

A fényenergia megkötése ATP-be fotokatalizátorokkal

GARAY KÁROLY és G. FEHÉR IBOLYA

Agrokémiai Kutató Intézet Biokémiai Osztálya, Budapest

Előzőleg kimutattuk, hogy ha különböző koncentrációjú ATP vizes oldatban fényben, sötétben és különböző hőfokon áll, akkor bizonyos idő eltelte után oldatokból vett ATP enzimhasíthatósága nagy különbséget mutatott (9. a.). Ezekben a kísérletekben is az előzőekben már megállapított szabályszerű összefüggést találtuk: fokozott hasíthatósághoz csökkent extinkció, lassított hasíthatósághoz fokozott extinkció járul.

Ma már tudjuk a legutóbbi évek növénybiológiai és fiziológiai kutatásaiból (1, 4, 11, 12, 13, 17, 30, 32, 37, 38), hogy az ATP-nek a növényéletben épp olyan döntő szerepe van, mint az állatvilágban. Legutóbb derítették fényt a fotoszintézisben játszott fontos szerepére (2, 10, 18, 22, 33, 41, 42).

Megvizsgáltuk, hogy az ATP-nél észlelhető fény-sötét hatás vajjon nem katalizálható-e különböző fontos, a növényi szervezetekben jelentőséggel bíró fotoszenzibilis anyagokkal. Jelen dolgozatunkban röviden arról számoltunk be, hogy a riboflavin, valamint a vegyértékváltoztató ionok jelenlétében miképpen katalizálható az ATP enzimhasíthatósága, különösen a napfényenergia hatására, illetve mesterséges látható fényre.

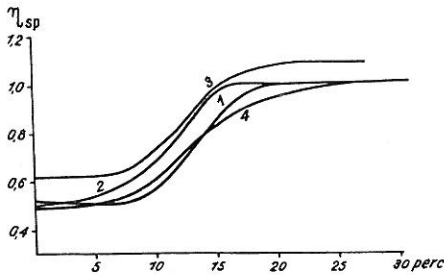
Kísérleti módszer

Ezekben a kísérletekben alkalmazott ultraviola sugárzásos technikánk ugyanaz volt, mint előző dolgozatunkban (9). Mesterséges látható fényforrásul 500 wattos izzót alkalmaztunk 1 méteres távolságból szűrés nélkül. Napfényre kerülő oldatok megsugárzása szobában ablak között történt. A sugárzásra kerülő oldatokat 10 mg/ml, illetve 100 mg/ml törzsoldatból készítettük. Ezekben a kísérletekben oldószerül mindig kétszer üvegből desztillált vizet használtunk. Az ilyen ATP törzsoldatot 10—14 napnál hosszabb ideig soha sem tároltuk. A törzsoldatot steril körülmények között lehetőleg mindig jégszekrényben (üveg dugós lombikban sötétben) tartottuk. A sugárzásra kerülő oldatokat legtöbb esetben ugyancsak becsiszolt üveg dugós lombikban tartottuk. Többször alkalmaztunk vastagfalú kémcsöveket, melyet gumidugóval zártunk el. Az oldatok jeges vízben, üvegdugóban álltak a sugárzásos kísérleteinknél. A sötétben állók hasonlóan jégszekrényben, jeges vízben álltak jól záró fémdobozban.

Hoffmann—La Roche-féle riboflavint használtunk. Ebből 250 γ /ml, illetve 100 γ /ml koncentrációjú törzsoldatot készítettünk sötétkamrában, gyenge vörös világítás mellett. Ezt a törzsoldatot jól záró, fénymentes fémdobozban jeges vízbe állítva jégszekrényben tartottuk. A különböző ATP mennyiségeket tartalmazó ATP oldatokhoz a fenti riboflavinos törzsoldatokból annyit tettünk, hogy a megfelelő koncentrációjú riboflavinos ATP oldatot kapjuk. Az ilyen riboflavinos ATP oldatnak rögtön az elkészítés után a Straub-féle B-miozinos viszkoziméteres módszerrel fényen felvettük az enzimhasítási görbét és a későbbiek folyamán

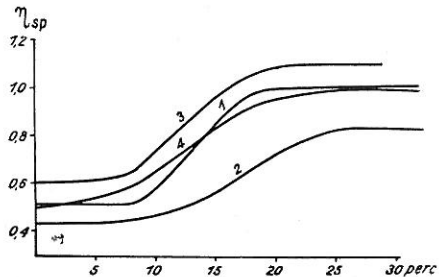
a napfényen álló, illetve sötétben tartott vizsgálendő riboflavin ATP oldatok enzimhasítási görbéit ehhez a görbéhez mértük. Ezután ezen riboflavin ATP oldat felét napfényre (illetve éjjelre 500 wattos izzó 1 méterről való alkalmazása mellett megvilágítva), felét pedig sötétbe tettük. Ahány fajta enzimhasítási vizsgálatot végeztünk a B-miozinos viszkoziméteres módszerrel, ezeket mindig egyidőben hajtottuk végre. Ugyanekkor ejtettük meg az oldatban az esetleg a sugárzás hatására keletkező ammonia, illetve szerves foszfor meghatározását is (9).

Vizsgáltuk a fény-sötét effektus hatásának alakulását különböző koncentrációjú ATP oldatokban 10^{-6} , 10^{-7} M ferri-, ferro-szulfátot, valamint 10^{-6} , 10^{-7} M-os céri-céroszulfátot tartalmazó oldatokban. Ezeket a hígításokat 0,1 M-0,01 M/l ferri-, ferro-szulfátot, illetve céri-, céro-szulfátot tartalmazó 0,8 N kén-savas törzsoldatból készítettük. Előbb a megfelelő koncentrációjú ATP oldatot készítettük el és ezután adtuk a vegyértékváltoztató iontörzsoldatból a megfelelő



1. ábra

50 γ /ml ATP hasíthatósága 0 C°-on sötétben tartás után, illetőleg 1,25 γ /ml riboflavin hozzáadása után. 1: Kontrol ATP 0 percen. 2: Kontrol ATP 72 órai állás után. 3: Riboflavin hozzáadása után 0 percen. 4: Riboflavin hozzáadása és 72 órai állás után.



