

植物的氮素代谢及其调节

北京大学生物系

1981年6月

目 录

一 植物的氮源

二 生物固氮作用

1. 固氮生物类型
2. 固氮作用的生物化学
3. 研究生物固氮的意义

三 硝酸盐的还原

1. 硝酸还原酶
2. 亚硝酸还原酶
3. 有机含氮化合物的形成

四 氨基酸的合成

1. 脂肪族氨基酸的合成
2. 芳香族氨基酸的合成
3. 硫酸盐的还原和含硫氨基酸的合成

(以上内容见教材)

五 核苷酸的合成

1. 嘧啶核苷酸的合成
2. 嘌呤核苷酸的合成
3. 核苷酸合成的其他途径

六 核酸和蛋白质的合成及其调节

1. 核 DNA 及其转录
 - (1) 核 DNA 含量
 - (2) 高等植物核 DNA 的性质

1

1

4

8

10

12

12

13

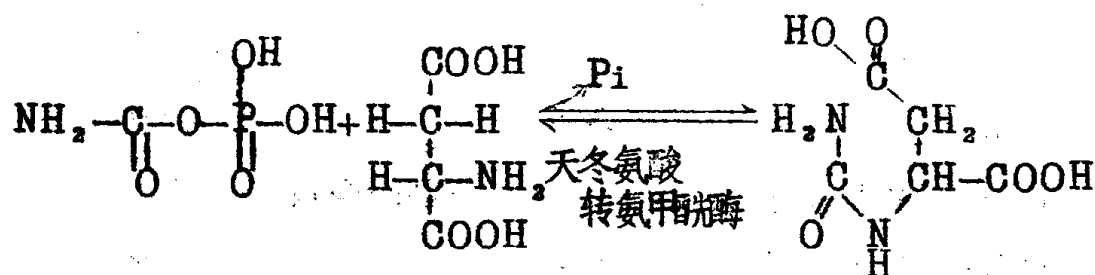
(3) DNA的转录	1 5
(4) RNA的合成	1 6
2. 细胞质中蛋白质的合成	1 9
(1) 多聚核苷酸	1 9
(2) 无细胞系统的蛋白质合成	2 0
3. 叶绿体中蛋白质的合成	2 1
(1) 细胞器自主性的概念	2 1
(2) 叶绿体的 DNA	2 3
(3) 叶绿体 DNA 聚合酶和 RNA 聚合酶	2 6
(4) 叶绿体蛋白质的合成	2 6
(5) 叶绿体中的主要蛋白质	3 0
(6) 部分 I 蛋白和叶绿素 a/b 蛋白的合成	3 4
4. 豆科植物种子蛋白的生物合成	4 0
(1) 豆类贮存蛋白合成的机制	4 0
(2) 在分子水平上对贮存蛋白合成的控制与调节	4 1
5. 高等植物中酶活性的调节	4 4
(1) 酶量的控制	4 4
(2) 时间和空间的修饰和控制	4 8
(3) 高等植物中基因表达的光控制	5 3
七 核酸的分解	6 1
1. RNA 的降解	6 1
2. 嘌呤和嘧啶的降解	6 3
八 蛋白质和氨基酸的分解	6 6
1. 蛋白质的分解	6 6
2. 氨基酸和酰胺的分解	6 7
3. 尿素的分解	7 2
九 自然界的氮素循环	7 3

五 核苷酸的合成

1. 嘧啶核苷酸的合成

由标记前体和酶学上的研究表明尿苷酸和胞苷酸的生物合成是依下述步骤进行的。在嘧啶的生物合成中起始反应的化合物是天冬氨酸和氨甲酰磷酸。在植物中氨甲酰磷酸来自谷氨酰胺、碳酸氢盐和 ATP。

