

Pflanzenforschung

Lipide und Vitamine in Chloroplasten höherer Pflanzen: Essentiell für Photosynthese und menschliche Ernährung

Dörmann, Peter

Max-Planck-Institut für molekulare Pflanzenphysiologie, Potsdam

Abteilung - Molekulare Physiologie

Korrespondierender Autor: Dörmann, Peter

E-Mail: doermann@mpimp-golm.mpg.de

Zusammenfassung

Die Photosynthese höherer Pflanzen stellt die Grundlage allen Lebens auf der Erde dar. Die Chlorophyll-Protein-Komplexe der Photosynthese sind in die Thylakoid-Membranen der Chloroplasten eingebettet. Neben den Membranlipiden synthetisieren Chloroplasten eine Anzahl von Isoprenoidlipiden, die für die menschliche Ernährung essentiell sind, insbesondere Tocopherol (Vitamin E), Phyllochinon (Vitamin K) und β -Carotin (Provitamin A). Galactolipide stellen den größten Teil der Membranlipide in Chloroplasten dar. Untersuchungen von *Arabidopsis*-Mutanten ergaben, dass Galactolipide für das Pflanzenwachstum und die Photosynthese essentiell sind. Weiterhin sind Galactolipide bei Phosphatmangel für das Wachstum notwendig, weil sie Phospholipide in den Membranen ersetzen, um Phosphat für andere zelluläre Prozesse bereitzustellen. Tocopherol (Vitamin E) ist ein wichtiges Antioxidationsmittel und findet als Nahrungsergänzungsmittel in der menschlichen Ernährung breite Anwendung. Bei *Arabidopsis*-Mutanten mit einem Defekt in der Vitamin-E-Biosynthese sind Wachstum und Photosynthese erstaunlicherweise kaum betroffen. Offensichtlich kann Vitamin E in der Pflanze durch andere Antioxidationsmittel ersetzt werden. Mithilfe biotechnologischer Methoden sollte es in Zukunft möglich sein, den Bedarf an natürlichem Vitamin E aus transgenen Nutzpflanzen zu decken.

Abstract

Photosynthesis in green plants is the basis for all life on earth. The chlorophyll-protein complexes of photosynthesis are embedded into the thylakoid membranes of chloroplasts. Chloroplasts are capable of synthesizing a unique set of membrane lipids and isoprenoid lipids, some of which are essential for human nutrition, e.g., tocopherol (vitamin E), phylloquinone (vitamin K) and β -carotene (provitamin A). Galactolipids represent the most abundant membrane lipid class in chloroplasts. The analysis of Arabidopsis mutants revealed that galactolipids are essential for growth and photosynthesis. Furthermore, galactolipids are critical during growth on phosphate-limiting soils, because they replace phospholipids in the membranes and make phosphate available for other important cellular processes. Tocopherol (vitamin E) is one of the most important antioxidants. Thus, vitamin E is used as a major dietary supplement for human nutrition. Interestingly, growth and photosynthesis of Arabidopsis mutants carrying a defect in tocopherol biosynthesis are very similar to wild type, indicating that tocopherol can be substituted by other antioxidants in the plant cell. Employing biotechnological approaches, the natural form of vitamin E required to serve a growing population might be derived from transgenic crop plants in the near future.

Chloroplasten der Pflanzen enthalten einen einzigartigen Satz von Lipiden

Die Photosynthese der Pflanzen ist die Grundlage allen Lebens auf der Erde, denn Pflanzen sind in der Lage, Lichtenergie in chemische Energie umzuwandeln, die zum Aufbau organisch chemischer Verbindungen notwendig ist. Darüber hinaus wird bei der oxygenen Photosynthese in Pflanzen elementarer Sauerstoff freigesetzt, der für die Atmung der eukaryotischen Organismen unabdingbar ist. Die Chloroplasten höherer Pflanzen enthalten ein einzigartiges Membransystem, die Thylakoide, welche die Chlorophyll-Protein-Komplexe der Photosynthese beherbergen. Die Thylakoid-Membranen unterscheiden sich in ihrer Protein- und Lipid-Zusammensetzung von allen anderen pflanzlichen Membranen, aber auch von den Membranen anderer Organismen wie Bakterien, Hefen oder Tieren. Der Hauptanteil der Thylakoidlipide wird von den Galactolipiden gestellt, die ein oder zwei Galaktose-Zucker gebunden an Diacylglycerol enthalten (**Abb. 1**).

