

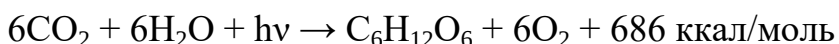
БИОФИЗИКА ФОТОСИНТЕЗА

1. Общая характеристика фотосинтеза

Фотосинтез - сложная многоступенчатая система фотофизических, фотохимических и темновых биохимических процессов, в которых энергия солнечного света трансформируется фотосинтезирующими организмами (бактериями и растениями) в доступные им формы энергии: химическую (NADPH, АТР) или электрохимическую ($\Delta\mu_H$). Используя эту энергию клетка с помощью фотосинтетической системы синтезирует из простых неорганических веществ углекислого газа и воды глюкозу и другие сложные органические вещества. Продуктом этих реакций является также молекулярный кислород, выделяющийся из молекул воды.

Фотосинтез - один из важнейших механизмов жизни на Земле, поскольку, за его счет образуются как сложные высокоупорядоченные органические вещества, так и кислород, потребляемые другими организмами (бактериями, растениями и животными) в качестве источников строительного материала и энергии.

Основная суммарная реакция фотосинтеза:



Фотосинтез – сложный, но вместе с тем интересный и очень красивый процесс. Он появился на ранних этапах эволюции у различных бактерий – пурпурных, цианобактерий, зеленых серных бактерий и других, у одноклеточных эукариот (водорослей) и, наконец, у высших растений. Исследование фотосинтетического аппарата прокариот внесло большой вклад в выяснение основных принципов и механизмов фотосинтеза. Но здесь мы рассмотрим главным образом механизмы фотосинтеза высших растений.

Суть фотосинтеза заключается в получении высокоэнергетических электронов за счет энергии квантов света, поглощаемых хлорофиллом. Для того, чтобы предупредить возвращение электрона в исходное состояние и

растрату полученной энергии на тепловые процессы, возбужденный электрон очень быстро переносится по электронтранспортной цепи на NADP^+ , который затем используется в биосинтетических реакциях. Исходным источником электронов является вода, которая при этом расщепляется и выделяет кислород. Этим кислородом, являющимся побочным продуктом фотосинтеза, дышат все аэробные организмы.

Основные функциональные звенья фотосинтетической машины изображены на Рис.1. Кратко ее работу можно описать следующим образом:

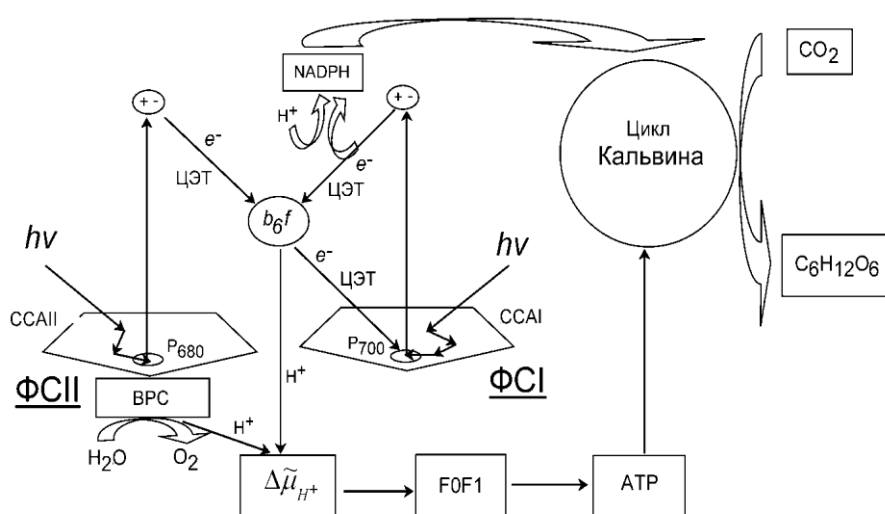
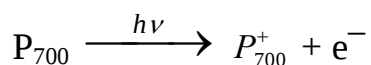


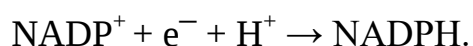
Рис.1. Общая схема фотосинтеза. ФС I и ФС II – фотосистемы I и II; ССАI и ССАII – светособирающие антенны этих фотосистем, соответственно; ВРС – водорасщепляющая система; ЦЭТ – цепь электронного транспорта

Светособирающие комплексы ССKI и ССKII , принадлежащие фотосистемам I и II. Они содержат пигменты, поглощающие кванты света с разной длиной волны. Энергия, поглощенная ими, мигрирует от пигмента к пигменту, слегка диссипируя на каждом шаге, пока не попадает в реакционный центр с минимальным энергетическим уровнем. Там она вызывает возбуждение фотосинтетических пигментов - молекул хлорофилла P700 или P680 в одной из двух фотосистем – ФС I или ФС II , соответственно.

Возбужденная молекула хлорофилла P700, входящая в состав фотосистемы I (ФС I), способна ионизироваться:



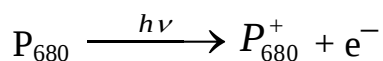
Оторвавшийся от нее электрон переносится по цепи электронного транспорта на $NADP^{+}$, восстанавливая его:



NADPH далее используется в цикле Кальвина для синтеза глюкозы.

Вакансия на P_{700}^{+} , образовавшаяся после ухода электрона, заполняется либо собственным электроном, возвращающимся по ЦЭТ в результате циклического переноса, либо электроном, поступающим из ФС II.

1. В фотосистеме II за счет энергии возбуждения от молекулы хлорофилла P₆₈₀ отрывается электрон:



и переносится по электрон-транспортной цепи на хлорофилл P₇₀₀, заполняя образовавшуюся там вакансию.

