E. coli*. *Cell*, 56 (4): 641–649
- Dyall SD, Brown MT, Johnson PJ (2004). Ancient invasions: from endosymbionts to organelles. *Science*, 304 (5668): 253–257
- El-Kafafi ES, Karamoko M, Pignot-Paintrand I, Grunwald D, Mandaron P, Lerbs-Mache S, Falconet D (2008). Developmentally regulated association of plastid division protein FtsZ1 with thylakoid membranes in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem J*, 409 (1): 87–94
- El-Sayed EK, Mukherjee S, Mahmoud ES, Putaux JL, Maryse A, Pignot-Paintrand I, Lerbs-Mache S, Falconet D (2005). The plastid division proteins, FtsZ1 and FtsZ2, differ in their biochemical properties and sub-plastidial localization. *Biochem J*, 387 (3): 669–676
- El-Shami M, El-Kafafi S, Falconet D, Lerbs-Mache S (2002). Cell cycle-dependent modulation of *FtsZ* expression in synchronized tobacco BY2 cells. *Mol Genet Genomics*, 267: 254–261
- Erickson HP, Anderson DE, Osawa M (2010). FtsZ in bacterial cytoskeleton: cytoskeleton and force generator all in one. *Microbiol Mol Biol R*, 74 (4): 504–528
- Eswaramoorthy P, Erb ML, Gregory JA, Silverman J, Pogliano K, Pogliano J, Ramamurthi KS (2011). Cellular architecture mediates DivIVA ultrastructure and regulates min activity in *Bacillus subtilis*. *mBio*, 2 (6): e00257-11
- Fan J, Xu C (2011). Genetic analysis of *Arabidopsis* mutants impaired in plastid lipid import reveals a role of membrane lipids in chloroplast division. *Plant Signal Behav*, 6 (3): 458–460
- Fan J, Zhai Z, Yan C, Xu C (2015). *Arabidopsis* TRIGALACTOSYL-DIACYLGLYCEROL5 interacts with TGD1, TGD2, and TGD4 to facilitate lipid transfer from the endoplasmic reticulum to plastids. *Plant Cell*, 27 (10): 2941–2955
- Fujiwara MT, Hashimoto H, Kazama Y, Abe T, Yoshida S, Sato N, Itoh RD (2008). The assembly of the FtsZ ring at the mid-chloroplast division site depends on a balance between the activities of AtMinE1 and ARC11/AtMinD1. *Plant Cell Physiol*, 49 (3): 345–361
- Fujiwara MT, Sekine K, Yamamoto YY, Abe T, Sato N, Itoh RD (2009). Live imaging of chloroplast FtsZ1 filaments, rings, spirals, and motile dot structures in the *AtMinE1* mutant and overexpressor of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 50 (6): 1116–1126
- Gao H, Kadirjan-Kalbach D, Froehlich JE, Osteryoung KW (2003). ARC5, a cytosolic dynamin-like protein from plants, is part of the chloroplast division machinery. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (7): 4328–4333
- Gao H, Sage TL, Osteryoung KW (2006). FZL, an FZO-like protein in plants, is a determinant of thylakoid and chloroplast morphology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103 (17): 6759–6764
- Gao Y, Liu H, An C, Shi Y, Liu X, Yuan W, Zhang B, Yang J, Yu C, Gao H (2013). *Arabidopsis* FRS4/CPD25 and FHY3/CPD45 work cooperatively to promote the expression of the chloroplast division gene *ARC5* and chloroplast division. *Plant J*, 75 (5): 795–807
- Garcia M, Myouga F, Takechi K, Sato H, Nabeshima K, Nagata N, Takio S, Shinozaki K, Takano H (2008). An *Arabidopsis* homolog of the bacterial peptidoglycan synthesis enzyme MurE has an essential role in chloroplast development. *Plant J*, 53 (6): 924–934
- Gargano D, Maple-Grodem J, Møller SG (2012). *In vivo* phosphorylation of FtsZ2 in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem J*, 446 (3): 517–521
- Garton S, Knight H, Warren GJ, Knight MR, Thorlby GJ (2007). *crinkled leaves 8-a* mutation in the large subunit of ribonucleotide reductase leads to defects in leaf development and chloroplast division in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 50 (1): 118–127
- Glynn JM, Froehlich JE, Osteryoung KW (2008). *Arabidopsis* ARC6 coordinates the division machineries of the inner and outer chloroplast membranes through interaction with PDV2 in the intermembrane space. *Plant Cell*, 20 (9): 2460–2470
