

植物体内活性氧(ROS)的产生及其作用研究进展

郭玉双¹, 李祥羽², 任学良¹

(1. 贵州省烟草科学研究所, 贵州 贵阳 550081; 2. 黑龙江省农业科学院 作物育种研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:活性氧(Reactive oxygen species, ROS)是植物体内正常代谢的信号小分子, 在植物的生长发育和抗逆反应中具有重要作用。综述了植物体内 ROS 产生的过程、对植物蛋白的修饰及在植物体内的主要功能。

关键词:活性氧; 蛋白修饰; 信号转导

中图分类号: Q945.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2011)08-0146-03

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是有氧生物的进化产生的一类含氧基团, 具有较高的生物活性。活性氧在被发现时被认为是生物体氧代谢的副产物。近些年, 随着研究的深入, 发现活性氧在植物的正常生长及代谢过程中还有许多其它重要的功能如信号分子作用, 活性氧分子作为一种信号分子在介导植物的生长发育对生物与非生物胁迫响应、蛋白修饰和基因表达调控方面具有重要功能。

1 植物体内活性氧的产生

高等植物通过有氧代谢将氧气还原成水, 为植物生长发育的各个环节提供能量。对于需氧生物来说, 在还原过程不完全时, 就会不可避免的产生 ROS, 在植物体内主要包括以下几种类型: 超氧根阴离子($O_2^{\cdot-}$), 氢氧根离子(OH^{\cdot}), 羟基自由基($\cdot OH$)、过氧化氢(H_2O_2)等^[1-2]。

植物细胞中产生 ROS 的部位有细胞膜、叶绿体、线粒体和过氧化物体等(见图 1), 其中叶绿体和线粒体是产生 ROS 的主要部位。ROS 在线粒体和叶绿体的产生途径主要是通过电子传递; 除此之外, ROS 也可以通过代谢产生, 如脂肪酸 β -氧化等^[3-4]。

1.1 叶绿体内 ROS 的产生

在叶绿体中进行的光原反应是植物 ROS 产生的主要方式^[5]。氧的光还原主要有 3 条途径: 类囊体途径、叶绿体基质途径和黄素脱氢酶途径, 每种途径都可产生 ROS。

在类囊体途径中, 类囊体能够利用光系统 I(PSI)复合体中的 $psaA$ 和 $psaB$ 组分上的 X 铁

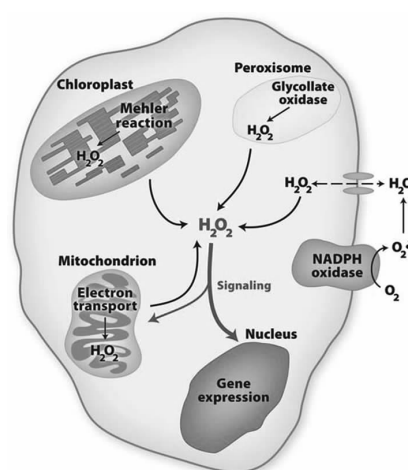


图 1 植物体内电子传递与活性氧的产生^[4]

硫簇($4Fe-4S$)以及 $psaC$ 组分上的 A/B 铁硫簇($4Fe-4S$)的电子供体在光照条件下能够将氧还原成 $O_2^{\cdot-}$ ^[6]。在中性 pH 条件下, 类囊体氧分子光还原速率大约为每秒钟每分子 PSI 产生 4 分子 $O_2^{\cdot-}$ ^[6]。

叶绿体基质途径产生 ROS 主要在光呼吸途径完成, 在这一过程中, 氧分子由 Rubisco 催化而得到还原。叶绿体基质途径在低浓度氧气和高浓度 CO_2 条件下受到抑制。通常情况大气氧浓度高于 16% ($160 \text{ pmol} \cdot L^{-1}$) 和光强较高时, 这一反应途径即可达到饱和^[7]。

在黄素脱氢酶途径中, 黄素脱氢酶催化 NADPH 与 O_2 反应产生 $O_2^{\cdot-}$, 这一反应需要在氧浓度较高情况下进行, 参与这一过程的脱氢酶主要有叶绿体的铁氧还蛋白-NADP⁺ 还原酶(FNR)、谷胱甘肽还原酶(GR)以及单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR)。

