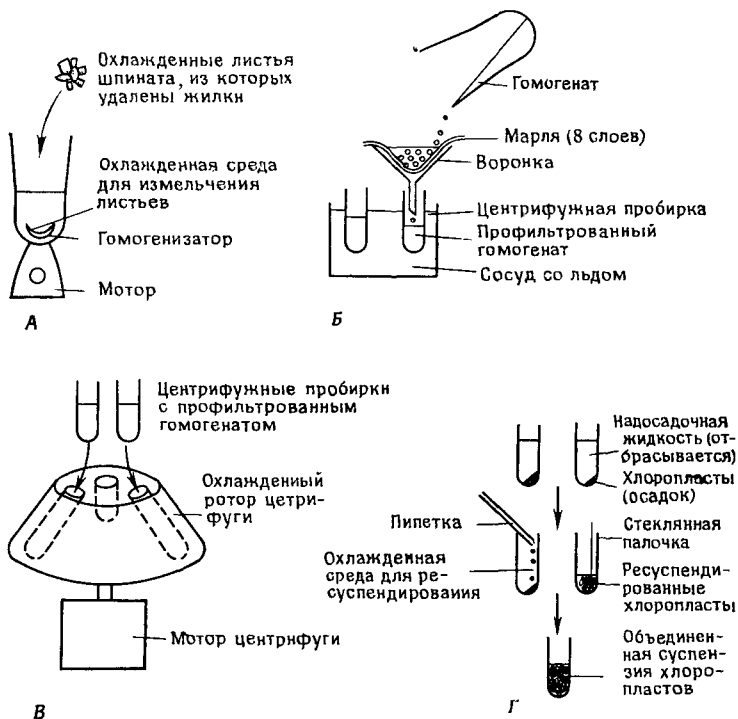


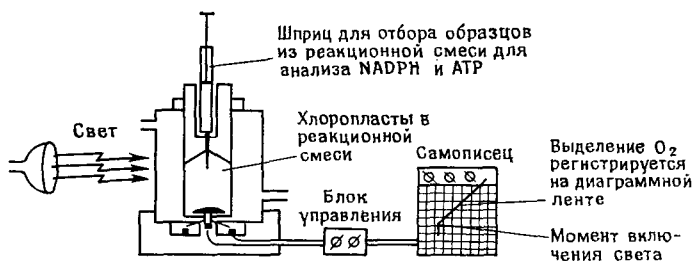
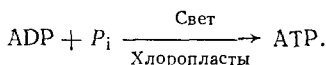
риментах, в которых измеряют только электронный транспорт. На рис. 5.4 показана последовательность действий, необходимых для получения хлоропластов и для измерения выделившегося кислорода и синтезированных при нециклическом фотофосфорилировании АТФ и NADPH (см. также гл. 3).

5.4. Циклический транспорт электронов и фосфорилирование

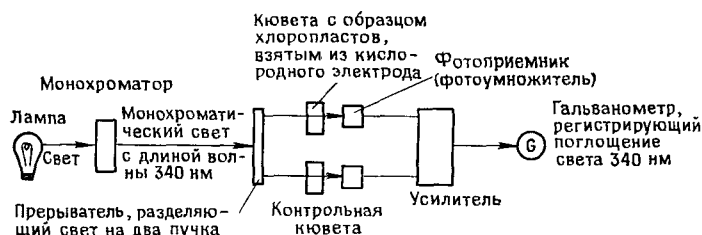
В результате данного процесса, происходящего в хлоропластах под действием света, образуется один-единственный продукт — АТФ. Циклическое фотофосфорилирование было открыто в 1954 г. Арноном, Алленом и Уотли на изолированных хлоропластах шпината и Френкелем (Frenkel) на хроматофорах, выделенных из фотосинте-



зирующих бактерий. Проще всего описать этот процесс уравнением



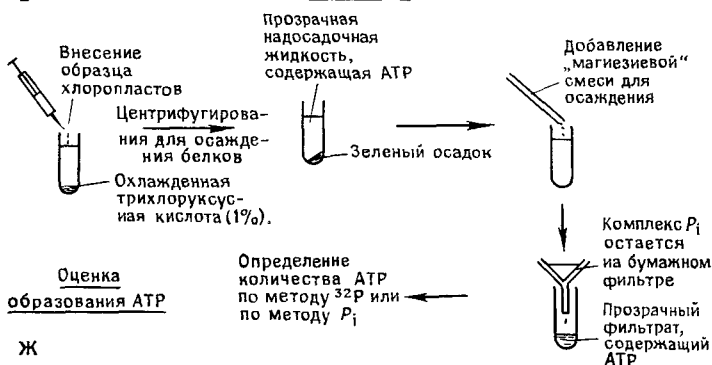
Д Кислородный электрод (см. также рис. 2.2)



Е Схема спектрофотометра для измерения количества NADPH по поглощению

Е

при 340 нм



Ж

Рис. 5.4. Схема опыта, демонстрирующего фотосинтетическое выделение O_2 , восстановление NADPH и образование ATP выделенными хлоропластами шпината.