2. Вакансия, образовавшаяся на хлорофилле P_{680}^{+} заполняется электроном, который отщепляется от молекулы воды H₂O с помощью так называемой водорасщепляющей системы, входящей в состав фотосистемы II. Кроме электрона, она отщепляет протоны от молекулы воды:



При этом от воды отщепляются и ионы водорода H⁺, участвующие в создании протонного градиента, а также выделяется молекулярный кислород, являющийся побочным продуктом данного процесса.

3. Перенос электронов по ЦЭТ приводит к одновременному переносу протонов H^+ через мембраны тилакоидов хлоропластов в строму комплексом цитохромов $b_6 f$ (см.ниже), подобным митохондриальному комплексу bc_1 . Процессы выделения протонов при расщеплении воды и переноса их через мембрану создают электрохимический протонный градиент $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$, который служит источником энергии для синтеза АТФ.

4. H^+ -АТФ-синтаза (F_0F_1), такая же, как у митохондрий, и встроенная в ту же тилакоидную мембрану, что и фотосистемы ФС I и ФС II, синтезирует АТФ, энергия которой используется для синтеза органических веществ.

5. За счет энергии, накопленной в NADPH и АТФ, в цикле Кальвина - системе темновых биохимических реакций - синтезируются глюкоза и другие органические вещества из CO_2 и водорода, входящего в состав NADPH.

2. Хлоропласты

Фотосинтез осуществляется в хлоропластах – органеллах растительных клеток. Они обычно имеют двояковыпуклую форму наподобие сложенных вместе блюдеч диаметром 3-10 мкм и толщиной 1,5-3 мкм (Рис.3.2). В растительной клетке бывает от 1 до 1000 хлоропластов.

Хлоропласты растений сходны с митохондриями: они также используют электронтранспортную цепь и хемиосмотический принцип для преобразования энергии. У них также есть двухмембранная оболочка, включающая высокопроницаемую наружную мембрану и внутреннюю низкопроницаемую мембрану со встроенными белками-переносчиками. Внутренняя область, аналогичная митохондриальному матриксу, называется стромой. Но у хлоропластов нету крист, а есть специальная система внутренних мембран - тилакоидов - образующих третий внутренний компартмент.

Тилакоиды - плоские мембранные мешочки диаметром порядка 0,5 мкм. Они упакованы в стопки – граны (3.2; 3.3,А). Внутри них - тилакоидное пространство. Отдельные граны соединяются между собой ламеллами – более протяженными слоями. Тилакоидные мембраны содержат помимо липидов и белков фотовоспринимающие пигменты - разные модификации хлорофилла и ряд других пигментов, образующих светособирающую антенну. В них встроены две фотосистемы ФС I и ФС II, осуществляющие фотосинтез и Н-АТР-синтетаза (F_0F_1), синтезирующая АТР, как в митохондриях. В строме находятся собственная ДНК хлоропластов, белок-синтезирующий аппарат, ферменты цикла Кальвина и других метаболических процессов, сахара, липиды, органические кислоты и другие соединения. Так же, как и в митохондриях, ДНК хлоропластов кодирует только часть необходимых белков, тогда как другие белки или их субъединицы кодируются в клеточном ядре. Предполагается, что хлоропласты, как и митохондрии, возникли на ранних стадиях эволюции растений в результате симбиоза растительных клеток и каких-то прокариотических клеток.

3. Фотосинтетические пигменты

Основной пигмент фотосинтеза - хлорофилл а (Chl a). Он состоит из порфириновой головки размером примерно 1,5x1,5 нм, обладающей гидрофильными свойствами, и длинного гидрофобного хвоста - фитола - длиной около 2,0 нм (Рис.2). В центре порфиринового кольца хлорофиллов находится ион Mg^{2+} , связанный координационными связями с атомами азота (Рис.2). Другие формы хлорофилла - b,c,d, а также бактериохлорофилл - отличаются боковыми заместителями и распределением двойных связей в порфириновом кольце (Рис. 2).

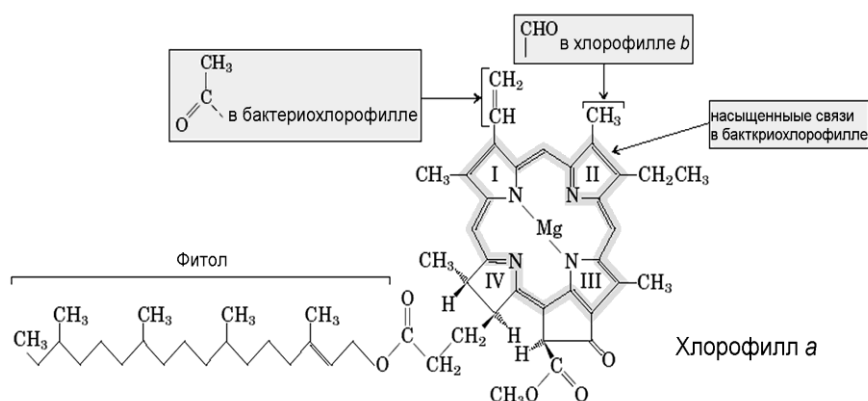


Рис.2. Структура хлорофилла а. Отмечены модификации, характерные для хлорофилла b и бактериохлорофилла.

Спектры поглощения хлорофиллов имеют две интенсивные полосы: характерную для порфиринов полосу S_{0-2} в синей или ближней ультрафиолетовой части спектра и «красную» полосу поглощения света в области 650-700 нм (у бактериохлорофиллов она смещена в ближнюю инфракрасную область 800-890 нм). Поглощение света в красной области спектра обеспечивается взаимодействием иона магния с сопряженной π -электронной системой порфиринового кольца. (Для сравнения - гем, содержащий в порфириновом кольце не Mg^{2+} , а Fe^{2+} поглощает свет не в красной, а зелено-желтой части спектра).

В клетке "красные полосы" поглощения хлорофиллов сдвинуты в длиноволновую область по сравнению со спектрами, полученными в органических растворителях (Табл.3.1), что указывает на значительную роль пигмент-пигментных, пигмент-белковых и пигмент-липидных взаимодействий вследствие плотной упаковки хлорофилльных молекул в фотосинтетической мембране.

