

Short Communication

Hohe Strahlenresistenz der Aktivität und der lichtinduzierten Aktivitätssteigerung der NADP-abhängigen Glycerinaldehyd-3-Phosphat- Dehydrogenase in *Ankistrodesmus braunii*

H.-B. SEUBERLING

Botanisches Institut I der Universität Würzburg

Eingegangen am 4. März 1971

High Resistance to X-Rays of the Activity and Light-Induced Activation of NADP-Dependent Glycerinaldehyde Phosphate Dehydrogenase in *Ankistrodesmus braunii*

Summary. In *Ankistrodesmus braunii*, a unicellular alga, the activity of NADP-dependent glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (GPD) in darkness is very resistant to X-rays. The light-induced increase in the activity of this enzyme within one minute is also not affected by irradiation. Doses up to 1060 Krad had no inhibitory effect. The increase of GPD activity during the life cycle, however, is very sensitive to X-rays.

Zur Untersuchung der Röntgenstrahlenwirkung auf Syntheseprozesse in pflanzlichen Zellen wurde das Schlüsselenzym der photosynthetischen CO₂-Reduktion, die NADP-abhängige Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GPD), EC 1. 2. 1. 13, in der einzelligen Grünalge *Ankistrodesmus braunii* (Naegeli) Brunnth. ausgewählt. Zunächst wurde die Enzymaktivität verdunkelter Algen sowie die Aktivitätssteigerung dieses Enzyms durch Belichtung der Algen auf ihre Strahlenempfindlichkeit hin geprüft. Die Aktivitätssteigerung dieses Enzyms durch Licht ist für zahlreiche Pflanzen beschrieben worden (Ziegler und Ziegler, 1965, 1968) und findet sich auch in *Ankistrodesmus braunii*: Die Enzymaktivität erreicht ihren „Lichtwert“ bereits in 60 sec (Simonis und Seuberling, 1967; Seuberling, 1969). Die Enzymaktivität verdunkelter Algen, sowie die lichtinduzierte Aktivierung erwiesen sich gegenüber hohen Röntgenstrahlendosen als ausgesprochen resistent.

Synchronisierte Kulturen von *Ankistrodesmus braunii* wurden eingeeengt (ca. 80 γ Chl/ml) und in senkrecht zur Strahlenquelle (Röntgengerät MG 150 von C. H. F. Müller; 130 KV und 13 mA) verschieden lang bei 30°C bestrahlt. Die Dosisleistung

betrug 3500 rad/min. Anschließend wurden die Algen zwei Minuten belichtet (bzw. im Dunkeln belassen) und unter Zugabe von Glasperlen mit einem Durchmesser von ca. 0,20 mm sowie von Mercaptoäthanol in der Endkonzentration von 1,5% im Dunkeln 45 sec lang mit Ultraschall aufgeschlossen (Sonifier, Firma Branson, Connecticut, Stufe 8). 0,1 ml der aufgeschlossenen Algen wurden im optischen Test nach Ziegler und Ziegler (1965) — jedoch mit Dithiotreitol in der Endkonzentration 5×10^{-3} m anstelle von Cystein — auf die Aktivität der NADP-abhängigen GPD geprüft. Zellaufschluß und Enzymtest waren innerhalb von 5 Minuten beendet. Thiolreagenzien, nach Röntgenbestrahlung zugesetzt, ändern bekanntlich die Strahlenresistenz der GPD nicht mehr (Lange et al., 1959). Bei den vorliegenden Versuchen können Verdünnungseffekte insoweit ausgeschlossen werden, als die Strahlenresistenz auch bei Veränderung der Algenkonzentration um den Faktor 3 die gleiche bleibt.

Tabelle. *Enzymaktivität und Lichtaktivierung der NADP-abhängigen GPD in Ankistrodesmus braunii nach Röntgenbestrahlung*

Dosis (Krad)	μ Mol NADPH/ mg Chl \times min		Licht/ Dunkel- verhältnis	Enzymaktivität in % der Kontrolle	
	Licht	Dunkel		Dunkel	Licht
Kontr.	3,03	1,30	2,33		
7,06	2,94	1,26	2,34	97	97
Kontr.	2,78	1,25	2,22		
18,25	3,01	—	—		108
109,5	2,98	1,37	2,18	109	107
Kontr.	3,68	1,29	2,85		
36,6	3,39	1,49	2,71	115	92
Kontr.	1,37	0,75	1,82		
424	1,28	0,75	1,70	100	93
Kontr.	1,16	0,59	1,97		
1060	1,81	0,70	2,51	118	152
Kontr.	1,38	0,55	2,49		
1060	2,04	0,78	2,62	141	147
Kontr.	1,98	0,75	2,61		
1060	2,51	0,91	2,75	121	127
Kontr.	1,33	0,85	1,57		
1480	1,04	0,93	1,12	109	78
Kontr.	1,14	0,51	2,23		
2200	0,22	0,12	1,86	24	19

