



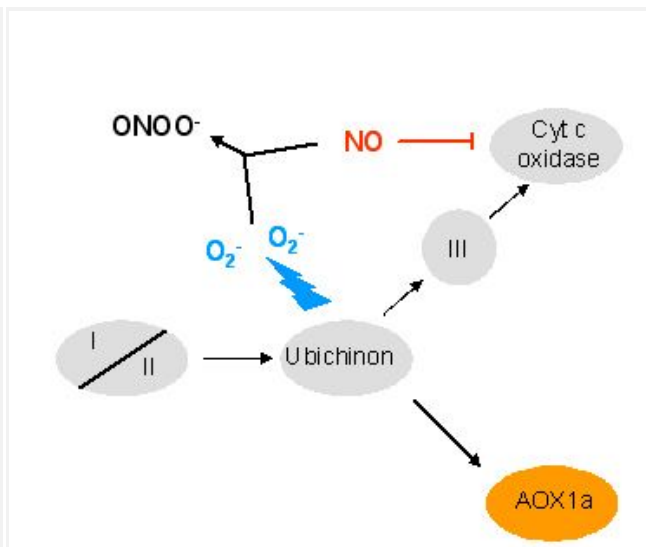
Alternative Oxidase als Abwehrenzym gegen das toxische Stickoxid (NO)

Von den Pflanzen bis zu den höheren Wirbeltieren existieren vielfache Antigenunspezifische Abwehrsysteme ("InnateImmunity"), welche ausschließlich in den Wirbeltieren durch das spezifische Abwehrsystem der Antikörper ergänzt wurden. Kennzeichen der Innate Immunity sind die nichtspezifische Erkennung von Pathogenen und die Bildung von toxischen, reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies. Dabei nimmt Stickoxid (NO, Stickstoffmonoxid) eine wichtige Funktion nicht nur als Waffe, sondern auch bei der Regulierung des Abwehrsystems ein. In den letzten Jahren wurden vielerlei Hinweise dafür gefunden, dass NO ein neuartiger Effektor auch in der Pflanzenabwehr ist. In jüngerer Zeit wurde am GSF-Institut für Biochemische Pflanzenpathologie und an anderen Forschungseinrichtungen gezeigt, dass dem NO eine wichtige Rolle in der Pflanzenabwehr gegen mikrobielle Schädlinge zukommt. Obwohl NO als Botenstoff eine entscheidende Rolle in der Regulation vieler zellulärer Prozesse spielt, ist NO auch eine toxische Substanz. NO induziert sowohl in Tieren als auch in Pflanzen Lipidperoxidation und damit Membranschäden. Seine biologischen Eigenschaften sind durch chemische Reaktivität gegenüber Sauerstoff, reaktiven Sauerstoffspezies und Metall-Ionen festgelegt. Grundsätzlich hat NO eine extrem hohe Affinität zu allen Häm- und Eisen-Schwefelproteinen. Die pathophysiologischen Wirkungen des NO zeigen sich insbesondere an der Elektronentransportkette der Mitochondrien. NO ist ein Atemgift und hemmt den Elektronentransportkomplex I/II, vor allem aber den terminalen Akzeptor Cytochrom c Oxidase (Abb. 1). Häufen sich die beim Elektronentransport entstehenden Radikale stark an und kommt der Einfluß von NO hinzu, sind die Schutzsysteme überlastet, und die NO/ROSRadikale schädigen ungehindert die mitochondriale DNA.

Die durch NO gesteuerte Genexpression wurde mittels unseres institutseigenen cDNA-Arrays für die Modellpflanze *Arabidopsisthaliana* analysiert. Eines der interessantesten, durch NO induzierten Gene ist zweifellos die Alternative Oxidase (AOX). In der Elektronentransportkette der Pflanzenmitochondrien können Elektronen vom Ubichinon-Pool anstatt auf Komplex III auch über AOX auf Sauerstoff übertragen werden. Dieses Enzym umgeht zwei Komplexe, an denen Protonen für die ATP-Bildung über die Membran transportiert werden könnten (Abb. 1).