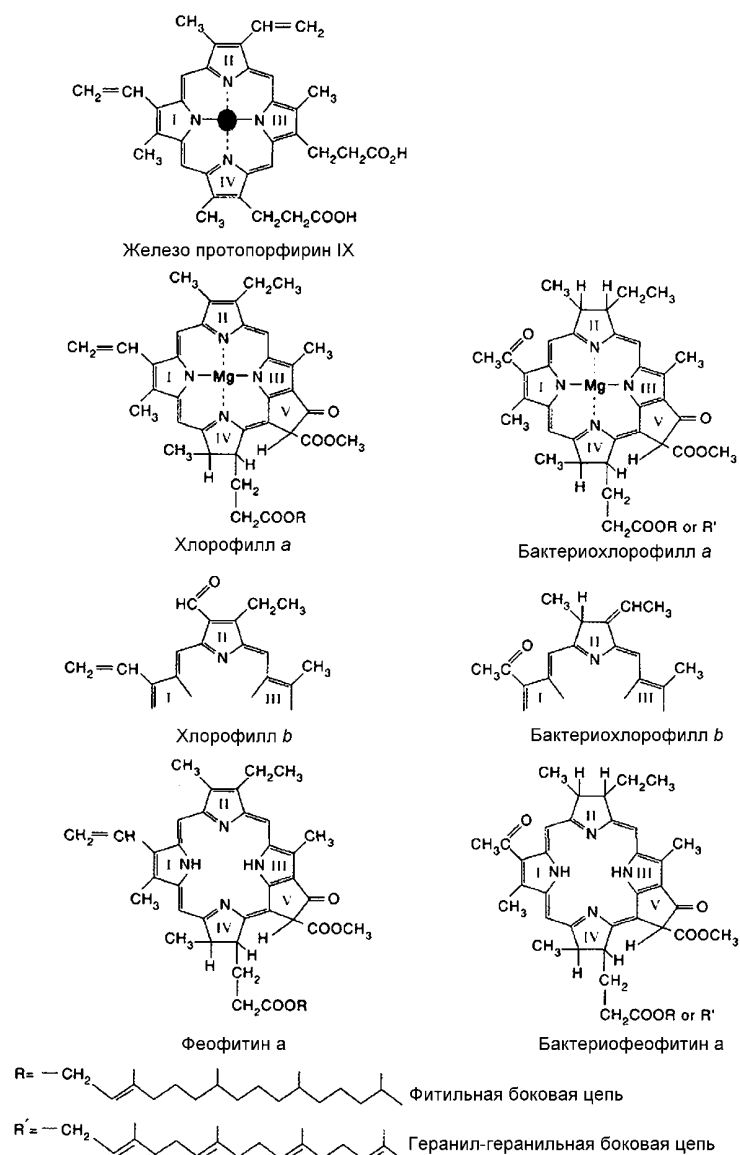


Рис.3. Различные фотосинтетические пигменты. Сверху для сравнения приведена структура железо-протопорфина IX.

Методами низкотемпературной и дифференциальной спектрофотометрии выявлено до 10 модификаций хлорофилла а, различающихся по спектрам поглощения и флуоресценции (т.е. по расположению энергетических уровней), по экстрагируемости из мембраны (т.е. по гидрофильности/гидрофобности) и т.д. Они называются "нативными формами" хлорофилла а. Так, выделены Р₆₇₀ (поглощающий свет 670-673 нм), Р₆₈₀, Р₇₀₀ и т.д. Основным фактором, обуславливающим свойства этих нативных форм, являются пигмент-пигментные взаимодействия, т.е.

образование димеров и более крупных агрегатов. В пигментных агрегатах за счет взаимодействия π -электронных систем происходит "размазывание" электронного облака по двум или нескольким порфириновым кольцам. Соответственно, снижается верхний энергетический уровень и повышается способность поглощать более длинноволновый красный свет.

Таблица 1. Полосы поглощения некоторых хлорофиллов в растворах органических растворителей и в клетках

Хлорофиллы	Органические растворители		Клетка	
	Полоса Сорэ	Красная полоса	Полоса Сорэ	Красная полоса
Хлорофилл а	420	660	435	670-700
Хлорофилл b	450	640	480	650
Хлорофилл с	445	625		645
Хлорофилл d	450	690		740
Бактериохлорофилл а	365	605, 770	-	800-890

Кроме хлорофилла в фотосинтезирующих клетках встречаются и другие пигменты: феофитины, каротиноиды, фикоэритрины фикобилины и др. Все они содержат длинные цепочки сопряженных связей, в которых π -электронное облако «размаывается» по всей длине, что также приводит к снижению возбужденных энергетических уровней и позволяет поглощать кванты видимого света. У каротиноидов длина цепочек составляет примерно 40 углеродных атомов. Они поглощают свет в области 400-500 нм и имеют желтый или оранжевый цвет. Фикобилины поглощают свет в области 500-650 нм. Все они дополняют спектр поглощения хлорофилла, поглощая не только красный свет, но и свет других участков спектра, позволяя растениям эффективно улавливать солнечную радиацию.

4. Светособирающие комплексы

Для повышения эффективности использования света фотоны улавливаются не только молекулами хлорофилла в реакционных центрах, но

и вспомогательными пигментами, передающими энергию электронного возбуждения в реакционный центр. Действительно, сечение поглощения молекулы хлорофилла 10^{-15} - 10^{-16} см², поэтому при интенсивности дневного солнечного света 10^{15} - 10^{16} квант/(см² сек) интенсивность поглощения квантов одной молекулой не более 1-10 квантов в секунду. Но длительность цикла использования энергии фотона от его поглощения до выделения молекулы O₂ составляет порядка 0,01-0,02 сек. Следовательно, большую часть времени между поглощением отдельных квантов хлорофилл должен "простаивать". Поэтому объединение десятков молекул пигментов, снабжающих энергией один реакционный центр, повышает эффективность фотосинтеза.

