

植物生理学译丛

第三輯

中国科学院植物生理研究所編

上海市科学技术編译館

植物生理学译丛

第三辑

中国科学院植物生理研究所編

*

上海市科学技术编译館出版

(上海南昌路59号)

商务印书館上海厂印刷 新华书店上海发行所发行

*

开本 787×1092 1/16 印张 5 字数 155,000

1965年7月第1版 1965年7月第1次印刷

印数 1-1,900

編号 16·296 定价(科七) 0.75元

目 录

植物水分状况研究的几点总结及应当进一步研究的若干问题·····A. M. Алексеев	1
植物体中氨基酸合成的若干方面及其有关问题·····A. I. Virtanen	6
酰胺和肽键的生物合成·····G. G. Webster	12
高等植物组织中的呼吸机制和控制·····D. P. Hackett	19
植物线粒体的生物化学功能·····Н. М. Сисакян 和 И. М. Мосолова	29
培养的植物细胞的生长和发育·····F. C. Steward	41
植物在营养生长期对环境因素的反应·····G. E. Blackman	49
控制果实生长和形状的因素·····L. C. Luckwill	61
用化学药剂改变植物的生长·····N. E. Tolbert	66
叶绿素代谢及其与光周期现象、内在昼夜节奏和红光-远红光 反应系统的关系·····K. Mitrakos	70
谷类芒的生理功能·····F. J. Grundbacher	75

植物水分状况研究的几点总结及 应当进一步研究的若干问题

Алексеев, А. М.

«Водный режим растений в связи с обменом веществ и продуктивностью» АН СССР, 1963, 23~32 [俄文]

以植物的总含水量来表征水分状况的尝试确定了下列重要概念:持水量、水分平衡、水分亏缺(中午亏缺和剩余亏缺)以及持水能力。植物持水能力的测定是基于应用各种脱水办法和测量组织中称为束缚水的剩余水量。常用的脱水办法有:高渗溶液、冷冻、在空气中干燥(加热和不加热)。

应当特别强调指出,比较各种植物体的持水能力时,只有应用力量相同的脱水办法才有可能,因为所采用的脱水力量越大,则植物体内所保持的水分就越少。对上述情况估计不足,乃是各研究者在关于束缚水量在植物水分状况中的意义的观点上发生分歧的基本原因。例如,И. И. Туманов^[12]曾在 -100°C (甚至 -195°C)低温条件下冷冻白杨枝条,发现此时枝条中只剩下吸着水,这种吸着水逐渐转变成冰。但在 -20°C 低温条件下,同一白杨枝条中却持有23.5%未冻结的水分。

J. Lewitt^[17]发现,生长于渗透压为132.2大气压的培养液中的黑曲霉(*Aspergillus niger*)菌丝体中,束缚水含量为28.5%。P. Kramer^[16]指出,木本植物的束缚水含量高于草本植物;冬季高于夏季;旱地生长的植物高于湿地生长的植物。最后,他断言,束缚水在种子、芽孢以及在植物其他风干部分中起着重大的作用,但是,对于旺盛生长的植物,其作用并不显著。

D. Greenberg等^[15]否认束缚水有任何生理意义。另一方面, A. Crafts等^[7]和Д. А. Сабинин^[18]倾向于植物体内全部水分在某种程度上都呈束缚态这个观点。Сабинин的根据是:原生质是一种在水中呈有限膨胀的胶体系统,这种系统中的全部水分都呈束缚状态。

要想分析持水能力就必须利用胶体化学和生物化学的规律。决定亲水胶体水合作用过程的重要性具有最重大的意义,因为这种规律被认为是植物组织持水能力的基础。

必须指出,在“水合作用”一词的用法上还有些

不明确之处。在外国文献中,“水合作用”这个术语常被理解为植物体内水分的总含量,而不分自由水和束缚水^[16, 17, 18, 19, 21]。我们认为,应当避免这么广泛地应用水合作用这个概念,必须把它理解为仅仅是束缚水的含量。同时,还必须区别“水合作用”(或“总水合作用”)与“化学水合作用”这两个概念。所谓水合作用是指物质微粒所“束缚”的水分,不管这种束缚取决于那种力量;只有当水分是被分子力(静电水)束缚的情况下,才称为化学水合作用。因此,前一概念的含义比后一概念广泛。化学水合作用是放热过程,当形成内层,特别是单分子层时,释放出最大热量(约2000卡/水克分子量);而当形成扩散层即外水层时,则热量的释放要少得多。与化学水合作用相反的过程,即脱水作用,乃是吸热过程。

亲水胶体微粒的化学水合作用是由构成微粒粒的分子的水合作用所造成。它可能是表层的,也可能是内层的。在前一种情况下,位于微粒粒表面的活性基发生化学水合作用(称为“微粒粒的”水合作用)。在后一种情况下,由于高聚物(由链式分子组成)微粒粒的疏松结构,水分便渗入微粒粒中,并引起位于微粒粒内部的分子活性基发生化学水合作用(即所谓交换水合作用)。化学水合作用在一定情况下可能导致微粒粒的解体(提高分散度),有时使它一直解体到分子,即使它溶解。化学水合作用所束缚的水分,在密度、介电常数、冰点温度等性质上

与自由水不同。И. И. Туманов^[12]的意见,只有化学水合作用所束缚的水量才表征着胶体的亲水性。

在不同物质的离子、分子和微粒粒的系统中,化学水合作用过程将由上述所有粒子的水合作用组成。这种情况在原生质中最为明显。离子和分子所束缚的水分可称为渗透束缚

化学水合作用只是水合作用过程的一部分。高聚物的胶体微粒不仅可通过化学水合作用过程吸收

水分,而且也可通过其他途径。这里又可以区别以渗透方式的吸水和水的固定。前者能以胶体物质巨分子内部存在着的低分子部分来解释。这一部分能溶于水。因此,每一个胶体微粒乃是一种网孔粒子,孔内存在着可溶性部分,造成渗透压并引起水分向微胶粒内部渗入。当然,水分以此种途径渗入,只有当分散介质中水的活性高于其在巨分子中的活性时才有可能,水分的渗透性吸收并不伴随着发热效应,但引起胶体微粒体积的增大。

胶体系统中,水分的固定可解释为:由于高聚物巨分子的疏松结构,在构成巨分子的线状链发生运动和弯曲时,水分可能被巨分子机械地夺取。这个过程就是固定过程,即水分被复杂结构的几何学夺取的过程。有时把通过此种途径所固定的水分,称为“结构束缚水”^[8]。以这种途径吸收水分并不伴随热效应的发生,也不引起微粒体积的增大。

巨分子以上述三种方式(化学水合作用、渗透、固定)所吸收的水量,构成它们的水合作用(“总水合作用”或“总含水量”)。根据上述情况,当折合为单位干重胶体时,可说明胶体的水合作用程度(水合作用数)和化学水合作用程度(化学水合作用数);这就是水合作用的指标。

亲水的高聚物胶体微粒可以不通过化学水合作用吸收水分的事实,可由下列情况加以证实:1)并不是全部水分被微胶粒吸收时都释出热能(只有化学水合作用才是放热过程);2)溶胶的渗透压超过相当于其分析浓度的渗透压;3)溶胶粘度随胶体物质浓度之提高而增大的程度超过浓度的提高程度,也就是与浓度之提高不成比例。在上述情况下,溶胶浓度较分析浓度增高,说明溶胶中部分水分被固定于胶体微粒之内,已经不能起溶剂的作用(即所谓不溶性的体积),结果,同量物质是溶于比较少量体积的水中;于是,其浓度较之分析浓度要高。

根据上述资料,可以作出结论,通过测定溶胶的粘度或渗透压所获得的,被胶体微粒所吸收的水量,不仅仅相当于化学水合作用所束缚的水量,而且相当于胶体微粒的总水合作用。

只要将胶体系统中水分呈不同状态的概念与现代关于蛋白质巨分子结构的观点联系起来,前一概念便可以更加具体化。Д. Л. Талмуд^[11]所提出的蛋白质巨分子结构的假说尽管存在着一定的缺点,

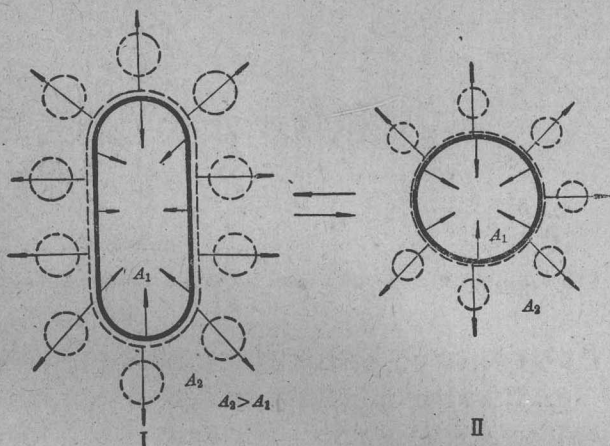


图1 蛋白质巨分子结构简图

I—强水合作用状态; II—弱水合作用状态
(解释见正文)

