

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite	
1.	EINLEITUNG	1
2.	MATERIAL UND METHODEN	7
2.1	Anzucht des Algenmaterials	7
2.1.1	Nährlösungen	7
2.1.2	Anzuchtbedingungen	8
2.2	Methoden	8
2.2.1	Bestimmung der Zellzahl	8
2.2.2	Lichtmessung	9
2.2.3	Chloroplastenisolierung aus <i>Euglena gracilis</i>	9
2.2.4	Belichtung von Zellen und Chloroplasten	10
2.2.5	Bestimmung der optischen Dichte von Algensuspensionen	11
2.2.6	Chlorophyll- und Carotinoidbestimmung	11
2.2.7	Pigmentanalyse mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC)	12
2.2.8	Polarographische Messung der photosynthetischen Sauerstoffentwicklung und Atmungsaktivität intakter Zellen	13
2.2.9	Bestimmung der Aktivität von PS I und PS II in Chloroplasten von <i>Euglena gracilis</i>	13
2.2.10	Fluoreszenzuntersuchungen	14
2.2.10.1	Pulse-Amplituden-Modulations-Meßprinzip (PAM)	14
2.2.10.2	Aufnahme der Emissions- und Excitationsspektren bei 293 K und 77 K am Fluorometer	17
2.2.11	Absorptionsspektren bei Raumtemperatur	17
2.2.12	Kolorimetrische Bestimmung der Methylsulfinsäurekonzentration (Nachweis der Hydroxylradikalbildung)	18
2.2.13	Proteinbestimmung	18
2.2.14	Elektrophorese der Pigment-Proteinkomplexe	18
2.2.15	SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophorese	20
2.2.16	Selektiver Proteinnachweis durch Western-Blot-Analyse	20
2.2.17	Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse	21
3.	ERGEBNISSE	22
3.1	Einfluß von Licht auf photosynthetische Leistungen und Strukturen	22
3.1.1	Die Pigmentausrüstung von <i>Euglena gracilis</i> und Abhängigkeit photosynthetischer Parameter von der Lichtintensität während des mixotrophen Wachstums	22

3.1.2	Auswirkungen von unterschiedlichen Lichtintensitäten auf mixotroph gewachsenen Zellen von <i>Euglena gracilis</i>	25
3.1.3	Einfluß von DTT auf qN und die Pigmente	28
3.2	Blockierung der Carotinoidbiosynthese während es mixotrophen Wachstums - Einfluß von Licht auf carotinoidverarmte Zellen	29
3.2.1	Einfluß des Carotinoidgehaltes auf strukturelle und physiologische Komponenten photosynthetischer Membranen	29
3.2.1.1	Hemmung der Carotinoidbiosynthese durch unterschiedliche Norflurazonkonzentrationen	29
3.2.1.2	Immunologische Quantifizierung von Proteinen der photosynthetischen Membran in Abhängigkeit vom Carotinoidgehalt	31
3.2.2	Die Lichtsättigungskurve carotinoidverarmter Zellen	32
3.2.3	Einfluß des Carotinoidgehaltes auf die Empfindlichkeit der Zellen gegenüber Licht	33
3.2.4	Einfluß des Carotinoidgehaltes auf die PS I-Aktivität	35
3.3	Carotinoide - antioxidativer Schutz vor Radikalen	36
3.4	Der nichtphotochemische Quench der Chlorophyllfluoreszenz in <i>Euglena gracilis</i>	38
3.4.1	Der dunkelinduzierte Quench der Chlorophyllfluoreszenz in <i>Euglena gracilis</i>	38
3.4.2	Einfluß unterschiedlicher Lichtintensitäten auf qN und das „recovery“ im Vergleich zur Dunkelinkubation bei unbehandelten Zellen von <i>Euglena gracilis</i>	40
3.4.2.1	Der Quench der Chlorophyllfluoreszenz	41
3.4.2.2	Relaxation der Fluoreszenzparameter und die HWZ des „recovery“	43
3.4.2.3	Einfluß des Phosphataseinhibitors (NaF) auf die Relaxation der Fluoreszenz	45
3.4.2.4	Einfluß von Nigericin	46
3.4.2.5	Zusammenfassende Charakterisierung des nichtphotochemischen Quench in <i>Euglena gracilis</i>	48
3.5	Untersuchungen an carotinoidverarmten Zellen von <i>Euglena gracilis</i> - Einfluß der Pigmentausstattung auf Komponenten des nichtphotochemischen Quench	49
3.5.1	Der nichtphotochemische Quench carotinoidverarmter Zellen im Vergleich zu unbehandelten Zellen von <i>Euglena gracilis</i>	49
3.5.2	Vergleich des „recovery“ carotinoidverarmter und unbehandelter Zellen	54
3.5.3	Einfluß von Nigericin auf den Quench der Chlorophyllfluoreszenz carotinoidverarmter Zellen	56

