



蓝 藻 的 硫 氧 还 蛋 白

戴 和 平

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

THIOREDOXINS IN CYANOBACTERIA

Dai Heping

(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072*)

关键词 蓝藻, 硫氧还蛋白

Key words Cyanobacteria, Thioredoxin

蓝藻(蓝细菌)是一种分布广泛, 结构简单的原核生物。不象其它的光合细菌, 蓝藻含有叶绿素 a, 并且象真核藻和高等植物一样, 以分解水作为光合电子传递的电子源。有许多种蓝藻能够固氮。大多数丝状蓝藻具有营养胞和异形胞。异形胞是厌氧的固氮场所^[30]。异形胞也是谷氨酸合成酶同化新固定的 NH_4^+ 的场所^[31]。营养胞具有完整的光合作用系统, 异形胞缺乏光系统 II 的活力^[15, 32], 并不能合成 Calvin 循环中的关键酶 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/氧化酶^[30]。由于蓝藻既具有细菌的特征, 又具有与高等植物相似的光合系统, 所以一直被推测是植物叶绿体的原始祖先。因此研究蓝藻的各种代谢系统, 并将其与细菌和高等植物的异同进行比较, 能对研究生物进化提供非常有意义的信息。如此看来对硫氧还蛋白系统在这类原核生物中的特性进行研究, 有特别的意义和重要性。

(一) 硫氧还蛋白的一般性质

硫氧还蛋白是一种热稳定的单链小分子氧还蛋白, 其分子量约 12 KD。它的活性中心含有两个距离很近的半胱氨酸残基, 其序列为: -Trp-Cys-Gly-Pro-Cys-, 它们可逆的被氧化形成二硫桥键^[16]。硫氧还蛋白和专一性依赖于 NADPH 的硫氧还蛋白还原酶最初是从 *E. coli* 中分离纯化的, 它作为氢供体系统参与核糖核苷酸还原酶催化核糖核苷酸还原为脱氧核糖核苷酸的反应, 因此, 它被认为是 DNA 合成所必须的^[25]。*E. coli* 的硫氧还蛋白缺失株仍然可以由另一种蛋白, 即谷胱甘肽催化核糖核苷酸的还原^[18]。谷胱甘肽的发现使硫氧还蛋白在核糖核苷酸还原中氢供体的生理作用产生了疑问。然而, 硫氧还蛋白已经从许多种生物中分离鉴定出来, 并且在其他酶促反应中显示出不同的功能。这包括: 蛋白质双硫键的还原^[18], 某些噬菌体的复制和组装^[29, 36], 激活甾体激素受体^[13],

激活或抑制一些酶^[15,42]。

(二) *E. coli* 中的硫氧还蛋白

E. coli 的氧化型硫氧还蛋白的性质是被研究得最多的。它的氨基酸序列是由 108 个氨基酸残基组成^[16]。以 2.8A 的分辨力研究了它的晶体三维结构^[17]。位于染色体 84.7 分钟上的硫氧还蛋白的基因-trx A，其序列也已被测定出来^[35]。硫氧还蛋白的活性中心是唯一被发现位于凸出的部位，而不是凹进的部位。*E. coli* 硫氧还蛋白作为噬菌体 T7DNA 聚合酶的一个亚基，是噬菌体 T7DNA 复制所必须的^[36]。由于它在细胞质粒膜上的位置，也可能是丝状噬菌体 F1 和噬菌体 M13 DNA 复制所必须的^[25]。硫氧还蛋白对某些酶具有氢供体的功能，如核糖核苷酸还原酶^[28]，蛋氨酸硫氧还原酶和硫酸还原酶^[2,31]。硫氧还蛋白还是一个普遍的蛋白二硫基还原酶^[29]，它可使胰岛素降解^[19]，并且通过“巯基氧化还原控制”来调节一些酶的活力^[20]。在实验条件下，硫氧还蛋白能被 DTT 很好的还原。