但还是最符合现代资料的。根据他的假说,组成氨基酸链式分子的疏水性侧链彼此紧缩及压缩成团状(成“小球”)的原因。疏水性侧链由于不发生水合作用(或者发生微弱的水合作用)*,因而具有剩余的自由能。这些侧链彼此之间的内聚力测定为每克分子量的最小球状分子具50千卡。疏水性侧链形成小球中心——小球的核,这好象是“碳氢化合物微滴”(图1中,小球内箭头表示疏水性侧链)。具有明显亲水性和沿着主要原子价键(它在核周围卷成螺旋状)排列的肽键,则形成核的表面层,这就是小球的外壳。图1中是小球的切面,仅仅表明多肽链的一个螺旋形。虚线表示小球表面的束缚水水层。小球外层为侧链,后者有着总的、最终的亲水性(图1中,以小球外部的箭头表示侧链),它们与水的内聚力高于与小球核的内聚力。图1中以虚线圆圈表示侧链所束缚的水分。这就是 Талмуд^[11]所提出的蛋白质小球的模型图。根据上述资料,可以得出结论,小球之存在乃是由两种相反作用的力(即疏水基的水合作用力和内聚力)的相互关系所决定的。

疏水性侧链的相互作用力图把多肽链卷缩成球形,而亲水性侧链与溶剂的相互作用则力图解开这个球形物。结果,溶胶中蛋白质巨分子并不是呈正常的球形,而是或多或少有点伸长。当链式分子捻开(即使是局部地捻开)时,巨分子结构发生松散,于是,巨分子能机械地吸入水分;蛋白质巨分子内部发生水分的固定作用。

С. М. Липатов^[8]指出,在高聚物胶体的溶胶中总是具有低分子部分,这是由于在与水相互作用

* 这里系指化学水合作用——原注

的影响下胶体发生局部分离(分解)所产生的(正如上面所指出的交换化学水合作用)。低分子部分由于积聚于蛋白质巨分子的内部,故能使水分通过渗透途径吸入。假使低分子这一部分积聚于分散介质之中,则它将阻碍水分渗透性地进入巨分子之内。

在蛋白凝胶体中,由于低分子之间的内聚力,它们的聚结作用以及内部结构的骨架的出现,事情变得更为复杂。由于内部结构骨架的存在,蛋白凝胶体具有一定的弹性和结构粘度。同时,蛋白凝胶体中存在着巨分子之间的窄小空隙,在这些空隙中可以通过机械途径保持水分。因此,在蛋白凝胶体中水分的固定,可能既发生于巨分子内部,也发生于巨分子之间的空隙中。

在这些空隙之中的水分,不是纯净的,因为其中可能还含有蛋白凝胶体本身的低分子部分以及其他物质。因此便出现水分不仅渗透性地被吸进蛋白质巨分子内部(上面已经谈及),而且也被吸进巨分子之间的空隙中的可能性。

应当进一步指出蛋白质巨分子内部多肽链之间以及巨分子本身之间的键是具有不同的性质。前者通过疏水性侧链来实现,而后者则通过亲水性外链来体现。后一种键较不牢固,而且当外部侧链化学水合作用加强时,其牢固性应更加减弱。图2示出蛋白凝胶体的结构。凝胶体吸收水分称为吸胀。根据现代概念,亲水胶体的吸胀过程是由两个阶段组成。其中一个阶段为胶体微粒化学水合作用的放热过程,另一个阶段为水分的渗透性吸收过程。

从上面所说可以清楚看出,化学水合作用与吸胀乃是两种不同的过程,这两个术语不能用作同义

词。但在Д. А. Сабинин^[9]的书中,以及其他外国研究者如H. Bull^[13], P. Kramer^[16], J. Serra^[20], C. Stocking^[21]等常把它们当作同义词。如果化学水合作用和吸胀不是同一的过程,则不可能将它们彼此进行比较,化学水合作用乃是吸胀过程的组成部分之一,即其第一阶段的实质。水分的渗透性吸收及其固定是吸胀的第二阶段,这个阶段并不伴随热量的释放。同时,蛋白质分子的疏水基在蛋白凝胶体吸胀过程中起着重大的作用,因为疏水基产生了能决定着凝胶体牢固性及其有限吸胀的吸引力。

正如上面已经指出的,胶体微粒的化学水合作用,可能具有交换水合作用的性质,而且也可能引起胶体微粒的分解,这种状况可以解释下列事实,即交换吸胀对于高聚物是典型的,并且应当把它看作为聚集-分散的过程。吸胀始终由凝胶体一定程度的溶解相伴随。

根据上述胶体化学的概念可得出结论:植物体内可能存在着各种状态的水分。近几年来,这个概念在植物生理学界中流行很广^[1, 5, 10]。

但是,应当指出许多研究者的概念有一定的片面性。从事植物水分状况研究的工作者,在运用渗透束缚水、胶体束缚水及水合作用这些概念时,没有注意到细胞胶体吸胀的整个过程,仅仅考虑其个别的组成部分,而忽略了整体。我认为今后在解释植物水分状况问题时,必须把吸胀过程提到第一位,这将表征着解释这些问题的新阶段。

现在援引应用上述方法的若干例子。

Н. А. Гусев^[2]在研究春小麦叶片水分各种状态的昼夜动态时,发现中午时刻叶片自由水含量与蒸腾作用强度成明显的负相关。又发现不牢固的束缚水含量与蒸腾作用强度成正相关。还曾经确定胶体水合作用程度与气温成负相关。更有趣的是白天最炎热时刻,叶片中束缚不牢固的束缚水含量最大。

现在来看一下,对于这些有趣的观察可以如何用原生质胶体吸胀变化的观点来解释(参阅图2)。中午时刻,被叶片充分吸收的辐射能,应当减弱蛋白质巨分子化学水合作用的过程。因此,蛋白质巨分子的疏水基吸引力的作用增高。巨分子内部机械压力的增高,势必提高处于其中的水分的活性,引起水分外渗。中午时刻细胞

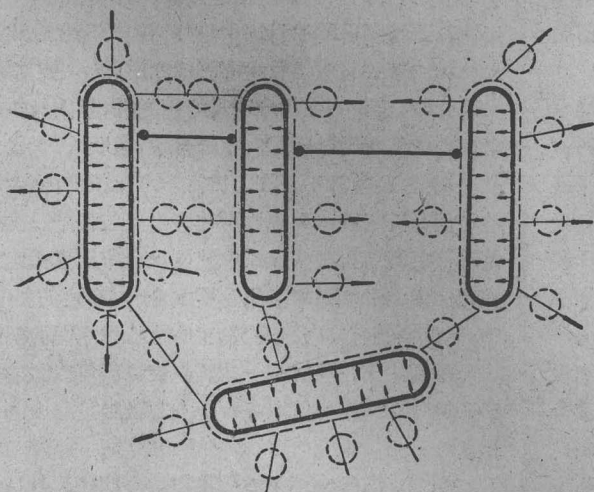


图2 吸胀状态的蛋白凝胶体的结构简图(解释见正文)

液渗透压的不断增高,也将促进这种现象。这一切的总结果是巨分子的水合作用(总水合作用)减低。由于蛋白质巨分子彼此结合的侧链含有许多亲水基,故能量的输入势必也引起它们的局部脱水,结果吸引力增大,发生蛋白质巨分子彼此之间靠紧以及巨分子之间所固定的部分水分被排除。

由于叶片中发生上述种种过程的结果,自由水量应当增高。但是没有观察到这种现象,由于水分活性的梯度较大,以致加强了水分通过叶面以蒸汽状态向大气散发。同时,由于在受热的影响下的某种程度的解集作用导致各别蛋白质巨分子结构的松散,于是叶片中束缚得不牢固的束缚水(固定水分)含量略有增加,Н. А. Гусев 曾经指出过这种现象。

根据上述试验资料,还不能作出关于在中午受热的影响下原生质蛋白质巨分子解集作用程度的结论,因为对原生质结构粘度的变化尚未进行过测定。

А. М. Алексеев, Г. И. Советова 和 С. Д. Самоделкина (1959)的试验指出,受热可能引起原生质结构性粘度发生显著的变化。试验用洋葱鳞茎小块鳞片表皮进行。按 Northen 氏法测定原生质的结构粘度。所得资料表明,原生质结构粘度与温度(5~35°C 范围内)之关系,可以用最高点在 25°C 的单峰曲线来表示。原生质结构粘度的温度曲线的这种历程,取决于蛋白质巨分子疏水基之间的化学水合力与吸引力的比例。随着温度的升高,联结蛋白质巨分子的侧链的化学水合作用程度便降低,这就增大吸引力的作用并引起蛋白质巨分子彼此之间的靠近,使它们发生聚集作用和提高原生质的结构粘度。

在高温条件下,原生质的吸胀具有交换胶溶性吸胀的性质,这种吸胀伴随着结构的破坏和结构粘度的降低。

根据前面援引的例子可以看出,在解释植物水分状况及原生质中结构的变化时,可以成功地利用与高聚物亲水胶体吸胀过程有关的概念。然而在这一方面还需开展更进一步的研究。从前面援引的资料也可以看出,在解释原生质水分状况的复杂问题时,还必须求助于生物化学,特别是蛋白质化学。遗憾的是,在这条途径上却存在着十分巨大的困难。

头一个困难在于测定各种化合物在参与细胞水分状况时所起作用的大小。以细胞中胶体束缚水含量为例加以说明。胶体束缚水含量具有一种代表广度或容量的特性,它决定于被细胞各个胶体成分所束缚的水量的总和。被细胞各个胶体成分所束缚的

