

УДК 581.132

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Н. Н. ТИЩЕНКО, И. М. МАГОМЕДОВ
**АКТИВНОСТЬ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ АЛАНИН-
И АСПАРТАТАМИНОТРАНСФЕРАЗ
У РАСТЕНИЙ С C_4 -ФОТОСИНТЕЗОМ**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 18 IV 1975)

По современным представлениям, высшие растения делятся на две группы — C_3 - и C_4 -растения. У C_3 -растений первичным продуктом фиксации CO_2 при фотосинтезе является 3-фосфоглицериновая кислота, у C_4 -растений — C_4 -дикарбоновая кислота (¹⁻³). C_4 -растения в свою очередь подразделяются на две подгруппы: малатную форму, синтезирующую в основном яблочную кислоту, которая и является донором CO_2 для функционирования цикла Кальвина, и аспартатную форму с преимущественным синтезом аспарагиновой кислоты (^{4, 5}). Выяснению механизма превращения малата в клетках обкладки посвящено много работ (⁶⁻⁸), в то время как по вопросу утилизации аспартата

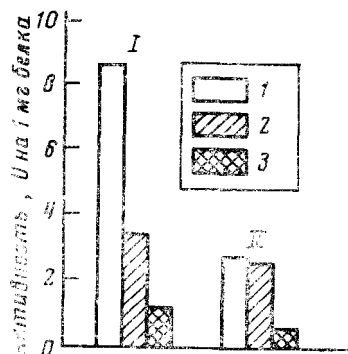


Рис. 1

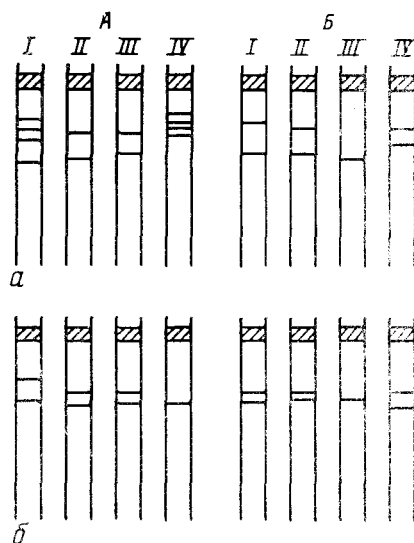


Рис. 2

Рис. 1. Удельная активность аланин- (II) и аспартатаАФ (I) в листьях растений различных экологических групп. 1 — просо, 2 — кукуруза, 3 — рожь

Рис. 2. Изоформы и локализация аспартатаАФ у кукурузы (б) и проса (а). А — мезофиллы, Б — обкладка. I — цитоплазма, II — легковымываемые белки хлоропластов, III — растворимые белки хлоропластов, IV — структурные белки хлоропластов

имеются лишь единичные работы (⁹). Нет ясного представления, в частности, о локализации аминотрансфераз (АФ) в клетках мезофилла и обкладки C_4 -растений.

Целью данной работы явилось определение активности аланин- и аспартатаАФ и локализации последней в листьях *Zea mays* и *Panicum miliaceum*, малатной и аспартатной форм C_4 -растений. Активность АФ определяли на

СФ-4 с 2,4-динитрофенилгидразином ⁽¹⁰⁾, изоферментный состав аспартат АФ — по реакции щавелево-уксусной кислоты с «прочным синим В» ⁽¹¹⁾.

Рис. 1 дает представление о соотношении удельной активности и аланин и аспартатАФ в листьях двух форм C_4 -растений. Для сравнения приведена активность этих ферментов у C_3 -растения — ржи. Как можно видеть, C_4 -растения обладают значительно большей активностью АФ. В этом свидетельствует важная роль АФ в C_4 -фотосинтезе.

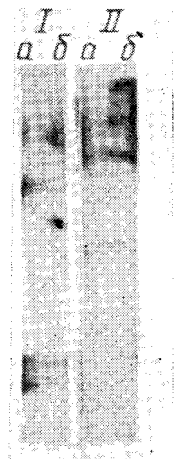


Рис. 3. Изоферменты аспартатАФ в общем гомогенате проса (б) и кукурузы (а). I — цитоплазма, II — растворимые белки хлоропластов

Удельная активность аспартатАФ в листьях проса почти в 3 раза выше, чем в листьях кукурузы, а удельная активность аланинаАФ практически одинакова. Следовательно, увеличение активности АФ, по-видимому, целиком зависит от более высокой активности аспартатАФ у аспартатных форм по сравнению с малатными.

