

Der Einfluß von Cycloheximid und Chloramphenicol auf die Biosynthese der Photosynthese-Pigmente in *Cyanophora paradoxa* Korsch.

III. Chlorophyll *a* und Phycchromoproteide

The Influence of Cycloheximide and Chloramphenicol on the Biosynthesis of the Photosynthetic Pigments in *Cyanophora paradoxa*.

III. Chlorophyll *a* and Phycchromoproteids

Margarete Neu-Müller and Hainfried E. A. Schenk

Universität Tübingen, Institut für Biologie I, Auf der Morgenstelle 1, D-7400 Tübingen

Z. Naturforsch. 38c, 990–995 (1983); received July 19, 1983

Cyanophora paradoxa, Biosynthesis, Chlorophyll, Phycocyanin, Allophycocyanin, Cycloheximide, Chloramphenicol

The inhibition effects of CHI and CA on the biosynthesis of the tetrapyrrolpigments were measured with two methods (*in vivo* VIS-spectroscopy, for chlorophyll (Chl) and the phycchromoproteids, ^{14}C incorporation only for Chl). In the case of the Chl-biosynthesis both methods show the same results: a) *In vivo* VIS-spectroscopy demonstrates that the inhibition effect of CA manifests faster than that of CHI, b) during the ^{14}C incorporation into Chl chloramphenicol (CA) inhibits more than cycloheximide (CHI) in contrary to the behaviour of chloroplasts. It seems that the CHI caused decrease of ^{14}C incorporation into Chl can be ascribed to the decreased photosynthesis. The influence of the antibiotics of the phycchromoproteids is similar to that observed for chlorophyll. It is remarkable that under the influence of CHI the phycchromoproteid biosynthesis is significantly better than under CA influence, although CHI damages the consortium more than CA. That can be interpreted, as for chlorophyll, with a more endocytobiont coded phycchromoproteid synthesis.

Bei dem Versuch, die Codierungsorte für die pigmentsynthetisierenden Enzyme von *Cyanophora paradoxa* entweder im Kern oder in der Endocyanelle zu lokalisieren, wurde im Anschluß an die vorhergehenden Arbeiten [1–3] die Wirkung der Translationsinhibitoren CHI und CA auf die Biosynthese der in der Endocyanelle vorkommenden und an der Photosynthese beteiligten Tetrapyrrolpigmente Chlorophyll *a*, C-Phycocyanin und Allophycocyanin untersucht. Die Bestimmung der Pigment-Konzentrations-Beeinflussung erfolgte allgemein mit Hilfe der *in vivo* VIS-Spektren, beim Chlorophyll zusätzlich mit ^{14}C -Markierung.

Material und Methode

Herkunft und Anzucht von *C. paradoxa* siehe [3], *in vivo* VIS-spektroskopische Bestimmung (6 unabhängige Meßreihen) von Chlorophyll *a*, Phycocyanin und Allophycocyanin.

Abkürzungen: CA, Chloramphenicol; Chl, Chlorophyll *a*; CHI, Cycloheximid; LM, Lincomycin; PC, C-Phycocyanin.

Reprint requests to Prof. Dr. H. E. A. Schenk.

0341-0382/83/1100-0990 \$ 01.30/0

cyanin und Allophycocyanin [1], ^{14}C -Markierung (3 Versuchsansätze) [3]. Chlorophyll *a* wurde durch einmalige DC-Chromatographie auf der A-Platte (siehe Abbn. 1 und 2 in [3] und den dortigen Methodenteil) von den Carotinoiden und Lipiden getrennt.

Ergebnisse und Diskussion

Chlorophyll a

Vorbemerkungen zur Chlorophyll-Biosynthese: Der erste für den Tetrapyrrol-Stoffwechsel charakteristische Metabolit ist die 5-Aminolävulinsäure (ALA) [4]. Gerade über deren Bildung wurde bezüglich der Chl-Synthese in letzter Zeit heftig diskutiert [5–9]. Lange wurde angenommen, daß bei der Chl-Biosynthese analog der Häm-Synthese ALA aus Glycin und Succinyl-CoA, katalysiert durch die 5-Aminolävulinat-Synthase, gebildet wird. Verschiedene Autoren (z. B. [8, 10–12] wiesen jedoch in photosynthetischen Bakterien, Algen und höheren Pflanzen neben der ALA-Synthase die 4,5-Dioxovaleriat-Transaminase nach, die vor allem im Licht ALA durch Aminierung eines C-5-Körpers



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

für die Chl-Synthese bereitstellt. Über die Regulation des letzteren Biosyntheseschrittes ist im Gegensatz zu der der ALA-Synthase noch wenig bekannt.