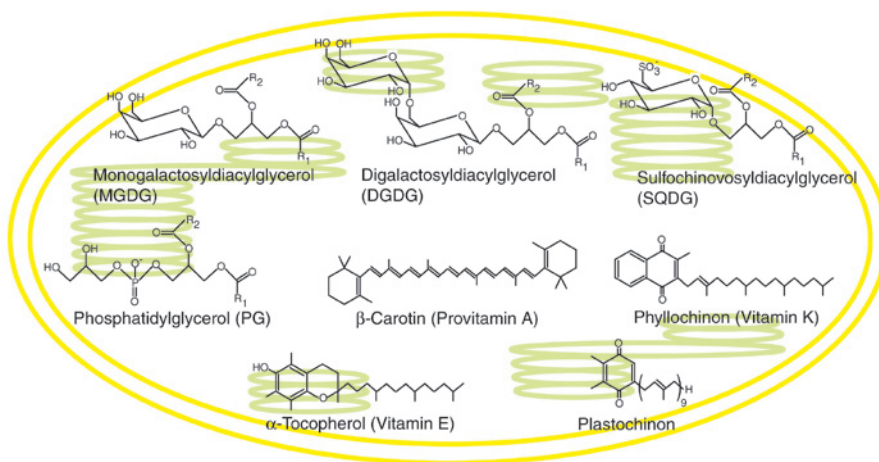


Abbildung 1
Dörmann (2005)

Abb. 1: Chloroplasten höherer Pflanzen enthalten verschiedene Galactolipide, Sulfolipide, Phospholipide und Isoprenoidlipide.

Die beiden Galactolipide, Monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) und Digalactosyldiacylglycerol (DGDG), stellen die häufigste Lipidklasse der Biosphäre dar. Das Sulfolipid Sulfochinovosyldiacylglycerol (SQDG) enthält einen sulfonylierten Zucker als Kopfgruppe. Phosphatidylglycerol (PG) stellt das einzige Phospholipid der Thylakoide dar. β -Carotin (Provitamin A) gehört zur Lipidklasse der Carotinoide, die in Pflanzen an der Photosynthese beteiligt sind. Zu den Isoprenoidlipiden gehören die Elektronenträger der Photosynthese, Plastochinon und Phyllochinon (Vitamin K) sowie das Antioxidationsmittel Tocopherol (Vitamin E).

Urheber: Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie

Zusammen machen die Galactolipide circa 75 % der Thylakoidlipide aus. Da die Thylakoide mit Abstand den größten Anteil aller Membranen in den grünen Geweben ausmachen, stellen diese beiden Lipide auch die größte Lipidklasse in Pflanzen und somit in der gesamten Biosphäre dar. Phospholipide dagegen, wie sie aus Hefen und Tieren bekannt sind, kommen in Chloroplasten nur in geringer Menge vor. Das einzige Phospholipid der Thylakoide, Phosphatidylglycerol, macht nur etwa 10 % der Membranlipide aus (**Abb. 1**). Weiterhin enthalten Chloroplasten circa 5 % Sulfochinovosyldiacylglycerol, ein Sulfoglycolipid, das ausschließlich in Chloroplasten-Membranen vorkommt.