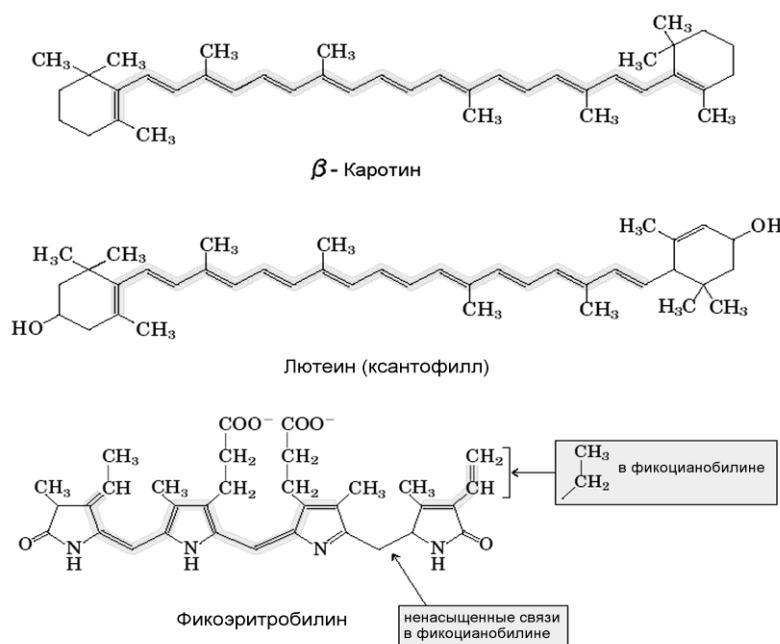


Рис. 4. Пигменты - компоненты светособирающих антенн.

Кроме заполнения временных интервалов, эффективность светосбора повышается путем «спектрального заполнения», т.е. поглощения квантов в сине-зелено-желтой области, в которой хлорофиллы практически не поглощают свет. Эту роль выполняют разнообразные пигменты – хлорофиллы, каротиноиды, фикоэритрины, фикобилины и др., имеющие

полосы поглощения света в этой спектральной области (Рис.3.6). Десятки молекул пигментов-светосборщиков окружают фотосистемы I и II. Энергия поглощенных фотонов преобразуется в энергию электронного возбуждения молекул пигментов. Она с некоторой диссипацией передается от молекулы к молекуле и после нескольких случайных блужданий попадает на реакционные центры фотосистем I и II - P_{680} или P_{700} , являющиеся «энергетическими ловушками», так как в них процесс миграции энергии прерывается.

Ранее, когда не была установлена определенная пространственная организация пигментных молекул, предполагалось их неупорядоченное расположение в фотосинтетической мембране, и использовался неплохой термин «светособирающая антенна». Но в последние десятилетия, когда стало известно, что молекулы пигментов связаны с белками, организующими их расположение, стали употреблять термин «светособирающие пигмент-белковые комплексы» (ССПБК или просто ССК). В международной литературе для их обозначения используется аббревиатура LHC (Light Harvesting Complexes).

Обычно СППБК окружают функциональное ядро - центральный кор-комплекс, в котором находятся реакционные центры ФС I или ФС II. На периферии ФС I и ФС II располагаются тримеры из белков Lhcb1/Lhcb2, а центральную, коровую часть окружают мономерные антенные белки. В ФС I - это белки Lhca1, Lhca2, Lhca3 и Lhca4, а в ФС II - белки Lhcb3, Lhcb4, Lhcb5 и Lhcb6 (или CP 25, CP29, CP26 и CP24) (Рис.3.8).

Каждый мономер тримеров Lhc в фотосистеме ФС II – это белок из трех α -спиралей длиной 4,3; 5,1 и 3,2 нм. Эти белки связывают по 7 молекул хлорофилла а, 5 молекул хлорофилла б и 2 молекулы лютеина. Порфириновые кольца хлорофиллов расположены в два слоя перпендикулярно к плоскости тилакоидной мембраны вблизи от ее наружной и внутренней плоскости.

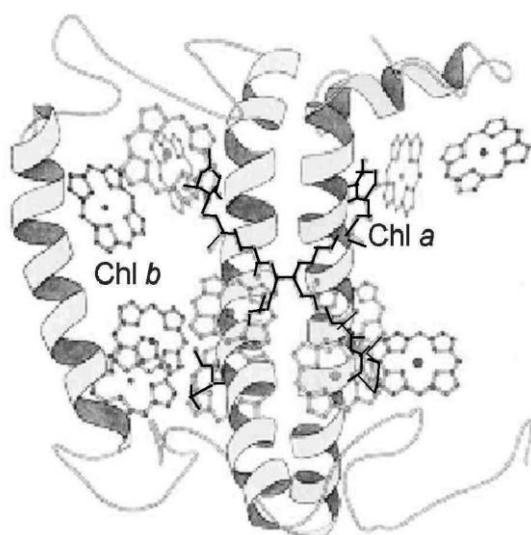


Рис.5. Пространственная структура одного из мономеров, входящего в состав тримерного комплекса Lhc. Его три α -спирали заключают 7 молекул хлорофилла а (в центре, более светлые), 5 - хлорофилла b (на периферии, более темные) и 2 - лютеина (черные) (по Nelson, Cox, 2005).

Обнаружены различные пути миграции энергии электронного возбуждения:

- каротиноиды $\rightarrow$ фикобилины $\rightarrow$ хлорофилл а,
- хлорофилл b $\rightarrow$ хлорофилла,
- хлорофилл а $\rightarrow$ хлорофилл а (миграция между нативными формами хлорофилла, например: $P_{670} \rightarrow P_{680} \rightarrow P_{690} \rightarrow P_{700}$).