Die ALA-Synthase scheint in limitierenden Mengen vorzukommen; eine zunehmende Porphyrinsyntheserate geht oft einher mit einer spezifischen Induktion der 5-ALA-Synthase [8]. Möglicherweise wird die ALA-Synthase direkt über ihre Biosynthese gesteuert: mit 30–90 Minuten biologischer Halbwertszeit [5] ist sie ein sehr kurzlebiges und daher für Regulationen im Stundenbereich sehr geeignetes Enzym. Entsprechend schnell müßte sich eine Hemmung der Proteinsynthese durch Translationsinhibitoren auf die Chlorophyll-Biosynthese auswirken. Andere Autoren berichten [13] wiederum, daß die ALA-Synthase ein relativ stabiles Enzym mit ca. 16 Stunden Halbwertszeit sei. Allerdings muß die bei den verschiedensten Organismen beobachtete rasche Hemmung der Chl-Biosynthese durch Translationshemmer nicht unbedingt auf eine kurze Halbwertszeit der ALA-Synthase zurückgeführt werden, wie Kirk [14] erläuterte: Chlorophyll kommt nie als freies Molekül in den Zellen vor; es ist immer als Bestandteil der Thylakoidmembran an Strukturproteine gebunden. Wird nun die Synthese dieser Strukturproteine unterdrückt, kann das Chlorophyll nicht mehr effektiv aus dem biosynthetischen Milieu entfernt werden. Da Chlorophyll und einige seiner Vorstufen Inhibitoren der ALA-Synthase sind [15], können diese die Chl-Biosynthese sehr rasch unterbinden und zwar dies entweder tatsächlich über eine Feed-back-Hemmung der ALA-Synthase oder über ein anderes Enzym der Chl-Biosynthese (z.B. DOVA-Transaminase?). Die meisten Enzyme der Chl-Biosynthese sind in den Plastiden lokalisiert, werden aber allem Anschein nach an den Cytoplasma-Ribosomen synthetisiert. So hemmt CHI die Chl-Biosynthese in Pflanzen schneller und vollständiger als CA [14, 16].

Die Cyanobakterien benutzen als Hauptweg für die Tetrapyrrol-Synthese vermutlich den C-5-Weg [17]. Verschiedene Autoren wiesen nach, daß α -Ketoglutarat-Dehydrogenase und Succinyl-CoA-Synthase in Cyanobakterien fehlt [18, 19], bzw. daß Succinyl-Co-Synthase nur in geringer Aktivität vorhanden ist [20]. In den Eukaryoten, wie in den Bakterien synthetisieren diese beiden Enzyme den Hauptanteil des Succinats. Die Abwesenheit oder nur geringe Aktivität dieser beiden Enzyme in den bekannteren beträchtliche Mengen an porphy-

rinhaltigen Verbindungen produzierenden Cyanobakterien, läßt vermuten, daß hier für die Bereitstellung von 5-ALA ein Weg benutzt wird, der kein Succinyl-CoA benötigt.

Bei *Cyanocysta korschikoffiana* ist ebenfalls nur ein unvollständiger Tricarbonsäurecyclus gefunden worden [21]. Dies läßt die Annahme zu, daß auch hier ein C-5-Körper als Ausgangsmolekül für die ALA- und damit für die Chl-Synthese benutzt wird. Der Weg über die ALA-Synthase dürfte, selbst wenn er vorhanden ist, nur von untergeordneter Bedeutung für die Chl-Synthese sein.