氨甲酰磷酸与天冬氨酸反应形成 N-氨甲酰天冬氨酸，反应由天冬氨酸转氨甲酰酶催化。N-氨甲酰天冬氨酸再由脱氢乳清

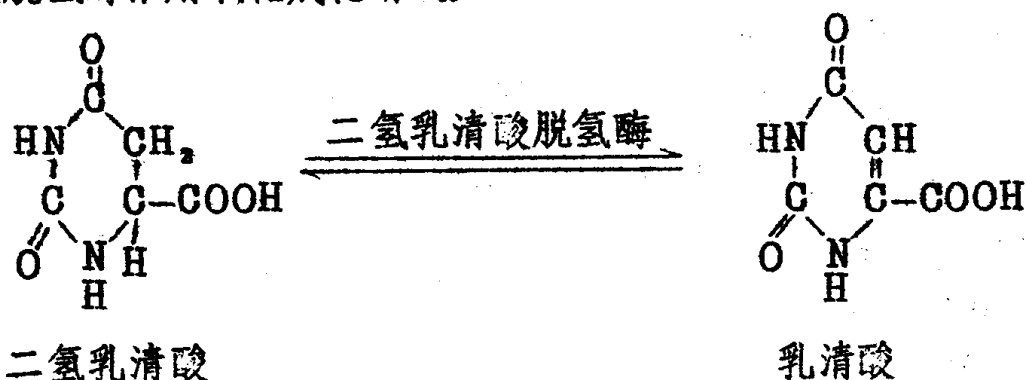


氨甲酰磷酸

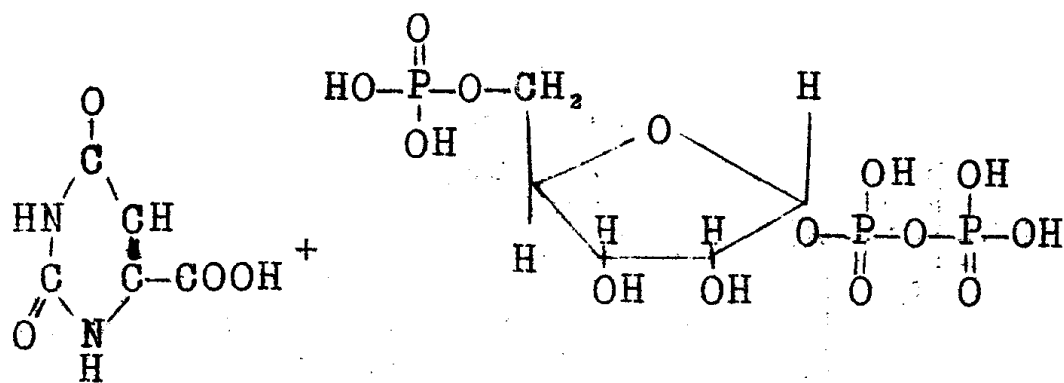
天冬氨酸

N-氨甲酰天冬氨酸

酸酶催化脱水产生二氢乳清酸。二氢乳清酸由 NAD-二氢乳清酸脱氢酶作用氧化成乳清酸。