Для синтеза АТФ в этом случае нужен только циклический транспорт электронов, запускаемый фотосистемой I. Из схемы, приведенной на рис. 5.2, А, видно, как это может происходить. Под действием света пигмент P_{700} переходит в возбужденное состояние и отдает свой электрон. Этот электрон попадает сначала на железосерные центры, а затем на ферредоксин, который при этом восстанавливается. Однако в отличие от того, что происходит при нециклическом переносе электронов, в данном случае восстановленный ферредоксин не переносит свой электрон на $NADP^+$, а отдает его цитохрому b , откуда он по цепи переносчиков вновь возвращается на P_{700} . Таким образом, электрон проделывает циклический путь, единственным измеримым продуктом которого является АТФ. Образование АТФ обеспечивается механизмом сопряжения, подобным, возможно, тому механизму, который действует при нециклическом фотофосфорилировании, хотя переносчики электронов в двух этих случаях могут быть неидентичными. Число молекул АТФ, образующихся при переносе одного электрона, до сих пор не определено. Причина в том, что из двух необходимых величин относительно легко измерять только количество АТФ, синтезированного за какой-то промежуток времени, тогда как оценить число электронов, перенесенных по циклической цепи за тот же промежуток времени, не так просто.

Итак, мы видим, что ферредоксин может играть ключевую роль в процессе фотосинтеза. Он может отдавать электроны в нециклическую цепь на $NADP^+$, что приводит к образованию сильного восстановителя $NADPH$, необходимого для восстановления CO_2 . Ферредоксин может также отдавать электроны в циклическую цепь переносчиков, в результате чего получается только АТФ. Синтезированный АТФ может использоваться либо для фиксации CO_2 , либо в других процессах, в которых он играет роль единственного источника энергии, например в синтезе белка и в превращении глюкозы в крахмал — оба этих процесса протекают в хлоропластах. Очень интересны и физиологический механизм, управляющий работой ферредоксина, и свойства самого этого белка, имеющего очень низкий окислительно-восстановительный потенциал, — 0,43 В, примерно равный потенциалу газо-

образного водорода. Неудивительно поэтому появление множества работ по изучению физико-химических свойств ферредоксина. Модель его активного центра показана на рис. 5.5.

В хлоропластах ферредоксин, возможно, служит физиологическим переносчиком (или кофактором), участвующим в циклическом фосфорилировании. Однако в

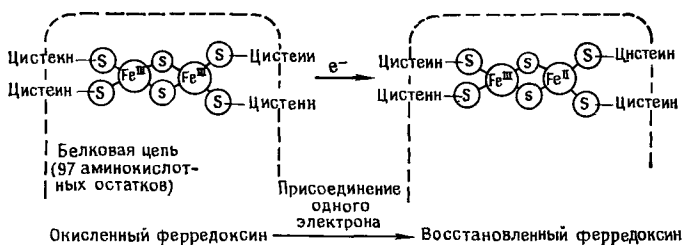


Рис. 5.5. Модель активного центра ферредоксина растений. Показаны окисленная и восстановленная формы белка. (Rao, Sainnack, Hall, Johnson Biochem. J., 122, 257, 1971.)

экспериментах его можно заменить витамином K_3 , флавиномононуклеотидом (ФМН) или одним из многих красителей. Возможно, что при такой замене последовательность переносчиков изменится, но единственным продуктом процесса будет опять-таки АТФ.

При некоторых условиях восстановленный ферредоксин в хлоропластах может окисляться не $NADP^+$, а кислородом. Такой нециклический транспорт электронов от молекулы воды на O_2 называют *псевдоциклическим транспортом*. Псевдоциклический транспорт электронов приводит к поглощению кислорода и образованию перекиси водорода H_2O_2 [реакция Мелера (Mehler)], которая является токсичным продуктом и, следовательно, должна удаляться из хлоропласта. Образование АТФ, сопровождающее псевдоциклический перенос электрона, называют *псевдоциклическим фотофосфорилированием*. В настоящее время исследуется, какую роль в регулировании фиксации CO_2 и в защите хлоропластов от повреждения слишком интенсивным светом могут играть катализируе-

мые кислородом процессы псевдоциклического транспорта электронов и псевдоциклического фотофосфорилирования.

5.5. Связь структуры и функции

Установлено, что фиксация CO_2 до уровня углеводов при фотосинтезе протекает в два этапа, причем световые реакции происходят в ламеллах, или тилакоидах гран хлоропластов, а темновые реакции — в строме хлоропластов. Арнон и его сотрудники доказали это в 1958 г., когда им удалось пространственно разделить световые и темновые реакции (табл. 5.2). Поставленный ими опыт

Таблица 5.2. Фиксация CO_2 в темноте и на свету различными компонентами хлоропласта — стромой (желтоватый матрикс) и гранами (зелеными мембранами, содержащими хлорофилл). [Trebst, Tsujimoto, Арнон, Nature, 182, 351, (1958).]¹

	Фиксация $^{14}\text{CO}_2$, число отсчетов за минуту
Строма (в темноте)	4 000
Строма (в темноте) + граны (на свету)	96 000
Строма (в темноте) + АТФ	43 000
Строма (в темноте) + NADPH + АТФ	97 000

¹Обратите внимание на одинаковые эффекты при добавлении гран (на свету) и при добавлении NADPH + АТФ, т. е. на одинаковую «ассимиляционную силу» этих компонентов.

состоял в следующем. Хлоропласты освещали в отсутствие CO_2 , давая образовываться большому количеству NADPH и АТФ с сопутствующим выделением кислорода в ходе нециклического транспорта электронов. Затем хлоропласты разрушали, строму отделяли от гран и граны отбрасывали. После этого в темноте добавляли радиоактивную CO_2 . Ферменты стромы начинали ассимилировать углекислоту и синтезировать те же самые углеводы, которые образуются в целых хлоропластах и интактных листьях.

Эти опыты наглядно показали, что все переносчики электронов и ферменты, необходимые для образования