Локализация изоформ аспартатАФ в клетках мезофилла и обкладки изучалась с использованием четырехступенчатого экстрагирования белков из хлоропластов C_4 -растений: I — цитоплазма клеток, II — легковымываемые белки хлоропластов, III — растворимые белки хлоропластов, IV — структурные белки, полученные после обработки хлоропластов тритоном X-100. Мы определили соотношение удельной активности аланин- и аспартатАФ в мезофилле и обкладке проса и кукурузы, а также их распределение по фракциям. Так, у проса 60% активности аспартат- и аланинаАФ локализовано в клетках мезофилла и 40% в обкладке. Однако при распределении по фракциям между ними наблюдается различие. В клетках мезофилла 33% активности аланинаАФ сосредоточено в I фракции, 77% — во II и III фракциях; в обкладке сосредоточено 40% в I фракции, 60% — во II и III. Для аспартатАФ наблюдается обратная картина: в мезофилле в I фракции 77% активности, во II и III 33%; в обкладке в I фракции 60% и во II и III 40%. Иначе говоря, между активностью аланин- и аспартатАФ, локализованной в цитоплазме (I фракция) и хлоропластах (II и III фракции) мезофилла и обкладки, наблюдается зеркальная зависимость.

На рис. 2 приведено содержание изоферментов аспартатАФ в данных фракциях мезофилла и обкладки проса и кукурузы. Наибольшее количество изоформ обнаружено в мезофилле проса. В клетках обкладки проса и в клетках обоих типов у кукурузы количество изоферментов аспартатАФ, по-видимому, одинаково. Интересен тот факт, что этот фермент обнаружен в структурных белках хлоропластов обоих типов, что указывает на прямую связь аспартатАФ с хлоропластами у C_4 -растений.

В литературе имеются сведения ⁽⁹⁾ о том, что аспартатАФ у аспартатных форм C_4 -растений в основном локализована в цитоплазме мезофильных и обкладочных клеток, причем в них представлены ее разные изоформы.

Так, у *Panicum miliaceum* найдено 3 изофермента аспартатаАФ; два из них обладали максимальной активностью, один был минорным. Мы обнаружили в цитоплазме общего гомогената проса 5, а кукурузы — 4 изофермента аспартатаАФ (рис. 3). Во фракции растворимых белков хлоропластов мезофилла и обкладки 4 изозима у проса и 3 у кукурузы.

Таким образом, как основная активность, так и наибольший изоферментный состав аспартатаАФ находятся в цитоплазме мезофилла и обкладки. Поэтому вполне вероятно, что синтез аспарагиновой кислоты у аспартатных форм C_4 -растений происходит в цитоплазме мезофилла с последующим декарбоксилированием в цитоплазме клеток обкладки по схеме: аспартат $\rightarrow$ ЦУК $\rightarrow$ малат $\rightarrow$ CO_2 +пируват. Возможно, что эти реакции локализованы в митохондриях (¹²). Однако наши данные указывают на тесную связь аспартатаАФ с хлоропластами мезофилла и, особенно, обкладки, что наводит на мысль об активном участии последних в метаболизме аспартата в C_4 -фотосинтезе. Уточнение отдельных звеньев вышеприведенной схемы и локализация изоферментов АФ, участвующих в метаболизме аспартата, является предметом наших дальнейших исследований.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
29 VII 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ M. D. Hatch, C. R. Slack, Ann. Rev. Plant Physiol., v. 21, 141 (1970). ² T. J. Andrews, H. S. Johnson et al., Phytochemistry, v. 10, 2005 (1971). ³ C. C. Black, Ann. Rev. Plant Physiol., v. 24, 253 (1973). ⁴ W. J. S. Downton, Canad. J. Bot., v. 48, 1795 (1970). ⁵ Ю. С. Карпилов, Кооперативный фотосинтез ксерофитов, Тр. Молд. н.-и. ин-та орош. земл. и овощеводства, Кишинев, т. 11, 3 (1970). ⁶ G. E. Edwards, S. S. Lee et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., v. 39, 389 (1970). ⁷ H. S. Johnson, M. D. Hatch, Biochem. J., v. 119, 273 (1970). ⁸ S. C. Huber, R. Kanai, G. E. Edwards, Planta, v. 113, 53 (1973). ⁹ M. D. Hatch, S. Mau, Arch. Biochem. and Biophys., v. 156, 195 (1973). ¹⁰ S. Reitmann, S. Frankel, Am. J. Clin. Pathol., v. 28, 56 (1957). ¹¹ И. М. Магомедов, Н. Н. Тущенко, Физиол. раст., т. 21, 1095 (1974). ¹² M. D. Hatch, T. Kagawa, Austral. J. Plant Physiol., v. 1, 357 (1974).