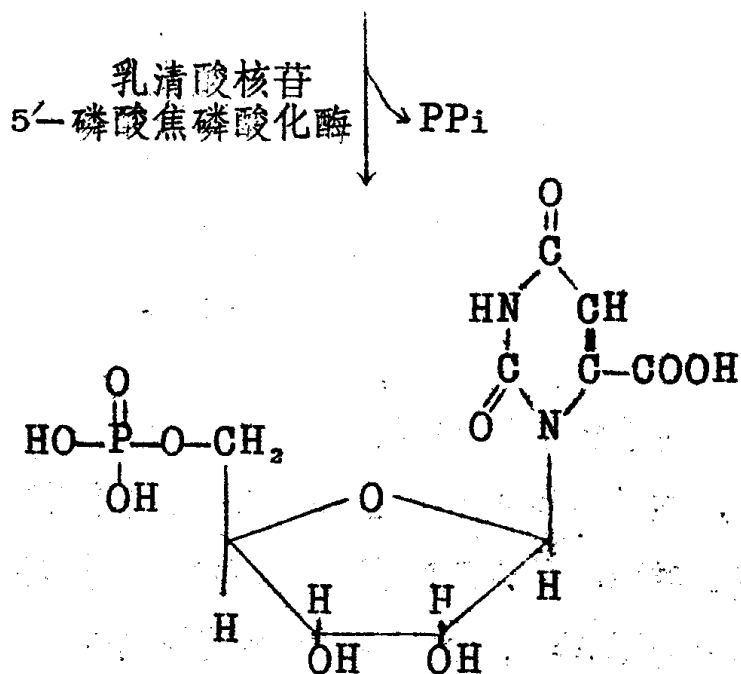


乳清酸在乳清酸核苷-5'-磷酸-焦磷酸化酶催化下与磷酸核糖焦磷酸中的 5'-磷酸核糖结合形成乳清酸核苷-5'-磷酸。



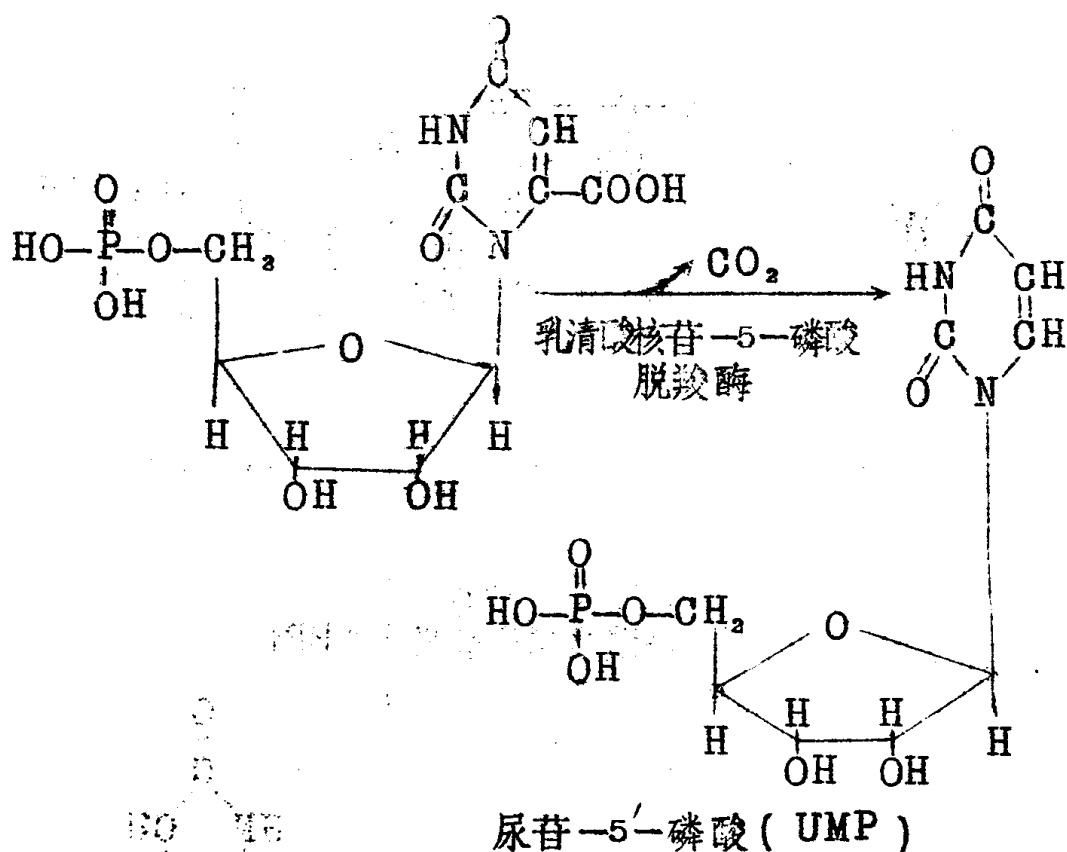
乳清酸

5'-磷酸核糖-I-焦磷酸

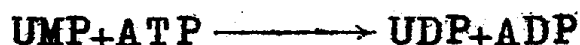


乳清酸核苷-5'-磷酸 (乳清苷酸, OMP)