Beeinflussung des Chlorophyllgehaltes (*in vivo* VIS-spektroskopische Bestimmung)

Die zeitliche Veränderung der Chlorophyll-Konzentrationen von behandelten und unbehandelten Kulturen wurde aus *in vivo* VIS-Spektren [1] ermittelt und ist in Abb. 1 wiedergegeben. Die relative Chlorophyll-Konzentration der Kontrollkultur steigt innerhalb von 18 Stunden nahezu linear von 100% auf ca. 135%. Demgegenüber zeigen die behandelten Kulturen eine deutliche Verminderung der Konzentrationszunahme. Nach erfolgter Zugabe von CA (bzw. LM) scheint die hemmende Wirkung sehr rasch einzusetzen, bei CHI dagegen erst 2 Stunden später, erreicht dann aber nach 4 bis

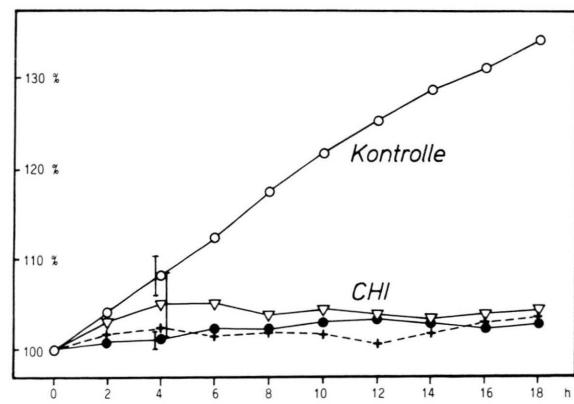


Abb. 1. *C. paradoxa*: Zeitabhängige Beeinflussung der Chlorophyll-Konzentration durch Translationsinhibitoren (*in vivo* VIS-Spektroskopie, 100% = 1,98 μ g/ml Kultur). ○ = Kontrolle (+/- 7,9%), ▽ = CHI (+/- 4,5%), ● = CA (+/- 3,8%), + = LM, die Werte in Klammern stellen den mittleren Fehler über die gesamte Meßdauer dar, die Fehlerbalken die lokale Standardabweichung.

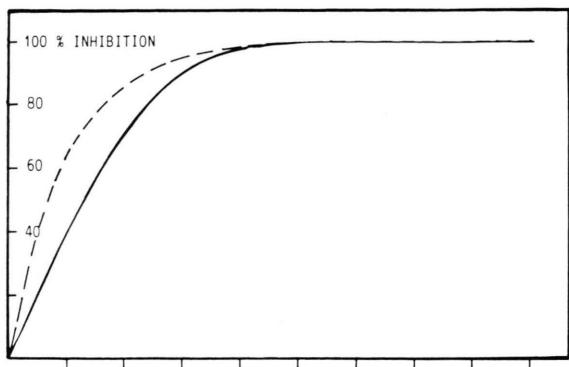


Abb. 2. *C. paradoxa*: Hemmung der Chlorophyllsynthese durch CHI (—) und CA (---). Normierte Ausgleichskurven, berechnet für die jeweilige Inhibition nach den Daten aus Abb. 1.

6 Stunden die gleiche Stärke. Unter dem Einfluß von CA, wie auch von CHI nimmt die Chl-Konzentration nur noch unwesentlich auf ca. 103% bzw. 104% des Anfangswertes zu. In Abb. 2 ist der Grad der Inhibition aufgezeichnet. Es handelt sich um normierte Ausgleichskurven (die mittlere Standardabweichung der Meßwerte entspricht den Angaben Abb. 1). CA erreicht schon nach 2 Stunden eine Hemmung von 70%, nach 4 Stunden von 90% und nach 6 Stunden von 100% (CHI-Hemmung langsamer: nach 2 Stunden 40%, nach 4 Stunden 80%, nach 6 Stunden 100%). Obwohl beide Hemmstoffe nach 6 Stunden Einwirkungszeit denselben Effekt erzielen, neigen wir zu dem Schluß, daß primär die prokaryotische Proteinbiosynthese für die Chl-Synthese von größerer Bedeutung ist als die eukaryotische.