(三) 哺乳类细胞中的硫氧还蛋白

哺乳类细胞含有一个经典的硫氧还蛋白系统，它具有一种硫氧还蛋白和一种硫氧还蛋白还原酶。它们广泛地分布在各种组织和器官中。这些硫氧还蛋白的分子量约为 12 KD，并且可以作为 *E. coli* 核糖核苷酸还原酶的氢供体。它还可以还原胰岛素的二硫键^[13,14,33]。它们也能作为哺乳类细胞中单一的核糖核苷酸还原酶的氢供体。这些硫氧还蛋白的活性中心序列与 *E. coli* 的硫氧还蛋白的一模一样，即为-Trp-Cys-Gly-Pro-Cys-^[33]。然而，有一点与 *E. coli* 硫氧还蛋白不同的是，所有哺乳类硫氧还蛋白除了活性中心的二硫基外，在分子的 C 末端，还有两个半胱氨酸残基^[14,33]。至今，对于哺乳类硫氧还蛋白的专一性功能的了解相对较少。除了作为还原酶的氢供体外，哺乳类硫氧还蛋白还被证明可以调节 CMP 激酶^[20]起动兔血红细胞蛋白合成^[20,16]，调节糖皮质激素受体活性等^[20]。

(四) 高等植物中的硫氧还蛋白

与具有单一种类的硫氧还蛋白的细菌和哺乳类细胞相反，多种类的硫氧还蛋白已从高等植物中分离出来^[43]。不象非光合细胞那样，植物中的硫氧还蛋白被铁硫氧还蛋白还原，因此这在光和酶活力之间建立了一个连结点^[42]。菠菜叶绿体的硫氧还蛋白系统的性质是被研究得最清楚的。在菠菜叶绿体中有两种硫氧还蛋白：硫氧还蛋白 f，它可以专一地激活 FBPase (Fructose-1,6-bisphosphatase, 果糖-1,6-二磷酸酯酶)；硫氧还蛋白 m，它可以激活 NADP-MDH (NADP⁺-linked malate dehydrogenase, 苹果酸脱氢酶)。硫氧还蛋白 f 和 m 具有不同的氨基酸组分和不同的末端序列^[42]。截止目前，已从菠菜叶绿体中分离出两种 f 和三种 m 类型的硫氧还蛋白：mb、mc、md，这三种 m 类型的硫氧还蛋白的不同之处在于其 N 末端多样的异构体^[43]。Buc et al.^[44] 已从菠菜叶绿体中分离出了两种 f 类型的硫氧还蛋白。所有这些硫氧还蛋白的分子量都约为 12 KD^[42]。硫氧还蛋白 f 和 m 具有同样的活性中心序列，-Trp-Cys-Gly-Pro-Cys-，这与 *E. coli* 硫

氧还蛋白是相同的。菠菜叶绿体的硫氧还蛋白 m 的氨基酸序列与 *E. coli* 硫氧还蛋白的氨基酸序列均具有 40% 的同源性^[40]。然而, 硫氧还蛋白 f 只在氧化还原的二硫桥键周围有少量的同源性。其它一些可被还原的硫氧还蛋白激活的叶绿体中的酶为: 景天庚酮糖-1,7-二磷酸酯酶, NADP⁺-甘油醛-3-磷酸脱氢酶, 磷酸核酮糖激酶和偶联因子 CF₁-ATP 酶。另外, 还原的硫氧还蛋白可抑制 6-磷酸葡萄糖脱氢酶的活力^[42]。

(五) 蓝藻中的硫氧还蛋白

硫氧还蛋白在许多蓝藻中的存在已被 Schmidt 和 Christen^[28] 所证实。一种分子量约 12 KD 的硫氧还蛋白已从一些蓝藻中分离鉴定出来。这些蓝藻包括 *Synechococcus* 6301^[26]; *Anabaena* PC 7119^[12] *Anabaena cylindrica* CCAP 1403/2a^[31] 这种硫氧还蛋白可激活菠菜叶绿体的 NADP-MDH, 所以定名为硫氧还蛋白 m。Yee et al^[44] 和 Whittaker et al.^[41] 曾报道, 他们从 *Anabaena* 7119 中分离出了两种类型的硫氧还蛋白: 一种可以选择性地激活叶绿体的 FBPase, 定名为硫氧还蛋白 f; 另一种选择性地激活叶绿体的 NADP-MDH, 定名为硫氧还蛋白 m。Yee 和他的合作者们^[44]用 Sephadex G-75 层析柱, 测定了 *Anabaena* 7119 硫氧还蛋白 m 的分子量为 9 KD, 硫氧还蛋白 f 为 16 KD。但是 Whittaker 和他的合作者们^[41]用 SDS 凝胶电泳所测定的分子量为: 硫氧还蛋白 m 是 12 KD, 硫氧还蛋白 f 是 25.5 KD。作者本人在 H. Bothe 实验室中, 也从 *Anabaena variabilis* 中分离出两种硫氧还蛋白, m 和 f 型, 其分子量分别为 12.4 KD 和 25.2 KD (待发表)¹⁾。

