

Organellinteraktionen

Spezifische Membrankontaktstellen bei Pflanzen: wer mit wem, warum und wie

ANNA-LENA FALZ¹, STEFANIE J. MÜLLER-SCHÜSSELE²

¹INRES, UNIVERSITÄT BONN

²FACHBEREICH BIOLOGIE, TU KAISERSLAUTERN

Cellular membranes can serve as barriers between subcellular compartments, but they can also interact to form dynamically regulated membrane contact sites between a specific pair of organelles. Focusing on plants, this article discusses local redox environments and the current knowledge on membrane contact sites as examples for the dividing and connecting functions of membranes, respectively.

DOI: 10.1007/s12268-021-1669-2

© Die Autorinnen 2021

■ Zellkompartimente ermöglichen es Zellen, biochemische Funktionen und Umgebungen zu trennen, sodass eine Zelle als System funktionieren kann. Diese räumliche Unterteilung garantiert die relative Unabhängigkeit von Kompartimenten, z. B. bei lokalen Redoxpotenzialen. Sie schafft aber auch die Notwendigkeit des spezifischen Austauschs von Proteinen, Metaboliten und Informationen zwischen den Kompartimenten. Hierbei kann es zu dynamisch regulierten direkten Interaktionen zwischen Membranen verschiedener Kompartimente kommen. In den vergangenen Jahren hat die Forschung zu spezifischen Membrankontaktstellen an Dynamik gewonnen. Vor allem in Hefe und tierischen Modellen ist schon viel darüber bekannt, wie und warum verschiedene Organellen miteinander interagieren, indem sich ihre Membranen einander annähern und miteinander verknüpfen. Auch in Pflanzen spielen Membrankontaktstellen vermutlich wichtige Rollen für verschiedene zelluläre Prozesse.

Zusammen und doch getrennt

Intrazelluläre Membransysteme funktionieren als Diffusionsbarriere für gelöste Stoffe. Metabolite werden selektiv (aktiv oder passiv) durch Membranen transportiert und Proteine durch komplexe Importsysteme an ihren Bestimmungsort verfrachtet. Somit entsteht in jedem Zellkompartiment eine einzigartige Zusammensetzung aus Reaktionskom-

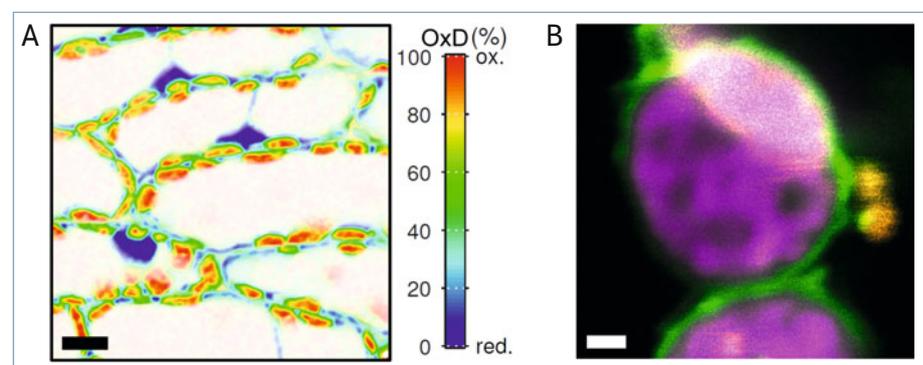
ponenten, die für die spezifischen Funktionen der Organellen verantwortlich ist.

Ein einzelnes Organell ist somit als individuelle Funktionseinheit zu betrachten. Techniken, wie die quantitative Massenspektrometrie, erlauben es uns mittlerweile, funktionelle Überlegungen zu Einzelorganellen anzustellen, wie z. B. für ein repräsentatives Mitochondrium der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* (siehe auch Artikel auf S. 715 in dieser Ausgabe) [1].