2. ábra

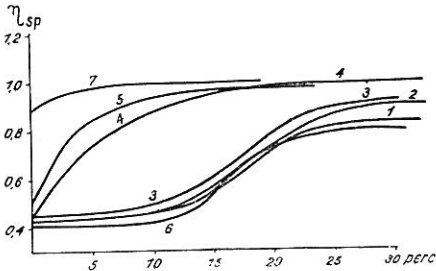
10 mg/ml ATP hasíthatósága 0 C°-on sötétben tartás után, illetőleg 1,25 γ /ml riboflavin hozzáadása után. 1: Kontrol ATP 0 percen. 2: Kontrol ATP 72 órai állás után. 3: Riboflavin hozzáadása után 0 percen. 4: Riboflavin hozzáadása és 72 órai állás után.

mennyiséget. A továbbiakban itt is a riboflavinnál alkalmazott fenti módszert alkalmaztuk. Sajnos ezekben a vizsgálatainkban az enzimhasítási vizsgálatokkal párhuzamosan ultraviola abszorpciós spektogramokat nem tudunk felvenni, mert ilyen műszer nem állt rendelkezésünkre. Ezek a kísérletek ma már folyamatban vannak más, idevonatkozó vizsgálatainkkal együtt. Az alább közölt kísérleteket 1952. évben végeztük. A kísérleteket minden egyes évszakban elvégeztük és minden egyes fotoszenzibilizátor koncentrációval kb. 10—15 kísérletsorozatot végeztünk. A riboflavin és valenciaváltoztató ionok jelenlétében való ATP sugárzásos kísérleteket együtt, ugyanazon körülmények között végeztük.

Kísérleti eredmények

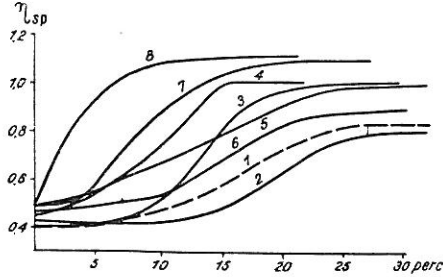
Az 1. ábrán 50 γ /ml ATP oldat enzimhasíthatósági viszonyait mutatjuk be 1,25 γ /ml riboflavin jelenlétében 0 C fokon sötétben tartva. A kiindulási értékhez képest 72 órai 0 C fokon sötétben való állás után semmiféle szignifikáns hasíthatóságváltozás nem lépett fel. A 2. ábrán 10 mg/ml ATP 250 γ /ml riboflavinnal állt együtt ugyancsak 72 óráig sötétben. Kitűnik, hogy a riboflavin ATP egyáltalában nem változtatta a sötétben hasíthatóságát. Ellenben

riboflavin nélküli ATP 72 óra alatt sötétben eléggé kifejezetten csökkent hasíthatóságúvá vált. A 3. ábrán a napfényenergia beépülését 2,5 γ /ml riboflavin hatására mutatjuk be. A kontrol ATP még 48 órai napfényen állás után sem



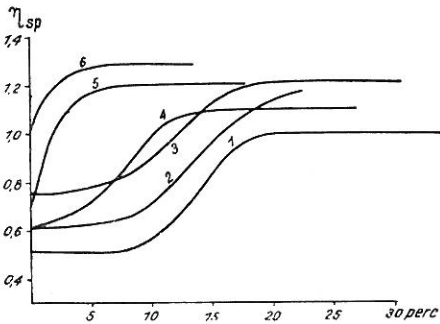
3. ábra

Napfény (mesterséges fény) hatása a kontrol és riboflavinos ATP-k (50 γ /ml) hasíthatóságára 0 C°-on. 1: Kontrol ATP fényen 0 percen. 2: U. a. 1,5 óráig fényen. 3: U. a. 3 óráig fényen. 4: ATP+2,5 γ /ml riboflavin 1,5 óráig fényen. 5: U. a. 3 óráig fényen. 6: Kontrol ATP 48 óráig fényen. 7: ATP + 2,5 γ /ml riboflavin 48 órai fényen állás után.



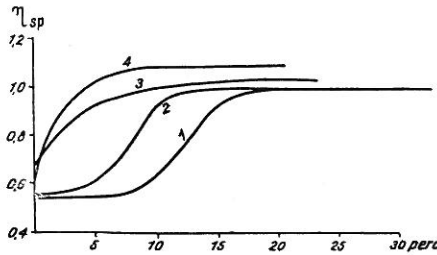
4. ábra

Fény hatása 10 mg/ml ATP-re különböző ideig 0 C°-on, illetőleg 250 γ /ml riboflavin jelenlétében. 1: Kontrol ATP 0 percen. 2: U. a. 48 órai állás után. 3: U. a. 96 órai állás után. 4: U. a. 120 órai állás után. 5: 10 mg/ml ATP + 250 γ /ml riboflavin 0 percen. 6: U. a. 48 órai állás után. 7: U. a. 96 órai állás után. 8: U. a. 120 órai állás után.



5. ábra

A riboflavin hatása az UV sugárzott ATP hasíthatóságára. (ATP = 50 γ /ml) 1: ATP 0 percen. 2: ATP + 2,5 γ /ml riboflavin 0 percen. 3: ATP + 5 γ /ml riboflavin 0 percen. 4: ATP + 30 perc UV sugárzás. 5: ATP + 2,5 γ /ml riboflavin + 30 perc UV sugárzás. 6: ATP + 5 γ /ml riboflavin + 30 perc UV sugárzás.

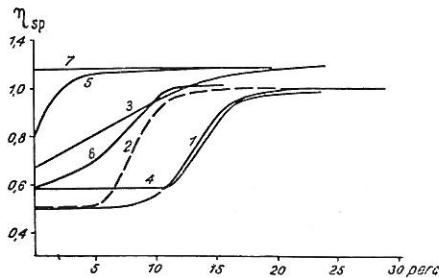


6. ábra

Riboflavin fotoszenzibilizáló hatása ATP-re (50 γ /ml) 20 perces UV sugárzás után. 1: ATP 0 percen. 2: ATP 20 perc UV sugárzás után. 3: 1 γ /ml riboflavin + ATP 20 perces UV sugárzás után. 4: 2,5 γ /ml riboflavin + ATP 20 perc UV sugárzás után.

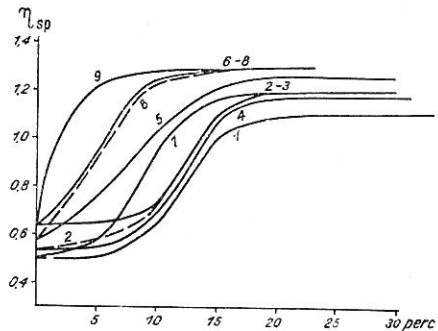
változtatta meg hasíthatóságát, ellenben a 2,5 γ /ml riboflavin már másfél óra alatt kb. 75%-os hasíthatóságfokozódást eredményezett, mely 48 óra múlva 100%-os lett. A 4. ábrán ugyanezt a hatást láthatjuk. Itt 10 mg/ml ATP mellett 250 γ /ml riboflavin volt. Itt is 120 órai állás után 100%-os fokozott hasíthatóságot kaptunk. Az 5. és 6. ábrában különböző mennyiségű riboflavin fotoszenzibilizáló hatását láthatjuk ATP-re UV sugárzás esetén. A 6. ábrán látjuk, hogy már 1 γ /ml riboflavin az 50 γ /ml ATP hasíthatóságát 20 perces UV sugárzás után majdnem 100%-osan fokozta. A 7. ábra ugyanezt mutatja, amikor 10 mg/ml

ATP mellett 250 γ /ml riboflavint alkalmaztunk. Kitűnik, hogy már 4 órai UV sugárzás után a jelenlévő 250 γ /ml riboflavin 100%-os hasíthatóságfokozódást eredményezett. Látjuk, hogy ugyanekkor a kontrol ATP hasítása még meg sem indult. Ebben az ábrában érdekes azt a jelenséget megfigyelni, melyet előbbi dolgozatunkban leírtunk: nevezetesen az ATP hasíthatóságának fluktuálását a sugárzás alatt. Ezt a hasíthatóság-fluktuálást riboflavinos kísérleteinkben egyáltalában nem láttuk. Ez a hatás nagyon lényeges, mert egyrészt arra mutat, hogy a sugárzó energiakvantum nem közvetlenül, hanem közvetett módon épül be az ATP molekulába. Másrészt pedig arra mutat, hogy itt a riboflavin, mint kompetitív faktor működik, miáltal a radikális lánccmechanizmusból



7. ábra

Riboflavin (250 γ /ml) fotoszenzibilizáló hatása ATP-re (10 mg/ml) UV sugárzás után. 1: ATP 0 percben. 2: ATP 2.5 órai UV sugárzás után. 3: ATP + 250 γ /ml riboflavin 2.5 órai UV sugárzás után. 4: ATP 4 órai UV sugárzás után. 5: ATP + riboflavin 4 órai UV sugárzás után. 6: ATP 5 órai UV sugárzás után. 7: ATP + riboflavin 5 órai UV sugárzás után.



8. ábra

Ferro-ferri ion fotoszenzibilizáló hatása ATP-re (50 γ /ml) napfényen 0 C°-on. 1: ATP 0 percben. 2 és 3: 10^{-7} M ferro-ferri-ion jelenlétében ATP 0 percben. 4: ATP 3 óras állás után. 5: ATP 10^{-7} M ferro-ion jelenlétében 3 óras állás után. 6: ATP 10^{-7} M ferro ion jelenlétében 3 óras állás után. 7: ATP 48 óras állás után. 8: ATP 10^{-7} M ferro ion jelenlétében 48 óras állás után. 9: ATP 10^{-7} M ferro ion jelenlétében 48 óras állás után.

azt a faktort távolítja el, mely rekombinálódik azzal a faktorial, ami az ATP-be a víz fotolízisével abszorbeálódott fényenergiát viszi rá az ATP molekulára. Ebben a kísérletben az UV sugárzásra már 4 óra után a riboflavin oldat jellegzetes sárga színe csaknem teljesen eltűnt. Ez vagy arra mutat, hogy a riboflavin redukálódott, vagy pedig a sugárzásra szétesett (valószínűleg lumiflavinra, illetve lumikromra). A 8. ábrán a ferro-ferri ion napfényen 0 C fokon kifejtett fotoszenzibilizáló hatását mutatjuk be. Kitűnik, hogy az 50 γ /ml ATP 48 óra alatt kis fokban vált fokozottan hasíthatóvá, míg 10^{-7} M ferro ion jelenlétében ugyanennyi idő alatt 100%-os hasíthatóságfokozódást kaptunk. Láthatjuk, hogy a ferro ion fotoszenzibilizáló hatása kisebb, mint a ferrié. Természetesen a sötétben tartott oldatok semmiféle fotoszenzibilizáló hatást nem mutattak. Ugyanez adódott a cérocéri ion alkalmazásával is. Mindkét fajta ion jelenlétében az ultravioletsugárzásnál ugyanezt a fotoszenzibilizáló hatást észleltük, mint riboflavin jelenlétében.

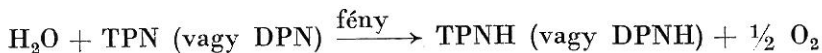
Idevonatkozó kísérleteink folyamatban vannak más fiziológiailag fontos fotoszenzibilizáló anyagokkal együtt, valamint a többi vegyértékváltoztató ion jelenlétében. (Különösen érdekes lesz a klorofill, illetve kloroplaszt jelenlétében megfigyelhető fotoszenzibilizáló hatás.)

Fejtegetések

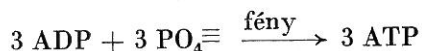
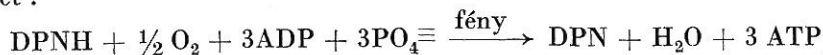
Tekintettel arra, hogy ezek a kísérleteink folyamatban vannak, csak néhány fontos megjegyzést szeretnénk tenni.

A riboflavin növénybiológiai szerepére 12 évvel ezelőtt mutattak rá, amikor észrevették, hogy különböző növényiszövetek riboflavin jelenlétében sötétben tartva a táptalajon mérsékelten növekednek, míg napfényen tartva kifejezett növekedésgátlás lép fel. Legutóbb *Galston* és mások (8, 8a, 8b) azt találták, hogy a növényi sejtek hosszúnövekedése nagy mértékben függ az ú. n. növekedésszabályozó anyagoktól, auxinoktól. Ezen hormonok egyike kémiailag is identifikált: β indolecetsav, mely metabolikusan a triptofánból származik. Ezen anyag növekedésserkentő hatását a riboflavin fényen teljesen meggátolja azáltal, hogy fotokémiailag oxidálja. Eközben széndioxid keletkezik és oxigén fogy. Pontosán kimutatták, hogy egy mól széndioxid keletkezéséhez egy mól oxigén kell. Közben az indolecetsav eddig még nem ismert oxidációs terméké alakul át. *Brauner* (3) továbbá kimutatta, hogy a széndioxid keletkezéséhez szükséges oxigén a víz fotolíziséből származik. Ugyancsak *Galston* mutatta ki a fototropizmusban játszó fontos szerepét.

A növényi szervezet a fotoszintézisben a légköri széndioxidot használja fel (5, 6, 7, 19, 21, 23, 31, 39, 40, 44.). Ez egy redukciós folyamat és hogy állandó lehessen, a növényi sejtnak egy magas redukciós potenciálú anyag folytonos utánpótlásáról kell gondoskodni. A növényi sejtben az egyedüli hidrogénforrás a víz. *Hill* (15, 16) és *van Niel* (24, 25, 26) bizonyították, hogy a fotoszintézisben felhasználásra kerülő hidrogén valóban a víz fotolízise által keletkezik. Később *Ruben* (34) radioaktív technikával kimutatta, hogy a fotoliziskor és a széndioxid redukтив fixálásakor keletkező oxigén szintén a vízből keletkezik. A fotoszintézis egyik alapvető problémája annak a mechanizmusnak kiderítése, amelynek révén a vízből keletkező hidrogén az anyagcsere során különböző magas redukciós potenciállal rendelkező köztes termékeken keresztül végül is a széndioxid redukcióját lehetővé teszi. Ezt a kérdést legújabban *Ochoa* (28, 29) és munkatársai eredményesen vizsgálták. Széndioxid fixálási kísérleteikben kimutatták, hogy DPN a fotoszintézisben valóban egyik legfontosabb magas redukciós potenciálú intermedier anyag. Ők azt találták, hogy a kloroplasztokból készített zöld grana jelenlétében mind TPN-t, mind DPN-t használva megvilágításra, ezek redukálódtak, de sötétben nem. A piridin nukleotidok ezen fotokémiai reakcióját a zöld grana jelenlétében oxigénfejlődés is kíséri:



Lehninger (20) vizsgálataiból tudjuk, hogy az oxidatív foszforillációban DPNH mint hidrogéndonor szerepelhet. Azt is kimutatták, hogy a fotoszintézisben fokozott szeretlen foszfátfelvétel van. Ezért *Ochoa* és munkatársai (28, 29) a következő rendszer szerint vizsgálták a szeretlen foszfát felvételét:

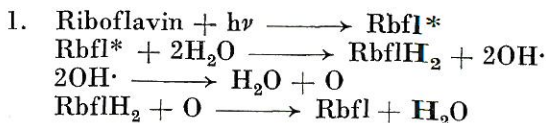


Tehát végeredményben az történt, hogy a fényenergia magasenergiájú foszfáteszter-kötésbe konvertálódott. Ez a kísérleti eredmény is megerősíti azt

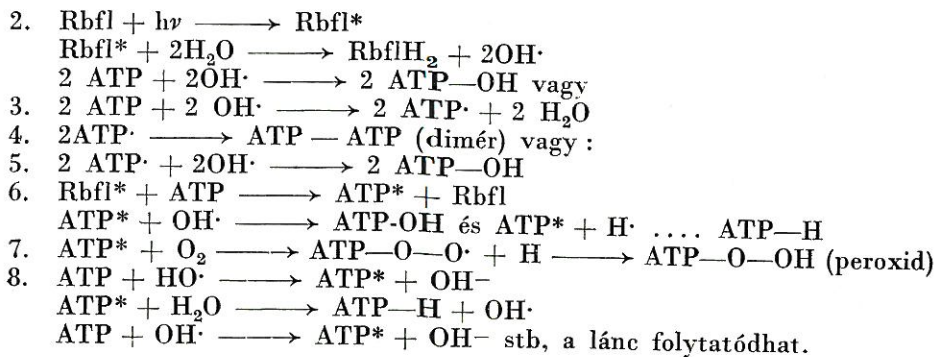
a nézetet, hogy a fotoszintézisben magasenergiájú foszfátkötést is felhasznál a sejt [W a r b u r g (43)]. Tudjuk, hogy 1 M széndioxid redukciójakor 1 M oxigén keletkezik és ehhez 112 000 cal szükséges. Azonban a kloroplasztok által abszorbeált látható spektrum vörös tartományában 1 mol kvantum csak kb. 42 000 cal-t ad. A legújabb kísérleti eredmények szerint az energia beépülése a fotoszintetikus rendszerbe egy kvantum lépéssel történik. Vagyis minden egyes 1 mól kvantum abszorbeálódása a fotoszintézisben 1 mol oxigén fejlesztésével és 1 mól szénsav megkötésével jár együtt. A fotoszintézis mértéke a fényreakció és a sötét reakció közötti viszonytól függ. A továbbiakban a keletkezett 1 mól oxigén 71%-a a legkedvezőbb körülmények között visszareagál és a sejt felhasználja bizonyos égési folyamatokban. Így az abszorbeált fényenergiának kb. 68—76%-a kötődik meg kémiai energia formájában. Strehler (35, 36) kísérletei alapján azt gondolja, hogy az előbbjelzett magasredukciós potenciálú molekulák képződésének mechanizmusa az, amelyben az 1 kvantum fotokémiai lépést az energia kémiai dismutációja követi. Így az algákban a megvilágítás után az ATP tartalom igen gyorsan növekedett.

Közölt kísérleti eredményeinkből látható, hogy a fény energiájának beépülése az ATP-be a jelenlévő riboflavin, illetve vegyértékváltoztató ionok hatására valóban fokozható. Vagyis ezek katalizálták a fényenergia beépülését a molekulába. Ez az energiabeépülés történhet dipolrezonancia, elektron transzferálás által és más közvetlen utakon. Véleményünk szerint valószínűleg inkább az alábbi mechanizmus szerint épül be a fény a riboflavin útján az ATP molekulába.

Ha nincs jelen oldott molekula ;



Ha van jelen ATP molekula ;



Látjuk, hogy ebben a fotokémiai reakcióban tulajdonképpen a riboflavin mint hidrogénakceptor szerepel. Az ATP pedig a fotolízis eredményeképpen keletkező hidroxil radikálisba épült fényenergiát veszi fel a radikális beépülés által. Ebben a szisztémában a víz fotolízise biztosan egy homolízises reakció. Azt gondoljuk, hogy a mi rendszerünkben a fényenergia beépülése az ATP-be szabad

radikális kémiai mechanizmussal történik. Valószínűnek tartjuk, hogy ezzel a mechanizmussal több energia építhető be az ATP molekulába, mint az előbb leírt Ochoa-féle mechanizmussal. Ugyanis itt nemcsak a spektrum vörös hullám tartományát használhatja fel a rendszer a fényenergia beépítésére, hanem sokkal szélesebb tartományt a látható, sőt UV tartományból is. Nem akarjuk állítani, hogy ez a mechanizmus a fotoszintézisben valóban szerepel, azonban kísérleti bizonyítékok vannak arra nézve, hogy az élő szervezetekben szabad radikális mechanizmus valóban szerepel (Haber és Wilstätter, Williams, Lederer, Weiss).

A mai fotoszintézis-kutatás alapján a magas potenciálú reduktáns képzése közben, valamint a primér, a víz fotolíziséből származó oxidáns oxigén molekulává átalakulásának folyamata alatt tekintélyes energiaveszteségek állhatnak elő, melyek nagy mértékben csökkentik az abszorbeálódott fényenergia hatásosságát. Ezen energiaveszteségek helyei a következők lehetnek: *a)* a klorofill molekulában abszorbeálódott fényenergia átalakulása a molekula vibrációs nívóiban, mely mint hőveszteség lép fel, *b)* a primér reduktáns stabilizálódása által okozott veszteségek, *c)* a fotokémiaiilag produkált primér oxidáns: OH átalakulása oxigén molekulává, *d)* további energiaveszteségek a folyamatban keletkező egyéb szabad radikálisok képződésénél és diszmutációjánál. Ugyanis direkt redukció termodinamikailag csak akkor lehetséges, ha az energia egy elektronba konvertálódik.

Ezek alapján valószínűnek tartjuk, hogy a riboflavin a fotoszintézis apparátusban mint hidrogénakceptor szerepelhet a magas redukciós potenciálú anyagok között. Láttuk, hogy a víz fotolíziséből keletkező hidrogén radikállal kombinálódhat. Ezt a feltevésünket az valószínűsíti, hogy a légzésben a DPN és citokromok között foglal helyet. Strehler számításai szerint a víz fotolíziséből származó hidroxil radikális oxigénné való átalakulása közben 22 kcal/mól energia-veszteség áll elő a fotoszintézisben. Véleményünk szerint ez az energiaveszteség a hidroxil radikálisnak az ATP-be való beépülésével nagy mértékben csökkenthető a fotoszintézis rendszerben, és így valószínűn felvehető, hogy az ATP-be való energiaakkumuláció nemcsak az előbbi Ochoa-féle mechanizmussal, hanem ezzel a mechanizmussal is építhető be fényenergia az ATP molekulába a fotoszintézis apparátusba.

A valenciaváltoztató ionoknak a fényenergiát az ATP-be katalitikusan beépítő hatásmechanizmusára nézve az alábbiakat gondoljuk. Tudjuk Rabinovitsch vizsgálataiból, hogy nehézfémek ionjai, mint a vas és egyebek, vizes oldatban bizonyos anionokkal (OH⁻, F⁻, Cl⁻, stb.) komplexeket képeznek. Ezek a komplexek abszorbeálják a fényenergiát. Ez az abszorbeálódás elektron transzferálással történik úgy, hogy az anion elektronja áttolódik a valenciaváltoztató kationra, így redukálván azt. Ezután a komplex szétesik és az anionból szabad radikális képződik. Véleményünk szerint a ferriszulfát oldatban a ferri-ion a víz hidroxilionjával komplexet képez, mely abszorbeálja a fényenergiát, már a látható spektrumban is. Ezután az előbbi mechanizmus szerint szabad hidroxilgyök keletkezik, nagy koncentrációban, mely valószínűen ráviszi az abszorbeálódott fényenergiát az ATP molekulára. Lehetséges még más mechanizmus is, azonban erről majd a későbbiek során számolunk be.

Köszönetet mondunk a Magyar Tudományos Akadémiának azért a hathatós anyagi támogatásért, mellyel kutatásainkat lehetővé tette.

Összefoglalás

Vizgáltuk a riboflavin és néhány vegyértékváltoztató ion fénykatalizáló hatását az ATP molekulára vizes oldatban. Azt találtuk, hogy ezen fénykatalizátorok hatására a fényenergia beépülése az ATP molekulába rendkívül meggyorsítható.

Érkezett: 1953. január 12.

Irodalom

1. Albaum, H. G. et al.: Arch. Biochem. **27**, 102 et 130. 1950.
2. Aton, D. I.: Nature, **167**, 1008. 1951.
3. Brauner, J.: Nature. **40**, 23. 1953.
4. Elliott, W. H.: Arch. Biochem. **49**, 106. 1951.
5. Emerson, R. & Lewis, C. M.: Amer. J. Bot. **30**, 165. 1943.
6. Emerson, R. et al.: Amer. J. Bot. **31**, 107. 1944.
7. Evans, E. A. jr. et al.: J. Biol. Chem. **147**, 771. 1943.
8. Galston, A. W.: Proc. Nat. Akad. Sci. US. **35**, 10. 1949.
- 8 a. Galston, A. W.: Science **111**, 619. 1950.
- 8 b. Galston, A. W. & Backer, R. S.: Science, **109**, 485. 1949.
9. Garay, K. & Guba, F.: Agrokémia és Talajtan **1**, 1. 1951.
- 9 a. Garay, K. & G. Fehér, I.: Agrokémia és Talajtan **2**, 231. et 255. 1953.
10. Gest, H. & Kamen, H. D.: J. Biol. Chem. **176**, 299. 1948.
11. Green, D. E. & Stumpf, P. K.: J. Biol. Chem. **142**, 355. 1942.
12. Guba, F.: Agrokémia és Talajtan **1**, 1'. 1951.
13. Hanes, C. S.: Proc. Roy. Soc. B. **128**, 431. 1940; **129**, 174. 1941.
14. Heiman, M.: Arch. Ophthalmol. **23**, 493. 1942.
15. Hill, R.: Nature. **139**, 88. 1937.
16. Hill, R.: Proc. Roy. Soc. B. **127**, 197. 1939.
17. Hobson, P. N. et al.: J. Chem. Soc. 3566. 1950.
18. Kendler, O.: Z. Naturforschung **56**, 243. 1950.
19. Körkes, S. et al.: J. Biol. Chem. **187**, 891. 1950.
20. Lehninger, A. L.: J. Biol. Chem. **190**, 345. 1950.
21. Lipmann, F.: Adv. Enzymol. **6**, 231. 1946.
22. Mc. Elroy: Proc. Natl. Acad. Sci. USA **33**, 342. 1947.
23. Mehler, A. H.: Arch. Biochem. **33**, 65. 1951.
24. van Niel, C. B.: Photosyntheses in Plants. Ames. Iowa Sta. Col. Press. 437. 1949.
25. van Niel, C. B.: Arch. Microbiol. **3**, 1. 1931.
26. van Niel, C. B. et al.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA **28**, 157. 1942.
27. Niekerson, J. W. & Mullins, L. J.: Nature **161**, 939. 1948.
28. Ochoa, S.: J. Biol. Chem. **174**, 133. 1948.
29. Ochoa, S. et al.: J. Biol. Chem. **174**, 979. 1948; **187**, 863. 1950; **192**, 301. 1951.
30. Paladini, A. C. et al.: Arch. Biochem. **23**, 55. 1949.
31. Rabinowitsch, E. J.: Photosynthesis. Vol. 1. Interscience Publ. N-Y. 1945.
32. Robertson, R. N.: Ann. Rew. Plant. Physiol. **2**, 1. 1951.
33. Ruben, S. et al.: J. Amer. Chem. Soc. **63**, 877. 1941.
34. Ruben, S.: J. Amer. Chem. Soc. **65**, 279. 1943.
35. Strehler, B. L.: Arch. Biochem. et Biophys. **34**, 239. 1951.
36. Strehler, B. L. et al.: J. Gen. Physiol. **34**, 809. 1951.
37. Stumpf, P. K.: J. Biol. Chem. **182**, 261. 1950.
38. Stumpf, P. K. et al.: Arch. Biochem. **30**, 126. 1951.
39. Tolmarch, L. J.: Arch. Biochem. **33**, 120. 1951.
40. Vennesland, B. et al.: J. Biol. Chem. **178**, 301. 1949.
41. Vishniac, W. & Ochoa, S.: Nature **167**, 768. 1951.
42. Vishniac, W. & Ochoa, S.: J. Biol. Chem. **195**, 75. 1952.
43. Warburg, O.: Z. Electrochem. **55**, 447. 1951.
44. Wassink, E. C.: Adv. in Enzymol. **11**, 91. 1951.
45. Wood, H. G. & Werkman, C. H.: J. Biol. Chem. **139**, 365 et 377. 1951.

