

曾德永,崔杰,张萌,等.植物线粒体抗氧化应激效应影响的研究进展[J].江苏农业科学,2018,46(21):31-37.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.21.007

植物线粒体抗氧化应激效应影响的研究进展

曾德永¹,崔杰¹,张萌²,关双红³,高鑫¹,山珊¹,刘梦瑶¹,孙野青²,卢卫红¹

(1. 哈尔滨工业大学化工与化学学院,黑龙江哈尔滨 150000; 2. 大连海事大学环境科学与工程学院,辽宁大连 116026;
3. 哈尔滨工业大学生命科学与技术学院,黑龙江哈尔滨 150000)

摘要:线粒体是细胞进行呼吸作用的主要场所,通过氧化磷酸化途径产生 ATP。在植物中,线粒体结构相对复杂,除参与呼吸作用外还对光合作用有促进作用。同时线粒体也是植物体内对外界环境最敏感的细胞器之一,外界环境的改变会使线粒体功能紊乱并发生氧化应激。线粒体作为植物体内参与氧化应激的重要细胞器,其功能紊乱将导致活性氧的增多,产生脂质过氧化损伤,影响抗氧化酶系活性及关键蛋白表达量的改变等。本文首先概述了植物细胞线粒体的结构组成,重点介绍了经典电子传递链复合物的构成。其次,介绍了电子传递链复合物的功能,并对线粒体中活性氧(ROS)的产生做了重点的概述。最后详细介绍了氧化应激如何影响植物线粒体三羧酸循环、氧化磷酸化、交替氧化途径中关键酶活性、蛋白以及相关基因的表达,并阐述了植物细胞中线粒体清除 ROS 的主要途径,包括抗氧化酶系、转录调节因子及相关的功能性蛋白的作用。

关键词:植物;线粒体;电子传递链复合物;抗氧化应激;活性氧(ROS);研究进展

中图分类号: S184;Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)21-0031-07

线粒体是真核细胞重要的细胞器,在细胞的能量代谢^[1]、生物合成和细胞死亡^[2](包括细胞凋亡和细胞程序性坏死)等过程中起关键的调控作用。此外,线粒体还参与三羧酸循环、交替氧化、脂肪酸和氨基酸氧化、钙离子稳态调节等重要的生理过程^[3]。线粒体在维持生命稳态中发挥重要作用,因而当机体受到生物胁迫和非生物胁迫时代谢调控网络会发生改变,例如三羧酸循环、交替氧化、氧化磷酸化途径等,并伴随有活性氧(ROS)生成。本文主要讨论当植物受到外界胁迫时,线粒体所表现出来的功能障碍和抗氧化应激的主要途径。

1 线粒体

1.1 线粒体结构

线粒体为细胞提供了 90% 的能量,在植物细胞中,约有 1% 线粒体耗费的氧气用于 ROS 的合成^[4]。线粒体具有双层膜结构,因此线粒体中有 3 个空间:线粒体膜外、膜间隙和膜内。内膜向内突出形成嵴,在脂双层膜上,大量呼吸作用相关的酶和蛋白分子都存在于内膜和基质中,而物质转运的蛋白质载体和通道则在外膜上。线粒体主要进行能量合成、物质代谢,是整个细胞乃至生命体进行生命活动的核心枢纽。此外,线粒体还参与细胞信号传导^[5]。线粒体的这些生理功能主要是通过调节能量代谢和 ROS 的生成来实现,线粒体通过操纵生物能学、氧化还原平衡、通透性转换(MPT)等因素来

调控细胞的生死^[6]。

电子传递链是线粒体中不可缺少的组成部分,是一系列电子载体按对电子亲和力和逐渐升高的顺序组成的电子传递系统。所有组成成分位于线粒体内膜上,而且按顺序分段组成分离的复合物,在复合物内各载体成分的物理排列也符合电子流动的方向。其中线粒体中的电子传递链伴随着营养物质的氧化放能,又称作呼吸链,主要由 5 个部分组成,分别为复合物 I 泛醌氧化还原酶(NADH:ubiquinone oxidoreductase)、复合物 II 称琥珀酸泛醌氧化还原酶(SDH:ubiquinone oxidoreductase)、复合物 III 细胞色素 c 氧化还原酶(Cyt:cytochrome C-oxidoreductase)、复合物 IV 细胞色素氧化酶(Cox:cytochrome oxidase)构成。这些大分子复合物中包含许多参与线粒体功能的小分子蛋白,当受到外界条件胁迫时,其功能很容易受到损伤。在动物中抑制 NADH 基因会使动物致死,但在植物中抑制 NADH 基因不会使植物致死,通过改变植物中线粒体编码复合物 I 亚基的基因表达,植物会表现出如发芽缺陷,生长迟缓,发育缺陷以及对激素或胁迫的反应改变^[7-9]。植物复合物 I 突变体已被广泛用于研究复杂的 I 结构、呼吸可塑性和代谢适应等^[10-11]。复合 II 耗竭增加植物中配子体致死率^[12],而复合物 III 和 IV 的缺失则会使植物致死^[13]。已有研究表明,线粒体复合物 II 的功能紊乱与受辐射细胞的后代基因组不稳定现象密切相关^[14]。

植物线粒体内除了细胞色素主路外还有抗氰交替途径支路存在。抗氰呼吸(交替途径)指的是对氰化物不敏感的一条呼吸途径。主要调节植物在逆境中的生长发育,使植物适应环境胁迫^[15]。