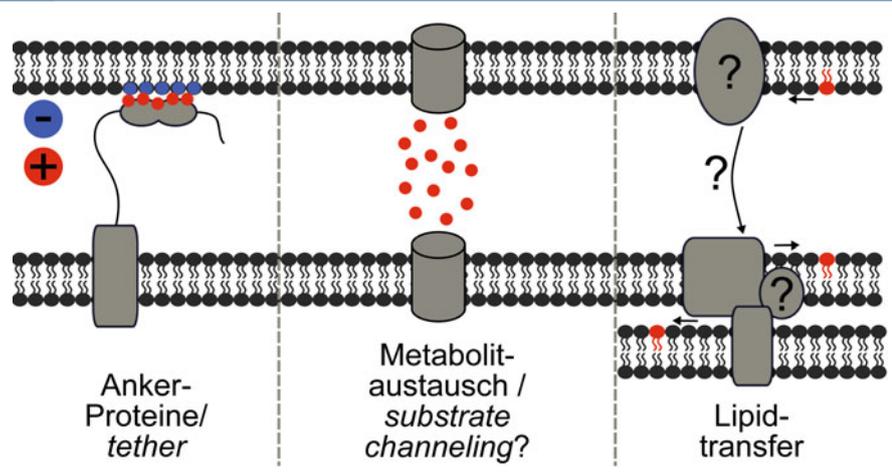
Innerhalb eines Kompartiments herrscht aus mehreren Gründen außerdem eine ganz spezifische Redoxumgebung vor. Zum einen weist ein Kompartiment eine individuelle

Ausstattung an redoxaktiven Proteinen auf, sodass die Flüsse von Elektronen durch Redoxkaskaden stark von den vorhandenen Interaktionspartnern abhängen. Diese lokalen Redoxnetzwerke dienen der metabolischen Kontrolle, dem Abfangen (*scavenging*) reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) sowie der Reparatur von ROS-induzierten Schäden. Die Kapazitäten dieser Redoxnetzwerke können zwischen Geweben, Entwicklungsstadien und Spezies variieren. Hierbei unterliegen sie auch der evolutionären Anpassung an neue Lebensräume und Stressfaktoren, was z. B. bei der Landpflanzenevolution eine Rolle gespielt haben könnte [2].

Zum anderen sind Membranen bis auf wenige Ausnahmen auch eine Barriere für die oxidierte Form des zellulären Redoxpuffers Glutathion, Glutathiondisulfid (GSSG). Das bedeutet, dass in einem Kompartiment produziertes GSSG größtenteils dort verbleibt und entweder lokal wieder durch das Enzym Glutathionreduktase reduziert wird oder sich das Glutathionredoxpotenzial (E_{GSH}) lokal ändert. Diese lokal begrenzten Änderungen können in Pflanzen mit fehlenden Isoformen der Glutathionreduktase beobachtet werden (**Abb. 1**, [3, 4]). Grundsätzlich ist es aber auch möglich, dass die lokalen Kapazitäten der Glutathionregenera-



▲ **Abb. 1:** Kompartimente können lokale Reaktionsbedingungen schaffen, aber auch untereinander interagieren. **A,** Der Oxidationsgrad (OxD) von Grx1-roGFP2 zeigt unterschiedliche Glutathionredoxpotenziale im Cytosol und den Chloroplasten von Mooszellen (*Physcomitrium patens*) an, denen eine stromale Glutathionreduktase fehlt. Größenbalken: 10 μm . **B,** Durch Fluoreszenzmarkierung der (äußeren) Membran sind enge Assoziationen zwischen Organellen zu beobachten (hier Chloroplasten und Peroxisomen). Größenbalken: 1 μm .



▲ **Abb. 2:** Membrankontaktstellen werden von Protein-Ankern (*tether*) zusammengehalten, wie z. B. von dem ER-PM *tether* SYT1 in *Arabidopsis thaliana*. Es gibt Hinweise darauf, dass auch *substrate channeling* zwischen Organellen stattfinden könnte. Plastiden können Galaktolipide (Bestandteile der plastidären Biomembranen) zu Mitochondrien transferieren; hier kennt man einen Teil der involvierten Proteine auf mitochondrieller Seite [12].

tion unter bestimmten Stressbedingungen überschritten werden, z. B. durch massive herbizidinduzierte ROS-Produktion in Chloroplasten. In diesem Fall kann eine Änderung des Redoxstatus in einem Kompartiment auch auf andere übergreifen, wie die zeitgleiche Beobachtung mittels genetisch codierter Redoxsensoren [5] im Chloroplastenstroma und Cytosol gezeigt hat [6].

Durch die Notwendigkeit, sich schnell an unterschiedliche Lichtbedingungen anpassen zu können, ist der Metabolismus von Pflanzen sehr variabel und dynamisch reguliert. Das Gleiche gilt auch für die Form und Position der Kompartimente sowie deren Interaktion miteinander. Zellkompartimente können miteinander interagieren, und zwar nicht nur auf der Ebene von Ionen-, Metabolit- und Proteinaustausch mit dem Cytosol, sondern auch durch Assoziation über spezifisch gebildete Membrankontaktstellen. Diese Interaktionsplattformen basieren auf transienten physischen Verbindungen aus Proteinbrücken zwischen verschiedenen Organellmembranen (ohne Membranfusion). Direkte heterotypische Interaktionen zwischen Organellen wurden funktionell erstmals in der Bäckerhefe zwischen Mitochondrien und dem endoplasmatischen Retikulum (ER) nachgewiesen. Seitdem expandiert das Forschungsfeld zu Membrankontaktstellen stetig [7].

Auch bei Pflanzen stellt sich die grundlegende Frage, inwieweit die räumliche Organisation die molekularen Zusammenhänge in einer Zelle widerspiegelt und unterstützt. Besonderes Augenmerk liegt hier auf der Aufklärung, von welcher Natur der Informationstransfer zwischen bestimmten Organellpaaren ist, welche Prozesse des Metabolis-

mus oder der Signalweiterleitung von Membrankontaktstellen abhängen – und in welchem Umfang.

Membrankontaktstellen: spezifische Interaktion zwischen Organellen

Spezifische Kontaktstellen zwischen subzellulären Kompartimenten könnten mehrere Vorteile bieten. Sie könnten den Austausch von verschiedenen Arten von Molekülen, z. B. Lipiden oder reaktiven Sauerstoffspezies, erleichtern. Des Weiteren könnten sie auch die Organellpositionierung in der Zelle beeinflussen oder positionelle Informationen für Prozesse liefern, wie z. B. mitochondrielle Teilung oder Fusion [8].

Doch wie sind Membrankontaktstellen messbar und ihre Funktion bestimmbar?

Die (äußere) Membran von Organellen kann durch translationale Fusionen von Membranproteinen an fluoreszierende Proteine in genetisch zugänglichen Organismen sichtbar gemacht werden. Im konfokalen Fluoreszenzmikroskop sind dann oft scheinbar direkt nebeneinanderliegende Organellen zu beobachten (**Abb. 1**). Korrelative Bewegungen wurden bei Pflanzen für das ER und Mitochondrien [8, 9] sowie Peroxisomen nachgewiesen. Allerdings ist das Auflösungsvermögen auch bei konfokaler Mikroskopie limitiert. Selbst wenn kein Abstand zwischen Membranen erkennbar ist, können die betreffenden Membranen immer noch weiter voneinander entfernt sein als der vermutete Abstand im Bereich von Membrankontaktstellen. Eine mögliche Annäherung an die direkte Visualisierung von Membrankontaktstellen ist die superauflösende Mikroskopie, die die Auflösungsgrenze in den relevanten Bereich von weni-

gen bis wenigen Dutzend Nanometern verschiebt.

Transmissionselektronenmikroskope weisen ein noch größeres Auflösungsvermögen auf, aber sind auf eine vorherige Fixierung des zu untersuchenden Materials angewiesen. Nebeneinanderliegende Membranen verschiedener Kompartimente können hier direkt visualisiert werden, wobei der Nachweis von Membrankontaktstellen hier oft auf der Definition von Kriterien beruht, wie z. B. auf den Abstand mit einer oberen Schwelle von weniger als 30 Nanometer. Allerdings wurden auch schon Membrankontaktstellen mit größerem Abstand zwischen Membranen gefunden [7].

Eine mögliche Weiterentwicklung der korrelativen Organellbeobachtung mittels Fluoreszenz wäre es, spezifische Marker zu entwickeln, die Membrankontaktstellen identifizieren und lokalisieren können. Dies kann u. a. durch die Nutzung verschiedener Split-Fluoreszenz-Systeme möglich werden, die schon erfolgreich zur Visualisierung von Membrankontaktstellen zum Einsatz gekommen sind. Allerdings wird hier durch die Abreifung des fluoreszierenden Proteins eventuell eine permanente Verknüpfung zwischen Organellen geschaffen, die das Verhalten der Organellen und der Membrankontaktstellen beeinflussen könnte [8].

Alle bildgebenden Nachweisverfahren weisen somit die Problematik auf, dass eine räumliche Korrelation nicht unbedingt ein zwingender Nachweis für eine spezifische Interaktion ist, die auch eine Funktion hat. Dies gilt besonders für ausdifferenzierte Pflanzenzellen, bei denen der Turgor der zentralen Vakuole dafür sorgt, dass der restliche Inhalt der Zelle eng zusammengepresst wird.

Eine Lösung wäre es, die Proteine zu identifizieren, die als Anker (*tether*) zwischen heterotypischen Membranen fungieren und damit Membrankontaktstellen etablieren und zusammenhalten. Während in Modellorganismen bei Pilzen und Tieren hier schon einige Anker für verschiedene Organellpaare bekannt sind [7], ist in Pflanzen bislang nur *Synaptotagmin 1* in *A. thaliana* (SYT1) dafür bekannt, den Kontakt zwischen zwei verschiedenen Membranen direkt herzustellen. Bei diesem Protein sorgt eine Transmembrandomäne für die Verankerung im ER, während der Kontakt zur Plasmamembran (PM) durch elektrostatische Interaktionen etabliert wird (**Abb. 2**, [10]). Generell spiegelt die Zusammensetzung von Proteinen an Membrankontaktstellen vermutlich auch

deren Funktion wider, wie etwa die Präsenz von speziellen Transportproteinen oder Enzymen, z. B. für den Austausch von Metaboliten oder Lipiden (**Abb. 2**). Bei Pflanzen scheint es einige evolutionäre Unterschiede bei Identität und Zusammensetzung der Membrankontaktstellen zu anderen Eukaryoten zu geben. Immerhin unterscheidet sich auch die pflanzliche Physiologie durch die Präsenz zusätzlicher Organellen, den Plastiden, sowie damit einhergehenden zusätzlichen Prozessen, wie z. B. der Photorespiration oder der variablen Organellpositionierung bei verschiedenen Lichtbedingungen.

Weiterhin kann die Existenz von Membrankontaktstellen durch die physische Assoziation von Membranen aneinander nachgewiesen werden. Hierbei war es schon länger bekannt, dass bei Organellisierungen Membranstücke anderer Organellen sozusagen mit aufgereinigt werden. Durch den Einsatz optischer Pinzetten konnte so z. B. schon 2007 nachgewiesen werden, dass bei Bewegung eines Chloroplasten das umge-

bende ER mitgezogen wird [11]. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass sich auch Peroxisomen und Chloroplasten physisch miteinander verknüpfen können. Dadurch kann sich beim Wegziehen von Peroxisomen von Chloroplasten ein Membrantubulus der peroxisomalen Membran (*peroxule*) bilden, da ein Teil der peroxisomalen Membran am Chloroplasten festhängt.

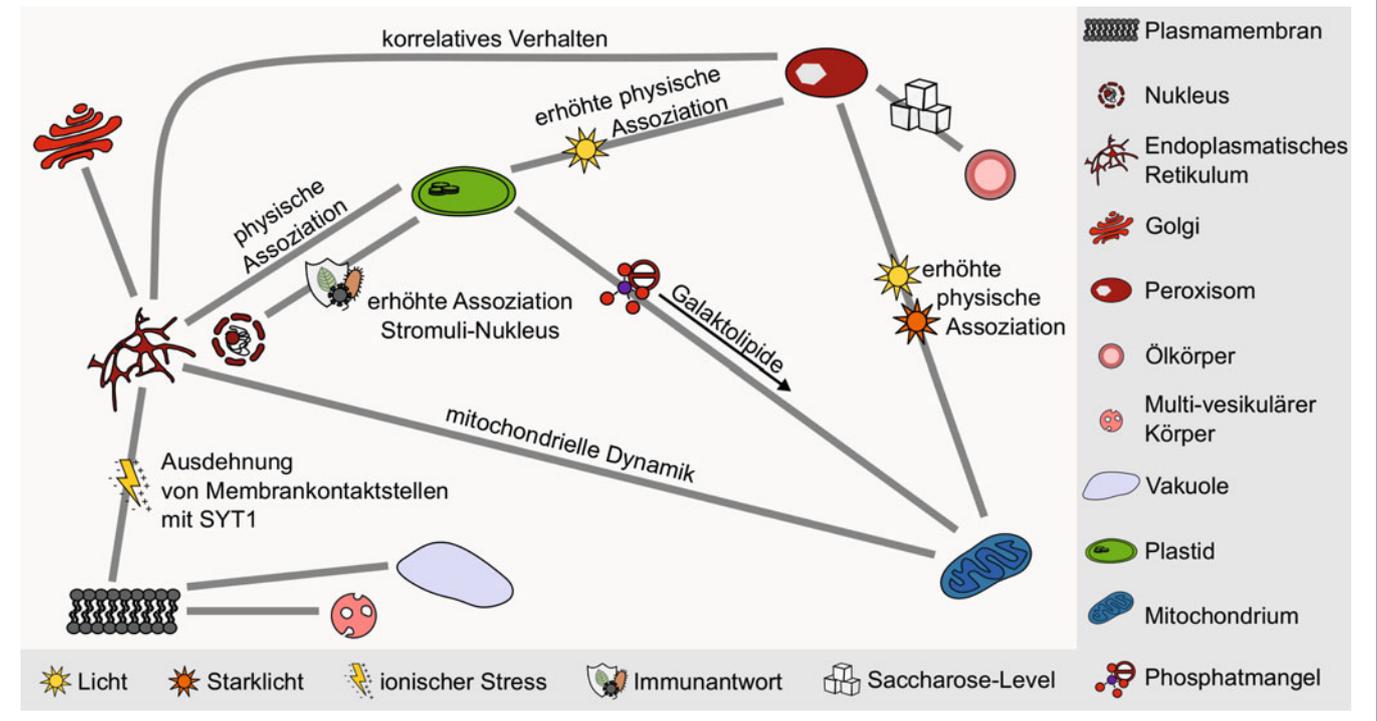
Zusätzlich gibt es indirekte Evidenz für Membrankontaktstellen durch den Nachweis von Molekülaustausch zwischen Kompartimenten durch biochemische Methoden. So sind einige Substrate der Tocopherol- und Carotenoidbiosynthese in Plastiden für Enzyme vom Lumen des ER aus zugänglich. Weiterhin werden unter Phosphatmangel Phospholipide aus Zellmembranen entfernt und teilweise durch in Plastiden produzierte Galaktolipide ersetzt. Hier wurde ein Austausch von Digalaktosyldiacylglycerol (DGDG) zwischen Plastiden und Mitochondrien biochemisch nachgewiesen (**Abb. 2** und **3**, [12]). Man kennt einen Teil der Proteine, die den Kontakt zwischen innerer und

äußerer Mitochondrienmembran herstellen (*mitochondrial transmembrane lipoprotein* (MTL)-Komplex), während der genaue Mechanismus des Lipidtransfers zwischen den Organellen noch unklar ist (**Abb. 2**, [12]).

Allerdings können konkrete Funktionen von Membrankontaktstellen im Prinzip nur durch gestörte Funktionen, also z. B. Änderungen des Austauschs von Molekülen, nachgewiesen werden. Membrankontaktstellen genetisch zu beeinflussen, könnte sich auch dadurch als schwierig erweisen, dass es zwischen einem bestimmten Organellpaar vermutlich multiple Anker-Proteine für eine Art Membrankontaktstelle oder sogar verschiedene Arten von Membrankontaktstellen geben könnte. Darüber hinaus ist es wahrscheinlich, dass die Proteinzusammensetzung an Membrankontaktstellen variiert, genauso wie die Fläche des Kontakts sowie die Frequenz und Dauer der physischen Assoziation zweier Membranen. Erste Versuche mit den in Pflanzen bekannten Membrankontaktstellen haben schon gezeigt, dass Umweltbedingungen diese Faktoren

Hier steht eine Anzeige.

 Springer



▲ **Abb. 3:** Wer mit wem, warum und wie: Graphdatenbank bekannter Organellinteraktionen in Pflanzenzellen. Die Symbole an den Kanten spiegeln die Bedingungen wider, der Text erläutert die experimentelle Evidenz. Für weiterführende Informationen siehe [8].

durchaus beeinflussen können. Zum Beispiel führt Salzstress zu einer Zunahme der durch SYT1 gebildeten Membrankontaktstellen zwischen ER und Plasmamembran bei *A. thaliana*. Mikroskopische Beobachtungen haben gezeigt, dass die Assoziation an der Photosynthese beteiligter Organellen bei aktiver Photosynthese vermehrt auftritt (**Abb. 3**, [8] und enthaltene Referenzen).

Für Membrankontaktstellen bei Pflanzen gilt hier momentan frei nach Manfred Hinrich: „Je mehr man weiß, umso mehr erkennt man, wieviel man nicht weiß“.

Danksagung

Wir danken Alexander Ladwein für seine Unterstützung beim Redigieren. ■

Literatur

- [1] Fuchs P, Rugen N, Carrie C et al. (2020) Single organelle function and organization as estimated from Arabidopsis mitochondrial proteomics. *Plant J* 101: 420–441
- [2] Müller-Schüssele SJ, Bohle F, Rossi J et al. (2021) Plasticity in plastid redox networks: evolution of glutathione-dependent redox cascades and glutathionylation sites. *BMC Plant Biol* 21: 322
- [3] Müller-Schüssele SJ, Wang R, Gütle DD et al. (2020) Chloroplasts require glutathione reductase to balance reactive oxygen species and maintain efficient photosynthesis. *Plant J* 103: 1140–1154
- [4] Marty L, Bausewein D, Müller C et al. (2019) Arabidopsis glutathione reductase 2 is indispensable in plastids, while mitochondrial glutathione is safeguarded by additional reduction and transport systems. *New Phytol* 224: 1569–1584
- [5] Müller-Schüssele SJ, Schwarzländer M, Meyer AJ (2021) Live monitoring of plant redox and energy physiology with genetically encoded biosensors. *Plant Physiol* 186: 93–109
- [6] Ugalde JM, Fuchs P, Nietzel T et al. (2021) Chloroplast-derived photo-oxidative stress causes changes in H_2O_2 and F_{CSH} in other subcellular compartments. *Plant Physiol* 186: 125–141

[7] Scorrano L, De Matteis MA, Emr S et al. (2019) Coming together to define membrane contact sites. *Nat Commun* 10: 1287

[8] Baillie AL, Falz AL, Müller-Schüssele SJ et al. (2020) It started with a kiss: monitoring organelle interactions and identifying membrane contact site components in plants. *Front Plant Sci* 11: 517

[9] Mueller SJ, Reski R (2015) Mitochondrial dynamics and the ER: the plant perspective. *Front Cell Dev Biol* 3: 78

[10] Pérez-Sancho J, Tilsner J, Samuels AL et al. (2016) Stitching organelles: organization and function of specialized membrane contact sites in plants. *Trends Cell Biol* 26: 705–717

[11] Andersson MX, Goksör M, Sandelius AS (2007) Optical manipulation reveals strong attracting forces at membrane contact sites between endoplasmic reticulum and chloroplasts. *J Biol Chem* 282: 1170–1174

[12] Michaud M, Jouhet J (2019) Lipid trafficking at membrane contact sites during plant development and stress response. *Front Plant Sci* 10: 2

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Stefanie Müller-Schüssele
 Molekulare Botanik
 Fachbereich Biologie
 TU Kaiserslautern
 Erwin-Schrödinger-Straße 70
 D-67663 Kaiserslautern
stefanie.mueller-schuessele@biologie.uni-kl.de

AUTORINNEN



Stefanie Müller-Schüssele

2003–2008 Trinationales Biotechnologiestudium Straßburg. 2012 Promotion an der Universität Freiburg unter Anleitung von Prof. Dr. R. Reski; dort bis 2015 Postdoktorandin. 2015–2021 Nachwuchsgruppenleiterin im Labor von Prof. Dr. A. Meyer am INRES, Universität Bonn. Seit 2021 Professorin für Molekulare Botanik am Fachbereich Biologie der TU Kaiserslautern.



Anna-Lena Falz

2011–2014 Bachelor in Biowissenschaften und 2014–2017 Master in Biotechnologie an der Universität Münster. Seit 2017 Promotion an der Universität Bonn unter der Anleitung von Prof. Dr. A. Meyer und Prof. Dr. S. Müller-Schüssele.