


**Franziska Hempel**

Jahrgang 1980. 2001–2006 Biologiestudium an der Philipps-Universität Marburg. Seit 2007 Promotion in der Abteilung Zellbiologie, Philipps-Universität Marburg.

## ISE-G\*-Preis 2008

# Proteintransport in komplexe Plastiden

FRANZISKA HEMPEL

ABTEILUNG FÜR ZELLBIOLOGIE, PHILIPPS-UNIVERSITÄT MARBURG

■ Primäre Plastiden, wie beispielsweise die Chloroplasten höherer Pflanzen, sind ursprünglich vor mindestens 1,2 Milliarden Jahren im Rahmen einer primären Endosymbiose entstanden. Dabei wurde ein ehemals frei lebendes Cyanobakterium von einer eukaryoten Wirtszelle aufgenommen, als Symbiont stabil integriert und schließlich bis zum Organell reduziert.

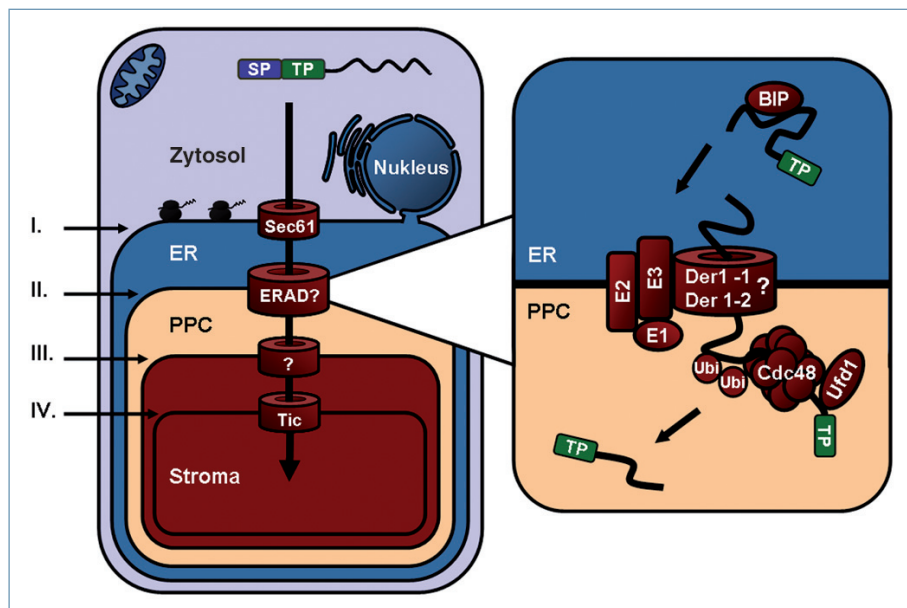
Verschiedene Algen und sogar humanpathogene Parasiten, wie der Malaria-Erreger *Plasmodium falciparum*, sind das Produkt einer so genannten sekundären Endosym-

biose. Ähnlich dem Matroschka-Prinzip wurde eine eukaryote Zelle mit primärer Plastide erneut als Endosymbiont aufgenommen und stark reduziert. Auf diese Weise entstanden Plastiden, die von drei bis vier Membranen umgeben sind und in Abgrenzung zu den primären Plastiden, welche nur zwei Hüllmembranen besitzen, als komplexe Plastiden bezeichnet werden<sup>[1]</sup>.

Im Rahmen sowohl primärer als auch sekundärer Endosymbiose wurde das Genom des Endosymbionten stark reduziert und ein Großteil der Gene in den Nukleus der Wirtszelle

transferiert. Etliche Proteine des Endosymbionten müssen folglich über mehrere Membranen zurück in das Organell transportiert werden. Während im Falle primärer Plastiden die Mechanismen des Proteintransports weitgehend aufgeklärt sind (Toc/Tic-System), ist der Transport über die vier Membranen verschiedener komplexer Plastiden bislang nur unzureichend bekannt.

Die Diatomee *Phaeodactylum tricornutum* zählt zusammen mit verschiedenen anderen Algen, Ziliaten und auch Parasiten wie *Toxoplasma gondii* und *Plasmodium falciparum* zur Gruppe der Chromalveolaten, deren komplexe Plastide auf eine ancestrale Rotalge zurückgeht. Im Nukleus codierte plastidäre Proteine tragen in allen diesen Organismen ein N-terminales zweigeteiltes topogenes Signal, das aus einem Signalpeptid und einem Transitpeptid besteht und für den Transport über die vier Plastidenmembranen notwendig ist (Abb. 1)<sup>[2]</sup>. Die äußerste Plastidenmembran von *P. tricornutum* ist mit dem ER verbunden und wird von Proteinen, die auf dem Wirtsgenom codiert sind, kotranslational überquert. Wie Proteine die folgenden Membranen passieren, ist zu weiten Teilen noch ungeklärt. Für den Transport über die zweite Plastidenmembran postulieren wir die Beteiligung eines Transportsystems, welches sich von dem ERAD-System des Endosymbionten ableitet<sup>[3]</sup>. Das ERAD-System (ER-assoziierte Degradation) ist eine Maschinerie, die falsch gefaltete Proteine im ER erkennt und mittels eines komplexen Transportapparats in das Zytosol zurücktransportiert, wo diese Proteine im Proteasom abgebaut werden<sup>[4]</sup>. *In silico*-Analysen haben gezeigt, dass Chromalveolaten verschiedene Transportfaktoren des ERAD-Systems immer noch in einer symbiontischen Variante besitzen, obwohl das ER des eukaryoten Endosymbionten nicht erhalten blieb<sup>[3]</sup>. Wir nehmen an, dass in Chromalveolaten wie *P. tricornutum* das ERAD-Transportsystem des Endosymbionten von der ER-Membran in die zweite Plastidenmembran relokalisiert und als