- Glynn JM, Yang Y, Vitha S, Schmitz AJ, Hemmes M, Miyagishima SY, Osteryoung KW (2009). PARC6, a novel chloroplast division factor, influences FtsZ assembly and is required for recruitment of PDV1 during chloroplast division in *Arabidopsis*. *Plant J*, 59 (5): 700–711
- Gonorazky G, Laxalt AM, de la Canal L (2010). Involvement of phospholipase C in the responses triggered by extracellular phosphatidylinositol 4-phosphate. *J Plant Physiol*, 167 (5): 411–415
- Haswell ES, Meyerowitz EM (2006). MscS-like proteins control plastid size and shape in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol*, 16 (1): 1–11
- Hinshaw JE (2000). Dynamin and its role in membrane fission. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 16 (1): 483–519
- Hirano T, Tanidokoro K, Shimizu Y, Kawarabayashi Y, Ohshima T, Sato M, Tadano S, Ishikawa H, Takio S, Takechi K, et al (2016). Moss chloroplasts are surrounded by a peptidoglycan wall containing D-amino acids. *Plant Cell*, 28 (7): 1521–1532
- Holtmark I, Lee S, Lunde KA, Auestad K, Maple-Grodem J, Møller SG (2013). Plastid division control: the PDV proteins regulate DRP5B dynamin activity. *Plant Mol Biol*, 82 (3): 255–266
- Hoppins S, Lackner L, Nunnari J (2007). The machines that divide and fuse mitochondria. *Annu Rev Biochem*, 76 (76): 751–780
- Hu Z, Gogol EP, Lutkenhaus J (2002). Dynamic assembly of MinD

- on phospholipid vesicles regulated by ATP and MinE. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99 (10): 6761–6766
- Hu Z, Lutkenhaus J (2000). Analysis of MinC reveals two independent domains involved in interaction with MinD and FtsZ. *J Bacteriol*, 182 (14): 3965–3971
- Hu Z, Lutkenhaus J (2001). Topological regulation of cell division in *E. coli* spatiotemporal oscillation of MinD requires stimulation of its ATPase by MinE and phospholipid. *Mol Cell*, 7 (6): 1337–1343
- Hu Z, Mukherjee A, Pichoff S, Lutkenhaus J (1999). The MinC component of the division site selection system in *Escherichia coli* interacts with FtsZ to prevent polymerization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (26): 14819–14824
- Hu Z, Saez C, Lutkenhaus J (2003). Recruitment of MinC, an inhibitor of Z-ring formation, to the membrane in *Escherichia coli*: role of MinD and MinE. *J Bacteriol*, 185 (1): 196–203
- Hudik E, Yoshioka Y, Domenichini S, Bourge M, Soubigout-Tacconat L, Mazubert C, Yi D, Bujaldon S, Hayashi H, De Veylder L, et al (2014). Chloroplast dysfunction causes multiple defects in cell cycle progression in the *Arabidopsis crumpled leaf* mutant. *Plant Physiol*, 166 (1): 152–167
- Hurlock AK, Roston RL, Wang K, Benning C (2014). Lipid trafficking in plant cells. *Traffic*, 15 (9): 915–932
- Itoh R, Fujiwara M, Nagata N, Yoshida S (2001). A chloroplast protein homologous to the eubacterial topological specificity factor minE plays a role in chloroplast division. *Plant Physiol*, 127 (4): 1644–1655
- Jiang X, Li H, Wang T, Peng C, Wang H, Wu H, Wang X (2012). Gibberellin indirectly promotes chloroplast biogenesis as a means to maintain the chloroplast population of expanded cells. *Plant J*, 72 (5): 768–780
- Kadirjan-Kalbach DK, Yoder DW, Ruckle ME, Larkin RM, Osteryoung KW (2012). *FtsH1/ARC1* is an essential gene in *Arabidopsis* that links chloroplast biogenesis and division. *Plant J*, 72 (5): 856–867
- Kang BH, Busse JS, Bednarek SY (2003). Members of the *Arabidopsis* dynamin-like gene family, ADL1, are essential for plant cytokinesis and polarized cell growth. *Plant Cell*, 15 (4): 899–913
- Karamoko M, El-Kafafi ES, Mandaron P, Lerbs-Mache S, Falconet D (2011). Multiple FtsZ2 isoforms involved in chloroplast division and biogenesis are developmentally associated with thylakoid membranes in *Arabidopsis*. *FEBS Lett*, 585 (8): 1203–1208