(1) 蓝藻中硫氧还蛋白的种类

Schmidt^[26] 曾报道, 有两种硫氧还蛋白存在于 *Synechococcus* 6301 中, 其定名为硫氧还蛋白 A 和 B。硫氧还蛋白 B 的分子量约为 11.8 KD, 而硫氧还蛋白 A 的分子量大于 11.8 KD。Rowell et al^[24] 曾报道, 他们用常规的分离方法和免疫亲合层析方法, 从如下几种蓝藻: *Anabaena cylindrica*, *Anabaena variabilis* ATCC 29413, *Nostoc CAN*, *Synechocystis* PCC 6714, *Synechococcus* PCC 6803, *Nodularia harveyana* CCAP 1452/1 和 *Oscillatoria sp.* CCAP 245B 中仅分离出了一种硫氧还蛋白 m, 其分子量约为 11.6 KD。他们没能检测到硫氧还蛋白 f 的存在, 很可能是因为他们所选用的测定硫氧还蛋白活性的酶系统中不包括菠菜叶绿体的 FBPase。究竟有多少种类的硫氧还蛋白存在于蓝藻中, 已从基因水平进行了分析, 即用 *E. coli* 的基因探针, 通过 Southern Blot 分析 *Anabaena* 7119 的染色体 DNA, 只发现了一种硫氧还蛋白基因^[32]。然而最近, Alam et al^[11] 报道, 用 Southern blot 分析 *Anabaena sp.* PCCC 7120 染色体 DNA, 测定到两个序列与硫氧还蛋白的寡聚核苷酸探针同源。只有其中一种硫氧还蛋白从 *Anabaena* 7120 中分离并测定了序列。这个 *Anabaena* 7120 硫氧还蛋白的氨基酸序列与 *Anabaena* 7119 硫氧还蛋白只呈现出 37% 的同源性。仍有可能有两种硫氧还蛋白存在于 *Anabaena* 7119 中, 只不过不寻常的片断被忽略了。自从 *E. coli* 硫氧还蛋白的基因用

1) Dai, H., Kentemich, T., Schmitz, K., Müller, B., Bothe, H. (1992). in press.

作探针以来,还没有一个相似的序列去测定高度变异的蓝藻的基因。确实,分离的 *Anabaena* 7120 硫氧还蛋白的基因在 Southern blot 分析中,即使是在非严酷的条件下,也不能与第二种 *Anabaena* 7120 硫氧还蛋白的基因杂交^[1]。

(2) 各种蓝藻的硫氧还蛋白与其它种类的硫氧还蛋白的免疫同源性

图 1 比较了不同生物种类的硫氧还蛋白部分氨基酸序列。每种蓝藻硫氧还蛋白在位于 31 和 34 位置上,都具有两个半胱氨酸残基,其顺序为-Trp-Cys-Gly-Pro-Cys-。*Anabaena variabilis* 硫氧还蛋白氨基酸序列(头 88 残基)与 *Anabaena* 7119 的完全相同;与 *Anabaena cylindrica* 的有 60% 的同源性;与 *Anabaena* 7120 的一种有 ~37% 同源性;与 *E. coli* 的有 ~50% 的同源性;与菠菜叶绿体的 m 型有 ~50% 同源性。叶绿体硫氧还蛋白 f 只在活性部位具有相同的序列,而其它部分具有很少的同源性。硫氧还蛋白 m 的多克隆抗体能与 *Anabaena* 7120 硫氧还蛋白交叉反应。*Anabaena variabilis* 的硫氧还蛋白 m 的抗血清能与许多其他蓝藻的硫氧还蛋白交叉反应,但是却不能与 *Anabaena cylindrica* 的硫氧还蛋白 m 交叉反应^{[3][4]}。*Anabaena cylindrica* 的硫氧还蛋白 m 的抗血清不能与大多数其他种类蓝藻的硫氧还蛋白交叉反应^{[2][4]}。

