

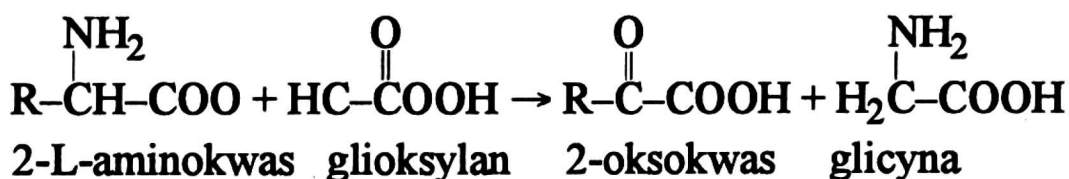
*Andrzej Paszkowski*  
*Katedra Biochemii SGGW w Warszawie*

## **Właściwości roślinnych aminotransferaz glioksydanowych**

1060

### **Wstęp**

Glioksydan jest bardzo reaktywnym, a w wyższych stężeniach toksycznym produktem pośrednim wielu szlaków metabolicznych. Dlatego też dalsze szybkie jego przekształcenie stanowi ważny element procesu detoksyfikacyjnego w komórce. Jednym z takich przekształceń jest reakcja transaminacji, w której glioksydan uczestniczy jako jeden z substratów, a enzymami katalizującymi te reakcje są aminotransferazy glioksydanowe.



Powstałe produkty, jako związki nietoksyczne, mogą ponownie zostać włączone do puli metabolicznej. Ponieważ reakcje enzymatycznej transaminacji z udziałem glioksydanu przebiegają ze znacznym spadkiem energii swobodnej, można przypuszczać, że w warunkach fizjologicznych są one nieodwracalne [59]. Z tego właśnie względu aminotransferazy współdziałające z glioksydanem zasługują na szczególne zainteresowanie.

Najlepiej poznanymi roślinnymi aminotransferazami glioksydanowymi są: aminotransferaza glutaminian : glioksydan (GGAT, EC 2.6.1.4) i seryna : glioksydan (SGAT, EC 2.6.1.45). Powszechnie przyjmuje się, że zasadniczą funkcją metaboliczną obu enzymów w komórce jest uczestniczenie w cyklu fotooddechowym, tj. oksydacyjnym, fotosyntetycznym cyklu węglowym, który umożliwia odzyskanie dla fotosyntezy do 3/4 jednostek węglowych początkowo straconych w postaci fosfoglikolanu [15, 66]. W kilku pracach rozpatrywano inne możliwe role metaboliczne tych aminotransferaz, takie jak udział w syntezie L-alaniny, glicyny, L-seryny lub L-tryptofanu [43, 47, 64]; czy udział w degradacji 5-aminolewulinianu [49, 57], metabolitu pośredniego w biosyntezie układu porfirynowego. Układ ten stanowi podstawę budowy chlorofilów [28]. Nie w pełni wyjaśniona została tożsamość GGAT z

aminotransferazami: alanina : 2-oksoglutaran i glutaminian : 4,5-dioksowalerianian [12, 17, 53], a także GGAT lub SGAT z aminotransferazą alanina : glioksylan [17, 22, 25, 53]. Interesujące wydaje się zagadnienie regulacji aktywności GGAT i SGAT szczególnie przez takie naturalne metabolity komórki, jak L-aminokwasy, glioksylan czy jony amonowe [42, 50, 58, 68, 75]. Istnieją różne poglądy na budowę cząsteczek każdego z tych enzymów [43, 45, 51, 52].

Powyższe i inne aspekty tytułowego tematu poruszane są w niniejszym opracowaniu. Stanowi ono uaktualnienie i rozszerzenie wcześniej publikowanych przeglądów [59, 70].

## **Klasyfikacja roślinnych aminotransferaz współdziałających z glioksylanem**

---

Nomenklatura Enzymów, opracowana w 1984 r. przez Międzynarodową Unię Biochemiczną, wymienia w podpodklasie 2.6.1. co najmniej siedem aminotransferaz mogących współdziałać z glioksylanem. Jednakże identyfikacja i rozróżnienie poszczególnych enzymów tej grupy sprawia pewne trudności. I tak np. w liściach roślin stwierdzono występowanie aminotransferaz: glicyna : 2-oksoglutaran, czyli glutaminian : glioksylan (GGAT, EC 2.6.1.4) [54]; alanina : glioksylan (EC 2.6.1.44) [56]; seryna : glioksylan (SGAT, EC 2.6.1.45) [7, 58]; metionina : glioksylan [9, 16]; tryptofan : glioksylan [43]. GGAT okazała się tożsama ze sklasyfikowaną pod innym numerem aminotransferazą alanina : 2-oksoglutaran (aminotransferaza alaninowa, (EC 2.6.1.2) [5, 44, 45]. Ponadto wykazano, że SGAT jest identyczna z aminotransferazami: asparagina : 2-oksokwas (EC 2.6.1.14) [29], seryna: pirogronian (EC 2.6.1.51) [29, 58] oraz tryptofan : glioksylan [43]. Na podstawie wyników badań nad specyficnością substratową aminotransferazy metionina : glioksylan sugerowano, że może to być aminotransferaza glutamina : pirogronian (EC 2.6.1.15) [16]. GGAT i SGAT wykazywały aktywność aminotransferazową również z udziałem L-alaniny i glioksyłanu [25, 42, 43, 51, 52], a aminotransferaza alanina : glioksylan aktywność aminotransferazy aminolewulinianowej (EC 2.6.1.43) [56].

## **Występowanie**

---

Aktywność aminotransferazową L-aminokwas : glioksylan wykryto w wielu gatunkach roślin. W roślinach wyższych znajdowano ją głównie w liściach tytoniu [21], grochu [4], pszenicy [34], owsa [7], żyta i ryżu [5], gryki [2], soi [63]; w liścieniach ogórka [25]; w koleoptylu kukurydzy [11]; w korzeniach grochu [69]; w nasionach fasoli [55], a także w komórkach kilku gatunków glonów [18, 19, 71].

## Lokalizacja subkomórkowa

W komórkach roślinnych aktywność aminotransferaz z udziałem glioksyłanu zlokalizowana była zwykle w peroksysomach [24, 27], jakkolwiek skład enzymowy peroksysomów może zmieniać się zależnie od fazy rozwojowej tkanki roślinnej [67]. Tolbert i in. [67] podają, że niektóre różnice międzygatunkowe w metabolizmie peroksysomalnym mają związek z rozwojem ewolucyjnym. I tak w jednokomórkowych glonach enzymy cyklu fotooddechowego zlokalizowane są wyłącznie w mitochondriach, podczas gdy w wielokomórkowych glonach i u roślin wyższych większość tych enzymów występuje w peroksysomach.

Biekman i Feierabend [5] badali subkomórkowe rozmieszczenie aktywności aminotransferazy glutaminian : pirogronian (glioksyłan) (GGAT) w homogenatach z liści żyta, pszenicy i grochu. 10% tej aktywności występowało we frakcji mitochondrialnej, a pozostałe 90% w peroksysomach. Podobny rozkład aktywności uzyskali oni dla etiolowanych liści żyta. W innych niezielonych tkankach, takich jak korzenie rosnącego w ciemności grochu oraz endosperm rącznika, aktywność aminotransferazy glutaminian : pirogronian (glioksyłan) Biekman i Feierabend [5] wykrywali głównie w mitochondriach, ale także w peroksysomach (korzenie) lub glioksysomach (endosperm). Według Noguchi i Hayashi [43, 44] aminotransferazy: tryptofan (seryna) : glioksyłan (hydroksypirogronian) (SGAT) i alanina (glutaminian) : 2-oksoglutaran (glioksyłan) (GGAT) z liści szpinaku występowały *in vivo* wyłącznie w peroksysomach, a obserwowane w cytozolu aktywności tych enzymów pochodziły z peroksysomów rozbitych w trakcie preparatyki.