Die Thylakoid-Membranen enthalten weiterhin verschiedene Isoprenoidlipide. Hierzu gehören die grünen Blattpigmente (Chlorophylle) und Carotinoide sowie andere Isoprenoidlipide, die als Elektronenträger der Photosynthese (Plastochinon und Phyllochinon) und als Antioxidationsmittel (Tocopherol) bekannt sind (**Abb. 1**). Einige der Isoprenoidlipide sind essentiell für die menschliche Ernährung, denn

sie stellen Vitamine dar und können nicht vom menschlichen Stoffwechsel synthetisiert werden. β -Carotin, ein Carotinoid der Photosynthesekomplexe, dient als Provitamin A der Erzeugung von Retinol, das als Sehpigment der Augen bekannt ist. Phyllochinon (Vitamin K) dient im Menschen als Kofaktor bei der γ -Carboxylierung von Glutamat-Einheiten, insbesondere in Proteinfaktoren der Blutgerinnung (z.B. Prothrombin). Tocopherol schließlich ist ein hochwirksames Antioxidationsmittel, das die Zellen vor reaktivem Sauerstoff schützt.

Galactolipide sind essentiell für die Photosynthese und für das Wachstum unter Phosphatmangel

Die beiden Galactolipide Monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) und Digalactosyldiacylglycerol (DGDG) bilden das Rückgrat der Thylakoidmembran (**Abb. 1**); [1]. Außerdem kommen sie gebunden an die Photosynthesekomplexe vor. So wurde MGDG als Bestandteil der Struktur von Photosystem I gefunden. DGDG ist ein integraler Bestandteil der Lichtsammelkomplexe II (light harvesting complexes, LHC II). Die große Menge an Galactolipiden in den Thylakoid-Membranen sowie ihr Vorkommen in den Photosynthesekomplexen ließ schon früh vermuten, dass sie für die photosynthetischen Lichtreaktionen essentiell sind. Eine Bestätigung dieser Hypothese erhielten die Wissenschaftler aus der Untersuchung von Galactolipid-defizienten *Arabidopsis*-Mutanten. Die *mgd1*-Mutante von *Arabidopsis* enthält nur noch etwa die Hälfte des normalen MGDG-Gehalts [2]. Die Pflanzen sind im Wachstum und in der Photosynthese-Effizienz reduziert und enthalten weniger Chlorophyll. Dies zeigt, dass MGDG essentiell für die Aufrechterhaltung der normalen Photosynthese ist. In *Arabidopsis* gibt es zwei Gene, die für Enzyme der DGDG-Synthese kodieren: *DGD1* und *DGD2* [3]. *DGD1* ist für die Synthese des größten Teils an DGDG verantwortlich. Dementsprechend enthält die *dgd1*-Mutante nur noch 1/10 des normalen DGDG-Gehalts und ist im Wachstum und in der Photosynthese-Effizienz beeinträchtigt (**Abb. 2**). Die Doppelmutante, *dgd1 dgd2* ist völlig DGDG-frei und dramatisch in der Photosynthese-Effizienz beeinträchtigt. Ein deutliches Indiz dafür, dass das Galactolipid DGDG für die Photosynthese essentiell ist [4].