	1	11	21	31
A. variabilis	(a) SAAAQVTDST	FKQEVLDSDV	PVLVDFWAPW	CGPCRMVAPV
A. 7119	(b) SAAAQVTDST	FKQEVLDSDV	PVLVDFWAPW	CGPCRMVAPV
A. cylindrica	(c) SAAASVTDDS	FDQDVLQSVD	PVLVDFWAPW	CGPCRMVAPV
A. 7120	(d) KGVITITDAE	FESEVLKAEQ	PVLVYFWASW	CGPCQLMSPL
E. coli	(e) DKIIHLTDDS	FDTDVLKADG	AILVDFWAEW	CGPCKMIAPI
spinach m	(f) KEVQDVNDSG	WKEFVLQSSE	PSMVDFWAPW	CGPCKLIAPV
spinach f	(g)		... LNMFQTQW	CGPCKANGDK
	41	51	61	71
(a)	VDEIAQQYEG	KIKVVVKVNTD	ENPQVASQYG	IRSIPTLMIF
(b)	VDEIAQQYEG	KIKVVVKVNTD	ENPQVASQYG	IRSIPTLMIF
(c)	VEEIAAQYEC	QLKVVVKVNTD	ENPQVAGRYG	IRSIPTLMIF
(d)	INLAANTYSD	RLKVVVKLEID	PNPTTVKVKYK	VEGVPALRLV
(e)	LDEIADEYQG	KLTVAKLNIID	QNPGTAPKYG	IRGIPTLLL
(f)	IDELAKEYSG	KIAVTKLNTD	EAPGIATQYN	IRSIPTVLFF
(g)	EATHLGVQQAM	...		KNGERKESII

图 1 *A. variabilis* 的硫氧还蛋白的部分氨基酸序列与其它来源的硫氧还蛋白的部分氨基酸序列的比较

Fig. 1 A comparison of the partial amino-acid sequences of thioredoxin m from *A. variabilis* with thioredoxins from other sources.

(a) *A. variabilis* [24]; (b) *A. 7119* [12]; (c) *A. cylindrica* [24]; (d) *A. 7120* [1]; (e) *E. coli* [16]; (f) *Spinach m* [34]; (g) *spinach f* [40]。氨基酸简写为一个大写字母: A, alanine; C, cysteine; D, aspartic acid; E, glutamic acid; F, phenylalanine; G, glycine; H, histidine; I, isoleucine; K, lysine; L, leucine; M, methionine; N, asparagine; P, proline; Q, glutamine; R, arginine; S, serine; T, threonine; V, valine; W, tryptophan; Y, tyrosine

Cossar et al^[6] 曾报道,将 *Anabaena variabilis* 和 *Anabaena cylindrica* 的硫氧还蛋白的抗体用于免疫细胞化学标记实验,其结果显示 *Anabaena variabilis* 和 *Anabaena cylindrica* 的硫氧还蛋白在异形胞中的水平低于营养胞。因此他们猜想, *Anabaena variabilis* 和 *Anabaena cylindrica* 异形胞中的低硫氧还蛋白水平可能与这类细胞中的

高葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活力相关,由此可以在光照和黑暗中通过氧化磷酸戊糖途径,使还原的固氮酶得到保护^[30]。但是,作者本人在 Bothe 实验室中,用测定活力, Western blot, ELISA 和金枪免疫电镜等方法测定的所有结果都表明,硫氧还蛋白在 *Anabaena variabilis* 和 *Anabaena* 7119 的营养胞和异形胞中的分布水平大致相同(待发表)¹⁾。在 *Anabaena cylindrica* 中,发现硫氧还蛋白主要分布在核原生质周围,而在 *Anabaena variabilis* 中,它们与类囊体膜相接触^[6]。

(3) 蓝藻中硫氧还蛋白的电子供体

蓝藻的硫氧还蛋白能被还原的铁硫蛋白还原^[10]。一种依赖于铁硫蛋白的硫氧还蛋白还原酶已从 *Anabaena* 7119 中分离出来。当将 *Anabaena cylindrica* 和 *Anabaena variabilis* 从黑暗转为光照条件时,硫氧还蛋白能被快速还原^[10, 44]。在光照中培养的丝状蓝藻中所含的还原硫氧还蛋白的比例大于在黑暗中培养的。从光照向黑暗中转移后,还原的硫氧还蛋白的减少非常慢($t_{1/2}$ 约为 30 min)。当再光照时,还原的硫氧还蛋白快速增加,在少于 15 min 内超过 80%。另外两个实验小组曾报道,已从噬菌体感染后的 *Anacystis nidulans* 中,分离出依赖于 NADPH 的硫氧还蛋白还原酶^[8]。从 *Anabaena* 7119 的细胞抽提液中也分离出了依赖于 NADPH 的硫氧还蛋白还原酶^[10]。

