

В. Л. КРЕТОВИЧ и З. Г. ЕВСТИГНЕЕВА

О ПУТЯХ СИНТЕЗА АСПАРАГИНА И ГЛЮТАМИНА В РАСТЕНИИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 25 III 1949)

Пути синтеза аспарагина и глутамина в растении до настоящего времени окончательно не выяснены. В прорастающем семени, повидимому, незначительная часть амидов образуется при гидролитическом распаде белков, но в основном, как это было показано Д. Прянишниковым⁽¹⁾, процесс образования амидов является процессом вторичного синтеза, тесно связанным с окислительно-восстановительными превращениями азотистых веществ. Во всех схемах предполагаемых путей синтеза амидов центральное место занимают α -кетоглutarовая и щавелевоуксусная кислоты. Эти кислоты, присоединяя аммиак, образовавшийся при дезаминировании аминокислот или поступивший через корневую систему, дают аспарагиновую или глутаминовую кислоту, которые являются уже непосредственными предшественниками амидов. Все схемы синтеза аспарагина и глутамина исходят из допущения синтезирующего действия аспарагиназы и глутаминазы, при действии которых на дикарбоновые аминокислоты и аммиак синтезируются аспарагин и глутамин⁽²⁾.

Однако имеющиеся данные не дают возможности решить, осуществляется ли синтез аспарагина и глутамина из соответствующих дикарбоновых аминокислот под влиянием одного и того же фермента или же эти ферменты представляют собою индивидуальные, специфичные системы. Из ряда растительных объектов были выделены ферменты, расщепляющие аспарагин и глутамин; в некоторых случаях они расщепляли только один какой-нибудь амид. Эти ферменты изучены совершенно недостаточно. Более подробно изучена глутаминаза, осуществляющая синтез глутамина в животном организме⁽³⁾.

При изучении синтезирующего действия амидаз в растительных тканях особенный интерес представляют данные, полученные с помощью метода вакуум-инfiltrации, позволяющего вводить непосредственные предшественники амидов в живые растительные ткани и затем учитывать накопление аспарагина и глутамина методом раздельного их определения (В. Кретович и З. Евстигнеева). Пользуясь этим методом, Мотес⁽⁴⁾ вводил в срезанные листья растворы аммонийных солей аспарагиновой и глутаминовой кислот. На основании этих опытов Мотес пришел к заключению, что при введении в листья глутаминовой кислоты синтезируется глутамин, а при введении аспарагиновой — аспарагин. Необходимо, однако, отметить, что экспериментальные данные Мотеса весьма противоречивы и не соответствуют его заключениям. Шваб⁽⁵⁾, также пользуясь методом вакуум-инfiltrации, вводил в срезанные листья аммонийные соли различных кислот. В противоположность Мотесу, он приходит к заключению, что образование амидов не зависит от аниона вводимой соли, и считает, что растение использует только введенный аммиак, а углеродный скелет строится в нем за счет других источников

и, следовательно, растение не может использовать вводимые в него остатки аспарагиновой и глютаминовой кислот на синтез соответствующих амидов. Как Мотес, так и Шваб считают, что синтез амидов осуществляется при действии соответствующих ферментов — аспарагиназы и глютаминазы, которые встречаются, как правило, во всех растениях одновременно. Шваб полагает, что различная активность аспарагиназы и глютаминазы в разных растениях является причиной существования растений с различным количественным соотношением накапливающихся амидов. Таким образом, сопоставляя соображения Мотеса и Шваба о путях синтеза амидов в растениях, мы видим, что они пришли к различным заключениям, несмотря на то, что оба пользовались одинаковым методом и исходили из предположения, что синтез амидов осуществляется путем обращения гидролитического действия аспарагиназы и глютаминазы.

Пользуясь методом вакуум-инfiltrации, разработанным Курсановым, мы исследовали синтезирующее действие амидаз при введении растворов аммонийных солей аспарагиновой и глютаминовой кислот в этиолированные проростки люпина и тыквы. В качестве объекта нами были взяты также колосья созревающей пшеницы, находящейся на стадии молочной спелости. При работе с колосьями мы использовали примененное А. Опариным и Н. Дьячковым (6) свойство срезанных колосьев весьма энергично насасывать растворы с транспирационным током. Выбрав соли аспарагиновой и глютаминовой кислот для введения в растение, мы исходили из предположения, что аспарагинат и глютаминат являются теми субстратами, на которых должно осуществляться синтетическое действие аспарагиназы и глютаминазы. Нами были взяты также растворы сернокислого аммония и аспарагината калия для более полного выяснения вопроса о роли катиона и аниона вводимых солей.

В проростки и колосья пшеницы испытываемые растворы вводились в концентрации 0,1 М с рН=7. После вакуум-инfiltrации проростки оставляли на 3 часа и затем фиксировали кипящим спиртом. Колосья также подвергались фиксации кипящим спиртом после засасывания в них соответствующих растворов в течение 18 час. Определение количества образовавшихся амидов производилось по упомянутому выше методу.

Результаты опытов с люпином представлены в табл. 1.

Таблица 1

Этиолированные проростки люпина

Растворы	Общий N в % на сух. вещ.	Небелковый N в %		Глютаминовый N в %		Аспарагиновый N в %	
		на сух. вещ.	к общ. N	на сух. вещ.	к общ. N	на сух. вещ.	к общ. N
Исходный материал	7,25	3,60	48,87	0	0	2,93	39,88
Вода	7,45	5,05	67,33	0	0	3,53	46,76
Аспарагинат NH ₄	8,02	6,35	79,12	0,07	0,90	4,39	56,10
Глютаминат NH ₄	7,77	5,60	72,02	0	0	4,01	51,64
Аспарагинат K	7,84	6,34	80,00	0	0	4,38	54,58
Сернокислый NH ₄	7,74	5,57	72,12	0	0	4,01	52,37

Из приведенных данных видно, что введение солей аспарагиновой и глютаминовой кислот практически не приводит к синтезу глютамина, в то время как количество аспарагина значительно возрастает. Кроме того, видно, что интенсивность накопления аспарагина зависит не только

от катиона вводимой соли, но также и от кислотного остатка. Необходимо особенно отметить, что наиболее интенсивное накопление аспарагина происходит при введении в проростки аспарагината аммония. Весьма интересно резкое изменение азотистого обмена при введении чистой воды — в тканях наблюдается заметное накопление амидов и небелковых азотистых соединений.