水量又决定于这种成分的含量及其水合作用程度(水合作用数),这是上述两值的乘积。

上述情况可用下列方程式表示:

$$K = a_1 M_1 + a_2 M_2 + a_3 M_3 \dots \quad (1)$$

式中: K 为细胞中胶体束缚水总量, a_1 为第一种胶体成分水合作用数, M_1 为其含量; a_2 为第二种胶体成分水合作用数, M_2 为其含量,等等。

显然, $M_1 + M_2 + M_3 \dots$ 的总和等于细胞胶体干重(C)。以 C 除方程式(1)各项值,则得:

$$\frac{K}{C} = a_1 \frac{M_1}{C} + a_2 \frac{M_2}{C} + a_3 \frac{M_3}{C} \dots \quad (2)$$

这里, $\frac{K}{C}$ 值就是细胞胶体水合作用程度的总和,而 $\frac{M_1}{C}$, $\frac{M_2}{C}$, $\frac{M_3}{C}$ 等等,则表示细胞胶体系统各个成分的重量百分比(克)。细胞整个胶体系统水合作用程度的总值是此种胶体系统的强度特性,正如从方程式(2)可以看出的,它并不取决于胶体系统各个成分之含量,而是取决于其重量百分比。

根据方程式(1)和(2),我们可以实验性地测定 K , C , M_1 , M_2 , M_3 诸值,但还不能测定 a_1 , a_2 , a_3 等数值,因为目前还没有能测定细胞条件下各个胶体的水合作用数的方法。但是,在实验条件下,此 K 值或 K/C 值之变化与 M_1 , M_2 , M_3 等诸值之变化作一比较,我们借助于相关分析法便可计算出细胞各种胶体物质(例如,蛋白质、纤维素、半纤维素等等)对胶体束缚水总量或者对细胞胶体水合作用总程度影响的百分比。相应的相关系数的符号和数值便可作为指标。用同样方法,我们在一定程度上也可以查明各种胶体物质参与植物水分状况时所起作用的大小,目前只能满足于这一点。

在不同年份所进行的试验中,均发现水合作用总程度的变化与原生质主要胶体物质(蛋白质和有机磷化物)含量的变化成密切的正相关,然而与细胞壁主要胶体物质(纤维素,半纤维素,果胶质)含量变化之相关,通常却不存在。按常理可以预料,原生质的特别易变的胶体系统的影响应当更为强烈。上述情况使我们有权根据组织中胶体水合作用总程度之变化作出关于细胞的活原生质水合作用性质的结论,也使我们有权利来讨论“原生质水合作用”的变化。

近几年来,曾发表一些资料使我们可以讨论分子分散物质在原生质水分状况及其吸胀过程中的作用。

Д. А. Сабинин^[9] 首先提出这个问题。他认为分子分散物质在原生质结构中具有重大的作用,这

是由于它們对結構性蛋白质巨分子起着定位作用。

根据 Сабинин 的概念,具短分子鏈的二元酸位于蛋白质亲水性側鏈之間,由于范德瓦尔斯力而引致分子之間的靠紧。具长分子鏈的二元有机酸可能位于蛋白质巨分子之間,結果只有推开各个巨分子。在前一种情况下,原生质結構粘度应当提高;而在后一种情况下,其粘度应当降低。这些推测得到 А. К. Белоусова^[4] 的試驗所証实,她曾研究有机酸对伊乐藻属 (*Elodea*) 叶片細胞原生质結構粘度的影响。

蛋白质巨分子彼此之靠紧或推开均对原生质結構粘度及其水合作用有影响。为了檢驗这种推测,曾在喀山大学植物生理学實驗室中进行向日葵和玉米叶片的試驗。向日葵叶片在空气中萎蔫 15 分钟后,置于水、0.01 克分子的草酸溶液和 0.1 克分子的谷氨酸溶液中 30 分钟。取用幼叶(頂叶)进行試驗。測定叶片总含水量、自由水总量(折射計測定法)及細胞液渗透压。表中援引其中一个試驗的資料。

有机酸对向日葵叶片水分状况的影响

試驗处理	水分占湿 重 总 量	束 縛 水 量 总 量	胶体束縛水 数 量	細胞液渗透 压(大气压)
	(%)	占 干 物 质 %		
水	84	156	142(100) *	3.8
草 酸	81	137	122(86)	4.7
谷氨酸	84	194	175(123)	3.2

* 括号内数字表明各試驗处理的百分比

从表中資料看出,草酸由于能使蛋白质巨分子彼此靠紧,因而降低了原生质的水合作用,而具有更大分子的谷氨酸由于能使蛋白质巨分子彼此推开,因而提高原生质的水合作用。

在玉米叶片試驗中,获得下列

有关水合作用的資料

(只引用相对数值)

	相对水合作用
水分	100
天門冬酰胺(0.01 克分子)	115
檸檬酸(0.1 克分子)	166
天門冬氨酸(0.01 克分子)	184

最后,还想談一种情况,暂时仅仅作为問題而提出。为了解决这一問題,目前还没有足够的实验資料。

简单地概括說来,可以提出植物水分状况变化的两个基本类型:1)自由水含量减少,束縛水和胶体束縛水总量增加,胶体水合作用程度和渗透压均提高;2)自由水含量增加,束縛水和胶体束縛水总量减少,胶体水合作用程度和渗透压均降低。

这两种情况均应当属于植物体的非特异性反应,因为不同的原因或者不同因素对植物的作用却能引起植物水分状况同样性质的变化。例如,干旱、低温、光照、矿质营养条件、毒物作用, γ -射綫辐射等均能引起胶体束縛水含量的提高。

我們认为,細胞中与新陳代謝变化有关的能量条件的变化,乃是植物水分状况上述种种变化的共同基础。細胞中能量水平的降低,应当使化学水合作用的放热过程超过脱水作用的吸热过程,同时,水分也应当从游离状态轉变为束縛状态。

E. Bünning^[14] 曾发现当植物轉入休眠状态时胶体束縛水含量及其水合作用均提高。他指出,細菌的芽孢与生长的細胞在水分总含量上可能并无区别,但是芽孢胶体束縛水含量高而原生质粘度大。当种子过渡到休眠状态时,也发现类似現象。

由上所述的資料可以作出結論,在不良条件(如干旱)影响下,有时发现植物体内胶体束縛水含量及水合作用程度均提高,这不仅应当从終极性的(适应性的)观点加以探討,而且应当从偶然性的观点来加以研究。

参 考 文 献

- [1] Алексеев А. М., Гусев Н. А., 1957. Влияние минерального питания на водный режим растений. М., Изд-во АН СССР.
- [2] Алексеев А. М., Гусев Н. А., Белькович Т. М., 1961. Суточная динамика водного режима листьев пшеницы в связи с динамикой фосфорного и азотного обменов. Изв. Казанского филиала АН СССР, серия биол. Казань.
- [3] Алексеев А. М., Советова Г. И., Самоделкина С. Д., 1959. Физиол. раст., 6(6), 649~653.
- [4] Белоусова А. К., 1946. Определение структурной вязкости как способ изучения строения протоплазмы. Диссертация, МГУ.
- [5] Гусев Н. А., 1959. Некоторые закономерности водного режима растений. М., Изд-во АН СССР.
- [6] Думанский А. В., 1948. Учение о коллоидах. М., Госхимиздат.
- [7] Крафтс А., Карриер Х., Стокинг К., 1951. Вода и ее значение в жизни растений. А., Изд-во ИЛ.

(下接第 28 頁)

植物体中氨基酸合成的若干方面及其有关問題

Virtanen, A. I.

《Ann. Rev. Plant Physiol.》1961, 12: 1~12 [英文]

綠色植物及許多微生物完全以无机氮为氮源来合成其氮化合物的能力是生命的基本現象之一。由于氮作为氨基酸——蛋白质的构成基石——中的一种氨基的形式存在,所以自从氨基酸的一般結構被闡明以后,氨基的形成問題已引起許多科学家的注意。由于几十年来对植物生物化学重視不够,所以有关植物中大多重要代謝过程的理論,例如,氨基酸的生物合成,都是基于用动物所做的实验发展而来。Knoop 在 50 年前提出的理論,即氨基酸是通过 α -酮酸与氨还原而形成的,这在化学上是有根据的,并且得到动物实验的結果有力地支持。假若不要求对这种合成所必需的因素具有的更詳細的知識,那末这种美好的理論是可以滿意地解釋許多氨基酸的生物合成的。20 世紀酶化学的迅速发展促使人們认为,只要生命系統中一种代謝途徑所需要的某种酶未被发现之前,所提出的該系統中的代謝途徑只能視為一种假說。因为尚不知道任何一种会引起还原的胺化作用的酶系統,所以連 Knoop 的理論也只好降格为一种假說。

最初的一个利用氨的氨基酸的酶促合成是完全不同于酮酸胺化的另一种类型。本世紀 20 年代末,Quastel 等^[1,2]发现,大腸杆菌的靜止細胞曾利用延胡索酸盐和 NH_4Cl 合成 L-天冬氨酸。該反应是可逆的, $\text{L-天冬氨酸} \rightleftharpoons \text{延胡索酸} + \text{NH}_3$ 。几年后,Tarnanen 和作者^[3]曾从荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 的一种干制剂中获得一种含有能引起上述反应的天冬氨酸酶的无細胞提出物。这是第一次成功地利用无細胞酶溶液合成氨基酸。

已发现許多(但不是所有的)微生物以及某些高等植物都具有对 L-天冬氨酸严格专一的天冬氨酸酶^[3]。在豆科植物的根瘤中則尚未发现过这种酶。在动物的組織中也从未肯定地証明过其存在。因此,不能用它作为在所有生物中都发生的由氨合成氨基酸的过程的普遍說明。新近,Ellfolk^[4]曾对天冬氨酸酶进行了提純,并經鉴定它是一种含金属酶。