(4) 蓝藻中硫氧还蛋白生理功能的探索

硫氧还蛋白被暗示为蓝藻中某些酶的氧化还原状态的调控者,如 *Synechococcus PCCC* 6301 中的 3-磷酸腺苷-5-磷酸硫酸硫基转移酶^[27]。*Anabaena variabilis* 和 *Anabaena* 7120 中的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶可被低浓度的硫氧还蛋白 m 迅速抑制^[24]。

Crawford et al.^[7] 曾报道, *Anabaena* 7119 的 FBPase 能被 *Anabaena* 7119 的硫氧还蛋白 f 激活。但是 Rowell et al.^[24] 却报道,他们用 *Anabaena* 的 FBPase 作为目标酶时,没能测定到 *Anabaena variabilis* 和 *Anabaena cylindrica* 的细胞抽提液中的硫氧还蛋白 f。Whittaker et al.^[41] 的试验表明, *Anabaena* 7119 的硫氧还蛋白 f 不能激活它自身的 FBPase。蓝藻的 FBPase 的活化机理非常复杂。例如 *Synechococcus leopoliensis* FBPase 的活化是由酶在氧化和还原状态的二聚体(两者都是无活性的)之间的转化,及 Mg⁺⁺ 离子和 1,6-二磷酸果糖起动还原的二聚体向活化状态的四聚体的转换。硫氧还蛋白对 FBPase 的活化,其功能是维持酶的还原状态,而这个还原状态又是由 Mg⁺⁺ 和底物浓度来调节的。

除了 Papen et al.^[23],还没有报道表明在 *Anabaena* 种系中的 NADP-MDH 能被硫氧还蛋白激活,因为在大多数蓝藻中,这个酶的活力在任何分析条件下都几乎测不出来^[11]。Papen et al.^[23] 表明,在 *Anabaena cylindrica* 的异形胞和营养胞的抽提液中,NADP-MDH 可被还原的硫氧还蛋白激活。*Anabaena cylindrica* 和 *Anabaena* 7119

1) 同 370 页注 1)

中的磷酸核酮糖激酶能被还原的硫氧还蛋白激活^[24]。

Anabaena cylindrica, *Anacystis nidulans* 中的谷氨酸合成酶在从光照向黑暗中转移时, 可逆性的失活^[20]。蓝藻的谷氨酸合成酶曾被报道可被还原的硫氧还蛋白激活^[21]。但是 Rowell et al.^[24] 和 Ip et al.^[31] 用 *Anabaena cylindrica* 或 *Anabaena variabilis* 的无细胞抽提液或纯化的谷氨酸合成酶却不能肯定这个发现。根据实验结果, 谷氨酸合成酶的活力也可被其他一些因素调节, 如 pH 变化, ATP 浓度, 底物和某些二价阳离子浓度^[21]。

Papen et al.^[23] 曾报道, *Anabaena cylindrica* 或菠菜叶绿体的硫氧还蛋白 m, 在被 DTT 还原后, 能激活 *Anabaena cylindrica* 中的 NADP-IDH (NADP-isocitrate dehydrogenase, 异柠檬酸脱氢酶)。在异形胞中, 这个酶的活力大大高于营养胞。NADP-IDH 被硫氧还蛋白激活的程度在每次实验中都不同, 这取决于不加 DTT 和硫氧还蛋白时, 这个酶的基础活力。这暗示着, 除了硫氧还蛋白外, 一些其他因素也在影响 NADP-IDH 的活力。Papen^[22] 还报道, *Anabaena* 7119 的吸氢酶能被它自身的硫氧还蛋白激活, 但是可逆性氢酶却不能被激活。