W komórkach etiolowanych liścieni ogórka aktywność GGAT stwierdzono tylko w cytozolu [45]. Po przeniesieniu liścieni do środowiska z oświetleniem ciągłym enzym pojawiał się w peroksysomach. Na tej podstawie Noguchi i Fujiwara [45] sugerowali, że jest on transportowany z cytozolu do peroksysomów w formie gotowej w czasie biosyntezy chlorofilu. Hondred i in. [26] wykazali, że w liścieniach ogórka synteza mRNA kodującego peroksysomalną podjednostkę SGAT jest zależna od światła.

Chapple i in. [9], mimo że zlokalizowali aktywność aminotransferazy metionina (glutamina) : glioksyłan we frakcji cytozolowej otrzymanej z protoplastów komórek liści rzepaku, nie wykluczali możliwości występowania *in vivo* niektórych izoenzymów tego enzymu w peroksysomach.

Podobnie Otter i in. [47] wykryli w kiełkach sosny dwie izoformy aminotransferazy alanina : 2-oksoglutaran — peroksysomalną oraz cytozolową. Światło stymulowało syntezę izoenzymu peroksysomalnego, który wg tych badaczy był tożsamy z GGAT. W komórkach *Euglena gracilis* występowały dwie izoformy GGAT — mitochondrialna i cytozolowa [73].

Po rozdzieleniu na frakcje homogenatu z eukariotycznych glonów *Cyanidium caldarium* Gross i Beevers [19] stwierdzali występowanie GGAT w peroksysomach, a SGAT we frakcji rozpuszczalnej.

## Funkcje metaboliczne

---

Najważniejszą funkcją metaboliczną roślinnych aminotransferaz glioksyłanowych jest udział w fotooddychaniu, czyli oksydacyjnym, fotosyntetycznym cyklu węglowym (cyklu C<sub>2</sub>). W tradycyjnym ujęciu cykl C<sub>2</sub> umożliwia odzyskanie dla fotosyntezy do 3/4 jednostek węglowych początkowo straconych w postaci fosfoglikolanu [15]. Keys i in. [33] po raz pierwszy zwrócili uwagę na to, że uwalnianiu się fotooddechowego dwutlenku węgla towarzyszy powstawanie równoważnych molarowo ilości NH<sub>3</sub>, który jest szybko reasymilowany w postaci glutaminy. Wskazuje to na możliwość udziału fotooddychania w zintegrowanej regulacji procesów asymilacji węgla i azotu. Regulacyjną funkcję cyklu C<sub>2</sub> w komórce potwierdzają wyniki wielu prac opublikowanych w następnych latach [13, 36].

Zaobserwowano m.in., że cykl fotooddechowy był hamowany w warunkach dużego niedoboru azotu, a dodanie L-seryny lub L-glutaminianu powodowało zmniejszenie się stężenia glioksyłanu w tkance roślinnej i ponowne uruchomienie fotooddychania [46]. U roślin wyższych glioksyłan powstały w peroksysomach w procesie fotooddychania przekształcany jest w glicynę, w dwóch nieodwracalnych w warunkach fizjologicznych reakcjach transaminacji [66]. Reakcje te katalizują dwie peroksysomalne aminotransferazy: GGAT i SGAT, a dawcami grup aminowych są najczęściej odpowiednio: L-glutaminian i L-seryna [27, 66]. Wysuwane są sugestie, że fotooddychanie nie jest cyklem zamkniętym i obydwie aminotransferazy uczestniczą w syntezie glicyny i L-seryny z udziałem L-alaniny i L-asparaginy [3, 64, 65]. Madore i Grodziński [38] obserwowali wzrost biosyntezy aminokwasów w liściach szałwi, gdy wzrastała szybkość fotooddychania.

Decydujących dowodów na ważną rolę SGAT w procesie fotooddychania roślin wyższych dostarczyły badania nad mutantami *Arabidopsis* [61], jęczmienia [41] i tytoniu [22], pozbawionymi aktywności tego enzymu. Były one zdolne do życia jedynie w warunkach nie sprzyjających fotooddychaniu.

Paszkowski i Niedzielska [48, 51] sądzili, że zarówno GGAT, jak i SGAT z siewek żyta, obok udziału w cyklu C<sub>2</sub>, mogą uczestniczyć w jednej z reakcji szlaku metabolicznego, w którym glicerynian przekształcany jest do L-seryny w peroksysomach. Enzymy z żyta katalizowały bowiem reakcję transaminacji pomiędzy L-glutaminianem (GGAT) albo L-alaniną lub L-asparaginą (SGAT) a hydroksypirogronianem [48, 51].



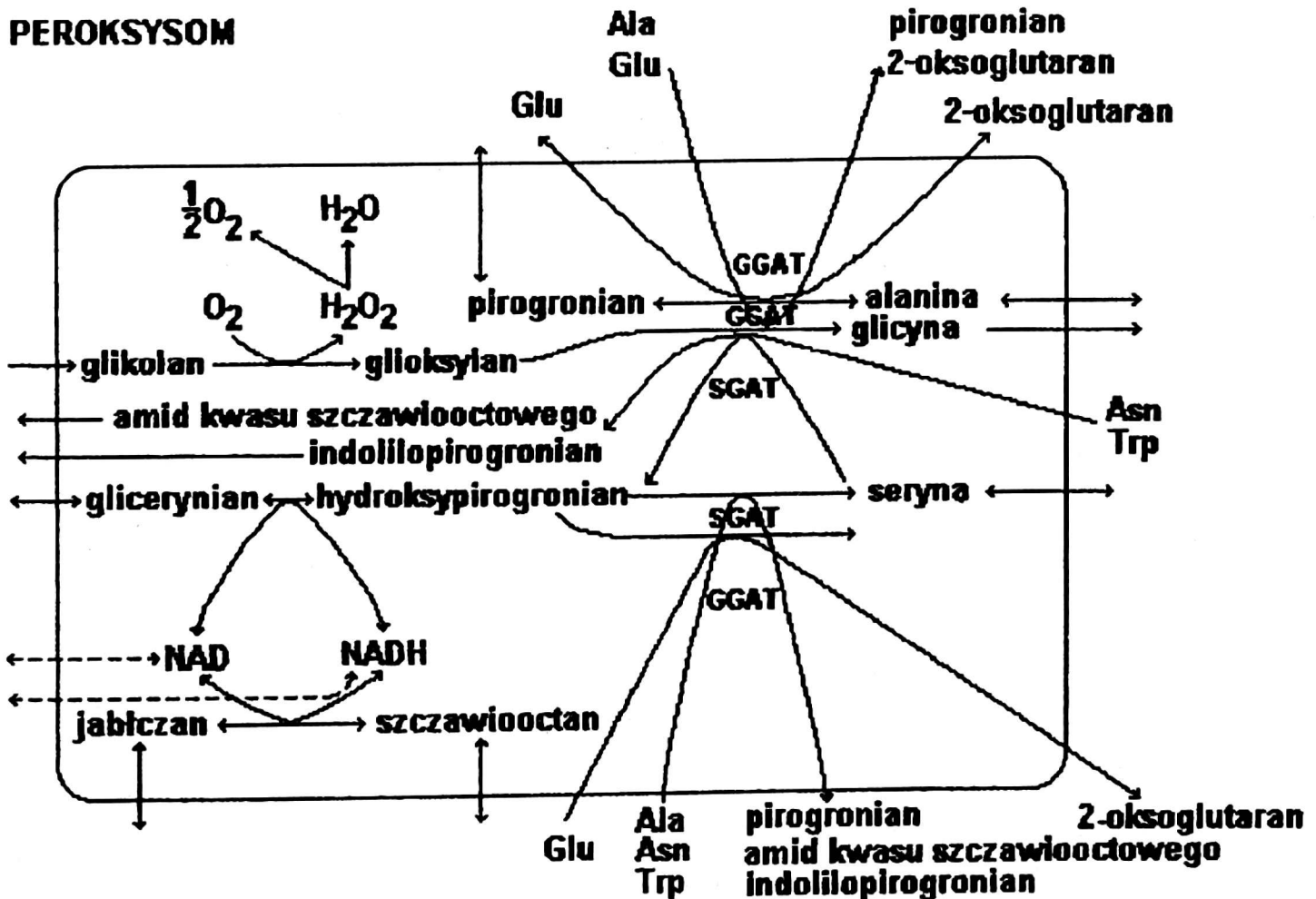
Według Yokoty i in. [72] w komórkach *Euglena gracilis* powstały w cyklu C<sub>2</sub> glioksyłan podlega transaminacji katalizowanej wyłącznie przez mitochondrialną GGAT.