1.2 不同组织植物线粒体组成的变化

为了响应植物细胞代谢和能量需求的变化,线粒体通常通过改变呼吸链中关键蛋白质的组成和丰度来改变其形态和呼吸能力。在这种方式下,线粒体被调整以满足不同组织类

收稿日期:2017-07-11

基金项目:国家重点研发计划(编号:2017YFC160090)。

作者简介:曾德永(1993—),男,贵州湄潭人,硕士研究生,研究方向为极端环境生物学效应。E-mail:nefuzdy@126.com。

通信作者:卢卫红,博士,教授,研究方向为极端环境生物学效应。E-mail:lw@hit.edu.cn。

型的能量需要或者响应于特定的环境。在植物突变体的研究中已经观察到线粒体在转录水平和稳态方面的差异以及在不同组织中功能均有所不同。

在近期的一些逆向遗传学研究中,编码线粒体蛋白的核基因突变会使植物器官产生特异性表型,包括通过 PPR 蛋白质缺失导致的植物延迟发育和开花^[16-17],通过沉默线粒体复合物 I、II 或线粒体苹果酸脱氢酶改变叶形态和光合能力^[18-19]。延胡索酸酶的抑制影响根系形态和呼吸速率并且其气孔功能也会受到抑制^[20]。目前已经在转录水平上证明了一些核基因编码的线粒体呼吸成分共同调节植物各种营养和生殖器官^[21]。对这些共同调节的基因进行启动子分析发现,这些基因中的启动子近端存在常见位点 II,该位点可以引导器官特异性分化、代谢、对环境响应和发育等^[22]。对基因功能类别分析发现,复合物 I 和 V 在组成型中表达,而编码线粒体光呼吸机制和热休克蛋白的基因在植物组织上进行选择性表达^[21]。虽然有很多试验表明组织中转录本丰度和蛋白质丰度/活性之间存在强相关性,但也存在许多特殊状况,特别是 NAD - 苹果酸酶(NAD - ME)、醛脱氢酶和硫氧还蛋白还原酶^[23]。因此,基于单独的转录本数据差异来解释酶活性的组织特异性差异时,必须谨慎。

为了分析线粒体在植物发育过程中的特殊作用,对拟南芥中营养(细胞培养、根、芽)和繁殖(花粉、茎、花)发育阶段的线粒体蛋白质组进行了广泛的比较^[23]。通过双向电泳,发现存在 83 个差异蛋白质,包括 TCA 循环、呼吸链中的酶以及依赖于来自这些代谢途径的中间体的关键酶。虽然电子传递链中单个亚单位的丰度通常在营养型组织中保持不变,然而呼吸能力则随该特定组织、细胞类型对底物的选择性和其对底物的可用性而改变^[21]。测定蛋白质丰度的差异可以预测不同器官/细胞类型之间代谢通量的变化程度^[24]。通过在一个预先设计的线粒体图上绘制这些代谢变化,可以精确定位这些由于组织特异化而变化的酶参与的步骤。营养器官/细胞的功能分析揭示了中枢碳代谢的特异性差异,芽线粒体在光呼吸时甘氨酸的分解中具有特殊的作用,细胞培养线粒体主要利用 TCA 循环中的柠檬酸和过氧化物酶体的 β - 氧化来驱动 TCA 循环和 ATP 形成的脱羧反应。而根线粒体具有较高的将 2 - 氧戊二酸转化为延胡索酸的能力,用于通过复合物 II 产生能量。生殖器官的线粒体往往在 TCA 循环以外的代谢中具有特殊的作用,如维持花粉中线粒体的氧化还原环境以及茎中的氮(谷氨酸)代谢。这些线粒体的特异性通常与相应组织类型的主要生理作用相符。例如,芽中苹果酸脱氢酶的上调提供了其在调节氧化还原电位中作用的证据,这在光介导光合和呼吸作用中是至关重要的^[18]。

大多数线粒体蛋白质组学研究都通过比较特定蛋白质的总丰度来关注特异性组织的基因转录调控和转录后对功能的影响。虽然蛋白质的丰度有时与其最大催化活性相关,但是由于某些线粒体蛋白质在不同组织中存在同种型丰度差异,因此这种关系不能应用于所有的酶^[21,23]。例如,精氨酸酶的异构体 1 在营养器官中更高表达,而异构体 2 在生殖器官中表达更高^[23]。当 4 种电压依赖性阴离子通道(VDAC)同种型中的某一种被破坏时,也观察到营养和生殖发育中同种型的特异性差异^[25]。基因的表达在调节酶活性以及蛋白质修

饰和酶复合物组装的代谢途径中也发挥关键作用。在双向电泳中观察到的一些被修饰的蛋白,特别是等电点发生位移的蛋白通常被认为是制备样品时引入的杂质。然而,在最近对来自不同器官、细胞类型的线粒体蛋白质组的研究中,发现 TCA 循环、ETC 中的许多蛋白质,其组织特异性经过翻译修饰后,在不同的物种和组织中具有高度可重复性,表明这些变化不是随机的。而蛋白质翻译修饰后的差异对不同组织中线粒体代谢功能的影响尚待探讨。

1.3 线粒体活性氧

细胞中的 ROS 主要来源于线粒体,当 ROS 的清除机制失效时,线粒体的功能就会发生紊乱,当植物细胞暴露于高浓度的氧环境下时,ROS 诱导的氧化酶(如脂肪氧合酶)被激活,对应的基因表达水平也会增高,抗氧化物质的调控和一些代谢活动也会发生改变^[26]。线粒体电子传递链中发生电子泄漏是产生 ROS 的主要因素,在正常的呼吸过程中约有 2% 的电子发生泄漏^[27]。长期以来,复合物 I 和 III 被认为是线粒体内活性氧(ROS)产生的主要来源,但是近来在哺乳动物和植物中的研究表明,复合物 II 也可能是 ROS 的重要来源^[28-29],复合物 I 和 III 中主要由 O 中心产生电子泄漏而产生 ROS^[30]。然而,复合物 II 产生 ROS 的机理尚不清楚,并且在植物中线粒体复合物 II 或其组装因子的敲除会导致植物死亡,从而在很大程度上阻止通过基因敲除的手段进行直接研究^[12,31]。但随着研究的深入,该限制也发生了改变,当复合物 II 中的 SDH1 - 1(dsr1)发生突变时,复合物 II 活性降低同时线粒体 ROS 含量增加^[32]。复合物 IV 中不能直接产生 ROS^[30],ROS 的产生在植物细胞的信号传导中发挥着重要作用^[33],但高含量的 ROS 将会损伤细胞 DNA、RNA、蛋白质和脂质,从而导致线粒功能紊乱^[34]。很多研究表明,线粒体 ROS 会对植物细胞产生氧化损伤^[35-36]。

