

Е. А. БОЙЧЕНКО и В. И. БАРАНОВ

УЧАСТИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ЖЕЛЕЗА В ФОТОРЕДУКЦИИ УГЛЕКИСЛОТЫ ИЗОЛИРОВАННЫМИ ХЛОРОПЛАСТАМИ

(Представлено академиком А. П. Виноградовым 3 II 1954)

При восстановлении изолированными хлоропластами на свету углекислоты, меченной C^{14} , наблюдались большие колебания в активности отдельных препаратов. В одинаковых условиях опытов способность хлоропластов к восстановлению сильно изменялась при выделении их из растений в разные месяцы или даже в разные недели одного месяца. Опыты проводились в водороде или азоте с 2,5% C^*O_2 при температуре 20° при освещении от 2500 до 40 люксов. Лучшие результаты были получены при освещении меньше 100 люксов, после предварительной адаптации хлоропластов в анаэробных условиях. Но и в этих опытах были обнаружены колебания активности в десятки раз (см. табл. 1).

Таблица 1

Усвоение C^*O_2 хлоропластами на свету

Препараты	Усвоение C^*O_2 в вес. %		$\frac{a}{b}$
	наибольшее (a)	наименьшее (b)	
Хлоропласты из белого клевера . . .	0,032	0,0005	64
Хлоропласты из примулы	0,040	0,0005	80
То же + „фермент“ .	0,2	0,004	50

Эти колебания сильно затрудняли проведение опытов. Например, сравнение влияния внешних условий (содержание C^*O_2 , температура, свет и др.) было возможно только с хлоропластами, выделенными из растений в одно время (1, 2). Выяснение причины разной активности препаратов указало бы путь для увеличения количества восстанавливаемой углекислоты. Ранее в нашей лаборатории было обнаружено участие железа в образовании первичных продуктов восстановления (3), поэтому были проведены его определения в препаратах хлоропластов с разной активностью. Определения железа проводились колориметрическим методом с роданистым калием, до и после обработки хлоропластов 0,01 M соляной кислотой (4). В целых хлоропластах все железо находилось в органических соединениях. В случае распада хлоропластов на части содержание этого железа резко уменьшалось, но такие препараты и не употреблялись в опытах. Между тем сильные различия в активности наблюдались у хлоропластов с почти одинаковыми количествами железа (см. табл. 2).

Так, хлоропласты, выделенные из белого клевера 17 VI, были мало активны к восстановлению углекислоты, выделенные 15 VIII отличались средней активностью, а выделенные 11 IX были наиболее активны, хотя и с меньшим содержанием железа, чем предыдущие. Из примулы хлоропласты от 1 IX были очень активны, а от 7 IX — почти с тем же содержанием железа, но средне-активны; выделенные 29 IX были очень активны, а от 26 XII с тем же содержанием железа — мало активны. Кроме приведенных здесь примеров, были проведены, десятки определений железа в разных препаратах хлоропластов, но установить зависимость колебаний их активности от содержания железа не удалось.

Таблица 2

Содержание железа в хлоропластах

Препараты	Дата выделения	Содержание Fe после 0,01 N HCl в %	
		к хлоропластам	к их золе
Хлоропласты из белого клевера . . .	17 VI	0,21	4,9
	15 VIII	0,43	6,2
	11 IX	0,27	5,1
Хлоропласты из примулы	1 IX	0,41	4,6
	7 IX	0,45	5,2
	29 IX	0,30	6,6
	26 XII	0,30	5,1

Так как наибольшей активностью обладали хлоропласты, которые при выделении были менее тщательно отмыты от раствора, отсутствие активности могло объясняться утратой каких-то необходимых веществ. Добавление их к хлоропластам могло бы значительно увеличить восстановленные углекислоты. Фагер ⁽⁵⁾ наблюдал увеличение фотохимической фиксации углекислоты хлоропластами при добавлении к ним препарата «фермента», полученного осаждением 60% ацетоном желтоватого раствора, остающегося после отделения пластид. Добавление такого «фермента» к хлоропластам в наших опытах увеличивало восстановление ими углекислоты в пять и более раз.