ФИКСАЦИЯ СПЕРАЛИ СВЕТА В АТФ С ФОТОКАТАЛИЗАТОРАМИ

К. Гараи и И. Фегер.

Отдел Биохимии Агрехимического Научно-Исследовательского Института,
Будапешт

Выводы

К растворам АТФ-а разной концентрации прибавили 1—10 γ /мл рибофлавина, или 10^{-6} — 10^{-7} м сульфата Fe^{2+} и Fe^{3+} и сульфата Ce^{3+} и Ce^{4+} и следовали изменения каталитического действия света на молекулы АТФ-а в водном растворе.

В серии с рибофлавином на непосредственном солнечном свете расщепляемость АТФ-а с 50—100% увеличивалась. При воздействии УФ- — излучения вообще после 4 раз более короткого времени было обнаружено такое же увеличение расщепляемости, как в растворах АТФ-а не содержащих фотокатализатора. По существу было подобное и фотокаталитическое действие сульфата Fe^{2+} — Fe^{3+} и Ce^{3+} — Ce^{4+} .

Расщепление ни неорганического фосфата ни NH_2 от АТФ-а не наблюдали. Отщепление пиррофосфата исключается кривой ферментативного разложения.

По их мнению в растворах сульфата Fe^{3+} , Fe^{3+} ион и ОН-ион воды образуют комплекс, который поглощает энергию света уже в видимом спектре. Это поглощение происходит с переносом электронов так что электрон аниона смещается на катион изменяющий свою валентность, который таким образом восстанавливается. Затем комплекс разложится, и из аниона обрывается свободный радикал (ОН) большой концентрации. Этот радикал транспортирует поглощенную световую энергию на молекулу АТФ-а.

Рис. 1. Расщепляемость 50 γ /мл АТФ-а при 0° С после настаивания в темноте после добавления 1.25 γ /мл рибофлавина. 1: контроль АТФ в 7 мин. 2: контроль АТФ после 72 ч. наст. 3: после добавления рибофлавина в 0 мин. 4: после добавления рибофлавина и после 72 ч. настаивания.

Рис. 2. Расщепляемость 10 мг/мл АТФ-а при 0° С после настаивания в темноте и после добавления 1.25 γ /мл рибофлавина. 1: контроль АТФ в 0 мин. 2: контроль АТФ после 72 ч. настаивания. 3: после добавления рибофлавина в 0 мин. 4: после добавления рибофлавина и 72 час. настаивания.

Рис. 3. Влияние солнечного (искусственного) света на расщепляемость контрольного и рибофлавинного АТФ-а (50 γ /мл) при 0° С. 1: контроль АТФ на свете в 0 мин. 2: То же, 1,5 ч. на свете. 3: То же, 3 ч. на свете. 4: АТФ + 2,5 γ /мл рибофлавина 1,5 ч. на свете. 5: То же, 3 ч. на свете. 6: контроль АТФ после 48 ч. настаивания на свете. 7: АТФ + 2,5 γ /мл. рибофлавина после 48 ч. настаивания на свете.

Рис. 4. Влияние света на 10 мг/мл АТФ в разных сроках при 0° С и в присутствии 250 γ /мл рибофлавина. 1: контроль АТФ в 0 мин. 2: То же, после 48 ч. настаивания. 3: То же, 96 ч. настаивания. 4: То же, 120 ч. настаивания. 5: 10 мг/мл АТФ + 250 γ /мл рибофлавина в 0 мин. 6: То же, 48 час. настаивания. 7: То же, 96 ч. настаивания. 8: То же, 120 ч. настаивания.

Рис. 5. Влияние рибофлавина на расщепляемость УФ — излученного АТФ-а. АТФ: 50 γ /мл. 1: АТФ в 0 мин. 2: АТФ + 2,5 γ /мл рибофлавина в 0 мин. 3: АТФ + 5 γ /мл рибофлавина в 0 мин. 4: АТФ + 30 мин. УФ изл. 5: АТФ + 2,5 γ /мл рибофлавина + 30 мин. УФ изл. 6: АТФ + 5 γ /мл рибофлавина + 30 мин. УФ изл.

Рис. 6. Фотосенсибилизирующее действие рибофлавина на АТФ (50 γ /мл) после 20 мин. УФ изл. 1: АТФ в 0 мин. 2: АТФ, 20 мин. УФ изл. 3: 1 γ /мл рибофлавина + АТФ, 20 мин. УФ изл. 4: 2,5 γ /мл. рибофлавина + АТФ, 20 мин. УФ изл.

Рис. 7. Фотосенсибилизирующее действие рибофлавина (250 γ /мл) на АТФ (10 мг/мл) после УФ изл. 1: АТФ 0 мин. 2: АТФ после 2,5 часа УФ изл. 3: АТФ + 250 γ /мл рибофлавина, 2,5 ч. УФ изл. 4: АТФ после 4 ч. УФ изл. 5: АТФ + рибофлавин после 4 ч. УФ изл. 6: АТФ после 5 ч. УФ изл. 7: АТФ + рибофлавин после 5 ч. УФ изл.

Рис. 8. Фотосенсибилизирующее действие иона Fe^{2+} — Fe^{3+} на АТФ (50 γ /мл) на солнечном свете при 0° С. 1: АТФ в 0 мин. 2 и 3: 10^{-7} М Fe^{2+} — Fe^{3+} в 0 мин. 4: АТФ после 3 ч. настаивания. 5: АТФ в присутствии 10^{-7} М Fe^{2+} после 3 ч. настаивания. 6: АТФ в наличии 10^{-7} после 3 ч. наст., 7: АТФ после 48 ч. наст. 8: АТФ в наличии 10^{-7} М Fe^{2+} после 48 ч. наст. 9: АТФ в наличии 10^{-7} М Fe^{3+} после 48 ч. наст.