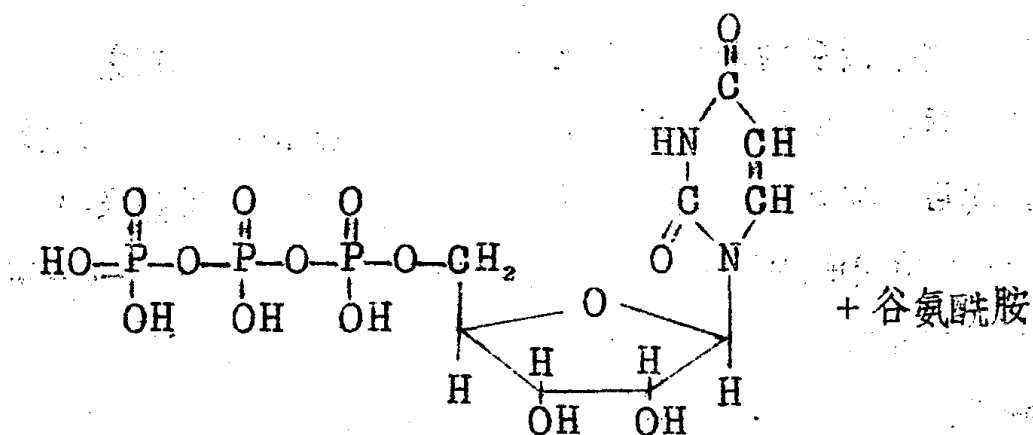
乳清酸核苷-5'-磷酸由其脱羧酶的作用下脱羧产生尿苷-5'-磷酸。



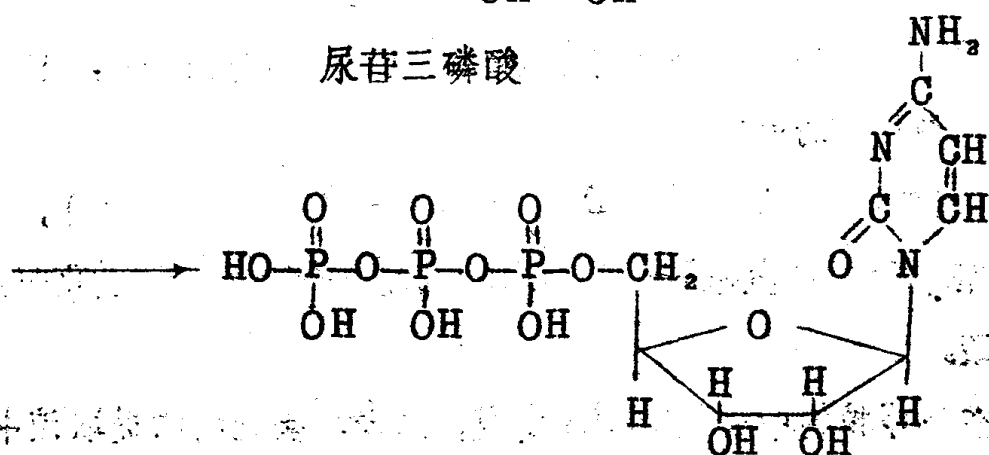
由尿嘧啶核苷酸转变成胞嘧啶核苷酸要在尿苷三磷酸水平上进行，在动物和细菌中在尿苷酸激酶的作用下尿苷一磷酸转变成尿苷三磷酸，尿苷三磷酸于嘧啶的6'位上氨化形成胞苷三磷酸，反应中需要ATP，谷氨酰胺作为氨基的来源。



虽然这些反应中的酶没有在植物中发现，但在植物中尿嘧啶衍生物可迅速的转变成胞苷酸看来这一途径是存在的。



尿苷三磷酸



胞苷三磷酸

2. 嘌呤核苷酸的合成

用细菌和动物研究的嘌呤的合成见图 1。核糖 5'-磷酸接受 ATP 的磷酸焦磷酸化形成磷酸核糖焦磷酸。再在氨基转移酶催化下磷酸核糖焦磷酸与氨基供体反应形成磷酸核糖胺。在植物中氨基供体有天冬酰胺、谷氨酰胺和氨甲酰磷酸。天冬酰胺最有效。在 ATP 和甘氨酸核苷酸合成酶存在下磷酸核糖胺与甘氨酸反应形成甘氨酸核苷酸。在反应中甘氨酸的羧基与磷酸核糖胺的胺基反应形成酰胺。

甘氨酸核苷酸可自 N^6N^{10} -甲川四氢叶酸得到甲酰基转变成 N -甲酰甘氨酸核苷酸。此后，谷氨酰胺的酰胺基在 ATP 的参与下转移到 N -甲酰甘氨酸核苷酸上形成 N -甲酰甘氨酸

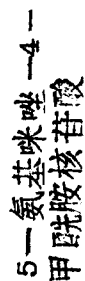
核苷酸。这个最后的产物除去水产生 5-氨基咪唑核苷酸。

5-氨基咪唑核苷酸再羧化产生 5-氨基咪唑-4-羧酸核苷酸。此后，在 ATP 参与下加入天冬氨酸形成 5-氨基咪唑-4-N-琥珀酸甲酰胺核苷酸，它再转变成 5-氨基咪唑-4-甲酰胺核苷酸和延胡索酸。在核苷酸的 5 氨基上再接受 N^{10} 甲酰四氢叶酸的甲酰基产生 5-甲酰胺基咪唑-4-甲酰胺核苷酸。在此产物中再除去 1 分子的水最后形成次黄嘌呤核苷酸，它是腺苷酸和鸟苷酸的前体。

