

мов, можно делать выводы об их роли в цепи переноса электронов. К примеру, Дюйзенс освещал суспензию клеток красной водоросли *Porphyridium* в присутствии дихлорфенилдиметилмочевины (ДХММ, DCMU) — синтетического гербицида, подавляющего выделение кислорода

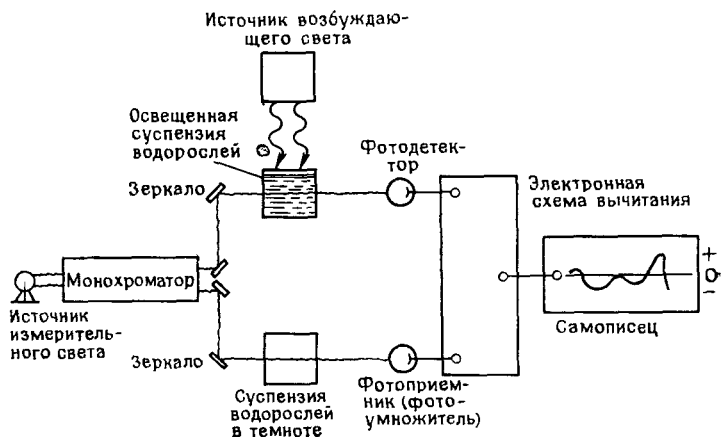


Рис. 4.8. Схема дифференциального спектрофотометра для измерения индуцированных светом изменений поглощения пигментов и других компонентов клеток.

да, и обнаружил накопление цитохрома f в окисленном состоянии. В контрольном опыте с клетками водорослей, не обработанными ингибиторами, спектр поглощения цитохрома f не изменялся, т. е. накопления окисленного цитохрома не происходило. Дюйзенс сделал вывод о том, что цитохром f является промежуточным переносчиком электрона в реакциях, сопровождающих выделение кислорода (см. гл. 5).

4.4. Реакционные центры и первичные акцепторы электрона

Освещая суспензии водорослей короткими вспышками света, Кок сумел идентифицировать и охарактеризовать особый тип хлорофилла a , который он назвал пигментом P_{700} . P_{700} входит в состав хлоропластов в очень малых количествах. Его максимум поглощения лежит около

700 нм. Под действием света он обратимо выцветает, окисляясь при этом до P_{700}^+ . Дальнейшие исследования показали, что P_{700} входит в состав реакционных центров и служит ловушкой, захватывающей всю энергию возбуждения, принесенную квантами света с длинами волн больше 680 нм. При участии P_{700} эта энергия используется для первичной фотохимической реакции переноса электронов. Иначе говоря, P_{700} представляет собой первичный донор электронов в фотосистеме I. Считают, что P_{700} — это особым образом устроенный димер хлорофилла *a*. Обычно в хлоропластах содержится один P_{700} на 200—300 молекул хлорофилла. Под действием света P_{700} превращается в P_{700}^+ , и электрон переносится на молекулу акцептора. Дефицит электрона у P_{700}^+ восполняется путем переноса на P_{700}^+ электрона от пластоцианина (в некоторых водорослях — от цитохрома *f*). Химическая природа акцептора, принимающего электроны от P_{700} , т. е. первичного акцептора электронов в фотосистеме I, до сих пор окончательно не выяснена. Обозначают этот акцептор символом X. Исследованиями хлоропластов методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) при очень низких температурах установлено существование двух связанных с мембраной железо-серных центров (A и B), имеющих очень низкие окислительно-восстановительные потенциалы (см. гл. 5) и расположенных в цепи переноса электронов непосредственно после X и перед ферредоксином.

Фотосистема II содержит больше хлорофилла *b*, чем фотосистема I, и характеризуется более интенсивной флуоресценцией. Реакционный центр фотосистемы II называют P_{680} . Витт и его сотрудники изучали изменения поглощения хлорофилла и скорости выделения O_2 под действием вспышек света, используя обычные хлоропласты, обработанные ДХММ. Они обнаружили связь между скоростью выделения кислорода и светоиндуцированными изменениями поглощения некоего компонента хлоропластов с максимумом поглощения около 682 нм. Последующие работы показали, что P_{680} также представляет собой особый вид хлорофилла *a*. Первичный акцептор электронов в фотосистеме II обозначают Q (от англ. quencher of the chlorophyll fluorescence — тушитель флуоресценции хлорофилла). По всей вероятности,

он представляет собой комплекс феофитина и хинонов. От акцептора Q электроны передаются пулу пластохинона, который работает как резервуар, накапливающий электроны между двумя фотосистемами (см. гл. 5).

4.5. Выделение кислорода при фотосинтезе

Реакция фоторазложения воды происходит на внутренней стороне мембраны тилакоида и относится к окислительным реакциям фотосистемы II (рис. 5.2). Возбужденный светом P_{680} отдает электроны, превращаясь в сильный окислитель P_{680}^+ . Он вызывает окисление первичного донора, отдающего электроны фотосистеме II (обычно его называют Z), и запускает цикл превращений системы S, расщепляющей воду. Система S представляет собой, по-видимому, Mп-белковый комплекс, способный накапливать четыре положительных заряда. В этой системе осуществляются циклические переходы между пятью состояниями S_0 , S_1 , S_2 , S_3 , S_4 , каждое из которых отличается от предыдущего потерей еще одного электрона. Таким образом, при поглощении света происходит перенос электрона от реакционного центра на акцептор Q, а затем другой электрон переносится от системы S на реакционный центр. Система S, отдавшая четыре электрона, способна вступить в реакцию с водой, что сопровождается высвобождением кислорода и возвращением системы S в свое наиболее восстановленное состояние S_0 . Несмотря на то что разными авторами предложены многочисленные модели фоторазложения воды и описано выделение белков, содержащих марганец и, по-видимому, входящих в состав каталитического центра, детальный механизм разложения воды до сих пор еще не установлен.

4.6. Опыты по разделению двух фотосистем

В последние годы делаются многочисленные попытки осуществить раздельное выделение из хлоропластов фотосистем I и II. Хлоропласты можно фрагментировать воздействием детергентов — дигитонина, додецилсульфата натрия, тритона X-100, обработкой ультразвуком или путем продавливания под высоким давлением (около 800 атм) через маленькие отверстия в прессе Френча. Полученные фрагменты хлоропластов затем разделяют,