

研究叶綠素生物合成的 示踪原子法

A. A. 施勒克 著

311

1

科学出版社

研究叶綠素生物合成的 示踪原子法

A. A. 施 勒 克 著

王 軍 范 紅 譯

科 學 出 版 社

1961

А. А. Шлык
МЕТОД
МЕЧЕНЫХ АТОМОВ
В ИЗУЧЕНИИ БИОСИНТЕЗА
ХЛОРОФИЛЛА
Изд. АН БССР 1956

內 容 簡 介

植物光合作用的問題已成为世界各国科学研究的重点之一，而有关叶綠素的知識，又成为这个問題的重要項目。本书内容是介紹叶綠素的化学特性、物理特性以及其生物合成的基本概念，对于研究叶綠素生物合成的方法，詳細地介紹了近年来应用逐渐广泛的示踪方法。此外还指出了叶綠素和动物体中的亚鉄血紅素相类似之点，由于叶綠素在医学和畜牧兽医上的应用和叶蛋白質的研究日漸增多，本书也敘述了这方面的科学知識。

本书可供作植物生理工作者、生物化学工作者的参考資料。

研究叶綠素生物合成的
示踪原子法

[苏] А. А. 施勒克 著
王 軍 范 紅 譯

*

科学出版社出版 (北京朝陽門大街 117 号)
北京市书刊出版业营业許可証出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷 新华书店总經售

*

1961 年 8 月第 一 版
1961 年 8 月第一次印刷
(京) 0001—3 000

书号: 2370 字数: 207,000
开本: 787×1092 1/27
印张: 8 20/27 插頁: 9

定价: 1.25 元

目 录

第一章 緒言:光合作用与叶綠素的問題	1
第二章 关于叶綠素及其生物合成的基本概念	9
一. 叶綠素的化学特性	9
二. 吡咯核的形成是叶綠素生物合成的最初阶段	22
三. 吡咯核在卟吩骨架中的結合	26
四. 原叶綠素是植物体中叶綠素的直接前体	41
第三章 碳水化合物对植物体中叶綠素形成的影响	47
第四章 用放射性碳同位素示踪的葡萄糖的制备	56
一. 在含 $C^{14}O_2$ 的空气中进行光合作用的裝置	56
二. C^{14} 在糖分子上的分布与光合作用状况	63
三. 結晶 C^{14} -葡萄糖的获得	70
四. 用放射性色层分离法获得純粹的 C^{14} -葡萄糖	72
五. 多次色层分离方法	81
第五章 示踪色素的分离及其放射性的計量	92
一. 有关叶綠素生物合成和用色层分离法在蔗糖上分离色素的 試驗布置	92
二. 示踪色素在紙上的对照色层分离	99
三. 色素制剂放射性的計量	109
四. 計量結果的校正	114
第六章 碳水化合物、醋酸盐、甘氨酸在叶綠素生物合成 中的作用	124
一. C^{14} -葡萄糖結晶制剂是叶綠素和类胡蘿卜素的示踪碳源	124
二. 用放射性色层分离法提純的 C^{14} -葡萄糖是質体中色素生 物合成的碳源	126
三. 葡萄糖参与叶綠素分子上吡咯部分和叶綠醇部分的生物 合成	130
四. 醋酸盐作为質体中色素生物合成的碳素来源的作用	134