Beeinflussung des ^{14}C -Einbaus in Chlorophyll

Der Einbau von ^{14}C in Chlorophyll kann anhand der Zunahme seiner spezifischen Radioaktivität verfolgt werden (Abb. 3). Die nach 5 Stunden Kohlendioxid-Fixierung erreichte spezifische Aktivität des Chl in der Kontrollkultur (6,7 nCi/nmol) wird zu 100% gesetzt; nach weiteren 3 Stunden, d.h. nach insgesamt 8 Stunden Versuchsdauer ist die relative spezifische Aktivität des Chlorophylls auf 158% angestiegen. Dagegen ist der ^{14}C -Einbau in die mit Hemmstoff versetzten Kulturen geringer: Die CHI-Kultur erreicht nach 5 Stunden 63%, nach 8 Stunden 101%, die CA-

Kultur nach 5 bzw. 8 Stunden nur noch ca. 20% des 5-h-Kontrollwertes. Der hemmende Effekt des CA ist also deutlich stärker als der vom CHI. Da sich bei der CA-Kultur die spezifische Aktivität von Chl vom 5-h-Wert auf den 8-h-Wert nicht mehr wesentlich verändert, muß die Hemmung schon kurz nach 5 Stunden Inkubation praktisch vollständig sein. Dies entspricht den *in vivo*-VIS-Messungen (Abbn. 1 und 2). Dagegen erscheint der durch CHI gehemmte ^{14}C -Einbau von der 5. zur 8. Stunde Inkubationszeit stärker als bei den *in vivo* VIS-Messungen gefunden auszufallen (Hemmung nur ca. 33%). Auffallenderweise stimmen die Werte der Hemmwirkung des CHI auf den ^{14}C -Einbau in Chl mit denen der Hemmung des CHI auf die Photosyntheserate (Abb. 6) überein. Der durch CHI verminderte ^{14}C -Einbau in Chl hätte somit versuchsweise allein auf die verminderte Kohlendioxid-Assimilation zurückgeführt werden können, wenn dem nicht gewisse Differenzen zu den Daten der *in vivo* VIS-Spektroskopie entgegenstehen würden.

Betrachtet man die Auswirkungen der beiden Inhibitoren auf die Chl-Synthese, so zeigen jedoch beide Untersuchungsmethoden denselben Trend: Die CA-Hemmung der Chl-Biosynthese tritt einerseits rascher ein (*in vivo* VIS-Spektroskopie) und ist andererseits stärker (^{14}C -Markierung) als die des CHI (Abbn. 3 und 6). Dies steht nun im Gegensatz

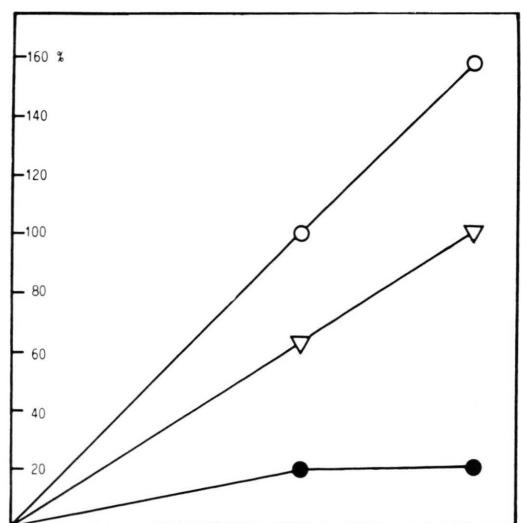


Abb. 3. *C. paradoxa*: Einbau von (^{14}C) in Chlorophyll (relative spezifische Aktivität von Chl: 100% = 6,7 nCi/nmol). Beschriftung s. Abb. 1.