次黄嘌呤核苷酸被 NAD 氧化成黄嘌呤核苷酸（图 2），在 ATP 存在下以谷氨酰胺作为氨基受体使黄嘌呤核苷酸氨化形成鸟苷酸。

在高等植物中这些酶均已发现。此外，在植物的提取液中还存在甘氨酰胺核苷酸，在叶酸代谢抑制剂存在时积累这种物质说明在植物中嘌呤是依此途径合成的。用标记的甘氨酸和 5-氨基-4-咪唑甲酰胺实验，它们迅速的掺入嘌呤核苷酸，这一点也充分说明嘌呤确是依此途径合成的。

注意甘氨酸、天冬氨酸和谷氨酰胺的关键作用。



5-甲酰氨基咪唑
4-甲酰胺核苷酸

次黃嘌呤核苷酸

5-氨基咪唑-4-N-琥珀酸
甲酰胺核苷酸

3. 核苷酸合成的其它途径

在贮存种子萌动时或细胞成份正常逆转时核酸和核苷酸可以降解产生核苷和游离碱基。这些产物可以进一步的降解或中转换成其他核苷酸。在植物中用标记的嘧啶和核苷研究的结果见图3。

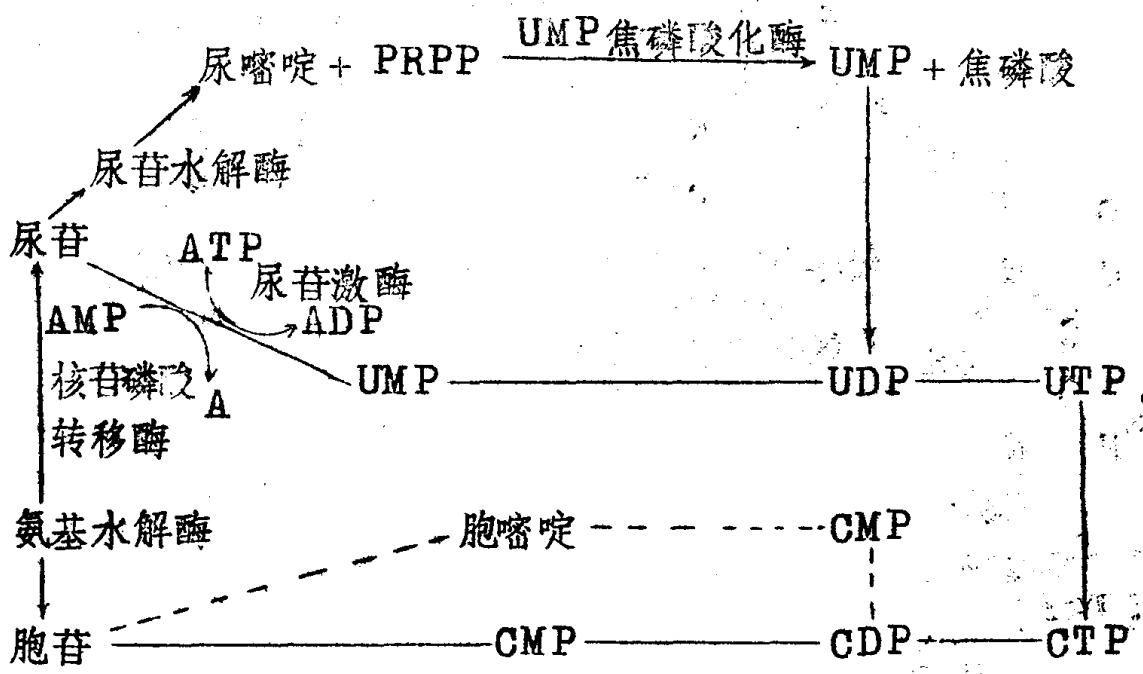
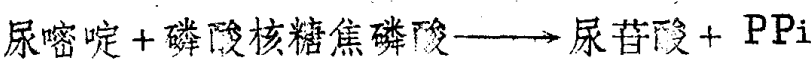