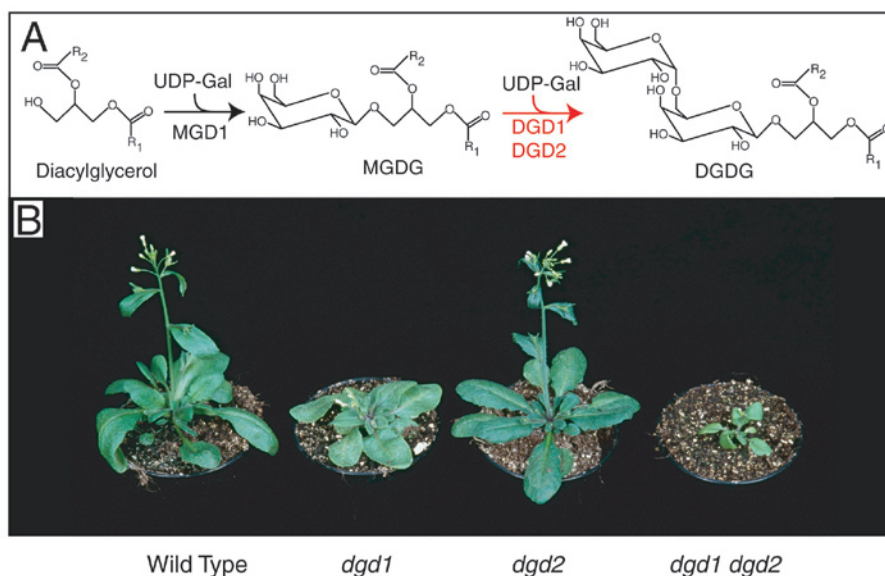


Figure 2
Dörmann (2005)

Abb. 2: Galactolipid-defiziente *Arabidopsis*-Mutanten zeigen ein stark reduziertes Wachstum.

A) Monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) wird aus Diacylglycerol und UDP-Galactose durch MGDG-Synthasen (z. B. MGD1) synthetisiert. Die beiden DGDG-Synthasen, DGD1 und DGD2, katalysieren die Umsetzung von MGDG zu Digalactosyldiacylglycerol (DGDG). B) Die *Arabidopsis*-Mutanten *dgd1*, *dgd2* und die Doppelmutante *dgd1 dgd2* zeigen verschiedene Grade an Wachstumsreduktion.

Urheber: Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie

Neben der Photosynthese spielen Galactolipide eine wichtige Rolle beim Wachstum von Pflanzen unter Phosphatmangel. Pflanzen benötigen große Mengen an Phosphat zur Aufrechterhaltung ihres Stoffwechsels. Ein erheblicher Teil des Phosphats wird für die Synthese der Nucleinsäuren RNA und DNA verwendet, also für die Genexpression und die Replikation des Genoms. Weiterhin findet sich organisch gebundenes Phosphat in Proteinen und in den Nucleotiden (z. B. ATP, GTP), phosphorylierten Zuckern und Zucker-Nucleotiden (z. B. UDP-Glucose). Ein großer Anteil des Phosphats wird aber für die Synthese von Phospholipiden, also für die Ausbildung der biologischen Membran verwendet. Unter Phosphatmangel werden in Pflanzen Phospholipide in den Membranen abgebaut und durch phosphatfreie Glycolipide (DGDG und SQDG) ersetzt. Das Phosphat aus den Membranen wird für andere wichtige Prozesse verwendet, beispielsweise zur RNA- und DNA-Synthese. Die Umwandlung der Phospholipide in Glycolipide stellt einen aktiven Prozess dar, weil die Expression einer Reihe von Genen der Galactolipid- und der Sulfolipid-Biosynthese induziert wird. Dieser elementare Prozess des Austausches von Phospholipiden und Glycolipiden betrifft nicht nur die chloroplastidären Membranen, sondern auch extraplastidäre Membranen wie die Plasmamembran oder Mitochondrien.

Vitamin-E-Mangel in Pflanzen hat nur einen geringen Einfluss auf Wachstum und Photosynthese

Die Gruppe der Tocopherole und Tocotrienole bildet die Stoffklasse des Vitamin E, das als Antioxidationsmittel in Pflanzen und Tieren eine große Bedeutung beim Abbau von reaktivem Sauerstoff (reactive oxygen species) wie Peroxiden, Superoxiden und Singulett-Sauerstoff spielt. Die Kopfgruppe des Tocopherols stammt aus dem Biosyntheseweg der aromatischen Aminosäuren („Shikimat“-Biosyntheseweg), während die Seitenkette aus der Isoprenoid-Synthese abgeleitet ist (**Abb. 3**); [5].