zu den bei den Plastiden üblicherweise gefundenen Ergebnissen [14]. Es wurde wiederholt berichtet, daß bei Chloroplasten die Chl-Biosynthese durch CA nur zu ca. 60%, durch CHI unter gleichen Bedingungen zu 90% und mehr gehemmt wird [6]. Diese Befunde wurden mit einer unterschiedlichen Hemmung der Synthese der Strukturproteine I und II erklärt. Werden diese Chl-bindenden Struktur-Proteine nicht mehr synthetisiert, wirkt nicht gebundenes Chl als feed-back-Hemmer auf die 5-ALA-Synthase [6]. Im Fall der CHI wird die Synthese beider Komplexe verhindert, so daß das Chl überhaupt nicht mehr gebunden wird. Im Fall des CA wird nur der Komplex I nicht mehr synthetisiert, dafür aber mehr Komplex II. Daraus erklärt sich die gegenüber CHI schwächere Hemmwirkung des CA auf die Chl-Biosynthese bei Plastiden. Wie ist nun das eher umgekehrte Ergebnis bei *Cyanophora* zu deuten? Geht man davon aus, daß die Endocyanellen von *C. paradoxa* ursprünglich frei lebende Cyanobakterien gewesen sind, dann sollten sie zu dieser Zeit auch einen vollständigen Code für die Synthese ihrer Pigmente besessen haben. Die stärkere Hemmung der Chl-Synthese bei Inhibition der prokaryotischen Translation durch CA deutet darauf hin, daß wichtige Schritte der Chl-Synthese noch in der Endocyanelle codiert sind. Dies, wie auch z.B. der Murein-Sacculus [22] würde *Cyanocysta korschikoffiana* von den Plastiden der Algen und höheren Pflanzen unterscheiden. Die hier vorgelegten ^{14}C -Markierungsexperimente wurden in experimentell ähnlicher Weise schon von Trench und Siebens [23] durchgeführt. Allerdings wurde das radioaktive Bikarbonat erst nach einer 7-stündigen Vorinkubation mit den Hemmstoffen zugegeben. Die Autoren stellten fest, daß CHI die Chl-Synthese wesentlich stärker hemmt als CA, das wiederum gegenüber der Kontroll-Kultur nur geringe Hemmwirkung zeigte. Diese Beobachtungen stehen im Widerspruch zu den in dieser Arbeit dargestellten Ergebnissen (s.o.). Für die bezüglich der Chl-Biosynthese unterschiedlichen Ergebnisse bei CA ist keine Deutung zu finden. Die erwähnte starke CHI-Hemmung [23, 24] läßt sich wahrscheinlich durch die 7-stündige Vorinkubation der Kulturen mit dem Hemmstoff erklären, bei welcher die photosynthetische Sauerstoffentwicklung und damit sicherlich auch die Kohlendioxid-Assimilation beträchtlich abnimmt (s. Abb. 1 in [2] und Abb. 6).

Phycochromoproteide (in vivo VIS-spektroskopische Untersuchung)

Vorbemerkungen zur Biosynthese der Phycochromoproteide

Phycochromoproteide sind (neben ihrer Funktion als Speicherproteine [25] bei den Cyanobakterien) zur Hauptsache akzessorische Pigmente bei Cyanobakterien, Rhodophyten und Cryptophyten. Sie bestehen aus Chromophor (Phycobilin) und Apoprotein. Im Gegensatz zu den Cryptophyten befinden sich die Phycochromoproteide bei den Rhodophyten und im allgemeinen auch bei den Cyanobakterien in den Phycobilisomen, die an der Thylakoidoberfläche angeheftet sind [26]. Die Biosynthese der Phycochromoproteide, wie auch die der Phycobiline ist noch nicht in allen Einzelheiten aufgeklärt. Als sicher gilt jedoch, daß die Phycobiline [27, 28] wie das Chlorophyll aus 8 Molekülen 5-Aminolävulinsäure entstehen (für die Bereitstellung dieses Moleküls gelten daher vorerst weitgehend die gleichen Überlegungen wie weiter oben für das Chl ausgeführt). *C. korschikoffiana* enthält die für Cyanobakterien typischen Phycochromoproteide C-Phycocyanin und Allophycocyanin. Allophycocyanin ist ein Homodimer vom Molekulargewicht 28 kD ($2 \times 12,6$ kD), C-Phycocyanin ein Heterodimer (31 kD; UE: 13,2 kD und 14,5 kD) [29]. Marten *et al.* [30] beschreiben 4 Phycobiliproteide mit den relativen Molekulargewichten von 16,5, 13,5, 12 und 11 kD.

