

В. Л. КРЕТОВИЧ и А. А. БУНДЕЛЬ

ПЕРЕАМИНИРОВАНИЕ АСПАРАГИНОВОЙ И ГЛЮТАМИНОВОЙ КИСЛОТ В РАСТЕНИИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 18 IV 1949)

В настоящее время можно считать установленным, что дикарбоновые аминокислоты играют первостепенную роль в обмене веществ у растений (1). Их значение в обмене веществ растительной клетки определяется двумя обстоятельствами — участием в синтезе и превращениях таких важнейших метаболитов, какими являются аспарагин и глютамин, и их ролью в качестве донаторов аминогрупп при реакции ферментативного переаминирования (2).

Однако до настоящего времени распространено мнение о физиологической равноценности аспарагина и глютамина, а также аспарагиновой и глютаминовой кислот в растительном организме.

Между тем, целый ряд экспериментальных данных, полученных за последнее время, указывает на различное поведение этих двух аминокислот и их амидов в обмене веществ у растения. Так, В. Кретовичем и З. Евстигнеевой (3) в опытах с живыми растениями показано, что аспарагиновая и глютаминовая кислоты по-разному используются тканями для синтеза аспарагина и глютамина.

Вместе с тем В. Кретовичем и Т. Дроздовой (4) установлено, что глютаминовая кислота гораздо быстрее подвергается окислению гомогенизированными проростками, чем аспарагиновая. Пользуясь методом меченых атомов, Мак-Викар и Беррис (5) показали, что именно глютаминовая кислота, содержащаяся в растениях томата, получавших $(N^{15}H_4)_2SO_4$, отличалась от других аминокислот наибольшей концентрацией изотопного азота. Таким образом, вышеуказанные работы свидетельствуют о чрезвычайно большой физиологической подвижности глютаминовой кислоты в растительной клетке.

В связи с вышеизложенным большой интерес представляет сравнительное исследование интенсивности переаминирования в растении аспарагиновой и глютаминовой кислот с кетокислотами.

Данные, имеющиеся по этому вопросу в литературе, противоречивы. М. Крицман (6) при изучении переаминирования аспарагиновой и глютаминовой кислот с пировиноградной кислотой установила, что ферментативные препараты, полученные ею из растертых ростков гороха, более интенсивно осуществляли реакцию с аспарагиновой кислотой. Чедранголо и Каранданте (7) наблюдали в экстрактах из семян и проростков наличие ферментативного переаминирования аспарагиновой и глютаминовой кислот с пировиноградной кислотой. Однако полученные ими данные ненадежны вследствие несовершенства применявшейся ими методики и не дают возможности сравнить интенсивность переаминирования аспарагиновой и глютаминовой кислот. Виртанен и Лайне (8),

работавшие с кашицей из ростков гороха, обнаружили более интенсивное ферментативное переаминирование в системе глутаминовая кислота + пировиноградная кислота, чем в системе аспарагиновая кислота + пировиноградная кислота.

Задачей данной работы было сравнение интенсивности переаминирования аспарагиновой и глутаминовой кислот при реакции с пировиноградной кислотой.

Предварительные опыты были проведены по описанной нами ранее методике ⁽¹¹⁾ с растертыми этиолированными проростками люпина длиной 12—15 см при длительности опыта 1 час 30 мин., 37° и рН = 8,7. Были получены следующие результаты (табл. 1).

Таблица 1
Образование аланина в растертых проростках люпина

	Аланин в мг на 10 г сух. вещ.
Исходный материал	31,3
Добавлено: вода	44,8
аспарагинат аммония + + пируват аммония	50,9
глутаминат аммония + + пируват аммония	60,2

Из этих данных видно, что глутаминовая кислота в тканевых кашках подвергается переаминированию с большей интенсивностью, чем аспарагиновая кислота.

Нас особенно интересовало исследование этой реакции в живых растениях. Единственная работа по изучению переаминирования в зеленых растительных тканях проведена Раутаненом ⁽⁹⁾. Однако она представляет собой лишь краткое предварительное сообщение, без указания объектов и условий опытов.

Мы в нашем исследовании воспользовались разработанным А. Курсановым ⁽¹⁰⁾ методом вакуум-инfiltrации. Соответствующие растворы (0,1 М) вводились в этиолированные проростки кукурузы, которые после infiltration оставались на 24 часа. Полученные в этом опыте данные приведены в табл. 2.

Таблица 2
Образование аланина в проростках кукурузы

Инfiltrировались	Аланин в мг на 10 г сух. вещ.
Вода	7,05
Пируват аммония	15,61
Пируват аммония + аспарагинат аммония	22,66
Пируват аммония + глутаминат аммония	27,82

Из табл. 2 очевидно, что синтез аланина в живых проростках кукурузы происходил интенсивнее при инфильтрации глютаминовой кислоты. Подобные же опыты были проведены нами с проростками гороха, с тем отличием, что экспозиция после инфильтрации субстратов была равна 3 час. Опыт с горохом проводился в двух вариантах — инфильтрация производилась: 1) в проростки с неотделенными семядолями и 2) в проростки без семядолей. Результаты этого опыта приводятся в табл. 3.