Udział peroksysomalnej aminotransferazy glutaminian : pirogronian (glioksyłan) (GGAT) z liści roślin wyższych zarówno w procesie fotooddychania, jak i w syntezie L-alaniny zaproponowali Biekmann i Feierabend [5]. Według nich przyjęty wcześniej schemat syntezy tego aminokwasu, który przewidywał transaminację pirogronianu w chloroplastach, był mniej korzystny energetycznie dla komórki.

Noguchi i Hayashi [43] sugerowali, że peroksysomalna aminotransferaza tryptofan (seryna) : glioksyłan (hydroksypirogronian) (SGAT) z liści szpinaku może uczestniczyć w syntezie kwasu indoliloctowego.

Otter i in. [47] — przyjmując, że peroksysomalna izoforma badanej przez nich aminotransferazy alanina : 2-oksoglutaran z kiełków sosny katalizuje również transaminację pomiędzy L-glutaminianem lub L-alaniną a glioksyłanem — przypisywali temu enzymowi kluczową rolę we wzajemnych przemianach aminokwasów, w syntezie L-alaniny dla potrzeb syntezy białek, a także w reasymilacji uwolnionego podczas fotooddychania jonu NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Schemat jest podsumowaniem rozważań na temat metabolicznych funkcji GGAT i SGAT w peroksysomach.



Schemat. Hipotetyczna rola GGAT i SGAT w metabolizmie komórki

Według Hatcha [20] dwa z trzech wykrytych przez niego izoenzymów aminotransferazy alanina : 2-oksoglutaran z liści łobody uczestniczyły w fotosyntetycznym szlaku C<sub>4</sub> występującym w tej roślinie. Z kolei zgodnie z sugestią Son i in. [62] tylko jedna z trzech izoform aminotransferazy alanina : 2-oksoglutaran z liści prosa jest zaangażowana w fotosyntetycznym szlaku C<sub>4</sub>. Należy jednak zaznaczyć, że zarówno izoenzymy z liści łobody, jak i liści prosa nie były, niestety, badane ze względu na możliwość katalizowania reakcji transaminacji z udziałem glioksydanu [20, 62].

Aminotransferazy alanina : 4,5-dioksowalerianian (glioksydan) z kiełków rzodkiewki [56] i *Chlorella regularis* [57] katalizowały reakcje transaminacji pomiędzy L-alaniną a kwasem 4,5-dioksowalerianowym, uważanym przez niektórych badaczy [1] za metabolit pośredni w syntezie porfiryn. W reakcji aminacji tego dioksokwasu uczestniczyły również aminotransferazy glutaminian : 4,5-dioksowalerianian (glioksydan) z *Euglena gracilis* [12], *Chlorella fusca* [39] oraz *Scenedesmus obliquus* mutant C-2A' [32]. Na ogół przyjmuje się, że reakcje transaminacji z udziałem 4,5-dioksowalerianianu mają charakter nieodwracalny [32]. Jedynie Shioi i in. [57] wysunęli przypuszczenie, że aminotransferaza współdziałająca z tym dioksokwasem może katalizować transaminację prowadzącą do jego powstawania, a zatem rozpoczynać szlak kataboliczny 5-aminolewulinianu — metabolitu pośredniego w syntezie porfiryn. Sugestię tę potwierdzają wyniki badań nad SGAT z siewek żyta [49], jakkolwiek bardzo niskie stężenie 5-aminolewulinianu (0,44 μM) oznaczone w liściach jęczmienia [40] nie wskazuje, aby związek ten mógł skutecznie konkurować z L-seryną o SGAT w peroksysomach. Udział SGAT w zapoczątkowaniu procesu degradacji 5-aminolewulinianu mogłoby zatem dotyczyć jedynie izoenzymu umiejscowionego w chloroplastach, gdzie przebiega synteza kwasu 5-aminolewulinowego [28].

Chapple i in. [9] zaproponowali, że wyizolowana przez nich z liści rzepaku i oczyszczona aminotransferaza metionina : glioksydan — katalizując transaminację pomiędzy L-metioniną a glioksydanem — inicjuje biosyntezę tioglukozydów pochodzących od metioniny. Według Chapple'a i in. [9] enzym ten mogłoby uczestniczyć w tzw. cyklu metioniny, który pozwala na odzyskanie siarki w postaci zredukowanej po syntezie etylenu lub poliamin w komórce roślinnej. Katalizowana przez aminotransferazę L-metionina : glioksydan reakcja przeniesienia grupy 2-aminowej z L-glutaminy na pochodną 2-oksokwasową L-metioniny stanowi jeden z etapów tego cyklu.

## Oczyszczanie

---

Wśród otrzymanych dotąd preparatów aminotransferaz roślinnych współdziałających z glioksydanem najwyższą aktywność właściwą wynoszącą 46,1 i 53,2 μmol·min<sup>-1</sup>·mg białka<sup>-1</sup> w temp. 30°C wykazywały preparaty odpowiednio GGAT i SGAT, uzyskane z siewek żyta [51, 52]. Każdy z nich podczas elektroforezy analitycznej w żelu poliakryloamidowym wędrował w kierunku anody w postaci

jednego prążka białkowego. Jednakże na podstawie wyników elektroforezy z SDS w obu preparatach stwierdzono występowanie zanieczyszczeń białkowych stanowiących 17% (GGAT) lub 10% (SGAT) całego białka [51, 52].

Wysoką aktywnością właściwą ( $43,8 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg białka}^{-1}$  w temp.  $37^\circ\text{C}$ ) charakteryzował się również jednorodny elektroforetycznie preparat GGAT z liścieni ogórka [45].

Preparat SGAT o aktywności właściwej  $34,4 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg białka}^{-1}$  w temp.  $25^\circ\text{C}$  otrzymali z liścieni ogórka Hondred i in. [25]. Wyniki elektroforezy analitycznej w żelu poliakryloamidowym z SDS wskazywały na występowanie w nim dwóch łańcuchów polipeptydowych. Aktywność właściwą wynoszącą  $39,3 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg białka}^{-1}$  w temp.  $30^\circ\text{C}$  oznaczyli Ireland i Joy [29] dla preparatu aminotransferazy asparagina (seryna) : glioksylan (SGAT) z liści grochu, jakkolwiek jego elektroforeza w żelu poliakryloamidowym wykazała dwa dodatkowe prążki białkowe, nieaktywne enzymatycznie.

Chapple i in. [9] oczyszczili jeden z izoenzymów aminotransferazy metionina : glioksylan z liści rzepaku aż 10000-krotnie. Chociaż aktywność właściwa tego preparatu wynosiła zaledwie  $0,6 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg białka}^{-1}$  w temp.  $30^\circ\text{C}$  wyniki elektroforezy analitycznej w żelu poliakryloamidowym z SDS wskazywały na występowanie w nim tylko jednego białka.

## Wpływ pH

Optymalne pH dla działania roślinnych aminotransferaz glioksylanowych zawiera się w granicach 7,0–9,0 [42, 45, 51, 56, 73], tj. w zakresie powszechnie przyjętym jako optymalny dla aktywności większości aminotransferaz roślinnych [14].