Beeinflussung der C-Phycocyanin-Konzentration

Die Phycocyanin-Konzentration der Kontrollkultur nimmt im Versuchszeitraum annähernd linear von 100% auf 186% zu (Abb. 4). Die PC-Synthese der mit CHI behandelten Kultur scheint noch 2 Stunden nach Inhibitor-Zugabe wenig beeinflußt zu sein. Die dann einsetzende Hemmung nimmt nach weiteren 4–6 Stunden stark zu. Im Zeitraum von 6–16 Stunden nimmt die PC-Konzentration nur noch von 118% auf 121% zu. Noch rascher und vollständiger tritt die durch CA und LM verursachte Hemmung der PC-Synthese ein. Die mit CA (bzw. LM) behandelten Kulturen erreichen einen Endwert von knapp 108% der Anfangskonzentration; die vollständige Hemmung wurde schon innerhalb der ersten 4–6 Stunden festgestellt. Wie beim Chl ist auch beim PC die Hemmwirkung des CHI gegenüber derjenigen des CA zeitlich verzögert.

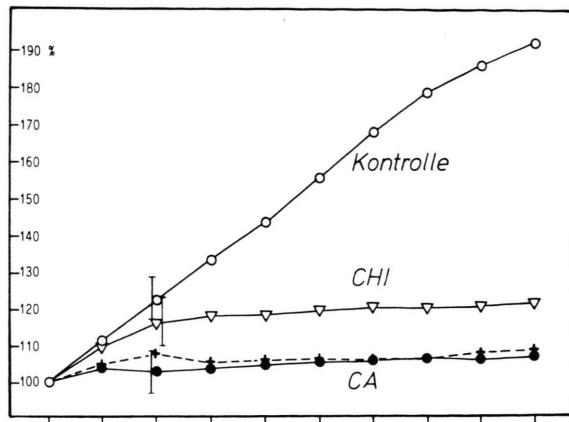


Abb. 4. *C. paradoxa*: Zeitabhängige Beeinflussung der Phycocyanin-Konzentration durch Translationsinhibitoren (in vivo VIS-Spektroskopie, 100% = 13,8 µg/ml Kultur bei einer durchschnittlichen Chl-Konzentration von 1,98 µg/ml). Beschriftung und Fehlerangaben s. Abb. 1; Kontrolle (+/- 16,4%), CHI (+/- 6,9%), CA (+/- 7,7%).

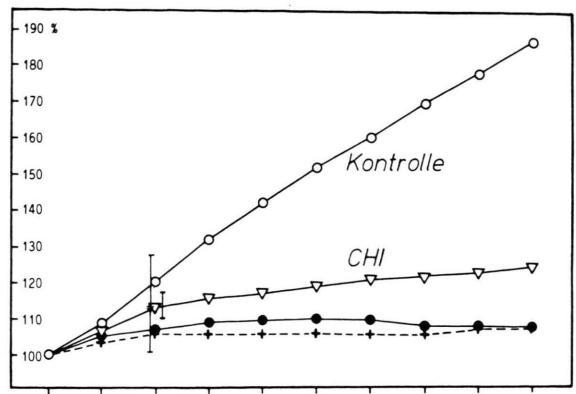


Abb. 5. *C. paradoxa*: Zeitabhängige Beeinflussung der Allophycocyanin-Konzentration durch Translationsinhibitoren (in vivo VIS-Spektroskopie, 100% = 17,4 µg/ml Kultur bei einer durchschnittlichen Chl-Konzentration von 1,98 µg/ml). Beschriftung und Fehlerangaben s. Abb. 1; Kontrolle (+/- 16,8%), CHI (+/- 8,7%), CA (+/- 6,1%).

Beeinflussung der Allophycocyanin-Konzentration

Die im vorangegangenen Abschnitt für PC gemachten Beobachtungen treffen im wesentlichen auch auf das Allophycocyanin zu: hier übt das CA (bzw. LM) – es unterbindet die Allophycocyanin-Synthese ab ca. 8 Stunden vollständig – gegenüber dem CHI ebenfalls die stärkere Hemmwirkung aus (Abb. 5). Die Hemmwirkung des CHI setzt wie beim PC erst nach ca. 4 Stunden stärker ein,

erreicht aber den dort beobachteten Wirkungsgrad nicht ganz. Auch scheint die Allophycocyanin-Synthese nicht vollständig gehemmt zu werden, da auch noch gegen Ende des Versuches (nach 18 Stunden) eine schwache Zunahme der Allophycocyanin-Konzentration zu beobachten ist (ca. 80–90% Hemmung).

