

В. КРЕТОВИЧ и Т. ДРОЗДОВА

ОКИСЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ТКАНЯМИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 6 IX 1948)

Окислительный распад аминокислот в растительных тканях почти не подвергался экспериментальному изучению. Обычно принимаемые схемы окисления аминокислот в растении исходят из многочисленных данных, полученных при изучении их окислительного распада в животных тканях.

В свое время Тунберг (1), на основании опытов по обесцвечиванию метиленовой сини, пришел к заключению, что экстракты из растительных тканей дагидрируют глютаминовую кислоту. Впоследствии это наблюдение Тунберга было подтверждено целым рядом исследователей (2-5). Что же касается других аминокислот, в частности аспарагиновой, играющей наряду с глютаминовой кислотой важнейшую роль в обмене растения, то исследователи единодушно приходили к заключению о том, что не удастся обнаружить их окислительного распада. Однако необходимо подчеркнуть, что все вышеупомянутые исследователи работали по методу Тунберга.

Сравнительное изучение с помощью манометрического метода скорости окисления различных аминокислот растительными тканями до сего времени не было осуществлено и явилось задачей настоящей работы. Все опыты проводились нами в микроманометрическом аппарате Смирнова (6), специально сконструированном для изучения газообмена экстрактов и болтушек из растительных тканей. В качестве источника окислительных ферментов мы пользовались 4-дневными проростками ржи, лишенными остатков эндосперма и растертыми в ступке с кварцевым песком и фосфатным буфером в отношении $\frac{0,5 \text{ г ростков}}{10 \text{ мл буфера}}$.

Во внешнее пространство манометрического сосудика вносилось 10 мл полученной таким образом тонкой суспензии, 80 мг аминокислоты и 1 мл дистиллированной воды. Дикарбоновые аминокислоты вносились в виде 1 мл нейтрализованного сухой содой водного раствора, а дигидрохлорид гистидина — в виде 1 мл нейтрализованного едким калием водного раствора. Во всех опытах общий объем жидкости во внешнем пространстве манометрического сосудика составлял 11 мл.

Все опыты проводились при 31° С и продолжались 2 часа. Предварительные опыты показали, что поглощение кислорода, обусловленное окислением собственных субстратов суспензии, резко возрастает при повышении рН буферной смеси с 5,0 до 8,0. Аналогичные результаты были получены А. И. Смирновым (7), исследовавшим газообмен суспензий ферментирующих табачных листьев. Однако целый ряд опытов показал, что увеличение при добавлении аминокислоты объема поглощаемого суспензией кислорода проявляется особенно ясно при рН буфер-

ной смеси, равном 5,0, снижается при рН = 6,0 и становится весьма малым при рН = 8,0. Это ясно видно из данных, приведенных в табл. 1. Поэтому все дальнейшие опыты проводились при рН = 5,0.

Таблица 1

Количество кислорода, потребляемого на окисление аминокислот при различных рН

Аминокислота	рН суспензии	Разность объемов поглощенного кислорода между опытом и контролем, мл
<i>l</i> (+)-глутаминовая кислота	5,0	0,657
	6,0	0,431
	8,0	0,016
<i>d, l</i> -аланин	5,0	0,158
	8,0	0,000

Полученные нами результаты сравнительного изучения интенсивности окисления аминокислот гомогенизированными суспензиями из проростков ржи представлены в табл. 2.

Таблица 2

Окисление аминокислот суспензиями из проростков ржи

Аминокислота	Разность объемов поглощенного кислорода между опытом и контролем, мл	Аминокислота	Разность объемов поглощенного кислорода между опытом и контролем, мл
<i>l</i> -глутаминовая кислота	0,650	<i>d, l</i> -аланин	0,114
<i>l</i> -аспарагиновая кислота	0,437	<i>l</i> -тирозин	0,113
<i>l</i> -гистидин	0,231	<i>l</i> -метионин	0,064
<i>l</i> -аргинин	0,135	<i>l</i> -лизин	0,040
<i>l</i> -лейцин	0,125	<i>l</i> -триптофан	0,033
<i>l</i> -цистин	0,121	Гликокол	0,030
<i>l</i> -пролин	0,120		

Каждая цифра, приведенная в табл. 2, как и во всех нижеприведенных данных, является средней из 3 опытов. Из данных табл. 2 видно, что дикарбоновые аминокислоты резко выделяются по своей легкой окисляемости среди всех прочих аминокислот. Таким образом, перво-степенная роль этих аминокислот в обмене растительной клетки заключается не только в том, что они являются исходным материалом для построения аспарагина и глутамина, не только в том, что они играют важнейшую роль, как основные участники реакции ферментативного переаминирования, но также в том, что именно эти аминокислоты особенно легко подвергаются ферментативному окислению.

Особый интерес представлял для нас вопрос об окислении лизина. Как известно, эта аминокислота не может синтезироваться животным организмом и, по данным Феликса и Нака (8), является исключительно инертной, почти не поддаваясь окислению под влиянием кашицы и срезов из печени. Данные табл. 2 показывают, что суспензия из проростков ржи практически почти не окисляет лизина. Однако известно, что содержание лизина в белках ржи невелико. Оно значительно выше в белках бобовых растений, в частности гороха. Естественно было предполагать, что ферментативное окисление лизина тканями проростков гороха осуществляется более интенсивно. Соответствующие опыты по-

казали правильность этого предположения. Сравнение интенсивности окисления лизина суспензиями из проростков ржи и гороха показало, что если разность поглощения кислорода между опытом и контролем в случае ржи составляла 0,040 мл O_2 , то в случае гороха она равнялась 0,193 мл O_2 . Таким образом, различие в аминокислотном составе запасных белков семени злаков и бобовых соответствует различиям в ферментативной системе, осуществляющей окисление аминокислот.