图3 高等植物中嘧啶碱基、核苷和核苷酸的相互转化

在植物中不能使标记的尿嘧啶转变成尿苷，用植物提取液研究也没有发现尿苷磷酸化酶，此酶在动物和细菌中可正常的催化尿苷转化。在植物中外源的尿嘧啶可迅速的掺入尿苷酸，这种转化有磷酸核糖焦磷酸和尿苷酸焦磷酸化酶参加，后者在植物中发现。



由特异的水解酶可使尿苷转化成尿嘧啶和核糖，也可由尿苷

激酶转变成尿苷酸。这种磷酸化作用也可由非特异的核苷磷酸转移酶进行，此酶由AMP作为磷的供体。



UMP转变成UTP是由核苷酸激酶催化的。

胞苷可以直接磷酸化转变成CTP，其中包括核苷和核苷酸激酶或核苷磷酸转移酶代替核苷酸激酶，但没有确定。此外，胞苷也可由脱氨酶（氨基水解酶）转变成尿苷。此酶对脱氧胞苷也有活性，但对相应的核苷酸没有活性。由脱氨酶的作用产生的尿苷可以转化成UTP，UTP也能再产生CTP。没有确定胞苷如何转变成胞嘧啶的，也没测到胞苷酸焦磷酸化酶的活性。

外源的标记腺嘌呤和腺苷在植物中很容易掺入ATP中（图4），腺苷可以通过激酶磷酸化或转变成腺嘌呤，后者是由特异的腺苷水解酶催化的。此酶也水解脱氧腺苷，但不能作用于肌。腺嘌呤向腺苷的转化没有确定。

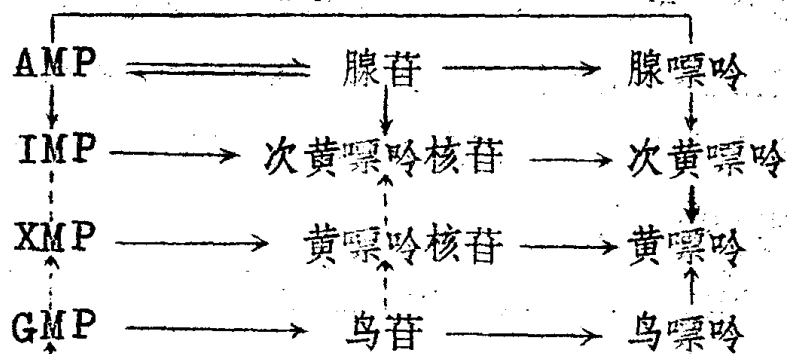


图4 嘌呤衍生物之间可能的转化。实践是由酶学的和标记研究的实验确定的

由酶学实验表明在腺苷酸焦磷酸化酶作用下腺嘌呤可直接转变成腺苷酸。



在一些植物组织中标记的腺苷可以转变成次黄嘌呤核苷，而在另一些组织中则是自腺苷酸脱氨产生次黄嘌呤核苷酸。在有些种中腺嘌呤可以转变成次黄嘌呤；次黄嘌呤可以氧化成黄嘌呤，这是由黄嘌呤氧化酶催化的。然而这种酶在高等植物中是否存在还没有定论。

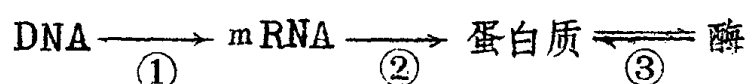
鸟嘌呤衍生物要少于腺嘌呤的衍生物。在豌豆幼苗中鸟苷酸除了转变成鸟苷外，鸟嘌呤也可形成 β -2, 6-去羟嘧啶丙氨酸。在一些组织中鸟嘌呤可转变成尿酸，也可脱氨成黄嘌呤。然而，转化中的这些酶没有在高等植物中被确定。

六 核酸和蛋白质的合成及其调节

一切细胞活动都是由细胞核内所贮藏的遗传物质所决定的，在一定程度上也是由质体和线粒体内所贮藏的遗传物质决定的。DNA的核苷酸顺序给遗传信息编码，遗传信息表达的一般概念通常以下列方式表示：



“中心法则”说DNA内所含的信息，仅仅是由基因的最终产物表达的，这种产物就是蛋白质，其中大多数具有酶的性质。基因的表达可在三个环节上被调节，即基因的转录、mRNA的翻译和酶活性的调节，可用下式图式表示：