Die Synthese der Phycchromoproteide wird ebenfalls wie die des Chlorophyll durch CA stärker gehemmt als durch CHI (Abb. 6). Da die Phyc-

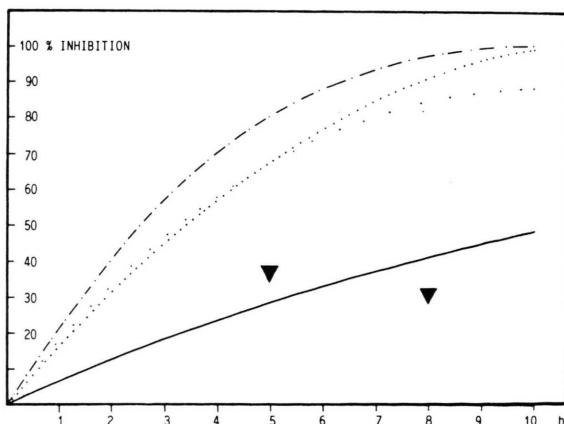


Abb. 6a. Effekte des CHI.

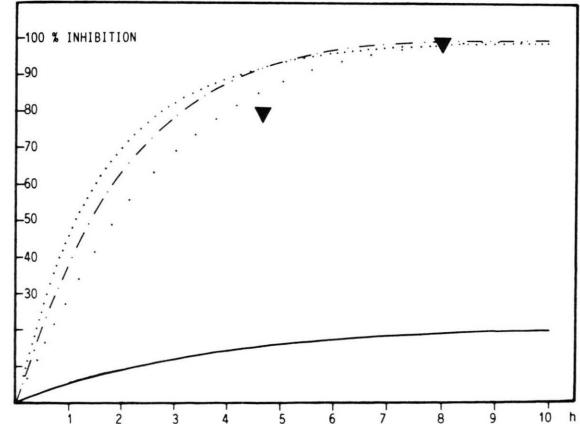


Abb. 6b. Effekte des CA.

Abb. 6a und 6b. *C. paradoxa*: Hemmefekte von CHI und CA auf die Zunahme der Tetrapyrrolpigment-Konzentration im Vergleich zur jeweiligen Photosynthese-Aktivität und Chl-Konzentration. Normierte Ausgleichskurven, berechnet nach den Daten der Abbnn. 1, 3, 4 und 5 sowie aus Abb. 1 (s. 2): — = Hemmung der reellen Photosynthese-Aktivität, - - - = Hemmung der Chl-Biosynthese (in vivo VIS-Best.), = Hemmung der C-Phycocyanin-Biosynthese (in vivo VIS-Best.), ····· = Hemmung der Allophycocyanin-Biosynthese (in vivo VIS-Best.), ▲ = Hemmung des ¹⁴C-Einbaus in Chlorophyll.

biline wahrscheinlich über den gleichen Syntheseweg gebildet werden wie das Chlorophyll, dürften bei dieser Hemmung auch die gleichen Synthesewege betroffen sein. Da hier jedoch zusätzlich noch Makromoleküle, die Apoproteide, synthetisiert werden müssen, ist es besonders auffallend, daß die Phycobiliproteid-Synthese unter CHI-Einwirkung besser abläuft als unter CA-Einwirkung, obwohl der Organismus durch CHI stärker geschädigt wird als durch CA. Dies deutet wie beim Chlorophyll auf eine vorwiegend in den Cyanellen codierte Phycobilin-, Apoproteid- und Phycochromoproteid-Synthese hin, eine Aussage, die der von Marten *et al.* [30] zumindest teilweise entgegenzustehen scheint. Ob hier ebenfalls metabolische Fehlsteuerungen eine Erklärung für die Differenzen sein können (der Befund, daß CHI und Dunkelheit das Proteinfuster in ähnlicher Weise [30] beeinflussen, könnte

ein Hinweis sein), muß Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. Die von uns hier und in den vorangegangenen Arbeiten [2, 3] berichteten Beobachtungen, lassen die Anpassung von *Cyanocysta korschikoffiana* an den Wirt *C. paradoxa* vorläufig eher als eine Adaptation durch Deletionen und milieu-selektierte Mutationen (metabolisierte Dependenz), denn als eine Adaptation durch zusätzlichen Gen-Transfer (metabolische und genetische Dependenz) erscheinen; wir räumen jedoch ein, daß diesen globalen Untersuchungen direkte Messungen der Proteinsynthese folgen müssen.