Таблица 2. Квантовые выходы миграции энергии:

Пути миграции энергии	Квантовый выход
Каротиноиды $\rightarrow$ Chl a	20 - 50 %
Фикоэритрин $\rightarrow$ Chl a	80-90 %
Chl b $\rightarrow$ Chl a	$\sim$ 100 %
Chl a $\rightarrow$ Chl a (между нативными формами)	$\sim$ 100 %

5. Механизмы миграции энергии

Миграцию энергии обнаруживают оптическими методами по появлению в спектре действия акцептора энергии полосы поглощения света донором энергии или по тушению флуоресценции донора в присутствии акцептора энергии.

Важнейший механизм миграции энергии электронного возбуждения в фотосинтетической мембране - индуктивно-резонансный механизм Фёрстера. Он осуществляется с участием синглетных возбужденных уровней (S_1) при соблюдении обязательных правил:

- 1) донор должен флуоресцировать;
- 2) акцептор должен иметь полосу поглощения, соответствующую полосе излучения донора;
- 3) расстояние между ними не должно превышать 4-6 нм.

Перенос энергии происходит за счет того, что во время существования возбужденного состояния донора (10^{-8} - 10^{-9} с) осциллирующий возбужденный электрон генерирует переменное электромагнитное поле. Если его частота совпадает с одной из резонансных частот возбужденной молекулы акцептора, то происходит безизлучательный резонансный перенос энергии: в акцепторе возбуждаются осцилляции электрона, а молекула донора безизлучательно возвращается в исходное состояние. Типичные расстояния индуктивно-резонансного переноса энергии – 2-5 нм, а характерное время - 10^{-11} - 10^{-6} сек. Таким способом может осуществляться миграция энергии между разными пигмент-белковыми комплексами.

В пределах одного локального светособирающего комплекса, примыкающего с ФСІ или ФСІІ, где молекулы пигментов плотно упакованы в квазикристаллическую структуру, их электронные уровни могут обобществляться в зоны. В этом случае возможен экситонный механизм миграции энергии, при котором поглощение кванта света приводит к появлению экситона - коллективного возбуждения, делокализованного по

всей системе молекул. Возбуждение молекулы донора распространяется по верхним колебательным уровням на всю систему акцепторов за время 10^{-13} - 10^{-14} сек, меньшее, чем время релаксации колебательных состояний. Это самый быстрый способ миграции энергии. В конце этого промежутка времени энергия экситона может привести к возбуждению какой-то конкретной молекулы акцептора, удаленной от донора на расстояние до 1-1,5 нм.

Конкретные механизмы переноса энергии в ССПБК зависят от их строения и плотности упаковки пигментов. Перенос энергии возбуждения между соседними молекулами пигментов происходит за 0,2-5 пс, а между различными пигмент-белковым комплексами, удаленными на большее расстояние он осуществляется медленнее. Так, методами лазерной спектроскопии выявлены характерные времена переноса энергии порядка 0,15-0,3 пс, 2-6 пс и 14-36 пс. Они могут соответствовать миграции энергии между соседними молекулами хлорофилла на расстояние около 1 нм, между отдельными пигментными кластерами и между мономерами в тримере. В первых двух случаях возможен экситонный механизм миграции энергии, а в третьем более вероятен индуктивно-резонансный перенос. Время между поглощением фотона антенным пигментом и захватом энергии реакционным центром фотосистемы I оценивается как 50-100 пс, а фотосистемы II – порядка 300 пс (Рубин, 2000).

Для того, чтобы избежать перекрестной миграции экситонного возбуждения между пигментами светособирающих антенн, тесно связанных с фотосистемами I и II, в фотосинтетических мембранах эти фотосистемы пространственно разнесены. Обычно фотосистема II со своей светособирающей антенной ССК II располагается в мембранах тилакоидов, образующих граны. При этом некоторые белки-компоненты ФС II являются адгезивными, скрепляющими вместе мембраны тилакоидов, образуя таким образом граны. Фотосистема I и ее светособирающая антенна локализуются

преимущественно вне гран, в мембранах ламелл. Комплекс цитохромов b_6f присутствует во всех мембранах.

Итак, в светособирающей антенне энергия, поглощаемая коротковолновыми формами пигментов мигрирует к более длинноволновым. По пути некоторая часть энергии диссипирует, но основная часть в конце "стекает" на пигменты P_{680} или P_{700} реакционных центров, где за ее счет происходят разделение зарядов и дальнейшие фотохимические процессы. В результате использования энергии фотонов с различной длиной волны, спектр действия фотосинтеза, т.е. зависимость квантового выхода $\Phi(\lambda) = [O_2]/n$ от длины волны, где $[O_2]$ – число молекул кислорода, выделяющихся в единицу времени, а n – число квантов, поглощенных в единицу времени, оказывается весьма широким и включает кроме полос поглощения света хлорофиллом, а также полосы поглощения остальных пигментов-светосборщиков. При длине волны более 700 нм спектр действия круто обрывается (Рис.3.12). Это можно объяснить тем, что в реакционном центре P_{700} происходят фотохимические реакции, и энергия дальше не передается, т.е. длинноволновый край спектра действия соответствует краю спектра поглощения P_{700} .- последнего пигмента в цепочке. Но полоса поглощения хлорофилла, а простирается до 750 нм, и спектр действия, в принципе, не должен обрываться так круто. Предполагается, что возбуждения одного только хлорофилла P_{700} недостаточно для эффективного фотосинтеза, а определенный вклад должны вносить и другие пигменты. «Провал» в спектре действия в области 450-500 нм, соответствующей поглощению света каротиноидами, свидетельствует о сравнительно небольшой эффективности передачи энергии от них на хлорофилл а. И действительно, она оценивается на уровне 20-50%.