Obserwowana wartość optymalnego dla działania enzymu pH zmienia się często zależnie od składników buforu stosowanego do oznaczeń aktywności. Stwierdzono, że niektóre aniony mogą hamować kompetycyjnie przejście formy pirydoksaminowej aminotransferazy w formę pirydoksalową lub utrudniać tworzenie się kompleksu enzym–substrat, blokując obdarzone dodatnim ładunkiem grupy funkcyjne centrum aktywnego enzymu [70]. Rehfeld i Tolbert [54] wykazali, że jony fosforanowe hamują aktywność SGAT z liści szpinaku, a optymalne dla działania tego enzymu pH w buforze bez jonów fosforanowych wynosi 7,0. Wyraźnie wyższe było optymalne pH dla aktywności SGAT przy zastosowaniu do oznaczeń buforu fosforanowego [29, 34, 43].

Optymalne pH dla reakcji enzymatycznej transaminacji w jednym kierunku czasami różni się od optymalnego pH dla reakcji w odwrotnym kierunku. Nakamura i Tolbert [42] podają, że optymalne pH dla reakcji transaminacji pomiędzy L-seryną a glioksylanem, katalizowanej przez SGAT z liści szpinaku, było o dwie jednostki niższe od optymalnego pH ustalonego dla reakcji odwrotnej.



## Specyficzność substratowa

Nazwa aminotransferaza glutaminian : glioksylan (GGAT) dotyczy zwykle białka enzymowego zdolnego do katalizowania, obok reakcji przeniesienia grupy aminowej z L-glutaminianu na glioksylan, także reakcji transaminacji pomiędzy L-glutaminianem a pirogronianem oraz L-alaniną a glioksylanem lub 2-oksoglutaranem [5, 45, 47, 51]. A zatem enzym ten można by uważać za identyczny z aminotransferazą alanina : 2-oksoglutaran. Należy jednak zaznaczyć, że niektóre oczyszczone izoformy roślinnych aminotransferaz alanina : 2-oksoglutaran nie katalizowały transaminacji z udziałem glioksylanu [17, 53]. Nieco odmienną specyficzność substratową wykazywała GGAT z *Euglena gracilis* [73]. Aminotransferaza ta spośród aminokwasów katalizowała reakcje z L-glutaminianem, L-tryptofanem, L-cysteiną i L-hydroksytryptofanem. Jako akceptory grup aminowych mogły być wykorzystywane przez nią takie 2-oksokwasy, jak: glioksylan, 4-hydroksyfenylopirogronian, fenylpirogronian i hydroksypirogronian.

Katalizujące reakcje transaminacji pomiędzy L-glutaminianem a 4,5-dioksowalerianianem enzymy z *Chlorella fusca* [39], *Euglena gracilis* [12], *Scenedesmus obliquus* mutant C-2A' [32] okazały się co najmniej tak samo aktywne w transaminacjach pomiędzy L-glutaminianem a glioksylanem. Aminotransferazy z *Chlorella fusca* i *Euglena gracilis* mogły wykorzystywać obok L-glutaminianu po kilkanaście innych aminokwasów, przy czym enzym z *Chlorella fusca* był zdolny do katalizowania reakcji z udziałem siedmiu różnych oksokwasów, wliczając w to glioksylan i 4,5-dioksowalerianian. Kwestią sporną pozostaje nadal tożsamość tych aminotransferaz z GGAT.

Aminotransferazy alanina : 4,5-dioksowalerianian (glioksylan) z *Chlorella regularis* [56] oraz siewek rzodkiewki [57] były odpowiednio 55 razy i 15 razy bardziej aktywne w reakcjach transaminacji pomiędzy L-alaniną i glioksylanem. Ponadto mogły one uczestniczyć w reakcjach z udziałem kilku innych aminokwasów.

Można stwierdzić, że poza reakcją przeniesienia grupy aminowej z L-seryny na glioksylan SGAT odpowiedzialna jest za katalizowanie w komórce roślinnej transaminacji pomiędzy L-alaniną, L-asparaginą, L-tryptofanem a glioksylanem; L-alaniną, L-asparaginą, glicyną a hydroksypirogronianem; L-asparaginą, glicyną, L-seryną a pirogronianem [8, 22, 25, 29, 42, 44, 52, 58]. Należy dodać, że dane literaturowe dotyczące specyficzności substratowej tej aminotransferazy w dużej części wzajemnie się nie potwierdzają.

Aminotransferaza metionina : glioksylan z liści rzepaku była tak samo aktywna w stosunku do dwóch par substratów: L-metioniny i glioksylanu oraz L-glutaminy i glioksylanu [16]. Ponadto katalizowała reakcje transaminacji pomiędzy pochodnymi L-metioniny, L-homoseryną, L-histydyną i w niewielkim stopniu dwudziestoma innymi L-aminokwasami a glioksylanem. Rolę akceptorów grupy aminowej pochodzącej od L-metioniny mogły spełniać obok glioksylanu: 2-okso-4-metyloglu-



taran, pirogronian, szczawiooctan i 2-oksoglutaran. Porównanie specyficzności substratowej tego enzymu i badanej przez Irelanda [30] aminotransferazy glutamina : glioksyłan z liści soi i grochu wskazuje, że mogą to być te same białka enzymowe.

## Właściwości kinetyczne

O powinowactwie substratu do enzymu świadczy m.in. wartość stałej  $K_m$ . Wartość  $K_m$  (prawdziwej lub pozornej) dla substratu oksokwasowego aminotransferazy jest zwykle mniejsza od wartości  $K_m$  dla substratu aminokwasowego [14]. Podobną prawidłowość obserwuje się u większości aminotransferaz katalizujących reakcje z udziałem glioksyłanu (tabela).

**Tabela.** Wartości stałych Michaelisa-Menten ( $K_m$ ) dla substratów niektórych aminotransferaz glioksyłanowych pochodzenia roślinnego

Nazwa aminotransferazy	Pochodzenie	Wartość $K_m$ (mM)	Stężenie drugiego substratu (mM)	pH	Literatura
glutaminian : glioksyłan	liścienie ogórka	Glu 3,8 glioksyłan 2,4	10,0 glioksyłan 20,0 Glu	8,0	[45]
	liście buraka	Glu 1,7 glioksyłan 0,13	10,0 glioksyłan 1,0 Glu	7,1	[68]
glutaminian : 4,5-diokso- walerianian (glioksyłan)	<i>Chlorella</i> <i>fusca</i>	Glu 0,48 4,5-dioksowalerianian 2,0 Ala 6,3 glioksyłan 2,1	6,0 4,5-diokso- walerianian 20,0 Glu 6,0 4,5-dioksowa- lerianian 20,0 Glu	7,3	[39]
alanina: 4,5-diokso- walerianian (glioksyłan)	<i>Chlorella</i> <i>regularis</i>	Ala 3,5 4,5-dioksowalerianian 0,12 Ala 3,0 glioksyłan 1,3		8,0	[57]
seryna : glioksyłan	siewki	Ser 2,4	5,0 glioksyłan	8,0	[48]
	żyta	glioksyłan 1,2	15,4 Ser		
	liście buraka	Ser 0,60 glioksyłan 0,19	1,0 glioksyłan 1,0 Ser	7,1	[68]

## Mechanizm działania

---

Powszechnie przyjmuje się, że aminotransferazy działają zgodnie z mechanizmem postulowanym przez Braunsteina, Snella i in., nazywanym Ping Pong Bi Bi [6].