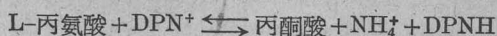
多年来,天冬氨酸酶是唯一已知的氨基酸合成

酶。1937~1939 年, V. Euler 等^[5]及其同事获得了一个重要发现,即谷氨酸脫氫酶对 L-谷氨酸是专一的,而且它所催化的反应是可逆的: $\text{L-谷氨酸} \rightleftharpoons \alpha\text{-酮戊二酸} + \text{NH}_3$ 。

对还原的胺化作用的第一步驟,也就是氨与 α -酮戊二酸的結合,迄今仍不甚了解,但現在假定它的最初产物是 α -亚氨基戊二酸,而这一产物随后又为谷氨酸脫氫酶还原为 L-谷氨酸。这种酶在各种生物,包括微生物、高等植物以及动物組織中均有所发现。稍迟的研究証实了它对 L-谷氨酸生物合成的絕對重要性。因而, Knoop 关于氨基酸合成的观点已由 L-谷氨酸方面得到了証实,但同时也很清楚这不是一个可以用来說明許多不同氨基酸的生物合成的反应。

本世紀 30 年代末,据此而确实証明有两种氨基酸的氨基是通过无机氮化合物而参入碳骨架而形成的。作者把这种类型的氨基酸称为“初生氨基酸”(primary amino acid),而把那些其前体已含有氨基(或亚氨基),或者氨基是从另一种化合物轉移而来的氨基酸一律叫做“次生氨基酸”(secondary amino acid)。

虽然丙氨酸的“初生”性质的某些証据已有所报道,但是通过类似的机制合成其他氨基酸的情况只是在最近始被确証。10 年前,作者在表示氨基酸合成的图解中,曾用实綫箭头代表利用氨的谷氨酸与天冬氨酸的生物合成,而用虛綫代表丙氨酸的生物合成^[6]。但是这条虛綫現在應該改划成实綫,因为 Goldman^[7]最近从結核杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 的一种无細胞提出物中,分离和提純了一种能催化下列反应的丙氨酸脫氫酶:



可能谷氨酸脫氫酶与丙氨酸脫氫酶的作用机制是类似的。对某些其他的氨基酸也提出过类似的机制,例如从草酰乙酸与氨合成 L-天冬氨酸,不过所用的酶制剂未經提純,因此,未能对这一反应进行充分地研究^[8]。最近采用从肝提出的結晶的谷氨酸脫氫酶能使 α -酮戊酸进行还原的胺化作用而成为在高

等生物中从未发现过的 L-戊氨酸 (L-norvaline)^[9]。这种反应可能并无很大的生物学意义,但是从生物化学的观点看来,它是有价值的,因为它指出, α -酮戊二酸中的 γ -羧基并非酶的作用所必需的。

即使在某些生物中丙氨酸可以通过丙氨酸脱氢酶利用氨进行初级的合成,却无证据说明这种氨基酸通常是由这一途径形成的。

相反地,在那些详细地研究过氨基酸合成的生物里,丙氨酸很可能是次生而来。在这些实例中,亦未能证明天冬氨酸是利用氨的一种初级形成。本文作者只论及一些利用微生物和绿色植物的研究结果。

采用 N^{15} 进行的一些试验,尤其是 Burris 等以铍盐、硝酸盐和分子氮作为氮源时用固氮微生物进行的实验,有利于说明氨是一种“关键性的化合物”,而 L-谷氨酸是唯一的初生氨基酸^[10]。但是由于在许多实验中,谷氨酸与天冬氨酸被氮所标记的程度几乎相等,因此,天冬氨酸也可能是一种初生氨基酸,如果它可通过初生与次生两种途径形成则这种可能性即更大。近年,Allison 等^[11]采用很短的实验时间进行的动力学研究肯定地证明了天冬氨酸是次生而来的。

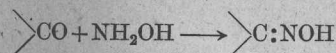
在作者的实验室内, Roine^[12] 用低氮的产朊圆酵母 (*Torulopsis utilis*) 进行的研究得出这样的结论,即酵母在饲以一种铍盐时,谷氨酸将是初生的氨基酸。在最初 10 分钟内所形成的可溶性有机氮中,约有 60% 是谷氨酰胺, 15% 是谷氨酸, 而 20% 是丙氨酸。曾假设丙氨酸是通过氨基转移作用而形成的。近来, Folkes^[13] 提出了关于他对参入到产朊圆酵母的蛋白质和氨基酸的 N^{15} 所做的定量测定的动力学分析。谷氨酸和谷氨酰胺二者的合成共计至少占可能合成的 α -氨基的 86%。丙氨酸完全是次生形成的,而天冬氨酸可能亦然。不过对后一种氨基酸的证据不象丙氨酸那样令人信服。

Rautanen^[14] 研究了绿色植物中的氨基酸的合成;他用刚巧在齐种子处切下的豌豆苗,并使它们通过切口吸收各种氮化合物。结果发现,当饲料铍态氮为时 8 小时后,其主要的产物乃是谷酰胺。在所形成的总有机氮中,约 60% 是谷酰胺, 25% 是谷氨酸, 15% 是天冬酰胺。Rautanen 还证明,在相应的实验中硝酸盐被还原成氨。现在尚无证据说明,利用硝酸盐和利用氨来合成氨基酸是通过不同的途径来实现^[15]。

根据我们现有的知识,氨参入碳架以形成氨基

酸的一般途径似乎是通过 L-谷氨酸的生物合成。但是,为了阐明 L-丙氨酸和 L-天冬氨酸的生物合成,则还需要进行充分的研究,特别是在发现具有天冬氨酸酶的某些生物中的 L-天冬氨酸的生物合成。

另一种无机氮化物——羟胺, 对其有关系的初生氨基酸的生物合成具有很大的意义。羟胺是硝酸盐还原作用的最后一个中间产物, 而且使羟胺还原成氨的特异酶——羟胺还原酶*, 最近已为许多研究者在各种生物中得到了证明 (Egami, Nason 与 Nicholas)。由于羟胺是一种很活泼的物质, 它能同许多羰基化合物以很高速率形成腈类:



羟胺同水合乙醛酸、丙酮酸、草酰乙酸和 α -酮戊二酸的反应活性是如此之高, 以致于假若不立即被还原成氨时, 它就会通过形成腈而固定在生物体中。因此, 在活细胞中游离羟胺的积累是不会发生的。羟胺也可形成异羟肟酸 (hydroxamic acid)—— CONHOH 。已经证明^[16,17,18], γ -谷酰基异羟肟酸和 β -天冬酰基异羟肟酸 (β -Aspartylhydroxamic acid) 既可以由谷氨酸和天冬氨酸也可以由谷氨酰胺和天冬酰胺酶促合成。同时, 苯基异羟肟酸 (Benzo hydroxamic acid) 的酶促合成也已经实现了^[19]。

其它羟胺衍生物在天然物质中似乎并不是很稀少的。根据 Ettlinger^[20] 的意见, 芥子油糖苷也可被认为是羟胺化合物, 而近年在作者的实验室内从幼小的裸麦、小麦和玉米植株中分离出来的一种新型糖苷也可被认为是经取代的羟胺化合物^[21,22]。在磨碎植株时, 这些糖苷的非糖基 (aglucones), 2,4-二羟-1,4-苯駢噁嗪-3-酮^[21,23] (从裸麦糖苷而来) 及 *n*-甲氧基衍生物^[22] (从小麦、玉米糖苷而来) 都经酶的作用而释放出来。当从这些化合物上裂解下甲酸以后, 就得到苯駢噁嗪酮 (benzoxazolinone) 和 6-甲氧基-苯駢噁嗪酮 (6-methoxy-benzoxazolinone)。

许多年前, Osáky 和作者发现^[24], 在硝酸盐溶液中的产朊圆酵母的经强烈通气的悬液中, 很快地形成“结合态羟胺”。最高产量往往在缺氮的细胞里得到。Saris 和作者^[25,26] 详细地研究了在含有亚硝酸钠的溶液中通气后取得产朊圆酵母细胞块用酒精提取所分离的“结合态羟胺”分部。对从生长在硝酸盐与亚硝酸盐中的裸麦根中所提取到的羟胺化合物也进行了研究。首先, 用 Amberlite IR-120 (酸性树

* 羟胺还原酶的作用如下: $\text{NH}_2\text{OH} + \text{DPNH} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{NH}_3 + \text{DPN} + \text{H}_2\text{O}$ ——译者注

脂牌号名称——譯者注)树脂柱对氨基酸进行定量分离。然后,用钠汞齐将胍基还原成氨基,并用紙层析对所形成的氨基酸进行鉴别与测定。在裸麦根,水合乙醛酸胍最丰富,其他依次为丙酮酸, α -酮戊二酸,羧基丙酮酸和草酰乙酸的胍。在这种根内,也可以找到相应的各种酮酸其按数量排列的顺序与胍相同^[27]。在产朊圆酵母内,丙酮酸的胍在数量上最多,但是 α -酮戊二酸,草酰乙酸以及乙醛酸的胍也有形成。与氯化铁反应而显红色的异羧胍可用紙层析进行分离。結果是通过羧胺与乙酰化合物(如乙酰磷酸与乙酰辅酶 A)之間的自发反应所形成的乙酰化异羧胍得到鉴定,但是并无其他异羧胍^[26]。发现,大約 50~70% 的羧胺是在胍上,其余在乙酰化异羧胍。