五. 甘氨酸的羧基参与叶绿素和类胡萝卜素的生物合成过程	138
第七章 绿色叶子中叶绿素的更新	141
第八章 植物体内碳水化合物代谢及其参与叶绿素生物 合成过程的途径	168
一. 碳水化合物是构成叶绿素分子的原始材料	168
二. 碳水化合物代谢的基本途径	170
三. 有机体内醋酸盐的形成和转化	174
四. 醋酸盐是碳水化合物利用于叶绿素生物合成中的中间阶段 ..	179
第九章 叶绿素分子卟啉骨架形成的化学作用	181
一. 形成卟啉和亚铁血红素化学作用的相同点	181
二. 由醋酸盐和甘氨酸生物合成亚铁血红素	183
三. 醋酸盐和甘氨酸参与吡咯核形成的机制	187
四. 卟啉胆素原转化成卟啉	196
五. 关于甘氨酸羧基在叶绿素生物合成中的作用	211
六. 叶绿素的卟啉骨架形成的图式	214
第十章 叶绿醇和类胡萝卜素的形成	217
一. 碳水化合物是类胡萝卜素和叶绿醇生物合成的原始物质	217
二. 醋酸盐在类胡萝卜素和叶绿醇生物合成中的作用	219
结 语	226
参考文献	227

第一章 緒言：光合作用与叶綠素的問題

光合作用和叶綠素的研究工作，成为苏联大多数科学家們的注意中心已有很多年了，自 K. A. 季米里亚捷夫^[162, 163] 开始，在上世紀的 70 年中奠定了关于光合作用和叶綠素在其中的作用的現代学說基础后，俄罗斯的科学家人們就坚持不懈地从事于对自然界中这个最重要的現象的研究。

И. П. Бородин、М. В. Ненцкий、М. С. Цвет 和 В. В. Челинцев 在对参与光合作用中的色素的化学特性的研究工作中，作出了非常宝贵的貢獻。早在本世紀初，在 Н. А. Монтеверде、В. Н. Любименко 和 Д. И. Ивановский 进行的研究工作中，就建立了关于植物光合作用器官的构造和形成的現代概念。卓越的光合作用研究者们 Ф. Н. Крашенинников、С. П. Костычев、А. А. Рихтер、В. А. Бриллиант 等的研究成果，具有极重要的意义。

現在，А. Н. Теренин、А. Л. Курсанов、А. П. Виноградов 和 Н. М. Сисакян 等苏联科学院院士与 А. А. Красновский、А. А. Ничипорович、А. М. Кузин、Е. А. Бойченко 等教授，以及 В. Б. Евстигнеев、О. П. Осипова 和其他的研究者们，正在我們祖國的首都从事于这些問題的研究。列宁格勒的科学家們——苏联科学院通訊院士 С. Д. Львов、В. А. Чесноков、Е. Р. Гюббенет、О. В. Заленский 和 Д. И. Сапожников 的研究工作也享有盛譽。乌克兰的研究者们 В. Б. Даниным 和 М. С. Ашкинази 也在研究一些很有趣的問題。在白俄罗斯苏維埃社会主义共和国科学院里，Т. Н. Годнев 教授很多年来都在研究植物体内叶綠素的形成和状态的問題^[53, 75]，这本著作是这些研究工作的一部分。

在其他的国家里，也有大批的叶綠素研究者們在进行这项工作。S. Grahick 和 L. Bogorad、V. Koski 和 J. Smith、R. Della Rosa、K. Altman 和 K. Salomon、S. Aronoff 以及其他的研究者們，在解决植物体内綠色素的生物合成問題方面，作出了很大的貢獻。

这样广泛的科学家联合研究光合作用，特别是叶綠素，是由于这个问题非常重要。K. A. 季米里亚捷夫曾經这样确定过叶綠素的意义：“叶綠素……是这样一种物质，缺少了它地球上就没有生命。”^[162, 162頁] 他曾不止一次地強調指出，叶綠素和含有叶綠素的綠叶，实现着“宇宙的作用”，它积蓄了太阳能并合成了有机物质，同时也丰富了空气中的氧，这就保证了生物界得以生存。现在同样也证实了，现代地球大气中的氧的来源，是有賴于綠色植物的光合作用活动^[15]。因此，呈现在我们面前的光合作用，不仅是植物生命活动的主要作用之一，而且还是这样的一种因素，它可以在很大的程度上决定着我們行星的一切面貌和地球上发生的一切生物学的，甚至是重要的地質学的过程。

