

И. И. ЧЕРНЯДЬЕВ, Н. Г. ДОМАН

ОБ УЧАСТИИ ФОСФОПИРУВАТКАРБОКСИЛАЗЫ (4.1.1.38)
В ФОТОСИНТЕЗЕ

(Представлено академиком А. И. Опариным 24 V 1971)

Реакции биологического карбоксилирования довольно многообразны ⁽¹⁾. Основная роль при фотосинтетической ассимиляции углекислоты отводится обычно карбоксилированию рибулозо-1,5-дифосфата с участием рибулозодифосфаткарбоксилазы (3-фосфо-*D*-глицерат-карбоксилаза (димеризующая), 4.1.1.39) и фосфоенолпирувата (ФЕП) с участием фосфопируваткарбоксилазы (ортофосфат: оксалоацетат-карбоксилаза (фосфорилирующая), 4.1.1.31). Между тем, карбоксилирование ФЕП, ведущее к образованию C_4 -дикарбоновых кислот, может осуществляться несколькими ферментными системами. У ряда фото- и хемосинтезирующих организмов, как и у некоторых гетеротрофов, кроме фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.31) обнаружена фосфопируваткарбоксилаза, требующая обязательного присутствия нуклеозиддифосфата в качестве акцептора освобождающегося фосфата (ГТФ: оксалоацетат-карбоксилаза (трансфосфорилирующая), 4.1.1.32) ⁽¹⁾. У пропионовокислых бактерий карбоксилирование ФЕП может осуществляться с помощью фосфопируваткарбоксилазы (пирофосфат: оксалоацетат-карбоксилаза (фосфорилирующая), 4.1.1.38) ⁽²⁾, свойства которой продолжают изучаться ⁽³⁻⁵⁾. Роль акцептора освобождающегося фосфата в этой реакции играет анион ортофосфата.

У фотосинтезирующих организмов последнему ферменту не уделялось внимания, в литературе есть лишь указание на отсутствие фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.38) у пурпурных серных бактерий *Chromatium okenii* ⁽⁶⁾.

У исследуемых нами пурпурных несерных бактерий *Rhodospseudomonas palustris* преимущественное вхождение углерода в процессе фотосинтеза осуществляется с участием рибулозодифосфаткарбоксилазы ⁽⁷⁾, а «вторичные» реакции карбоксилирования осуществляются двумя карбоксилазами ФЕП (4.1.1.31 и 4.1.1.32). Представлялось интересным исследовать экстракты из клеток *Rh. palustris* на активность третьего фермента из группы ФЕП-карбоксилаз — фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.38).

Бактерии *Rh. palustris* выращивали на кафедре микробиологии Московского университета, за что авторы приносят свою благодарность проф. Е. Н. Кондратьевой и В. Э. Успенской. Выращивание осуществляли на среде Ормерода ⁽⁸⁾ с бикарбонатом (0,4%) и форматом (0,2%) натрия в анаэробных условиях на свету либо с ацетатом (0,4%) и бикарбонатом (0,2%) натрия в аэробных условиях в темноте. Получение ферментных препаратов проводили, как описано ранее ⁽⁷⁾. Активность ферментов определяли радиометрическим методом по скорости включения C^{14} -углерода бикарбоната при 30° в трис-HCl-буфере. При определении активности фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.38) в 1 мл ферментной смеси содержались (в μ мол.): хлористый магний или хлористый марганец 3,3, восстановленный глутамат 10, восстановленный НАД 1, глутамат калия 1, ФЕП 2,5, ортофосфат 6,7, меченый бикарбонат 10, белок бесклеточного препарата 3 мг. Параллельные определения активности фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.31) проводили при содержании в 1 мл (в μ мол.): хлористого магния

3,3, восстановленного глутатиона 10, восстановленного НАД 1, глутамата калия 1, ФЕП 2,5, меченого бикарбоната 10, белка 3 мг.

Активность ферментов определяли при трех значениях pH реакционной смеси: 7,2; 7,5 и 8,5. Наибольшая активность фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.38) обнаруживалась при pH 8,5. Удельная активность последнего фермента за вычетом активности фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.31) составляет 1,4 мЕ на 1 мг белка при анаэробном выращивании на свету с бикарбонатом и формиатом (среднее из 6 определений) и лишь следы при аэробном выращивании в темноте с ацетатом и бикарбонатом. Фермент активировался ионами магния и марганца; Mn^{2+} мог заменить Mg^{2+} . Линейный участок скорости включения углерода составлял обычно более 8 мин. ФЕП не мог быть заменен пируватом, так же как ортофосфат пирофосфатом. Если же пирофосфат добавляли в ходе реакции, то наблюдалось резкое замедление скорости прямой реакции.

Следует подчеркнуть, во-первых, высокую удельную активность фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.38), на порядок превосходящую активность фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.31). Во-вторых, активность фермента обнаруживается лишь у клеток, выращенных на свету, что свидетельствует о роли фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.38) в фотосинтетической ассимиляции углерода. Возможно, что в аэробных условиях в темноте потребности организма в образовании щавелевоуксусной кислоты вполне удовлетворяются за счет включения ацетата в цикл трикарбоновых кислот и глиоксилатный цикл⁽⁹⁾.

Таким образом, впервые обнаружено участие фосфопируваткарбоксилазы (4.1.1.38) в процессе фотосинтеза. Полученные данные расширяют представления об участии в фотосинтезе реакций карбоксилирования ФЕП.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
13 V 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. К. Романова, Усп. биол. хим., 9, 265 (1968). ² P. M. Siu, H. G. Wood, R. L. Stjernholm, J. Biol. Chem., 236, PC 21 (1961). ³ J. J. Davis, J. M. Willard, H. C. Wood, Biochemistry, 8, № 8, 3127 (1969). ⁴ J. M. Willard, J. J. Davis, H. C. Wood, Biochemistry, 8, № 8, 3137 (1969). ⁵ H. C. Wood, J. M. Willard, J. J. Davis, Biochemistry, 8, № 8, 3145 (1969). ⁶ H. C. Trüper, Arch. Mikrobiol., 49, № 1, 23 (1964). ⁷ И. И. Чернядьев, Н. Г. Доман, Биохимия, 35, № 5, 968 (1970). ⁸ J. G. Ormerod, K. S. Ormerod, H. Gest, Arch. Biochem. and Biophys., 94, № 3, 449 (1961). ⁹ И. И. Чернядьев, Е. Н. Кондратьева, Н. Г. Доман, Микробиология, 39, № 1, 24 (1970).