通过这些研究,在硝酸盐与亚硝酸盐的还原中所形成的“結合态羧胺”第一次在化学上得到鉴定。当以铁态氮作为产朊圆酵母的氮源时,就不形成“結合态羧胺”。

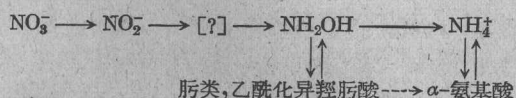
假如所发现的胍类在有机体内被还原,那么,就有可能由它們形成相应的氨基酸。在那样的情况下,可以预期能够形成許多初生氨基酸,而不象在以氮作为氮源的情况下只形成谷氨酸。由 α -酮酸与羧胺形成的 α -胍基酸(α -oximino acid)还原成相应的 α -氨基酸这种誘人的观点未能得到証实。到现在为止尚未能从产朊圆酵母或者任何其他生物中制备出具有使上述胍化合物还原的有活力的酶制剂。前面提到的当以硝酸盐作为氮源时,利用相应的胍类在一定程度上可形成氨基酸的可能性,迄今尚未得到証实^[28]。生长在铁态氮或硝态氮中的产朊圆酵母的氮分部之間的差异只是在数量上的,而且主要决定于利用硝态氮合成蛋白质的速率高于利用铁态氮时的速率。在上述两实例中,可溶性氮分部的組成在质上是类似的。

Maurer^[29] 在三十多年前发现,当把胍基丙酮酸加入酿酒酵母的活跃地醱酵培养物时則确可形成丙氨酸,而許多非生理的化合物(指加入物——譯者)却被醱酵酵母所还原。虽然在 Egami 的实验中进行的实验會表明,胍基丙酮酸对羧胺还原酶有一点亲和力^[30],但它并不能为一种耐盐的球菌所还原。另一方面,在同一实验室内还会发现,芳族的邻亚硝基苯酸与邻羧基苯酸經酶促还原成邻氨基苯酸^[31]。

由于通气的产朊圆酵母悬液中的胍类迅速减少,有可能在短時間內形成一种可分解胍类的机制。胍的水解是十分可能的,不过想証明它也很困难,因

为游离的羧胺不能积累。加入的胍基丙酮酸或者乙酰化异羧胍不会在产朊圆酵母的培养物中消失,同时,生长試驗表明,这种生物也不能利用它們作为氮源。显然,这些化合物不能进入这些細胞。

Saris 和作者的結論指出,“結合态羧胺”是作为硝酸盐还原的副产物而出現的,这些化合物的生理功能在于“捕捉”羧胺,如果羧胺不立即被还原成氨的話。



基于这种假定可以理解,在一些极端的条件下,形成羧胺化合物最多,例如,在酵母极其缺氮情况下,当許多酶可能也包括羧胺还原酶(未經测定)的活性降低时^[32],或者在亚硝酸盐的濃度极高时^[25,27],正常情况下,由此形成的羧胺当仍附着于还原酶时就可能被还原,因而不可能形成游离的羧胺。

自从 Blom^[33] 发现,以分子氮或硝态氮作为氮源培养自生固氮菌(*Azotobacter*)具有羧胺后,在生物固氮中羧胺形成已經引起了特別兴趣。在这之前曾认为,生物固氮的最简单和最可能的途径是,分子氮还原为氨。曾經期望羧胺的形成能够在实验的基础上闡明固氮的化学机制。Blom 提出了一种假說,即分子氮首先被水化,然后还原成羧胺。但是分子氮也可通过其他途径形成羧胺。第一个反应阶段可以是氧化,也可以是还原。假如是氧化作用,那么固氮作用与硝酸盐的还原作用在羧胺阶段之前就可見共同的中間物^[34],当考虑到所有这些可能的反应,即使羧胺作为固氮的中間产物已有确切的証据,也不能解决固氮的机制問題,但它能够大大减少可料想到的反应途径。

在三十年代,作者的实验室曾在豆科植物的根瘤以及自生固氮菌的培养物中观察到“結合态羧胺”的形成,并且最初认为可能由羧胺与草酰乙酸通过胍基酸形成天冬氨酸^[35,36]。后来則只把“結合态羧胺”看作一种副产品,羧胺被还原为氨。但是 40 年代却未发现,在梭状芽胞杆菌(*Clostridium*)的无氧固氮作用中未能檢出任何“結合态羧胺”的存在^[37,38]。因此,沒有理由假定,羧胺是无氧固氮作用的一种中間产物,而无氧固氮可能是一种不形成含氧中間产物的自始至終的还原途径。

有氮固氮与无氧固氮的机制不同是不近情理的,但只要在有氧固氮中的“結合态羧胺”的形成沒有得到解釋,羧胺是不能被忽視的。往后,在作者实

驗室中的研究結果證明了我們所提出的假設，即有氮固氮與無氮固氮的機制相類似。曾證明，自生固氮菌也能從氮形成“結合態羧胺”。早期用棕色固氮菌 (*A. vinelandii*) 進行的實驗表明，用 NH_4^+ 形成這些化合物的速率比用 N_2 和 NO_3^- 時要慢些^[37,39] 但 Saris 和作者^[40] 往後用褐色球形固氮菌 (*A. chroococcum*) 進行的實驗卻示出，用這些氮源形成結合態羧胺的速率，實際上是一樣的。最重要的是發現了不管實驗採用三種氮源中的哪一種，在紙層析譜上都有一个相同的具有複雜性質的“結合態羧胺”的斑點^[41]。

顯然，氮可以被自生固氮菌氧化成羧胺。自生固氮菌的羧胺還原酶所催化的反應是可逆的，正如 Klausmeier 和 Bard^[42] 在採用枯草桿菌的相應的還原酶時所證明的那樣。所以結合態羧胺的形成，並不能證明羧胺是以作為固氮的一種中間產物而形成的。因此，在有氮固氮與無氮固氮中一直到氮為止的整個還原機制却是可能的。其它的研究者亦曾得到類似的結果^[43]。由於近來已有可能從一些固氮微生物中得到一種具有活躍固氮系統的無細胞提出物^[43,44]，可以預期在不久的將來會出現能為固氮機制提供確定的證據的新結果。

次生的氨基酸可以由初生的氨基酸通過幾個很不相同的反應而加以形成。應用 C^{14} 標記的化合物就有可能闡明形成多種氨基酸的特異途徑。現在，作者將單單考慮氨基酸轉移作用這一普遍反應對於次生氨基酸與初生氨基酸合成的重要性，以及植物中為氨基酸轉移作用所不可缺少的成分—— α -酮酸，的存在的重要性。Braunshtein^[45] 於 1937 年曾在動物組織里發現了這種氨基轉移反應。其後，在作者的實驗室中證明，它在高等植物中也起作用^[46]。生物體內氨基轉移作用的意義已經討論得很多了。它僅僅在 L-谷氨酸是供體，或者 α -酮戊二酸是 α -氨基的受體的系統中才發生作用。隨後又在許多其他一些氨基酸與酮酸系統中證明有氨基轉移作用。已發現，在這個系統中，不僅二羧酸是不可缺少的，而且還發現，正如在作者的實驗室以及其他一些實驗中所表明在 α -位置以外的氨基也能被轉移： γ -氨基丁酸 + α -酮戊二酸^[47,48]。此外，Meister^[49] 曾經觀察到，谷氨酰胺和天冬酰胺的 α -氨基氮轉移到一些 α -酮酸連同酰胺氮同時裂解而形成氨。

由於氨基轉移作用是可逆的，因此細胞內的谷氨酸的起源可以是初生的，也可以是次生的，酮酸亦然。它們能夠通過與氨基轉移作用無關的各種不同

途徑（如通過縮合、羧化、脫羧、氧化等作用），或者通過氨基轉移作用而形成。例如，草酰乙酸和 α -酮戊二酸，假若它們是經由 Krebs 循環而形成，那么就屬於初生的，如果它們是借助氨基轉移作用分別由天冬氨酸和谷氨酸形成，那么就屬於次生的。在這些不同組分之間的平衡受許多反應的調節。在其中，氨基轉移作用無疑是最為重要的。

在氨基酸的生物合成中 α -酮酸的中心地位促使我們在實驗室中發展了測定這些酸的方法。三十年代末，我們在高等植物中發現了主要的 α -酮酸：草酰乙酸、 α -酮戊二酸及丙酮酸^[50,51]。在當時所用的方法中，可以提一下把 α -酮酸轉變成 2, 4-二硝基苯腙 (2, 4-dinitrophenylhydrazones) 的反應，以及這些化合物再經氫解作用成為相應的氨基酸^[52]。然後用不同方法來測定這些氨基酸^[51]。自從 1953 年開始採用紙層析後，有些新的 α -酮酸可以作為 2, 4-二硝基苯腙來鑑定^[53]，但是將苯腙經氫解作用變成氨基酸，而後再用紙層析來檢驗的辦法證明是一種更精采的方法。採用後一種方法，在植物中已經發現了與已知的以及新的氨基酸相應的許多 α -酮酸。最近 15 年來，特別是從高等植物中已經分離出許多新的氨基酸，以致於現在甚至不可能再提出這些化合物的確切數目。這些氨基酸清楚地證明，植物的合成能力的範圍有多么寬廣。一般說來，在植物中所發現的這些新氨基酸都是呈游離狀態的。