- Kessler F, Schnell D (2009). Chloroplast biogenesis: diversity and regulation of the protein import apparatus. *Curr Opin Cell Biol*, 21 (4): 494–500
- Koksharova OA, Wolk CP (2002). A novel gene that bears a DnaJ motif influences cyanobacterial cell division. *J Bacteriol*, 184 (19): 5524–5528
- Kuroiwa H, Mori T, Takahara M, Miyagishima SY, Kuroiwa T (2002). Chloroplast division machinery as revealed by immunofluorescence and electron microscopy. *Planta*, 215 (2): 185–190
- Lackner LL, Raskin DM, de Boer PA (2003). ATP-dependent interactions between *Escherichia coli* Min proteins and the phospholipid membrane *in vitro*. *J Bacteriol*, 185 (3): 735–749
- Landoni M, De Francesco A, Bellatti S, Delledonne M, Ferrarini A, Venturini L, Pilu R, Bononi M, Tonelli C (2013). A mutation in the *FZL* gene of *Arabidopsis* causing alteration in chloroplast morphology results in a lesion mimic phenotype. *J Exp Bot*, 64 (14): 4313–4328
- Lenarcic R, Halbedel S, Visser L, Shaw M, Wu LJ, Errington J, Marenduzzo D, Hamoen LW (2009). Localisation of DivIVA by targeting to negatively curved membranes. *EMBO J*, 28 (15): 2272–2282
- Li N, Xu C, Li-Beisson Y, Philippar K (2016). Fatty acid and lipid transport in plant cells. *Trends Plant Sci*, 21 (2): 145–158
- Lohse S, Hause B, Hause G, Fester T (2006). FtsZ characterization and immunolocalization in the two phases of plastid reorganization in arbuscular mycorrhizal roots of *Medicago truncatula*. *Plant Cell Physiol*, 47 (8): 1124–1134
- Loose M, Fischer-Friedrich E, Ries J, Kruse K, Schwille P (2008). Spatial regulators for bacterial cell division self-organize into surface waves *in vitro*. *Science*, 320 (5877): 789–792
- Lutkenhaus J (2007). Assembly dynamics of the bacterial MinCDE system and spatial regulation of the Z ring. *Annu Rev Biochem*, 76 (1): 539–562
- Ma X, Margolin W (1999). Genetic and functional analyses of the conserved C-terminal core domain of *Escherichia coli* FtsZ. *J Bacteriol*, 181 (24): 7531–7544
- Machida M, Takechi K, Sato H, Chung SJ, Kuroiwa H, Takio S, Seki M, Shinozaki K, Fujita T, Hasebe M, et al (2006). Genes for the peptidoglycan synthesis pathway are essential for chloroplast division in moss. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103 (17): 6753–6758
- Maple J, Aldridge C, Moller SG (2005). Plastid division is mediated by combinatorial assembly of plastid division proteins. *Plant J*, 43 (6): 811–823
- Maple J, Fujiwara MT, Kitahata N, Lawson T, Baker NR, Yoshida S, Moller SG (2004). GIANT CHLOROPLAST 1 is essential for correct plastid division in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 14 (9): 776–781
- Maple J, Vojta L, Soll J, Moller SG (2007). ARC3 is a stromal Z-ring accessory protein essential for plastid division. *EMBO Rep*, 8 (3): 293–299
- Mazouni K, Domain F, Cassier-Chauvat C, Chauvat F (2004). Molecular analysis of the key cytokinetic components of cyanobacteria: FtsZ, ZipN and MinCDE. *Mol Microbiol*, 52 (4): 1145–1158
- McAndrew RS, Froehlich JE, Vitha S, Stokes KD, Osteryoung KW (2001). Colocalization of plastid division proteins in the chloroplast stromal compartment establishes a new functional relationship between FtsZ1 and FtsZ2 in higher plants. *Plant Physiol*, 127 (4): 1656–1666
- Miyagishima SY (2005). Origin and evolution of the chloroplast division machinery. *J Plant Res*, 118 (5): 295–306
- Miyagishima SY (2011). Mechanism of plastid division: from a bacterium to an organelle. *Plant Physiol*, 155 (4): 1533–1544
- Miyagishima SY, Froehlich JE, Osteryoung KW (2006). PDV1 and

- PDV2 mediate recruitment of the dynamin-related protein ARC5 to the plastid division site. *Plant Cell*, 18 (10): 2517–2530
