

植物氨基酸生物合成及其调节研究的进展

何卓培

(中国科学院上海植物生理研究所细胞生理室)

蛋白质的与非蛋白质的氨基酸

从植物分离出的氨基酸在一百种以上。醇不溶的残渣水解后释放的氨基酸，通常在蛋白质水解物内发现，叫蛋白质氨基酸。在蛋白质水解物以外遇到的氨基酸叫非蛋白质氨基酸。一般认为：

(1) 非蛋白质氨基酸是次生产物，在植物生长发育中似不起直接作用；其中某些如高丝氨酸或刀豆氨酸似乎在氮的运输和贮藏中起作用。

(2) 醇溶性氨基酸组成是极其易变的，并且与蛋白质氨基酸组成没有直接关系^[1]，即醇可溶的氨基酸不一定是蛋白质合成的前体或蛋白质分解的直接产物。Cornell 研究组指出醇溶的氨基酸组成受植物种、植株部位、生长阶段和营养、光周期等环境因素影响。Bidwell 等用组织培养材料的研究认为存在两种游离氨基酸库，一种是代谢活跃的对蛋白质合成直接作出贡献的“准备支付库”，另一种是来自蛋白质分解的“贮藏库”。

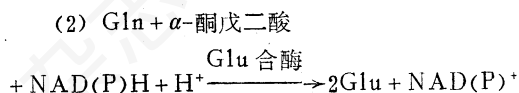
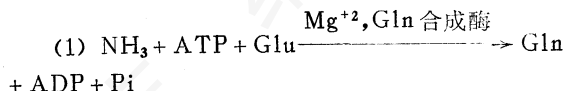
氮进入有机物的主要途径

植物可利用的氮化合物中，只有氨是能直接掺入有机物的。蛋白质氨基酸的碳架来自光合固定碳，酵解和 TCA 循环中的几个中间体(3-磷酸甘油酸，4-磷酸赤藓糖，5-磷酸核糖，磷酸烯醇式丙酮酸，丙酮酸， α -酮戊二酸，延胡索酸和草酰乙酸)。

直到 1973 年还认为，在高等植物，氮进入有机物的主要途径是通过 Gln 合成酶产生 Gln 和通过 Glu 脱氢酶 (GDH) 产生 Glu。

GDH 定位于线粒体(用 NADH^+)、叶绿体(用 NADPH^+)或前质体内，但植物的 GDH 对 NH_3 的 K_m 最低值也达 6mM ，这值高于植物组织内常见的 NH_3 浓度，而且这样高的 NH_3 浓度足以使光合磷酸化解联。在野胡萝卜组织培养的培养基中少到 $0.1\text{mM}\text{NH}_4\text{Cl}$ 也能使细胞扩大，该浓度的 NH_4^+ 可以说低到不能被 GDH 催化来生成 Glu；但 Gln 合成酶和 Glu 合酶可以有效地代谢这个浓度的 NH_4^+ 。1974 年起，从胡萝卜和假挪威槭的悬浮培养物以及豌豆根证明高等植物也有 Glu 合酶，它能用 NADH^+ 或 NADPH^+ 作电子供体，用 Asn 或 Gln 作酰胺的供体。叶绿体中的这酶则需要还原型铁氧还蛋白。

现在认为，更可取的主要途径是通过 Gln 合成酶和 Glu 合酶两者的协同作用：



该系统与固氮生物中的途径类似。至于式(1)中 NH_3 的最初受体 Glu 从何而来？也许是在最初同化 NH_3 时细胞的分室作用满足 GDH 催化反应所需那样高的 NH_3 浓度，从而提供那最初受体 Glu 的。

转氨酶

植物细胞内普遍存在转氨酶。蛋白质氨基酸生物合成的近九十个反应之中有 14 个反应是由转氨酶催化的。那些“开头”的氨基酸大部分通过转氨作用生成。有可能存在少数转氨

酶，而具有多底物的专一性。大多数氨基酸的任一种能作为多种酮酸的氨基供体，而在这些转氨酶反应中 Glu 常作为氨基的供体起着关键的作用。转氨酶定位于细胞质、叶绿体和微体内。

定位在叶绿体的转氨酶的活力可能在氨基酸合成中起重要作用。标记实验证明，CO₂ 中的 C 迅速进入 Glu、Asp、Ala、Ser 和 Gly 中。图 1 示光合作用时推测叶绿体合成氨基酸之散开的电子往返系统。通过叶绿体内的 GDH，或者 Gln 合成酶和 Glu 合酶的作用能产生 Glu。然而叶绿体内氨基酸合成需要不断供给适当的酮酸，推测 α-酮戊二酸可能在叶绿体内产生，而丙酮酸和草酰乙酸可能从细胞质或者从叶绿体光合作用产生的磷酸甘油醛所产生。在叶绿体内进行转氨作用产生 Ala 和 Asp。叶绿体内氨基酸生物合成需要细胞质内产生的酮酸，这多少解释了何以离体的叶绿体很少氨基酸合成，而在完整的光合组织则碳很容易进入氨基酸。如果把 CO₂ 供给离体的叶绿体并有适当的酮酸时，则氨基酸合成可继续进行。Wightman 等最近评述过转氨酶的特性^[2]。

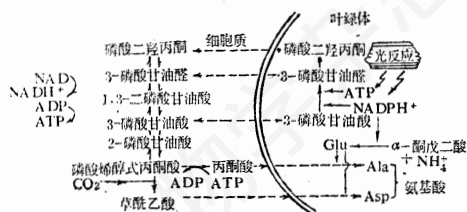


图 1 推测在叶绿体和细胞质之间存在散开的电子往返系统

氨基酸的生物合成

对植物中氨基酸生物合成所涉及的全部酶和中间体的研究不如用微生物和动物做材料的研究那么详尽。一般是用同位素示踪技术确定可能的前体与产物的关系或鉴定中间的酶。另一方法是像 Dougall 等用追踪预料的中问体对标记从前体到产物之转移的影响来确定反应

顺序。从目前结果看来，关于植物中合成途径的知识是不完全的，它与细菌中的合成途径大体上一样，但影响合成作用的调节有的是植物特有的。植物氨基酸生物合成途径中有许多酶联结于质体的证据正在增多。

天冬氨酸族氨基酸的生物合成

顺序如图 2 (括上号码的是已经离体鉴定存在于植物细胞的酶，下同)。草酰乙酸或延胡索酸的氨基化可以合成 Asp。GOT(1)是最早研究和叙述最多的植物转氨酶之一。部分纯化的制备物证明此酶对 Glu 和草酰乙酸有专一性并受磷酸吡哆醛所促进。此酶有一部分定位在质体内。

Asp 容易转变成 Asn，它在多种植物的细胞内大量积累。Asn 的合成机理仍未弄清，关于它的酰胺氮的前体，有报告是 NH₃，有的报告类似动物细胞中那样，说 Gln 比 NH₃ 更有效^[3]，从黄化羽扇豆幼苗检出需 Gln 的 Asn 合成酶 (2)；此外，氰化物也能作为 Asn 之酰胺氮的前体。

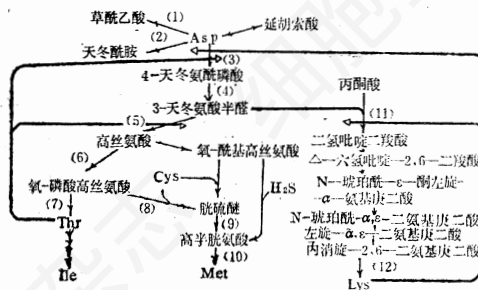


图 2 天冬氨酸族氨基酸生物合成途径

- (4) 天冬氨酸-β-半醛脱氢酶
- (6) 高丝氨酸激酶

Thr 从 1970 年起植物中证明有天冬氨酸激酶(3)。已从胡萝卜组织培养部分纯化，研究了它对其末端产物反馈的敏感性。而且同时用胡萝卜悬浮培养与全根检测出酶(3)有两种，依其比例不同，两种材料来源之酶(3)对 Lys 和 Thr 之反馈抑制反应的敏感性也不同^[4]。

高丝氨酸通常不怎么积累，但在萌发的豌豆中却是显著的。植物中通过高丝氨酸转变

为 Thr 的证据主要基于 Dougall 等证明^[5], ¹⁴C-葡萄糖标记物进入玫瑰组织培养中蛋白质 Thr 残基, 这受体同时施用不标记的高丝氨酸所抑制。高丝氨酸脱氢酶(5)也已在豌豆幼苗和玉米根中检出。用胡萝卜悬浮培养的实验指出酶(5)受 L-Thr 和 L-Cys 的反馈调节^[6]。Gengenbach 等用玉米五种实验材料, 有: 三天黄化的地上部和根、玉米粒、愈伤组织培养和细胞培养, 指出从 Asp 到高丝氨酸之转变主要受 Lys 对 Asp 激酶(3)和 Thr 对酶(5)的反馈调节^[7]。

甜菜或萝卜叶中苏氨酸合酶(7)受 S-腺苷甲硫氨酸(SAM) 促进其活力高达十倍, SAM 影响催化的最大速度而不是 K_m 。当加入 SAM 与 Cys 两者时, 对酶(7)活力的促进减小。没有 SAM 时, 很低量的酶(7)会使大部分的氧-磷酸高丝氨酸用作 Met 合成。不清楚细胞内 SAM 的浓度是不是 Met 满足的指示剂。

Met 用水稻愈伤组织的实验指出高丝氨酸可变为 Met。这转变似乎是可逆的, 因为 Met 标记的 C 能掺入高丝氨酸, 后者在豌豆苗显著积累。有证据表明氧-磷酸高丝氨酸是胱硫醚合酶(8)之生理底物, 该酶还未纯化。胱硫醚能以 β -消去反应水解产生高半胱氨酸, 丙酮酸和 NH_3 , 催化的胱硫醚酶(9)已从菠菜叶分离出。高半胱氨酸的甲基化就生成 Met。许多物质可作为甲基供体。例如, 在萌发豌豆有两种酶分别从甲基四氢叶酸或 SAM 转移甲基, 但只有前一种供体能导致 Met 净合成, 此甲基四氢叶酸转甲基酶(10)受 Met 抑制。

Lys 标记实验证明二氨基庚二酸是 Lys 的有效前体之一^[5]。从此合成 Lys 的最后一步反应是脱羧, 催化此反应的二氨基庚二酸脱羧酶(12)已在浮萍、豆叶、麦胚和玉米胚乳检出。Lys 生物合成的第二个关键酶是二氢吡啶二羧酸合酶(11), 它催化 Asp 半醛与丙酮酸缩合生成二氢吡啶二羧酸, 此酶在玉米和麦胚中已检出, 用玉米幼苗初步研究了它的特性, 它受 Lys 抑制但似不如 Asp 激酶敏感。用麦

胚的结果有所不同, 在 Tris 缓冲液中此酶最适 pH 较高(≈ 8.4), 受 NH_4^+ 促进, 对 Lys 抑制比 Asp 激酶还要敏感^[8]。用细菌材料的研究指出, 从 Asp 经过二氨基庚二酸合成 Lys 的反应顺序有九步, 在高等植物目前还未鉴定出其全部中间体或酶。

支链氨基酸的生物合成

途径和反馈调节的梗概如图 3。Leu 与 Val 用不同于 Ile 的碳前体, 但从 α -酮丁酸起经四步合成 Ile 的酶系统与从丙酮酸起合成 Val 的酶系统是相同的。

苏氨酸脱氨酶(13)在玫瑰组织培养中已检出, $5 \times 10^{-4} M$ Ile 抑制此酶 90%。当无 Ile

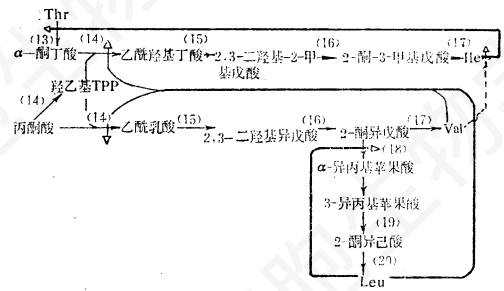


图 3 支链氨基酸生物合成途径

- (15) 乙酰乳酸变位酶与还原酶;
- (16) 二羧酸脱水酶;
- (17) Val 转氨酶;
- (19) 异丙基苹果酸脱氢酶;
- (20) Leu 转氨酶

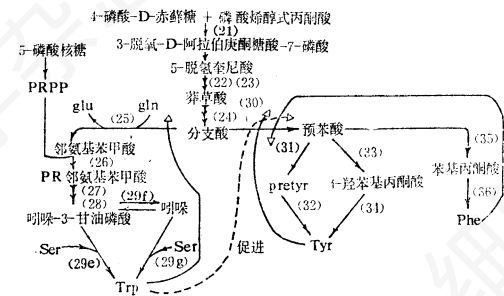


图 4 芳族氨基酸生物合成途径

- (21) 3-脱氧-D-阿拉伯庚酮糖酸-7-磷酸合酶;
- (22) 5-脱氧奎尼酸脱水酶;
- (23) 莽草酸脱氢酶; (24) 分支酸合成酶;
- (31) 预苯酸转氨酶; (32) 前酪氨酸脱氢酶;
- (33) 预苯酸脱氢酶;
- (34) 对-一羟苯基丙酮酸转氨酶

时, 加入 Val 对其活力无多大影响, 但当该酶受 Ile 抑制时, 加入 Val 可明显解除 Ile 的抑制作用。豌豆的酶(13)也受 L-Asp 和 DL-正 Val 活化。故此酶可以正或负控制的方式来调节氨基酸生物合成。

$5 \times 10^{-4} M$ Leu 抑制玉米的异丙基苹果酸合成酶(18) 75%。对大麦等的乙酰乙酸合酶(14), Leu 比 Val 抑制程度大, Ile 抑制很小。但 Leu + Val 以等比例加入其总浓度只相当于各自的 1/10 时, 也能抑制该酶活力的一半, 再加入 Ile 未见进一步提高这种协同效应。只是当两种氨基酸 (Val + Leu 或 Ile + Leu) 存在时, 体内该酶才显著受抑制。

芳族氨基酸的生物合成

植物的 Tyr, Phe 和 Trp 也是通过当初用微生物鉴定的莽草酸途径而合成的(图 4)。

分支酸是 Tyr, Phe 和 Trp 的共同前体。豌豆和紫花苜蓿等提出物的分支酸变位酶(30)把分支酸变为预苯酸, 在多种高等植物中发现此酶至少有两种同工酶, 其中只有一种受 Tyr 或 Phe 抑制^[9]。

分支酸与 Gln 在邻-氨基苯甲酸合成酶(25) (它对 Trp 的反馈抑制是极其敏感的。利用抗性的与敏感的细胞系研究指出马铃薯悬浮培养细胞中存在有两种同工酶^[10]) 催化下生成邻-氨基苯甲酸。它随后与 PRPP 缩合为 N-5-PR 邻-氨基苯甲酸, 催化的酶, 叫邻-氨基苯甲酸-5'-PRPP, 已在胡萝卜悬浮培养检出。通过 PR 邻-氨基苯甲酸异构酶(27)把 N-5-PR 邻-氨基苯甲酸变为 1-(邻-羧苯基氨基)-1-脱氧核酮糖-5-磷酸。再由吡啶-3-甘油磷酸合成酶(28)催化产生吡啶-3-甘油磷酸。在磷酸吡哆醛和 Ser 存在下, 植物提出物能把吡啶-3-甘油磷酸变为 Trp。从豌豆纯化的色氨酸合成酶(29e, f, g)^[11], 能催化 29e, 29f 和 29g 反应, 存在 A 和 B 两种组分, A + B 催化 29e, 而 B 催化 29g, A 催化 29f。离体的互补和抗体中和试验证明, 从植物或微生物分离的

色氨酸合成酶在结构上未见有明显的进化改变。催化从分支酸到合成色氨酸的酶定位在黄化的质体。

氨基酸生物合成的调节

用标记物喂饲玉米根尖的实验证明, 外加氨基酸阻止葡萄糖或乙酸的 ^{14}C 进入氨基酸。放线菌酮抑制蛋白质合成, 也明显削减前体掺入 Arg, Lys, Ile, Val 和 Pro。可见这类产物的反馈调节是正常现象而不是因外加氨基酸的人为假象。这类反馈调节可归因于一是末端产物抑制作用(是抑制催化途径之最初反应那种酶的活力), 另一是末端产物阻遏作用(是终止途径之最初反应那种酶的合成作用)。

目前证据认为末端产物抑制作用是调节高等植物氨基酸合成的主要调节方式。例如, 天冬氨酸族中(图 2), Lys 反馈抑制酶(3)的一个同工酶^[12,13]及酶(11); Thr 反馈抑制酶(3)的一个同工酶^[14]和酶(5)。有降解的和合成的两种类型 Thr 脱氨酶(13, 图 3)催化 Thr 脱氨脱水产生 α -酮丁酸, 合成类型的酶一般受 Ile 的反馈抑制, 而降解的酶则不受 Ile 抑制。菠菜的酶(13)类似几种微生物中合成类型的酶, 它还受一价阳离子包括 NH_4^+ 所活化。由于 α -酮丁酸合成 Ile 与从丙酮酸合成 Val 各自的四步反应都由共同的四种酶(14—17)催化, Val 或 Leu 反馈抑制酶(14), 这样在减少合成 Ile 的同时, Val 也能部分解除 Ile 对酶(13)的反馈抑制。Leu 还能反馈抑制酶(18)。

植物组织培养中, 酶(13)、酶(25)、Trp 合成酶以及酶(30)似乎不出现酶水平的末端产物阻遏作用。不过, 据 Dougall 对若干酶的实验结果分析, 他解释为在植物组织培养中, 一、酶的末端产物阻遏作用似乎是普遍的现象; 二、受阻遏的酶水平似乎是足够高以致植物组织在常用的培养基上生长未见受到限制。后一点是与微生物材料明显不同的^[15]。

以上两类反馈调节大多是用幼苗或组织培养材料做离体试验的结果。例如, 外加 Trp

浓度为 $10\mu M$ 就使胡萝卜组织培养的邻-氨基苯甲酸合成酶(25)抑制 90%，而该组织中的 Trp 浓度却达 $80\mu M$ 。那么，用于产生反馈抑制效应的氨基酸浓度是否适合于体内的状况呢？似乎是某氨基酸反馈调节的有效浓度一般要低于其在细胞内的总浓度。解释其原因是细胞内的分室起着调节作用，氨基酸分布在细胞内五种库(细胞质的、叶绿体的、线粒体的、调节的和代谢的)之中。豌豆的酶(14)定位在质体内的实验支持这种看法^[16]。

在发育过程中代谢的控制也不是始终如一的。随着植株变老，Pro 生物合成的调节程度减低。随着玉米幼苗生长，高丝氨酸脱氢酶(5)对 Thr 的反馈抑制变得不那么敏感^[17]。胡萝卜悬浮培养生长的对数后期，酶(3)两个同工酶中对 Lys 敏感的一个同工酶活力升高十倍，而对 Thr 敏感的那个同工酶则一直保持恒定的活力^[14]。可见植物个体不是离体反应的简单装配，而是受遗传决定与环境相统一的整体，细胞是受整体制约的，故酶的调节会随植株的不同部位和发育阶段而变化。

参 考 文 献

- [1] 何卓培等, 1979, 植物生理学报, 5:9—18.
 [2] Wightman, F. & Forest, J. C., 1978
Phytochemistry, 17:1455—1471.

- [3] Stewart, C. R., 1979 *Plant Sci. Letter*, 14:269—273.
 [4] Matthews, B. F. & Widholm, J. M., 1978 *Planta*, 141:315—323.
 [5] Dougall, D. K. & Fulton, M. M., 1967 *Plant physiol.*, 42:941—945.
 [6] Widholm, J. M. & Matthews, B. J., 1978 *In vitro*, 14:356.
 [7] Gengenbach, B. J. et al., 1978 *Crop Sci.*, 18:472—477.
 [8] Mazelis, M. et al., 1977 *FEBS Lett*, 84:236—240.
 [9] Woodin, T. S. et al., 1978 *Plant Physiol.*, 61:949—952.
 [10] Carlson, J. E. & Widholm, J. M., 1978 *Physiol. Plant*, 44:251—255.
 [11] Widholm, J. M., 1973 *Biochem. Biophys. Acta*, 320:217—226.
 [12] Aarnes, H., 1977 *Plant Sci. Letters*, 9:137—145.
 [13] Shewry, P. R. & Mifflin, B. J., 1977 *Plant physiol.*, 59:69—73.
 [14] Davies, H. M. & Mifflin, B. J., 1978 *Plant physiol.*, 62:539—541.
 [15] Dougall, D. K., 1977 *In Plant Tissue Culture and its Bio-technological Application*. (Barz, W. et al., ed.), pp. 77—85, Springer-Verlag, Berlin.
 [16] Mifflin, B. J. et al., 1979 *In Nitrogen Assimilation of Plant*. (Hewitt, E. J. & Cutting, C. V., ed.), pp. 335—358.
 [17] Matthews, B. J. et al., 1975 *Plant Physiol.*, 55:991—998.

小鼠胚胎性癌细胞研究的一些近况

丛笑倩

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

胚胎性癌细胞 (*Embryonal Carcinoma*, 简称 EC 细胞) 是畸胎瘤的恶性干细胞, 它既有恶性生长性质, 又有类似于早期正常胚胎细胞的多能性, 能分化为神经、皮肤、肌肉、软骨和腺管等组织。EC 细胞注射到同系小鼠腹腔后, 可在腹水中分化并聚积成结构类似于早期胚胎的细胞群, 称为拟胚体。

EC 细胞不仅是研究哺乳类胚胎发育和遗传的极好实验材料, 而且也是探讨肿瘤形成和细胞分化及其机制的较理想的模型。近几年来利用这个模型进行研究的范围越来越广, 涉及到肿瘤病理学、免疫学和发育生物学等各个领域。本文仅就 EC 细胞起源, 性质及其在肿瘤生物学研究中的现状作一简述。