作者本人在 Bothe 实验室的工作表明, *Anabaena variabilis* 中的 NADP-MDH 的活力非常低, 并且不能被它自身的硫氧还蛋白 m 激活。*Anabaena variabilis* 中的 FBPase 也不能被自身的硫氧还蛋白 f 激活。实验还表明, *Anabaena variabilis* 中的 NADP-IDH 也不能被自身的硫氧还蛋白 m 或 f 激活。只有葡萄糖-6-磷酸脱氢酶能被自身的 Thioredoxin m 显著抑制(待发表)¹⁾。

目前, 硫氧还蛋白在蓝藻中的生理功能还没有弄清楚。虽然蓝藻被设想成叶绿体的进化祖先, 但是它们之间的差异是非常显著的。一些在叶绿体中的酶能被硫氧还蛋白激活, 可是在蓝藻中却不受其影响。硫氧还蛋白只能在某种条件下, 激活或失活某种细胞中的某些酶。这表示硫氧还蛋白对这些酶的调控并不是限定的。然而, 许多来源的硫氧还蛋白的结构和性质却是相似的, 这暗示着硫氧还蛋白在细胞中应该有一个基本的, 共同的作用。在光合生物中, 硫氧还蛋白的氧还状态与光直接相关, 这暗示着硫氧还蛋白的基本作用可能仅是一个反映细胞微环境中还原当量水平的信号。当微环境中的还原当量水平达到一个临界点时, 硫氧还蛋白就会被还原。接着, 还原的硫氧还蛋白就会去作用那些能够平衡或去除过剩还原当量的酶。这个假说可以用来解释, 为什么事实上硫氧还蛋白在异形胞和营养胞中的分布水平相似, 而葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活力在异形胞中不受光暗的影响, 在营养胞中却能被光强烈抑制。因为, 异形胞缺乏光系统 II 和 CO₂ 固定系统, 但是固氮系统需要大量的 ATP 和 NADPH, 而这些高能物质只能由光系统 I 和降解从营养胞运输过来的碳水化合物提供。因此, 即使是在光照条件下, 异形胞中的还原当量仍然很难达到临界点水平。所以, 在异形胞中, 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶能够一直维持在高活力水平。相反, 营养胞具有光系统 II 和 CO₂ 固定系统, 还原当量水平很容易通过完整的光合系统达到临界点。因此, 在光照条件下, 营养胞中的硫氧还蛋白很容易被还原, 接着就去抑制葡萄糖-6-磷酸脱氢酶, 使细胞内的还原当量不致于增高太快。

由此推论, 一些在叶绿体中的酶的作用可能是平衡或消除过量还原当量的, 它们因此

1) 同 370 页注 1)