在發現有新氨基酸的許多植物中，鑑定出相應的 α -酮酸的事實顯示出氨基酸和酮酸之間的密切關係。在這方面，Towers 和 Steward^[54] 在鬱金香中檢到 γ -亞甲基- α -酮戊二酸，並證明，其中也有 γ -亞甲基谷氨酸的存在。Done 和 Fowden^[55] 早些時候已在花生中識別出這種氨基酸，而 Fowden 和 Webb^[56] 則在同一植物中鑑定了相應的 α -酮酸。用花生幼苗的一種提出液作為酶制劑，並通過氨基轉移作用還可以由 γ -亞甲基谷氨酸與 α -酮戊二酸合成這種酮酸。在作者的實驗室中，曾從一種蕨類植物 *Asplenium septentrionale* 中分離出 α -氨基庚二酸， γ -羧基- α -氨基庚二酸及其內酯^[57,58,59]。在同一植物中還發現了相應的酮酸—— α -酮基庚二酸、 γ -羧基-酮庚二酸及其內酯^[60]。利用福祿考屬的一種植物 *Phlox decussata* 的（組織）勻漿已經證明，可由 α -酮戊二酸和 γ -羧基谷氨酸通過氨基轉移作用形成 γ -羧基- α -酮戊二酸，而這種新的氨基酸是在這種植物中發現的^[61,62]。在作者的實驗中，已經在多種植物中鑑定到多種酮酸。

因此,有实验证据证明这种观点,即在植物中,许多氨基酸是通过氨基转移作用形成的。自然,在同一植物中存在着酮酸和相应的氨基酸并不足以证明在体内具有氨基转移作用。但是考虑到植物里也存在着催化这些反应的氨基转移酶,关于氨基转移作用在植物的氨基酸合成中的重要性的观点是颇有根据的。

作者从三十年代初就对高等植物通过根系吸收有机物质的能力发生兴趣。我们的实验研究集中于含氮有机物质的吸收方面。在无菌营养液进行的生长实验中,发现豌豆和紅三叶草在只用 L-天冬氨酸作氮源时的生长,与用硝态氮作氮源时同样良好^[63,64,65]。以后在采用 L-谷氨酸和 L-丙氨酸时也得到同样良好的生长。DL-天冬氨酸中的 D-型也被吸收一些,但只有 L-型被用于生长^[66]。当采用其它氨基酸(L-精氨酸除外),豌豆植株的生长并未超出不供氮的植株。虽然其中有几种氨基酸(L-组氨酸, L-赖氨酸、D-与 L-缬氨酸曾被植物相当大量地吸收,而且植株的含氮量增高,植物的含氮量虽增高,可是植物并不生长(按干物重计)。

为了证明天冬氨酸确实以其本身的形式被吸收,而不在根表面脱去氨基,在实验期间不断测定营养溶液的 pH。在六周实验期间,没有观察到 pH 降低^[63,67],而如果植物仅仅吸收天冬氨酸的氨基,则 pH 必然会降低。天冬氨酸中碳与氮的比值为 3.43,该比值在含天冬氨酸的营养液中维持不变。基于这些观察,作者得到的结论是豌豆植株吸收了天冬氨酸分子,从而得到这氨基酸的碳架。天冬氨酸能成功地与硝态氮和铵态氮竞争以作为豌豆植株的氮源^[68]。在 28 天的生长期中,豌豆植株从含有等量(50 毫克)天冬氨酸氮, $\text{NO}_3\text{-N}$ 与 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的无菌营养液中共吸收氨基-N 40.0 毫克, $\text{NH}_4\text{-N}$ 40.8 毫克以及 $\text{NO}_3\text{-N}$ 25.8 毫克。用小麦和大麦进行的相应的实验中却意外地发现它们不能利用 L-天冬氨酸与 L-谷氨酸,可是能利用相当数量的 L-精氨酸与 L-丙氨酸^[64,66]。目前我们对于实验所用的豆科和禾本科植物对氨基二羧酸的利用程度不同还提不出解释。

Miettinen^[69] 最近用 1-C^{14} 标记的 DL-丙氨酸研究了豌豆植株从营养液中对这种氨基酸的吸收。三小时后,在根和枝叶中,即发现了经标记的丙氨酸。它是唯一能测出有放射性的氨基酸。用 1-C^{14} 的 L-丙氨酸进行的实验曾得到类似结果。当用 1-C^{14} DL-谷氨酸时,大约有 2/3 的放射性出现于谷

氨酸,而 1/3 出现于丙氨酸。由此,植物对氨基酸分子的吸收已经确切地证明了。

在三十年代里,关于植物能吸收氨基酸,而其量足以替代正常的无机氮的营养这种想法还是很新鲜的。当豌豆植株只用天冬氨酸作为氮源时,植物所得到的碳架大约相当于植物体内总碳的 20% (不考虑呼吸作用)。因此,从碳看来植物已经部分地变成异养的了。

已经发现,某些氨基酸及其脱羧产物对植物的形态发生能引起深远的影响。营养液中的 DL-丙氨酸使豌豆的植株丛生和分枝,根系短而且成簇状^[68,70]。往后, Miettinen^[69] 发现,只有 D-丙氨酸是有毒性的。苯丙氨酸的脱羧产物——苯乙胺 (phenylethylamine) 只要按约为 0.05% 的量加入到含有硝酸盐的营养液中,就足以使豌豆植株发生奇怪的变化^[68,70]。Steinberg^[71] 曾经注意到,其量为 0.002~0.01% 的异白氨酸和白氨酸就足以引起烟草幼苗发生类于带状花叶病 (“frenching” disease) 的变化。在这两种氨基酸仅 L-型有毒性。最近, Waris^[72] 在一种水芹属 *Oenanthe aquatica* 中观察到由一种氨基酸(甘氨酸)所引起的最强烈的形态学变化。Miettinen 等^[73] 在种植物的新等位基因的植株 (neomorphic plants) 中发现,其可溶性氮要比正常的植株大 10 倍之多。

由基质中进入植物体内的微量外来有机物质,即使在天然条件下亦可能具有形态发生的效应。根据我们的实验,植物从营养液内吸收这些物质(酰胺,生物碱等),要比从土壤吸收容易得多。整个这一问题还迫切需要进一步的探讨。

参考文献

- [1] Quastel, J. H., and Woolf, B., *Biochem. J.*, **20**, 545 (1926)
- [2] Woolf, B., *Biochem. J.*, **23**, 472 (1929)
- [3] Virtanen, A. I., and Tarnanen, J., *Biochem. Z.*, **250**, 193 (1932)
- [4] Ellfolk, N., *Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A. II. No. 79* (1956)
- [5] v. Euler, H., Adler, E., Günther, G., and Das, N. B., *Z. Physiol. Chem.*, **254**, 61 (1938)
- [6] Virtanen, A. I., *Österr. Chemiker-Ztg.*, **54**, 94 (1953)
- [7] Goldman, D. S., *Biochim. et Biophys. Acta*, **34**, 527 (1959)
- [8] Kretovich, V. L., *Advances in Enzymol.*, **20**, 319 (1958)