Наибольшее значение усвоенной при этом на свету углекислоты составляло 0,2% от веса препаратов. Это на много превышает все известные из литературы данные для опытов вне клеток. При кипячении препаратов после опытов с 80% этиловым спиртом около 90% радиоактивности оставалось в осадке. При кипячении же их с водой почти все продукты восстановления C^*O_2 , содержавшие меченый углерод, переходили в раствор. В опытах в темноте в присутствии «фермента» усвоение C^*O_2 было раз в 20 меньше, чем на свету.

Однако и при добавлении препаратов «фермента» на свету были обнаружены сильные колебания в восстановлении углекислоты. Поэтому проводилось сравнительное изучение активных и мало активных препаратов. При перерастворении «фермента» из 60% ацетона, подкисленного 0,01 N соляной кислотой, около 80% первоначального осадка переходило в раствор. Этот раствор при получении как из активных, так и из мало активных препаратов давал реакцию на углеводы с альфа-нафтолом, на кетозы, слабое порозовение с резорцином, оливковое окрашивание с орцином и особенно яркую реакцию с нафторезорцином. Но красное окрашивание здесь не переходило равномерно в бензол, а собиралось в виде хлопьев на грани двух слоев. В оставшихся после обработки соляной кислотой осадках «фермента» определялось железо (см. табл. 3).

Добавляемая к хлоропластам фракция состояла, таким образом, в значительной части из полиуронидов плюс остаток с высоким содержанием органических соединений железа, приближавшейся по содержанию железа к геминам. Это подтверждало ранее высказанное предположение об участии ферментов, в состав которого входит железо, в образовании первичных продуктов восстановления углекислоты при фотосинтезе (3).

Фракция «фермента» похожа на комплекс, отделяемый от хлоропластов кипячением с водой, как по содержанию полиуронидов, так и по высокому проценту органических соединений железа. Нами было установлено, что восстановление C^*O_2 без добавления «фермента» проходит лучше у тех изолированных хлоропластов, где больше находится комплекса. Вероятно, дело идет об одном и том же очень лабильном ферментном факторе, либо остающемся частично на хлоропластах после выделения их, либо вносимом дополнительно. От него зависят колебания способности к восстановлению углекислоты изолированными хлоропластами.

Этот «фермент» способен фиксировать C^*O_2 и в отсутствие хлоропластов (около 0,008% от веса), но в их присутствии на свету усвоение ее увеличивается в десятки раз. Образовавшиеся продукты некоторое время находятся вблизи «фермента» и относятся к воднорастворимым веществам, дающим красное окрашивание с нафторезорцином. Вышеописанное восстановление C^*O_2 вне клеток по цветным реакциям, растворимости, легкой адсорбируемости и другим свойствам напоминает образование первичных продуктов фотосинтеза в целых растениях, изучавшееся А. М. Кузиным и Н. Г. Доманом (6, 7).

Усвоение изолированными хлоропластами на свету меченой углекислоты до 0,2% от их веса при участии выделенного из растений препарата «фермента» с высоким содержанием железа открывает путь для непосредственного изучения химии участвующих в фотосинтезе металл-содержащих ферментов.

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

Поступило
2 II 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. П. Виноградов, Е. А. Бойченко, В. И. Баранов, ДАН, 78, 327 (1951). ² Е. А. Бойченко, В. И. Баранов, ДАН, 91, 339 (1952). ³ Е. А. Бойченко, ДАН, 64, 545 (1949); ДАН 70, 1037 (1950). ⁴ K. Noack, H. Liebich, Naturwissenschaften, 29, 302 (1941). ⁵ E. Fager, Arch. Biochem., 37, 5 (1952). ⁶ А. М. Кузин, Н. Г. Доман, ДАН, 72, 77 (1950). ⁷ Н. Г. Доман, ДАН, 93, 115 (1953).