- Miyagishima SY, Itoh R, Aita S, Kuroiwa H, Kuroiwa T (1999). Isolation of dividing chloroplasts with intact plastid-dividing rings from a synchronous culture of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Planta*, 209 (3): 371–375
- Miyagishima SY, Itoh R, Toda K, Takahashi H, Kuroiwa H, Kuroiwa T (1998). Orderly formation of the double ring structures for plastid and mitochondrial division in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Planta*, 206 (4): 551–560
- Miyagishima SY, Kabeya Y, Sugita C, Sugita M, Fujiwara T (2014). DipM is required for peptidoglycan hydrolysis during chloroplast division. *BMC Plant Biol*, 14 (57): 1–15
- Miyagishima SY, Suzuki K, Okazaki K, Kabeya Y (2012). Expression of the nucleus-encoded chloroplast division genes and proteins regulated by the algal cell cycle. *Mol Biol Evol*, 29 (10): 2957–2970
- Miyagishima SY, Wolk CP, Osteryoung KW (2005). Identification of cyanobacterial cell division genes by comparative and mutational analyses. *Mol Microbiol*, 56 (1): 126–143
- Monahan LG, Liew AT, Bottomley AL, Harry EJ (2014). Division site positioning in bacteria: one size does not fit all. *Front Microbiol*, 5: 19
- 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 (3): 405–418
- Mozdy AD, Shaw JM (2003). A fuzzy mitochondrial fusion apparatus comes into focus. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 4 (6): 468–478
- Muhlberg AB, Warnock DE, Schmid SL (1997). Domain structure and intramolecular regulation of dynamin GTPase. *EMBO J*, 16 (22): 6676–6683
- Nakanishi H, Suzuki K, Kabeya Y, Miyagishima SY (2009). Plant-specific protein MCD1 determines the site of chloroplast division in concert with bacteria-derived MinD. *Curr Biol*, 19 (2): 151–156
- Nobusawa T, Umeda M (2012). Very-long-chain fatty acids have an essential role in plastid division by controlling Z-ring formation in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Cells*, 17 (8): 709–719
- Okazaki K, Kabeya Y, Suzuki K, Mori T, Ichikawa T, Matsui M, Nakanishi H, Miyagishima SY (2009). The PLASTID DIVISION1 and 2 components of the chloroplast division machinery determine the rate of chloroplast division in land plant cell differentiation. *Plant Cell*, 21 (6): 1769–1780
- Okazaki K, Miyagishima SY, Wada H (2015). Phosphatidylinositol 4-phosphate negatively regulates chloroplast division in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 27 (3): 663–674
- Olson BJ, Wang Q, Osteryoung KW (2010). GTP-dependent heteropolymer formation and bundling of chloroplast FtsZ1 and FtsZ2. *J Biol Chem*, 285 (27): 20634–20643
- Osteryoung KW, Pyke KA (2014). Division and dynamic morphology of plastids. *Annu Rev Plant Biol*, 65: 443–472
- Osteryoung KW, Stokes KD, Rutherford SM, Percival AL, Lee WY (1998). Chloroplast division in higher plants requires members of two functionally divergent gene families with homology to bacterial *ftsZ*. *Plant Cell*, 10 (12): 1991–2004
- Osteryoung KW, Vierling E (1995). Conserved cell and organelle division. *Nature*, 376 (6540): 473–474
- Pan D, Shi Y, Liu X, Gao Y, Liu Z, Gao H (2013). Genetic mapping and isolation of two *arc3* alleles in *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep*, 32 (1): 173–182
- Pan R, Hu J (2011). The conserved fission complex on peroxisomes and mitochondria. *Plant Signal Behav*, 6 (6): 870–872
- Patrick JE, Kearns DB (2008). MinJ (YvjD) is a topological determinant of cell division in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol*, 70 (5): 1166–1179
- Praefcke GJ, McMahon HT (2004). The dynamin superfamily: universal membrane tubulation and fission molecules? *Nat Rev Mol Cell Biol*, 5 (2): 133–147
