

И. М. МАГОМЕДОВ, Л. Б. КОВАЛЕВА

## О ЛОКАЛИЗАЦИИ ФОСФОЭНОЛПИРУВАТКАРБОКСИЛАЗЫ В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 17 X 1972)

Открытие  $C_4$ -пути углерода в фотосинтезе (<sup>1</sup>) послужило толчком к исследованию механизма фиксации углекислоты растениями тропического происхождения. Появились работы (<sup>2-5</sup>), в которых доказывается существование цикла  $C_4$ -дикарбоновых кислот.

Принципиальное отличие нового пути заключается в том, что источником для первичного карбоксилирования служит фосфоэнолпируват (ФЭП). В результате этой реакции образуются  $C_4$ -дикарбоновые кислоты. Схематически указанную реакцию можно изобразить следующим образом



Однако до последнего времени остается неясным вопрос о локализации фосфоэнолпируваткарбоксилазы (ЕС 4.1.1.31), поскольку в литературе имеются противоречивые данные на этот счет (<sup>3-6</sup>).

Задачей настоящей работы было исследование локализации фосфоэнолпируваткарбоксилазы (ФЭП-карбоксилазы) в листьях кукурузы, где также обнаружен  $C_4$ -путь углерода в фотосинтезе.

Объектом для изучения локализации ФЭП-карбоксилазы служили листья 20-дневных проростков кукурузы сорта Буковинская. Выделение хлоропластов мезофильных и обкладочных клеток производили в водную и органическую среды. Для этой цели использовали методы различных авторов (<sup>7, 8</sup>). Количество хлорофилла и белка определяли на СФ-4А (<sup>9, 10</sup>).

При выделении клеточных структур в водную среду и при использовании различных субстратов были получены следующие данные о фиксации  $\text{CO}_2$  указанными структурами (имп. на 1 мг хлорофилла в час):

Хлоропласты мезофилла + ФЭП	36,9·10 <sup>3</sup>
+ P-5-Ф	15,9·10 <sup>3</sup>
Надосадочная жидкость + ФЭП	200·10 <sup>3</sup>
+ P-5-Ф	67·10 <sup>3</sup>

Таким образом, хлоропласты листьев кукурузы способны фиксировать углекислоту, где ее акцептором является фосфоэнолпируват. Ранее мы получили данные о том, что основная фиксация  $\text{CO}_2$  идет в супернатанте (после удаления хлоропластов), последние же практически не усваивали углекислоту (<sup>11</sup>). Однако с улучшением техники выделения клеточных структур и при добавлении соответствующих компонентов в реакционную среду удалось получить хлоропласты, фиксирующие  $\text{CO}_2$  фосфоэнолпируватом в качестве акцептора, хотя «цитоплазма» значительно больше фиксирует  $\text{CO}_2$  на фосфоэнолпирувате.

Более четко вопрос о местонахождении ФЭП-карбоксилазы можно решить на основе опытов с выделением клеточных структур в органическую среду (<sup>12</sup>). Ниже приведены данные одного из опытов по определению

активности ФЭП-карбоксилазы и НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы в хлоропластах, извлеченных в органическую среду (в  $\mu\text{мол. НАДФ}$  на 1 мг белка в час):

Хлоропласты мезофилла	$2,27 \pm 0,15$
Хлоропласты обкладки	$0,18 \pm 0,42$
Надосадочная жидкость	$4,35 \pm 0,34$

Отсюда следует, что при сравнении ФЭП-карбоксилазной активности в хлоропластах двух типов последняя связана с хлоропластами мезофилла. Наивысшая активность ФЭП-карбоксилазы наблюдается в надосадочной жидкости.

Наличие наибольшей активности ФЭП-карбоксилазы и НАДФ-малатдегидрогеназы во фракции хлоропластов мезофилла по сравнению с другими клеточными структурами демонстрируют и опыты по включению  $\text{C}^{14}$  из  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  в различные типы хлоропластов листьев кукурузы.