Je nachdem ob der Isoprenoidteil von Phytol oder von Geranylgeranol abgeleitet ist, unterscheidet man Tocopherole mit gesättigter Seitenkette bzw. Tocotrienole mit ungesättigter Seitenkette [6]. In Pflanzen wird Tocopherol in den Hüllmembranen der Chloroplasten synthetisiert. Es schützt ungesättigte Fettsäuren und die Chlorophyll-Protein-Komplexe der Photosynthese in den Thylakoiden vor Oxidation. Durch einen genetischen Screeningansatz wurden *Arabidopsis*-Mutanten isoliert, in denen die Tocopherol-Biosynthese gestört ist. Die *vte1*-Mutante (für Vitamin-E-defizient 1), die im Rahmen dieses Projekts gefunden wurde, enthält kein Tocopherol mehr und stellt somit die erste Vitamin-E-freie Pflanze dar [7]. Erstaunlicherweise sind das Wachstum, der Gehalt an ungesättigten Fettsäuren und die Photosynthese-Effizienz in diesen Pflanzen kaum verändert. Daher muss geschlossen werden, dass Tocopherol für die Photosynthese der Pflanze nicht absolut notwendig ist. Es gibt offensichtlich alternative Antioxidationsmittel, die an der Abwehr von reaktivem Sauerstoff beteiligt sind (zum Beispiel Glutathion, Ascorbat, Carotinoide; [8]). Im Gegensatz zu grünen Blättern ist Tocopherol allerdings bei der Samenkeimung essentiell. Untersuchungen zeigten, dass Tocopherol-Mangel die Keimungsfähigkeit der Samen dramatisch verringert, wahrscheinlich durch eine vermehrte Oxidation des Speicherlipids durch reaktiven Sauerstoff [9].

Das Gen, welches in der *vte1*-Mutante betroffen ist, wurde im *Arabidopsis*-Genom kartiert und durch Komplementation isoliert [7]. Funktionstests ergaben, dass es sich bei dem VTE1-Protein um die Tocopherol-Cyclase handelt, die für den vorletzten Schritt der Tocopherol-Biosynthese in Pflanzen wichtig ist. Die Tocopherol-Cyclase katalysiert den Schluss des zweiten Rings des Tocopherol-Moleküls und ist daher für die Synthese der charakteristischen Kopfgruppe notwendig. Weiterhin ist die Tocopherol-Cyclase maßgeblich an der Regulation der Tocopherol-Biosynthese beteiligt. Die Überexpression von VTE1 in transgenen *Arabidopsis*-Pflanzen ergab eine Steigerung des Tocopherol-Gehalts in den Blättern [8]. Die Gene der Tocopherol-Cyclase und anderer Schritte der Tocopherol- und Tocotrienol-Biosynthese werden zurzeit für die Erhöhung des Vitamin-E-Gehalts in transgenen Nutzpflanzen verwendet, um den Bedarf dieses wichtigen Antioxidants für die menschliche Ernährung in den

Industriestaaten und in der dritten Welt sicherzustellen (z. B. [6]; [10]). Ein großer Teil des Vitamin E, das als Nahrungsergänzungstoff im Handel ist, wird synthetisch aus Erdölprodukten gewonnen und unterscheidet sich in seiner Isomeren-Zusammensetzung von natürlich vorkommendem Vitamin E. Mithilfe biotechnologischer Methoden sollte es aber in Zukunft möglich sein, den Bedarf an natürlichem Vitamin E aus transgenen Nutzpflanzen zu decken.