Опыты, проведенные с проростками тыквы, дали аналогичные результаты — в то время как введение аспарагината аммония приводит к накоплению аспарагина, введение глютамината аммония не вызывает увеличения количества глютамина (табл. 2).

Таблица 2

Этиолированные проростки тыквы

Растворы	Экспозиция, в час.	Небелковый N в %		Глютаминовый N в %		Аспарагино- вый N в %	
		на сух. вещ.	к общ. N	на сух. вещ.	к общ. N	на сух. вещ.	к общ. N
Вода	3 часа	1,73	28,3	0,18	2,86	0,22	3,51
Аспарагинат NH ₄	3 »	1,97	33,2	0,07	1,11	0,31	6,26
Глютаминат NH ₄	3 »	1,95	32,6	0,07	1,06	0,24	3,92
(NH ₄) ₂ SO ₄	3 »	1,94	31,7	0,14	2,00	0,23	3,78
Вода	6 час.	2,26	36,14	0,39	6,21	0,26	4,10
Аспарагинат NH ₄	6 »	3,00	41,84	0,34	4,67	0,40	5,62

Наконец, в табл. 3 представлены результаты опытов с колосьями пшеницы. Созревающий колос является органом, в котором обмен веществ имеет совершенно иной характер, чем обмен в этиолированных проростках. Так, при исследовании созревающей ржи Н. Недокучаев (7) показал, что содержание амидного азота в зерне даже на ранних стадиях формирования колоса весьма незначительно. Полученные нами данные показывают, что содержание аспарагина и глютамина в колосьях находится на очень низком уровне и что повысить существенным образом их абсолютные количества не удастся даже при введении аспарагината и глютамината аммония. Тем не менее, из данных табл. 3 очевидно, что при введении солей аспарагиновой и глютаминовой кислот происходит накопление аспарагина. Синтез глютамина не наблюдался ни в одном случае. Как видно из табл. 3, в опыте с колосьями, кроме растворов аспарагината и глютамината, мы вводили в качестве энергетического материала также глюкозу, но заметного изменения в накоплении амидов нам наблюдать не удалось.

Установленный нами весьма интересный факт заметного накопления небелкового азота и амидов при избыточном оводнении растительных тканей объясняется, по видимому, тем, что аспарагин и глютамин играют также роль регуляторов осмотических соотношений в растении. Вместе с тем данные табл. 3 показывают, что введение в колосья воды вызывает такое же изменение азотистого обмена, как и в опытах с проростками — количество амидов и небелкового азота заметно возрастает.

Таким образом, из всех приведенных данных можно видеть, что аспарагинат и глютаминат аммония ведут себя совершенно по-разному в смысле синтеза из них аспарагина и глютамина. В то время как аспарагин легко синтезируется при введении в ткани аспарагината аммония, образования глютамина из глютамината не происходит. По видимому, накопление аспарагина является результатом прямого синтетического действия аспарагиназы, в то время как синтез глютамина является более сложным процессом и идет принципиально совершенно

Созревающие колосья пшеницы

Растворы	Общий N в % на сух. вещ.	Белковый N в %		Глютаминовый N в %		Аспарагиновый N в %	
		на сух. вещ.	к общ. N	на сух. вещ.	к общ. N	на сух. вещ.	к общ. N
Исходный материал	2,05	0,28	13,66	0,01	0,10	0,02	0,72
Вода	2,00	0,36	18,05	0	0	0,05	2,52
Аспарагинат NH ₄	2,41	0,52	21,39	0	0	0,13	5,13
Глютаминат NH ₄	2,46	0,50	20,50	0	0	0,13	4,98
Глюкоза	2,08	0,30	14,56	0	0	0,04	1,86
Аспарагинат NH ₄ + глюкоза	2,25	0,37	16,67	0	0	0,05	2,32
Глютаминат NH ₄ + глюкоза	2,27	0,36	15,64	0,01	0,04	0,04	1,78

но иным путем, чем синтез аспарагина. По всей вероятности, синтез глютамина теснейшим образом связан с сопряженно протекающими окислительно-восстановительными реакциями.

Вместе с тем не исключена, хотя и менее вероятна, возможность того, что глютамин используется растительной клеткой с гораздо большей скоростью, чем аспарагин, и что именно поэтому не наблюдается накопления его при введении в ткани глютамината аммония. Во всяком случае, имеются указания на гораздо большую физиологическую лабильность глютамина по сравнению с аспарагином. Экспериментальное разъяснение этого вопроса является задачей наших дальнейших исследований.

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

Поступило
19 III 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Д. Прянишников, Азот в жизни растений и земледелии СССР, М., 1948.
² В. Кретович, Совещание по белку, М., 1948. ³ Н. Krebs, Biochem. J., 29, 1951 (1935). ⁴ K. Mothes, Planta, 30, 726 (1940). ⁵ G. Schwab, Planta, 25, 579 (1936). ⁶ А. Опарин и Н. Дьячков, Biochem. Z., 196, 19 (1928). ⁷ Н. Недокучаев, Изв. Московск. с.-х. ин-та, 2, 212 (1899).