K. A. 季米里亚捷夫指出了，叶綠素是植物长期进化的結果所形成的，并且逐渐地适应于为了它自己的发育而最有效地利用太阳能。因而，研究叶綠素对于探討地球上生命发展的問題，具有很大的意义。尤其当 K. A. 季米里亚捷夫在解决关于其他行星上生命存在的問題时，曾經特別注意到查明叶綠素在行星上的出現^[162, 460頁]。

光合作用在农作物产量的形成中，起着格外重要的作用，它創造了不低于产量的 90—95% 的干重^[132, 9, 122—135頁]。常常与光合作用相矛盾的生长作用和其他作用对产量的影响，首先就是通过光合作用的变动并依靠其生产效率的增大或減低来实现的。“通过光合作用的强度、叶面积或植物体的增大，以及光合作用工作时间的增长，而提高了光合作用的生产效率，就能提高产量。”^[69]

光合作用在提高那些收获全部植株的作物(譬如草本的)的生产量方面的作用，是特別显著的。不过 B. M. Катунский 指出

了,禾谷类作物的产量,在很多时候都决定于它本身发育最紧要的时期中的光合作用强度^[78]。

把光合作用作为提高生产量的因素来加以研究,是苏联科学家们面临的重要任务之一^[134]。有关光合作用和叶绿素的研究工作,能促进党和政府的历史性决议中向人民提出的农业领域内的基本任务得到解决。

社会主义国家的先进工作者的经验的分析指出,很多农作物的最高产量,都是特别注意到满足植物的一切需要的结果而获得的,其中也包括依靠光合作用强度的提高^[132,178]。这个因素在所有改善了农业技术条件中,应该起着特别重要的作用。如象 A. A. Ничипорович 强调指出的,植物生长作用进程的强度愈能得到保证,植物光合作用器官的工作表现为限制因素的程度就愈大。

当植物生长作用进程的强度最大时,植物贮藏器官里的这些物质(甜菜的糖,马铃薯的淀粉等等)含量的百分率就成倍地降低,我们栽培这种或那种作物,就是为了获得这些物质。因此,提高光合作用的强度对争取得到优质的产品方面,起着重要的作用。“……我们把提高农作物产量的问题考虑得愈深入,就应该愈加注意农作物光合作用器官的研究工作……”^[132]

同时必须指出,农作物的产量随光合作用强度为转移的情况是极复杂的,为了大大地提高我们庄稼的生产量,不仅要做到提高光合作用的能力,而且还要做到最大限度地满足植物所有其他的需要,这是非常重要的。

显然,研究光合作用应该使其实际掌握方法来控制植物的产量,并且不单是在量的方面,而也包括质的方面^[178]。

研究光合作用的机制,就使我们日益接近实现 K. A. 季米里亚捷夫关于人工光合作用的理想,人工光合作用是有可能在更高效率地利用贮存在地球上的太阳能的情况下,不依靠植物而获得大量的有机物质。季米里亚捷夫曾写道:将有一天,经过很多科学家顽强和精心的劳动之后“……会出现聪明的发明家,并会提出一种仿效叶绿粒的装置——从一端获得了免费的空气和日光,从另

一端就送出烤好的面包来——而震动世界。”[162, 258頁]

某些作者发表了这样的假定：叶綠素在农业中的意义不只是局限于它参与了光合作用。譬如，还在1916年俄罗斯科学家 П. П. Подъяпольский 就提出了关于叶綠素在动物营养中的作用問題^[144]。的确是可能的，动物在很多世紀的时期中，所摄取的綠色飼料含有大量的叶綠素，它在生理上已适应于动物的吸收和消化了。不久以前曾公布过这样的消息，全苏农业动物飼养研究所获得的材料表明叶綠素在畜牧业中有重要的作用。很多試驗指出了，在牛的冬季飼料中叶綠素含量缺乏时，就会使得血中的血紅素显著減少。按照作者的意見，叶綠素如維生素一样，不能用任何其他物質来代替它作为动物飼料的組成部分。在研究者的試驗里看出，飼料中缺乏叶綠素，就会引起动物有机体极度的失調，使它的生产量和繁殖力降低，并丧失对各种病害的抵抗能力。可惜，上述的工作沒有引証直接的实验結果，也沒有叙述試驗設施的方法。这一切都不能断定作者所作出的某些結論可被認為是得到証实的，而需要在以后的試驗中作某种程度的研究。