1.4 氧化应激与线粒体功能

线粒体氧化应激能改变线粒体功能,如影响其参与的三羧酸循环,氨基酸代谢,氧化磷酸化过程^[37-38]。三羧酸循环中的关键酶通常是辨别氧化应激是否发生的标志物^[39]。氧化应激发生时,三羧酸关键酶[如丙酮酸脱氢酶(PDH)、柠檬酸合酶(CSY)、乌头酸酶(Aco)、NAD + 依赖性异柠檬酸脱氢酶(IDH)、延胡索酸酶(FUM)和苹果酸脱氢酶(MDH)]的酶活性和酶基因的表达会发生不同程度的改变,但是改变方向却不同,同时氨基酸的含量降低,不过其具体机制尚不清楚^[40-41]。

氧化应激发生时,氧化磷酸化途径中的复合物 I、复合物 II、复合物 III、复合物 IV 和 ATP 合成酶的基因表达量和活性会发生改变。同一复合物中不同亚基的基因在发生氧化应激时的表达量不同,并且在不同的植物组织中表达也不同^[40],复合物 I 中 nda1、ndb2 在氧化应激发生时表达量会增加。而在复合物 II 中 sdh1 通常表现出对氧化应激敏感^[42],同时发现 SDH6 和 SDH7 在氧化应激发生时对维持线粒体功能有重要作用^[43]。COX 是氧化磷酸化途径的末端氧化酶,负责将电子传递给受体。在氧化应激发生时 COX 亚基 cox1、cox2、cox17 的表达量会发生改变,并且 COX17 的调节因子 AtCOX17 对调节植物的氧化应激反应有重要的作用^[44-45]。ATP 合酶由很多亚基组成,其中由线粒体基因编码的亚基有

ATP 合酶 F0 亚基 1、6、8, ATP 合酶亚基 β 、 γ 、 δ , ATP 合酶亚基 O 等^[46-47]。ATP 合酶 F0 亚基通常会影氧化应激反应^[48]。

2 线粒体抗氧化应激的策略

植物抗氧化系统由许多酶和非酶抗氧化成分组成,与植物体内 ROS 生成途径一起维持 ROS 含量的动态平衡。很多研究已经表明抗氧化系统在维持植物体内 ROS 的稳态中有重要的作用。抗氧化酶系包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等,主要作用是清除自由基。除此之外,植物体还可以通过其他途径来达到抗氧化损伤的目的,比如通过控制抗氧化酶系基因表达,或者改变体内其他抗氧化物,如改变抗坏血酸盐、谷胱甘肽浓度。

植物体内通常有 3 道防线用于其线粒体的抗氧化胁迫。第 1 道防线是防止 ROS 的产生,可采用维持可利用底物和 ATP 需求的平衡、AOX 的活化、解偶联蛋白的活化等方法。第 2 道防线则是通过抗氧化酶系、谷胱甘肽还原系统、硫蛋白还

原系统清除机体内多余的 ROS。第 3 道防线则是通过切除修复 DNA、二硫键的还原、修复蛋白等来修复 ROS 引起的损伤。

2.1 交替氧化途径

植物线粒体中有 2 种催化氧还原成水的末端氧化酶(图 1)细胞色素(cyt)氧化酶(复合物 IV)和交替氧化酶(AOX)^[49],交替氧化途径可以起到电子分流的作用。有研究表明,丙酮酸可以刺激 AOX 与未饱和的细胞色素通路竞争电子,当主路中的复合物 I 到复合物 IV 的活性受到抑制时, AOX 的活性会升高数倍^[50]。对 AOX 的电子流量进行生化控制,可以减少电子传递链产生 ROS^[51]。AOX 分流电子的能力具有组织和发育的特异性^[52],机体代谢发生紊乱时 AOX 分流电子能力通常会增加^[53],在氧化应激发生时, *aox1a* 基因的表达都会升高^[54]。有研究表明,在 AOX 过量表达的细胞中 ROS 的量仅为对照细胞的一半,相反通过基因沉默技术减少 AOX 表达的细胞中的 ROS 的量是对照细胞的 5 倍,证明 AOX 可以降低氧化损伤的程度^[55-56]。

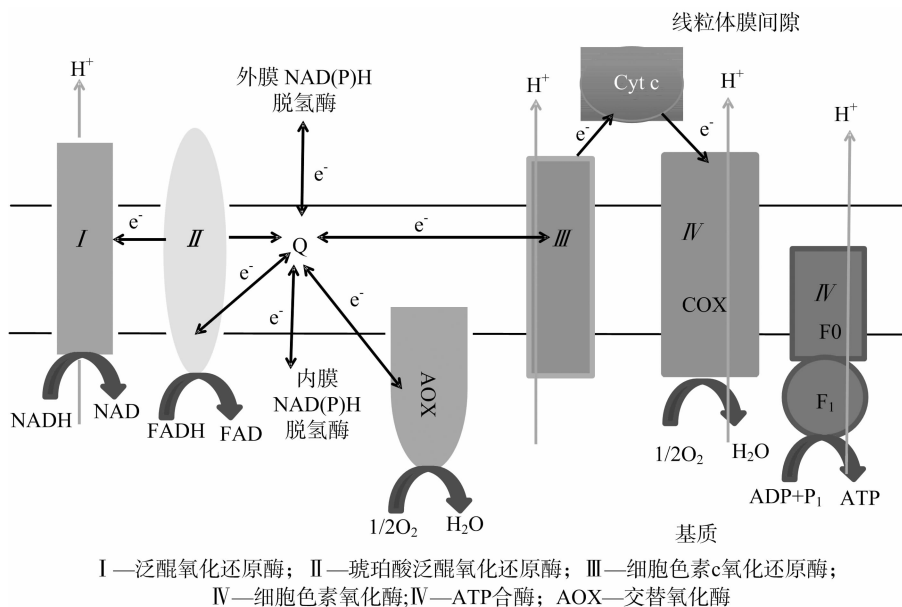


图1 植物线粒体内氧化磷酸化和交替氧化途径

2.2 解偶联蛋白(UCP)