Danksagung

Wir danken Herrn Dipl. Biol. J. Hanf für technische Hilfen.

- [1] H. E. A. Schenk, J. Hanf u. M. Neu-Müller, Z. Naturforsch. **38c**, 972–977 (1983).
- [2] H. E. A. Schenk u. M. Neu-Müller, Z. Naturforsch. **38c**, 978–983 (1983).
- [3] M. Neu-Müller, H. E. A. Schenk u. H. Stransky, Z. Naturforsch. **38c**, 984–989 (1983), im Druck.
- [4] D. Shemin u. C. S. Russel, J. Am. Chem. Soc. **75**, 4873–4874 (1953).
- [5] R. J. Porra u. L. H. Grimme, Int. J. Biochem. **9**, 883–886 (1978).
- [6] S. I. Beale, Ann. Rev. Plant Physiol. **29**, 95–120 (1978).
- [7] S. Grannik u. S. I. Beale, Adv. Enzymol. **46**, 33–180 (1978).
- [8] O. Klein, D. Dörnemann u. H. Senger, Int. J. Biochem. **12**, 725–728 (1980).
- [9] A. A. Viale, E. A. Wider de Xifra, C. Del u. A. M. Battle, Int. J. Biochem. **12**, 729–733 (1980).
- [10] K. D. Gibson, A. Neuberger u. G. H. Tait, Biochem. J. **83**, 539–549 (1962).
- [11] A. Neuberger u. J. M. Turner, Biochim. Biophys. Acta **67**, 342–345 (1963).
- [12] S. P. Gough u. C. G. Kannangara, Carlsberg Res. Commun. **42**, 183–190 (1977).
- [13] J. Duggan u. M. Gassman, Plant Physiol. **53**, 206 (1974).
- [14] J. T. O. Kirk, Port. Acta Biol. **14**, 127–152 (1974).
- [15] N. K. Ramaswamy u. P. M. Nair, Biochim. Biophys. Acta **293**, 269–277 (1973).
- [16] H. A. W. Schneider u. W. W. Beisenherz, Biochem. Res. Comm. **60**, 468–473 (1974).
- [17] E. Meller u. E. Harel, in (G. Akoyunoglou *et al.*, eds.), Chloroplast Development, Elsevier, Amsterdam, p. 51 (1978).
- [18] J. Pearce, C. K. Leach u. N. G. Carr, J. Gen. Microbiol. **55**, 371–378 (1969).
- [19] M. Ull-Haque, J. Gallon u. A. Chaplin, Biochem. Soc. Trans. **5**, 1484–1486 (1977).
- [20] P. D. J. Weitzman u. H. A. Kinghorn, FEBS Lett. **114**, 225–227 (1980).
- [21] A. Rostami-Rabet, Dissertation, Hamburg 1980.
- [22] H. E. A. Schenk, Z. Naturforsch. **25b**, 640+656 (1970).
- [23] R. K. Trench u. H. C. Siebens, Proc. R. Soc. Lond. **B202**, 463–472 (1978).
- [24] R. K. Trench, in (Round, Chapman, eds.), Progress in Phycol. Res., **Vol. 1**, 257–288 (1982).
- [25] R. H. Lau, M. M. Mackenzie u. W. F. Doolittle, J. Bacteriol. **132**, 771–778 (1977).
- [26] E. Gantt, Ann. Rev. Plant Physiol. **32**, 327–347 (1981).
- [27] R. F. Troxler u. J. M. Dokos, Plant Physiol. **51**, 72–75 (1973).
- [28] L. Bogorad, Ann. Rev. Plant Physiol. **26**, 369–401 (1975).
- [29] R. K. Trench u. G. S. Ronzio, Proc. R. Soc. Lond. **B202**, 445–462 (1978).
- [30] S. Marten, P. Brandt u. W. Wiessner, Planta **155**, 190–192 (1982).