其中的编号即为转录、翻译和酶的活化和钝化的三个控制点。

关于基因表达的调节的主要假说来自细菌中控制酶水平的发现。1961年 Jacob 和 Monod 提出给专一的酶蛋白编码的基因（结构基因）的活性是由其他基因控制的，它们称为调节基因。调节基因给一种特殊的蛋白质编码，这种蛋白称为阻抑剂，它们能与 DNA 的一个区域（操纵基因）相互作用，操纵基因与结构基因的起始端相邻。阻抑剂与操纵基因相结合则抑制相邻的结构基因转录，这部分结构基因与操纵基因称为操纵子。还认为阻抑蛋白能与一种或几种分子量低的效应剂结合，效应剂又能改变阻抑蛋白与操纵基因结合的能力，能与阻抑剂结合并阻止其与操纵基因结合的效应剂称为诱导剂，诱导剂通常是代谢途中第一个酶的底物。促进与操纵基因结合从而抑制或阻遏酶的合成的效应剂称为辅阻抑剂，通常是反应途中的产物。如图 5 所示，这一假说精彩地解释了酶的诱导形成和酶形成的停止（酶的阻遏）。但不清楚的是这些概念在多大程度上适用于真核生物体的基因表达及其调节。因真核生物中的 DNA 比原核生物的 DNA 多得多，比估计的结构基因的数目也多得多，这些额外的基因可能与调节有关，此外，在真核生物中转录部位（在核内）与翻译部位（在细胞质内）的分离也创造了更多的调节机会。

植物分子生物学的一个非常重要方面，也是植物所特有的方面，就是叶绿体中贮藏着很多遗传信息。叶绿体 DNA 的编码潜力比线粒体 DNA 的大得多得多，高等植物其全部蛋白的一大部分是由叶绿体的基因组编码的。与此有关的调节过程必定是高度复杂的，这里的基因表达有些必须包括三个细胞区域，即核、细胞质和叶绿体中转录和翻译的共同操纵。