Abb. 1:

NO hemmt den mitochondrialen Elektronentransportkomplex I/II, vor allem aber den terminalen Akzeptor, die Cytochrom c Oxidase. Das Resultat ist ein weitgehend reduzierter Ubichinon-Pool, der sich hierdurch in eine Quelle von zahlreichen reaktiven Sauerstoffspezies verwandeln kann. In Gegenwart von NO (dem Auslöser dieser Ubichinon-Reduktion) und Superoxid (O_2^-) entsteht so das hochtoxische Peroxynitrit ($ONOO^-$). In Pflanzen induziert NO die NO-tolerante (!) Alternative Oxidase, die als Überlaufventil für den Cytochrom-Weg dient.



Man geht davon aus, dass sie als sogenanntes Überlaufventil für den Cytochrom-Weg dient, d.h. dann von Bedeutung ist, wenn der Ubichinon-Pool stark reduziert ist. Da NO das AOX-Gen in *Arabidopsis* induziert, und gleichzeitig AOX, im Gegensatz zu Cytochrom c Oxidase, nicht durch NO geschädigt wird, war es naheliegend, die Bedeutung von AOX für die Aufrechterhaltung der zellulären Homeostasis bei erhöhtem NO-Stress zu untersuchen. **Abb. 2** zeigt Zellen einer Suspensionskultur von *Arabidopsis*, die mit Fluoreszenzindikatoren für Zelltod (Apoptose) geladen wurden und anschließend mit einer NO-freisetzenden Substanz behandelt wurden. Es zeigte sich, dass *Arabidopsis*-Zellen sehr wohl in der Lage sind, NO zu tolerieren (links). Eine Grundvoraussetzung scheint jedoch das Vorhandensein einer funktionalen AOX zu sein. Hemmt man AOX durch einen spezifischen Inhibitor (SHAM; rechts), sterben nahezu alle Zellen während der NO-Behandlung ab.

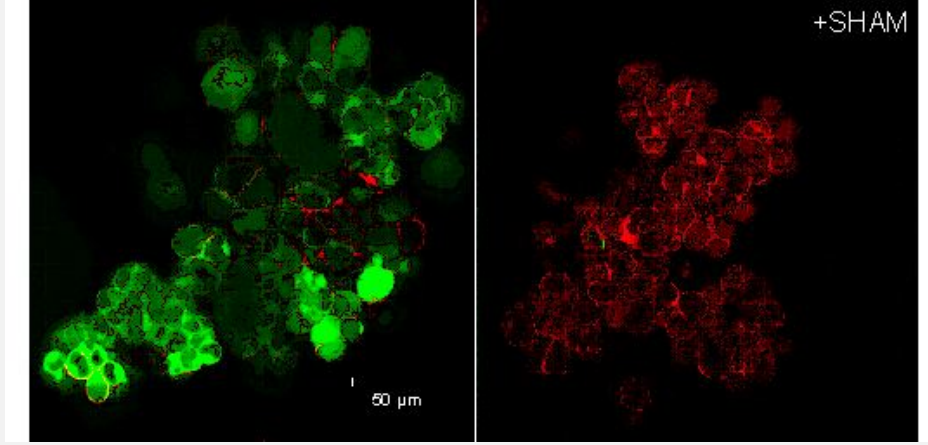


Abb. 2:

Zellen einer Suspensionskultur von *Arabidopsis* wurden mit Fluoreszenzindikatoren für Zelltod geladen (Fluoresceindiacetat und Evan's Blue) und anschließend mit einer NO-freisetzenden Substanz behandelt. Kontroll-Zellen tolerieren NO (grün; links). Hemmt man AOX durch einen spezifischen Inhibitor (SHAM; rechts), sterben nahezu alle Zellen während der NO-Behandlung ab (rote Fluoreszenz).

Parallel zu Transkriptanalysen werden wir weitere Projekte zu NO-Produktion und NO-abhängiger Signaltransduktion in Pflanzen verfolgen. Unklar ist derzeit, ob es sich bei dem NO-erzeugenden System in Pflanzen um eine NO-Synthase wie in Makrophagen handelt.

Wir sind an der Klonierung und biochemischen Charakterisierung der NO-aktivierten Signaltransduktionskette interessiert. Weiterhin ist zu klären, ob NO oder seine Derivate als mobile Botenstoffe dienen können und welche Rolle NO bei der Einleitung des programmierten Zelltodes spielt.

Uta von Rad, Christian Langebartels, Jörg Durner



[HOME](#)



[back](#)

[frühere Berichte](#)