W przeprowadzonych dotąd doświadczeniach kinetycznych z udziałem roślinnych aminotransferaz glioksyłanowych [7, 8, 42, 56, 58] uzyskiwano wykresy zależności szybkości reakcji enzymatycznej od stężenia pierwszego substratu przy różnych stężeniach drugiego substratu w układzie Lineweavera-Burka. Wyznaczone krzywe przebiegały w postaci prostych równoległych, co wskazywało, że enzymy te działały zgodnie z mechanizmem Ping Pong Bi Bi [23]. Według Waltona i Butta [68] dla GGAT z liści buraka, w pewnych zakresach stężeń glioksyłanu, wyznaczone w układzie Lineweavera-Burka krzywe nie były prostymi; z kolei krzywe dla SGAT, też z liści buraka, nie przebiegały równoległe i również nie były prostymi. Otrzymanie takich wyników badacze ci tłumaczyli hamowaniem aktywności enzymatycznej GGAT przez glioksyłan tylko przy wyższych stężeniach tego substratu, natomiast SGAT w całym zakresie stosowanych stężeń.

Na podstawie przebiegu i ułożenia analogicznych krzywych wyznaczonych dla reakcji katalizowanej przez SGAT z siewek żyta należy sądzić, że aktywność enzymu była hamowana kompetycyjnie zarówno przez substrat oksokwasowy — glioksyłan, jak i substrat aminokwasowy — L-serynę [48].

## Dowody na współdziałanie z fosforanem pirydoksalu

---

Udział pirydoksalu i pirydoksaminy lub ich pochodnych w enzymatycznej transaminacji po raz pierwszy zaproponował w 1944 r. Snell [60]. W następnych latach ustalono, że kofaktorem aminotransferaz jest fosforan pirydoksalu (PLP) odwracalnie przekształcany podczas reakcji transaminacji w fosforan pirydoksaminy [60].

Lu i Mazelis [37] jako pierwsi wykazali, że na jedną cząsteczkę aminotransferazy roślinnej (aminotransferaza ornitynowa z liścieni dyni) przypada jedna cząsteczka tego koenzymu. Warto dodać, że białka aminotransferaz roślinnych bywają zwykle dużo silniej związane z PLP niż odpowiadające im białka aminotransferaz zwierzęcych [14].

Bezpośrednie dowody na występowanie tego związku w połączeniu z apoenzymem SGAT z liści owsa, grochu czy aminotransferazy glutaminian : 4,5-diokso-walerianian (glioksyłan) z *Chlorella fusca* przedstawili odpowiednio Brock i in. [7] oraz Ireland i Joy [29], dokonując całkowitego rozdziału badanych enzymów na części składowe (apoenzym i koenzym), a także Meish i in. (39) wykazując, że na 1 mol enzymu przypada 0,5 mola PLP. Częściowo udało się rozdzielić GGAT i SGAT z siewek żyta, przy czym białko GGAT okazało się znacznie silniej związane z PLP niż białko SGAT [48, 51].

Pośrednio o współdziałaniu apoenzymów roślinnych aminotransferaz glioksylianowych z PLP świadczą wyniki badań z udziałem związków mniej lub bardziej specyficznym reagujących z tym koenzymem. Aktywność omawianych enzymów była hamowana aminooksooctanem [29, 31, 48, 51, 74], hydroksyloaminą [7, 29, 42, 48, 51, 58], winyloglicyną [10], buforem Tris [34], siarczynem disodowym [55], imidazolem [57] oraz hydrazidem kwasu izonikotynowego [29, 48, 51, 55]. Jakkolwiek ten ostatni nie miał wpływu na aktywność SGAT z liści pszenicy [34] i owsa [7].

## Wpływ związków nefizjologicznych

---

Silne hamowanie aktywności GGAT z nasion fasoli przez jodoctan, p-hydroksy-tęciobenzoesan (PHMB), żelazicyjanek potasu i 2,6-dichlorofenoloindofenol stwierdzali Sastry i Ramakrishnan [55]. Według nich dowodziło to słuszności teorii Snella, która zakładała, że podczas reakcji katalizowanej przez aminotransferazy następuje oddziaływanie pomiędzy grupą aldehydową a hydrosulfidową, polegające na tworzeniu tioacetali [55]. Grupy -SH roślinnej SGAT wydają się być mało istotne dla aktywności tego enzymu. Smith [58] oraz Carpe i Smith [8] obserwowali tylko słabe hamowanie aktywności SGAT z liści fasoli zarówno przez PHMB, jak i N-etylomaleinimid. Podobnie reagowała SGAT z siewek żyta [48]. Według Brocka i in. [7] aktywność tej aminotransferazy z liści owsa nie ulegała obniżeniu w obecności kwasu jodoctowego lub PHMB.

Stosowany jako inhibitor fotooddychania 2,3-epoksypropionian hamował aktywność aminotransferazy glutaminian : pirogronian (glioksylian) z liści żyta [5] oraz GGAT z liści i tkanki kallusowej tytoniu [35]. Mechanizm tej inhibicji nie jest znany.

## Wpływ jonów metali

---

Rolę jonów metali w reakcjach transaminacji badał Braunstein [6]. Wnioski z wyników prac nad enzymami pochodzenia zwierzęcego przedstawione przez tego badacza pozwalają sądzić, że obserwowany niekiedy korzystny wpływ kationów na aktywność aminotransferaz polega raczej na ich oddziaływaniu na konformację białka enzymowego, a nie na bezpośrednim udziale w procesie katalizy. Odmiennego zdania byli Sastry i Ramakrishnan [55], którzy stwierdzili wyraźną aktywację GGAT z nasion fasoli jonami  $Mn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  i  $Fe^{3+}$ , a hamowanie aktywności tego enzymu związkami kompleksującymi metale. Sugerowali oni udział jonów metali jako kofaktorów w reakcji transaminacji pomiędzy L-glutaminianem a glioksylianem.

Aminotransferazy seryna : glioksylian (SGAT) z liści pszenicy, fasoli, owsa i grochu nie ulegały aktywacji jonami metali, a związki kompleksujące metale nie hamowały aktywności tych enzymów [7, 29, 34, 58]. Wyniki badań nad SGAT z liści pszenicy wskazywały jedynie na pewną rolę jonów  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  i  $Mn^{2+}$  w reaktywacji enzymu po utracie aktywności na skutek dializy wobec 0,6% EDTA.



## Wpływ naturalnych metabolitów

Wśród naturalnych metabolitów, które obniżają aktywność aminotransferaz glioksyłanowych, najliczniej reprezentowane są L-aminokwasy i 2-oksokwasy.

Yu i in. [75] — badając enzymatyczne transaminacje w peroksosomach wyizolowanych z liści szpinaku z glioksyłanem jako akceptorem grupy aminowej — obserwowali, kompetycyjne względem L-glutaminianu, hamowanie aktywności z udziałem tego aminokwasu i glioksyłanu przez L-alaninę. Natomiast nie stwierdzali oni współzawodnictwa pomiędzy L-seryną a L-alaniną lub L-glutaminianem. A zatem, jak sądzili ci badacze, aminotransferaza SGAT z liści szpinaku wykazywała specyficzność tylko wobec L-seryny, podczas gdy GGAT była aktywna zarówno z L-glutaminianem, jak i z L-alaniną.

Glioksyłan spełniał rolę inhibitora kompetycyjnego w stosunku do 4,5-diokso-walerianianu w reakcjach transaminacji pomiędzy L-alaniną lub L-glutaminianem a 4,5-diokso-walerianianem, katalizowanych przez aminotransferazy oczyszczone odpowiednio z *Chlorella regularis* [57], siewek rzodkiewki [56] i *Euglena gracilis* [12]. Wyniki te sugerują, że każde z badanych białek enzymowych może uczestniczyć w transaminacjach zarówno z udziałem glioksyłanu, jak i 4,5-diokso-walerianianu.

L-seryna hamowała kompetycyjnie względem L-glutaminianu aktywność GGAT z liści buraka, natomiast L-glutaminian nie wpływał na aktywność SGAT z tej rośliny, co stwierdzali Walton i Butt [68]. Według tych autorów powyższe właściwości aminotransferaz glioksyłanowych decydują o utrzymaniu równowagi pomiędzy wykorzystywaniem L-seryny i L-glutaminianu w cyklu fotooddechowym.