- Pyke KA, Leech RM (1991). Rapid image analysis screening procedure for identifying chloroplast number mutants in mesophyll cells of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Physiol*, 96 (4): 1193–1195
- Pyke KA, Leech RM (1994). A genetic analysis of chloroplast division and expansion in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 104 (1): 201–207
- Pyke KA, Rutherford SM, Robertson EJ, Leech RM (1994). *arc6*, a fertile *Arabidopsis* mutant with only two mesophyll cell chloroplasts. *Plant Physiol*, 106 (3): 1169–1177
- Ramamurthi KS, Losick R (2009). Negative membrane curvature as a cue for subcellular localization of a bacterial protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106 (32): 13541–13545
- Raynaud C, Cassier-Chauvat C, Perennes C, Bergounioux C (2004). An *Arabidopsis* homolog of the bacterial cell division inhibitor SulA is involved in plastid division. *Plant Cell*, 16 (7): 1801–1811
- Raynaud C, Perennes C, Reuzeau C, Catrice O, Brown S, Bergounioux C (2005). Cell and plastid division are coordinated through the prereplication factor AtCDT1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 (23): 8216–8221
- Schmitz AJ, Glynn JM, Olson BJ, Stokes KD, Osteryoung KW (2009). *Arabidopsis* FtsZ2-1 and FtsZ2-2 are functionally redundant, but FtsZ-based plastid division is not essential for chloroplast partitioning or plant growth and development. *Mol Plant*, 2 (6): 1211–1222
- Shi LX, Theg SM (2013). The chloroplast protein import system: from algae to trees. *Biochim Biophys Acta*, 1833 (2): 314–331
- Simkova K, Kim C, Gacek K, Baruah A, Laloï C, Apel K (2012). The chloroplast division mutant *caa33* of *Arabidopsis thaliana* reveals the crucial impact of chloroplast homeostasis on stress acclimation and retrograde plastid-to-nucleus signaling. *Plant J*, 69 (4): 701–712
- Smith AG, Johnson CB, Vitha S, Holzenburg A (2010). Plant FtsZ1 and FtsZ2 expressed in a eukaryotic host: GTPase activity and self-assembly. *FEBS Lett*, 584 (1): 166–172
- Stokes KD, Osteryoung KW (2003). Early divergence of the *FtsZ1*

- and *FtsZ2* plastid division gene families in photosynthetic eukaryotes. *Gene*, 320 (3): 97–108
- Strepp R, Scholz S, Kruse S, Speth V, Reski R (1998). Plant nuclear gene knockout reveals a role in plastid division for the homolog of the bacterial cell division protein FtsZ, an ancestral tubulin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95 (8): 4368–4373
- Sugita C, Kato Y, Yoshioka Y, Tsurumi N, Iida Y, Machida Y, Sugita M (2012). *CRUMPLED LEAF (CRL)* homologs of *Physcomitrella patens* are involved in the complete separation of dividing plastids. *Plant Cell Physiol*, 53 (6): 1124–1133
- Suzuki K, Nakanishi H, Bower J, Yoder DW, Osteryoung KW, Miyagishima SY (2009). Plastid chaperonin proteins Cpn60 α and Cpn60 β are required for plastid division in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol*, 9 (38): 1–12
- Takano H, Takechi K (2010). Plastid peptidoglycan. *Biochim Biophys Acta*, 1800 (2): 144–151
- TerBush AD, Osteryoung KW (2012). Distinct functions of chloroplast FtsZ1 and FtsZ2 in Z-ring structure and remodeling. *J Cell Biol*, 199 (4): 623–637
- Veley KM, Marshburn S, Clure CE, Haswell ES (2012). Mechanosensitive channels protect plastids from hypoosmotic stress during normal plant growth. *Curr Biol*, 22 (5): 408–413
- Vercruyssen L, Tognetti VB, Gonzalez N, Van Dingenen J, De Milde L, Bielach A, De Rycke R, Van Breusegem F, Inze D (2015). GROWTH REGULATING FACTOR5 stimulates *Arabidopsis* chloroplast division, photosynthesis, and leaf longevity. *Plant Physiol*, 167 (3): 817–832
- Vitha S, Froehlich JE, Koksharova O, Pyke KA, van Erp H, Osteryoung KW (2003). ARC6 is a J-domain plastid division protein and an evolutionary descendant of the cyanobacterial cell division protein Ftn2. *Plant Cell*, 15 (8): 1918–1933