6. Хлорофилл – «электронный насос»

Как уже отмечалось, сущность энергетических преобразований в фотосинтезе состоит в том, что сначала энергия светового кванта преобразуется в энергию электронного возбуждения хлорофилла, затем за счет этой энергии происходит разделение зарядов в реакционном центре и энергия преобразуется в электрическую форму - энергию разделенных зарядов. Высокоэнергетический электрон, отщепившийся от хлорофилла, переносится по цепи электронного транспорта на NADPH. При этом его энергия постепенно понижается и трансформируется в энергию электрохимического градиента ионов H^+ и химическую энергию NADPH, а затем преобразуется в химическую энергию, запасенную в молекулах АТФ и глюкозы.

В этой цепи превращений возбужденная молекула хлорофилла а служит "электронным насосом" в системе "донор электронов → хлорофилл а → акцептор электронов", перенося электрон с низкого энергетического уровня у донора на высокий уровень акцептора за счет энергии фотонов:

Первичным донором низкоэнергетических электронов при фотосинтезе является вода, переносящая его на хлорофилл а с помощью водорасщепляющей системы, а акцептором высокоэнергетических электронов – NADPH.

Особенностью этих процессов является то, что время жизни синглетного возбужденного состояния молекулы хлорофилла порядка 5 нс. Затем поглощенная энергия может растратиться на высвечивание кванта флуоресценции или превратиться в тепло. Для того, чтобы этого не произошло и можно было ее эффективно использовать, в фотосинтетических системах возбужденный электрон очень быстро удаляется от хлорофилла а с помощью цепи электронного транспорта на другие акцепторы и по пути часть его энергии используется для синтеза глюкозы и других органических веществ, а другая часть - для синтеза АТФ. При этом сам хлорофилл а

ионизируется, приобретает положительный заряд, или, как говорят, на нем образуется положительно заряженная «дырка».

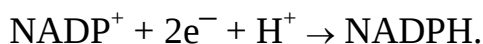
7. Z-схема фотосинтеза

У высших растений в фотосинтезе участвуют две фотосистемы I и II со своими реакционными центрами, в которые входят одна молекула P_{700} или две молекулы P_{680} , соответственно, и соответствующие цепи электронного транспорта (Рис.3.1 и 3.14). Реакционные центры фотосинтеза представляют собой большие пигмент-белковые комплексы, встроенные в фотосинтетические мембраны, с особой упаковкой пигментов и переносчиков электронов.

8. Фотосистема I

Фотосистема I переносит электроны на небольшой гидрофильный белок ферредоксин, содержащий (Fe-S)-центр. Это подвижный переносчик, способный мигрировать по поверхности мембраны, наподобие цитохрома c, и переносить электроны:

а) на $NADP^+$ -оксидоредуктазу - встроенный в мембрану белковый комплекс, восстанавливающий $NADP^+$:



Полученный $NADPH$ используется в цикле Кальвина для синтеза глюкозы.

б) на пластохиноны, а затем через комплекс цитохромов b_6f - назад на P_{700} . При этом комплекс цитохромов b_6f создает градиент протонов, использующийся H^+ -АТФ-синтазой, встроенной в ту же мембрану, для синтеза АТФ. Это циклическое фотофосфорилирование осуществляется

потому, что для фиксации углерода и синтеза глюкозы необходимо намного больше молекул АТФ, чем NADP^+ .

Поскольку часть электронов P_{700} используется в биосинтетических процессах, то недостающие электроны поставляются фотосистемой II. Поток электронов от фотосистемы II через свою цепь электронного транспорта также попадает на комплекс цитохромов b_6f , внося при этом вклад в генерацию протонного градиента на тилакоидной мембране, и далее через пластоцианин попадает на P_{700} (Рис3.14). За свою Z-подобную форму эта схема названа Z-схемой фотосинтеза.

Поскольку для образования одной молекулы O_2 необходим перенос четырех электронов от двух молекул H_2O на два NADP^+ , а для переноса одного электрона от воды на NADP^+ необходимо поглощение двух фотонов (двумя фотосистемами), то суммарное уравнение процессов переноса электронов в фотосистемах I и II можно записать как:



При разрушении хлоропластов ультразвуком обнаружены частицы с константой седиментации 38 S, диаметром 30 нм, сохраняющие способность к фотосинтезу. На электронных микрофотографиях сколов мембраны, полученных методом замораживания-травления, видны крупные гранулы размером 10x15x18 нм и молекулярной массой порядка 2 МДа. Предполагается, что это компоненты фотосистемы II, расположенные на поверхности тилакоидной мембраны, обращенной во внутритилакоидное пространство. Более мелкие гранулы, лежащие, как предполагается, на обращенной в строму поверхности тилакоидной мембраны, пока не идентифицированы.

В кор-комплекс фотосистемы I входят большие белки RsaA и RsaB с молекулярной массой порядка 83 кДа, которые несут реакционные центры

ФС I, а также около 90-100 молекул хлорофилла а и 12-16 молекул каротиноидов.

Первичный донор электронов в фотосистеме I пока не выделен в чистом виде, но хорошо охарактеризован с помощью спектральных методов. Его спектр поглощения света содержит 2 основные полосы при 700 и 430 нм. В хлоропластах растений соотношение P_{700} и других хлорофиллов примерно равно 1:400. Считается, что реакционный центр P_{700} образован димером хлорофилла а. Вблизи P_{700} в реакционном центре находятся первичный и вторичный акцепторы электронов A_0 и A_1 . В роли A_0 выступает молекула хлорофилла, а с полосой поглощения в области 693-695 нм, а вторичным акцептором электронов A_1 является филлохинон (витамин K_1). Напомним, что хиноны – внутримембранные гидрофобные молекулы.