UCP 是线粒体载体蛋白质家族的成员,能使 H^+ 从线粒体内膜渗透到线粒体内,从而消除电子传递链中的电位差,导致氧化磷酸化途径受损,因此将其作为非磷酸化/解偶联呼吸途径的重点研究。UCP 可以被 ROS 激活,表明 UCP 与 AOX 一样,可能会降低氧化损伤^[57],后来的研究也证明了 AOX 与 UCP 共同构成了抵御氧化损伤的防御体系^[58]。UCP (*AtUCP1*) 基因进行敲除后,导致局部氧化应激,但不会影响植物承受大部分非生物胁迫的能力。然而,UCP 的缺失却导致植物呼吸速率受阻,表明 UCP1 在叶中主要是维持线粒体电子传递链的氧化还原电位^[59]。UCP 能保护植物线粒体免受氧化损伤,维持植物细胞中的能量平衡。

2.3 植物中 ROS 清除剂

2.3.1 酶类清除剂 在植物中,主要的酶类清除剂有超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、单脱水抗坏血酸还原酶(MDHAR)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽转移酶

(GST)、过氧化物还原酶(PRX)。这些酶位于植物细胞的不同位置,共同作用清除植物体内过多的 ROS。首先,SOD 能有效除去植物中的超氧自由基^[60]。CAT 位于植物细胞的过氧化物酶体中,主要除去由 SOD 反应产生的 H_2O_2 。APX 也具有和 CAT 相同的功能。在水稻基因组中发现有 8 个编码 SOD 的基因,包括 2 个胞质 Cu/ZnSOD (*cCuZn-SOD₁*、*cCuZn-SOD₂*)、1 个推测的 Cu/ZnSOD (*CuZn-SOD-L*)、质体 SOD (*pCuZn-SOD*)、2 个铁 SOD (*Fe-SOD₂*、*Fe-SOD₃*)、1 种锰 SOD (*Mn-SOD₁*)^[61],在 *Mn-SOD₁* 过表达的水稻中,线粒体的中的 O_2^- 含量明显减少并且 AOXa 和 AOXb 的表达量明显增加^[62]。水稻中有 8 个 APX 基因,包括 2 个胞质 APX (*OsAPX₁* 和 *OsAPX₂*)、2 个过氧化物酶体 APX (*OsAPX₃* 和 *OsAPX₄*)、2 个线粒体 APX (*OsAPX₅* 和 *OsAPX₆*) 和 2 个氯代 APX (*OsAPX₇* 和 *OsAPX₈*)^[63]。线粒体 APX 能消除线粒体中产生的 H_2O_2 。2 种胞质 APXs,即 *OsAPX₁* 和 *OsAPX₂*,在由非生物胁迫诱导的水稻氧化应激中具有关键作用^[64]。在水稻

中,沉默 *OsAPX₁* 和 *OsAPX₂* 基因使线粒体中的谷胱甘肽和抗坏血酸的氧化态增加,促使 ROS 的调控网络发生紊乱,以应对植物体受各种环境胁迫诱导的氧化应激^[65]。在 *OsAPX₂* 过表达的水稻中 APX 活性增加, H_2O_2 和丙二醛 (MDA) 的含量降低。更重要的是, *OsAPX₂* 过表达水稻在出穗阶段的 ROS 含量比野生型少,表明 *OsAPX₂* 在氧化应激下可以保护水稻的出穗能力^[64]。一些 ROS 清除酶,如 GST、TRX 和 GRX^[66],已经演变成具有不同功能的大型多基因酶家族,可以应对各种不利的环境条件。最近的研究表明,这些大型多基因家族酶的某些特殊亚基在植物体内调节 ROS 平衡有着重要的作用。*OsTRXh₁* 编码水稻里的 h-TRX,在水稻的发育和胁迫反应过程中可以调节内质网的氧化还原状态^[67],h-TRX 蛋白具有还原活性并能分泌到细胞外。盐胁迫下,水稻中 *OsTRXh₁* 过表达产生较少的 ROS,在沉默该基因的水稻中则表现出氧化损伤。因此,所有 APX 在大小、位置、作用和氨基酸序列方面是不同的^[68]。由盐胁迫、干旱胁迫、高温胁迫、紫外辐射等胁迫诱导的氧化应激中,细胞中的 SOD、CAT、APX 活性均有所增加^[69]。

2.3.2 非酶类清除剂 植物可以通过激活非酶抗氧化剂来诱导对抗氧化应激的防御,如针对 ROS 的第 2 道防线的亲水性分子 (抗坏血酸、谷胱甘肽) 和亲脂性代谢物 (类胡萝卜素、 α -生育酚)^[70-71]。抗坏血酸是在线粒体中合成的水溶性抗氧化剂。它可以通过 2 个不同途径转运到细胞器。通常,抗坏血酸盐可以直接清除细胞中的 ROS。此外,它与莖青石黄素的去环氧酶结合,作为 APX 的反应基质^[72]。由于抗坏血酸盐具有多种功能,因此被认为是植物细胞中最强大的抗氧化剂。谷胱甘肽主要作用是清除叶绿体中的¹O₂,研究发现谷胱甘肽还参与 α -生育酚和抗坏血酸的产生^[60]。类胡萝卜素是分布在水果和蔬菜中的一类酚类化合物,在细胞中的主要作用是防止脂质过氧化^[73]。 α -生育酚最重要的作用是消除在类囊体膜中产生的¹O₂、O₂⁻·和·OH 自由基,因此可以防止脂质过氧化的产生。 α -生育酚具有较强的流动性,可在脂质膜内容易地移动,从而保证了细胞免受脂质过氧化损伤^[74]。

2.4 转录调节因子

转录因子 (TF) 是抗氧化应激反应的重要调控蛋白之一。它们在应激信号下游发挥着重要的作用,可以同时改变应激反应基因亚型的表达,增强植物对环境胁迫的适应性。AP2/ERF (APETALA2/乙烯应答因子)、锌指结构域 (zinc finger)、WRKY、bZIP (碱性-亮氨酸拉链) 和 NAC (NAM、ATAF、CUC) 家族成员在植物受到外界胁迫条件诱导下的氧化应激中具有调节作用^[75-76]。

