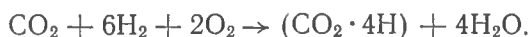


Е. А. БОЙЧЕНКО и В. И. БАРАНОВ

**ФОТОРЕДУКЦИЯ УГЛЕКИСЛОТЫ, МЕЧЕННОЙ С¹⁴,
ХЛОРОПЛАСТАМИ ВНЕ КЛЕТКИ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 15 V 1953)

При осуществлении отдельных реакций фотосинтеза вне живых клеток оказалось труднее добиться восстановления углекислоты, чем выделения кислорода. Долгое время это никому не удавалось. Однако за последние годы появился ряд работ из разных лабораторий, в которых было описано усвоение углекислоты, меченной С¹⁴, изолированными хлоропластами. В первой из этих работ (1) было показано усвоение углекислоты изолированными хлоропластами в темноте в атмосфере водорода. Необходимая энергия при этом из окисления водорода по способу хемосинтеза:



Вскоре затем было описано и фотохимическое усвоение углекислоты вне клеток. При освещении изолированных хлоропластов на воздухе с добавлением пиридин-нуклеотидов или некоторых других веществ отмечалась фиксация радиоактивной углекислоты препаратами, превышающая усвоение ее в тех же условиях в темноте (2, 3). В опытах, проводившихся вместо воздуха в азоте на свету, также было обнаружено усвоение углекислоты хлоропластами, в этом случае даже без добавления других веществ (4).

Фотохимическое усвоение углекислоты изучалось нами на изолированных хлоропластах белого клевера и примулы. Так как опыты проводились в анаэробных условиях, восстановление углекислоты не сопровождалось выделением кислорода, оно происходило по способу фоторедукции:



Опыты проводились в водороде и азоте, без кислорода и с добавлением его небольших количеств, в темноте и на свету (около 2500 люксов).

Приведенные в табл. 1 данные показывают усвоение углекислоты, содержащей 0,08% С¹⁴О₂, в процентах от сухого веса хлоропластов. В отсутствие кислорода в атмосфере водорода усвоение углекислоты на

Таблица 1

Влияние кислорода на усвоение С¹⁴О₂ хлоропластами
(2,5% С¹⁴О₂, температура 20°, 1 час)

| Условия | Усвоено С ¹⁴ О ₂ в вес. % | |
|-----------------------------|----------------------------------------------------|----------|
| | в темноте | на свету |
| В водороде | 0,011 | 0,032 |
| + 1,25% кислорода | 0,067 | 0,015 |
| + 2,5% кислорода | 0,033 | 0,014 |
| + 5,0% кислорода | 0,021 | 0,011 |
| В азоте | 0,004 | 0,0003 |

свету было почти в 3 раза больше, чем в темноте. Добавление 1,25% кислорода в темноте усиливало усвоение за счет одновременно идущего окисления водорода по способу хемосинтеза. Дальнейшее повышение процента кислорода уже подавляло усвоение.

В отличие от темноты, на свету даже и небольшое добавление кислорода действовало отрицательно. Следовательно, необходимая энергия получалась в данном случае не из темновых окислений. В этом отношении фоторедукция у хлоропластов напоминает фотосинтез бактерий. На свету фотосинтезирующие бактерии не нуждаются в кислороде; в темноте же для усвоения углекислоты этим бактериям необходимо окисление с участием кислорода.

Особый интерес представляют опыты с хлоропластами в атмосфере азота, в которых на свету усвоение углекислоты очень слабое сравнительно с опытами в атмосфере водорода. Это подтверждает высказывавшееся ранее предположение, что для фотохимического восстановления углекислоты необходима среда, близкая по восстановительным свойствам к молекулярному водороду (5). Различие с азотом состоит в том, что водород не только предохраняет хлоропласты от окисления, но и участвует в самом восстановлении углекислоты. В темноте в атмосфере азота не могло происходить восстановление углекислоты автотрофным способом, так как не вносилось веществ, которые могли быть использованы при хемосинтезе, и тем не менее в

темноте обнаружено усвоение углекислоты, хотя сравнительно небольшое. Оно могло происходить только гетеротрофным способом, при участии входящих в состав хлоропластов органических веществ. Следовало по возможности разграничить это поглощение углекислоты от автотрофных усвоений в водороде. С этой целью были проведены опыты с гидроксил-амином.

Из литературных данных известно, что при концентрации 10^{-3} М гидроксил-амин не мешает прохождению анаэробных реакций восстановления углекислоты в клетках водорослей (6), но препятствует переходу водорослей к фотосинтезу с выделением кислорода, подавляя участвующие в аэробных реакциях ферментные системы. В опытах вне клеток эта концентрация гидроксил-амина почти не оказывала действия на фотохимическое и хемосинтетическое восстановление углекислоты в водороде, но резко подавляла темновое усвоение ее в азоте. Таким образом, получалось как бы исключение гетеротрофной фиксации, осуществляемой здесь с участием подавляемых гидроксил-амином ферментов.