Методами лазерной спектроскопии показано, что перенос электрона от P_{700} на A_0 происходит менее, чем за 10 пс. Затем за 20-50 пс (по разным данным) электрон переходит на A_1 . От него электрон за 200 пс (по другим данным, за 20-50 нс) он переходит на 4Fe-4S кластер (F_X), расположенный внутри фотосинтетической мембраны. Затем, за следующие 170 нс - на димер из двух 4Fe-4S кластеров (F_A и F_B), расположенный на поверхности мембраны тилакоида, обращенной в строму, и, наконец, за 0,5-100 мкс – на ферредоксин (Fd). Эти компоненты ФС I удерживаются в фотосинтетической мембране с помощью комплекса белков PsaA, Psa B ... PsaL. Нужно отметить, что железо-серные белки пока не удается выделить и охарактеризовать, т.к. они легко денатурируются при попытке выделения. Гидрофильный белок ферредоксин массой около 10,7 кДа содержит 2Fe-2S кластер. Он удерживается на стромальной поверхности тилакоидной мембраны благодаря электростатическому взаимодействию с белком PsaD (Рубин, 2000). Ферредоксин – основной переключатель, направляющий электроны либо на Fd: NADP⁺-оксидоредуктазу для синтеза NADPH, либо на комплекс цитохромов b_6f , от которого через водорастворимый белок пластоцианин они по одному возвращаются на P_{700} . Перенос электронов на

ферредоксин и от него на другие молекулы осуществляется за намного большее, микросекундное время из-за необходимой диффузии этого белка.

Механизм переноса электронов в фотосинтетических цепях электронного транспорта, как и в митохондриях, двоякий - туннелирование в пигмент-белковых надмолекулярных комплексах и перенос между комплексами пулом подвижных переносчиков.

9. Фотосистема II

Фотосистема II устроена сложнее фотосистемы I, так как в ее состав входит водоокисляющая система, поставляющая электроны в реакционный центр. Кор-комплекс ФС II представляет собой димер из двух субъединиц, которые включают по два почти одинаковых белка D_1 и D_2 , являющихся структурной основой для организации реакционных центров, цитохром b_{559} , а также антенные белки CP43 и CP47. В состав реакционного центра фотосистемы II кроме 6 молекул хлорофилла, а входят две молекулы феофитина, две молекулы β -каротина и одна молекула цитохрома b_{559} . Они удерживаются и размещаются в фотосинтетической мембране парой почти одинаковых интегральных белков D_1 и D_2 и несколькими меньшими белками.

В фотосистеме II первичным донором электронов служит хлорофилл, а – P_{680} . Предполагается, что роль реакционного центра P_{680} в ФСII играет димер хлорофилла. Но спектральные свойства указывают на то, что в состав P_{680} могут входить еще шесть молекул хлорофилла, расположенных на некотором расстоянии (Рубин, 2000). Изучение P_{680}^+ затруднено тем, что он очень сильный окислитель и может окислять соседние молекулы. Ведь для окисления молекулы воды его редокс-потенциал должен превышать +810 мВ.

Разделение зарядов и перенос электронов в реакционном центре фотосистемы II происходят примерно так же, как и в фотосистеме I. Методами лазерной спектроскопии показано, что после поглощения кванта

света электрон за 3 пс с эффективностью 95-98 % переносится от возбужденного хлорофилла P_{680}^* на первичный акцептор феофитин (ФФ) - пигмент порфиринового ряда, не содержащий координированного атома металла, - с образованием радикальной пары ($P_{680}^+ \text{ФФ}^-$). За следующие 150 пс электрон переносится на прочно связанный с белками пластохинон PQ_A (или просто Q_A), а от него - на слабо связанный пластохинон PQ_B (или Q_B), находящийся за пределами реакционного центра. Последний, получив два электрона и присоединив два протона из воды, превращается в полностью восстановленную форму PQ_BH_2 , которая после диффузии внутри мембраны переносит электроны на комплекс цитохромов b_6f .

Комплекс цитохромов b_6f похож на митохондриальный комплекс цитохромов bc_1 . Он участвует в переносе электрона от фотосистемы I (от ферредоксина) или от фотосистемы II (от пластохинона PQ_BH_2) через пластоцианин на фотосистему I. Этот комплекс представляет собой димер из двух одинаковых мономеров. Он содержит два цитохрома b_6 с высоко- и низкопотенциальными гемами (обозначаемыми как b_H и b_L , соответственно), цитохром f с гемом f , еще один гем x с неизвестной функцией и β -каротин, функции которого также неизвестны. В его состав также входит железосерный белок Рискс с центром (Fe_2-S_2). Пластохинон PQ_B , вероятно, осуществляет транспорт протонов через фотосинтетическую мембрану по механизму, похожему на Q-цикл в митохондриальном комплексе цитохромов bc_1 . Во всяком случае, предполагается, что в области контакта каждого мономера с другим мономером есть центр связывания пластохинона, так что между ними может помещаться пара пластохинонов PQ и PQH_2 , которые могут осуществлять Q-цикл. Но в отличие от митохондрий, где ионы водорода переносятся из матрикса в межмембранное пространство, в хлоропластах протоны переносятся внутрь тилакоидов. Это приводит к созданию электрохимического градиента протонов $\Delta\mu_H^+$, используемого H^+ -АТФ-синтазой (F_0F_1) для производства АТФ.

Совместная работа комплекса цитохромов b_6f , NADP⁺-оксидоредуктазы и водоокисляющей системы создает 1000-кратный градиент концентрации протонов. В результате внутритилакоидный объем приобретает pH 5, тогда как pH стромы порядка 8. Это создает на тилакоидной мембране протондвижущую силу около 200 мВ (одна единица pH примерно равна 60 мВ), почти целиком обусловленную разностью концентраций H⁺, а не мембранным потенциалом (мембрана тилакоида проницаема для ионов Mg²⁺ и Cl⁻, и они нивелируют разность потенциалов). Эта протон-движущая сила используется H⁺-АТФ-синтетазой, такой же, как и в митохондриях, для синтеза АТФ.