Результаты опыта, показывающие динамику включения  $\text{C}^{14}$  из  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  в хлоропласты мезофилла и обкладки листьев кукурузы (имп. на 1 мг белка в час), приведены ниже:

	10 сек.	20 сек.	30 сек.
Хлоропласты мезофилла	$12 \cdot 10^3$	$10,5 \cdot 10^3$	$10 \cdot 10^3$
Хлоропласты обкладочных клеток	$2,2 \cdot 10^3$	$20 \cdot 10^3$	$17 \cdot 10^3$
Надосадочная жидкость	$5,9 \cdot 10^3$	$8,9 \cdot 10^3$	$30 \cdot 10^3$

Как видно из данных, за первые 10 сек. экспозиции листа в атмосфере  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  основная радиоактивность находилась в хлоропластах мезофилла, но по мере увеличения экспозиции радиоактивность возрастает в хлоропластах обкладочных клеток, а в мезофильных снижается. Эти опыты показывают, что первоначальная фиксация  $\text{CO}_2$  идет в клетках мезофилла, а образовавшиеся продукты транспортируются в обкладочные хлоропласты, в которых функционирует цикл Кальвина.

Вероятно, ФЭП-карбоксилаза находится вне хлоропласта и усваивает  $\text{CO}_2$  с образованием щавелевоуксусной кислоты. Последняя транспортируется внутрь хлоропласта и превращается в малат или аспарат в зависимости от наличия НАДФ- $\text{H}_2$  или  $-\text{H}_2$ .

Полученные нами данные противоречат результатам, показанным некоторыми авторами (6). Вероятно, последние имели дело с хлоропластами обкладки, в которых фиксация  $\text{CO}_2$  идет на рибулозодифосфате с образованием трифосфоглицериновой кислоты.

Ип у кого из исследователей до сих пор не вызывает сомнения то, что цикл Кальвина работает в хлоропластах обкладки. Вопрос заключается в том, откуда поступает  $\text{CO}_2$  в обкладочные клетки: из атмосферы или из дикарбоновой кислоты, образовавшейся в мезофилле с помощью ФЭП-карбоксилазы. Мы разделяем мнение тех авторов (3), которые допускают, что если фиксация  $\text{CO}_2$  из атмосферы и происходит в обкладочных клетках, то она составляет лишь незначительную долю от общего усвоения углекислоты. Образовавшаяся в хлоропластах обкладочных клеток трифосфоглицериновая кислота может транспортироваться частично в мезофилл, ввиду значительной редукции второй фотосистемы в агранальных хлоропластах обкладки (13, 14).

В мезофильных хлоропластах часть фосфоглицериновой кислоты, возможно, используется для синтеза фосфоэнолпирувата, а другая идет на образование триозофосфата, который через ряд реакций превращается во фруктозофосфат и далее в сахарозу и крахмал. Таким образом, можно представить образование небольшого количества крахмала в хлоропластах мезофилла без участия рибулозодифосфата и функционирования в них цикла Кальвина.

Подводя итог вышесказанному, мы заключаем, что в листьях кукурузы имеются два типа хлоропластов, которые различаются как струк-

турно, так и функционально. ФЭП-карбоксилаза, видимо, локализована главным образом в цитоплазме мезофильных клеток, а НАДФ-малатдегидрогеназа находится в хлоропластах мезофилла.

Ленинградский государственный университет  
им. А. А. Жданова

Поступило  
17 X 1972

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> M. D. Hatch, C. R. Slack, *Biochem. J.*, **101**, 103 (1966). <sup>2</sup> Ю. С. Карпилов, Молдавск. н.-и. инст. орошаемого земледелия и овощеводства, Тр. 11, в. 3, Кишинев, 1970. <sup>3</sup> T. M. Chen, R. H. Brown, C. C. Black, *Plant Physiol.*, **47**, 199 (1974). <sup>4</sup> M. D. Hatch, C. R. Slack, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **21**, 141 (1970). <sup>5</sup> J. A. Berry, W. J. S. Downton, E. B. Tregunna, *Canad. J. Bot.*, **48**, 777 (1970). <sup>6</sup> M. Gibbs et al., *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **40**, 1356 (1970). <sup>7</sup> O. Bjorkman, E. Gauthier, *Planta*, **88**, 197 (1969). <sup>8</sup> И. М. Магомедов, В. А. Чесноков, В сборн. Биохимия и биофизика фотосинтеза, 1971, стр. 134. <sup>9</sup> Пигменты пластид зеленых растений и методы их исследования, Под ред. Д. И. Сапожникова, 1964. <sup>10</sup> O. H. Lowry et al., *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951). <sup>11</sup> И. М. Магомедов, В сборн. Механизмы биологических процессов, 1969, стр. 53. <sup>12</sup> M. D. Hatch, C. R. Slack, *Biochem. J.*, **102**, 417 (1967). <sup>13</sup> K. C. Woo et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **67**, 18 (1970). <sup>14</sup> W. J. S. Downton, N. D. Pyliotis, *Canad. J. Bot.*, **49**, 179 (1971).