Absorption of Light Energy by Adenosine Triphosphate with the Use of Photocatalysts

K. GARAY and I. G. FEHÉR

Section for Biochemistry, Agrochemical Research Institut, Budapest

Summary

ATP solutions of diverse concentration were completed with 1—10 γ /ml riboflavin, and 10^{-6} — 10^{-7} M solution of ferric and ferrous sulphate, further ceri and cerosulphate solutions and the catalytic effect of light on the ATP molecule was examined in an aqueous solution.

Under the effect of riboflavin the splittability of ATP increased by 50—100 per cent in direct sunlight. Under the effect of ultraviolet irradiation, the increase of splittability was attained in $\frac{1}{4}$ of the period required for the same increase in ATP solution without catalysts. In essence, the photocatalytic effect of ferric-ferrous sulphate and of ceri-cerosulphate was similar.

The splitting of inorganic phosphorus or NH_3 from ATP has not been observed. The possibility of splitting pyrophosphate is excluded by the enzymatic decomposition curve.

In the opinion of the authors the ferric ion forms in ferric sulphate solution a complex with the hydroxyl ion of water and this complex absorbs light energy even in the visible spectrum. This absorption is mediated by electron transport. The electron of the anion is shifted to the cation changing valence which latter is then reduced. Afterwards the complex decomposes and a free radical (hydroxyl) forms from the anion in a high concentration. Probably this latter transports the absorbed light energy to the ATP molecule.

Fig. 1. Splittability of ATP (50 γ /ml) after standing at 0 C° in darkness and adding 1,25 γ /ml riboflavin, respectively. 1: control ATP at 0 minute. 2: control ATP after standing for 72 hours. 3: After addition of riboflavin at 0 minute. 4: After addition of riboflavin, standing for 72 hours.

Fig. 2. Splittability of 10 mg/ml ATP after standing at 0 C° in darkness and adding 1,25 γ /ml riboflavin, respectively. 1: control ATP at 0 minute. 2: control ATP after standing for 72 hours. 3: After addition of riboflavin at 0 minute. 4: After addition of riboflavin, standing for 72 hours.

Fig. 3. Effect of sunlight (electric light) on the splittability of the control and riboflavin-containing ATP solutions (50 γ /ml), at 0 C°. 1: control ATP in light at 0 minute. 2: Same, standing for 1,5 hours in light. 3: Same, standing for 3 hours in light. 4: ATP + 2,5 γ /ml riboflavin, standing for 1,5 hours in light. 5: Same, standing for 3 hours in light. 6: control ATP, after standing for 48 hours in light. 7: ATP + 2,5 γ /ml riboflavin after standing for 48 hours in light.

Fig. 4. Effect of light on a 10 mg/ml solution of ATP for diverse periods at 0 C° and in the presence of 250 γ /ml riboflavin, respectively. 1: control ATP at 0 minute. 2: Same after standing for 48 hours. 3: Same, after standing for 96 hours. 4: Same, after standing for 120 hours. 5: 10 mg/ml ATP + 250 γ /ml riboflavin at 0 minute. 6: Same after standing for 48 hours. 7: Same after standing for 96 hours. 8: Same after standing for 120 hours.

Fig. 5. Effect of riboflavin on the splittability of ATP treated by ultraviolet rays (ATP: 50 γ /ml). 1: ATP at 0 minute. 2: ATP + 2,5 γ /ml riboflavin at 0 minute. 3: ATP + 5 γ /ml riboflavin at 0 minute. 4: ATP + 30 minutes ultraviolet irradiation. 5: ATP + 2,5 γ /ml riboflavin + 30 minutes ultraviolet irradiation. 6: ATP + 5 γ /ml riboflavin + 30 minutes ultraviolet irradiation.

Fig. 6. Photosensibilising effect of riboflavin on ATP (50 γ /ml) after 20 minutes ultraviolet irradiation. 1: ATP at 0 minute. 2: ATP after 20 minutes ultraviolet irradiation. 3: 1 γ /ml riboflavin + ATP after 20 minutes ultraviolet irradiation. 4: 2,5 γ /ml riboflavin + ATP after 20 minutes ultraviolet irradiation.

Fig. 7. Photosensibilising effect of riboflavin (250 γ /ml) on ATP (10 mg/ml) after ultraviolet irradiation. 1: ATP at 0 minute. 2: ATP after 2,5 hours ultraviolet irradiation. 3: ATP + 250 γ /ml riboflavin after 2,5 hours ultraviolet irradiation. 4: ATP after 4 hours ultraviolet irradiation. 5: ATP + riboflavin after 4 hours ultraviolet irradiation. 6: ATP after 5 hours ultraviolet irradiation. 7: ATP + riboflavin after 5 hours ultraviolet irradiation.

Fig. 8. Photosensibilising effect of ferrous-ferric ion on ATP (50 γ /ml) in sunlight at 0 C°. 1: ATP at 0 minutes. 2 and 3: ATP in the presence of 10^{-7} M ferrous-ferric ion at 0 minute. 4: ATP after standing for 3 hours. 5: ATP in the presence of 10^{-7} M ferrous ion after standing for 3 hours. 6: ATP in the presence of 10^{-7} M ferric ion after standing for 3 hours. 7: ATP standing for 48 hours. 8: ATP in the presence of 10^{-7} M ferrous ion after standing for 48 hours. 9: ATP in the presence of 10^{-7} M ferric ion after standing for 48 hours.