而表现出能被硫氧还蛋白调节。而这些酶在蓝藻中的作用可能不是这样，所以它们就不能被硫氧还蛋白调控，例如 NADP-MDH 和 FBPase 即如此。

综上所述，对硫氧还蛋白在蓝藻中的功能的研究的重点应该放在那些能够平衡或消除过量还原当量的酶的调控上。

参 考 文 献

- [1] Alam, T., Curtis, S., Gleason, F. K., Gerami-Nejad, M. and Fuchs, J. (1989) Isolation, sequence, and expression in *Escherichia coli* of an unusual thioredoxin gene from the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain pcc 7120. *J. Bacterial.*, **171**: 162—171.
- [2] Black, S., Harte, E. M., Hudson, B. and Wartofsky, L. (1960) A specific enzymatic reduction of L-(methionine sulfoxide and a related nonspecific reduction of disulfides. *J. Biol. Chem.*, **235**: 2916—2920.
- [3] Brot, N., Fliss, H., Coleman, T. and Weissbach, H. (1984) Enzymatic reduction of methionine sulfoxide residues in proteins and peptides. *Methods Enzymol.*, **107**: 352—360.
- [4] Buc, J., Riviere, M., Gontero, B., Sauve, P., Meunier, J. C. and Ricard, J. (1984) Affinity chromatography, on fructose-bisphosphatase-Sepharose, of two chloroplastic thioredoxins. *Eur. J. Biochem.*, **140**: 199—202.
- [5] Buchanan, B. B. (1986) Structure and function. In: Thioredoxin and Glutaredoxin Systems (eds. A. Holmgren, C. I. Brandes, H. Jornvall and B-M. Sjoberg) pp. 233—265, Raven Press, New York.
- [6] Cossar, J. C., Darling, A. J., Ip, S. W., Rowell, P. and Stewart, W. D. P. (1985) Immunocytochemical localization of thioredoxins in the cyanobacteria *Anabaena cylindrica* and *Anabaena variabilis*. *J. Gen. Microbiol.*, **131**: 3029—3035.
- [7] Crawford, N. A., Sutton, C. W., Yee, B. C., Johnson, T. C., Carlson, D. C. and Buchanan, B. B. (1984) Contrasting modes of photosynthetic enzyme regulation in oxygenic and anoxygenic prokaryotes. *Arch. Microbiol.*, **139**: 124—129.
- [8] Cseke, C., Balogh, A. and Farkas, G. L. (1981) Redox modulation of glucose-6-P dehydrogenase in *Anacystis nidulans* and its “uncoupling” by phage infection. *FEBS Lett.*, **126**: 85—88.
- [9] Dharmawardene, M. W. N., Haywied, A. and Stewart, W. D. P. (1973) Glutamine synthetase of the nitrogenfixing alga *Anabaena cylindrica*. *Arch. Mikrobiol.*, **90**: 281—295.
- [10] Droux, M., Jacquot, J.-P., Miginac-Maslow, M., Cadal, P., Huet, J. C., Crawford, N. A., Yee, B. C. and Buchanan, B. B. (1987) *Arch. Biochem. Biophys.*, **252**: 426—439.
- [11] Gleason, F. K. and Holmgren, A. (1988) Thioredoxin and related proteins in prokaryotes. *FEMS Microbiol. Rev.*, **54**: 271—298.
- [12] Gleason, F. K., Whittaker, M. M., Holmgren, A. and Jornvall, H. (1985) The primary structure of thioredoxin from the filamentous cyanobacterium *Anabaena* sp. 7119. *J. biol. Chem.*, **260**: 9567—9573.
- [13] Grippo, J. F., Holmgren, A. and Pratt, W. B. (1985) Proof that the endogenous, heat-stable glucocorticoid receptor-activating factor is thioredoxin. *J. Biol. chem.*, **260**: 93—97.
- [14] Herrmann, C. E. and Moore, E. C. (1973) Purification of thioredoxin from Rat novikoff ascites hepatoma. *J. Biol. Chem.*, **248**: 1219—1223.
- [15] Ho, K. K. and Krogmann, D. W. (1982) Photosynthesis. In: The Biology of Cyanobacteria (eds. N. G. Carr and B. A. Whitton) pp. 48—75, Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- [16] Holmgren, A. (1968) Thioredoxin 6. The amino acid sequence of the protein from *Escherichia coli* B. *Eur. J. Biochem.*, **6**: 475—484.
- [17] Holmgren, A., Soderberg, B-O., Eklund, H. and Branden, C-I. (1975) Three-dimensional structure of *Escherichia coli* thioredoxin-S₂ to 2.6 Å resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**: 2305—2309.
- [18] Holmgren, A. (1979) Glutathione-dependent synthesis of deoxyribonucleotides. Characterization of the enzymatic mechanism of *Escherichia coli* glutaredoxin. *J. Biol. Chem.*, **254**: 3672—3678.
- [19] Holmgren, A. (1979) Thioredoxin catalyses the reduction of insulin insulin disulfides by dithiothreitol and dihydrolipoamide. *J. Biol. Chem.*, **254**: 9627—9632.
- [20] Holmgren, A. (1985) Thioredoxin. *Annu. Rev. Biochem.*, **54**: 237—271.
- [21] Papen, H. and Bothe, H. (1984) The activation of glutamine synthetase from the cyanobacterium *Anabaena cylindrica* by thioredoxin. *FEMS Microbiol. Lett.*, **23**: 41—46.
- [22] Papen, H., Kentemich, T., Schmulling, T. and Bothe, H. (1986) Hydrogenase activities in cyanobacteria. *Biochemie*, **68**: 121—131.
- [23] Papen, H., Neuer, G., Refraian, M. and Bothe, H. (1983) The isocitrate dehydrogenase from cyanobacteria. *Arch. Microbiol.*, **134**: 73—79.
- [24] Rowell, P., Darling, A. J., Amla, D. V. and Stewart, W. D. P. (1988) Thioredoxin and enzymes. In: Biochemistry of the Algae and Cyanobacteria (eds. L. J. Rogers and J. R. Gallon) pp. 201—216, Clarendon Press, Oxford.