1.2 线粒体内 ROS 的产生

越来越多的实验表明, 线粒体是另外一个主要的 ROS 来源, 高浓度的 ROS 在线粒体当中能引起植物细胞的程序性死亡。众所周知, 植物线粒体的电子传递链(electron transport chain,

收稿日期: 2011-05-02

基金项目: 国家甜菜现代农业产业技术体系-甜菜种质资源评价岗位资助项目(CARS-210101)

第一作者简介: 郭玉双(1981-), 男, 山东省胶州市人, 博士, 助理研究员, 从事烟草生物技术研究。E-mail: yshguo@126.com。

通讯作者: 任学良(1976-), 男, 陕西省孝义市人, 博士, 副研究员, 从事烟草育种及生物技术研究。E-mail: renxuel@126.com。

ETC)包括四种复合物,第一种是 NADH 脱氢酶(NADH dehydrogenase, Complex I);第二种是琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, Complex II);第三种是辅酶 Q-细胞色素 bc1 还原酶(ubiquinol-cytochrome bc1, Complex III);第四种是细胞色素 c 氧化酶(cytochrome C oxidase, Complex IV),这些复合体均具有电子传递特性。同时,植物的 ETC 还包 1 种交替氧化酶(alternative oxidase, AOX)和 4 种 NAD(P)H 脱氢酶,这些都是 ROS 可能产生的位置^[8]。

在通常的线粒体电子传递过程中,电子沿着一系列的电子传递体传递到末端氧化酶,然后再传递给氧,最后质子与离子型氧结合生成水。然而,一些位于呼吸链底物端的物质,如非血红素铁蛋白(non-heme iron proteins)、醌(quinols)、尤其是半醌(semiquinols)等能够导致正常的氧化还原反应发生障碍,导致 O_2 的单电子被还原而产生 $O_2^{\cdot-}$ ^[9]。在上述情况下,电子传递未正常达到末端氧化酶,而是直接与氧反应生成 $O_2^{\cdot-}$,这也是线粒体产生 ROS 的主要方式。其中,在线粒体中电子传递过程中,Complex I 和 Complex III 是 ETC 产生 ROS 最为主要的部位^[10]。

2 ROS 对蛋白质氧化还原状态的影响

植物体内过多的 ROS 能够介导蛋白质的氧化,从而影响蛋白质在体内的活性,ROS 介导蛋白质氧化的途径主要是:ROS 首先通过介导脂质过氧化以及加速非酶糖基化,然后,脂质过氧化产物和非酶糖基化产物再与蛋白质反应,进一步导致蛋白质的氧化,形成蛋白质羰基化产物以及蛋白质·蛋白质交联产物。这类修饰主要发生在含有半胱氨酸的巯基蛋白上,通过巯基(-SH)和二硫键(-S-S-)形式的转换(见图 2),这些蛋白质改变细胞内的氧化还原状态,从而实现对蛋白功能的调控^[11-12]。

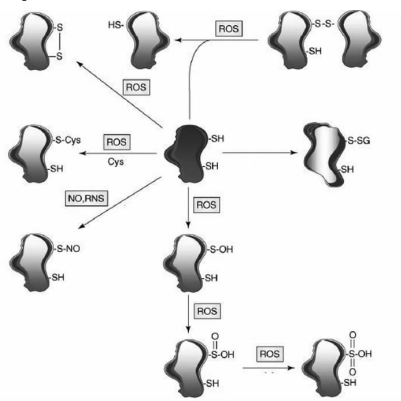


图 2 ROS 对蛋白氧化还原状态的修饰^[18]

近年来,越来越多的实验表明,蛋白质的可逆氧化还原修饰被认为是生物体内调控的重要方式,对植物对外界的反应产生重大影响,植物体内的很多信号分子以及转录因子都要通过蛋白氧化