▲ **Abb. 1:** Modell zum Prä-Proteintransport über die zweite Plastidenmembran der Diatomee *Phaeodactylum tricornutum*. Die komplexe Plastide der *P. tricornutum* ist im Rahmen einer sekundären Endosymbiose entstanden und von vier Membranen umgeben (I.–IV.), wobei die äußerste Membran in Verbindung mit dem ER der Wirtszelle steht. Im Nukleus codierte plastidäre Proteine tragen ein N-terminales zweigeteiltes topogenes Signal, das aus einem Signalpeptid (SP) und einem Transitpeptid (TP) besteht. Während das Signalpeptid nach dem kotranslationalen Transport über die äußerste Membran abgespalten wird, ist das Transitpeptid für den Transport über die weiteren drei Membranen als Erkennungssequenz essenziell. Für die Translokation an der zweiten Plastidenmembran (II.) postulieren wir ein von ERAD abgeleitetes Transportsystem, das von der symbiontischen ER-Membran in die besagte Plastidenmembran relokalisiert und zum Prä-Proteintransporter umfunktionierte. Kernkomponenten dieses Systems sind die Proteine Der1-1 und Der1-2, die möglicherweise den Translokationskanal bilden. Ähnlich zum ursprünglichen ERAD-System werden unter Umständen auch in unserem von ERAD abgeleiteten System die Proteine durch E1, E2 und E3 Enzyme auf der zytosolischen Seite ubiquitiniert und mithilfe der ATPase Cdc48 und Ko-Faktoren (Ufd1) aus der Membran herausgezogen. ERAD: ER-assoziierte Degradation, ER: Endoplasmatisches Retikulum, PPC: periplastidäres Kompartiment, Tic: Translokation der inneren Chloroplastenmembran, BiP: *immunoglobulin heavy chain binding*-Protein, Ubi: Ubiquitin.

\* Internationale Gesellschaft für Endozytobiologie

Prä-Proteintransporter umfunktioniert wurde.

Ein wichtiger Faktor des ERAD-Systems ist das Der1-Protein, das als potenziell Kanal-bildende Komponente im Fokus steht. In *P. tricornutum* findet man zwei symbiontische Versionen dieses Proteins (Der1-1 und Der1-2). Lokalisationsstudien mit GFP-Fusionskonstrukten sowie elektronenmikroskopische Untersuchungen mittels Immunodetektion legen eine Lokalisation der Proteine in der zweiten Plastidenmembran nahe (unveröffentlicht). Die Der1-Proteine sind mit 25 kDa allerdings relativ klein und ein Protein alleine wäre nicht in der Lage, einen Translokationskanal zu bilden. Wir konnten *in vivo* und *in vitro* jedoch zeigen, dass die symbiontischen Der1-Proteine sowohl Homo- als auch Hetero-Oligomere bilden und somit diese Grundvoraussetzung für die Formation einer Pore durchaus erfüllen (unveröffentlicht).

Die Evolution von Organellen forderte die Entwicklung neuer Transportsysteme, um Proteine, die im Wirtsgenom codiert werden, in den Symbionten zu dirigieren. Hier liefern wir ein Beispiel dafür, dass ein in der Zelle bereits vorhandenes Transportsystem relokalisiert wurde und nun in neuem Kontext genutzt wird. ■

## Literatur

- [1] Gould, S. B., Waller, R. F., McFadden, G. I. (2008): Plastid evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 491–517.
- [2] Hempel, F., Bozarth, A. S., Sommer, M. S., Zauner, S., Przyborski, J. M., Maier, U. G. (2007): Transport of nuclear-encoded proteins into secondarily evolved plastids. *Biol. Chem.* 388: 899–906.
- [3] Sommer, M. S., Gould, S. B., Lehmann, P., Gruber, A., Przyborski, J. M., Maier, U. G. (2007): Der1-mediated pre-protein import into the periplastid compartment of chromalveolates? *Mol. Biol. Evol.* 24: 918–928.
- [4] Vembar, S. S., Brodsky, J. L. (2008): One step at a time: endoplasmic reticulum-associated degradation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9: 944–957.

## Korrespondenzadresse:

Franziska Hempel  
Abteilung für Zellbiologie  
Philipps-Universität Marburg  
Karl-von-Frisch-Straße 8  
D-35032 Marburg  
Tel.: 06421-2821542  
franziska.hempel@t-online.de