- Wilson ME, Basu MR, Bhaskara GB, Verslues PE, Haswell ES (2014). Plastid Osmotic Stress Activates Cellular Stress Responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 165 (1): 119–128
- Wilson ME, Jensen GS, Haswell ES (2011). Two mechanosensitive channel homologs influence division ring placement in *Arabidopsis* chloroplasts. *Plant Cell*, 23 (8): 2939–2949
- Wu GZ, Xue HW (2010). *Arabidopsis* β -ketoacyl-[acyl carrier protein] synthase I is crucial for fatty acid synthesis and plays a role in chloroplast division and embryo development. *Plant Cell*, 22 (11): 3726–3744
- Xu C, Fan J, Cornish AJ, Benning C (2008). Lipid trafficking between the endoplasmic reticulum and the plastid in *Arabidopsis* requires the extraplastidic TGD4 protein. *Plant Cell*, 20 (8): 2190–2204
- Yang Y, Sage TL, Liu Y, Ahmad TR, Marshall WF, Shiu SH, Froehlich JE, Imre KM, Osteryoung KW (2011). CLUMPED CHLOROPLASTS 1 is required for plastid separation in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 (45): 18530–18535
- Yoshida Y, Kuroiwa H, Misumi O, Nishida K, Yagisawa F, Fujiwara T, Nanamiya H, Kawamura F, Kuroiwa T (2006). Isolated chloroplast division machinery can actively constrict after stretching. *Science*, 313 (5792): 1435–1438
- Yoshida Y, Kuroiwa H, Misumi O, Yoshida M, Ohnuma M, Fujiwara T, Yagisawa F, Hirooka S, Imoto Y, Matsushita K, et al (2010). Chloroplasts divide by contraction of a bundle of nanofilaments consisting of polyglucan. *Science*, 329 (5994): 949–953
- Yun MS, Kawagoe Y (2010). Septum formation in amyloplasts produces compound granules in the rice endosperm and is regulated by plastid division proteins. *Plant Cell Physiol*, 51 (9): 1469–1479
- Zhang M, Chen C, Froehlich JE, TerBush AD, Osteryoung KW (2016). Roles of *Arabidopsis* PARC6 in coordination of the chloroplast division complex and negative regulation of FtsZ assembly. *Plant Physiol*, 170 (1): 250–262
- Zhang M, Hu Y, Jia J, Li D, Zhang R, Gao H, He Y (2009). CDP1, a novel component of chloroplast division site positioning system in *Arabidopsis*. *Cell Res*, 19 (7): 877–886
- Zhang M, Schmitz AJ, Kadirjan-Kalbach DK, TerBush AD, Osteryoung KW (2013). Chloroplast division protein ARC3 regulates chloroplast FtsZ-ring assembly and positioning in *Arabidopsis* through interaction with FtsZ2. *Plant Cell*, 25 (5): 1787–1802

Recent progress in the molecular mechanism of chloroplast division

LI Jin-Yu, AN Chuan-Jing, LIU Xiao-Min, GAO Hong-Bo*

College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Abstract: Chloroplasts are plant-specific organelles. They propagate mainly by binary fission. The division of chloroplasts is carried out by the coordinated action of many proteins. These proteins are partially inherited from the ancestor of chloroplasts, cyanobacteria, and partially derived during the evolution of plants. FtsZ ring, ARC5 ring and plastid-dividing ring are polymers formed during the process of chloroplast division, and many kinds of regulations are connected to them. Recent studies found some new proteins, lipids and peptidoglycan were involved in chloroplast division and/or its regulation, but the underlying mechanism is yet not clear. Chloroplast division is also affected by gene transcription, hormones and osmotic pressure. This review focuses on the recent progress in the components and the assembly of the chloroplast-dividing machinery, chloroplast division and its regulation mechanism.

Key words: chloroplast division; FtsZ; ARC5; Min system; transcriptional regulation; organelle proliferation

Received 2016-07-29 Accepted 2016-09-29

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31570182).

*Corresponding author (E-mail: gaobjfu@yahoo.com).