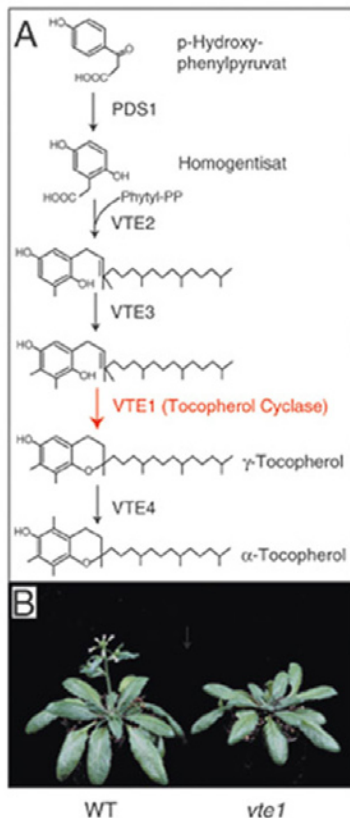


Figure 3
Dörmann (2005)

Abb. 3: Tocopherol (Vitamin E)-Mangel hat keinen Einfluss auf das Wachstum von Arabidopsis-Pflanzen.

A) Biosynthese von α -Tocopherol aus p-Hydroxyphenylpyruvat. B) Eine Mutation im Gen der Tocopherol-Cyclase (VTE1) führt zum vollständigen Verlust von Tocopherol in der Arabidopsis-Mutante vte1, hat aber keinen großen Einfluss auf das Wachstum.

Urheber: Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie

Literaturhinweise

- [1] Dörmann P. and C. Benning:
Galactolipids rule in seed plants
Trends in Plant Sciences **7**, 112-118 (2002).
- [2] Jarvis P., P. Dörmann, C. A. Peto, J. Lutes, C. Benning and J. Chory:
Galactolipid deficiency and abnormal chloroplast development in the Arabidopsis MGD synthase 1 mutant
Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA **97**, 8175-8179 (2000).
- [3] Dörmann P., I. Balbo and C. Benning:
Arabidopsis galactolipid biosynthesis and lipid trafficking mediated by DGD1
Science **284**, 2181-2184 (1999).

- [4] Kelly A. A., J. E. Froehlich and P. Dörmann:
Disruption of the two digalactosyldiacylglycerol synthase genes DGD1 and DGD2 in Arabidopsis reveals the existence of an additional enzyme of galactolipid synthesis
The Plant Cell **15**, 2694-2706 (2003).
- [5] Dörmann, P.:
Corn with enhanced antioxidant potential
Nature Biotechnology **21**, 1015-1016 (2003).
- [6] Cahoon E. B., S. E. Hall, K. G. Ripp, T. Ganzke, W. D. Hitz and S. J. Coughlan:
Metabolic redesign of vitamin E biosynthesis in plants for tocotrienol production and increased antioxidant content
Nature Biotechnology **21**, 1082-1087 (2003).
- [7] Porfirova S., E. Bergmüller, S. Tropf, R. Lemke and P. Dörmann:
Isolation of an Arabidopsis mutant lacking vitamin E and identification of a cyclase essential for all tocopherol biosynthesis
Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA **99**, 12495-12500 (2002).
- [8] Kanwischer M., S. Porfirova, E. Bergmüller and P. Dörmann:
Alterations in tocopherol cyclase (VTE1) activity in transgenic and mutant plants of Arabidopsis affect tocopherol content, tocopherol composition and oxidative stress
Plant Physiology **137**, 713-723 (2005).
- [9] Sattler S.E., L. U. Gilliland, M. Magallanes-Lundback, M. Pollard and D. DellaPenna:
Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination.
The Plant Cell **16**, 1419-1432 (2004).
- [10] van Eenennaam, A. L., K. Lincoln, T. P. Durrett, H. E. Valentin, C. K. Shewmaker, G. M. Thorne, J. Jiang, S. R. Baszis, C. K. Levering, E. D. Aasen, M. Hao, J. C. Stein, S. R. Norris and R. L. Last:
Engineering vitamin E content: From Arabidopsis mutant to soy oil.
The Plant Cell **15**, 3007-3019 (2003).

Drittmittelfinanzierung

Dieses Projekt wurde zum Teil unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG).