



## Doctoral Thesis

# The role of Executer1- and Executer2-dependent retrograde signaling after release of singlet oxygen in *Arabidopsis thaliana*

**Author(s):**

Lee, Keun Pyo

**Publication Date:**

2009

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005811429> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss.ETH No. 17871

**The role of EXECUTER1- and EXECUTER2-dependent retrograde signaling after release of singlet oxygen in *Arabidopsis thaliana***

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH  
for the degree of  
DOCTOR OF SCIENCES

presented by

**Keun Pyo Lee**

M.Sc. in Applied Biology, University of Dongguk, Republic of Korea

Date of birth: April 07, 1975

Citizen of the Republic of Korea

Accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. K. Apel, examiner  
Prof. Dr. N. Amrhein, co-examiner

March, 2009

## Summary

The conditional *flu* mutant of Arabidopsis, which generates  $^1\text{O}_2$  in plastids during a dark-to-light transition, has been used to study the biological activity of this reactive oxygen species. Upon the release of  $^1\text{O}_2$ , seedlings of the *flu* mutant bleach and die, whereas mature *flu* plants stop their growth. These  $^1\text{O}_2$ -mediated stress responses were abrogated in a suppressor mutant of *flu*, *flu/executer1*. In addition to visible phenotypic changes, generation of  $^1\text{O}_2$  in the *flu* mutant led also to a rapid and drastic change in nuclear gene expression. Inactivation of EXECUTER1 (EX1) attenuated upregulation of  $^1\text{O}_2$ -responsive genes, but did not fully eliminate these changes. In the present study a second closely related EXECUTER protein, EX2, has been identified that has been also implicated with the signaling of  $^1\text{O}_2$ -dependent nuclear gene expression changes. Like EX1, EX2 is confined to the plastid. The primary function of EX2 seems to be that of a modulator attenuating and controlling the activity EX1. Only when both EX proteins are inactive in an *ex1/ex2/flu* triple mutant was the upregulation of the vast majority of  $^1\text{O}_2$ -responsive genes abolished.

In the second part of this thesis *ex1/ex2* double mutants have been used in a wild-type background to verify the physiological significance of EX1/EX2-dependent signaling. Plastid differentiation was severely impaired in cotyledons of *ex1/ex2* seedlings. This developmental arrest of plastid formation could be attributed to the release of  $^1\text{O}_2$  during late embryogenesis activating signaling pathways prior to seed dormancy that predetermined the fate of plastid differentiation during seedling development. Unexpectedly, EX1/EX2-dependent signaling during late embryogenesis implicated abscisic acid (ABA) in playing a key role during early plastid differentiation. Normal plastid differentiation in *ex1/ex2* seedlings could be rescued by the addition of ABA.

Finally, in the third part of this thesis a novel form of programmed cell death has been described that implicates chloroplasts rather than mitochondria with being the source and the target of a cell death pathway that leads to a genetically controlled rapid loss of chloroplast integrity and triggers the collapse of the affected cell. Inactivation of EX1 and EX2 blocked the execution of this  $^1\text{O}_2$ -mediated cell death program.

## Zusammenfassung

Die konditionierbare *flu* Mutante von *Arabidopsis*, die während eines Dunkel- Lichtwechsels  $^1\text{O}_2$  in Plastiden freisetzt, wurde benutzt um die biologische Aktivität dieser reaktiven Sauerstoffspezies zu beschreiben. Nach Freisetzung von  $^1\text{O}_2$  bleichen Keimlinge der *flu* Mutante aus und sterben, während reife *flu* Pflanzen ihr Wachstum einstellen. Diese durch  $^1\text{O}_2$  ausgelösten Stressantworten wurden in einer Suppressor Mutante von *flu*, *flu/ex1*, ausgelöscht. Neben den sichtbaren phänotypischen Veränderungen führt die Freisetzung von  $^1\text{O}_2$  in der *flu* Mutante auch zu schnellen Veränderungen der Kerngenexpression. Inaktivierung von EXECUTER1 reduziert zwar die Hochregulation der durch  $^1\text{O}_2$  stimulierbaren Kerngene, unterdrückt sie aber nicht vollständig. In der vorliegenden Arbeit wurde ein zweites, eng verwandtes EXECUTER Protein, EXECUTER2 (EX2) gefunden, das ebenfalls an der Auslöschung von  $^1\text{O}_2$ -abhängigen Änderungen der Kerngenexpression beteiligt ist. Ähnlich wie EX1 tritt EX2 nur in den Plastiden auf. Die Hauptfunktion von EX2 scheint die eines Modulators von EX1 zu sein, der die Aktivität von EX1 unterdrückt und kontrolliert. Nur wenn beide EX Proteine in einer *ex1/ex2/flu* Triple-Mutante inaktiv sind, wurde die Hochregulation fast aller  $^1\text{O}_2$ -abhängigen Gene ausgelöscht.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden *ex1/ex2* Doppelmutanten im Wildtyphintergrund benutzt, um die physiologische Relevanz der EX1/EX2-abhängigen Signalübertragung zu überprüfen. Die Differenzierung von Plastiden in den Keimblättern von *ex1/ex2* Keimlingen war stark gestört. Dieser Stop der Plastidenentwicklung konnte auf die Freisetzung von  $^1\text{O}_2$  während der späten Embryogenese zurückgeführt werden. Somit werden Signalwege vor Erreichen der Dormanz der Samen aktiviert, welche den weiteren Verlauf der Plastidenentwicklung vorherbestimmen. Überraschenderweise zeigt die Untersuchung des *ex1/ex2*-abhängigen Signalweges, dass Abscisinsäure während der frühen Plastidenentwicklung eine Schlüsselrolle spielt. Die normale Differenzierung der Plastiden in der *ex1/ex2* Mutante konnte durch Zugabe von exogener ABA wieder hergestellt werden.

Im dritten und letzten Kapitel dieser Dissertation wurde eine neue Form von programmiertem Zelltod gefunden, bei der Chloroplasten statt Mitochondrien den Anfang und das Ziel eines Signalweges darstellen. Diese Signalwege führen zu einem genetisch kontrollierten Verlust der Chloroplastenintegrität und bewirken den Zusammenbruch der physiologischen Lebensprozesse der betroffenen Zelle. Die Inaktivierung von EX1 und EX2 blockiert die Durchführung dieses durch  $^1\text{O}_2$  ausgelösten Zelltodprogramms.