

植物线粒体中电子传递途径的改变和调节

——再论呼吸代谢多条路线¹⁾

汤 佩 松

(中国科学院植物研究所)

一、植物呼吸代谢多条路线 观点简述

1965年,我们曾将30年代开始的,关于细胞呼吸工作和以后高等植物呼吸代谢工作中逐渐形成的一些基本看法作了一个初步总结,称之为高等植物呼吸代谢多条路线的观点^[1],用来表达代谢途径的改变和控制及其与其他生理功能间的相互调节。它的主要内容是:(1)植物体内的代谢途径不一定是“代谢图”上所表达的,由来自不同材料拼凑起来的孤立静止的一些生化反应;(2)代谢途径是多条的,相互交错但又明显区分的;(3)植物体内的代谢途径和类型不是一成不变的而是可以通过内因(如生理功能)和外因的改变而变化。在某一时期,代谢是以某一途径或类型为主;而在另一时期,则可能以另一途径或类型为主;(4)代谢的途径和类型是由酶活性来控制,代谢的改变又调节着生理功能;反之,功能的改变又在一定程度上调节着代谢。这就是我们关于代谢控制和生理功能相互联系的“代谢(对生理功能)的控制和被(酶活性)控制”的基本观点。这个观点可以概略的用下面的示意图表达:



从上面这个示意图中可以看出我们这个论点的特点。它把遗传学和分子遗传学上的三个熟知的“法则”贯通起来,灵活的表达了基因和形态结构与生理功能间的动态关系。这三个法则是:

- (1) “一个基因一个酶”的法则;
- (2) DNA→RNA→蛋白质的法则;
- (3) 功能和结构是基因表达的法则。

我们将这三个孤立、静止的法则联贯成为:基因是通过被酶控制的代谢过程而表达在生理功能和形态结构上的。在一定范围内,这个过程是可以由内因(生长阶段、生长调节物的产生等)和外因所调节控制的。

高等植物与动物和微生物不同,由于它们具有体细胞的发育全能性、个体的无限生长和器官发生的延续性等特性,我们这个从高等植物代谢工作总结出来的,并引伸出来的基因—代谢—功能(结构)间的控制与被控制的论点是具有其独特性和广泛性的。

我们提出的这个“代谢多条路线”和“代谢的控制和被控制”,特别是“代谢的控制”的观点,从字面上说在当时(1965)和以后并不是新的。但是从其实际意义上,我们认为,它和现有的“呼吸代谢控制”是不相同的。其主要差别在

1) 本文系根据1977年8月在兰州召开的“全国体细胞杂交和线粒体互补工作经验交流会议”上的发言修改而成。

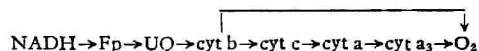
于,目前所有关于代谢控制的探讨,均是在酶学水平上深入细致的从分子结构、变位,以至遗传因子方面,从描述酶活性的方向,速度和制约等方面,亦即从分子生物学角度进行的。可以肯定,从分子水平上谈代谢的控制是必要的。但是我们认为,为了探索植物的活动规律,它作为唯一的手段,这是不够的,主要的还应当从在功能水平上探索代谢途径、反应、类型间的相互作用,亦即我们所说的,从“代谢(对生理功能)的控制和被(酶活性的)控制”这两个方面来认识这个问题,这是我们的基本论点。这个基本论点包括了目前研究植物生理功能的普遍的“代谢(酶学的)控制”的观点。

在 1965 年那篇文章中,主要是总结了我们自己的工作,用来说明在植物中有 EMP、HMP、TCA 等呼吸代谢的途径。借用了国内许多同志的资料,说明代谢途径在生长发育过程中的改变:油菜结实时期,从碳水化合物代谢转向脂肪代谢(施教耐、朱雨生等);伤呼吸及果实成熟时的代谢(吕忠恕、梁厚果等);施用不同的氮肥对代谢类型的改变(汤玉玮等);叶柄脱落与戊糖磷酸酯途径(HMP)及糖酵解途径(EMP)的关系(薛应龙);水稻幼苗中乙醛酸循环和三羧酸循环(TCA)的同时存在(阎龙飞、戴云玲);高等植物中适应酶的形成(吴相钰)以及病毒感染前后烟草植株中代谢途径的改变(田波)。这些资料充分说明了植物体内代谢途径的多条性的改变,和同生理功能的关系。可惜,这些资料只限于在基质代谢水平上。虽然文中根据我们提出的多条路线论点,提到了呼吸链的氧化途径也应当是多条的,但当时缺乏可靠资料来支持我们这个推论,只是简单的介绍了用植物材料作出的“抗氰酸呼吸”的假设支路。实际上我们在 1932 年所作的工作中已发现 CO 不能完全抑制羽扇豆中 cyt c 氧化酶。在最高 CO 浓度下,仍有 20—30% 的“剩余氧化”。当时我们认为,这个被 CO 抑制的酶是“呼吸酶”(以后统一称为细胞色素氧化酶);而那个“剩余呼吸”则是由 Warburg 在 30 年代发现的“黄酶”进行的。

由于认为植物呼吸末端氧化过程,特别是呼吸链途径是一个尚待开展的工作,在 1965 年前后我们即已开始了植物线粒体呼吸链的工作^[2]。一开始我们就从氰酸(CN)对氧化的效应入手^[3]。我们选择了木薯(*Cassava*)作材料,因为它是含 CN 较高的植物。我们用它得到了一些初步结果,并发现 CN 不但不抑制木薯线粒体的呼吸,相反,有显著的提高。可惜,因工作中断,在线粒体电子传递链方面我们没得到任何结果。最近,由于线粒体互补预测杂交优势在育种中引起了广泛的注意并得到应用,我们很希望搜集的一些资料作一简短介绍,一来作为讨论“互补预测杂种优势”的参考,二来从末端氧化过程方面充实我们曾经提出的植物呼吸“代谢多条路线”的观点。

二、植物呼吸链电子传递途径的改变和调节

植物呼吸链与动物的不同,在某些植物中, CN 对末端氧化过程不起抑制作用,在一般植物中 CN 的抑制作用也不完全。这个现象早在 30 年代即已发现并认为这是一个“特殊的”例外,但是这个现象一直未能得到很好的解决。我们目前所能确定的只是植物呼吸链中有一条对 CN 不敏感的支路。这条支路是从“主路”上的 cyt b 开始分岔,绕过 cyt c, cyt a, cyt a₃ (细胞色素氧化酶)和分子氧联接,如下式:



最近有一篇报道^[4],深入地分析了这个问题的四种假说。根据这些假说所作的光谱学分析和其他实验结果来看,在抗 CN 途径中电子传递是以一条未知的,对 O₂ 有高度亲和力的支路为主。这个支路的氧化酶不是前人认为的 cyt b, 它在 CN 存在时, cyt b 虽然进行氧化还原,但它对抗 CN 途径起的作用不大。在这种呼吸链中,电子传递仍和上图一样,是从 cyt b 分岔出来的支路通到分子氧的。这个支路中含有一个非 Heme-铁蛋白。作者认为,这是支路中的氧化酶。从吸收光谱看,认为它不是一

的是 NADH 脱氢酶是 FP_3 而不是 FP_2 或 FMN 以及 FP_3 在定位上的不同(见下面图 2)。这个图是由下列事实构成的: 这个过程对鱼藤酮不敏感, 因此脱氢酶不是图 1 中的 FMN ; 但对抗霉菌素 A 敏感, 因此这个支路是在 $cyt a$ 之前, 即在 UQ 就和第一途径汇合。它不经过部位 I 磷酸化部位, 而通过部位 II、部位 III, 因此其 P/O 比为 2。有证据认为, FP_3 不是 FP_1 (FMN) 也不是 FP_2 。 FP_3 的定位是在线粒体内膜的外

侧, 而 FP_2 则是在其内侧(图 2)。

第四条路线实际上是动物线粒体的第二条路线。完整的线粒体, 在附加 $cyt c$ 条件下可以氧化 NADH。这条路线对鱼藤酮不敏感, 对抗霉菌素 A 也不敏感。因此它既没有部分 I 也没有部分 II 磷酸化部位。唯一可能的磷酸化部位是在部位 III ($cyt a_3$)。这条路线在动物实验中比较清楚, 但在植物实验中则不易和上面的第三条路线截然分开。这条路线是:

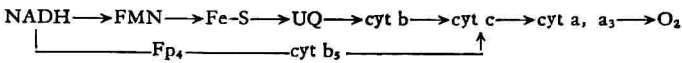


图 1c

这里的脱氢酶 FP_4 是和其它 FP 不同, 可能是 FAD, 并且定位于线粒体外层膜(图 2)。光谱学证据认为 FP_4 与 $cyt c$ 之间存在 $cyt b_5$ 活性。

根据以上四条路线以及开始时所举的抗 CN 路线, 似乎可以作这样结论: 正和我们在

1965 年提出的“代谢多条路线”观点所预期的一样, 近几年的工作证明线粒体中电子传递途径是多条的。下面我们吧图 1 至图 1c 中表示的, 高等植物和酵母菌线粒体中四条电子传递途径的定位分布图示如图 2。

我们列举这个图的用意有下列两点: (1)

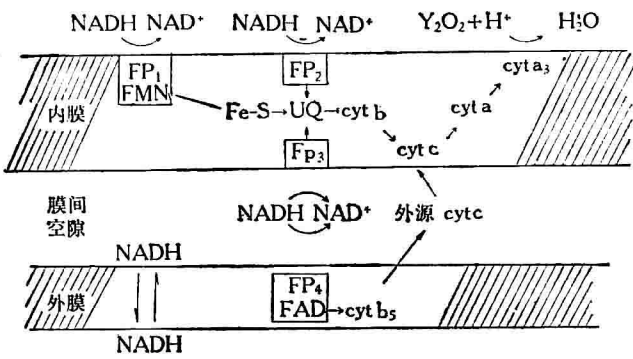


图 2 高等植物和酵母菌线粒体中 NADH 氧化途径的定位

在线粒体内, 电子传递链是多条的、分离的而又交错的途径; (2) 这些路线中的组份, 在线粒体的内、外膜中定位于不同部位。下面将叙述多条路线的改变和调节。

在过去多年研究中, 特别是在微生物和高等植物中, 线粒体中电子传递途径的改变和调节。常常和图 1 不一致: 如对某一抑制剂的不敏感, P/O 比小于 3 或 1, 或对外加因素的不同反应等。由于当时被路线不变这个思想所局限, 把这些现象都归之于“不正常”或线粒体制

备上的缺点而忽略掉。直到 60 年代末, 由于制备技术的改进, 并且注意到这些现象是随培养条件的变化而发生的, 逐渐开始了一些深入的有针对性的研究。这类工作多在酵母菌中进行, 但即便是这样的工作目前既不多也不系统。在高等植物中虽然这类“不正常”现象是常见的, 但到目前为止尚未见到在这方面的系统研究, 因此我们只能举一些酵母菌 (*Saccharomyces* 和 *Candida*) 的实验结果来说明电子传递途径的改变。

在高等植物和酵母菌线粒体中常见的一个现象是 ATP 的形成有时是“理论值”的 3 个，有时则只有 2 个。在前者的情况下，NADH 还原可被鱼藤酮抑制，即部位 I 磷酸化部位被打断；而在后者情况下，鱼藤酮对此无作用，即其两个 ATP 分子是由部位 II 和部位 III 部分形成的（见图 1）。造成这个改变的原因是酵母菌的培养条件不同。从处于稳定生长期的酵母（*Saccharomyces*）细胞得来的线粒体在氧化 NADH 时，它的 P/O 比是 3；从稳定生长前期细胞得来的线粒体的 P/O 比则是 2，也就是说，在生长不太活跃时，在酵母（*Saccharomyces*）细胞的 NADH 氧化过程中，电子传递途径就和比较活跃细胞中的电子传递途径不同。前者是图 1 所表示的途径，后者是图 1a 所表示的途径。

这个途径的改变在 *Candida* 中研究得比较清楚，和 *Saccharomyces* 一样，它的线粒体也因生长条件不同而造成磷酸化部位数量上的改变。在从对数生长期转入稳定生长期的过程中，它的电子传递途径由具有两个磷酸化部位转入具有三个部位的途径，并产生对 Piericidin A 或鱼藤酮的敏感性，就是说，在有充分的底物

可供氧化时，其线粒体是以图 1a 的途径进行，只产生两个 ATP；而在底物供应受限时，是以图 1 的途径进行，产生三个 ATP。

更深入的实验证明，在限制供应底物（甘油）的情况下，*Candida utilis* 能在部位 I 形成 ATP，但如果生长是由于缺铁或缺硫所限制，*C. utilis* 则失去其在部位 I 进行氧化磷酸化的能力。虽然对这些结果的理论解释尚未得到一致看法，但对我们来说，重要的是这些资料肯定了呼吸链电子传递途径间是能相互转变的。

在高等植物中，目前只有下面这个比较深入的实验结果：在小麦线粒体中，以不同的酶活性处理的 NADH，其电子传递路线不同。以一般方式从苹果酸、丙酮酸、异柠檬酸和 α -酮戊二酸处理的 NADH，通过 NADH 脱氢酶（ $F_p = FMN$ ）的作用，和图 1 及图 1a 所示一样，是可以通过两条路线进行的^[7]。另一条则由苹果酸酶将苹果酸转化为丙酮酸，这个反应所形成的 NADH，通过另一个 F_p' 组份（不是 FMN）而与呼吸链中的 Fe-S 相联接，进入呼吸链，通过其三个磷酸化部位。这条路线对 Piericidin A 是敏感的。这三条路线以图 3 表达：

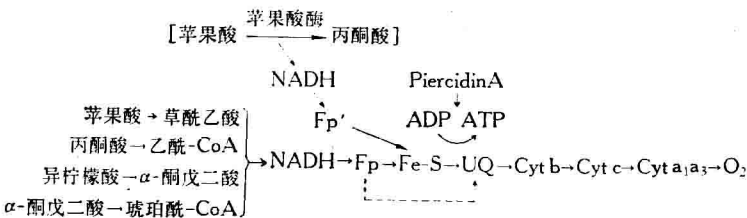


图 3 小麦细胞线粒体的电子传递途径

以上的途径改变是完整线粒体氧化其内源 NADH 时所引起的改变。除这些途径改变外，还有完整线粒体由外加物质（如 CN，cyt c）所引起的途径的改变。由于关于植物线粒体电子传递路线及其条件的工作不多，目前我们只能作这样一个极不详尽的简述。重要的是这些资料说明线粒体中电子传递途径是可以通过内因（生长阶段）和外因（底物，Fe，S 及通气条件）而改变的。

至于电子传递途径的改变对生理功能的调节控制作用，一般表现在下述三个方面：

- (1) 代谢过程中间产物的形成，周转和能量消长三者间的需要及供应问题，这又与生理活动的时期与阶段有关；
- (2) 以 $[ATP]/[总核苷]$ 比值为代表的“能荷”（Energy Charge）以及 AMP 对电子传递链中的某些环节的促进或抑制；
- (3) 以 $NAD^+/NADH$ 比值为代表的氧化

还原状态 (Redox State) 在许多代谢步骤中所起的重要调节作用。

由于这些调节作用在一般的代谢控制与调节的文章中经常谈到,这里就不再申述。我们注重的是在线粒体电子传递过程中,途径的改变或其速度及程度上的改变能引起其它代谢过程的改变和这些改变对生理功能所起的调节作用。

三、应用和展望

一个论点,一个理论,不管多么动听,如果它不能直接地或间接地解决有关的实际问题,或不能将现有的工作向前推进一步,它是不会有多大意义和生命力的。

多年来,我们一直考虑“代谢多条路线”观点对解决实际问题或研究工作能否起一些作用和这个观点本身是否能有所进展前景的问题。下面仅就这些问题谈谈我们的看法。

1. 杂交优势和线粒体“互补”现象的相关问题

1966 年左右发现,小麦、玉米、大麦等农作物杂交品种在生长、器官形态和产量方面具有很多优势的同时,其线粒体的耗氧速度(呼吸强度)、呼吸控制 (R. C)、氧化磷酸化强度和 P/O 比值均显著高于亲本。从具有杂交优势品种的父母亲本中分别获得的线粒体,以 1:1 的比例混合,其各项活性,特别是氧化磷酸化活性,均较纯一的亲本线粒体活性为高,称之为“互补”现象。用这个现象作为选种指标具有很多优点。十多年来,国内外在这方面做了不少工作。这应当是呼吸代谢理论工作为生产服务的一个好事例,但在这些工作中发现所得结果不尽一致。虽然在几个品种中得到正相关,在另外一些品种中却得不到相关性。在同一品种(如小麦)中,各个工作者所得结果也不同。以小麦来说,用原作者得到肯定结果的品种,另外的作者重复不出正相关。目前对这个问题有两种看法。一种是否定的,至少是观望的^[8];另一种则仍坚持其看法,并设法找到理论上的依据^[9]。在这方面我个人既无实际工作、资料收集得也不

多,没有资格加以判断。但是由于这个矛盾现象直接涉及“代谢多条路线”论点内容,因此,正好借此机会来阐述我们的看法。

从我们的观点来看,这种矛盾现象是符合我们的论点的。但是我们不能从此作否定性的结论。理由是:(1)我们这个论点仅涉及到途径的改变(可以说是“定性的”改变),不涉及“强度”或“量”上的改变(如遗传性的变化改变了线粒体的磷酸化强度或增添了磷酸化部位等);(2)更现实的理由是目前在高等植物线粒体电子传递方面的工作太少,尚未见到正面或反面的验证,因此我们的论点尚须经过更多实验的考验。但为了解决“互补”现象上的矛盾,最可靠的办法还是通过实验,下面我们建议作两类实验。

第一类实验是根据本文所提出的论点和资料设想的。用一种植物(玉米、小麦或大麦等)的不同组织,如盾片(代表代谢活跃的组织)^[10]及幼苗“上端”,即胚芽鞘(代表代谢较稳定的组织),比较这两种组织线粒体的 P/O 比,观察其间是否有“互补”现象。如果其间有所不同或有“互补”,应是一个否定的结果。当然这类实验也可以用同一器官在不同营养条件下进行比较。

第二类实验是根据我们前几年在叶绿体磷酸化工作中得到的类似结果设想的。在进行光合磷酸化研究中,我们发现,从一种植物叶片中得到的叶绿体悬浮在从另一种植物叶片得到的上清液中,其光合磷酸化强度显著高于悬浮在其各自原来的上清液中的叶绿体的磷酸化强度。我们把这个现象也称为“互补”。我们建议,用 1:1 的来自两个不同属的线粒体进行氧化磷酸化,或者作类似的叶绿体“互补”实验,即交换上清液,比较其与各自品种原悬浮液中线粒体的磷酸化强度、P/O 比等,看是否有“互补”现象。如果没有,不说明问题。但是如果有显著“互补”现象,则可认为是一个否定的证据。

2. 高光合效率植物选种的酶学指标

近年来国内外在选育非光呼吸植物方面开展了大量工作。虽然可以直接测定植物光呼吸

强度作为选种指标，但测定方法比较复杂而干扰因素又多，不便广泛应用。一般都想寻找酶学反应作为选种指标。我们目前研究课题之一，也是寻找高光合效能的酶学指标。

目前国内外建议采用的酶反应指标是 RuDP 羧化酶活性^[1]和乙醇酸氧化酶活性^[2]。RuDP 羧化过程是光合碳循环的入口。乙醇酸氧化过程则是光呼吸中乙醛酸途径的起点。他们建议用 RuDP 羧化酶或乙醇酸氧化酶活性作为选育高光合效能植物的指标是有道理的。

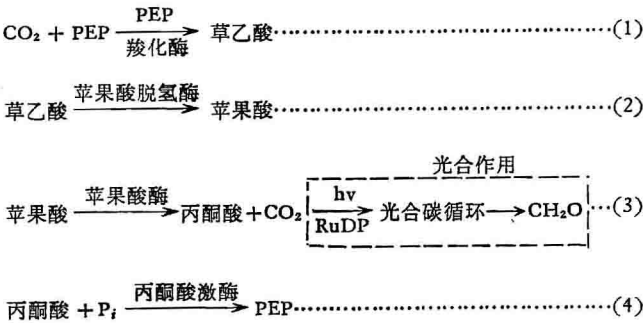
从“代谢多条路线”观点出发，我们不希望采用任何一个酶的活性作为某一生理功能的指标。如果不得已这样做，至少不能依靠某一单独的酶活性作指标。在这个前提下，我们要考虑那些酶在高光效要求中可能起重要或关键性作用。据一般看法，RuDP 羧化酶对光合作用应当是起“关键性”作用的酶。但从我们的角度看，它是重要的，但不是关键性的。这是由它的活性性质所决定的。因为 RuDP 羧化酶不仅是光合碳循环入口的钥匙，同时它的活性也控制着乙醇酸的形成。这样它也就控制着对光合作用效率起消极作用的光呼吸作用。因此，RuDP 羧化酶活性高低本身不能作为光合效率高低的真正指标。它起的作用与其说象把钥匙，不如更确切的说是一个阀门的作用。它的通道方向(卡尔文环或乙醇酸途径)决定于它周围的 CO₂/O₂ 比值。在这个意义上，也只是在这个意义上它是关键性的控制酶。但是作为高光效光合作用指标，正因为它的这个双重性，不

能作为专一性的酶指标。

乙醇酸的氧化是乙醛酸途径的第一步，因此乙醇酸氧化酶似应该代表这个途径，也即是光呼吸是否进行的一个专一性指标。作为这个途径的标志之一，这样做是可以的，但作为高光效指标，我们认为是有其局限性的。理由是，这个酶在体内光合和光呼吸过程中是受其底物所限制的，而底物(乙醇酸)的形成则又是受 RuDP 羧化酶控制的。因此乙醇酸氧化酶活性高低不一定标志着光呼吸活性高低。它只能是一个定性的指标，说明在某一植物中光呼吸存在与否的可能性。在整体植物进行代谢活动时，光呼吸强度，是决定于被 CO₂/O₂ 比值支配着的 RuDP 羧化酶活动方向的。我们认为，乙醇酸氧化酶的活性最多只能作为指标之一，而不能是唯一的指标。下面我们从“代谢多条途径”的相关性出发，作一个选择高光效植物的酶指标的设想。

我们的观点是从全面出发。既不单从光合碳循环，也不单从光呼吸方面考虑，而是将这两个途径和 C₄ 途径作为一个相互关联的整体来考虑。再从其中选择主要的和关键性的酶活性作为高光效植物的指标。

非光呼吸植物或光呼吸低的植物之所以有高的光合效率是因为光呼吸对光合产物没有消耗或消耗甚少。非光呼吸植物的一个重要特征是 C₄ 途径的存在。因此 C₄ 途径的存在与否(和程度)应是高光效植物的直接标志。这个途径中的某些有关酶的活性应可作为选种指标。这个途径的主要反应是：



[反应(2)、(3)有不同的细节，如天门冬氨酸等，不详述。

这样我们只需要测定下面四个酶的活性：丙酮酸激酶、PEP 羧化酶、苹果酸酶、苹果酸脱氢酶。

从这里我们又选择两个我们认为是重要的酶：PEP 羧化酶和苹果酸酶。我们这样做是因为我们把全部 C_4 途径看作是一个“ CO_2 传递链”，即：



这样我们将 PEP 羧化酶及苹果酸酶活性作为衡量光合效能高低的主要酶学指标。其中可以将 PEP 羧化酶看作是关键性的，但决不可看作是唯一的指标。它必须配合苹果酸酶、RuDP 羧化酶和必要的其它某些 C_4 途径中的酶。

我们认为这样做有以下优点：(1) C_4 途径的存在是伴随着“非光呼吸”途径的，固然不一定是专一性的指标，但可以说有 C_4 途径的植物是能进行高光合作用的，因此 C_4 途径是一个直接的指标；(2) PEP 羧化酶的存在可能使细胞内释放出来的 CO_2 （不管是由暗呼吸或从光呼吸吸来的）和细胞中的丙酮酸结合而纳入 C_4 途径，作为 CO_2 源而再利用到光合碳循环中去；(3) C_4 途径的存在标志着细胞有可能通过“ CO_2 泵”或“ CO_2 库”的方式提高光合碳循环的 CO_2 浓度，使 RuDP 羧化酶的活动方向朝向有利于 CH_2O 的形成而不利于乙醛酸途径（光呼吸）的方向运转。我们把上面的这个假设过程称之为“光合作用—光呼吸过程间 CO_2 的再循环”。这个设想的一个明显问题是，在光呼吸（ C_3 ）植物中是否存在 C_4 途径。目前似乎没有证据认为，这种植物中不存在 C_4 途径。同时由于这个设想，我们更可以试探光呼吸植物，特别是光呼吸较低的植物中 C_4 途径存在的可能性。

根据上面这个设想，我们想在今后的高光效作物的酶学指标的试探工作中把 PEP 羧化酶和苹果酸酶作为重点，加上 RuDP 羧化酶和少数其它必要的 C_4 途径中的酶活性作为探索对象。在得到这些酶活性后，我们还想进一步用细胞化学方法，对这些酶进行细胞及组织定

位的研究，特别是对 PEP 羧化酶和苹果酸酶的定位研究。探索在 C_3 植物中是否也存在有如 C_4 植物中的组织上的分工。

我们的这个设想是从近年来对于 C_4 植物中“ CO_2 泵”或“ CO_2 库”的机制得来的。不过我们的这个不一定正确的设想是：在 C_3 植物中是否也有可能通过类似机制，将从光、暗呼吸释放出来的 CO_2 收集起来，传递到 RuDP 羧化过程而加以再利用？即是说，光合—光呼吸间 CO_2 的再循环。下面是这个设想的示意图：

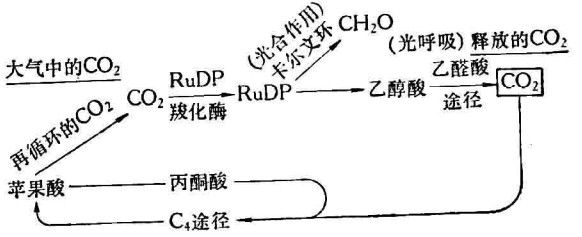


图 4 光合—光呼吸间 CO_2 再循环的假设

这个设想的起因是资料中看到的各种 C_3 植物中的光呼吸强弱似乎不同。如果这个设想能得到证实，对这个机制进行酶学上、代谢途径上和细胞形态及组织上的定位控制应是一个有意义的工作。

必须强调指出，我们的这个设想完全没有考虑到光合碳循环中的一些中间产物如磷酸甘油酸等对 PEP 羧化酶等的抑制，以及光、暗对某些酶的活化等极为复杂的相互关系。这里只是作为一个设想供考虑。

最后谈一下对“代谢多条路线”工作的展望。

二十多年前（1955），当我们在这个初步形成的观点指导下开始研究高等植物呼吸代谢时，我们的长远目标还是比较清楚的。那就是，从呼吸代谢的角度出发，了解植（生）物生活中能量和物质的代谢过程。这项研究包括两个方面：代谢的控制和代谢对其它生理功能的调节作用。

经过一段工作之后，在 1965 年总结时，我们对代谢途径的多条性及其调节，在底物水平上有了认识。但对其末端氧化过程中的电

子传递途径还缺少有事实根据的证明,只能推测应是多条的。正如文中所述,这个推测在国际上现已被一些工作所证实。这样,我们的“代谢多条路线”的论点,在呼吸作用的各部分中都是成立的。但这只是一个方面,另一方面,也是主要的方面,代谢对其它生理功能的调节作用,目前的认识还远远不足,今后应大力开展这方面的工作。

今后,我们将结合着目前国内外大量开展的花药培养、细胞溶合、体细胞杂交和受精作用,研究植物(细胞)分化过程中代谢过程的变化和调节,并试图测定这个过程熵值(向负值)变化。这些都是生物学中的重大基本理论问题。我们相信,在华主席、党中央的领导下,这方面的研究工作定会取得更大的成绩。

参 考 文 献

[1] 汤佩松:《生物科学动态》,1965年,第3期,第1—

13页。

- [2] 戴云玲等:《植物学报》,1963年,第11期,第359—369页。
- [3] Tang, P. S. et al.: *Scientia Sinica*, 14, 1617—1623, 1965.
- [4] Bendall, D. S. and Bonner, W. D.: *Plant Physiol.*, 47, 236—245, 1971.
- [5] Commaek, R. and Palmer, J. M.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 222, 816—823, 1973. (Cited in (8)).
- [6] Palmer, J. M., and Coleman, C. D.: in *Horizons in Biochemistry and Biophysics*, 1, pp. 220—260, 1974. Quagliariello, ed., Addison-Wesley, Mass. U.S.A.
- [7] Brunton, C. and Palmer, J. M.: *Eur. J. Biochem.*, 39, 283—291, 1973.
- [8] Ellis, J. R. S. et al.: *Nature*, 241, 45—47, 1973.
- [9] McDaniel, R. C., *Seed Sci. and Technol.*, 1, 25—50, 1973.
- [10] 朱熹、汤佩松:《植物学报》,1959年,第8期,第201—214页。
- [11] 沈久钢:《光合作用研究进展》,1976年,第105—126页,科学出版社。
- [12] 集体作者:《植物学报》1976年,第18期,第293—299页。

[本文于1977年8月20日收到]

限制内切酶及其应用

陈建文 静国忠

(中国科学院生物物理研究所)

当一种噬菌体从其特定的宿主进入新的宿主时,其生长被损害,如果在第二个宿主中幸存下来的噬菌体再用于感染此种细菌,它们将正常繁殖,这种现象叫做宿主控制的限制和修饰作用。后来人们发现细菌体内的限制修饰系统有二种酶,一种就称为限制内切酶,它能识别外源DNA并将其降解;另一种称为修饰酶,将其自身的DNA修饰以避免限制内切酶的降解。假如外来的DNA(如噬菌体DNA)偶然也被修饰,那么就不再为限制内切酶所识别而存活下来。因此,在一定意义上,细菌的这种限制修饰系统起着安内御外的作用。

自六十年代末期,人们提出第一个限制内切酶之后,越来越多的限制内切酶被发现和纯

化,特别是特异性非常强的II类酶的发现,大大地促进了对于DNA这一重要生物高分子的结构和功能的研究,用限制内切酶所进行的基因工程的精巧操作已为人们所熟知,限制内切酶作为一个核酸研究的工具酶正在发挥越来越大的作用。

本文将着重介绍限制内切酶(主要是II类酶)的分离纯化及应用。

一、限制内切酶的命名及分布

限制内切酶的命名一般是以微生物属名的第一个字母和种名的前两个字母组成,第四个字母表示菌株(品系)。例如从 *Bacillus amyloliquefaciens* H中提取的限制内切酶称为 Bam H,从