Эти опыты указывают на неоднородный характер усвоения углекислоты в азоте и водороде. Одновременно ими подтверждается автотрофный характер реакции в водороде.

Какие количества углекислоты могут быть в настоящее время усвоены изолированными хлоропластами? К сожалению, в цитированных выше работах, выполненных, главным образом, на хлоропластах шпината, не приводится данных по усвоению углекислоты в весовых процентах, в них указывается лишь количество усвоенной углекислоты в микромолях на миллилитры суспензии хлоропластов. Эти данные приблизительно соответствуют тому усвоению, которое наблюдалось нами в атмосфере азота и было значительно ниже результатов, получаемых в водороде.

После окончания опытов и кипячения хлоропластов в течение 2 мин.

Таблица 2

Влияние гидроксил-амина на усвоение C^*O_2 хлоропластами

(2,5% C^*O_2 , температура 20°, 1 час)

| Условия | Усвоено C^*O_2 в вес. % | |
|----------------------------------|---------------------------|----------|
| | в темноте | на свету |
| В водороде | 0,006 | 0,029 |
| + 1,25% кисло- рода | 0,056 | 0,017 |
| В азоте | 0,0003 | 0,0005 |

с дистиллированной водой измерялась радиоактивность вытяжки и нерастворимого остатка. Однако полученные таким способом результаты превышают данные о количестве прочно усвоенной углекислоты, так как при последующей обработке соляной кислотой часть непрочно связанной углекислоты теряется хлоропластами. Эта непрочно связанная углекислота описывалась в работах с листьями высших растений как первичный продукт фотосинтеза (7).

Все цифры, приведенные нами в табл. 1 и 2, относятся к результатам после обработки соляной кислотой. При сравнении их с цифрами табл. 3 видно, что в опытах вне клеток за 1 час происходит почти полное насыщение изолированных хлоропластов, дальнейшая выдержка уже мало увеличивает процент усвоенной углекислоты. Разница между опытами в течение 1 часа и 16 час. заключалась, главным образом, в том, что в последних большая часть радиоактивности наблюдалась в не переходящих в водную вытяжку веществах (8). Для выяснения вопроса, имеет ли здесь место только карбоксилирование или же и восстановление углекислоты в другие группы, были проведены опыты с декарбоксилированием продуктов, содержавших C^{14} .

Декарбоксилирование проводилось нагреванием при 260° сухих бариевых солей, получившихся осаждением водной вытяжки из хлоропластов хлористым барием. Этим методом в карбоксильных группах бариевых солей была обнаружена только часть находящегося в них C^{14} . Следовательно, здесь имело место уже более полное восстановление углекислоты.

Результаты внеклеточного усвоения углекислоты хлоропластами в опытах в темноте близки к аналогичным данным для целых растений. В опытах же по фоторедукции с изолированными хлоропластами получают результаты, сходные с фоторедукцией у клеток водорослей после длительного предварительного анаэробнозиса, когда усвоение углекислоты проходит раз в 12 слабее обычного. В дальнейшем мы намеряем путем изучения работы ферментных систем при различном ходе фоторедукции подыскать условия, которые дали бы возможность полностью воспроизвести вне клеток фотохимическое восстановление углекислоты.

Институт геохимии и аналитической химии
им. В. И. Вернадского
Академии наук СССР

Поступило
6 III 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. П. Виноградов, Е. А. Бойченко, В. И. Баранов, ДАН, 78, 327 (1951). ² L. Tolmash, Arch. Biochem., 33, 120 (1951). ³ W. Vishniac, S. Ochoa, J. Biol. Chem., 195, 75 (1952). ⁴ E. Fager, Arch. Biochem., 37, 5 (1952). ⁵ Е. А. Бойченко, Вестн. АН СССР, № 10, 55 (1951). ⁶ Е. Рабинович, Фотосинтез, М., 1951. ⁷ Н. Г. Доман, ДАН, 84, 1017 (1952); 85, 607 (1952). ⁸ Л. А. Незговорова, ДАН, 79, 537 (1951); 86, 853 (1952).

Таблица 3
Количество усвоенной $C^{14}O_2$
в процентах к весу
хлоропластов
(2,5% $C^{14}O_2$, температура 20° , 16 час.)

| Условия | В темноте $H_2 + 1,25\%$ O_2 | На свету H_2 |
|-----------------------------|--------------------------------------|-------------------|
| После кипячения с H_2O . | 0,175 | 0,1 |
| После обработки HCl . . . | 0,07 | 0,04 |