3.5.4	Der photochemische und nichtphotochemische Quench der Chlorophyllfluoreszenz un behandelter und carotinoidver armerter Zellen in Abhängigkeit von der Belichtungsintensität	57
3.5.5	Zusammenfassende, vergleichende Darstellung von unbe handelten und carotinoidverarmten Zellen	63
3.6	Analyse der Fluoreszenzemissions- und Fluoreszenzexcitati onsspektren	67
3.6.1	Messung der Tieftemperaturspektren nach erfolgter Be lichtung	67
3.6.2	Zur Rolle des PS I bzw. PS II an der Fluoreszenzemission von <i>Euglena gracilis</i> bei RT und 77 K	68
3.6.2.1	Einfluß von DCMU auf das Emissionsspektrum (Raum temperatur) der Chlorophyllfluoreszenz	71
3.7	Isolierung und Charakterisierung der Pigment-Proteinkom plexe von <i>Euglena gracilis</i>	72
3.7.1	Isolierung und immunologische Charakterisierung einzelner Pigment-Proteinkomplexe	72
3.7.2	Absorptionsspektren der isolierten Pigment-Proteinkomplexe	73
3.7.3	Emissions- und Excitationsspektren der isolierten Pigment-Proteinkomplexe bei RT und 77 K	75
3.8	Einfluß des Carotinoidgehaltes auf die Fluoreszenzemission und auf strukturelle Komponenten der photosynthetischen Membranen	80
3.8.1	Fluoreszenzemissions- und Fluoreszenzexcitationsspektren carotinoidverarmter Zellen von <i>Euglena gracilis</i>	80
3.8.2	Isolierung der Pigment-Proteinkomplexe bei carotinoidver armtten Zellen- Vergleich der Apoproteine un behandelter und carotinoidverarmter Zellen	83
3.8.3	Fluoreszenzemissions- und Fluoreszenzexcitationsspektren der Pigment-Proteinkomplexe carotinoidverarmter Zellen	84
4.	DISKUSSION	88
5.	ZUSAMMENFASSUNG	111
6.	LITERATUR	

VERZEICHNIS DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN

Φ_{OX}	Quotient: Sauerstoffentwicklungsrate/Lichtintensität
Φ_P	Quantenausbeute der Photosynthese(entspricht „yield“)
λ_{Em}	Wellenlänge der gemessenen Fluoreszenzemission
λ_{Peak}	Maximum der Absorption
A	Absorption
Abb.	Abbildung
AL	aktinisches Licht
ATP	Adenosintriphosphat
Car	Carotinoide
Chl	Chlorophyll
CP	Chlorophyll-Protein
D1	zentrales 32 kDa Protein des PS II
DAD	Diodenarray-Detektor
DCMU	3,4-Dichlorphenyl-N,N-dimethylharnstoff
DCPIP	2,6-Dichlorphenolindophenol
DD	Diadinoxanthin
DT	Diatoxanthin
DTT	Dithioerythritol
EDTA	Etylendiamintetraessigsäure
ELIP	„early light induced protein“
Fm	maximale Fluoreszenz
Fo	Fluoreszenz im Grundzustand
FR	Far red, langwelliges Rotlicht mit einem Maximum bei 730 nm
Fv	variable Fluoreszenz
h	Stunde
H ⁺	Wasserstoffprotonen
HPLC	„high performance liquid chromatography“
HWZ	Halbwertszeit
IML	„intermittend light“
kDa	Kilodalton
LHC	Lichtsammelkomplex(e) des PS I / PS II
Lhcb1-6	Nomenklatur der Proteine des LHC II nach JANSSON (1994)
min	Minuten
MSA	Methylsulfinsäure
n	Stichprobenumfang; Anzahl der Einzelerperimente
n.b.	nicht bestimmt
NaF	Natriumfluorid
Neo	Neoxanthin
NF	Norflurazon
OD	optische Dichte
P680	primärer Akzeptor des PS II

PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PAR	photosynthetisch aktive Strahlung
PFD	Photonenflußdichte
PQ	Plastochinon
PSI / PS II	Photosystem I /Photosystem II
Q_A / Q_B	primärer Akzeptor des PS II / sekundärer Akzeptor des PS II
qE	Δ pH-abhängiger Quench der Chlorophyllfluoreszenz
$qE_{SV}, qT_{SV}, qI_{SV}$	Berechnungen der Komponenten nach Stern-Volmer
qF	Anteil von qN mit schneller Relaxationskinetik
qI	photoinhibitorischer Quench der Chlorophyllfluoreszenz
qM	Anteil von qN mit mittlerer Relaxationskinetik
qN	nichtphotochemischer Quench
qP	photochemischer Quench der Chlorophyllfluoreszenz
qS	Anteil von qN mit langsamer Relaxationskinetik
qT	Quench der Chlorophyllfluoreszenz durch „state transitions“
RC	Reaktionszentrum, -zentren
Rec.	„recovery“
RT	Raumtemperatur
S	Standardfehler
SDS	Natriumdodecylsulfat
SV_0	Stern-Volmer Quotient des F_0 -Quench
SV_m	Stern-Volmer Quotient des F_m -Quench
$t_{50\%}$	Zeit in der 50% der gemessenen Fluoreszenzlöschung erreicht sind
Tab.	Tabelle
TRIS	TRIS-(hydroxymethyl)-aminomethan
y	„yield“, Quantenausbeute der Photosynthese