10. Водоокисляющая система

Исходным источником электронов для электронно-транспортных систем фотосинтеза является вода. Она также поставляет ионы водорода для создания протонного градиента. Но для их получения необходимо расщепить молекулу воды:

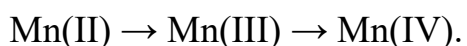


Это требует большой энергии, ведь обратная реакция: $\text{H}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ идет со взрывом. Энергии одного кванта для этого недостаточно. Для расщепления двух молекул воды необходимо не менее четырех фотонов. Но фотосинтетический механизм может одновременно манипулировать только одним электроном. Для решения этой проблемы в фотосинтезирующих клетках есть специальная водоокисляющая (или водорасщепляющая) система, тесно, структурно и функционально, связанная с фотосистемой II. Она передает отнятый у воды электрон на P_{680}^+ для компенсации потери электрона в процессе разделения зарядов. То есть, она является непосредственным донором электронов для P_{680}^+ . Молекулярная природа

этого донора электронов (его обозначали как Z) долго оставалась неизвестной, но потом было обнаружено, что ее роль играет один из тирозинов полипептида D1 (Y_Z). Но, поскольку P_{680}^+ может принимать только по одному e^- , а при расщеплении воды их должно выделиться четыре, то должен существовать каталитический центр, способный связывать две молекулы воды, накапливать отщепляющиеся электроны и направлять их по одному на P_{680}^+ .

Было высказано предположение, что водоокисляющая система работает как 4-тактный циклический механизм. И действительно, в опытах с освещением ФСII короткими вспышками относительный выход кислорода был максимален после 1-й и 5-й вспышек. Предполагается, что комплекс, производящий O_2 , существует в пяти промежуточных состояниях окисления: S_0 , S_1 , S_2 , S_3 и S_4 , переход между которыми происходит при освещении последовательными вспышками света (Рис.3.20). Эта последовательность называется S-циклом.

Но какое вещество может накапливать 4 электрона, меняя свою валентность на 4 единицы? Им оказались ионы марганца. Марганец давно был обнаружен в составе ФСII и было известно, что если его меньше, чем 4 атома на одну молекулу P_{680} , то выделение O_2 не происходит. Марганец может находиться в нескольких стабильных состояниях от Mn^{+2} до Mn^{+7} . Для связанного с белком иона это обозначается как Mn(II), Mn(III) и т.д. Показано, что при переходе $S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2$ меняется степень окисления марганца:



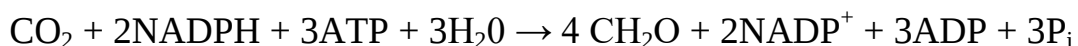
Однако, переход $S_2 \rightarrow S_3$ сопровождается переносом положительного заряда не на атом марганца Mn(V), а на какой-то другой элемент системы, предположительно, His, а потом на Y_Z белка D1 и далее на P_{680}^+ . Это связано с тем, что, если Mn(II) и Mn(III) стабильны, то Mn(IV) – нестабильный,

короткоживущий продукт. С помощью рентгеновской спектроскопии в фотосинтетической мембране обнаружены четырехмарганцевые кластеры и была изучена их структура. Они состоят из двух димеров, в которых атомы марганца соединены кислородными мостиками. Предполагается, что после удаления четырех электронов окисленный марганцевый кластер в состоянии S_4 оказывается способным окислить две молекулы воды. Это происходит на заключительном этапе цикла $S_4 \rightarrow S_0$.

Конечно, тут остается много вопросов. Например, не ясно, почему в модели, изображенной на рис.3.22, только два атома марганца (правые на этом рисунке) из четырех, входящих в состав кластера, меняют свое зарядовое состояние от Mn^{+2} до Mn^{+4} . При этом кластер расщепляет воду не в наиболее окисленном состоянии S_3 : (Mn^{+4} , Mn^{+4}), а в менее окисленном состоянии S_4 : (Mn^{+3} , Mn^{+4}), когда, казалось бы, его сродство к электронам должно быть ниже. Пока также неясны функции ионов Cl^- и Ca^{2+} , без которых не расщепляется вода и фотосинтез не осуществляется. Есть еще много нерешенных проблем, но учитывая внимание исследователей к этой важнейшей сфере и замечательные достижения последних лет, можно надеяться на значительный прогресс в познании механизмов фотосинтеза в ближайшие годы.

11. Цикл Кальвина

Цикл Кальвина - система темновых биохимических реакций, в которых из углекислого газа и водорода, поставляемого NADH, синтезируется глюкоза:



На первой стадии цикла Кальвина осуществляется фиксация (усвоение) углерода из углекислого газа, т.е. присоединение молекулы CO_2 к

пятиуглеродной молекуле рибулозо-1,5-бисфосфата с расщеплением его на две трехуглеродные молекулы 3-фосфоглицерата. Затем с участием NADPH и АТР происходит восстановление его до глицеральдегид-3-фосфата, который используется для синтеза сахаров и крахмала, а также для производства АТР в гликолитическом процессе. И наконец, с участием АТР может происходить регенерация акцептора углерода - рибулозо-1,5-бисфосфата, замыкая таким образом цикл.

Цикл Кальвина имеет побочные ответвления, ведущие к синтезу аминокислот, липидов и т.д. Подробно биохимия этого важнейшего процесса рассматривается в курсах по биохимии растений.

Литература

1. Волькенштейн М.В. Общая биофизика, М. Наука, Физматлит, 1978.
2. Рубин А.Б. Биофизика, т. 2. М., Изд. МГУ, 2000, 2004.
3. Самойлов В.О. Медицинская биофизика. Санк-Петербург, Спецлит, 2004
4. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. М. Наука, 1989.
5. Alberts B. et al. Molecular Cell Biology. 4-th edition. Garland Science. New York, 2002.
6. Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger Principles of Biochemistry, Fourth Edition, W.H. Freeman & Company; 2005.