还原状态的改变才能实现功能^[13-15]。因此,蛋白质的氧化还原修饰成为除磷酸化、糖基化及泛素化修饰外的重要方式,逐渐的成为了人们研究的热点^[16-18]。

3 ROS 的主要功能

研究表明,ROS 是植物正常生长发育过程中重要的信号分子,参与植物和细胞内的分子、生化和生理反应,尤其在植物的防卫反应和细胞程序性死亡过程中发挥重要作用。

3.1 ROS 在植物防卫反应中的作用

虽然人们对于 ROS 在植物信号转导的作用已有些了解,但其作用模式还不是很清楚^[19]。现在普遍认为 ROS 可能在低浓度时作为信号传导的小分子,而在高浓度下能破坏一些蛋白质的结构,而干扰细胞正常的信号传递过程,并产生毒性^[20]。ROS 在植物与病原菌相互作用尤其是早期阶段有重要的第二信使作用。目前的研究表明, H_2O_2 在抗病信号传导中处于水杨酸(salicylic acid, SA)的下游,并能诱导病程相关蛋白的表达^[21]。越来越多的实验表明, H_2O_2 可以作为局部和系统的信号分子诱导植物的抗病性。通过转基因技术来提高植物体内的 H_2O_2 水平能够积累 SA 和几丁质酶,并提高阴离子 CAT 水平以及诱导防卫基因的表达从而提高植物对病原菌的抗性^[22-23]。进一步研究发现,ROS 在植物的抗逆信号传导中具有重要作用,表现为植物在一种环境胁迫的条件下可以获得对其它胁迫更高的抗性。这是因为不同的胁迫在细胞及分子水平上产生相似的作用,即均能产生 ROS^[24]。研究表明,拟南芥经臭氧或紫外处理能够提高对猕猴桃细菌性溃疡病菌(*Pseudomonas syringae*)的抗性,而烟草经相同的处理能提高对烟草花叶病毒的抗性^[25-26]。同理,干旱处理过的植物普遍能提高对低温的抗性^[27]。

3.2 ROS 在植物细胞程序性死亡中的作用

细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)是植物生长周期中必要的过程,目前植物的 PCD 反应研究最好的模型是植物与病原菌非亲和互作中的 HR(hypersensitive response)反应。在 HR 反应过程中,病原菌侵入点附近的细胞内氧化性物质的大量产生并导致细胞的程序性死亡,从而抑制了病原菌的侵染。这种氧化性物质的爆发是由于 NADPH 氧化酶复合物的作用。然而,正是由于在 HR 反应过程中产生的 ROS 调节了这种 NADPH 氧化酶复合物的活性。通过用病原菌的激发子处理烟草细胞,能够诱导烟草细胞内大量的 H_2O_2 积累,同时烟草体内的过氧化氢酶基因 *Cat1* 和 *Cat2* 的 mRNA 水平和蛋白质水平都有所减少,且该酶的活性也受到了抑制。同样,病毒介导的类似 HR 反应同样能够诱导 H_2O_2 积累从而抑制 *Apx* 类基因的表达^[28]。

4 展望

随着人们对活性氧研究的深入,越来越多的ROS的功能将得到阐明,尤其是ROS在植物基因表达调控信号网络中的作用,将会有更深入的了解。ROS介导的蛋白氧化还原的动态转化,也是ROS研究的热点,这对于揭示很多生命现象具有重要意义。

参考文献:

- [1] Vranova E, Inze D, Van Breusegem F. Signal transduction during oxidative stress[J]. *J Exp Bot*, 2002, 53:1227-1236.
- [2] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species; metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55:373-399.
- [3] Dutilleul C, Garmier M, Noctor G, et al. Leaf mitochondria modulate whole cell redox homeostasis, set antioxidant capacity, and determine stress resistance through altered signaling and diurnal regulation[J]. *Plant Cell*, 2003, 15:1212-1226.
- [4] Buchanan B B, Balmer Y. Redox regulation: a broadening horizon[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2005, 56:187-220.
- [5] Mikuni T, Tatsuta M, Kamachi M. Scavenging effect of butylated hydroxytoluene on the production of free radicals by the reaction of hydrogen peroxide with N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1987, 79:281-283.
- [6] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: Dissipation of Excess Photons[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 50:601-639.
- [7] Rizhsky L, Liang H, Mittler R. The water-water cycle is essential for chloroplast protection in the absence of stress[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278:38921-38925.
- [8] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7:405-410.
- [9] Rasmusson A G, Heiser V, Zabaleta E, et al. Physiological, biochemical and molecular aspects of mitochondrial complex I in plants[J]. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)*, 1998, 1364:101-111.
- [10] Moller I M. Plant Mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52:561-591.
- [11] Nicolas R. Plant glutaredoxins: pivotal players in redox biology and iron-sulphur centre assembly[J]. *New Phytol*, 2010, 186:365-372.
- [12] Ghezzi P. Oxidoreduction of protein thiols in redox regulation[J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33:1378-1381.
- [13] Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, et al. S-glutathionylation in protein redox regulation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43:883-898.
- [14] Cross J V, Templeton D J. Oxidative stress inhibits MEKK1 by site-specific glutathionylation in the ATP-binding domain[J]. *Biochem J*, 2004, 381:675-683.
- [15] Rinna A, Torres M, Forman H J. Stimulation of the alveolar macrophage respiratory burst by ADP causes selective glutathionylation of protein tyrosine phosphatase 1B[J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 41:86-91.
- [16] Tada Y, Spoel S H, Pajerowska-Mukhtar K, et al. Plant immunity requires conformational changes of NPR1 via S-nitrosylation and thioredoxins[J]. *Science*, 2008, 321:952-956.
- [17] Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, et al. S-glutathionylation in protein redox regulation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43:883-898.
- [18] Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo G, et al. Protein S-glutathionylation: a regulatory device from bacteria to humans[J]. *Trends Biochem Sci*, 2009, 34:85-96.
- [19] Bolwell G P. Role of active oxygen species and NO in plant defence responses[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, 2:287-294.
- [20] Green R, Fluhr R. UV-B-Induced PR-1 Accumulation Is Mediated by Active Oxygen Species[J]. *Plant Cell*, 1995, 7:203-212.
- [21] Chen Z, Ricigliano J W, Klessig D F. Purification and characterization of a soluble salicylic acid-binding protein from tobacco[J]. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 1993, 90:9533-9537.
- [22] Wu G, Shortt B J, Lawrence E B, et al. Activation of host defense mechanisms by elevated production of H₂O₂ in transgenic plants[J]. *Plant Physiol*, 1997, 115:427-435.
- [23] Chamnongpol S, Willekens H, Moeder W, et al. Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H₂O₂ in transgenic tobacco[J]. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 1998, 95:5818-5823.
- [24] Alscher R G, Erturk N and Heath L S. Role of superoxide dismutases(SODs) in controlling oxidative stress in plants[J]. *J Exp Bot*, 2002, 53:1331-1341.
- [25] Pasqualini S, Paolocci F, Borgogni A, et al. The overexpression of an alternative oxidase gene triggers ozone sensitivity in tobacco plants[J]. *Plant Cell and Environ*, 2007, 30:1545-1556.
- [26] Overmyer K, Brosche M, Pellinen R, et al. Ozone-induced programmed cell death in the Arabidopsis radical-induced cell death1 mutant[J]. *Plant Physiol*, 2005, 137:1092-1104.
- [27] Aroca R, Irigoyen J, Sanchez-Diaz M. Drought enhances maize chilling tolerance. II. Photosynthetic traits and protective mechanisms against oxidative stress[J]. *Physiol Plant*, 2003, 117:540-549.
- [28] Moller I M. Plant Mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52:561-591.

Metabolism and Functions of Reactive Oxygen Species in Plants

GUO Yu-shuang¹, LI Xiang-yu², REN Xue-liang¹

(1. Guizhou Tobacco Research Institute, Guiyang, Guizhou 550081; 2. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Reactive oxygen species (ROS) are redox signals essential to many physiological processes in plants especially in their development and stress responses. The process of ROS production in plants, plant protein modification and its main function in plants were reviewed.

Key words: reactive oxygen species; protein modification; signal transduction