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, wird die Aktivität des Enzyms im Dunkeln sowie dessen lichtinduzierte Aktivitätssteigerung durch Röntgenstrahlen bis zur Höhe von 420 Krad nicht beeinflusst. Auch nach bedeutend höherer Dosis (1060 Krad) war noch kein hemmender Einfluß

beobachtbar; Licht- und Dunkelwert der Enzymaktivität lagen in drei voneinander unabhängigen Versuchen sogar über den Kontrollwerten. Erst nach noch höherer Strahlendosis war die Enzymaktivität erniedrigt. Die Aktivität der NADP-abhängigen GPD verdunkelter Algen erweist sich gegenüber Röntgenstrahlen also als außerordentlich resistent. Aber auch der lichtinduzierte Aktivierungsvorgang ist sehr strahlenresistent und unterscheidet sich damit in seinem Verhalten gegenüber UV-Strahlen: UV-Bestrahlung hatte auf die Lichtaktivierung dieses Enzyms einen deutlich hemmenden Effekt (Ziegler und Ziegler, 1966). Durch Röntgenstrahlen ist also — so muß man folgern — die funktionswichtige Struktur des Enzyms nicht beeinträchtigt worden.

Aufgrund von Untersuchungen an Spinatchloroplasten kommt die Lichtaktivierung der GPD-Aktivität durch einen cooperativen Mechanismus von NADPH und ATP zustande (Müller, 1970), doch gelingt die Lichtaktivierung auch mit NADPH allein in gleichem Maße wie mit alleiniger ATP-Gabe. In *Ankistrodesmus* sind der Elektronentransport und die O₂-Produktion *in vivo* ziemlich strahlenresistent: D₅₀ = 650 Krad (Simonis und Urbach, 1966). Neben der anzunehmenden Erhaltung der funktionswichtigen Struktur des Enzyms *in vivo* nach Röntgenbestrahlung dürfte daher auch die relativ strahlenunempfindliche NADPH-Bereitstellung, wie sie auch für Spinatchloroplasten beschrieben ist (Füchtbauer und Simonis, 1962; Simonis und Füchtbauer, 1965), für die hohe Strahlenresistenz der NADP-abhängigen GPD-Aktivität und der Lichtaktivierung von Bedeutung sein. Gleichzeitig zeigen auch diese Ergebnisse entsprechend den Befunden von Müller (1970) und der Kürze des Aktivierungsvorganges (Simonis und Seuberling, 1967), daß eine Neusynthese für die Lichtaktivierung des Enzyms keine Rolle spielt. Denn im Gegensatz zum Lichtaktivierungsvorgang ist die Synthese der NADP-abhängigen GPD während des Synchroncyclus sehr strahlenempfindlich: Der Anstieg des Dunkelwertes der Enzymaktivität nach vier Stunden Syntheszeit im Licht war bereits durch 5 Krad auf ca. 50% gehemmt, wie demnächst an anderer Stelle ausführlich berichtet wird (Simonis und Seuberling, in Vorbereitung).

Für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und zahlreiche Diskussionen danke ich Herrn Prof. Dr. W. Simonis. Das Bundesministerium für Bildung und Wissenschaft hat die vorliegenden Untersuchungen dankenswerterweise finanziell unterstützt.

Literatur

- Füchtbauer, W., Simonis, W.: Getrennte Röntgenbestrahlung von lamellaren Strukturelementen und Enzymextrakten isolierter Chloroplasten und ihre Wirkung auf die lichtabhängige TPN-Reduktion. *Rad. Bot.* **2**, 141—156 (1962).
Lange, R., Pihl, A., Eldjarn, L.: Inactivation of SH enzymes by x-rays. *Int. J. Rad. Biol.* **1**, 73—79 (1959).

- Müller, B.: On the mechanism of the light-induced activation of the NADP-dependent glyceraldehyde phosphate dehydrogenase. *BBA* **205**, 102—109 (1970).
- Seuberling, H.-B.: Zur Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Synthese von Chlorophyll und NADP-abhängiger Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase in *Ankistrodesmus braunii* und *Euglena gracilis*. Diss. Würzburg (1969).
- Simonis, W., Füchtbauer, W.: Action of ionizing radiation on photosynthetic reactions of isolated chloroplasts. *Rad. rat. Res.* **24**, 88—95 (1965).
- Seuberling, H.-B.: Kurzfristige Aktivitätserhöhung der NADP-abhängigen Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase in der einzelligen Grünalge *Ankistrodesmus braunii*. *Z. Naturforsch.* **22b**, 1366 (1967).
- Urbach, D.: Über die Wirkung von Röntgenstrahlen auf die Photosynthese und Phosphatstoffwechsel einzelliger Grünalgen. *Z. Pflanzenphysiol.* **54**, 321—332 (1966).
- Ziegler, H., Ziegler, I.: Der Einfluß der Belichtung auf die NADP-abhängige Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase. *Planta (Berl.)* **65**, 369—380 (1965).
- — Die lichtinduzierte Aktivitätssteigerung der NADP-abhängigen Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase. VI. Der Einfluß auf die Photosyntheseaktivität. *BBA* **126**, 449—455 (1966).

Dr. Heide-Birgitt Seuberling
Botanisches Institut I
der Universität Würzburg
BRD-8700 Würzburg
Mittlerer Dallenbergweg 64