Таблица 3
Образование аланина в проростках гороха

	Аланин в мг на 10 г сух. вещ.	
	проростки с семядолями	проростки без семядолей
Без инфильтрации (исходные проростки)	0,95	2,00
Инфильтрировались:		
вода	1,28	6,00
пируват аммония	1,88	7,35
аспарагинат аммония + пируват аммония	3,54	8,19
глютаминат аммония + пируват аммония	5,38	9,09

Полученные данные также указывают на более интенсивное переаминирование глютаминовой кислоты по сравнению с аспарагиновой.

Кроме того, следует отметить, что переаминирование и прямое аминирование пирувата аммония протекают гораздо интенсивнее в проростках, лишенных семядолей. Таким образом, очевидно, что в ростках концентрация аланина и интенсивность ферментативного переаминирования значительно выше, чем в семядолях.

Особый интерес представляло выяснение вопроса о наличии и интенсивности переаминирования в созревающем колосе. Известно, что в нем происходит непрерывное превращение в белок небелковых азотистых соединений и что значительную долю последних составляют аминокислоты (12). Вместе с тем, В. Кретовичем, А. Бундель и Ж. Успенской показано, что созревание зерна и затухание интенсивности синтеза белка в нем сопровождаются одновременным понижением концентрации дикарбоновых аминокислот. В наших опытах мы пользовались колосьями пшеницы на стадии молочной спелости (влажность 56,6%). Соответствующие субстраты вводились в них путем засасывания с транспирационным током по способу, примененному А. Опариным и Н. Дьячковым (13). Концентрация применявшихся растворов 0,1 М, продолжительность засасывания 20 час. Определение дикарбоновых аминокислот и аланина производилось по предложенным нами ранее методам (14, 11). Полученные результаты приведены в табл. 4.

Из данных табл. 4 совершенно очевидно, что, несмотря на одинаковую скорость засасывания растворов дикарбоновых аминокислот в колосья, образование аланина при одновременном засасывании с пируватом глютаминовой кислоты заметно повышается, в то время как ускорения этого процесса под влиянием аспарагината обнаружить не удается. Вместе с тем бросается в глаза слабая интенсивность переаминирования

в колосе. Опыты, проведенные нами ранее с колосьями, находившимися на стадии восковой спелости, показали, что в них процесс переаминирования идет чрезвычайно медленно, и аналитические данные находятся в пределах ошибки опыта.

Таким образом, все наши опыты указывают на большую интенсивность переаминирования в системе глутаминат + пируват по сравнению с системой аспарагинат + пируват.

Таблица 4

Образование аланина в созревающем колосе пшеницы

	Дикарбоновые аминокислоты в мг на 1 г сух. вещ.	Аланин в мг на 10 г сух. вещ.
Исходный материал	0,63	2,82
Инфильтрировались:		
вода	1,18	3,94
пируват аммония	1,25	3,98
аспарагинат аммония + пируват аммония	1,82	3,74
глутаминат аммония + пируват аммония	1,98	6,12

Имеется указание Когена и Гекуиса ⁽¹⁵⁾ на то, что в животных тканях реакция глутаминат + шавелевоуксусная кислота \rightleftharpoons кетоглутаровая кислота + аспарагинат протекает как в прямом, так и в обратном направлении несравненно интенсивнее, чем взаимодействие дикарбоновых аминокислот с пируватом. Задачей наших дальнейших работ является исследование этой реакции в живых растительных тканях. Повидимому, благодаря именно этой реакции в растении с большой легкостью осуществляются взаимные превращения аспарагиновой и глутаминовой кислот, а следовательно, также аспарагина и глутамина.

Нельзя не отметить интересного факта повышения содержания аланина, а также дикарбоновых аминокислот при избыточном оводнении тканей, имеющем место при вакуум-инфильтрации и насыщении воды с транспирационным током. В. Кретовичем и З. Евстигнеевой ⁽³⁾ уже отмечалось значительное повышение содержания небелкового и амидного азота под влиянием избыточного оводнения растительных тканей. Все эти данные указывают на весьма существенную роль взаимных превращений белка и небелковых соединений в регулировании осмотических соотношений в растительной клетке.

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

Поступило
18 IV 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ В. Кретович, Совещание по белку, 1948, стр. 239. ² А. Браунштейн, Усп. совр. биохим., **1**, 40 (1947). ³ В. Кретович и З. Евстигнеева, ДАН, **66**, № 3 (1949). ⁴ В. Кретович и Т. Дроздова, ДАН, **63**, 167 (1948). ⁵ R. Mac Vicar and R. Burris, J. Biol. Chem., **176**, 511 (1948). ⁶ М. Крицман, Биохимия, **4**, 699 (1939). ⁷ F. Cedrangolo e G. Carandante, Boll. Soc. Ital. biologia sperim., **15**, 482 (1940). ⁸ A. Virtanen и Т. Laine, Biochem. Z., **308**, 213 (1941). ⁹ N. Rautanen, J. of Biol. Chem., **163**, 687 (1946). ¹⁰ А. Курсанов, Обратимое действие ферментов в живой растительной клетке, 1940. ¹¹ В. Кретович и А. Бундель, ДАН, **59**, 1595 (1948). ¹² В. Кретович, Физиолого-биохимические основы хранения зерна, 1945. ¹³ А. Опарин и Н. Дьячков, Biochem. Z., **195**, 289 (1928). ¹⁴ В. Кретович и А. Бундель, ДАН, **61**, 861 (1948). ¹⁵ P. Cohen and I. Nékhuiz, J. Biol. Chem., **140**, 711 (1941).