含有锌指结构域 (zinc finger) 的蛋白质作为调控 ROS 相关防御基因的关键参与者在拟南芥中已经被报道。在敲除 *AtAPX₁* 基因的拟南芥中,锌指基因 *ZAT₇*、*ZAT₁₀*、*ZAT₁₂* 的表达加重了拟南芥的氧化损伤^[77],表明这些锌指基因参与调控 ROS。 C_2H_2 锌指蛋白的 *ZFP₃₆*、*ZFP₁₇₉* 2 种类型在调控水稻 ROS 平衡中发挥着重要作用。*ZFP₁₇₉* 基因过表达提高水稻中 ROS 清除能力和应激相关基因的表达水平,表现出显著增强抗氧化应激的作用^[78]。*ZFP₃₆* 增强了水稻在脱落酸 (ABA) 诱导的氧化应激中的耐受性。此外,*ZFP₃₆* 在 ABA 信号的传

导中参与对 NADPH 氧化酶、 H_2O_2 和 MAPK 的调节^[79]。*OsTZF₁* 是一种 CCCH-串联锌指蛋白,是胁迫条件下水稻叶片衰老的负调控因子。同时,*OsTZF₁* 通过增强氧化还原稳态基因和 ROS 清除酶基因的表达来提高水稻的氧化应激效应^[79]。在拟南芥中 CCCH-串联型锌指基因 *GhTZF₁* 通过介导 ROS 稳态参与调节由于干旱胁迫诱导的氧化应激和叶片的衰老^[80]。

WRKY 家族蛋白具有 1 个或 2 个保守的 WRKY 结构域,其在 N 末端包含高度保守的 WRKYGQK 七肽,在 C 末端具有锌指状结构域。保守的 WRKY 结构域通过与目标基因的启动子区域中的 W-box 元件结合而在各种生理过程中起重要作用。研究表明,在由于干旱和盐胁迫诱导的氧化应激中,WRKY 基因 *GmWRKY₂₇* 能显著降低大豆根中的 ROS 水平,同时 *GmWRKY₂₇* 与 *GmWRKY₁₇₄* 相互作用,可以减少 *GmWRKY₂₉* 的启动子活性和基因表达^[81]。后来的研究中表明,*GmWRKY₂₉* 是负调控因子,可以增加植物体内 ROS 的含量,通过直接刺激编码 ROS 产生酶系基因的表达。另有研究表明,WRKY 基因 *GhWRKY₁₇* 的过表达降低了烟草对干旱和盐胁迫诱导的氧化应激的耐受性;后来的试验表明,*GhWRKY₁₇* 通过调节 ABA 信号和 ROS 的水平参与氧化应激反应^[82]。从短柄草中分离出的 WRKY 基因 *BdWRKY₃₆*,可以通过控制 ROS 稳态和调节氧化应激相关基因的转录而对氧化应激反应进行调节^[83]。

2.5 其他功能性蛋白质

多胺 (PA) 是在所有活细胞中都存在的低分子量脂族胺。PA 在生理 pH 下具有阳离子的性质,因此对带负电荷的分子 (DNA、RNA 和蛋白质) 具有很强的结合能力,从而稳定它们的结构。PA 的生物合成途径已经在许多生物体中进行了深入的研究,而精氨酸脱羧酶 (ADC) 在 PA 的合成中起主要作用。在由于干旱胁迫下,*PtADC* 基因可以提高烟草和番茄内源性 PA 水平,减少体内 ROS 的积累,表现出对氧化应激的耐受性^[84]。Jang 等在水稻中的插入 *OsLDC-1* 序列后,发现该水稻具有高度抗氧化应激的特质,与对照植物相比,该突变体的 PA 含量更高,表明 PA 可能通过减少 ROS 产生和增强 ROS 降解来介导植物对氧化应激的耐受性^[85]。

解螺旋酶是细胞中普遍存在的酶,催化稳定的双链体 DNA 或 RNA 二级结构的展开,从而在 DNA 和 RNA 代谢过程中起重要作用。*OsSUV3* 是水稻中 NTP 依赖的 RNA 和 DNA 解旋酶。在水稻中 *OsSUV3* 可以减少脂质过氧化和 H_2O_2 产生,以及增加抗氧化酶的活性,从而表现出较强的抗氧化应激效应^[86]。

鸟氨酸 δ -氨基转移酶 (δ -OAT) 是参与脯氨酸和精氨酸代谢的酶。在水稻中,*OsOAT* 的过表达增加了 δ -OAT 活性和脯氨酸的含量,同时也增强了对干旱、盐和氧化应激的耐受性^[87]。

3 展望

线粒体作为真核细胞的一个古老而灵活的细胞器,通过能量代谢参与细胞生长和分裂。虽然现在对植物线粒体的研究正在快速增加,但是针对其功能的研究仍然是从酵母和哺乳动物系统中外推,而没有对植物的直接研究。在以后的研究中,仍然需要对线粒体的组装机制,线粒体氧化应激的信号

传导和呼吸频率调节作更详细的研究,以便在恶劣环境中最大限度地保护植物的呼吸作用,并尽量减少呼吸损失以提高植物产量。目前对植物线粒体氧化应激的研究大多是利用各种环境胁迫进行诱导,但对于空间辐射对线粒体影响的研究却没有被报道。随着我国航天事业的蓬勃发展,今后应加大空间辐射对模式植物线粒影响方面的研究,为后续在空间站中对植物的研究奠定基础。

参考文献:

- [1] Scheffler I E. A century of mitochondrial research: achievements and perspectives[J]. Mitochondrion, 2001, 1(1): 3–31.
- [2] Andersson S G, Kurland C G. Origins of mitochondria and hydrogenosomes[J]. Current Opinion in Microbiology, 1999, 2(5): 535–541.
- [3] Smeitink J A, Zeviani M, Turnbull D M, et al. Mitochondrial medicine: a metabolic perspective on the pathology of oxidative phosphorylation disorders[J]. Cell Metabolism, 2006, 3(1): 9–13.
- [4] Pogribny I, Koturbash I, Tryndyak V, et al. Fractionated low-dose radiation exposure leads to accumulation of DNA damage and profound alterations in DNA and histone methylation in the murine thymus[J]. Molecular cancer research, 2005, 3(10): 553–561.
- [5] Vasconsuelo A, Milanesi L, Boland R. Actions of 17β -estradiol and testosterone in the mitochondria and their implications in aging[J]. Ageing Research Reviews, 2013, 12(4): 907–917.
- [6] Fernandes M A S, Marques R J F, Vicente J A F, et al. Sildenafil citrate concentrations not affecting oxidative phosphorylation depress H_2O_2 generation by rat heart mitochondria[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2008, 309(1): 77–85.
- [7] Lee B H, Zhu J K. A mitochondrial complex I defect impairs cold-regulated nuclear gene expression[J]. Plant Cell, 2002, 14(6): 1235–1251.
- [8] Zhu Q, Dugardeyn J, Zhang C, et al. The *Arabidopsis thaliana* RNA editing factor SLO2, which affects the mitochondrial electron transport chain, participates in multiple stress and hormone responses[J]. Mol Plant, 2014, 7(2): 290–310.
- [9] Haili N, Arnal N, Quadrado M, et al. The pentatricopeptide repeat MTSF1 protein stabilizes the nad4 mRNA in *Arabidopsis* mitochondria[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(13): 6650–6663.
- [10] Braun H P, Binder S, Brennicke A, et al. The life of plant mitochondrial complex I[J]. Mitochondrion, 2014, 19: 295–313.
- [11] Meyer E H, Solheim C, Tanz S K, et al. Insights into the composition and assembly of the membrane arm of plant complex I through analysis of subcomplexes in *Arabidopsis* mutant lines[J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(29): 26081–26092.
- [12] León G, Holuigue L, Jordana X. Mitochondrial complex II is essential for gametophyte development in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2007, 143(4): 1534–1546.
- [13] Meyer E H, Giegé P, Gelhaye E, et al. AtCCMH, an essential component of the c-type cytochrome maturation pathway in *Arabidopsis* mitochondria, interacts with apocytochrome c [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(44): 16113–16118.
- [14] 朱茂祥, 杨陟华, 龚诒芬, 等. 辐射诱发细胞内活性氧增高与 DNA 氧化损伤研究[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2001, 19(4): 270–274.
- [15] Keunen E, Jozefczak M, Remans T, et al. Alternative respiration as a primary defence during cadmium-induced mitochondrial oxidative challenge in *Arabidopsis thaliana* [J]. Environmental and Experimental Botany, 2013, 91: 63–73.
- [16] de Longevialle A F, Meyer E H, Andrés C, et al. The pentatricopeptide repeat gene OTP43 is required for trans-splicing of the mitochondrial nad1 Intron 1 in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell, 2007, 19(10): 3256–3265.
- [17] Sosso D, Mbeto S, Vernoud V, et al. PPR2263, a DYW-Subgroup Pentatricopeptide repeat protein, is required for mitochondrial nad5 and cob transcript editing, mitochondrion biogenesis, and maize growth[J]. Plant Cell, 2012, 24(2): 676–691.
- [18] Tomaz T, Bagard M, Pracharoenwattana I, et al. Mitochondrial malate dehydrogenase lowers leaf respiration and supports photorespiratory carbon flux and plant growth in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2010, 154(3): 1143–1157.
- [19] Fuentes D, Meneses M, Nunes-Nesi A, et al. A deficiency in the flavoprotein of *Arabidopsis* mitochondrial complex II results in elevated photosynthesis and better growth in nitrogen-limiting conditions[J]. Plant Physiology, 2011, 157(3): 1114–1127.
- [20] van der Merwe M J, Osorio S, Moritz T, et al. Decreased mitochondrial activities of malate dehydrogenase and fumarase in tomato lead to altered root growth and architecture via diverse mechanisms[J]. Plant Physiology, 2009, 149(2): 653–669.
- [21] Lee C P, Eubel H, O'Toole N, et al. Combining proteomics of root and shoot mitochondria and transcript analysis to define constitutive and variable components in plant mitochondria[J]. Phytochemistry, 2011, 72(10): 1092–1108.
- [22] Welchen E, García L, Mansilla N, et al. Coordination of plant mitochondrial biogenesis: keeping pace with cellular requirements [J]. Frontiers in Plant Science, 2013, 4(2): 551.
- [23] Lee C P, Eubel H, Solheim C, et al. Mitochondrial proteome heterogeneity between tissues from the vegetative and reproductive stages of *Arabidopsis thaliana* development [J]. Journal of proteome research, 2012, 11(6): 3326–3343.
- [24] Fedorovich S V, Waseem T V, Puchkova L V. Biogenetic and morphofunctional heterogeneity of mitochondria: the case of synaptic mitochondria [J]. Reviews in the Neurosciences, 2017, 28(4): 363–373.
- [25] Tateda C, Watanabe K, Kusano T, et al. Molecular and genetic characterization of the gene family encoding the voltage-dependent anion channel in *Arabidopsis* [J]. Journal of experimental botany, 2011, 62(14): 4773–4785.
- [26] Vanhoudt N, Vandenhoove H, Horemans N, et al. Unraveling uranium induced oxidative stress related responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. Part I: responses in the roots [J]. Journal of environmental radioactivity, 2011, 102(6): 630–637.
- [27] Tulah A S, Birch-Machin M A. Stressed out mitochondria: the role of mitochondria in ageing and cancer focussing on strategies and opportunities in human skin [J]. Mitochondrion, 2013, 13(5): 444–453.
- [28] Jardim - Messeder D, Caverzan A, Rauber R, et al. Succinate dehydrogenase (mitochondrial complex II) is a source of reactive