- [9] Bässler, K. H., and Hammar, C.-H., *Biochem. Z.*, **330**, 446 (1958)
- [10] Wilson, P. W., and Burris, R.H., *Ann. Rev. Microbiol.*, **7**, 415 (1953)
- [11] Allison, R. M., and Burris, R. H., *J. Biol. Chem.*, **224**, 351 (1957)
- [12] Roine, P., *Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A. II*, No. 26 (1947)
- [13] Folkes, B. F., *Symposia Soc. Exptl. Biol.*, No. **13**, 126 (1959)
- [14] Rautanen, N., *Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A. II*, No. 33 (1948)
- [15] Burris, R. H., *Ann. Rev. Plant physiol.*, **10**, 301 (1959)
- [16] Elliot, W. H., *Biochem. J.*, **49**, 106 (1951)
- [17] Webster, G. C., and Varner, J. E., *J. Biol. Chem.*, **215**, 91 (1955)
- [18] Waelsch, H., *Advances in Enzymol.*, **13**, 237 (1952)
- [19] Virtanen, A. I., and Berg, A.-M., *Acta Chem. Scand.*, **5**, 909 (1951)
- [20] Ettlinger, M. G., and Lundeen, A. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 4172 (1956)
- [21] Virtanen, A. I., and Hietala, P. K., *Acta Chem. Scand.*, **14**, 499 (1960)
- [22] Wahlroos, Ö., and Virtanen, A. I., *Acta Chem. Scand.*, **13**, 1906 (1959)
- [23] Honkanen, E., and Virtanen, A. I., *Acta Chem. Scand.*, **14**, 504 (1960)
- [24] Virtanen, A. I., and Csáky, T. Z., *Nature*, **161**, 814 (1948)
- [25] Virtanen, A. I., and Saris, S. N.-E., *Acta Chem. Scand.*, **9**, 337 (1955)
- [26] Virtanen, A. I., and Saris, N. E., *Acta Chem. Scand.*, **10**, 483 (1956)
- [27] Saris, N.-E., *Finska Kemistsamfundets Medd.*, **65**, 36 (1956)
- [28] Virtanen, A. I., Csáky, T. Z., and Rautanen, N., *Biochim. et Biophys. Acta*, **3**, 208 (1949)
- [29] Maurer, K., *Biochem. Z.*, **189**, 216 (1927)
- [30] Taniguchi, S., Mitsui, H., Nakamura, K., and Egami, F., *Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A. II*, No. **60** (1955)
- [31] Yamashina, I., Shikata, S., and Egami, F., *Bull. Chem. Soc. Japan.*, **27**, 42 (1954) [Ref. Chem. Abstr., **49**, 14831 f (1955)]
- [32] Virtanen, A. I., and De Ley, J., *Arch. Biochem.*, **16**, 169 (1948)
- [33] Blom, J., *Zentr. Bakteriell. Parasitenk., Abt. II*, **84**, 60 (1931)
- [34] Virtanen, A. I., *Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A. II*, No. **43** (1952)
- [35] Virtanen, A. I., and Laine, T., *Suomen Kemistilehti, B*, **9**, 5 (1936)
- [36] Virtanen, A. I., and Laine, T., *Suomen Kemistilehti, B*, **9**, 12 (1936)
- [37] Virtanen, A. I., Hakala, M., and Järvinen, H., *Suomen Kemistilehti, B*, **22**, 23 (1949)
- [38] Virtanen, A. I., and Hakala, M., *Acta Chem. Scand.*, **3**, 1044 (1949)
- [39] Virtanen, A. I., and Järvinen, H., *Acta Chem. Scand.*, **5**, 220 (1951)
- [40] Saris, N.-E., and Virtanen, A. I., *Acta Chem. Scand.*, **11**, 1438 (1957)
- [41] Saris, N.-E., and Virtanen, A. I., *Acta Chem. Scand.*, **11**, 1440 (1957)
- [42] Klausmeier, R. E., and Bard, R. C., *J. Bacteriol.*, **68**, 129 (1954)
- [43] Carnahan, J. E., Mortenson, L. E., Mower, H. F., and Castle, J. E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **38**, 188 (1960)
- [44] Wilson, P. W., and Burris, R. H., *Science*, **131**, 1321 (1960)
- [45] Braunshtein, A. E., and Kritsman, M. G., *Nature*, **140**, 503 (1937)
- [46] Virtanen, A. I., and Laine, T., *Nature*, **141**, 748 (1938)
- [47] Miettinen, J. K., and Virtanen, A. I., *Acta Chem. Scand.*, **7**, 1243 (1953)
- [48] Steiner, M., *Symposia Soc. Exptl. Biol.*, No. **13**, 177 (1959)
- [49] Meister, A., Sober, H. A., Tice, S. V., and Fraser, P. E., *J. Biol. Chem.*, **197**, 319 (1952)
- [50] Virtanen, A. I., Arhimo, A. A., and Suomalainen, H., *Nature*, **144**, 597 (1939)
- [51] Virtanen, A. I., Arhimo, A. A., Sundman, J., and Jännes, L., *J. Prakt. Chem.*, **162**, 71 (1943)
- [52] Tafel, J., *Ber. Deut. Chem. Ges.*, **19**, 2415 (1886)
- [53] Virtanen, A. I., Miettinen, J. K., and Kunttu, H., *Acta Chem. Scand.*, **7**, 38 (1953)
- [54] Towers, G. H. N., and Steward, F. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1959 (1954)
- [55] Done, J., and Fowden, L., *Biochem. J.*, **49**, Proc. XX (1951)
- [56] Fowden, L., and Webb, J. A., *Biochem. J.*, **59**, 228 (1955)
- [57] Virtanen, A. I., and Berg, A.-M., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 1085 (1954)
- [58] Berg, A.-M., and Virtanen, A. I., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 1725 (1954)
- [59] Virtanen, A. I., Uksila, E., and Matikkala, E. J., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 1091 (1954)

(下接第 60 頁)

酰胺和肽鍵的生物合成

Webster, G. C.

«Symp. Soc. Exptl. Biol.» 1959, 8: 330~344 [英文]

植物所同化的无机氮中有很多被結合到氨基酸中去。氨基酸随即能被轉变为更复杂的分子:酰胺、肽和蛋白质。近年来,我們有关各种简单的酰胺和肽的形成方式的知識大为增加。根据这种知識,能够得出两个重要的一般性結論:第一,三磷酸腺甙在三磷酸腺甙分子。第二,蛋白质肽鍵的形成方式与简单酰胺或肽的合成的方式十分类似。

本文中,首先將討論谷酰胺的生物合成,因为它对我們有关酰胺和肽合成的知識的发展頗为重要。然后将比較其他简单的酰胺和肽的生物合成。最后,將考虑迅速增加的有关氨基酸激活作用和蛋白质合成的知識。

谷 酰 胺

谷酰胺在氮代謝中起着很重要的作用。谷酰胺不仅参与氮代謝,而且也是嘌呤环上第3和第9氮原子和5'-磷酸鳥嘌呤核甙和6-磷酸葡萄糖胺中酰胺基的专一的氮供体。此外,蛋白质中的谷酰胺殘基的直接前体是谷酰胺而不是谷氨酸。我們有关谷酰胺合成方式的知識始于 Krebs^[19] 的觀察,即細胞的谷酰胺合成需要谷氨酸、氨和一个产能反应。谷酰胺仅能从 L-谷氨酸形成,并証明 D-谷氨酸是谷酰胺合成的一种抑制剂。基于这些觀察,Speck^[41] 和 Elliott^[10] 各自分別地发现,植物、动物和細菌的无細胞制剂按下列反应催化谷酰胺合成:

谷氨酸 + NH₃ + ATP $\rightleftharpoons$ 谷酰胺 + ADP + P_i
已从若干不同的动物、植物和細菌提出物中获得提純到有限程度的催化谷酰胺合成的谷酰胺合成酶^[20]。豌豆种子的谷酰胺合成酶曾为 Elliott^[11] 高度純化, Varner 和 Webster^[45] 又作进一步提純,最后又被 Varner 等^[44] 提純到表現上均匀的状态。該酶是一种較重的蛋白质分子,其沉降常数大約为 17.5S。

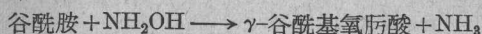
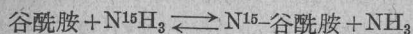
除了催化谷酰胺合成之外,純化的豌豆种子的酶,当以羧胺、酰胺和甲胺替代氨时,能催化 γ -谷酰

基氧肟酸, γ -谷酰肼和谷酰基 γ -甲胺的合成。Speck^[41] 和 Elliott^[10] 均証明,谷酰胺合成需要鎂离子,而錳离子的效力为鎂的三分之一。Denes^[9] 报道,鈷离子在其最适濃度条件下,对促进谷酰胺合成比同等濃度的鎂离子更为有效。此外,在鈷离子存在时可形成 L-谷酰基氧肟酸而不形成 D-谷酰基氧肟酸。与此相反,在鎂离子存在时則形成 D-谷酰基氧肟酸,而其形成速度約为 L-谷酰基氧肟酸形成速度的一半。Denes^[9] 的觀察已为 Varner 所証实,他发现鈷在谷酰胺合成中显示出同样的立体专一性。在鎂或鈷均可形成 8.6 微克分子 L-谷酰胺的条件下,用鎂时将形成 1.6 微克分子 D-谷酰胺,而用鈷时則仅形成不到 0.3 微克分子 D-谷酰胺。Varner 还研究了其他二价阳离子对谷酰胺合成的立体专一性的影响。表 1 示出,少量谷酰基氧肟酸,不仅在有鎂、錳和鈷存在的情况下可为豌豆种子的谷酰胺合成酶所形成,而且在有鋅和鉄存在的情况下也可被这种酶形成。錳、鋅和鉄对 L-谷氨酸的专一性与鈷所呈显著者相同。这些結果是很有意思的,因为它们指出不仅是酶蛋白,而且金属激活剂也影响着这一反应的底物专一性。

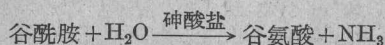
表 1 各种二价金属离子对谷酰基氧肟酸合成的立体专一性的影响

金 属 离 子	形成的微克分子氧肟酸	
	L-谷氨酸	D-谷氨酸
鎂 (1×10^{-2} 克分子)	0.85	0.80
鈷 (5×10^{-3} 克分子)	0.95	0.22
錳 (1.25×10^{-3} 克分子)	0.18	0.05
鋅 (5×10^{-3} 克分子)	0.11	0.01
鉄 (5×10^{-3} 克分子)	0.06	0.03

谷酰胺合成酶也催化下列谷酰基轉移反应:



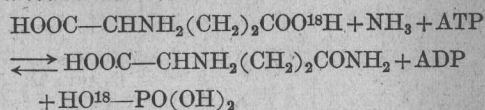
以及谷酰胺的“砷酸解作用”(arsenolysis):



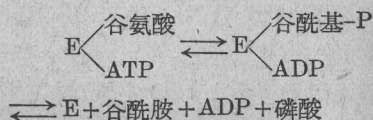
与谷酰胺合成酶有关的谷酰基轉移反应是被与

催化合成反应的酶的不同的酶所催化总是存在着疑問，但是純的谷酰胺合成酶^[44]既催化轉移反应，又催化磷酸解作用反应的事实消除了所有对一种酶催化所观察到的各种反应的疑問。谷酰轉移反应在有錳离子的情况下比在有鎂离子时进行得更快。轉移反应也需要二磷酸腺甙和磷酸盐或磷酸盐。同样，谷酰胺的磷酸解作用则需要二磷酸腺甙的存在。生物化学家对酶促谷酰胺合成的机制感到兴趣为时已多年了。根据涉及到三磷酸腺甙的其他反应推論，最初曾认为谷酰胺合成酶可能产生自发地与氨反应以产生谷酰胺的谷酰基-磷酸酯或谷酰基-ADP。然而，这些反应并不能解釋轉移反应的发生，而检测这些中間物或一种谷酰基-輔助因子中間物的合成的尝试都失败了^[11, 46]。Levintow 等^[22]试图根据合成反应的简单逆轉来解釋轉移反应，但同位素实验^[23, 46]証明实际情况并非如此。