- [25] Russel, M. and Model, P. (1985) Thioredoxin is required for filamentous phage assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **82**: 29—33.
- [26] Schmidt, A. (1980) Isolation of two thioredoxins from the cyanobacterium *Synechococcus* 6301. *Arch. Microbiol.*, **127**: 259—263.
- [27] Schmidt, A. and Christen, U. (1978) A factor-dependent sulfotransferase specific for 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate (PAPS) in the cyanobacterium *Synechococcus* 6301. *Planta*, **140**: 239—244.
- [28] Schmidt, A. and Christen, U. (1979) Distribution of thioredoxins in cyanobacteria. *Z. Natur.*, **34**: 1272—1276.
- [29] Sjoberh, B-M. and Holmgren, A. (1973) Purification of thioredoxin from *Escherichia coli* and bacteriophage T₄ by immuno-adsorbent affinity chromatography. *Biochem. Biophys. Acta*, **315**: 176—181.
- [30] Stewart, W. D. P., Rowell, P., Cossar, J. D. and Kerby, N. W. (1985) In: Nitrogen Fixation and CO₂ Metabolism (eds. P. W. Ludden and J. E. Burris) pp. 269—279, New York: Elsevier.
- [31] Ip, S-M., Rowell, P., Aitken, A. and Stewart, W. D. P. (1984) Purification and characterization of thioredoxin from the N₂fixing cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *Eur. J. Biochem.*, **141**: 497—504.
- [32] Lim, C-T., Gleason, F. K., Jacobson, B. A. and Fuchs, J. A. (1988) Characterization of *Escherichia coli*-*Anabaena* sp. hybrid thioredoxins. *Biochem.*, **27**: 1401—1408.
- [33] Luthman, M. and Holmgren, A. (1982) Rat liver thioredoxin and thioredoxin reductase: purification and characterization. *Biochem.*, **21**: 6628—6633.
- [34] Maeda, K., Tsugita, A., Dalzoppo, D., Vilbois, F. and Schurmann, P. (1986) Further characterization and amino acid sequence of m-type thioredoxins from spinach chloroplasts. *Eur. J. Biochem.*, **154**: 197—203.
- [35] Mark, D. F., Chase, J. W. and Richardson, C. C. (1977) Genetic mapping of *trx A*, a gene affecting thioredoxin in *Escherichia coli* K12. *Mol. Gen. Genet.*, **155**: 145—152.
- [36] Mark, D. F. and Richardson, C. C. (1976) *Escherichia coli* thioredoxin: a subunit of bacteriophage T7 DNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **73**: 780—784.
- [37] Tel-Or, E. and Stewart, W. D. P. (1977) Photosynthetic components and activities of nitrogenfixing isolated heterocysts of *Anabaena cylindrica*. *Proc. Roy. Soc.*, **B198**: 61—86.
- [38] Thelander L. and Reichard, P. (1979) Reduction of ribonucleotides. *Ann. Rev. Biochem.*, **48**: 133—158.
- [39] Tsang, M. L. S. and Schiff, J. A. (1976) Sulfate reducing pathway in *Escherichia coli* involving bound intermediates. *J. Bacterial.*, **125**: 923—933.
- [40] Tsugita, A., Maeda, K. and Schurmann, P. (1983) Spinach chloroplast thioredoxins in evolutionary drift. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **115**: 1—7.
- [41] Whittaker, M. M. and Gleason, F. K. (1984) Isolation and characterization of thioredoxin f from the filamentous cyanobacterium *Anabaena* sp. 7119. *J. Biol. Chem.*, **259**: 14088—14095.
- [42] Wolosiuk, R. A. and Buchanan, B. B. (1977) Thioredoxin and glutation regulate photosynthesis in chloroplasts. *Nature, Lond.*, **266**: 565—569.
- [43] Wolosiuk, R. A., Crawford, N. A., Yee, B. C. and Buchanan, B. B. (1979) Isolation of three thioredoxins from spinach leaves. *J. Biol. Chem.*, **254**: 1627—1632.
- [44] Yee, B. C., Torre, de la, Crawford, N. A., Lara, C., Carlson, D. E. and Buchanan, B. B. (1981) The ferredoxin/thioredoxin system of enzyme regulation in a cyanobacterium. *Arch. Microbiol.*, **130**: 14—19.