Установленная нами наибольшая окисляемость дикарбоновых аминокислот и хорошо известная первостепенная роль в растении их амидов — аспарагина и глутамина — побудила нас испытать окисление этих последних гомогенизированной суспензией из проростков ржи. Соответствующие опыты, проведенные во многих повторностях по вышеописанной методике, дали весьма интересные результаты. Оказалось, что в то время как прибавление аспарагиновой кислоты к суспензии проростков сильно повышает поглощение ею кислорода, прибавление такого же количества аспарагина не изменяет интенсивности поглощения кислорода суспензией.

Таким образом, введение амидной группы в карбоксил аспарагиновой кислоты полностью предохраняет ее от окисления. Неясно, но вместе с тем чрезвычайно интересно, является ли подобное стабилизирующее влияние амидной группы косвенным или же окисление аспарагиновой кислоты начинается со второго карбоксила, удаленного от аминной группы.

Аналогичные опыты, проведенные нами с чистым препаратом глутамина, полученного З. Г. Евстигнеевой из сахарной свеклы, показали, что глутамин резко отличается не только от глутаминовой кислоты, но и от аспарагина. Он не только не окисляется суспензией, но резко снижает поглощение кислорода, обусловленное окислением собственных субстратов суспензии. Так же как и в случае аспарагиновой кислоты, введение амидной группы в дальний карбоксил глутаминовой кислоты предохраняет ее от окисления.

Таким образом, физиологический смысл образования аспарагина и глутамина в растении заключается не только в обезвреживании свободного аммиака, не только в создании резерва дикарбоновых аминокислот, необходимых для осуществления реакции ферментативного переаминирования, но также в стабилизации аспарагиновой и глутаминовой кислот и предохранении их от окисления путем амидирования.

Вместе с тем факт торможения глутамином окисления собственных субстратов суспензии и отличие его в этом смысле от аспарагина заставляет задуматься над различием физиологической роли этих двух амидов в растении. В свете полученных за последнее время данных о тесной связи обмена глутамина у микроорганизмов с их дыханием обнаруженный нами факт приобретает особый интерес и побуждает нас к его дальнейшей экспериментальной разработке.

Нас особо интересовал также вопрос о действии ферментных ядов на окисление аминокислот. В качестве субстрата для этих опытов, проводившихся по вышеописанной методике, мы воспользовались глутаминовой кислотой как аминокислотой, наиболее энергично окисляемой растительными тканями, а в качестве ферментного яда — цианидом. Полученные результаты представлены в табл. 3.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что окисление глутаминовой кислоты растительными тканями почти полностью угнетается синильной кислотой в концентрации 0,01 М. Именно при этой концентрации цианида Грин и сотр. ⁽⁹⁾ наблюдали полное угнетение активности выделенного ими из животных тканей препарата оксидазы *l*-аминокислот, представляющей собой производное флавина. Однако совершенно не ясна доля участия в окислении растительной клеткой аминокислот, с одной стороны, этого флавинового фер-

Таблица 3

Угнетение цианидом окисления
глутаминовой кислоты

Концентрация KCN	Поглощение O ₂ суспензией, мл	
	без глутаминовой кислоты	с глутаминовой кислотой
0,01 M	0,281	0,300

мента и, с другой, дыхательных пигментов В. И. Палладина⁽¹⁰⁾ и фенолазных систем, роль которых была столь убедительно продемонстрирована А. И. Опариним⁽¹¹⁾. Этот вопрос должен быть освещен дальнейшими экспериментальными исследованиями.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР и
Всесоюзный научно-исследовательский
институт хлебопекарной промышленности

Поступило
5 IX 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ T. Thunberg, *Ergebn. d. Enzymforsch.*, **7**, 163 (1938). ² B. Andersson, *Z. physiol. Chem.*, **217**, 186 (1933). ³ E. Adler, N. Das, H. Euler et H. Heyman C. R. *Trav. de laboratoire Carlsberg, sér. chim.*, **22**, 15 (1938). ⁴ M. Damodaran and K. Nair, *Biochem. J.*, **32**, 1064 (1938). ⁵ В Кретович, *Биохимия*, **7**, 232 (1942). ⁶ А. Смирнов и М. Мороз-Морозенко, *Тр. ВИТИМ*, в. 118 (1935). ⁷ А. И. Смирнов, *Физиолого-биохимич. основы обработки табачного сырья*, Краснодар, 1933. ⁸ K. Felix u. S. Naka, *Z. physiol. Chem.*, **264**, 123 (1940). ⁹ D. Green et al., *J. biol. Chem.*, **155**, 421 (1944); **161**, 583 (1945). ¹⁰ W. Palladin, *Z. Gärungsphysiol.*, **1**, 91 (1912). ¹¹ А. Опарин, *Журн. exper. биол. и мед.*, № 15 (1927).