近年更常有一些关于叶綠素在医学中应用的报导^[59, 199頁, 238]。叶綠素的化学构造与亚鉄血紅素的分子結構的密切关系，可以制約着人体和动物体的造血作用。同时，叶綠素又是貴重的治疗剂，它可提高有机体总的紧张度，并加速其生长。同时还有一些資料証实了叶綠素对伤口癒合过程有良好的影响。叶綠素和亚鉄血紅素化学結構的密切关系，还可預料叶綠素具有抗細菌的特性，不久前对一些氯化血紅素制剂进行过这类研究^[66]。最近发表过这样的消息，在一定条件下，从叶綠素中可形成抑制細菌生长的物質^[210]。如果回忆一下，叶綠素可以与它在植物体中經常不离的伴侶——大家所知道的，起着維生素A原作用的胡蘿卜素——同时被引用入人体内，那末叶綠素作为医疗葯剂的价值就更加增大了。

由于研究光合作用和叶綠素有特別重大的理論和实践的意义，所以这个領域内的工作不仅是引起了很多生物学专家，而且还有物理学和化学专家們越来越多的注意。解决現代科学这样复杂

和多方面的問題，光合作用的問題即是如此，需要应用先进的米丘林生物学或是現代化学和物理学的一切成就。

最卓越的俄罗斯自然科学家——K. A. 季米里亚捷夫、M. C. Цвет、Ф. Н. Кращенинников 和其他人等，是所有的光合作用研究者們的光輝榜样，他們对各种各样的科学領域也具有渊博的知識。这些科学家們基本上都是生物学家，不仅能很好地通晓当代的化学和物理学的最新成就，而且他們自己的工作还对这些科学的发展作出了很大的貢獻。

苏联的化学家和物理学家們——A. Н. Теренин 院士、A. П. Виноградов 院士、Э. В. Шпольский 教授和其他人等等——参与了光合作用和叶綠素的研究工作，大大地促进了我們在这个科学領域內的知識的发展。不过，苏联科学还面临着这样一个任务，就是更广泛地吸收各方面的专家們来研究象光合作用这样一个自然界中最重要的合成过程^[134]。

全苏光合作用會議在自己的決議中特別強調指出，为了使研究現代光合作用工作更有成效，生物学家、物理学家和化学家們必須繼續共同努力^[145]。今天这就更特別重要了，正如 C. И. Вавилов 院士所指出的，“……研究光合作用的新阶段已在我們的眼前展开，在这項工作中已經使用具有人工放射性碳、重水、电子显微镜和其他等等現代最精密和最复杂的仪器了。”^[13]

各門科学的代表共同合作研究光合作用，不論对生物学，或是化学和物理学，都丰富了若干新的資料。“光合作用老早已不再是生物学的范围；而在同样程度上也是化学和物理学最有趣的部分。”^[146] 按照 C. И. Вавилов 院士正确的指示，显然这个問題的解决，同时也可揭示出物理学和化学科学領域內新的原則性的規律^[13]。

在現在的工作中，我們已試圖应用象示踪原子法和色层分析法这样一些物理化学的方法，来研究叶綠素天然合成的化学特性。

研究叶綠素在植物体内的形成，是探討光合作用問題的最重要的課題之一。引起植物体内形成复杂的叶綠素分子結構的化学

过程,迄今还阐明得不够。也未实现在实验室里圆满地合成叶绿素。其实,叶绿素生物合成的机制和影响这个过程所有方面的知识,具有最重要的实际意义,因为“……不论是农业或林业生产,首先都生产出叶绿素,并借助于叶绿素而获得谷粒、纤维、木材等等。”^[163, 220页]到目前为止,实际上植物失绿症的原因还未弄清楚,当叶子中缺少叶绿素时,就会妨碍叶子的正常生命活动。扩大我们关于叶绿素生物合成的化学特性方面的知识,可提高我们的兴趣,并能帮忙我们了解这种色素和光合作用的进化过程。

当代卓越的物理学家 Ф. 约里奥-居里曾声称过:“虽然我相信未来的原子能,并深信这种发现的重要性,不过我认为,只有在我們已能实行大量合成与叶绿素相似或质量更高的分子时,才能进行现代能力学的变革。”^[164]这就最明显地表示出,我们研究上面所指出的问题的意义

在与叶绿素生物合成有关的大批问题中,关于构成叶绿素分子的原始材料是最重要的问题之一。

В. И. Палладин 还在上世紀的 90 年代^[138]和其他一些作者在早些时候就都已指出了,碳水化合物对黄化叶子转绿的过程有良好的影响。大部分研究者们认为,这种影响全是由于碳水化合物对细胞正常的生命活动有作用。不过完全可以设想,碳水化合物作为原始物质直接参与了质体色素的生物合成。我们认为,用示踪原子法就可确定,植物体内的叶绿素生物合成与碳水化合物代谢之间有最肯定的关系。我们借助于把用放射性同位素碳标记了的葡萄糖制剂引入绿叶中的方法,而能在被描述的试验中指出,碳水化合物真正是构成叶绿素和类胡萝卜素分子的原始材料。

不过,在这个过程中全部用化学来解释利用碳水化合物的机制,会引起很大的困难。诚然大多数的研究对植物体内叶绿素分子组成的化学特性还揭示得很少,但由于近年来广泛地利用示踪原子法,已使亚铁血红素——与叶绿素极相近的动物血中的着色物质——生物合成方式的研究工作,达到了最大的进展。可以肯定地证实,在利用醋酸盐和甘氨酸分子的碳和氮作为唯一的来源

时,亚铁血红素的分子也許就会全部形成了。这个过程的机制已在一定程度上得到闡明。

虽然缺乏直接的証据,但有很多理由可以假定,亚铁血红素和叶綠素的天然合成图式是相同的。因此,在試驗醋酸盐和甘氨酸对叶綠素合成作用的关系时,都表现得极引人注意。如果,这些物质在叶綠素形成过程中的利用情况,表现得与亚铁血红素生物合成时所观察到的相似,那末,把已研究好的血色素生物合成的图式,用于植物体内叶綠素发生的过程,就显得很可能了。在我們研究进程中所获得的結果,証实了这样一个假定:可以拟定出导致形成叶綠素分子的反应的設想图式。这些材料,同时也是 M. B. Ненцкий 关于植物界和动物界的两种最重要的色素有密切的亲緣关系的理想的新証据^[128]。

叶綠素的合成与植物总的新陈代謝,特别是与碳水化合物代謝的密切关系,已由上述的試驗說明了。

导致叶綠素分子构成的反应体系,是与主要的生物化学过程之一——三羧基酸循环——有直接的联系。在随后的研究中給予了很大的注意来周密地考查,叶綠素的形成与植物总新陈代謝的这种关系,并首先要揭示出叶綠素的合成作用是否只有在叶子和叶綠体生长的时候才会发生。或者它是一种經常流入有叶綠素的細胞的过程。在为了解决这个問題而設置的試驗中闡明了,叶綠素的形成作用是綠叶經常不变的机能,并且它是以显著的速度来實現的,当时甚至連色素的总含量都还未改变。叶綠素在叶子整个生活过程中进行合成和遭到破坏,就这样逐漸地更新。

我們在現在的研究工作中,力图对所安排的問題要获得这样的答案,那就是只可在原則方面完全肯定,而不是提出任务来詳細地研究已发现的現象和对它們作出数量上的評价。因此,我們特別注意拟定出專門的實驗方法,它将使所进行的試驗的基本結論不再成为疑义。我們力求能够充分保持这样一个原則,根据这个原則并在有其他同样精細的輔助方法相伴随的情况下,利用示踪原子法而能获得最可靠的結果。

虽然在研究工作中已涉及到某些有关示踪原子法的一般性问题,譬如测定放射性的方法,但我们认为用不着去描述其中在放射性指示剂的研究工作中所采用的普通措施,因为它们已在近年来的文献中阐述得十分详尽了。由此可见,这本书不是初次领会示踪原子法的实际指南。它首先是针对着生物学家和化学家们、以及从事于光合作用和叶绿素的研究工作或研究天然化合物的生物合成领域内的专家们的。

犹如所有其他的放射性同位素研究工作一样,我们的工作也是为了人民的幸福和认识自然的奥秘而和平利用原子能的很多方法之一。

提请读者们注意,本书所叙述的试验研究工作,是作者1951—1954年内在白俄罗斯苏维埃社会主义共和国科学院生物研究所进行的¹⁾。

不论是这本著作的实验完成的或是取自于刊物的部分,都曾经过白俄罗斯苏维埃社会主义共和国科学院院士 Т. Н. Годнев 教授直接指导,作者谨表示衷心的感谢。作者还要感谢 А. Н. Теренин 院士和 А. П. Виноградов 院士, А. А. Красновский、Е. Р. Гюббенет、В. А. Чесноков 等生物学博士和化学博士 М. М. Павлюченко 教授等人参加原稿的审查工作,以及 А. А. Кузин 教授和 И. Н. Верховский 教授指导我们首次熟习示踪原子法。

1) 应当指出,由于文稿的准备工作基本上是在1954年中期完成的,所以,较为晚期的文献我们就采用得很少。

第二章 关于叶綠素及其生物合成的基本概念

一. 叶綠素的化学特性

虽然最先注意到有关叶綠素的問題、以及进行从綠叶中将它分离出来的首批試驗,大概还是在 17 世紀的时候了^[83,97頁],可是确定出这种化合物的化学特性,只不过还是不久以前的事。

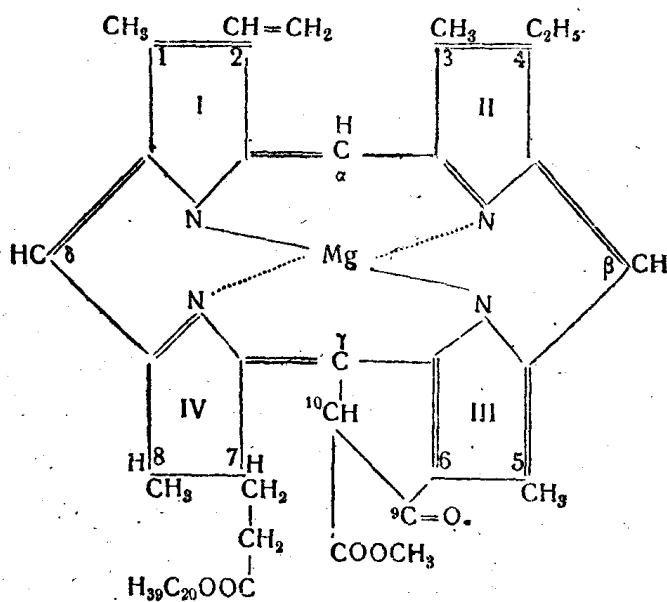
在 1901 年, М. С. Цвет 根据 К. А. 季米里亚捷夫的資料而得出这样的結論,在叶綠素的分子中“……具有固定的色素組,能够发生轉向的变化。”^[171,156頁] М. С. Цвет 借助于色层分离法的研究而指出了,自然的叶綠素是两种甚为近緣物質的化合物,它們后来就称为叶綠素 a 和叶綠素 b. 由于俄罗斯的生物化学家 М. В. Ненцкий 和他的同事們 Л. Мархлевский、И. Залесский 以及其他等人的研究工作,这些化合物的特性才能被揭露,他們的研究工作标志着叶綠素的精密化学研究工作的开始时期。

根据产生叶綠素和血液的着色物質——亚鉄血紅素的相似之处, М. В. Ненцкий 在 1896 年^[127] 按照季米里亚捷夫的观点^[164,191頁] 而提出了关于两种色素发生的共同性的“光輝的”假說. Ненцкий 指出了,在它們的組成中具有同样的吡咯核(环)^[126,133],他并且提出了这些化合物化学結構的最初的图式^[129],当然,以后还有很大的变化. 在 Л. Мархлевский^[114,115]、R. Willstätter^[355,356]、W. Küster^[280]、В. Челинцев^[175,176,177]、Т. Годнев^[19,22,24] 和特别是 Н. Fischer^[169,243,244] 的工作中,发展了 М. В. Ненцкий 的观点,并使得現在能确定出叶綠素和亚鉄血紅素的展开的結構式¹⁾ 只不过是其中的个别元素还需要加以确定。

1) 这些研究的历史,已詳細地闡述于 Т. Н. Годнев^[31,38,34,37,43]、Е. Р. Гюббенет^[53]、В. Н. Степаненко^[168,169] 在不同年份所发表的評論中。

由此可见 具有相同的吡咯核作为叶绿素和亚铁血红素的基础,它是与卟啉环相结合的。附加的环戊烷等把叶绿素与卟啉环连接起来,因而形成了卟吩(Форбин)系统。此外,叶绿素还有一些其他的特性,其中最重要的是吡咯核IV的氢化作用和以酒精(叶绿醇)使它的丙酯酯化,以及用镁代替铁原子。在侧链的结构中有一些不同,叶绿素b的3-甲基的位置,可被醛基补充代替。

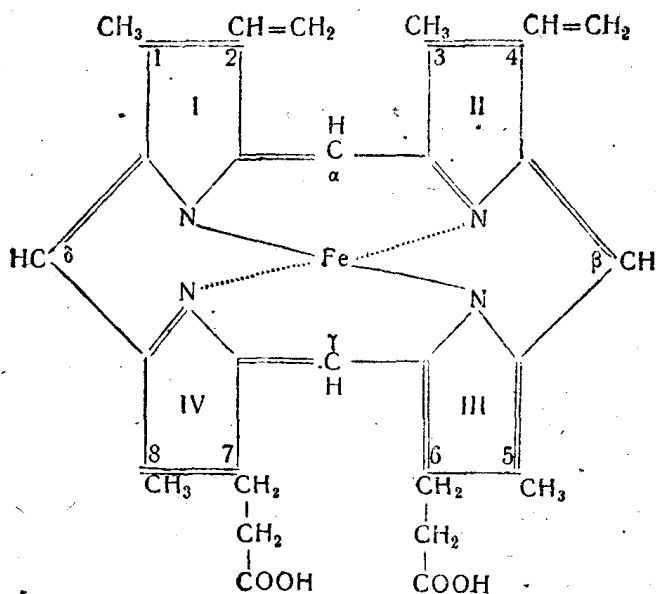
发现在某些细菌的细胞里,细菌叶绿素的色素是以细菌卟吩作为基础构成的,并且不同于叶绿素a的地方是第二个吡咯核中3-4双键的氢化作用,以及两个乙酰—— COCH_3 代替了乙烯基的位置。