L-alanina i glicyna hamowały kompetycyjnie względem L-seryny aktywność SGAT z liści szpinaku z udziałem L-seryny i glioksyłanu [42]. Jakkolwiek wyznaczone stałe  $K_i$  okazały się bardzo wysokie (45mM dla L-alaniny i 33mM dla glicyny); uznano to za dowód, że zarówno L-alanina, jak i glicyna nie mogą być uważane za właściwe substraty badanego enzymu [42].

Zjawisko hamowania aktywności niektórych aminotransferaz glioksyłanowych przez jony amonowe stanowi ciekawe zagadnienie szczególnie z uwagi na możliwe znaczenie fizjologiczne. I tak wg Smitha [58] jony  $\text{NH}_4^+$  hamowały kompetycyjnie względem L-seryny i akompetycyjnie względem glioksyłanu aktywność SGAT z liści fasoli, jakkolwiek w drugim przypadku krzywe dla poszczególnych stężeń  $\text{NH}_4^+$ , wyznaczone w układzie Lineweavera-Burka, nie były prostymi. Smith [58] sądził, że jon  $\text{NH}_4^+$ , wiążąc się z enzymem, mógłby stymulować przyłączanie glioksyłanu, co z kolei zmniejszałoby powinowactwo aminotransferazy do L-seryny. Havir [21] zasugerowała, że jony amonowe tworzą z glioksyłanem karbinolaminę, która mogłaby nieodwracalnie blokować centra aktywne zarówno GGAT, jak i SGAT z liści tytoniu. Według tej autorki inhibicja roślinnych GGAT i SGAT przez glioksyłan zachodzi wyłącznie w obecności  $\text{NH}_4^+$ , a hamujące działanie glioksyłanu na aktywność SGAT, zauważone wcześniej przez Kinga i Waygooda [34], wynikało z nie wykrytego



zanieczyszczenia jonami amonowymi mieszaniny reakcyjnej stosowanej do oznaczeń aktywności enzymatycznej. Obserwacje przedstawione przez Paszkowskiego [50] wyraźnie świadczą o występowaniu różnic pomiędzy inhibicją GGAT oraz SGAT z siewek żyta przez sam glioksylan i glioksylan z jonami  $\text{NH}_4^+$ , a zatem przeczą tezie Havir [21]. Porównanie skuteczności tych dwóch rodzajów inhibicji wskazywało, że inhibicja glioksylanem w obecności jonów amonowych może mieć dużo większe znaczenie fizjologiczne [50].

## Masa i skład podjednostkowy aktywnych enzymatycznie cząsteczek

---

Masa cząsteczkowa aminotransferazy alanina (glutaminian) : 2-oksoglutaran (glioksylan) (GGAT) z liści szpinaku [44] oraz liścieni ogórka [45] oznaczona metodą wirowania w gradiencie sacharozy wynosiła odpowiednio: 98 kDa i 100 kDa. Natomiast dla podjednostki GGAT z liścieni ogórka metodą elektroforezy z SDS oznaczono wartość 48 kDa [45]. Przy oznaczaniu masy cząsteczkowej GGAT z *Euglena gracilis* otrzymywano rozbieżne wyniki; Foley i Bealy [12] metodą sączenia molekularnego uzyskali 98 kDa, a Yokota i in. [73] — stosując tę samą metodę — 141 kDa. Powyższe dane literaturowe wskazują, że roślinna GGAT jest białkiem oligomerycznym, prawdopodobnie dimerem. Z kolei, na podstawie wyników elektroforezy z SDS oraz sączenia molekularnego należy przypuszczać, że GGAT z siewek żyta jest monomerem o masie cząsteczkowej ok. 60 kDa [51]. Również za monomer o masie 60 kDa (sączenie molekularne i elektroforeza z SDS) można uważać enzym oczyszczony z *Chlorella fusca* przez Meischa i in. (39). Jakkolwiek badacze ci sądzili, iż główną jego funkcją w komórce jest katalizowanie transaminacji pomiędzy L-glutaminianem i 4,5-dioksowalerianianem, a nie L-glutaminianem i glioksylanem.

Masa cząsteczkowa SGAT z liścieni ogórka, wyznaczona metodą sączenia molekularnego, wynosiła 170 kDa [25]. W skład cząsteczki aktywnego enzymu wchodziły dwa rodzaje podjednostek o masach 47 kDa i 45 kDa (elektroforeza z SDS). Hondred i in. [25] stwierdzali dysocjację naturalnej cząsteczki na aktywne enzymatycznie podjednostki wywołaną, jak sądzili, usunięciem fosforanu pirydoksalu w trakcie oczyszczania enzymu. Masa cząsteczkowa aminotransferazy asparagina (seryna) : glioksylan (SGAT) z liści grochu [29], oznaczona metodą sączenia molekularnego, wynosiła 105 kDa, natomiast masa cząsteczkowa aminotransferazy tryptofan (seryna) : glioksylan (hydroksypirogronian) (SGAT) z liści szpinaku [43] — 185 kDa (sączenie molekularne). Masę podjednostki aminotransferazy z liści szpinaku ustalono (elektroforeza z SDS) na 46 kDa [43]. Masa cząsteczkowa SGAT z siewek żyta, oznaczona metodą sączenia molekularnego, wynosiła ok. 90 kDa, podczas gdy przy zastosowaniu metody elektroforezy z SDS ok. 43 kDa [52]. Cytowane wyniki badań sugerują

oligomeryczną budowę roślinnej SGAT. Sporną kwestią nadal pozostaje ilość podjednostek składających się na aktywną cząsteczkę tego enzymu.

Cząsteczki aminotransferazy alanina : 4,5-diokswalerianian (glioksylan) z *Chlorella regularis* [57] oraz z siewek rzodkiewki [56] są dimerami. Ich masy wynosiły odpowiednio 126 kDa i 123 kDa (sączenie molekularne), natomiast masy podjednostek oznaczonych metodą sączenia molekularnego w obecności SDS — 68 kDa (enzym z *Chlorella regularis*) i 66 kDa (enzym z siewek rzodkiewki).

Aminotransferaza metionina : glioksylan z liści rzepaku [9] o masie cząsteczkowej 230–290 kDa (sączenie molekularne i elektroforeza) łatwo dysocjowała na aktywne katalitycznie podjednostki o masie 50 kDa (elektroforeza z SDS) wskutek niewielkiego obniżenia pH środowiska lub rozcieńczenia preparatu enzymu. Chapple i in. [9] wysunęli hipotezę, że zdolność formy naturalnej do dysocjacji na aktywne podjednostki stanowi wspólną cechę aminotransferaz roślinnych.