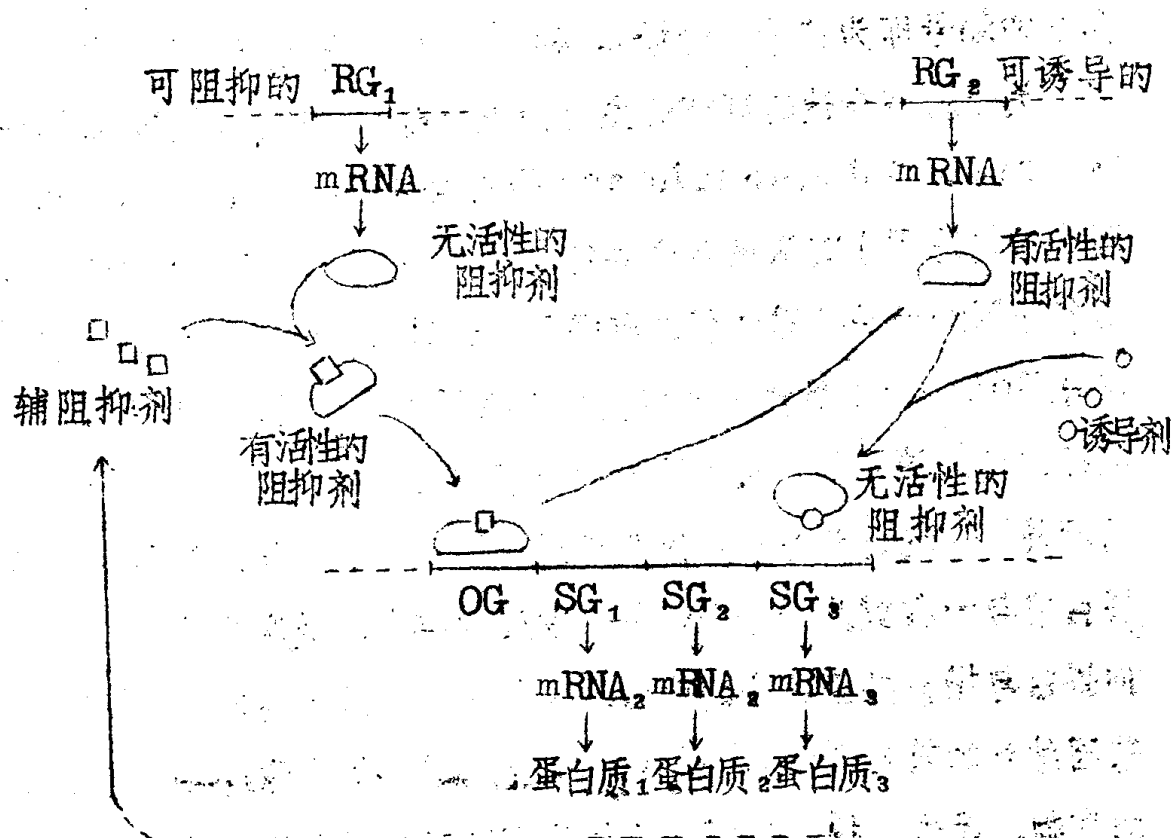


图5 基因调节的可诱导系统模型。RG为结构基因，OG为操纵基因，SG为结构基因。

1. 核DNA及其转录

(1) 核DNA含量

表1比较了许多种高等植物核DNA与低等生物DNA含量。从这一比较可得到两个结论。第一，并不意外的是高等植物含有的DNA比细菌和真菌多得多。例如，豌豆DNA为大肠杆菌DNA的1000倍；第二，不同高等植物DNA含量之间可差100倍。并且染色体的数目与DNA含量之间没有相关。有些植物含有的DNA为哺乳动物的20倍，而至今一般认为哺乳动物是更为复杂的一类生物，所以看来，核DNA的量与生物的复杂性也没有直接关系。

如果以DNA含量较低的植物基因组来计算，它的DNA量为 2×10^{12} 道尔顿，假定平均大小的多肽的mRNA密码所需基因

的分子量为 10^6 道尔顿, 那么这种基因组在原则上就代表 2×10^6 个基因, 可是实际上要比这少得多, 更现实的估计是实际上只有 1% 的 DNA 为蛋白质编码。

过去认为一个种的每个细胞核 DNA 含量是恒定的, 然而这种恒定性的规律也不是不可违反的。我们看到了一个非常动人的观察: 如果把亚麻放在一定的氮肥和磷肥的营养条件下, 其核 DNA 的量是可变的, 而这种含量的变化是稳定的和可遗传的。虽然实验肯定了这种现象的存在, 然而并不知道它的普遍性如何。

(2) 高等植物核 DNA 的性质

已知分子量为 2.9×10^9 道尔顿的完整大肠杆菌基因组含有一个大约长 1 毫米的环状 DNA 分子。而在高等植物细胞中 DNA 的总量相当于 1 米长, 但目前还不知它是由多少个 DNA 分子组成的。

在细菌中 G + C 的百分含量约为 30% - 70%, 而大部分植物 DNA 中的 G + C 约占 35 - 45%, DNA 的浮力密度与 G + C 含量有关:

$$G + C \text{ 含量} \% = \frac{\text{浮力密度} (g \cdot cm^{-3}) - 1.660}{0.098} \times 100$$

由于浮力密度不同, 因此可用密度梯度离心将不同碱基组成的 DNA 分开。高等植物的大多数核 DNA 其浮力密度在 $1.69 - 1.71 g \cdot cm^{-3}$ 范围以内。

特定生物的 DNA 在氯化铯中常常形成一个均匀的带。这条带的宽度依赖于密度梯度的陡度、DNA 的分子量和 DNA 不同区域碱基组成的区别。在大多数植物中基因组的某些区域碱基的组

表1 各种生物的DNA含量

属和种	DNA含量(10^{-12} g/2c核)	属和种	DNA含量(10^{-12} g/细胞)
有花植物		真菌	
紫露草	89.0	酱油曲霉	0.088
紫鸭跖草	70.0	沟巢曲霉	0.044
郁金香	51.5	面包霉	0.017
葱	45.4	细菌 DNA含量(10^{-12} g/细胞)	
洋葱	33.5	枯草杆菌	0.070
蚕豆	28.7	伤寒沙门杆菌	0.011
菊	26.8	大肠杆菌	0.009
黑麦	18.9	噬菌体 DNA含量(10^{-12} g/每个)	
黑麦草	9.9	T_4	0.000025
向日葵	9.8	T_5	0.000018
豌豆	9.1	T_1	0.000007
大叶落地生根	6.7		
窄叶野蚕豆	6.1		
蕃茄	3.9		
萝卜	3.1		
西葫芦	2.6		
白羽扇豆	2.3		
亚麻	1.4		