叶绿素 a

K. A. 季米里亚捷夫最先发现原叶绿素与叶绿素极为近似,不同于叶绿素a的地方只是吡咯核IV缺少两个氢化的氢原子。

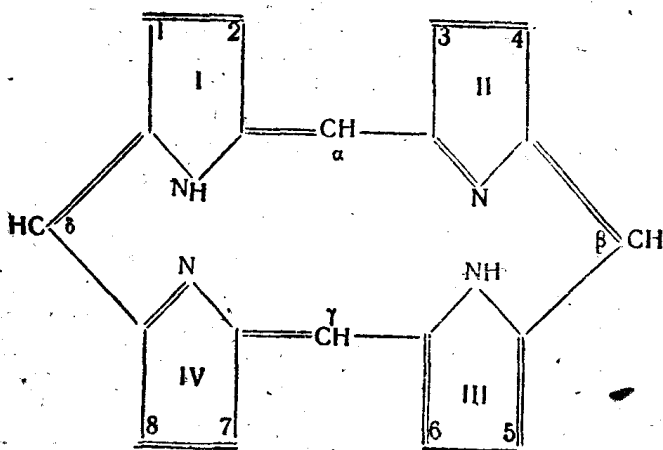
叶绿素a的合理的名称如下: 1,3,5,8-四甲基-4-乙基-2-乙烯基-9-氧化-10-甲酯基-卟吩-7-叶绿酯丙酸的复合镁盐。对于原叶绿素常用的合理的名称是: 镁-乙烯基-去镁卟吩 a_s 的叶绿酯,



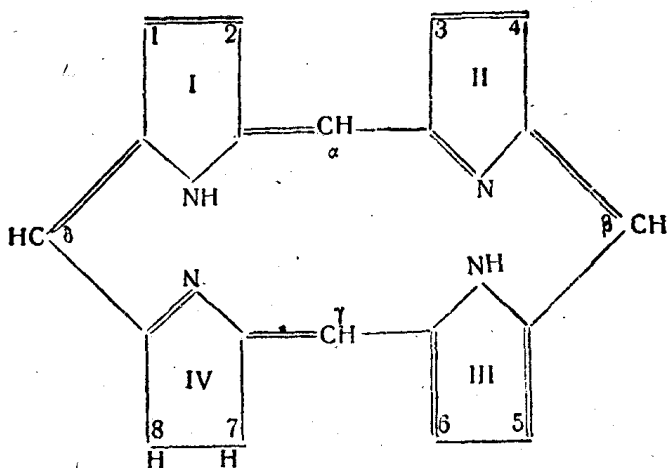
亚铁血红素

它能充分代表出这种物质与后面提到的一些其他的化合物的关系。

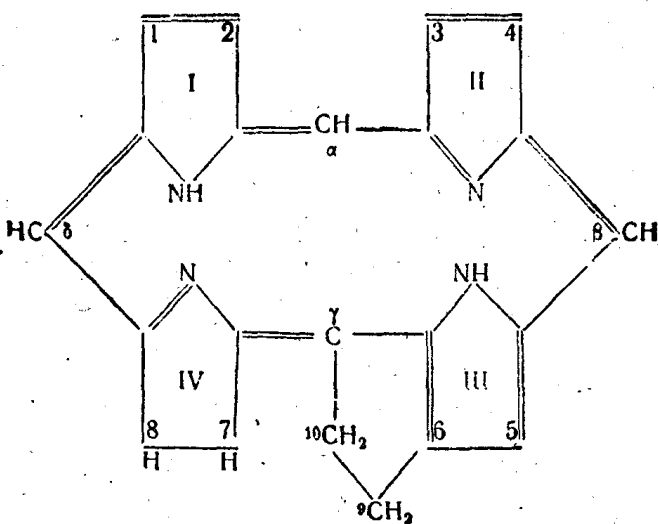
前面所指出的血色素的结构，已在实验中用化学合成方法证



卟吩



二氢卟啉



附氯

实了。叶綠素分子的基本骨架的合成作用已在进行着,在目前尚不足以从最簡單的产物中充分实现这个合成作用,而只是在一个阶段——当乙烯基根保持在第二位置的情况下,7-8 双键的氯化作用使卟啉轉变为二氢卟啉(хлорич)。叶綠醇——酯化叶綠素分