## Literatura

- [1] Ades I.Z., 1990. Heme production in animal tissues: the regulation of biogenesis of  $\delta$ -aminolevulinic synthase. *Int. J. Biochem.* 22: 565–578.
- [2] Baldy P., 1982. Glyoxylate aminotransferases des peroxysomes foliaires de *Fagopyrum esculentum*. *Physiol. Veg.* 20: 477–486.
- [3] Betsche T., 1983. Aminotransfer from alanine and glutamate to glycine and serine during photorespiration in oat leaves. *Plant Physiol.* 71: 961–965.
- [4] Betsche T., Shaller D., Melkonian M., 1992. Identification and characterization of glycolate oxidase and related enzymes from the endocyanotic alga *Cyanophora paradoxa* and from pea leaves. *Plant Physiol.* 98: 887–893.
- [5] Biekmann S., Feierabend J., 1982. Subcellular distribution, multiple forms and development of glutamate-pyruvate (glyoxylate) aminotransferase in plant tissues. *Biochem. Biophys. Acta* 721: 268–279.
- [6] Braunstein A.E., 1973. Amino group transfer. W: *The enzymes*, red. P.D. Boyer, Academic Press, New York, tom 9: 379–481.
- [7] Brock B.L.W., Wilkinson D.A., King J., 1970. Glyoxylate aminotransferases from oat leaves. *Can. J. Biochem.* 48: 486–492.
- [8] Carpe A.J., Smith I.K., 1974. Serine-glyoxylate aminotransferase from Kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). *Biochim. Biophys. Acta* 370: 96–101.
- [9] Chapple C.C.S., Glover J.R., Ellis B.E., 1990. Purification and characterization of methionine : glyoxylate aminotransferase from *Brassica carinata* and *Brassica napus*. *Plant Physiol.* 94: 1887–1896.
- [10] Cho C., Ishii R., Hyeon S.B., Suzuki A., 1987. Inhibition of serine : glyoxylate aminotransferase and mitochondrial glycine oxidation in the photorespiratory glycolate pathway by vinylglycine. *Agric. Biol. Chem.* 51: 2597–2598.
- [11] Cossins E.A., Sinha S.K., 1965. Occurrence and properties of L-aminoacid : 2-glyoxylate aminotransferase in plants. *Can. J. Biochem.* 43: 495–506.
- [12] Foley T., Beale S.I., 1982.  $\delta$ -Aminolevulinic acid formation from  $\gamma,\delta$ -dioxovaleric acid in extracts of *Euglena gracilis*. *Plant Physiol.* 70: 1495–1502.

- [13] Gemel J., Randall D.D., 1992. Light regulation of leaf mitochondrial pyruvate dehydrogenase complex. Role of photorespiratory carbon metabolism. *Plant Physiol.* 100: 908–914.
- [14] Givan C.V., 1980. Aminotransferases in higher plants. W: *The biochemistry of plants*, red. B.J. Mifflin, Academic Press, New York, tom 5: 329–357.
- [15] Givan C.V., Joy K.W., Kleczkowski L.A., 1988. A decade of photorespiratory nitrogen cycling. *Trends Biochem. Sci.* 13: 433–437.
- [16] Glover J.R., Chapple C.C.S., Rothwell S., Tober J., Ellis B.E., 1988. Allylglucosinolate biosynthesis in *Brassica carinata*. *Phytochemistry* 27: 1345–1348.
- [17] Good A.G., Muench D.G., 1992. Purification and characterization of an anaerobically induced alanine aminotransferase from barley roots. *Plant Physiol.* 99: 1520–1525.
- [18] Gross W., Winkler U., Stabenau H., 1985. Characterization of peroxisomes from the alga *Bumilleriopsis filiformis*. *Plant Physiol.* 77: 296–299.
- [19] Gross W., Beevers H., 1989. Subcellular distribution of enzymes of glycolate metabolism in the alga *Cyanidium caldarium*. *Plant Physiol.* 90: 799–805.
- [20] Hatch M.D., 1973. Separation and properties of leaf aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase isoenzymes operative in the C<sub>4</sub> pathway of photosynthesis. *Archiv. Biochem. Biophys.* 156: 207–214.
- [21] Havir E.A., 1986. Inactivation of serine : glyoxylate and glutamate : glyoxylate aminotransferases from tobacco leaves by glyoxylate in the presence of ammonium ion. *Plant Physiol.* 80: 473–478.
- [22] Havir E.A., McHale N.A., 1988. A mutant of *Nicotiana sylvestris* lacking serine : glyoxylate aminotransferase. *Plant Physiol.* 87: 806–808.
- [23] Henson C.P., Cleland W.W., 1964. Kinetic studies of glutamic oxaloacetic transaminase isoenzymes. *Biochemistry* 3: 338–345.
- [24] Heupel R., Markgraf T., Robinson D.G., Heldt H.W., 1991. Compartmentation studies on spinach leaf peroxisomes. *Plant Physiol.* 96: 971–979.
- [25] Hondred D., McC. Hunter J., Keith R., Titus D.E., Becker W.M., 1985. Isolation of serine : glyoxylate aminotransferase from cucumber cotyledons. *Plant Physiol.* 79: 95–102.
- [26] Hondred D., Wadle D.M., Titus D.E., Becker W.M., 1987. Light-stimulated accumulation of the peroxisomal enzymes hydroxypyruvate reductase and serine : glyoxylate aminotransferase and their translatable mRNAs in cotyledons of cucumber seedlings. *Plant Mol. Biol.* 9: 259–275.
- [27] Husic D.W., Husic H.D., Tolbert N.E., 1987. The oxidative photosynthetic carbon cycle or C<sub>2</sub> cycle. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 5: 45–100.
- [28] Ilag L.L., Kumar A.M., Soll D., 1994. Light regulation of chlorophyll biosynthesis at the level of 5-aminolevulinate formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 6: 265–275.
- [29] Ireland R.J., Joy K.W., 1983. Purification and properties of an asparagine aminotransferase from *Pisum sativum* leaves. *Arch. Biochem. Biophys.* 223: 291–296.
- [30] Ireland R.J., 1984. Glutamine aminotransferase activity in legumes (abstract No 666) *Plant Physiol.* 75: 117.
- [31] Jenkins C.L.D., Rogers L.J., Kerr M.W., 1983. Inhibition of glycolate metabolism by amino-oxyacetate: consequences for photosynthesis. *Phytochemistry* 22: 19–23.
- [32] Kah A., Dörnemann D., Senger H., 1988. Isolation and purification to apparent homogeneity of 4,5-dioxovalerate aminotransferase from *Scenedesmus obliquus* mutant C-2A'. *Z. Naturforsch.* 43c: 563–571.
- [33] Keys A.J., Bird J.F., Cornelius M.J., Lea P.J., Wallsgrave R.M., Mifflin B.J., 1978. Photorespiratory nitrogen cycle. *Nature* 273: 741–743.
- [34] King J., Waygood E.R., 1968. Glyoxylate aminotransferase from wheat leaves. *Can. J. Biochem.* 46: 771–779.
- [35] Lawyer A.L., Zelitch J., 1978. Inhibition of glutamate: glyoxylate aminotransferase activity in tobacco leaves and callus by glycidate, an inhibitor of photorespiration. *Plant Physiol.* 61: 242–247.