- oxygen species in plants and regulates development and stress responses[J]. *New Phytologist*, 2015, 208(3): 776–789.
- [29] Ralph S J, Moreno – Sánchez R, Neuzil J, et al. Inhibitors of succinate: quinone reductase/complex II regulate production of mitochondrial reactive oxygen species and protect normal cells from ischemic damage but induce specific cancer cell death [J]. *Pharmaceutical Research*, 2011, 28(11): 2695–2730.
- [30] Miwa S, St – Pierre J, Partridge L, et al. Superoxide and hydrogen peroxide production by *Drosophila* mitochondria [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2003, 35(8): 938–948.
- [31] Huang S, Taylor N L, Ströher E, et al. Succinate dehydrogenase assembly factor 2 is needed for assembly and activity of mitochondrial complex II and for normal root elongation in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2013, 73(3): 429–441.
- [32] Belt K, Huang S, Thatcher L F, et al. Salicylic acid – dependent plant stress signalling via mitochondrial succinate dehydrogenase [J]. *Plant Physiology*, 2017, 173(4): 2029–2040.
- [33] Chrobok D, Law S R, Brouwer B, et al. Dissecting the metabolic role of mitochondria during developmental leaf senescence [J]. *Plant Physiology*, 2016, 172: 2132–2153.
- [34] Conrad M, Angeli J P, Vandenabeele P, et al. Regulated necrosis: disease relevance and therapeutic opportunities[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2016, 15(5): 348–366.
- [35] Mittler R. ROS are good [J]. *Trends in Plant Science*, 2017, 22(1): 11–19.
- [36] Cadet J, Davies K J A. Oxidative DNA damage & repair: an introduction [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2017, 106: 100–110.
- [37] Lehmann M, Schwarzländer M, Obata T, et al. The metabolic response of *Arabidopsis* roots to oxidative stress is distinct from that of heterotrophic cells in culture and highlights a complex relationship between the levels of transcripts, metabolites, and flux [J]. *Molecular Plant*, 2009, 2(3): 390–406.
- [38] Busi M V, Gomez – Lobato M E, Rius S P, et al. Effect of mitochondrial dysfunction on carbon metabolism and gene expression in flower tissues of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Molecular Plant*, 2011, 4(1): 127–143.
- [39] Verniquet F, Gaillard J, Neuburger M, et al. Rapid inactivation of plant aconitase by hydrogen peroxide [J]. *Biochemical Journal*, 1991, 276(3): 643–648.
- [40] Obata T, Matthes A, Koszior S, et al. Alteration of mitochondrial protein complexes in relation to metabolic regulation under short – term oxidative stress in *Arabidopsis* seedlings [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(10): 1081–1091.
- [41] Tronconi M A, Fahnenstich H, Weehler M C G, et al. *Arabidopsis* NAD – malic enzyme functions as a homodimer and heterodimer and has a major impact on nocturnal metabolism [J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(4): 1540–1552.
- [42] Gleason C, Huang S, Thatcher L F, et al. Mitochondrial complex II has a key role in mitochondrial – derived reactive oxygen species influence on plant stress gene regulation and defense [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(26): 10768–10773.
- [43] Schikowsky C, Senkler J, Braun H P. SDH6 and SDH7 contribute to anchoring succinate dehydrogenase to the inner mitochondrial membrane in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiology*, 2016, 173(2): 1094–1108.
- [44] Garcia L, Welchen E, Gey U, et al. The cytochrome c oxidase biogenesis factor AtCOX17 modulates stress responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell and Environment*, 2016, 39(3): 628–644.
- [45] Macfarlane C, Hansen L D, Florez – Sarasa I, et al. Plant mitochondria electron partitioning is independent of short – term temperature changes [J]. *Plant Cell & Environment*, 2010, 32(5): 585–591.
- [46] Sabar M, Balk J, Leaver C J. Histochemical staining and quantification of plant mitochondrial respiratory chain complexes using blue – native polyacrylamide gel electrophoresis [J]. *Plant Journal*, 2005, 44(5): 893–901.
- [47] Sabar M, Gagliardi D, Balk J, et al. ORFB is a subunit of F1F₀ – ATP synthase: insight into the basis of cytoplasmic male sterility in sunflower [J]. *EMBO Reports*, 2003, 4(4): 381–386.
- [48] Jacoby R P, Li L, Huang S, et al. Mitochondrial composition, function and stress response in plants [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2012, 54(11): 887–906.
- [49] Millar A H, Whelan J, Soole K L, et al. Organization and regulation of mitochondrial respiration in plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2011, 62: 79–104.
- [50] Yoshida T, Goto S, Kawakatsu M, et al. Mitochondrial dysfunction, a probable cause of persistent oxidative stress after exposure to ionizing radiation [J]. *Free Radical Research*, 2012, 46(2): 147–153.
- [51] Cvetkovska M, Vanlerberghe G C. Alternative oxidase modulates leaf mitochondrial concentrations of superoxide and nitric oxide [J]. *New Phytologist*, 2012, 195(1): 32–39.
- [52] Whelan J. Alternative oxidases in *Arabidopsis*: a comparative analysis of differential expression in the gene family provides new insights into function of non – phosphorylating bypasses [J]. *Biochim. biophys. acta*, 2006, 1757(7): 730–741.
- [53] Vanlerberghe G C. Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(4): 6805–6847.
- [54] Vanhoudt N, Cuypers A, Horemans N, et al. Unraveling uranium induced oxidative stress related responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. Part II: responses in the leaves and general conclusions [J]. *Journal of environmental radioactivity*, 2011, 102(6): 638–645.
- [55] Dahal K, Vanlerberghe G C. Alternative oxidase respiration maintains both mitochondrial and chloroplast function during drought [J]. *New Phytologist*, 2017, 213(2): 560–571.
- [56] Möller I M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2001, 52(1): 561–591.
- [57] Considine M J, Goodman M, Echtay K S, et al. Superoxide stimulates a proton leak in potato mitochondria that is related to the activity of uncoupling protein [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(25): 22298–22302.
- [58] 胡银松, 高文蕊, 王瑞芳, 等. 胁迫下欧李 AOX 及 UCP 基因家族表达分析 [J]. *林业科技*, 2015(1): 6–10.
- [59] Sweetlove L J, Lytovchenko A, Morgan M, et al. Mitochondrial