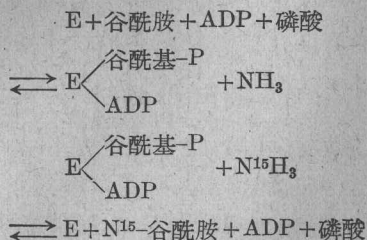
虽然没有证据証明在谷酰胺合成过程中将有一种游离谷酰基磷酸酯形成，但与酶結合的谷酰基-磷酸酯形成的证据却在增加。Boyer 等^[4]和 Kowalsky 等^[18]都証明谷氨酸羧基的氧轉移到由于谷酰胺合成而釋放出来的磷酸上。



这些結果为在谷酰胺合成时磷酸盐与谷氨酸盐的羧基鍵合(linkage)提供有力的证据。

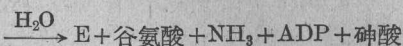
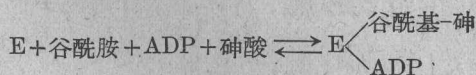


如果假定谷酰基轉移中的活性中間物是与酶結合的谷酰基-磷酸酯的話，那么这一机制是与谷酰基轉移反应和其对 ADP 和磷酸的要求相一致的。



根据这一公式，磷酸在谷酰基轉移中的作用可能是由于一种与酶結合的谷酰基磷酸酯中間物的形成。实际情况是否如此还不知道。然而，在谷酰胺的磷酸解作用的过程中有一种与酶結合的谷酰基-磷酸酯中間物的情况可从下列发现得到征象，即：磷酸的

氧會轉移到由谷酰胺的磷酸解作用所产生的谷氨酸的羧基上^[44]。因此，除了在氨、羧胺或其他的谷酰基接受体不存在的情况下，水能够作为来自谷酰基磷酸酯的谷酰基接受体这一点之外，磷酸解作用所遵循的机制可能和谷酰基轉移的机制相同。



轉移反应和磷酸解反应需要二磷酸腺甙是令人費解的。一种可能是，谷酰胺合成的逆轉所需要的二磷酸腺甙在谷酰胺結合到酶之前，就必须附在酶的表面上。

因此，我們知道了谷酰胺合成的一条化学途径，而有关催化这一反应的酶的知識正在不断地增加。将来的研究可能致力于确定谷酰胺合成反应的反应物是否必須按特定順序与酶結合。了解酶的“活性中心”(active site)的性质和这一中心在所有催化酰胺和肽的合成的酶是否都相同(或类似)是有益的。最后，了解谷酰胺合成酶所催化的反应是否是活細胞中的谷酰胺形成的惟一途径，以及了解谷酰胺的降解究竟是由谷酰胺合成酶的逆轉所催化，从而产生三磷酸腺甙，抑或是由一些与谷酰胺酶类似的酶所催化的，是很重要的。

天冬酰胺

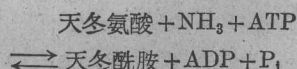
与我們有关谷酰胺合成的相当詳細的知識比較，能够得到的有关天冬酰胺生物合成的資料很少。有一些证据說明天冬酰胺可由天冬氨酸形成。Yamamoto^[56]报道，长豇豆的胚軸当用天冬氨酸和氨保温 3 小时，其天冬酰胺增加四倍。Webster 等^[53]发现，完整的羽扇豆幼苗能把 C¹⁴-天冬氨酸轉化为 C¹⁴-天冬酰胺(图 1)。这种轉化似乎相当直接，因为全标记的天冬氨酸产生全标记的天冬酰胺，而 C-4 标记的天冬氨酸产生 C-4 标记的天冬酰胺。Nelson 等^[30]曾把菜豆叶子暴露于 C¹⁴O₂ 之中，并测定了同位素在天冬氨酸和天冬酰胺的碳上的分布。結果发现，天冬酰胺中的同位素分布与天冬氨酸一样，因而作者得出結論說，天冬氨酸可能是天冬酰胺的前体。

C¹⁴-天冬氨酸向 C¹⁴-天冬酰胺的轉化已經在羽扇豆幼苗和小麦种胚的无細胞提出液中得到証明^[53]。这种轉化需要鎂离子，三磷酸腺甙和鎂离子。对反应物和产物的平衡的研究^[54]符合下面的



图1 ^{14}C -天冬氨酸参入到5日龄黄化羽扇豆幼苗的各分部^[33]

总反应:

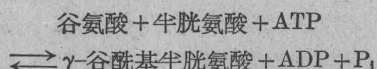


这一总反应是和谷酰胺合成反应一样的。无论如何,在促成天冬酰胺合成的酶或酶类被分离之前,还不能得出这样的结论,即,反应是按和谷酰胺合成完全相同的方式进行。这种推测性的“天冬酰胺合成酶”很难提纯,迄今,这种酶制剂仍然处于不纯状态。

必须考虑到这样的可能性,即天冬氨酸的直接酰胺化作用并不是天冬酰胺合成的惟一方式。虽然已提出几种别的途径^[29, 55],但对于这些途径在天冬酰胺的合成起作用的情况尚缺乏确切的证据。Mardashev等^[28]的报告中所提出的另一种途径可能是最有趣的,即肝提出液催化酰胺从谷酰胺转移到天冬氨酸以形成天冬酰胺。虽然这一转移未能在植物的无细胞提出液中被发现^[53],但Levintow^[21]已报道,谷酰胺的酰胺基,而不是游离氨参入到组织培养中的某些哺乳动物的细胞中天冬酰胺的酰胺基里去。查明这些结果是否真正由于从谷酰胺向天冬酰胺的酰基转移作用或由于其他过程是很重要的。

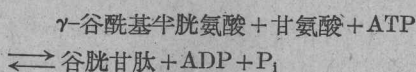
谷胱甘肽和其他肽

通过与三磷酸腺苷作用以形成谷酰胺和天冬酰胺的酰胺键的情况提示肽键亦可能按同样的方式形成。但是细胞应用了几种不同的反应机制。曾发现三肽——谷胱甘肽——的合成机制与谷酰胺合成的机制极其相似。谷胱甘肽在动物^[30]和植物^[46]中似乎是按同一种方式形成的。第一步包括谷氨酸和半胱氨酸的缩合作用:



然后,二肽—— γ -谷酰基半胱氨酸——与甘氨酸结

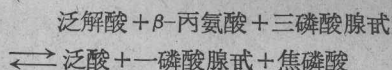
合以形成谷胱甘肽:



谷胱甘肽合成的每一反应分别由一种专一的酶所催化。促成 γ -谷酰基半胱氨酸合成的酶已从小麦胚^[51]和猪肝^[27]的提出液中加入提纯。最近,小麦胚的酶已在作者的实验室提纯到表观上均匀的状态。促成从 γ -谷酰基半胱氨酸合成谷胱甘肽的酶已从酵母高度地提纯,而从小麦胚得到较低程度的提纯。

虽然在谷胱甘肽合成中所涉及的两酶的性质似乎十分类似,而两者的作用方式尚不清楚。早期的磷酸交换实验提示,谷胱甘肽合成是通过与酶结合的磷酸酯中间物而进行的^[37, 40, 51, 52]。然而作者等已得到愈来愈多的证据证明情况可能不是这样的。当小麦胚 γ -谷酰基半胱氨酸合成酶经过高度提纯后,早期所报道的某些磷酸交换反应就得不到了。这种表观纯净的酶的活动实际上与谷酰胺合成酶很相似(尽管这种酶不形成谷酰胺)。由于纯化的谷胱甘肽合成酶的许多活动似乎也很类似谷酰胺合成酶的活动,因此 γ -谷酰基半胱氨酸和谷胱甘肽的合成似乎可能是分别通过与酶结合的 γ -谷酰基磷酸酯和 γ -谷酰基半胱氨酸磷酸酯的形成而进行。

然而,并非所有的肽键都以这种方式形成。泛酸的合成:



并不产生正磷酸作为产物^[26],因此,不大可能有泛解酸的磷酸化作用参与其中。代之,Maas^[25]发现泛解酸的羧基氧曾转移到在泛酸合成过程所释放的一磷酸腺苷的磷酸基。这些和其他结果使Maas^[25]得出结论说,泛酸合成是通过一种与酶结合的泛酰一磷酸腺苷化合物的形成而进行的,在该化合物中,泛解酸的羧基和一磷酸腺苷的磷酸之间形成了一种酐。

蛋白质合成

活细胞如何合成不同的蛋白质分子的问题现在正受到许多研究者的大力研究。从这许多研究中,至少有一种蛋白质合成途径的轮廓始现端倪。通过这种途径,蛋白质合成按两个主要步骤进行。第一步是氨基酸在三磷酸腺苷存在下,通过其与一些未鉴定的辅助因子相作用而被激活以形成氨基酸-辅助因子化合物。第二步似乎是这些经激活的氨基酸为一种核蛋白酶系统催化而缩合以形成一种蛋