- [36] Lea P.J., Robinson S.A., Stewart G.R., 1990. The enzymology and metabolism of glutamine, glutamate and asparagine. W: *The biochemistry of plants*, red. B.J. Mifflin, P.J. Lea, Academic Press, San Diego, tom 16: 121-159.
- [37] Lu T.S., Mazelis M., 1975. L-Ornithine : 2-oxoacid aminotransferase from squash (*Cucurbita pepo*, L.) cotyledons. *Plant Physiol.* 55: 502-506.
- [38] Madore M., Grodziński B., 1984. Effect of oxygen concentration on  $^{14}\text{C}$ -photoassimilate transport from leaves of *Salvia splendens*. *Plant Physiol.* 76: 782-786.
- [39] Meish H.U., Hoffman H., Reinle W., 1983. Biosynthesis of chlorophyll precursors in green algae. Purification and characterization of L-glutamate : 4,5-dioxovaleric acid aminotransferase from *Chlorella fusca*. *Biochim. Biophys. Acta* 743: 281-289.
- [40] Meller E., Gassman M.L., 1982. Biosynthesis of 5-aminolevulinic acid: two pathways in higher plants. *Plant Sci. Lett.* 26: 23-29.
- [41] Murray A.J.S., Blackwell R.D., Joy K.W., Lea P.J., 1987. Photorespiratory N donors, aminotransferase specificity and photosynthesis in a mutant of barley deficient in serine : glyoxylate aminotransferase activity. *Planta* 172: 106-113.
- [42] Nakamura Y., Tolbert N.E., 1983. Serine : glyoxylate, alanine : glyoxylate and glutamate: glyoxylate aminotransferase reactions in peroxisomes from spinach leaves. *J. Biol. Chem.* 258: 7631-7638.
- [43] Noguchi T., Hayashi S., 1980. Peroxisomal localization and properties of tryptophan aminotransferase in plant leaves. *J. Biol. Chem.* 255: 2267-2269.
- [44] Noguchi T., Hayashi S., 1981. Plant leaf alanine : 2-oxoglutarate aminotransferase. *Biochem. J.* 195: 235-239.
- [45] Noguchi T., Fujiwara S., 1982. Development of glutamate : glyoxylate aminotransferase in the cotyledons of cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings. *Biochem. J.* 201: 209-214.
- [46] Oliver D.J., 1981. Role of glycine and glyoxylate decarboxylation in photorespiratory  $\text{CO}_2$  release. *Plant Physiol.* 68: 1031-1034.
- [47] Otter T., Penther J.M., Mohr H., 1992. Control of the appearance of alanine aminotransferase in the Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedling. *Planta* 188: 376-383.
- [48] Paszkowski A., 1991. Some properties of serine : glyoxylate aminotransferase from rye seedlings (*Secale cereale* L.). *Acta Biochim. Polon.* 38: 437-448.
- [49] Paszkowski A., 1992. On the possibility of involvement of glutamate : glyoxylate and serine : glyoxylate aminotransferases from rye (*Secale cereale* L.) seedlings in the metabolism of tetrapyrrole compounds. *Acta Biochim. Polon.* 39: 345-353.
- [50] Paszkowski A., 1994. Inhibition of glutamate : glyoxylate and serine : glyoxylate aminotransferases from rye seedlings (*Secale cereale* L.) by glyoxylate or glyoxylate in the presence of ammonium ion. *Acta Physiol. Plant.* 16: 217-223.
- [51] Paszkowski A., Niedzielska A., 1989. Glutamate : glyoxylate aminotransferase from the seedlings of rye (*Secale cereale* L.). *Acta Biochim. Polon.* 36: 17-29.
- [52] Paszkowski A., Niedzielska A., 1990. Serine : glyoxylate aminotransferase from the seedlings of rye (*Secale cereale* L.). *Acta Biochim. Polon.* 37: 277-282.
- [53] Rech J., Crouzet J., 1974. Partial purification and initial studies of the tomato L-alanine : 2-oxoglutarate aminotransferase. *Biochim. Biophys. Acta* 350: 392-399.
- [54] Rehfeld D.W., Tolbert N.E., 1972. Aminotransferases in peroxisomes from spinach leaves. *J. Biol. Chem.* 247: 4803-4811.
- [55] Sastry L.V.S., Ramakrishnan T., 1961. A metal dependent glutamic-glycine transaminase of green gram (*Phaseolus radiatus*). *J. Sci. Industr. Res.* 20C: 277-283.
- [56] Shioi Y., Doi M., Sasa T., 1984. Purification and characterization of L-alanine : 4,5-dioxovalerate (glyoxylate) aminotransferase from radish (*Raphanus sativus* L.) seedlings. *Plant Cell Physiol.* 25: 1487-1493.
- [57] Shioi Y., Nagamine M., Sasa T., 1984. Purification and properties of L-alanine : 4,5-dioxovalerate aminotransferase from *Chlorella regularis*. *Arch. Biochem. Biophys.* 234: 117-124.



- [58] Smith I.K., 1973. Purification and characterization of serine : glyoxylate aminotransferase from kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). *Biochim. Biophys. Acta* 321: 156–164.
- [59] Smith I.K., 1985. Aminotransferases utilizing glyoxylate. W: *Transaminases*, red. P. Christen, D.E. Metzler, John Wiley and sons, Inc., New York: 390–396.
- [60] Snell E.E., 1985. Pyridoxal phosphate in non-enzymic and enzymic reactions. W: *Transaminases*, red. P. Christen, D.E. Metzler, John Wiley and sons, Inc. New York: 19–35.
- [61] Somerville C.R., Ogren W.L., 1980. Photorespiration mutants of *Arabidopsis thaliana* deficient in serine-glyoxylate aminotransferase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 2684–2687.
- [62] Son D., Jo J., Sugiyama T., 1991. Purification and characterization of alanine aminotransferase from *Panicum miliaceum* leaves. *Archiv. Biochem. Biophys.* 289: 262–266.
- [63] Streeter J.G., 1977. Asparaginase and asparagine transaminase in soybean leaves and root nodules. *Plant Physiol.* 60: 235–239.
- [64] Ta T.C., Joy K.W., Ireland R.J., 1985. Role of asparagine in the photorespiratory nitrogen metabolism of pea leaves. *Plant Physiol.* 78: 334–337.
- [65] Ta T.C., Joy K.W., 1986. Metabolism of some amino acids in relation to the photorespiratory nitrogen cycle of pea leaves. *Planta* 169: 117–122.
- [66] Tolbert N.E., 1980. Photorespiration. W: *The biochemistry of plants*, red. D.D. Davies, Academic Press, New York, tom 2: 487–523.
- [67] Tolbert N.E., Gee R., Husic D.W., Dietrich S. 1987. Peroxisomal glycolate metabolism and C<sub>2</sub> oxidative photosynthetic carbon cycle. W: *Peroxisomes in Biology and Medicine*, red. H.H. Fahimi, H. Sies, Springer-Verlag, Berlin: 213–222.
- [68] Walton N.J., Butt V.S., 1981. Glutamate and serine as competing donors for amination of glyoxylate in leaf peroxisomes. *Planta* 153: 232–237.
- [69] Walton N.J., Woolhouse H.W., 1986. Enzymes of serine and glycine metabolism in leaves and non-photosynthetic tissues of *Pisum sativum* L. *Planta* 167: 119–128.
- [70] Wightman F., Forest J.C., 1978. Properties of plant aminotransferases. *Phytochemistry* 17: 1455–1471.
- [71] Winkler U., Säftel W., Stabenau H., 1982. Studies on the aminotransferases participating in the glycolate metabolism of the alga *Mougeotia*. *Plant Physiol.* 70: 340–343.
- [72] Yokota A., Komura H., Kitaoka S., 1985. Different metabolic fate of two carbons of glycolate in its conversion to serine in *Euglena gracilis* z. *Arch. Biochem. Biophys.* 242: 498–506.
- [73] Yokota A., Suehiro S., Kitaoka S., 1985. Purification and some properties of mitochondrial glutamate : glyoxylate aminotransferase and mechanism of its involvement in glycolate pathway in *Euglena gracilis* z. *Arch. Biochem. Biophys.* 242: 507–514.
- [74] Yokota A., Kitaoka S., 1987. The mechanism of induction of glycolate excretion by aminoxyacetate in low CO<sub>2</sub>-grown *Euglena gracilis* Z. *Agric. Biol. Chem.* 51: 665–670.
- [75] Yu C., Liang Z., Huang A.H.C., 1984. Glyoxylate transamination in intact leaf peroxisomes. *Plant Physiol.* 75: 7–12.

## **Properties of plant glyoxylate aminotransferases**

---

### Summary

Glyoxylate aminotransferases are unique among aminotransferases (EC 2.6.1.) because they catalyze the conversion of glyoxylate to glycine and this reaction is often considered to be physiologically irreversible. Glutamate : glyoxylate aminotransferase (GGAT, EC 2.6.1.4.) and serine : glyoxylate aminotransferase (SGAT, EC 2.6.1.45.) are the most extensively studied plant glyoxylate aminotransferases. The most important metabolic function of these two enzymes is to catalyze the transamination of glyoxylate to glycine in peroxisomes during photorespiration of higher plants. In this review some other possible metabolic roles of GGAT and SGAT are also discussed. Purification and substrate specificity of GGAT, SGAT and other glyoxylate aminotransferases are considered. The physical and kinetic properties of these enzymes such as their molecular weight, subunit composition, pyridoxal phosphate requirement, effect of pH and cations on activity and their mechanism of action are reviewed. Effects of natural metabolites on GGAT and SGAT activity with special consideration of mechanism of the inhibition by glyoxylate in the presence of ammonium ion are discussed as well.