- uncoupling protein is required for efficient photosynthesis [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(51): 19587 – 19592.
- [60] Racchi M L. Antioxidant defenses in plants with attention to *Prunus* and *Citrus* spp. [J]. Antioxidants, 2013, 2(4): 340 – 369.
- [61] Nath K, Kumar S, Poudyal R S, et al. Developmental stage – dependent differential gene expression of superoxide dismutase isoenzymes and their localization and physical interaction network in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Genes & Genomics, 2014, 36(1): 45 – 55.
- [62] Li C R, Liang D D, Li J, et al. Unravelling mitochondrial retrograde regulation in the abiotic stress induction of rice *ALTERNATIVE OXIDASE 1* genes [J]. Plant Cell & Environment, 2013, 36(4): 775 – 788.
- [63] Teixeira F K, Menezes – Benavente L, Margis R, et al. Analysis of the molecular evolutionary history of the ascorbate peroxidase gene family: inferences from the rice genome [J]. Journal of Molecular Evolution, 2004, 59(6): 761 – 770.
- [64] Zhang Z, Zhang Q, Wu J, et al. Gene knockout study reveals that cytosolic ascorbate peroxidase 2 (OsAPX2) plays a critical role in growth and reproduction in rice under drought, salt and cold stresses [J]. PLoS One, 2013, 8(2): e57472.
- [65] Bonifacio A, Martins M O, Ribeiro C W, et al. Role of peroxidases in the compensation of cytosolic ascorbate peroxidase knockdown in rice plants under abiotic stress [J]. Plant, cell & environment, 2011, 34(10): 1705 – 1722.
- [66] Meyer Y, Belin C, Delorme – Hinoux V, et al. Thioredoxin and glutaredoxin systems in plants: molecular mechanisms, crosstalks, and functional significance [J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2012, 17(8): 1124 – 1160.
- [67] Morino K, Kimizu M, Fujiwara M. Disulfide proteomics of rice cultured cells in response to OsRac1 and probenazole – related immune signaling pathway in rice [J]. Proteome Science, 2017, 15(1): 6.
- [68] Caverzan A, Passaia G, Rosa S B, et al. Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection [J]. Genetics and Molecular Biology, 2012, 35(4): 1011 – 1019.
- [69] Kim Y H, Khan A L, Waqas M, et al. Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic – induced oxidative stress: a review [J]. Frontiers in plant science, 2017(8): 510.
- [70] Suzuki N, Rivero R M, Shulaev V, et al. Abiotic and biotic stress combinations [J]. New Phytologist, 2014, 203(1): 32 – 43.
- [71] Gawayed S M H, Al – Zaharani H S M, Metwali E M R. Improving the salinity tolerance in potato (*Solanum tuberosum*) by exogenous application of silicon dioxide nanoparticles [J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2017, 19(1): 183 – 192.
- [72] Szarka A, Bánhegyi G, Asard H. The inter – relationship of ascorbate transport, metabolism and mitochondrial, plastidic respiration [J]. Antioxidants and Redox Signaling, 2013, 19(9): 1036 – 1044.
- [73] Kühlbrandt W, Wang D A N, Fujiyoshi Y. Atomic model of plant light – harvesting complex by electron crystallography [J]. Nature, 1994, 367(2): 614 – 621.
- [74] Faltin Z, Holland D, Velcheva M, et al. Glutathione peroxidase regulation of reactive oxygen species level is crucial for *in vitro* plant differentiation [J]. Plant and cell physiology, 2010, 51(7): 1151 – 1162.
- [75] Yamaguchi – Shinozaki K, Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses [J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57: 781 – 803.
- [76] Liu X M, Nguyen X C, Kim K E, et al. Phosphorylation of the zinc finger transcriptional regulator ZAT6 by MPK6 regulates *Arabidopsis* seed germination under salt and osmotic stress [J]. Biochemical and biophysical research communications, 2013, 430(3): 1054 – 1059.
- [77] Yamauchi Y, Kunishima M, Mizutani M, et al. Reactive short – chain leaf volatiles act as powerful inducers of abiotic stress – related gene expression [J]. Scientific Reports, 2015(5): 8030.
- [78] Sun S J, Guo S Q, Yang X, et al. Functional analysis of a novel Cys2/His2 – type zinc finger protein involved in salt tolerance in rice [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(10): 2807 – 2818.
- [79] Zhang H, Liu Y, Wen F, et al. A novel rice C2H2 – type zinc finger protein, ZFP36, is a key player involved in abscisic acid – induced antioxidant defence and oxidative stress tolerance in rice [J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(20): 5795 – 5809.
- [80] Zhou T, Yang X, Wang L, et al. GhTZF1 regulates drought stress responses and delays leaf senescence by inhibiting reactive oxygen species accumulation in transgenic *Arabidopsis* [J]. Plant molecular biology, 2014, 85(1 – 2): 163.
- [81] Wang F, Chen H W, Li Q T, et al. GmWRKY27 interacts with GmMYB174 to reduce expression of GmNAC29 for stress tolerance in soybean plants [J]. The Plant Journal, 2015, 83(2): 224 – 236.
- [82] Yan H, Jia H, Chen X, et al. The cotton WRKY transcription factor GhWRKY17 functions in drought and salt stress in transgenic *Nicotiana benthamiana* through ABA signaling and the modulation of reactive oxygen species production [J]. Plant and Cell Physiology, 2014, 55(12): 2060 – 2076.
- [83] Sun J, Hu W, Zhou R, et al. The *Brachypodium distachyon* *BdWRKY36* gene confers tolerance to drought stress in transgenic tobacco plants [J]. Plant Cell Reports, 2015, 34(1): 23 – 35.
- [84] Wang B Q, Zhang Q F, Liu J H, et al. Overexpression of PtADC confers enhanced dehydration and drought tolerance in transgenic tobacco and tomato: effect on ROS elimination [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, 413(1): 10 – 16.
- [85] Jang S J, Wi S J, Choi Y J, et al. Increased polyamine biosynthesis enhances stress tolerance by preventing the accumulation of reactive oxygen species: T – DNA mutational analysis of *Oryza sativa* lysine decarboxylase – like protein 1 [J]. Molecules and cells, 2012, 34(3): 251 – 262.
- [86] Tuteja N, Sahoo R K, Garg B, et al. OsSUV3 dual helicase functions in salinity stress tolerance by maintaining photosynthesis and antioxidant machinery in rice (*Oryza sativa* L. cv. *IR64*) [J]. The Plant Journal, 2013, 76(1): 115 – 127.
- [87] You J, Hu H, Xiong L. An ornithine δ – aminotransferase gene *OsOAT* confers drought and oxidative stress tolerance in rice [J]. Plant science, 2012, 197: 59 – 69.